

УДК 636.2.055:577.21:618.19-002

DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2021.3.20-31

ГЕНЫ - КАНДИДАТЫ УСТОЙЧИВОСТИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

К МАСТИТУ (обзор)

Ковальчук С.Н.

*Институт инновационных биотехнологий в животноводстве - филиал
Федерального исследовательского центра животноводства - ВИЖ им. Л.К. Эрнста,
Российская Федерация*

Мастит крупного рогатого скота приводит к значительным экономическим потерям в молочном животноводстве, связанным с уменьшением надоев, выбраковкой молока, затратами на лечение больных животных, а также снижением фертильности коров, в связи с чем поиск генетических маркеров устойчивости крупного рогатого скота к маститу с целью их использования в селекционной практике остается актуальной задачей. Цель данного обзора - систематизация результатов исследований по выявлению генов-кандидатов устойчивости крупного рогатого скота к маститу, полученных с использованием методов генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов в единичных генах, а также технологии полногеномного поиска ассоциаций.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, мастит, гены-кандидаты, генотипирование, GWAS, SNP, альтернативный сплайсинг.

Проблемы биологии продуктивных животных. 2021. 3: 20-31.

Введение

Продолжительность хозяйственного использования коров и их молочная продуктивность являются экономически важными признаками, позволяющими повышать рентабельность молочного скотоводства. Однако для высокопродуктивного молочного скота характерна высокая заболеваемость маститом, что связано с резкими метаболическими изменениями, наблюдаемыми во время отела (Bronzo et al., 2020). Мастит приводит к значительным экономическим потерям в молочном животноводстве во всем мире, связанным с уменьшением надоев, выбраковкой молока, затратами на лечение больных животных, а также снижением фертильности коров (Sadeghi-Sefidmazgi et al., 2011; Dettileux et al., 2015; Côté-Gravel et al., 2019; Hansen et al., 2004; Dahl et al., 2018). В связи с этим поиск генетических маркеров устойчивости КРС к маститу с целью их использования в селекционной практике остается актуальной задачей.

Цель данной работы - систематизация результатов исследований по выявлению генов-кандидатов устойчивости крупного рогатого скота к маститу, полученных с использованием методов генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов в единичных генах, а также технологии полногеномного поиска ассоциаций.

Результаты и обсуждение

Перспективными кандидатами на роль маркеров устойчивости крупного рогатого скота к маститу являются гены, кодирующие белки системы врождённого иммунитета. Первым и важным элементом инициации врождённых иммунных ответов является распознавание патогенов. Оно осуществляется рецепторами опознавания паттерна (Pattern Recognition Receptors, PRRs) – белками, присутствующими на поверхности клеток иммунной системы и способными распознавать характерные для патогенов молекулы – PAMPs, патоген-ассоциированные молекулярные паттерны) – такие как липополисахариды, гликопротеины клеточных стенок, пептидогликаны, липопротеинам и др. К PRR относятся Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors, TLRs), NOD-

подобные рецепторы (NOD-like receptors, NLRs), RIG-подобные рецепторы, (RIG-like receptors, RLRs), а также рецепторы С-лектинового типа (C-type lectin-like receptors, CLR) (Ishii et al., 2008; Creagh et al., 2006; Lillie et al., 2005; Vlasova et al., 2021). Среди PRRs КРС наиболее хорошо изучены Toll-подобные рецепторы.

Гены TLR экспрессируются преимущественно антиген-презентирующими клетками (макрофагами или дендритными клетками) и представлены десятью генными семействами. TLR1 распознает триациллипептид микобактерий; TLR2 - пептидогликаны грамположительных организмов, липоарабиноманнан микобактерий и зимозан грибов; TLR3 – двуцепочечные РНК; TLR4 - липополисахариды; TLR5 – белок флагеллин; TLR6 - диациллипептиды микоплазм; TLR7 и TLR8 - одноцепочечную РНК; TLR9 – CpG участки ДНК; функции TLR10 и их лиганды еще не изучены (West et al., 2004; Akira and Takeda, 2004; Vlasova et al., 2021). Для генов TLR2 и TLR4 КРС есть данные о полиморфизме и их связи с маститом. Так, Zhang с соавт. (2009) обнаружили три миссенс-мутации, T385G, G398A и G1884A, в участке гена TLR2, кодирующем внеклеточный домен белка. В данном исследовании было проведено генотипирование 240 голов молочного скота трех пород (голландской, симментальской и санхэ) и проанализировано влияние обнаруженных аллельных вариантов гена TLR2 на заболеваемость коров маститом. Была выявлена ассоциация между заменой T385G и количеством соматических клеток в молоке коров (Zhang et al., 2009).

Были исследованы полиморфизм генов TLR2, TLR 4, TLR 6 и TLR 9 у КРС голландской породы методом ПЦП-ПДРФ и секвенированием по методу Сэнгера (Elmaghraby et al., 2018). В результате в генах TLR2, TLR4 и TLR6 было обнаружено семь несинонимичных однонуклеотидных полиморфизмов (SNP, single-nucleotide polymorphism): 2102T>G, 2105T>G и 2107C>T в гене TLR2, 8731A>G и 8732 G>A в гене TLR4, 979 T>G и 980 G>T в гене TLR6. Была выявлена связь замены 2107C>T в гене TLR2 с клиническим маститом.

В экзоне 2 гена TLR2 был обнаружен SNP 10095G>T и показано, что у животных с генотипов GG наблюдалось меньшее количество соматических клеток в молоке (Girish et al., 2015). В 2012 г. были обнаружены три SNP в гене TLR4 (rs8193946 A>G, rs8193060 C>T и rs29017188 C>G), ассоциированные с маститом у коров голландской породы бразильской селекции (de Mesquita et al., 2012). Позже в гене TLR4 было обнаружено 11 новых SNP, для шести из которых (SNP 245, 5053, 5134, 9422, 9787 и 9794) частоты встречаемости аллелей у коров, больных маститом, и здоровых животных отличались (Girish et al., 2016).

