

## МАХНЫ ЧИГЛЭЛИЙН ХОНЬ, ҮХРИЙН *GDF 8* ГЕНИЙН СУДАЛГАА

Б.Ундармаа<sup>1</sup>, Д. Алтангэрэл<sup>1</sup>, С.Лхагвасүрэн<sup>2</sup>

1-ХААИС, Биологийн нөөцийн менежментийн сургууль

2-ХААИС, Мал эмнэлгийн хүрээлэн

### ХУРААНГУЙ

*Манай оронд махны чиглэлээр зонхилон үржүүлж буй хонь, үхрийн давхар булчинжилтыг хариуцагч меостатин генийн хэсэгт мутаци үүссэн эсэх талаар хийсэн судалгааны үр дүн бага учир бид энэ чиглэлийн нарийвчилсан судалгаа хийх зорилгын хүрээнд эхний шатанд меостатин генийн хувьсамжит хэсгийг өвөрмөц праймер ашиглан илрүүллээ.*

*Уг судалгаанд махны чиглэлийн Үзэмчин үүлдрийн хонь тус бүрээс 10 цус, Сэлэнгэ үүлдрийн үхэр тус бүрээс 5 салст, нийт 15 дээжийг шинжиллээ. Шинжилгээнд ирсэн дээжний үзэмчин хонины цуснаас ялгасан ДНХ-ийн 3, сэлэнгэ үхрийн салстаас ялгасан 4, нийт 7 дээж нь ПГУ-ын дүнд 299 bp урттай бүтээгдэхүүн олиширч, гельд толбо илэрсэн бөгөөд үүний үр дүнд меостатин генийг үргэлжлүүлэн судлах боломж бүрдэж байна.*

**ТҮЛХҮҮР ҮГ:** Давхар булчинжилт, Меостатин ген, ПГУ

### ОРШИЛ

Transforming growth factor (TGF-) буюу эсийн ялгаран хөгжих процессийг хариуцсан өсөлтийн хүчин зүйлийн бүлэгт хамаарагдах *GDF 8* хэмээх шинэ бодисыг анх 1997 онд хулгана дээр илрүүлсэн ба энэ нь араг ясны булчингийн өсөлтийн сөрөг зохицуулагч юм (18).

Белгийн хөх үхрийн *GDF 8* генийн уураг кодлогч хэсэгт 11-bp алга болсны дүнд давхар булчинжилт үүссэн нь судалгаагаар тогтоогдож(19), мөн Piedmontase буюу бусад давхар булчинжилтийн шинж тэмдэг бүхий үхрийг судлахад меостатин генийн кодлогч

хэсэгт ганц азотлог суурь өөрчлөгдөн мутаци үүссэн байна(18).

Махны чиглэлийн Texal үүлдрийн хонины давхар булчинжилтийн шинж тэмдэг нь мөн *GDF 8* генийн хэсэгт генетик өөрчлөлт орсонтой холбоотой бөгөөд уг хонины меостатин генийн 3' UTR хэсэгт гарсан олон янз байдал нь меостатин генийн үйл ажиллагааны тогтвортой байдлыг алдагдуулан microRNAs холбогдох сайтыг үүсгэсэн байна. Үүний үр дүнд меостатин уургийн хэмжээ багасаж, давхар булчинжилтын шинж тэмдэг илэрсэн байна.(22)

**СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН МАТЕРИАЛ,  
АРГА ЗҮЙ**

Судалгааны дээжийг Сүхбаатар аймгийн Эрдэнэцагаан суманд үржүүлж буй Үзэмчин хонины 10 цусны дээж, Төв аймгийн бор нуур сумын “Нарт судалгааны төв”-д маллаж буй

Сэлэнгэ үүлдрийн үхэр тус 5 салстын дээж, нийт 15 дээжийг 2012 оны намар 9, 11 сард авав (Хүснэгт.1).

Хүснэгт 1

Судалгаанд хамрагдсан малын бүртгэл

№	Үзэмчин хонь	№	Сэлэнгэ үхэр
1	Эвэртэй шар хүзүүт	1	Улаан халзан (эр, шүдлэн бяруу)
2	Мухар шар толгойт	2	Улаан халзан, эрүү цагаан (Эм, Бяруу)
3	Улаан хүзүүт	3	Улаан халзан, хойд 2 хөл дунд зэрэг цагаан (эм, үнээ)
4	Эвэртэй улаан хүзүүт	4	Улаан халзан, цээж цагаан, (эр шүдлэн )
5	Эвэртэй шар нүдэн	5	Улаан халзан, урд 2 хөл цагаан (эр бяруу)
6	Улаан толгойт		
7	Хүрэн толгойт		
8	Шар толгойт		
9	Шар хүзүүт		
10	Шар нүдэн		

Малаас цусны дээжийг ариутгасан зүүгээр вакуум хуруу шилэнд авч, 1:1 харьцаагаар 96%-ийн цэвэр спиргээр шингэлэн, салстын дээжийг арчдасын аргаар авч, лабораторид хүргэх болон геномын ДНХ-г ялгах хүртэл -4<sup>0</sup>С-д хадгалав.

