

## ИЗГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

### **Manufacturing reagents for immunogenetic examination of cattle**

**Шаталина О.С.**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,  
**Ярышкин А.А.**, научный сотрудник, **Новицкая К.В.**, младший научный сотрудник,

**Пузанова И.А.**, младший научный сотрудник,

Отдел животноводства и иммуногенетической экспертизы

ФГБНУ «Уральский НИИСХ»

(г. Екатеринбург, пос. Исток, ул. Главная, д. 21)

*Рецензент:* Ломов В.Н., доктор сельскохозяйственных наук,

ФГБНУ «Челябинский НИИСХ»

#### **Аннотация**

Иммуногенетическая экспертиза основана на определении групп крови и достоверности происхождения потомков племенным родителям. Для данного анализа необходимы моноспецифические сыворотки крупного рогатого скота. Проведен опыт по иммунизации животных-реципиентов крупного рогатого скота кровью, взятой у животных-доноров. Целью опыта являлось создание банка реагентов для проведения иммуногенетической экспертизы крупного рогатого скота. Подобрано по 6 пар животных: донор – реципиент в каждой сельскохозяйственной организации. В течение трех недель реципиентам вводили по 30 мл крови, взятой от доноров. По окончании прилития крови взята сыворотка реципиентов и проведена проверка на наличие антител. В результате серий иммунизации выработаны антитела O<sub>2</sub>, B', X<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>, E'<sub>3</sub>, L', W, F, L, H', Z, I<sub>1</sub>. Титр вновь полученных реагентов варьировал от 1:2 до 1:125. Все полученные реагенты являются моноспецифичными, т.е. содержат антитело только к одному антигену крови крупного рогатого скота.

**Ключевые слова:** крупный рогатый скот, сыворотка, реагент, титр, иммунизация, донор, реципиент, специфичность, антитело.

#### **Summary**

Immunogenetic expertise is based on the determination of blood groups and authenticity of origin of the descendants of tribal parents. For this analysis, necessary monospecific bovine serum. Experiments were performed by immunizing animals with the recipient blood cattle taken from donor animals. The aim of the experience was the creation of a bank of reagents for immuno examination of cattle. 6 matched pairs of animals: the donor - recipient in each agricultural organization. Within three weeks, recipients were injected with 30 ml of blood taken from

donors. After cast-blood derived serum recipients and held for antibody test. As a result of the immunization series developed antibodies O2, B', X2, C2, E'3, L', W, F, L, H', Z, II. Titer reagent newly obtained ranged from 1: 2 to 1: 125. All reagents are obtained monospecific, i.e. antibody contains only one antigen cattle blood.

**Keywords:** cattle, serum, reagent, titer, immunization, donor, recipient, the specificity of an antibody.

Определение групп крови крупного рогатого скота необходимо для следующих целей: установление достоверности происхождения, изучение генофонда популяций крупного рогатого скота, исследование взаимосвязи антигенов крови с хозяйственно-полезными признаками, подбор пар по антигенному сходству [2], [4], [6], [7]. Идентификация генов, связанных с хозяйственно-полезными признаками, стала возможной благодаря молекулярной генетике и биологии [1], [5], [10]. Также исследование групп крови имеет большое значение для генетики эволюции. С его помощью можно прогнозировать механизмы образования пород и гетерозис.

Иммуногенетический анализ проводится с помощью РСК (реакции связывания компонента), в которой антигены крови взаимодействуют с антителами, и происходит лизис эритроцитов [3]. В основу метода иммунологического контроля положен метод кодоминантного наследования животными групп крови и неизменности в течение онтогенеза. Потомки имеют только антигены, полученные по наследству от родителей. При выявлении антигенов потомства, отсутствующих у родителей, делается заключение о неправильности регистрации происхождения [8].

**Методика и условия проведения работ.** Изготовление реагентов проводилось в донорских стадах ООО «Мезенское» и СПК «Колхоз имени Свердлова», согласно рекомендации П.Ф. Сорокового [9].