К системе врожденного иммунитета КРС также относятся лектины С-типа, такие как маннан-связывающие лектины MBL-A и MBL-C, сурфактантные белки SP-A и SP-D, коллектины CL-43, CL-46 и конглютинин CGN1. Маннан-связывающие лектины эффективно распознают бактерий с высоким содержанием повторяющихся концевых остатков маннозы и/или N-ацетилглюкозамина, характерных для клеточных стенок *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Echerichia coli*, *Salmonella typhylorum* и *Neisseria gonorrhoeae*.

Лектины CGN, CL-43 и CL-46 входят в состав плазмы крови, связываются с углеводными компонентами клеточных стенок патогенов, вызывая их агрегацию и фагоцитоз макрофагами (Holmskov, 2000). CGN и CL-43 КРС проявляют противовирусную активность в отношении ротавируса и вируса гриппа (Reading et al., 1998; Hartshorn et al., 2000, Hartshorn et al., 2002). CGN также способен распознавать бактериальных патогенов, таких как *Salmonella typhimurium*, *Pasteurella septica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* (Dec et al., 2006).

Было показано, что мутации в генах лектинов влияют на восприимчивость КРС различным инфекциям, в том числе и маститу. Так, были обнаружены миссенс-мутации в экзоне 2 и промоторном участке гена MBL-1 (Wang et al., 2011; Liu et al., 2011; Yuan et al., 2012), ассоциированные с активностью классического пути активации системы комплемента и содержанием соматических клеток в молоке у коров, больных маститом. При генотипировании 825 голландских коров китайской селекции было обнаружено несколько SNP в гене MBL-2 (Zhao et al., 2012), из которых SNP g.1164 G>A приводит замене аргинина на глутамин в N-концевом домене белка, SNP g.1197 C>A и g.1198 G>A меняют пролин на глутамин в коллагеноподобном домене

MBL-C, SNP g.1207 T>C является синонимичной заменой. Было показано, что SNP g.1197 C>A достоверно коррелировал с содержанием соматических клеток в молоке, и обнаружено девять гаплотипов, содержащих найденные мутации, три из которых – MM, MN и BQ – коррелировали с низкими значениями количества соматических клеток в молоке (Zhao et al., 2012).

Помимо точечных мутаций, приводящих к аминокислотным заменам в белках, источником вариабельности последовательностей белков является альтернативный сплайсинг, который представляет собой механизм получения множественных форм мРНК из одной пре-мРНК, что обеспечивает кодирование одним геном нескольких изоформ белков (Keren et al., 2010). По существующим оценкам, из 21755 генов, имеющих в геноме КРС, от 4567 до 8657 генов (21% - 40%) подвергаются альтернативному сплайсингу экзонов (Chacko et al., 2009; Xiang et al., 2018). Так, есть данные об альтернативном сплайсинге мРНК белка SLAMF7, который является адгезином, локализованным на поверхности зрелых гемопоэтических клеток, и участвует в реакциях врождённого и адаптивного иммунитета. Был показан разный уровень экспрессии обнаруженных изоформ SLAMF7 в молочной железе коров, больных маститом, и здоровых животных (Ju et al., 2012).

Также у КРС были выявлены изоформы белка C4 – одного из компонентов классического и лектинового путей активации комплемента. Было показано наличие двух изоформ C4 у коров голштинской породы китайской селекции и более высокий уровень экспрессии альтернативно сплайсированного транскрипта у коров, больных маститом, по сравнению со здоровыми животными (Yang et al., 2012). Был обнаружен новый вариант сплайсинга транскрипта CD46 (CD46-TV), при котором сохранялась последовательность длиной 48 п.н. из 8-го интрона гена CD46, в результате чего белок CD46 был удлинён на 16 аминокислотных остатков (Wang et al., 2014). CD46 принадлежит к семейству регуляторов системы комплемента и участвует в активации Т-лимфоцитов. При этом экспрессия альтернативно сплайсированного транскрипта CD46-TV в молочной железе была выше у коров, больных маститом, по сравнению со здоровыми животными.

В настоящее время в базе данных Ensembl <https://www.ensembl.org/Bos_taurus/Info/Index> аннотировано несколько десятков SNP, которые могут приводить к изменению структуры белков врожденного иммунитета вследствие альтернативного сплайсинга мРНК, однако данные предположения требуют экспериментального подтверждения с использованием генно-инженерных подходов.

Появление в последние десятилетия технологий высокопроизводительного секвенирования ДНК и РНК (NGS) (Heather, Chain 2016; Stark et al., 2019) и ДНК-чипов (Bumgarner, 2013) позволили перейти от изучения отдельных мутаций к полногеномному поиску генов-кандидатов, связанных с экономически важными признаками у сельскохозяйственных животных. Так, метод NGS был использован для идентификации коротких нуклеотидных вариантов (Short Nucleotide Variants, SNVs) в генах коллектинов (FCN1, MBL2, SFTPD, CGN, CL46, CL43) и в регуляторных участках генома КРС, связанных с маститом и рядом других инфекционных заболеваний (Fraser et al., 2018). В результате было выявлено 74 SNV, ассоциированных с инфекционными заболеваниями, большинство из которых были сгруппированы в сегменте длиной 29 т.п.н. перед локусом коллектинов на хромосоме 28.

Проведенный *in silico* анализ выявил 11 SNV с негативным воздействием на структуру и/или функцию белка, 148 SNV – в потенциальных сайтах связывания транскрипционных факторов и 31 SNV – в потенциальных сайтах связывания miRNA. Обнаруженные SNP в генах коллектинов (rs382216843, rs210611099, rs380240341, rs208842091, rs383278255, rs42967143, rs211678602) (табл. 1) были предложены в качестве генетических маркеров восприимчивости КРС к маститу и другим инфекционным заболеваниям (Fraser и др. 2018).

