

Цитогенетика

УДК 636.2:575.224.42

НОВЫЙ СЛУЧАЙ РЕЦИПРОКНОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ *gcp(13; 26)* У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

М.Л. КОЧНЕВА¹, А.Н. ЖИДЕНОВА¹, Л.С. БИЛТУЕВА², Т.Ю. КИСЕЛЕВА³

При цитогенетическом обследовании 21 фенотипически здоровой племенной коровы черно-пестрой породы (3-6-й мес 3-й лактации) в хозяйствах Новосибирской области выявлены животные — носители хромосомной перестройки (нового типа реципрокной транслокации). Цитогенетический анализ препаратов показал наличие в кариотипе этих животных значительно укороченной хромосомы. Установлен случай наследования этой мутации от родителей к потомкам.

Ключевые слова: хромосомная мутация, реципрокная транслокация, черно-пестрая порода, крупный рогатый скот.

Keywords: chromosome mutation, reciprocal translocation, Black-and-White breed, cattle.

Клиническая цитогенетика животных начала развиваться одновременно с цитогенетическими исследованиями человека (1). Наиболее активные изыскания пришлись на конец 1980-х годов. Значительная часть научных сообщений о мутациях хромосом у животных отражает ассоциацию последних со снижением или существенным нарушением плодовитости. В настоящее время накоплен достаточный объем данных, который позволяет оценить степень распространения того или иного типа нарушений кариотипа у животных в разных странах, по породам и популяциям.

Из числа хромосомных нарушений, регистрируемых у крупного рогатого скота, можно выделить две основные группы: хромосомные перестройки (аберрации) и анеуплоидия половых хромосом. Изученные лучше всего и часто встречающиеся нарушения кариотипа, в большинстве случаев не обладающие летальным эффектом, — робертсоновские и реципрокные транслокации, часть из которых наследуются, а другие появляются *de novo*. Робертсоновская транслокация, возникающая в результате центрического слияния двух акроцентрических негомологичных хромосом с образованием метацентрической или субметацентрической хромосом, относится к наиболее распространенным типам хромосомных aberrаций. В цитогенетических исследованиях, проведенных в разных странах и на разных породах крупного рогатого скота, чаще всего регистрируется центрическое слияние *rob(1; 29)* между самой крупной и самой мелкой хромосомами, впервые обнаруженное в шведской красно-пестрой породе скота (2). Анализ полученных данных выявил значительные различия по частоте распространения этого типа робертсоновской транслокации как между породами, так и внутри пород крупного рогатого скота. Уже описаны более 50 типов робертсоновских транслокаций у этого вида животных, причем в образовании центрических слияний участвовали все аутосомы, однако чаще вовлекались в структурные перестройки хромосомы из 1-й, 29-й, 21-й, 14-й и 16-й пар.

В последнее время особое внимание уделяется реципрокным транслокациям, которые вызывают формирование квадривалента в мейозе, что ведет к образованию несбалансированных гамет. У таких животных плодовитость может уменьшаться на 50 % и более. Число сообщений о реципрокных транслокациях у крупного рогатого скота невелико (табл. 1). Эту мутацию относят к стабильной перестройке хромосом, так как в большин-

стве случаев наблюдается ее наследование в ряду поколений. Следует отметить некоторые типы реципрокных транслокаций, ассоциированные с фенотипическими нарушениями у животных. В. Mayr с соавт. (3) описали пример, когда после осеменения спермой быка-носителя rcp(10; 11)(41; 14) у коров в 30 % случаев наблюдали возвращение в охоту после повторного осеменения, а в варианте со спермой быка-носителя rcp(8; 15)(21; 24) — в 25 % случаев (4). Такие типы транслокаций, как rcp(1; 8; 9)(q43; q13; q26) (5) и rcp(20; 24)(q17; q25) (6), обнаруженные у быков-производителей, также ассоциировались с повторным возвращением в охоту осемененных ими коров соответственно в 36,4 и 17,0 % случаев. Носители транслокаций rcp(2q-; 20q), t(8q-; 27q) (7) и rcp(8; 13)(q11; q24) (8) были стерильными самцами.

