

Научная статья/Research Article

УДК 636.2.034

DOI: 10.36718/1819-4036-2025-1-72-77

**Ирина Сергеевна Кожевникова<sup>1</sup>, Наталья Александровна Худякова<sup>2</sup>,  
Андрей Сергеевич Кашин<sup>3</sup>, Мария Сергеевна Калмыкова<sup>4</sup>, Екатерина Николаевна Щипакова<sup>5</sup>**  
1,2,3,4,5ФИЦ комплексного изучения Арктики им. академика Н.П. Лаверова УрО РАН, г. Архангельск,  
Россия  
1,2,3,4,5labinnovrazv@yandex.ru

## ПОЛИМОРФИЗМ ЛОКУСА A80V ГЕНА LEP У КОРОВ ХОЛМОГОРСКОЙ ПОРОДЫ

Цель исследования – установление аллельного полиморфизма локуса A80V гена лептина (LEP) у коров-долгожителей холмогорской породы в племенном заводе Архангельской области (АО «Холмогорский племзавод»). Задачи: определить частоты встречаемости аллелей и генотипов однонуклеотидного полиморфизма A80V; выявить связь полиморфизма этого локуса с продолжительностью хозяйственного использования у коров холмогорской породы. Исследование было выполнено в период 2023–2024 гг. в лаборатории инновационных технологий в АПК на базе ФГБУН ФИЦКИА УРО РАН. Объект исследования – группа коров-долгожителей, лактирующих от 4-й и более лактации ( $n = 81$ ). Экстракция ДНК проводилась из цельной крови в соответствии с кратким руководством по применению набора реагентов «МагноПрайм ВЕТ». Определение аллельных вариантов локуса A80V гена LEP производили методом ПЦР-ПДРФ с использованием пары специфических праймеров (F: 5'-CAAGCAGGAAATAGGGAGTCATGG-3' и R: 5'-CTGGTGAGGATCTGTTGGTAGGTC-3') эндонуклеазы рестрикции PspE I. По окончании статистической обработки результатов типирования выявлено доминирование A-аллели (90 %) и AA-генотипа (80,25 %) в генофонде поголовья, аллель V (10 %), генотипы AV (18,52 %) и VV (1,23 %) встречались значительно реже. Согласно значению отклонения эмпирического распределения частот генотипов от теоретического (0,016), маркерной селекции по исследуемому локусу в данном хозяйстве не ведется, что подтверждено и фактически. Высокая частота встречаемости аллеля A локуса A80V гена LEP в генофонде коров-долгожителей холмогорской породы позволяет предположить, что именно этот аллель определяет генетическую предрасположенность этих животных к продолжительному хозяйственному использованию.

**Ключевые слова:** крупный рогатый скот, молочные коровы, холмогорская порода, ген лептин (LEP), сайт A80V, полиморфизм, частота встречаемости

**Для цитирования:** Кожевникова И.С., Худякова Н.А., Кашин А.С., и др. Полиморфизм локуса A80V гена LEP у коров холмогорской породы // Вестник КрасГАУ. 2025. № 1. С. 72–77. DOI: 10.36718/1819-4036-2025-1-72-77.

**Irina Sergeevna Kozhevnikova<sup>1</sup>, Natalia Alexandrovna Khudyakova<sup>2</sup>, Andrey Sergeevich Kashin<sup>3</sup>,  
Maria Sergeevna Kalmykova<sup>4</sup>, Ekaterina Nikolaevna Shchipakova<sup>5</sup>**  
1,2,3,4,5FRC for Comprehensive Study of the Arctic named after Academician N.P. Laverov, Ural Branch of  
the RAS, Arkhangelsk, Russian Federation  
1,2,3,4,5labinnovrazv@yandex.ru