Были проведены полногеномные ассоциативные исследования (GWAS, Genome-Wide Association Studies) на основе генотипирования 103585 коров и 1361 быков голштинской породы с помощью ДНК-чипов BovineSNP50 BeadChip (Illumina) (Tiezzi et al., 2015). Анализ ассоциаций подтвердил, что устойчивость к клиническому маститу имеет высокополигенный тип наследования. Были выявлены области на хромосомах 2, 14 и 20, связанные с генетической

предрасположенностью к маститу. Среди них гены LY6K, LY6D, LYNX1, LYPD2, SLURP1, PSCA, расположенные на хромосоме 14, относятся к семейству генов лимфоцитарного антигена б (Lymphocyte Antigen-6, LY6) и участвуют в регуляции дифференцировки нейтрофилов. Гены IFIH1, LY75, DPP4, ITGB6 и NR4A2, расположенные на хромосоме 2, также участвуют в регуляции иммунного ответа. Другие выявленные гены-кандидаты связаны с метаболизмом молочной железы (GHR, OXCT1), выработкой антител и фагоцитозом бактериальных клеток (C6, C7, C9, C1QTNF3), инволюцией эпителия молочной железы и воспалительным ответом (OSMR), регуляцией цитокинов (PRLR) (Tiezzi et al., 2015). Стоит отметить, что позже гены C6, C7, C9 и OSMR были предложены в качестве ДНК-маркеров устойчивости к маститу у овец (Banos et al., 2017).

В 2014 г. сообщалось о двух потенциальных генах-кандидатах, GC и NPFFR2, связанных с устойчивостью к маститу, которые кодируют предшественник белка, связывающего витамин D, и нейропептидный рецептор FF2, соответственно (Sahana et al., 2014). Эти же два гена-кандидата были идентифицированы в результате полногеномных ассоциативных исследований 3-х пород КРС – голштинской, норвежской красной и датской джерсейской (Zhang et al., 2016). Кроме того, ген GC был выявлен в качестве гена-кандидата устойчивости к маститу в результате GWAS-анализа популяции коров северной голштинской породы (Nordic Holstein) (Cai et al., 2018), а ген NPFFR2 - при генотипировании с помощью ДНК-чипов BovineSNP50 BeadChip (Illumina) и ассоциативных исследованиях коров датской голштинской породы (Wu et al., 2015).

В 2015 г. были идентифицированы ещё два гена (TRAPPC9 и ARHGAP39), ассоциированных с маститом у коров голштинской породы китайской селекции (Wang et al., 2015). Ген TRAPPC9 кодирует белок NIBP (NIK и IKK β -связывающий белок) (Hu et al., 2005), который участвует в регуляции сигнального пути NF- κ B, индуцируемого цитокинами. Транскрипционный фактор NF- κ B контролирует большую группу генов, отвечающих за воспалительный процесс и развитие В-лимфоцитов, в также является компонентом сигнального пути Toll-подобных рецепторов (Thu и Richmond, 2010; Rahman и McFadden, 2011).

Функции белка ARHGAP39 (Rho GTPase-activating protein 39) мало изучены. Известно, что он активирует сигнальные белки *Rho* ГТФазы, которые играют важную роль в клеточной пролиферации, апоптозе, экспрессии генов и других клеточных процессах (Bougeux et al., 2007). В том же году были обнаружены пять генов-кандидатов предрасположенности к маститу (NPFFR2, SLC4A4, DCK, LIFR и EDN3) у коров датской голштинской породы (Wu et al., 2015) и подтверждены результаты предыдущих исследований о связи генов SLC4A (Sodeland et al., 2011), DCK (Abdel-Shafy et al., 2014), NPFFR2 и GC (Sahana et al., 2014; Abdel-Shafy et al., 2014) с клиническим маститом у коров.

Анализ GWAS был проведен для 993 коров датской голштинской породы для выявления SNP, связанных с предрасположенностью к маститу и результативностью противомаститной терапии (Welderufael et al., 2018). Гены MAST3 и STAB2, участвующие в развитии лимфоцитов, и гены PDGFD и PTX3, вовлечённые в рекрутинг макрофагов и регуляцию воспалительных реакций, были предложены в качестве генов-кандидатов устойчивости к маститу

С использованием этого же метода было проведено исследование популяции коров голштинской породы китайской селекции и идентифицировано 10058 SNP, из которых были выделены три значимых SNP (rs75762330 C>T в гене PTK2B; rs88640083 A>G в гене SYK; rs20438858 G>A TNFRSF21), которые располагались в некодирующих областях генома (интронах и межгенных участках) (Yang et al., 2018). Из них SNP в генах PTK2B и SYK были ассоциированы с восприимчивостью к маститу, TNFRSF21 - с устойчивостью к нему.

PTK2B (тирозиновая протеинкиназа 2B) регулирует гуморальный иммунный ответ и гомеостаз клеток врожденного иммунитета, участвует в регуляции сигнального пути TLR4 и продукции IL-10 в макрофагах, а также влияет на миграцию дендритных клеток (Kamen et al., 2011; Racioppi et al., 2012). SYK (нерецепторная тирозинкиназа) является важным регуляторным фактором сигнального пути TLR4 (Schweighoffer et al., 2017), опосредованно влияет на секрецию интерлейкина-1 β (IL-1 β) в дендритных клетках и участвует как в воспалительных, так и противовоспалительных ответах (Lin et al., 2013; Yin et al., 2016). Кроме того, было показано, что

SYK участвует в регуляции пролиферации эпителиальных клеток молочной железы у коров (Hou et al., 2016). TNFRSF21 (рецептор фактора некроза опухоли 21) участвует в сигнальном пути NF-κB, который регулирует распознавание патогенов и индукцию воспалительной реакции и иммунного ответа (Rahman, McFadden, 2011).

Позже были изучены уровни экспрессии генов SYK, PTK2B и TNFRSF21 у животных, здоровых и больных маститом (Yang et al., 2019), и обнаружено, что у больных животных экспрессия генов SYK и PTK2B была значительно подавлена по сравнению с контрольной группой, в то время как уровень экспрессии гена TNFRSF21 был повышен (Yang et al., 2018).