1. Типы реципрокных транслокаций, зарегистрированные у крупного рогатого скота (данные литературы)

Транслокация	Автор, источник	Год	Порода, пол носителя мутации	Фенотипический эффект
rcp(10; 11)(41; 14) t(2q-; 20q+), t(8q-; 27q+) (двойная транслокация)	B. Mayr e.a. (3) G.G. De Schepper e.a. (7)	1979 1982	?, бык ?, бык	Снижение плодовитости Бесплодие
rcp(8; 15)(21; 24)	B. Mayr e.a. (4)	1983	Серый альпийский скот, Фенотипически бык нормальный	
t(X; 23)(p+; q-)	P.K. Basrur e.a. (9-11)	1992, 2001, 2001	Помеси пород лиму- зин × джерсейская, корова	Снижение фертильности
rcp(1; 8; 9)(q43; q13; q26)	A. Kovacs e.a. (5)	1992	Американская бурая швейцарская порода, бык	Снижение плодовитости
rcp(1; 8)(?; ?)	K. Christensen e.a. (12)	1992	Американская бурая швейцарская порода, бык	Снижение плодовитости
rcp(20; 24)(q17; q25)	M. Andersson e.a. (13), D.A. Villagomez e.a. (6)	1992 1993	?, быки	Снижение плодовитости
rcp(8; 13)(q11; q24)	H.A. Ansari e.a. (8)	1993	?, бык	Стерильность
rcp(X; 1)(42; 13)	B. Mayr e.a. (14)	1998	Симментальская порода, Фенотипически телочка нормальный	
rcp(12; 17)(q22; q14)	A. Ducos e.a. (1)	2000	Монбельярдская порода, бык	Снижение плодовитости
rcp(1; 5)(q21→qter; q11→q33)	L. Iannuzzi e.a. (15)	2001	Серый альпийский скот, бык	Бесплодие
rcp(Y; 9)(q12.3; q21.1) rcp(11; 21)(q28; q12)	L. Iannuzzi e.a. (16) L. Molteni e.a. (17)	2001 2007	Кианская порода, бык Кианская порода, бык	Стерильность Пониженная пролифера- ция половых клеток
rcp(9; 11)(q27; q11)	L. De Lorenzi e.a. (18)	2007	Маркиджанская порода, бык	Снижение плодовитости
rcp(2; 4)(q45; q34) t(Y; 21)(p11; q11)	M. Switonski e.a. (19) M. Switonski e.a. (20)	2008 2011	Айрширская порода, бык Голштено-фризская по- рода, бык	Снижение плодовитости Фенотипически нормальный, понижен- ный уровень тестостерона
t(4; 7)(q14; q28)	L. De Lorenzi e.a. (21)	2010	Маркиджанская порода, бык	Фенотипически нормальный

В дополнение к межаутосомным транслокациям известно несколько примеров X-аутосомных типов транслокаций (9, 10, 11, 14). Интересный факт был установлен при цитогенетическом обследовании 50 двоен химериков женского пола у симментальского скота (14). У 2-месячной телочки выявлен химеризм половых клеток XX:XY, при этом во всех клетках с набором половых хромосом XX обнаружена реципрокная транслокация rcp(X; 1)(42; 13), тогда как в XY-клетках перестройка не выявлялась. Эта транслокация относилась к сбалансированному типу, телочка была здоровой и фенотипически нормальной для своего возраста.

Целью нашей работы было выявление носителей хромосомных нарушений в популяциях крупного рогатого скота, анализ обнаруженной мутации и ее фенотипического эффекта.

Методика. При ежегодном цитогенетическом мониторинге в хозяйствах Новосибирской области (2008-2010 годы) обследовали 21 племен-

ную корову черно-пестрой породы (фенотипически здоровые животные, находящиеся на 3-6-м мес 3-й лактации).