## POLYMORPHISM OF A80V LOCUS OF LEP GENE IN KHOLMOGORY BREED COWS

The aim of the study is to establish the allelic polymorphism of the A80V locus of the leptin gene (LEP) in long-lived Kholmogory cows at the breeding farm in the Arkhangelsk Region (JSC Kholmogory Breeding Farm). Objectives: to determine the frequencies of alleles and genotypes of the single nucleotide polymorphism A80V; to identify the relationship between the polymorphism of this locus and the duration of economic use in Kholmogory cows. The study was carried out in the period from 2023 to 2024 in the laboratory of innovative technologies in the agro-industrial complex based the Federal State Budgetary Institution FITSKIA Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. The object of the study was a group of long-lived cows lactating for the 4th or more lactations ( $n = 81$ ). DNA extraction was carried out from whole blood in accordance with the brief instructions for use of the MagnoPrime VET reagent kit. The allelic variants of the A80V locus of the LEP gene were determined by the PCR-RFLP method using a pair of specific primers (F: 5'-CAAGCAGGAAATAGGGAGTCATGG-3' and R: 5'-CTGGTGAGGATCTGTTGGTAGGTC-3') of the PspE I restriction endonuclease. Upon completion of the statistical processing of the typing results, the dominance of the A allele (90 %) and AA genotype (80.25 %) in the gene pool of the livestock was revealed, the V allele (10 %), genotypes AV (18.52 %) and VV (1.23 %) were encountered much less frequently. According to the value of the deviation of the empirical distribution of genotype frequencies from the theoretical one (0.016), marker selection for the studied locus is not carried out in this farm, which is confirmed in practice. The high frequency of occurrence of the allele A of the A80V locus of the LEP gene in the gene pool of long-lived cows of the Kholmogory breed suggests that it is this allele that determines the genetic predisposition of these animals to long-term economic use.

**Keywords:** cattle, dairy cows, Kholmogory breed, leptin gene (LEP), A80V site, polymorphism, frequency of occurrence

**For citation:** Kozhevnikova IS, Khudyakova NA, Kashin AS, et al. Polymorphism of A80V locus of LEP gene in Kholmogory breed cows. *Bulliten KrasSAU*. 2025;(1):72–77 (In Russ.). <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2025-1-72-77>.

**Введение.** Современное состояние молочного животноводства за последние десятилетия достигло значительного прогресса, однако увеличение надоев резко снизило срок использования животных в стаде, что оказало влияние на эффективность сельскохозяйственной отрасли в целом. Таким образом, наибольшую ценность в настоящее время приобретают высокопродуктивные коровы с продолжительным сроком хозяйственного использования [1, 2]. Начиная с конца прошедшего столетия ген LEP активно изучается и рассматривается как маркерный ген, обуславливающий относительно высокую продолжительность жизни и репродуктивность крупного рогатого скота [3].

Основной функцией пептидного гормона лептина, кодируемого геном LEP и вырабатываемого адипоцитами жировой ткани *Bos taurus*, является гормональная регуляция метаболизма липидов [4, 5]. Соответственно, наличие большого количества различных однонуклеотидных полиморфизмов гена LEP (~ 60 SNP, локализующихся как в экзонах гена, так и в его интро-

нах и промоторах) обеспечивает еще большее количество вариаций аминокислотной последовательности гормона лептина, что сказывается на эффективности модуляции анаболизма и катаболизма, иммунного ответа, репродукции крупного рогатого скота [6, 7]. На данный момент наибольший интерес вызывают однонуклеотидные полиморфизмы следующих локусов гена LEP: A80V, Y7F и R25C. SNP локуса A80V (C→T) расположен в позиции 95691973 п. н. (3-й экзон), SNP локуса R25C (T→C) – в позиции 95690050 п.н. (2-й экзон), SNP локуса Y7F (A→T) – в позиции 95689996 п. н. (2-й экзон).