На основе результатов GWAS и секвенирования ПНК было выявлено 115 генов-кандидатов устойчивости к маститу у КРС голштинской породы, из которых гены *CYP4X1*, *LALBA*, *NFKB1*, *CSNIS2*, *PF4*, *EREG*, *VAV1*, *IL1R2*, *HCK*, *BPIFA1*, *BPIFB1*, *TNFRSF18*, *DHX58*, *KCNH4*, *TTC23L*, *PLA2G7*, *CXCL13* и *CXCL2* напрямую регулируют иммунный ответ (Cai et al., 2018). Следует отметить, что связь гена *CXCL2*, а также генов *CXCL3*, *CXCL1*, *CXCL5* и *CXCL8* с маститом была обнаружена и у коров норвежской красной породы (Kirsanova et al., 2020). Эти гены кодируют хемокины семейства CXCL, которые являются основными медиаторами воспалительной реакции и действуют как хемотаксические факторы, направляя нейтрофилы к месту инфекции (Watson, 2002).

Ранее в 5'-нетранслируемом участке гена *CXCL8* (интерлейкин-8, IL-8) у коров голштинской породы китайской селекции был обнаружен SNP 105G>A, который имел значимую ассоциацию с маститом. Было показано, что у коров с генотипом GG количество соматических клеток в молоке было значительно ниже, а количество мПНК и самого интерлейкина-8 значительно больше, чем у животных с генотипами GA и AA. Эти результаты дали основание авторам предположить, что генотип GG может быть полезным генетическим маркером устойчивости коров к маститу (Chen et al., 2015).

SNP, связанные с маститом, были также обнаружены в гене *CXCR1*, кодирующем рецептор α интерлейкина-8 (Pokorska et al., 2016) и гене *MAP4K4* (Bhatarai et al., 2017). Так, была обнаружена связь несинонимичной мутации с.+365T>C в гене *CXCR1*, приводящей к замене аланина на валин в 122-ом положении белковой молекулы, с восприимчивостью к маститу коров голштинской породы (Pokorska et al., 2016). В 18-ом экзоне гена *MAP4K4* было найдено два SNP (с.2061T>G и с.2196T>C) и показано, что у животных с генотипами TT по обоим SNP количество соматических клеток были значительно выше по сравнению с животными с другими генотипами (Bhatarai et al., 2017).

В 2019 г. были проведены полногеномные ассоциативные исследования коров голштинской породы, устойчивых (n=15) и восприимчивых (n=28) к маститу, и идентифицировали 117 SNP и двадцать семь локусов количественных признаков (QTL, Quantitative Trait Loci) устойчивости коров к маститу (Kurz et al., 2019). Один QTL включал в себя ген *RASGRP1* (RAS-гуанил-высвобождающего белка 1), регулирующий дифференцировку, развитие и гомеостаз Т- и В-лимфоцитов (Salzer et al., 2016), который был предложен авторами в качестве гена-кандидата устойчивости к маститу. Позже в модельном эксперименте было показано, что в эпителиальных клетках коров, инфицированных бактериями *Escherichia coli*, экспрессия гена *RASGRP1* была значительно подавлена по сравнению с контролем (Li et al., 2021). Информация по идентифицированным генам-кандидатам, связанным с устойчивостью к маститу, обобщена в Приложении.

Заключение

Таким образом, полученные на сегодняшний день результаты свидетельствуют о полигенном типе наследования устойчивости крупного рогатого скота к маститу, при этом большинство идентифицированных генов-кандидатов кодируют белки врождённого иммунитета. Однако необходимы дальнейшие исследования по валидации выявленных генов-кандидатов и их аллельных вариантов как генетических маркеров устойчивости крупного рогатого скота к маститу, которые могут быть использованы в селекционной практике.

ПРИЛОЖЕНИЕ.

Гены-кандидаты устойчивости КРС к маститу

Ген	SNP	Роль в иммунном ответе	Ссылка
CYP4X1		Гуморальный иммунный ответ	Cai et al., 2018
AOAH		Регуляция воспалительного ответа	Cai et al., 2018
BIN2		Участие в врожденном иммунном ответе	Cai et al., 2018
LALBA	rs41655922	Противобактериальная защита	Cai et al., 2018
SLC6A12		н.у. *	Cai et al., 2018
NFKB1	rs380325826	Участие в реакциях врождённого иммунитета	Cai et al., 2018
PDGFRA	rs383420156	н.у.	Cai et al., 2018
CSN2	rs383420156	н.у.	Cai et al., 2018
CSN1S2	rs383420156	Противобактериальная защита	Cai et al., 2018
PF4	rs109803407	Участие в реакциях врождённого иммунитета	Cai et al., 2018
CXCL2	rs109803407	Участие в реакциях врождённого иммунитета	Cai et al., 2018; Kirsanova et al., 2020
EREG		Регуляция иммунного ответа	Cai et al., 2018
SHROOM3		н.у.	Cai et al., 2018
CXCL13		Воспалительный ответ, противобактериальная защита	Cai et al., 2018
FBN3		н.у.	Cai et al., 2018
VAV1		Участие в иммунном ответе, аномальная дифференциация Т-лимфоцитов	Cai et al., 2018
TAGAP		н.у.	Cai et al., 2018
SLC28A2		н.у.	Cai et al., 2018
IL1R2		Воспалительный ответ, негативная регуляция иммунного ответа Т-хелперов типа 1	Cai et al., 2018
IL1RL1		Воспалительный ответ , негативная регуляция иммунного ответа Т-хелперов типа 1	Cai et al., 2018
IL18RAP		Воспалительный ответ	Cai et al., 2018
PDIA6		н.у.	Cai et al., 2018
SIRPA		Уменьшение количество Т-лимфоцитов	Cai et al., 2018
ANGPT4		н.у.	Cai et al., 2018
CCM2L		Заживление ран	Cai et al., 2018
HCK		Врождённый иммунный ответ	Cai et al., 2018
BPIFA1		Врождённый иммунный ответ, повышенная чувствительность к бактериальной инфекции	Cai et al., 2018
BPIFB1		Врождённый иммунный ответ	Cai et al., 2018
ACOT7		н.у.	Cai et al., 2018
TNFRSF18		Иммунный ответ, Воспалительный ответ Повышенная пролиферация Т-клеток	Cai et al., 2018
HPN		н.у.	Cai et al., 2018
DHX58		Аномальный ответ на инфекцию, повышенный апоптоз Т-лимфоцитов	Cai et al., 2018
KCNH4		Защитный ответ на бактерию Уменьшенное количество НК Т-клеток	Cai et al., 2018

