



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **151429** (13) **U**
(51) МПК (2022.01)
A61K 39/12 (2006.01)
C12N 7/00
C12Q 1/68 (2018.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2022 00379	(72) Винахідник(и): Супрович Тетяна Михайлівна (UA), Супрович Микола Петрович (UA), Данчук Олексій Володимирович (UA), Строяновська Лілія Василівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 31.01.2022	
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 21.07.2022	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 20.07.2022, Бюл.№ 29	(73) Володілець (володільці): ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Канатна, 99, м. Одеса, Одеська обл., 65039 (UA)

(54) СПОСІБ ВИЯВЛЕННЯ СТІЙКОСТІ/СХИЛЬНОСТІ ДО МАСТИТУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ У РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ

(57) Реферат:

Спосіб виявлення стійкості/схильності до маститу великої рогатої худоби у ранньому постнатальному онтогенезі включає аналіз лімфоцитарних антигенів та алелів ДНК, як маркерів для прогнозування чутливості теличок до маститів до постановки в робоче стадо. Визначають генетичні маркери на основі лімфоцитарних антигенів I класу та алелі екзона 2 гена BoLA-DRB3 II головного комплексу гістосумісності. Встановлюють генетичний статус тварини на основі інтегральної оцінки за статусметричною моделлю.

UA 151429 U

Корисна модель належить до галузі біотехнології і може бути використана у селекції тварин, зокрема для виявлення стійкості/схильності до маститу великої рогатої худоби у ранньому постнатальному онтогенезі.

Відомий спосіб визначення стійкості до маститу великої рогатої худоби, який включає виявлення у зразку ДНК щонайменше одного генетичного маркера, розташованого на хромосомі BTA11 в області, яка фланкується включно з генами ZAP70 та CD8B, де наявність або відсутність зазначеного принаймні одного генетичного маркера свідчить про стійкість до маститу (патент WO 2010108498 A1 "Genetic markers for mastitis resistance").

Інший відомий спосіб діагностики маститів у корів на основі антигенів I класу головного комплексу гістосумісності великої рогатої худоби (Деклараційний патент України на корисну модель № 13082, МПК (2014.01), A01K 67/00) дозволяє проводити селекційний відбір тварин, чутливих до маститів. Прогнозування і наступний відбір корів проводиться на основі статусметричної моделі по значенню індивідуальної інтегральної оцінки.

Наведені аналоги з представленим способом мають спільну мету - визначення схильності великої рогатої худоби до маститів, що є важливою складовою як продовольчої безпеки так і санітарного та епідемічного благополуччя населення.

Недоліком наведених аналогів є те, що гени ZAP70 та CD8B не входять до комплексу генів головного комплексу гістосумісності (ГКГ), який відповідає за імунітет. Також сумнівним є аспект того, що стійкість до маститів виявлялася на основі кількості соматичних клітин в молоці. З іншого боку застосована статусметрична модель має недостатній рівень точності.

Задачею корисної моделі є розробка нового способу виявлення стійкості/схильності до маститу великої рогатої худоби у ранньому постнатальному онтогенезі.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб виявлення стійкості/схильності до маститу великої рогатої худоби у ранньому постнатальному онтогенезі, який включає визначення генетичних маркерів на основі лімоцитарних антигенів I класу та алелів екзона 2 гена BoLA-DRB3 II головного комплексу гістосумісності та встановлення генетичного статусу тварини на основі інтегральної оцінки, розрахованої за статусметричною моделлю.

Запропонована корисна модель дозволяє: виявити схильних та стійких до маститу теличок у ранньому постнатальному онтогенезі; знизити витрати на лікування маститів у стаді шляхом вибраковування тварин з генетичною схильністю до даної патології на ранньому постнатальному періоді онтогенезу; підвищити якість отриманої продукції шляхом зменшення частки молока від тварин з субклінічною формою маститу.

Встановлені особливості виявлення стійкості/схильності до маститу великої рогатої худоби розширюють наявні відомості та можуть бути використані на підприємствах при плануванні, розробці та організації науково обґрунтованих селекційних заходів. Запропонований спосіб є універсальним і може застосовуватися в програмах селекції для оздоровлення стад від захворювань, які мають генетично-обумовлений зв'язок з ГКГ. Практична цінність роботи полягає у впровадженні в практику як біотехнології так і ветеринарної медицини способу виявлення стійкості/схильності до маститу великої рогатої худоби, що буде корисним для практикуючих зоотехніків та лікарів ветеринарної медицини.

Приклад. Спосіб виявлення стійкості/схильності до маститу великої рогатої худоби включає: проведення тестування популяції тварин за лімфоцитарними антигенами класу I; розрахунок на їх основі статусметричної моделі; виділення групи тварин, стійких і сприйнятливих до маститу; дослідження поліморфізму екзона 2 гена BoLA-DRB3; визначення "інформативних" алелів гена BoLA-DRB3.2, асоційованих з резистентністю та сприятливістю до захворювання; уточнення статусметричної оцінки кожної тварин з врахуванням наявності в її генотипі "інформативних" алелів; формування групи резистентних і сприйнятливих до захворювання тварин.