Для получения препаратов хромосом использовали образцы культуры лейкоцитов периферической крови животных. Культивирование лимфоцитов (0,5 мл) осуществляли в течение 48 ч в питательной среде RPMI-1640 (5 мл) с добавлением 15-20 % аутологичной сыворотки и конканавлина (0,1 мл). За 1,5 ч до завершения культивирования в среду добавляли раствор колхицина. Гипотоническую обработку проводили с использованием 0,56 М раствора KCl в течение 20 мин при температуре 37 °C, затем выполняли предфиксацию клеточной культуры с последующей фиксацией в метанол-уксусной смеси. Препараты хромосом рутинно окрашивали в растворе Гимзы и исследовали под микроскопом Biolar 1DP5AZ (Польша, увеличение ×1000). G-дифференциальное окрашивание проводили по методике Сибрайт (22) с модификациями.

Результаты. При первичном цитогенетическом мониторинге популяций крупного рогатого скота черно-пестрой породы была выявлена корова — носительница хромосомной перестройки (предположительно реципрокной транслокации) с набором хромосом $2n = 60$ (рис. 1).



Рис. 1. Метафазная пластинка хромосом коровы ($2n = 60$, XX) черно-пестрой породы с aberrантной хромосомой (обведена кружком). Окрашивание по Гимзе, увеличение $\times 1000$.

унаследовал мутацию от матери (рис. 2).

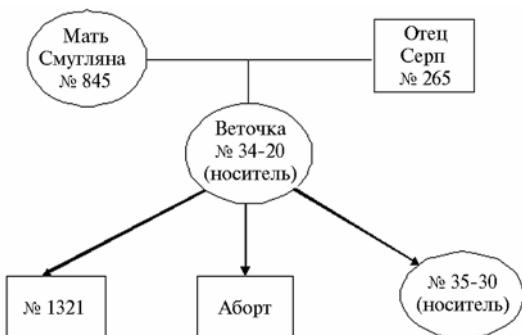


Рис. 2. Схема генеалогических связей коровы черно-пестрой породы, у которой была выявлена aberrантная хромосома.

С помощью дифференциального окрашивания хромосом коровы Веточки № 34-20 удалось установить, что в перестройку были вовлечены хромосомы из 13-й и 26-й пар (рис. 3). Несмотря на нормальное число хромосом ($2n = 60$), GTG-окрашивание выявило наличие нетипичной хромосомы (с учетом ее соответствующего

за период хозяйственного использования от этой коровы получены два фенотипически здоровых теленка (бычок и телочка), одна стельность была прервана абортом. Как известно, у животных с транслокацией (особенно реципрокной) в гетерозиготном состоянии в ходе мейоза наряду с полноценными гаметами образуются половые клетки с избытком или недостатком хромосом. Поэтому фенотипическое проявление такого типа хромосомных мутаций выражается в повышении эмбриональной смертности.

Обращает на себя внимание тот факт, что один из потомков (телочка)

К сожалению, кариотипический анализ бычка не удалось осуществить по причине его выбытия из стада. Не было также установлено, унаследовала ли мутацию корова от отца Серпа № 265 или матери Смуглянки № 845 либо нарушение возникло *de novo*. Следует отметить, что цитогенетическое тестирование шести дочерей этого производителя не выявило у них наличия маркерной хромосомы.

С помощью дифференциального

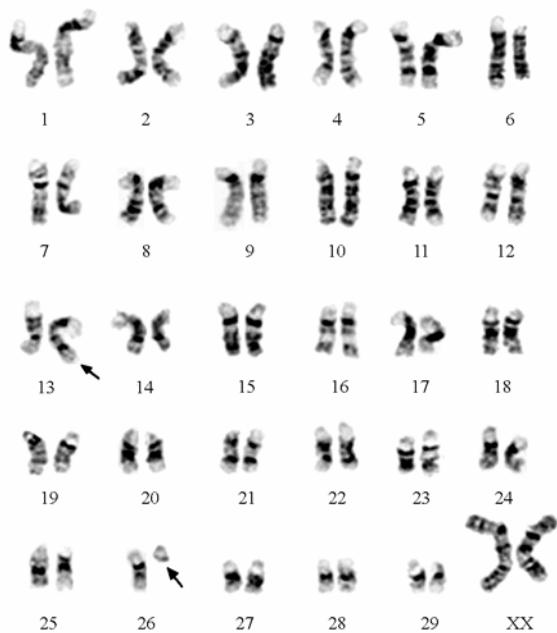


Рис. 3. GTG-окрашенные хромосомы коровы Веточки № 34-20, гетерозиготной по реципрокной транслокации гср(13; 26). Аберрантные хромосомы отмечены стрелками. Увеличение ×1000.