Продолжение таблицы

STAT3		Повышенная восприимчивость к бактериальной инфекции	Cai et al., 2018
PLEKHH3		н.у.	Cai et al., 2018
ITGB3		н.у.	Cai et al., 2018
MROH2B		Снижение пролиферации Т-лимфоцитов	Cai et al., 2018
TTC23L		Отрицательная регуляция врожденного иммунного ответа	Cai et al., 2018
PLA2G7		Повышенная восприимчивость к бактериальной инфекции	Cai et al., 2018
CDIP1		Заживление ран	Cai et al., 2018
ORAI2		Активация Т-лимфоцитов	Cai et al., 2018
CRTAC1		н.у.	Cai et al., 2018
SCD		н.у.	Cai et al., 2018
RASGRP1		Воспалительный ответ, активация NK-лимфоцитов	Kurz et al., 2019
PTK2B	rs75762330	Регуляция иммунного ответа	Yang et al., 2018
SYK	rs88640083	Регуляция иммунного ответа	Yang et al., 2018; Yang et al., 2019
TNFRSF21	rs20438858	Регуляция иммунного ответа	Yang et al., 2018; Yang et al., 2019
MAST3		н.у.	Welderufael et al., 2018
STAB2		Положительная регуляция лимфангиогенеза	Welderufael et al., 2018
PDGFD		н.у.	Welderufael et al., 2018
PTX3		Реакции врожденного иммунитета	Welderufael et al., 2018
TRAPPC9		н.у.	Wang et al., 2015
ARHGAP39		н.у.	Wang et al., 2015
SLC4A4		н.у.	Wu et al., 2015; Sodeland et al., 2011
DCK		н.у.	Wu et al., 2015; Abdel-Shafy et al., 2014
LIFR		н.у.	Wu et al., 2015
EDN3		н.у.	Wu et al., 2015
CXCR1		Регуляция воспалительного ответа	Pokorska et al., 2016
MAP4K4		Врожденный иммунитет	Bhattarai et al., 2017
GC	rs109803407	н.у.	Sahana et al., 2014; Zhang et al., 2016; Cai et al., 2018; Abdel-Shafy et al., 2014
NPFFR2		Модулирует пролиферацию Т- лимфоцитов	Sahana et al., 2014; Zhang et al., 2016; Wu et al., 2015
LY6D		Дифференцировка лимфоцитов	Tiezzi et al., 2015
LYNX1		Дифференцировка лимфоцитов	Tiezzi et al., 2015
LYPD2		Дифференцировка лимфоцитов	Tiezzi et al., 2015
SLURP1		Дифференцировка лимфоцитов	Tiezzi et al., 2015
PSCA		Дифференцировка лимфоцитов	Tiezzi et al., 2015
IFIH1		Регуляции иммунного ответа	Tiezzi et al., 2015
LY75		Регуляции иммунного ответа	Tiezzi et al., 2015
DPP4		Регуляции иммунного ответа	Tiezzi et al., 2015

Продолжение таблицы

ITGB6		Регуляции иммунного ответа	Tiezzi et al., 2015
NR4A2		Регуляции иммунного ответа	Tiezzi et al., 2015
C6		Выработка антител, фагоцитоз бактериальных клеток	Tiezzi et al., 2015
C7		Выработка антител, фагоцитоз бактериальных клеток	Tiezzi et al., 2015
C9		Выработка антител, фагоцитоз бактериальных клеток	Tiezzi et al., 2015
C1QTNF3		Выработка антител, фагоцитоз бактериальных клеток	Tiezzi et al., 2015
PRLR		Регуляцией цитокинов	Tiezzi et al., 2015
MBL1	rs110326717	Врожденный иммунитет Врожденный иммунитет	Wang et al., 2011 Liu et al., 2011; Yuan et al., 2012
TLR4		Врожденный иммунитет	Girish et al., 2015 de Mesquita et al., 2012
TLR2		Врожденный иммунитет	Elmaghraby et al., 2018 Zhang et al., 2009
BRCA1	c.46126G>T	н.у.	Yuan et al., 2012
BRCA1	C28300A	н.у.	Yuan et al., 2012
C4A	rs132741478 rs137485678	Компонент системы комплемента	Yang et al., 2012
CACNA2D1	A526745G	н.у.	Yuan et al., 2011
CARD15 (NOD2)	rs43710288	Обнаружение бактерий	Pant et al., 2007
Lf	g.4432T>C	Противомикробная активность	Huang et al., 2010
FCN1	rs382216843	Врожденный иммунитет	Fraser et al., 2018
MBL2	rs210611099	Врожденный иммунитет	Wang et al., 2012 Zhao et al., 2012
SFTPD	rs380240341	Врожденный иммунитет	Fraser et al., 2018
CGN	rs208842091	Врожденный иммунитет	Fraser et al., 2018
CL46	rs383278255 rs42967143	Врожденный иммунитет	Fraser et al., 2018
CL43	rs211678602	Врожденный иммунитет	Fraser et al., 2018
CXCL8 (IL-8)		Медиатор воспалительной реакции	Chen et al., 2015 Kirsanova et al., 2020;

Работа выполнена в рамках Государственного задания Минобрнауки России №121052600344-8.

References

1. Abdel-Shafy H., Bortfeldt R.H., Tetens J., Brockmann G.A. Single nucleotide polymorphism and haplotype effects associated with somatic cell score in German Holstein cattle. *Genet. Sel. Evol.* 2014. 46: 35. (DOI: 10.1186/1297-9686-46-35.)
2. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signaling. *Nat Rev Immunol.* 2004. 4(7): 499-511.
3. Bai J., Lin J., Li W., Liu M. Association of toll-like receptor 2 polymorphisms with somatic cell score in Xinjiang Brown cattle. *Anim. Sci. J.* 2012. 83: 23-30.
4. Bhattarai D., Chen X., Ur Rehman Z., Hao X., Ullah F., Dad R., Talpur H.S., Kadariya I., Cui L., Fan M., Zhang S. Association of MAP4K4 gene single nucleotide polymorphism with mastitis and milk traits in Chinese Holstein cattle. *J. Dairy Res.* 2017. 84(1): 76-79.