За цим методом оцінка схильності корів до маститів визначається величиною і знаком інтегральної оцінки (Z), яка залежить від набору BoLA-антигенів ($A_1, A_2, \dots, A_n$), які виступають у ролі бінарних якісних показників стану індивіда з власним коефіцієнтом впливу ($B_1, B_2, \dots, B_n$) за наступною формулою (якщо антиген відсутній - відповідне значення $A_i=0$, у протилежному випадку $A_i=1$):

$$Z = B_0 + B_1 A_1 + B_2 A_2 + \dots + B_n A_n = B_0 + \sum_{i=1}^n B_i A_i \quad (1)$$

Для двох альтернативних станів шкала Z має три області розділені умовними одиницями стану об'єкта α_1 і α_2 . Зона, що знаходиться ліворуч від α_1 і відповідає значенням $Z < \alpha_1$ (негативна інтегральна оцінка), визначає несприятливі стани об'єкта досліджень (захворюваність); зона праворуч від α_2 відповідає позитивним значенням $Z > \alpha_2$ (позитивна інтегральна оцінка) - сприятливі стани (резистентність).

Між значеннями α_1 і α_2 знаходиться область невизначеності об'єкта, від розміру якої залежить точність прогнозування. Похибка результатів моделі коливається в межах 25-30 %.

Уточнення висновку про імуногенетичний статус, встановлений по формулі 1, проводиться на основі ДНК-маркерів, якими слугують алелі гена BoLA-DRB3.2. Для цього проводиться тестування тварин, які за даними інтегральної оцінки попадають в область невизначеності об'єкта, на наявність в їх генотипі ДНК-маркерів. Порівняння діагнозу, інтегральної оцінки і наявності/відсутності в генотипі ДНК-маркера дають наступні варіанти для аналізу:

1. Якщо діагноз та інтегральна оцінка (по знаку) співпадають, а в генотипі присутній алель, який співпадає з встановленим діагнозом маємо пряме підтвердження імуногенетичного статусу.

2. Якщо діагноз і знак інтегральної оцінки не співпадають, а в генотипі присутній ДНК-маркер, який співпадає з імуногенетичним статусом тварини по Z маємо непряме підтвердження статусу за інтегральною оцінкою.

3. Якщо діагноз і знак інтегральної оцінки співпадають, а в генотипі присутній ДНК-маркер, який вказує на протилежний імуногенетичний статус відносно початкового діагнозу маємо невизначену ситуацію.

4. Якщо в генотипі тварини відсутні ДНК-маркери, то прийняти рішення неможливо.

На основі аналізу даних типування 32 лімфоцитарних антигенів вибірки з 250 корів української червоно-рябої молочної породи встановлено статистичну модель, яка має 75,8 % вірних рішень: $Z = -0,2117-1,6349W6-1,2684A16-0,7301W2-0,6912W21-0,6362W31+0,6051A8+0,6542W15+0,7231W10+0,9428A17+1,3582A7+1,5255A1$

(<https://patents.google.com/patent/WO 2007090399 A2>).

Для 117 корів, у яких значення інтегральної оцінки знаходиться в межах $\alpha_2 < Z < \alpha_1$ проведено дослідження поліморфізму гена BoLA-DRB3 і виявлено алелі (ДНК-маркери), асоційовані з резистентністю 22* і 24* та схильністю 07*, 08* і 03* до маститів. З даної вибірки у 79 тварин в генотипі були присутні ДНК-маркери (табл.). Для 67 тварин підтверджено варіанти 1 (69,6 %) і 2 (15,2 %), що сумарно складає 84,8 %. Точність прогнозування чутливості теличок до маститів порівняно з результатами статистичної моделі зросла на 9 %.

Таблиця

Уточнення діагнозу за допомогою алелів гена BoLA-DRB3

Алелі BoLA-DRB3.2			Дані аналізу (%)				
чутливість до маститів	алелі	кількість	кількість корів		підтвердження діагнозу		невизначеність
			з маркерами (варіанти 1, 2 і 3)	без маркерів (варіант 4)	пряме	непряме	
стійкість	22*	30	79 (67,5)	38 (32,5)	55 (69,6)	12 (15,2)	12 (15,2)
	24*	21					
сприйнятливність	03*	12					
	07*	36					
	08*	11					

Технічне рішення способу виявлення стійкості/схильності до маститу великої рогатої худоби дає змогу використовувати його з метою селекції для оздоровлення стад від захворювань, які мають генетично-обумовлений зв'язок з ГКГ, зокрема від маститу великої рогатої худоби.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб виявлення стійкості/схильності до маститу великої рогатої худоби у ранньому постнатальному онтогенезі, що включає аналіз лімфоцитарних антигенів та алелів ДНК, як маркерів для прогнозування чутливості теличок до маститів до постановки в робоче стадо, який відрізняється тим, що визначають генетичні маркери на основі лімфоцитарних антигенів I класу та алелі екзона 2 гена BoLA-DRB3 II головного комплексу гістосумісності та встановлюють генетичний статус тварини на основі інтегральної оцінки за статистичною моделлю.