взаимного обмена между образовавшимися сегментами равной или неравной длины. В мейозе гомологичные гены и их блоки конъюгируют, и при наличии перестроек изменяется обычный вид конъюгирующих гомологов (23). Реципрокные транслокации появляются, как правило, в гетерозиготном состоянии.

2. Число случаев вовлечения хромосом крупного рогатого скота в разные типы реципрокных транслокаций

Число случаев	Номер пары хромосом
0	3; 6; 14; 16; 18; 19; 22; 25; 26; 28; 29
1	5; 7; 10; 12; 13; 15; 17; 23; 24; 27
2	2; 4; 20; 21; X; Y
3	9; 11
4	1
5	8

как правило, были быки. Вероятно, это связано с тем, что производители оказывают значительное влияние на формирование генофонда популяции, а потому необходима оценка цитогенетического статуса быков, особенно используемых в сети искусственного осеменения.

Если проанализировать частоту вовлечения хромосом кариотипа крупного рогатого скота в транслокации, то можно отметить, что аутосомы из пар 8, 1, 9 и 11 чаще других участвуют в такого рода перестройках, затем следуют хромосомы из пар 2, 4, 20, 21 и половые хромосомы. Следовательно, некоторые хромосомы наиболее предрасположены к разрывам и образованию транслокаций. Около 40 % аутосом пока не вовлекались в реципрокные транслокации, по крайней мере соответствующие публикации нам не известны. По мнению L. Molteni с соавт. (17), невысокая частота реципрокных транслокаций у *Bos taurus* связана с акроцентрическим типом всех

размера и рисунка исчерченности) и показало, что эта хромосома представляет собой продукт реципрокной транслокации между хромосомами 13-й и 26-й пар. Еще один продукт этой перестройки — укороченная хромосома из 26-й пары. Корова Веточка № 34-20 и ее дочь (№ 35-30) оказались гетерозиготными носителями хромосомной перестройки. В настоящее время предпринимаются попытки установить сайты разрывов хромосом, участвующих в реципрокной транслокации, с применением различных методов окрашивания.

Реципрокные транслокации формируются в результате одновременного разрыва в двух или более негомологичных хромосомах и

большинство реципрокных транслокаций у крупного рогатого скота отмечают в аутосомах (60 %) и гоносомах (табл. 2) кариотипа, и в основном они были открыты благодаря тому, что оказывали влияние на плодовитость носителей транслокаций (см. табл. 1). Важно подчеркнуть, что носителями транслокаций, как правило, были быки. Вероятно, это связано с тем, что производители оказывают значительное влияние на формирование генофонда популяции, а потому необходима оценка цитогенетического статуса быков, особенно используемых в сети искусственного осеменения.

Если проанализировать частоту вовлечения хромосом кариотипа крупного рогатого скота в транслокации, то можно отметить, что аутосомы из пар 8, 1, 9 и 11 чаще других участвуют в такого рода перестройках, затем следуют хромосомы из пар 2, 4, 20, 21 и половые хромосомы. Следовательно, некоторые хромосомы наиболее предрасположены к разрывам и образованию транслокаций. Около 40 % аутосом пока не вовлекались в реципрокные транслокации, по крайней мере соответствующие публикации нам не известны. По мнению L. Molteni с соавт. (17), невысокая частота реципрокных транслокаций у *Bos taurus* связана с акроцентрическим типом всех

аутосом, и при использовании рутинного окрашивания сложно обнаружить морфологические изменения хромосом за исключением случаев, когда это выявляется визуально (аномально удлиненная или укороченная хромосома).

На необходимость проведения цитогенетического скрининга популяций племенных животных указывает следующий факт. Показано, что в большинстве стран частота хромосомных нарушений у пород молочного направления (например, широко распространенной робертсоновской транслокации между хромосомами из 1-й и 29-й пары) заметно снизилась, в то время как у мясного скота подобных изменений не наблюдается (1). Более того, можно проследить тенденцию к росту числа случаев реципрокных транслокаций у пород мясного направления (см. табл. 1). Вероятно, это связано с менее жестким отбором животных в племенное ядро, что подтверждает важность цитогенетической аттестации формирующих его особей (24).