5. Boureux A., Vignal E., Faure S., Fort P. Evolution of the Rho family of ras-like GTPases in eukaryotes. *Mol Biol Evol.* 2007. 24(1): 203-216.
6. Bramis G.G., Bush, S.J., Clark E. L., McCulloch E.B.M., Smith J., Schulze G., Arsenos G., Hume D. A., Psifidi A. The genomic architecture of mastitis resistance in dairy sheep. *BMC Genomics.* 2017. 18: 624. <<https://doi.org/10.1186/s12864-017-3982-1>>
7. Bronzo V., Lopreiato V., Riva F., et al. The role of innate immune response and microbiome in resilience of dairy cattle to disease: the mastitis model. *Animals (Basel).* 2020. 10(8): 1397. DOI: 10.3390/ani10081397.
8. Bumgarner R. Overview of DNA microarrays: types, applications, and their future. *Curr Protoc Mol Biol.* 2013. Chapter 22. Unit 22.1. DOI: 10.1002/0471142727.mb2201s101.
9. Cai Z., Guldbrandtsen B., Lund M.S. et al. Prioritizing candidate genes post-GWAS using multiple sources of data for mastitis resistance in dairy cattle. *BMC Genomics.* 2018. 19: 656. DOI: 10.1186/s12864-018-5050-x.
10. Chacko E., Ranganathan S. Genome-wide analysis of alternative splicing in cow: implications in bovine as a model for human diseases. *BMC Genomics.* 2009. 10(Suppl. 3): S11. DOI: 10.1186/1471-2164-10-S3-S11
11. Chen R., Wang Z., Yang Z., Zhu X., Ji D., Mao Y. Association of IL8 -105G/A with mastitis somatic cell score in Chinese Holstein dairy cows. *Anim Biotechnol.* 2015. 26(2): 143-147.
12. Côté-Gravel J., Malouin F. Symposium review: Features of *Staphylococcus aureus* mastitis pathogenesis that guide vaccine development strategies. *J. Dairy Sci.* 2019. 102(5): 4727-4740.
13. Creagh E.M., O'Neill L.A. TLRs, NLRs and RLRs: a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity. *Trends Immunol.* 2006. 27(8): 352-357.
14. Dahl M.O., De Vries A., Maunsell F.P., Galvao K.N., Risco C.A., Hernandez J.A. Epidemiologic and economic analyses of pregnancy loss attributable to mastitis in primiparous Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 2018. 101(11): 10142-10150.
15. de Mesquita A.Q., Rezende C.S., de Mesquita A.J., Jardim E.A., Kipnis A.P. Association of TLR4 polymorphisms with subclinical mastitis in Brazilian holsteins. *Braz. J. Microbiol.* 2012. 43(2): 692-697.
16. Dec M., Wernicki A. Conglutinin, CL-43 and CL-46-three bovine collectins. *Pol. J. Vet. Sci.* 2006. Vol. 9(4): 265-275.
17. Detilleux J., Kastelic J.P., Barkema H.W. Mediation analysis to estimate direct and indirect milk losses due to clinical mastitis in dairy cattle. *Prevent. Vet. Med.* 2015. 118(4): 449-456.
18. Elmaghraby M.M., El-Nahas A.F., Fathala M.M., Sahwan F.M., Tag El-Dien M.A. Association of toll-like receptors2 and 6 polymorphism with clinical mastitis and production traits in Holstein cattle. *Iran J. Vet. Res.* 2018. 19(3): 202-207.
19. Fraser R.S., Lumsden J.S., Lillie B.N. Identification of polymorphisms in the bovine collagenous lectins and their association with infectious diseases in cattle. *Immunogenetics.* 2018. 70(8): 533-546.
20. Girish H., Sivaselvam S.N., Karthickeyan S.M.K. et al. TLR4 gene polymorphism and its association with mastitis resistance in indigenous and crossbred cattle of Tamil Nadu, India. *J. Dairy Vet. Anim. Res.* 2016. 3(1): 32-35.
21. Girish H., Sivaselvam S.N., Karthickeyan S.M.K., Rahumathulla P. Association of toll-like receptor gene polymorphism with somatic cell score in indigenous, crossbred Jersey and crossbred Holstein Friesian cattle. *Europ. J. Molec. Biol.*
22. Hansen P.J., Soto P., Natzke R.P. Mastitis and fertility in cattle - possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2004. 51(4): 294-301.
23. Hartshorn K.L., Sastry K.N., Chang D., White M.R., Crouch E.C. Enhanced anti-influenza activity of a surfactant protein D and serum conglutinin fusion protein. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2000. 278: 90-98.
24. Hartshorn K.L., U. Holmskov, S. Hansen, P. Zhang, J. Meschi, T. Mogue, M.R. White, E.C. Crouch distinctive anti-influenza properties of recombinant collectin 43. *Biochem. J.* 2002. 366: 87-96.
25. Heather J.M., Chain B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics.* 2016. 107(1): 1-8.
26. Holmskov U.L. Collectins and collectin receptors in innate immunity. *APMIS Suppl.* 2000. 100: 1-59.
27. Hou X., Lin L., Xing W., Yang Y., Duan X., Li Q., Gao X., Lin Y. Spleen tyrosine kinase regulates mammary epithelial cell proliferation in mammary glands of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2016. 99: 3858-3868.
28. Hu W.H., Pendergast J.S., Mo X.M., Brambilla R., Bracchi-Ricard V., Li F., Walters W.M., Blits B., He L., Schaal S.M., Bethea J.R. NIBP, a novel NIK and IKK(beta)-binding protein that enhances NF-(kappa)B activation. *J. Biol. Chem.* 2005. 280(32): 29233-29241.
29. Huang J., Wang H., Wang C., Li J., Li Q., Hou M., Zhong J. Single nucleotide polymorphisms, haplotypes and combined genotypes of lactoferrin gene and their associations with mastitis in Chinese Holstein cattle. *Mol. Biol. Rep.* 2010. 37(1): 477-483.