Полиморфизм локуса A80V гена LEP с предпочтительным генотипом AA оказывает существенное влияние на продолжительность хозяйственного использования и уровень рентабельности животных. Исследование Н.В. Ковалюк с соавт. указывает на низкую частоту гомозиготных особей по аллелю V (9–13 %), но высокую частоту гетерозиготных (39–44 %) и гомозиготных особей по аллелю A [7].

**Цель исследования** – установление аллельного полиморфизма локуса A80V гена лептина (LEP) у коров-долгожителей холмогорской породы в племенном заводе Архангельской области (АО «Холмогорский племязавод»).

**Задачи:** определить частоты встречаемости аллелей и генотипов локуса A80V гена LEP у коров холмогорской породы, а также выявить связь полиморфизма локуса с продолжительностью хозяйственного использования.

**Объекты и методы.** Исследование было выполнено в период с 2023 по 2024 г. в лаборатории инновационных технологий в АПК на базе ФГБУН ФИЦКИА УРО РАН.

Объектом исследования стали коровы холмогорской породы АО «Холмогорский племязавод». Общая численность поголовья в хозяйстве составляет около 1000 голов, в том числе 400 лактирующих коров. Из них была выделена группа коров, лактирующих по 4-й лактации и более, 81 голова.

Для проведения исследования был отобран биологический материал (кровь) из яремной ве-

ны в вакуумные пробирки с антикоагулянтом ЭДТА К3. Экстракция ДНК из цельной крови проводилась в соответствии с кратким руководством по применению набора реагентов для экстракции ДНК/РНК из биологического материала животных и продуктов питания животного происхождения «МагноПрайм ВЕТ» (ручная методика экстракции с использованием центрифугирования, ООО «НекстБио», Россия). Аллельные варианты локуса A80V гена LEP определяли методом ПЦР-ПДРФ.

Реакционная смесь для проведения амплификации на основе набора для проведения ПЦР с HS-Taq (+MgCl<sub>2</sub>) (ООО «Биолабмикс», Россия) характеризовалась следующим конечным составом: 10 мМ Трис-НСI (рН 8,5); 50 мМ КСI; 1,5 мМ MgCl<sub>2</sub>; 0,1 % (o/o) Tween 20; по 0,4 мкМ прямого (5'-CAAGCAGGAAAATAGGGAGTCATGG-3') и обратного (5'-CTGGTGAGGATCTGTTGGTAGGTC-3') праймеров; по 0,2 мМ каждого dNTP; 2,5 е.а. HS-Taq DNA-полимеразы; 200 нг ДНК.

В таблице 1 представлен протокол температурных режимов циклов ПЦР.

Таблица 1

### Процедура амплификации с горячим стартом Hot-start amplification procedure

Стадия	Температура, °С	Время инкубации	Количество циклов
Предварительная денатурация	95	3 мин	1
Денатурация	95	30 с	32
Отжиг	67	30 с	
Элонгация	72	30 с	
Финальная элонгация	72	7 мин	1

Реакционная смесь для проведения рестрикции на основе набора эндонуклеазы рестрикции PspE I (ООО «СибЭнзайм», Россия) характеризовалась следующим конечным составом: 10 мМ Трис-НСI (рН 7,6); 10 мМ MgCl<sub>2</sub>; 1 мМ дитиотреитол; 10 е.а. эндонуклеазы рестрикции PspE I; 2000 нг ДНК. Смесь инкубировали при 37 °С в течение 19 ч. Для определения длин фрагментов ДНК, полученных в ходе рестрикции, было проведено электрофоретическое разделение в 2 % агарозном геле в течение 4 ч при 100 В.

Статистическую обработку результатов типирования проводили согласно Е.К. Меркурьевой и Г.Н. Шангину-Березовскому («Генетика с основами биометрии», 1983 г.).