Судалгаанд хамрагдаж буй малын цусны дээжнээс ДНХ-ийн молекулыг фенолын аргаар, салстын дээжнээс нийтэд хэрэглэгддэг арга зүйн дагуу ялгаж ДНХ-ийн цэвэршилтийг тогтоов (Хүснэгт 2).

Хүснэгт 2

Судалгааны дээжнээс ялгасан ДНХ-ийн молекулын цэвэршилтийн дүн

№	С		№	С	
	нгр/мкл	280/260		нгр/мкл	280/260
	Үзэмчин хонь			Сэлэнгэ үхэр	
1	217	1.34	1	215.7	1.33
2	215.3	1.42	2	214.3	1.43
3	455.5	1.73	3	356.5	1.72
4	213.5	1.41	4	212.5	1.44
5	261	1.23	5	268.5	1.23
6	174.5	1.54			
7	234.5	1.42			
8	356.5	1.63			
9	212.5	1.41			
10	268.5	1.22			

ДНХ-ийн цэвэршилт сайн гарсан үзэмчин хонины 7, Сэлэнгэ үхрийн 5, нийт 12 дээжнээс ялгасан ДНХ-ийн молекулыг ПГУ-д хэрэглэхээр сонгож аван ПГУ-ын нийт 25 мкл холимогийг дараах байдлаар бэлтгэв.

Үүнд: 1мкл ДНХ-ийн дээж, 12.5 мкл DreamTaq™ Green PCR Master Mix (2X), праймер тус бүрээс 1.2 мкл, (агууламжийг хүснэгт 3.-д үзүүлэв), 9.1 мкл давхар нэрмэл ус.

Бай ген	Праймер ID	ПГУ-ын праймер		Уртын хэмжээ	Агууламж
		Дараалал			
Меостатин (MSTN)	8013291762	MSTN 1		bp	108.7 nmol
	-000150	CTC CTT GCG GTA GGA GAG	TG		
	8013291762	MSTN 2		bp	90.1 nmol
	-000160	GGT GCA CAA GAT GGG TAT	GAG		

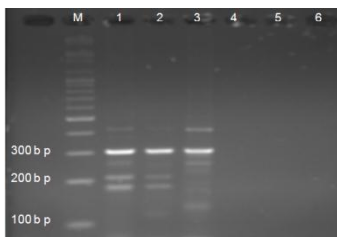
Махны чиглэлийн хонь үхрийн меостатин генийн с.960delG хэсгийг илрүүлэх ПГУ-ыг 95°C-д 3 мин, 95°C-д 30 сек, 60°C-д 30 сек, 72°C-д 1 мин 35 мөчлөг явуулаад эцсийн уртсалтыг

72°C-д 15 мин явуулав. Бүх ПГУ-ыг гурван удаа явуулж, 1%-ийн агарозын гельд гүйлгэж этидиум бромидоор будаж үр дүнг шалгав.

### СУДАЛГААНЫ ҮР ДҮН

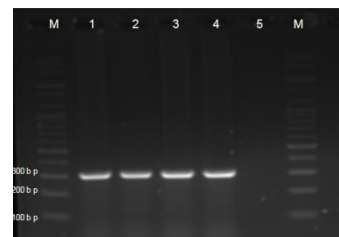
Шинжилгээнд ирсэн нийт Үзэмчин хонь, Сэлэнгэ үхрийн цус салстын 15 дээжнээс ДНХ-ийн цэвэршилт сайн гарсан үзэмчин хонины 7, сэлэнгэ үхрийн 5, нийт 12 дээжнээс ялгасан ДНХ-ийн молекулыг ПГУ-аар олшруулахад

үзэмчин хонины 1, 3, 5 гэсэн дугаартай 3, сэлэнгэ үхрийн 1, 3, 6, 7 гэсэн дугаартай 4 дээж дээж, нийт 7 дээж нь ПГУ-ын дүнд 299 bp урттай бүтээгдэхүүн олширч, гельд толбо илэрсэн ба зураг 1, 2-т үзүүлэв.



1-р зураг. Үзэмчин хонины меостатин генийг илрүүлэх ПГУ-ын дүн

Тайлбар: 100 bp-ийн маркер, Үзэмчин хонины 1, 3, 5 гэсэн дугаартай 3 дээж 1-3 р үүр,



2-р зураг. Сэлэнгэ үхрийн меостатин генийг илрүүлэх ПГУ-ын дүн

Тайлбар: 100 bp-ийн маркер, Сэлэнгэ үхрийн 1, 3, 6, 7 гэсэн дугаартай 4 дээж 1-4-р үүр,

### ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

Мал амьтны биед меостатин уураг дутагдсан үед өөхний оронд булчингийн хөгжил илүү явагдаж, араг ясны булчингийн масс хэвийн хэмжээнээс ихээр нэмэгдэн, булчингийн өсөлтөнд ихээр нөлөөлдөг болох нь GDF 8 генийн экспресс бүхий “knocked out” хийсэн трансген хулганд хэт (Давхар) булчинжилт үүссэнээр тогтоогдсон байна (24).