30. Ishii K.J., Koyama S., Nakagawa A., Coban C., Akira S. Host innate immune receptors and beyond: making sense of microbial infections. *Cell. Host Microbe*. 2008. 3(6): 352-363.
31. Ju Z., Wang C., Li Q. et al. Alternative splicing and mRNA expression analysis of bovine SLAMF7 gene in healthy and mastitis mammary tissues. *Mol. Biol. Rep.* 2012. 39: 4155-4161.
32. Kamen L.A., Schlessinger J., Lowell C.A. Pyk2 is required for neutrophil degranulation and host defense responses to bacterial infection. *J. Immunol.* 2011. 186: 1656-1665.
33. Keren H., Lev-Maor G., Ast G. Alternative splicing and evolution: diversification, exon definition and function. *Nat. Rev. Genet.* 2010. 11: 345-355.
34. Kirsanova E., Heringstad B., Lewandowska-Sabat A., Olsaker I. Identification of candidate genes affecting chronic subclinical mastitis in Norwegian Red cattle: combining genome-wide association study, topologically associated domains and pathway enrichment analysis. *Anim. Genet.* 2020. 51(1): 22-31.
35. Kurz J.P., Yang Z., Weiss R.B. et al. A genome-wide association study for mastitis resistance in phenotypically well-characterized Holstein dairy cattle using a selective genotyping approach. *Immunogenetics.* 2019. 71: 35-47.
36. Li T.; Lin C.; Zhu Y.; Xu, .; Yin Y.; Wang C.; Tang X.; Song T.; Guo A.; Chen Y.; Hu C. Transcriptome profiling of m6A mRNA modification in bovine mammary epithelial cells treated with Escherichia coli. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. 22(12): 6254. <<https://doi.org/10.3390/ijms22126254>>
37. Lillie B.N., Brooks A.S., Keirstead N.D., Hayes M.A. Comparative genetics and innate immune functions of collagenous lectins in animals. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2005. 108: 97-110.
38. Lin Y.C., Huang D.Y., Chu C.L., Lin Y.L., Lin W.W. The tyrosine kinase Syk differentially regulates Toll-like receptor signaling downstream of the adaptor molecules TRAF6 and TRAF3. *Sci. Signal.* 2013. 6(289): ra71. DOI: 10.1126/scisignal.2003973.
39. Lillie B.N., Brooks A.S., Keirstead N.D., Hayes M.A. Comparative genetics and innate immune functions of collagenous lectins in animals. *Vet. Immunol. Immunopath.* 2005. 108: 97-110.
40. Liu J., Ju Z., Li Q., Huang J., Li R., Li J., Ma L., Zhong J., Wang C. Mannose-binding lectin 1 haplotypes influence serum MBL-A concentration, complement activity, and milk production traits in Chinese Holstein cattle. *Immunogenetics.* 2011. 63: 727-742.
41. Pant S.D., Schenkel F.S., Leyva-Baca I., Sharma B.S., Karrow N.A. Identification of single nucleotide polymorphisms in bovine CARD15 and their associations with health and production traits in Canadian Holsteins. *BMC Genomics.* 2007. 8: 421. DOI: 10.1186/1471-2164-8-421.
42. Pokorska J., Dusza M., Kulaj D., Zukowski K. and Makulska J. Single nucleotide polymorphisms in the CXCR1 gene and its association with clinical mastitis incidence in Polish Holstein-Friesian cows. *Genet. Mol. Res.* 2016. 15(2): gmr.15027247. DOI: 10.4238/gmr.15027247.
43. Racioppi L., Noeldner P.K., Lin F., Arvai S., Means A.R. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2 regulates macrophage-mediated inflammatory responses. *J. Biol. Chem.* 2012. 287: 11579-11591.
44. Rahman M.M., McFadden G. Modulation of NF- κ B signalling by microbial pathogens. *Nat. Rev. Microbiol.* 2011. 9: 291-306.
45. Reading P.C., Holmskov U., Anders E.M. Antiviral activity of bovine collectins against rotaviruses. *J. Gen. Virol.* 1998. 79: 2255-2263.
46. Sadeghi-Sefidmazgi A., Moradi-Shahrbabak M., Nejati-Javaremi A., Miraei-Ashtiani S.R., Amer P.R. Estimation of economic values and financial losses associated with clinical mastitis and somatic cell score in Holstein dairy cattle. *Animal.* 2011. 5(1): 33-42.
47. Sahana G., Guldbbrandtsen B., Thomsen B., Holm L.-E., Panitz F., Brøndum R.F., Bendixen C., Lund M.S. Genome-wide association study using high-density single nucleotide polymorphism arrays and whole-genome sequences for clinical mastitis traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2014. 97(11): 7258-7275.
48. Salzer E., Cagdas D., Hons M. et al. RASGRP1 deficiency causes immunodeficiency with impaired cytoskeletal dynamics. *Nat. Immunol.* 2016. 17: 1352-1360.
49. Schweighoffer E., Nys J., Vanes L., Smithers N., Tybulewicz V.L.J. TLR4 signals in B lymphocytes are transduced via the B cell antigen receptor and SYK. *J. Exp. Med.* 2017. 214: 1269-1280.
50. Sodeland M., Kent M.P., Olsen H.G., Opsal M.A., Svendsen M., Sehested E., Hayes B.J., Lien S. Quantitative trait loci for clinical mastitis on chromosomes 2, 6, 14 and 20 in Norwegian Red cattle. *Anim Genet.* 2011. 42: 457-465.
51. Stark R., Grzelak M. & Hadfield J. RNA sequencing: the teenage years. *Nat. Rev. Genet.* 2019. 20: 631-656.
52. Thu Y.M., Richmond A. NF- κ B inducing kinase: a key regulator in the immune system and in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010. 21(4): 213-226.