**Результаты и их обсуждение.** По окончании статистической обработки результатов типирования поголовья установлены частоты встречаемости как самих аллелей А и V, так и формируемых ими гетеро- и гомозиготных генотипов, представленные в таблице 2. Так как рассчитанное значение критерия согласия Пирсона (0,016) намного меньше его стандартного значения (9,2 при числе степеней свободы 2 и уровне значимости альфа 0,01), то можно сделать вывод, что полученные значения частот встречаемости аллелей и генотипов соответствуют закону Харди – Вайнберга и не являются результатом направленной маркерной селекции, что подтверждается и фактически.

**Полиморфизм локуса A80V гена LEP у коров холмогорской породы**  
**Polymorphism of the A80V locus of the LEP gene in cows of the Kholmogorsky breed**

Показатель	n	Частота встречаемости генотипов						Частота встречаемости аллелей, %		$\chi^2$
		AA		AV		VV		A	V	
		n	%	n	%	n	%			
Наблюдаемое распределение	81	65	80,25	15	18,52	1	1,23	90	10	0,016
Ожидаемое распределение		65	80,11	15	18,79	1	1,10			

Определенную трудность вызывает сопоставление полученных данных с результатами научных исследований других пород крупного рогатого скота. Так, в исследованиях Л.В. Кононовой с соавт. [6, 8] зафиксированы следующие частоты встречаемости генотипов локуса A80V: AA – 35 %, AV – 5 % и VV – 60 % у красной степной породы (20 голов); у швицкой породы (16 голов) эти показатели составили соответственно 60 % для генотипа AA и 40 % для генотипа AV. Интересные результаты представлены в работе Н.В. Ковалюк с соавт. [9, 10], где абсолютное доминирующее положение в генофонде поголовья коров айширской породы (412 голов) занял генотип AA, чья частота встречаемости составила 100 %. Аналогичные результаты получены А.Е. Волченко с соавт. [11]: частота встречаемости генотипа AA составляет 95–98 %, частота встречаемости генотипа AV не превышает 5 %. Полное отсутствие генотипа VV также зафиксировано в исследованиях коров голштинской породы (40 голов) Е.В. Мачульской с соавт. [12].

В большинстве случаев сопоставление результатов будет некорректным, так как поголовья с точки зрения зоотехнии сформированы из

различных групп коров (нетелей, первотелок, второтелок и полновозрастных коров); также поголовья с точки зрения генетики и эпигенетики сформированы из различных субпопуляций одной породы (территориально удалены друг от друга, принадлежат разным хозяйствам, животные находятся в разных условиях содержания); приводятся не все результаты статистической обработки данных (например, соответствие закону Харди – Вайнберга) и т. п.

### Заключение

1. В генофонде коров-долгожителей холмогорской породы установлено доминирование аллеля A (90 %) и генотипа AA (80,25%) локуса A80V гена LEP. Аллель V (10 %), генотипы AV (18,52 %) и VV (1,23 %) встречались значительно реже.

2. Высокая частота встречаемости аллеля A локуса A80V гена LEP в генофонде коров-долгожителей холмогорской породы позволяет предположить, что именно этот аллель определяет генетическую предрасположенность этих животных к продолжительному хозяйственному использованию.

### Список источников

1. *Komisarek J.* Impact of LEP and LEPR gene polymorphisms on functional traits in Polish Holstein-Friesian cattle // *Animal Science Papers and Reports*. 2010;10:133-141.
2. *Гридин В.Ф., Манойлов Р.В., Новицкая К.В., и др.* Влияние аллелей, связанных с высоким удоем, на молочную продуктивность стада // *Актуальные проблемы растениеводства, животноводства и ветеринарной медицины. Биологические, ветеринарные, сельскохозяйственные, зоотехнические, экологические науки: сб. мат-лов Междунар. науч.-практ. конф. Екатеринбург. 2017. С. 100–103. EDN: ZGOMDJ.*