Хэт буюу давхар булчинжилт гэсэн онцлог шинж тэмдэг нь дэлхийн зарим нэг орон тухайлбал европын нэгдсэн улсад махны чиглэлээр үржүүлж буй үүлдрийн үхэрт элбэг тохиолддог ба уг шинж тэмдэг нь булчингийн доторхи өөх

багассны дүнд булчингийн гиперплаз болон гипертрофийн процесс явагдаж, булчингийн хэт хөгжил байдлаар илэрдэг нь тогтоогдсон.

Манай оронд энэ чиглэлийн судалгаа хомс байгаатай холбогдуулан бид монгол оронд зонхилон үржүүлж буй махны чиглэлийн хонь, үхрийн давхар булчинжилтийг хариуцагч меостатин генийн хувьсамжит хэсгийг нарийвчлан судалснаар лабораторийн нөхцөлд махны чиглэлийн хонь, үхрийн махыг бусад мал, амьтны махнаас ялган оношилох боломжийг хайх зэрэг онол практикийн ач холбогдолтой юм.

## ДҮГНЭЛТ

Шинжилгээнд ирсэн дээжний үзэмчин хонины цуснаас ялгасан ДНХ-ийн 3, сэлэнгэ үхрийн салстаас ялгасан 4, нийт 7 дээж нь ПГУ-ын дүнд

299 бр урттай бүтээгдэхүүн олширч, гельд толбо илэрсэн бөгөөд үүний үр дүнд меостатин генийг үргэлжлүүлэн судлах боломж бүрдэж байна.

## АШИГЛАСАН ХЭВЛЭЛ

1. Алтангэрэл. Д "Мал үржүүлэг" 2012 он
2. Алтангэрэл. Д "Генетик ба биометр" 2011 он
3. Лувсаншарав.Б "Мал үржүүлэг селекци", 2009 он
4. Нэргүй.Д нар "Монгол малчны судар оршвой", 2009 он
5. Айлтгүй.Д "Махны чиглэлийн үхрийн биологи-селекцийн онцлог", 2008 он.
6. Цэгмид.М "Монгол малын популяци", 2008 он
7. Fidel Toldra "Meat Biotechnology", 2008
8. Jeremy W Dale and Malcolm von Schantz "From Genes to Genome", Surrey, UK, 2002
9. Eberhard Passarge "Color Atlas of Genetic", 2007
10. Mosher, D.S., et al., "A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhance racing performance in heterozygote dogs. PLoS Genetics. 3:779-786
11. Boman I. A. et al., "A frameshift mutation in the coding region of the *myostatin* gene (*MSTN*) affects carcass conformation and fatness in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*)" 2009
12. Byun, S.O et al., "An effective method for silver staining DNA in large numbers of polyacrylamide gels" 385:174-175
13. James W et al., "Evidence for multiple alleles effecting muscling and fatness at the *Ovine* GDF8 locus" 2007
14. Johnson PL, McEwan JC, Dodds KG, Purchas RW, Blair HT "A directed search in the region of GDF8 for quantitative trait loci affecting carcass traits in Texel sheep" 2005
15. Bellinge.H.S, et al" Myostatin and its implications on animal breeding" 2004.
16. Marcq. F. et al., "Preliminary results of a whole-genome scan targeting QTL for carcass traits in Texel Ramanov intercross", 2002
17. Marcq. F. et al., "Investigating the role of myostatin in the determinism of double muscling" Anim Genet 1998:29(S1):52-3
18. McPherron, AC et al, "Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta super family member" Nature.387:83-90
19. Grobet, L. et al., "Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle"
20. Schueckelke, M., et al., " Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child" N. Engl. J. Med. 350:2682-2688
21. Sumantari, C., et al., "Polymorphism of calpastatin gene and its effect on body weight of local sheep" JITV.13:117-126
22. Clop A, Marcq F, Takeda H et al., "A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep" NatGenet 2006, 38:813-818
23. Freking BA, Murphy SK, et al., "Identification of the single base change causing the callipyge muscle hypertrophy phenotype, the only known example of polar overdominance in mammals" Genome Res 12:1496-1506
24. Lee SJ et al., "Myostatin and control of skeletal muscle mass" Cur Opin genet Dev 1999;9:607-7
25. Tobin JE, Celeste AJ et al., "Myostatin a negative regulator of muscle mass implications for muscle degenerative disease" Curr opin Pharmacol 2005;5:328-32