Таким образом, данные литературы и результаты наших исследований указывают на связь между обнаруженными хромосомными нарушениями и снижением воспроизводительных качеств у крупного рогатого скота. В ряде случаев животные — носители перестроек могут быть клинически здоровыми, но у них значительно снижается плодовитость из-за неполноценности гамет. Для предотвращения широкого распространения хромосомных аномалий в популяции цитогенетическая аттестация особей особенно важна при формировании племенного ядра, создании новых линий, типов и пород.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ducos A., Revay T., Kovacs A., Hidas A., Pinton A., Bonnet-Garnier A., Molteni L., Slota E., Switonski M., Arruga M.V., Van Haeringen W.A., Nicolae I., Chaves R., Guedes-Pinto H., Andersson M., Iannuzzi L. Cytogenetic screening of livestock populations in Europe: an overview. *Cytogen. Genome Res.*, 2008, 120(1-2): 26-41.
2. Gustavsson I. Distribution and effects of the 1/29 Robertsonian translocation in cattle. *J. Dairy Sci.*, 1979, 62(5): 825-835.
3. Mayr B., Thiemessel H., Wißkl, F. & Schleger, W. Reziproke Translokation 60, XY, t(10; II)(41; 14) beim Rind. *Z. Tierzucht. Züchtgbiol.*, 1979, 96: 44-47.
4. Mayr B., Krutzler H., Auer H., Schlegel W. Reciprocal translocation 60, XY, t(8; 15)(21; 24) in cattle. *J. Reprod. Fert.*, 1983, 69(2): 629-630.
5. Kovacs A., Villagomez D.A.F., Gustavsson I., Lindblad K., Foote R.H., Howard T.H. Synaptonemal complex analysis of a three-breakpoint translocation in a subfertile bull. *Cytogen. Cell Gen.*, 1992, 61: 195-201.
6. Villagomez D.A., Andersson M., Gustavsson I., Plöen L. Synaptonemal complex analysis of a reciprocal translocation, rcp(20; 24)(q17; q25), in a subfertile bull. *Cytogen. Cell Gen.*, 1993, 62: 124-130.
7. De Schepper G.G., Albers J.G., Brake J.H. Double reciprocal translocation heterozygosity in a bull. *The Veterinary Record*, 1982, 110(9): 197-199.
8. Ansari H.A., Jung H.R., Hediger R., Fries R., König H., Stranzinger G. A balanced autosomal reciprocal translocation in an azoospermic bull. *Cytogen. Cell Gen.*, 1993, 62: 117-123.
9. Basrur P.K., Piheiro L.E.L., Berepubo N.A., Reyes E.R., Popescu P.C. X chromosome inactivation in X autosome translocation carrier cows. *Genome*, 1992, 35(4): 667-675.
10. Basrur P.K., Reyes E.R., Farazmand A., King W.A., Popescu P.C. X-autosome translocation and low fertility in a family of crossbred cattle. *Animal Reprod. Sci.*, 2001, 67(1): 1-16.
11. Basrur P.K., Koikuchi W., Baguma-Nibashika M., King W.A., Ambady S., Ponce de Leyn F.A. Synaptic pattern of sex complements and sperm head malformation in X-autosome translocation carrier bulls. *Mol. Reprod. Develop.*, 2001, 59(1): 67-77.
12. Christensen K., Agerholm J.S., Larsen B. Dairy breed bull with complex chromosome translocation: fertility and linkage studies. *Hereditas*, 1992, 117: 119-202.
13. Andersson M., Alito J., Gustavsson I. Embryo quality and andrological study of two subfertile bulls versus five control bulls with normal fertility. *Theriogenology*, 1992, 38(4): 623-631.
14. Mayr B., Korb H., Kiendlner S., Brem G. Reciprocal X;1 translocation in a calf. *Gen. Sel. Evol.*, 1998, 30(3): 305-308.