3. Ковалюк Н.В., Дениз Ф. Выявление полиморфизма в гене лептина крупного рогатого скота // Сб. науч. тр. Северо-Кавказского НИИ животноводства. 2014. Т. 2, № 3. С. 30–35. EDN: TEDNBJ.
4. Giblin L., Butler S., Kearney B.M., et al. Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein\_Friesian dairy cattle sires // BMC Genetics. 2010. № 11. P. 73. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-73>. EDN: KDCDPB.
5. Щеголев П.О., Сабетова К.Д., Чаицкий А.А., и др. Связь полиморфизма гена лептина (LEP) с хозяйственно полезными признаками крупного рогатого скота // Аграрный вестник Нечерноземья. 2021. № 1 (1). С. 25–32.
6. Кононова Л.В., Шарко Г.Н., Мачульская Е.В. Сравнительный полиморфизм локуса лептина в популяциях крупного рогатого скота красной степной и швицкой пород // Эффективное животноводство. 2018. № 5 (144). С. 52–54. EDN: VLKBXI.
7. Ковалюк Н.В., Сацук В.Ф., Мачульская Е.В., и др. Использование полиморфизма локуса LEP в селекции чернопестрого скота // Молочное и мясное скотоводство. 2017. № 3. С. 14–16. EDN: YTDPRG.
8. Чижова Л.Н., Кононова Л.В., Шарко Г.Н., и др. Полиморфизм гена лептина у коров молочного направления продуктивности // Сб. науч. тр. Всероссийского НИИ овцеводства и козоводства. 2017. № 10. С. 113–117. EDN: ZWBNCB.
9. Ковалюк Н.В., Сацук В.Ф., Волченко А.Е., и др. Использование полиморфизма локуса лептина в селекции крупного рогатого скота айрширской породы // Молочное и мясное скотоводство. 2014. № 6. С. 13–15. EDN: SQJJJN.
10. Ковалюк Н.В., Сацук В.Ф., Мачульская Е.В., и др. Возможные причины и последствия распространения отдельных аллельных вариантов гена LEP в группах айрширского и голштинского скота // Генетика. 2018. Т. 54, № 12. С. 1442–1447. DOI: 10.1134/S0016675818120068. EDN: MFVYLB.
11. Мачульская Е.В., Ковалюк Н.В., Волченко А.Е., и др. Сравнительный анализ полиморфизма локусов *boLA DRB3* и LEP в айрширских и голштинизированных стадах // Сб. науч. тр. Северо-Кавказского НИИ животноводства. 2015. Т. 4, № 1. С. 4-9. EDN: UNQAEV.
12. Мачульская Е.В., Ковалюк Н.В., Горковенко Л.Г., и др. Породные особенности полиморфизма гена LEP у крупного рогатого скота голштинской породы // Российская сельскохозяйственная наука. 2017. № 3. С. 33–35. EDN: YOCVYJ.

## References

1. Komisarek J. Impact of LEP and LEPR gene polymorphisms on functional traits in Polish Holstein-Friesian cattle. *Animal Science Papers and Reports*. 2010;10:133-141. (In Russ.).
2. Gridin VF, Manoilov RV, Novitskaya KV, et al. The effect of alleles associated with high milk yield to milk production. *Current problems of crop production, animal husbandry and veterinary medicine. Biological, veterinary, agricultural, zootechnical, environmental sciences: Conference proceedings and proceedings of the international scientific and practical conference*. Ekaterinburg, 2017. P. 100–103. (In Russ.). EDN: ZGOMDJ.
3. Kovalyuk NV, Deniz F. Polymorphism identification in leptin gene of cattle. *Sb. nauch. tr. Severo-Kavkazskogo NII zhivotnovodstva*. 2014;2(3):30-35. (In Russ.). EDN: TEDNBJ.
4. Giblin L, Butler S, Kearney BM, et al. Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein\_Friesian dairy cattle sires. *BMC Genetics*. 2010;11:73. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-73>. EDN: KDCDPB.
5. Shchegolev PO, Sabetova KD, Chaitskiy AA, et al. Relationship of leptin gene polymorphism (lep) with economically useful traits of cattle. *Agrarnyj vestnik Nечernozem'ya*. 2021;1;25-32. (In Russ.).
6. Kononova LV, Sharko GN, Machul'skaya EV. Comparative polymorphism of the leptin locus in Red Steppe and Schwyz cattle populations. *Effektivnoe zhivotnovodstvo*. 2018;5(144):52-54. (In Russ.). EDN: VLKBXI.