53. Tiezzi F., Parker-Gaddis K.L., Cole J.B., Clay J.S., Maltecca C. A genome-wide association study for clinical mastitis in first parity US Holstein cows using single-step approach and genomic matrix re-weighting procedure. *PLoS One*. 2015. 10(2): e0114919. DOI: 10.1371/journal.pone.0114919.
54. Vlasova A.N., Saif L.J. Bovine immunology: implications for dairy cattle. *Front. Immunol.* 2021. 12: 643206.
55. Wang C., Liu M., Li Q., Ju Z., Huang J., Li J., Wang H., Zhong J. Three novel single-nucleotide polymorphisms of MBL1 gene in Chinese native cattle and their associations with milk performance traits. *Vet. Immun. Immunopath.* 2011. 139: 229-236.
56. Wang X., Ju Z., Huang J., Hou M., Zhou L., Qi C., Zhang Y., Gao Q., Pan Q., Li G., Zhong J., Wang C. The relationship between the variants of the bovine MBL2 gene and milk production traits, mastitis, serum MBL-C levels and complement activity. *Vet. Immun. Immunopath.* 2012. 148(3-4): 311-319.
57. Wang X., Zhong J., Gao Y., Ju Z., Huang J. A SNP in intron 8 of CD46 causes a novel transcript associated with mastitis in Holsteins. *BMC Genomics.* 2014. 15(1): 630.
58. Wang X., P. Ma, J. Liu, Q. Zhang, Y. Zhang et al. Genome-wide association study in Chinese Holstein cows reveal two candidate genes for somatic cell score as an indicator for mastitis susceptibility. *BMC Genet.* 2015. 16: 111. DOI: 10.1186/s12863-015-0263-3
59. Watson M.L. Chemokines-linking receptors to response. *Immunology.* 2002. 105(2): 121-124.
60. Welderufael B.G., Løvendahl P., de Koning D.J., Janss L.L.G., Fikse W.F. Genome-wide association study for susceptibility to and recoverability from mastitis in Danish Holstein cows. *Front. Genet.* 2018. 9: 141. DOI: 10.3389/fgene.2018.00141
61. West A.P., Koblansky A.A., Ghosh S. Recognition and signaling by Toll-like receptors. *Ann. Rev. Cell. Dev. Biol.* 2006. 22: 409-437.
62. Wu X., Lund M.S., Sahana G. et al. Association analysis for udder health based on SNP-panel and sequence data in Danish Holsteins. *Genet. Sel. Evol.* 2015. 47(1): 50. DOI: 10.1186/s12711-015-0129-1.
63. Xiang R., Hayes B.J., Vander Jagt C.J. et al. Genome variants associated with RNA splicing variations in bovine are extensively shared between tissues. *BMC Genomics.* 2018. 19: 521.
64. Yang F., Chen F., Li L., Yan L., Badri T., Lv C., Yu D., Chen J., Xing C., Li J., Wang G., Li H., Li J., Cali Y. GWAS using 2b-RAD sequencing identified three mastitis important SNPs via two-stage association analysis in Chinese Holstein cows. *BioRev.* 2018: 434340. DOI: 10.1101/434340.
65. Yang Y., Huang J.M., Ju Z.H., et al. Increased expression of a novel splice variant of the complement component 4 (C4A) gene in mastitis-infected dairy cattle. *Genet. Mol. Res.* 2012. 11(3): 2909-2916.
66. Yuan Z., Li J., Li J., Gao X., Xu S. SNPs identification and its correlation analysis with milk somatic cell score in bovine MBL1 gene. *Mol. Biol. Rep.* 2012. 40(1): 7-12.
67. Yuan Z.R., Li, J., Liu L., Zhang L.P., Zhang L.M., Chen C., Chen X.J., Gao X., Li J.Y., Chen J.B., Gao H.J., Xu S.Z. Single nucleotide polymorphism of CACNA2D1 gene and its association with milk somatic cell score in cattle. *Mol. Biol. Rep.* 2011. 38(8): 5179-5183.
68. Zhang L.P., Gan Q.F., Ma T.H., Li H.D., Wang X.P., Li J.Y., Gao X., Chen J.B., Ren H.Y., Xu S.Z. Toll-like receptor 2 gene polymorphism and its relationship with SCS in dairy cattle. *Anim. Biotechnol.* 2009. 20(3): 87-95.
69. Zhang Q., Gulbrandsen B., Thomasen J. R., Lund M. S. and Sahana G. Genome-wide association study for longevity with whole-genome sequencing in 3 cattle breeds. *J. Dairy Sci.* 2016. 99(9): 7289-7298.
70. Zhao Z.L., Wang C.F., Li Q.L., Ju Z.H., Huang J.M., Li J.B., Zhong J.F. and Zhang J.B. Novel SNPs of the mannan-binding lectin 2 gene and their association with production traits in Chinese Holsteins. *Genet. Mol. Res.* 2012. 11(4): 3744-3754.

:

DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2021.3.20-31

Candidate genes for mastitis resistance in cattle: a review

Kovalchuk S.N

*Institute of Innovative Biotechnologies in Animal Husbandry – branch of Ernst Federal
Research Center for Animal Husbandry, Russian Federation*

ABSTRACT. Bovine mastitis causes significant economic losses in dairy farming worldwide due to decrease of milk yield, culling of milk, treatment costs and reduce of cows' fertility. For this reason, the search for genetic markers for mastitis resistance in cattle is of current interest for their use in breeding practice. This review summarizes the results of studies on the identification of candidate genes for mastitis resistance in cattle, which were obtained with use of methods of genotyping single nucleotide polymorphisms in single genes and genome-wide association studies.

Keywords: cattle, mastitis, candidate genes, genotyping, GWAS, SNP.

Problemy biologii productivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology, 2021, 3: 20-31.

Поступило в редакцию: 17.08.2021

Получено после доработки: 17.09.2021

Ковальчук Светлана Николаевна, к.б.н., зав. отд., тел. раб. 8(495)610-21-31, моб. 89169269037;
s.n.kovalchuk@mail.ru