15. Iannuzzi L., Molteni L., Di Meo G.P., Perucatti A., De Lorenzi L., Incarnato D., De Giovanni A., Succi G., Gustavsson I. A new balanced autosomal reciprocal translocation in cattle revealed by banding techniques and human-painting probes. *Cytogen. Cell Gen.*, 2001, 94: 225-228.
16. Iannuzzi L., Molteni L., Di Meo G.P., De Giovanni A., Perucatti A., Succi G., Incarnato D., Egggen A., Cribiu E.P. A case of azoospermia in a bull carrying a Y-autosome reciprocal translocation. *Cytogen. Cell Gen.*, 2001, 95: 225-227.
17. Molteni L., Perucatti A., Iannuzzi A., Di Meo G.P., De Lorenzi L., De Giovanni A., Incarnato D., Succi G., Cribiu E., Egggen A., Iannuzzi L. A new case of reciprocal translocation in a young bull: rcp(11; 21)(q28; q12). *Cytogen. Genome Res.*, 2007, 116: 80-84.
18. De Lorenzi L., De Giovanni A., Molteni L., Denis C., Egggen A., Parma P. Characterization of a balanced reciprocal translocation, rcp(9; 11)(q27; q11) in cattle. *Cytogen. Genome Res.*, 2007, 119(3-4): 231-234.
19. Switonski M., Andersson M., Nowacka-Woszuk J., Szczerbala I., Sosnowski J., Kopp C., Cernohorska H., Rubes J. Identification of a new reciprocal translocation in an AI bull by synaptonemal complex analysis, followed by chromosome painting. *Cytogen. Genome Res.*, 2008, 12: 245-248.
20. Switonski M., Szczerbala I., Krumrych W., Nowacka-Woszuk J. A case of Y-autosome reciprocal translocation in a Holstein-Friesian bull. *Cytogen. Genome Res.*, 2011, 132(1-2): 22-25.
21. De Lorenzi L., Korecna O., Gimelli S., Cernohorska H., Zanotti M., Béna F., Molteni L., Rubes J., Parma P. Reciprocal translocation t(4; 7)(q14; q28) in cattle: molecular characterization. *Cytogen. Genome Res.*, 2010, 129(4): 298-304.
22. Графодатский А., Раджабли С. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих (Атлас). Новосибирск, 1988.
23. Дубинин Н.П. Общая генетика. М., 1986.
24. Коcheneva М.Л. Соматическая хромосомная нестабильность у свиней в норме и при патологии. С.-х. биол., 2003, 2: 69-72.

¹ФГОУ ВПО Новосибирский государственный аграрный университет,
630039 г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160,
e-mail: mlkochneva@rambler.ru;

Поступила в редакцию
29 марта 2011 года

²Учреждение Российской академии наук

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
630090 г. Новосибирск-90, просп. Академика Лаврентьева, 8,
e-mail: bilar@mcb.nsc.ru;

³ГНУ Всероссийский НИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных Россельхозакадемии,
196625 г. Санкт-Петербург, пос. Тярлево, Московское ш., 55а,
e-mail: ktyu@yahoo.com

A NEW CASE OF RECIPROCAL TRANSLOCATION rcp(13; 26) IN CATTLE

M.L. Kochneva¹, A.N. Zhidenova¹, L.S. Biltueva², T.Yu. Kiseleva³

S u m m a r y

The cytogenetic examination of 21 healthy phenotypically pedigree cows of the Black-and-White breed (3-6 month of third lactation) in farms of Novosibirsk oblast' revealed of animals-carriers of chromosomal rearrangement, a new type of reciprocal translocation rcp(13; 26). The cytological analysis of preparations found out the shorter considerably chromosome in karyotype of these animals. The event of inheritance of this mutation from parents to progeny was established.

Новые книги

Биссангер Х. **Практическая энзимология**. М.: изд-во «Бином. Лаборатория знаний», 2010, 328 с.

В учебном издании, написанном известным ученым из Германии, рассмотрены теоретические основы энзимологии, применяемых

в этой научной области методов, а также приведены описания основополагающих лабораторных работ. Для студентов-химиков, биохимиков и биологов, специалистов, работающих в исследовательских и промышленных лабораториях, а также для медиков — научных работников.