7. Kovalyuk NV, Satsuk VF, Machulskaya EV, et al. Use of polymorphism at loci of lep in breeding of black-motley cattle. *Molochnoe i myasnoe skotovodstvo*. 2017;3:14-16. (In Russ.). EDN: YTDPRG.
8. Chizhova LN, Kononova LV, Sharko GN, et al. Polymorphism of the leptin gene in cows of the dairy direction of productivity. *Sb. nauch. tr. Vserossijskogo NII ovcevodstva i kozovodstva*. 2017;10:113-117. (In Russ.). EDN: ZWBNCB.
9. Kovalyuk NV, Satsuk VF, Volchenko AE, et al. Using of polymorphism of the leptin locus in breeding of cattle of ayrshire breed. *Molochnoe i myasnoe skotovodstvo*. 2014;6:13-15. (In Russ.). EDN: SQJJJN.
10. Kovalyuk NV, Satsuk VF, Machulskaya EV, et al. Possible Causes and Consequences of the Distribution of Separate Allelic Variants of the LEP Gene in the Groups of Ayrshire and Holstein Cattle. *Russian Journal of Genetics*. 2018;54(12):1442-1447. (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/S0016675818120068>. EDN: MFVYLB.
11. Machulskaya EV, Kovalyuk NV, Volchenko AE, et al. Comparative analysis of bola drb3 and lep locus polymorphism in ayrshire and holsteinized herds. *Sb. nauch. tr. Severo-Kavkazskogo NII zhivotnovodstva*. 2015;4(1):4-9. (In Russ.). EDN: UNQAEB.
12. Machulskaya EV, Kovalyuk NV, Gorkovenko LG, et al. Breed characteristics of the lep gene polymorphism in cattle the holstein breed. *Russian Agricultural Sciences*. 2017;3:33-35. (In Russ.). EDN: YOVCYJ.

Статья принята к публикации 31.10.2024 / The article accepted for publication 31.10.2024.

Информация об авторах:

**Ирина Сергеевна Кожевникова**<sup>1</sup>, заведующая лабораторией инновационных технологий в АПК, кандидат биологических наук

**Наталья Александровна Худякова**<sup>2</sup>, старший научный сотрудник лаборатории инновационных технологий в АПК, кандидат сельскохозяйственных наук

**Андрей Сергеевич Кашин**<sup>3</sup>, младший научный сотрудник лаборатории инновационных технологий в АПК

**Мария Сергеевна Калмыкова**<sup>4</sup>, младший научный сотрудник лаборатории инновационных технологий в АПК

**Екатерина Николаевна Щипакова**<sup>5</sup>, младший научный сотрудник лаборатории инновационных технологий в АПК

Information about the authors:

**Irina Sergeevna Kozhevnikova**<sup>1</sup>, Head of the Laboratory of Innovative Technologies in the Agro-Industrial Complex, Candidate of Biological Sciences

**Natalia Alexandrovna Khudyakova**<sup>2</sup>, Senior Researcher, Laboratory of Innovative Technologies in the Agro-Industrial Complex, Candidate of Agricultural Sciences

**Andrey Sergeevich Kashin**<sup>3</sup>, Junior Researcher, Laboratory of Innovative Technologies in the Agro-Industrial Complex

**Maria Sergeevna Kalmykova**<sup>4</sup>, Junior Researcher, Laboratory of Innovative Technologies in the Agro-Industrial Complex

**Ekaterina Nikolaevna Shchipakova**<sup>5</sup>, Junior Researcher, Laboratory of Innovative Technologies in the Agro-Industrial Complex