Объектом исследования являются коровы и быки уральского голштинизированного типа. Цель исследований – дополнить имеющийся банк реагентов для проведения иммуногенетической экспертизы крупного рогатого скота изготовленными реагентами для достижения количества реагентов не менее 40. Для проведения опыта подобрано 12 пар животных: донор-реципиент в ООО «Мезенское» и 6 пар донор-реципиент в СПК «Колхоз имени Свердлова».

**Результаты исследований.** В ходе иммунизаций в ООО «Мезенское» получено 7 реагентов (таблица 1).

В ООО «Мезенское» проведено две серии иммунизаций. Для каждой иммунизации подобрано по 6 пар донор-реципиент, проведено взятие 150 мл крови от доноров и прилитие

ее реципиентам. Первично иммунизировано 6 животных крупного рогатого скота. В результате первой серии иммунизаций среагировали 5 реципиентов. Получено 4 реагента: O<sub>2</sub>, W, B', E'3 и одна полиспецифическая сыворотка. В последующем проведена реиммунизация ранее иммунизированных животных. Все реципиенты перед иммунизацией проверены на наличие естественных антител, т.к. присутствие их препятствует выработке запланированных антител.

Реципиентов 1338, 4116, 8328, 8402, 8605 и др. иммунизировали 3 раза. После третьего раза произвели забор крови на сыворотку. Из 6 иммунизированных животных первоначальное антителообразование отмечено у 5 голов, что составило 83,3%. При реиммунизации количество среагировавших животных не увеличилось, были получены те же реагенты, что и ранее.

Проведена вторая серия иммунизаций. Животных-реципиентов также иммунизировали 3 раза кровью, взятой от животных-доноров. После третьего раза проводили забор крови реципиентов крупного рогатого скота на сыворотку. По окончании второй иммунизации изготовлено 3 реагента: X<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>, L' и одна полиспецифическая сыворотка. Из 6 иммунизированных животных первоначальное антителообразование отмечено от 4 голов, что составило 66,6%. При реиммунизации количество среагировавших животных не увеличилось, были получены те же реагенты, что и ранее.

Таблица 1

**Иммунизация в ООО «Мезенское»**

Инв. № жив.	Группа крови животного	Планир. реагент	Получен. реагент
1	2	3	4
Первый цикл иммунизаций			
8161	Донор A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> KQB'D'G' O <sub>1</sub> O <sub>2</sub> O'G"C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> R <sub>2</sub> X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> FLH'H"Z	KE' <sub>3</sub> G'J' <sub>2</sub> O'G'O <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
1338	Реципиент A <sub>2</sub> G <sub>2</sub> G <sub>3</sub> I <sub>1</sub> KQY <sub>2</sub> Q'G"C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> WX <sub>2</sub> FLH'H"ZR'		
8460	Донор Y <sub>2</sub> G'J' <sub>2</sub> G"C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> WFLH'H"Z	G'H"W	W
4116	Реципиент KY <sub>2</sub> D'E' <sub>3</sub> G'J' <sub>2</sub> O'G"C <sub>2</sub> R <sub>2</sub> X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> FLH'ZR'		
8516	Донор	QWB'	B'

	$A_2G_2G_3I_1KQY_2B'E'_3G'Q'G''C_1C_2R_2WFLH'H''$		
8328	Реципиент $A_2G_2G_3I_1KY_2E'_3G'J'_2Q'G''C_1R_2X_2FLH''Z$		
8537	Донор $A_1A_2KE'_3G'R_2WFLH'H''ZR'$	$E'_3W$	$E'3$
8402	Реципиент $A_1A_2KQB'D'G'J'_2O'R_2X_2FLMH'H''ZR'$		
8445	Донор $A_1A_2G_2G_3I_1I_2KQD'E'_3G'O'Q'R_2WFLS_2H'UH''Z$	$G_2D'E'_3WS_2$	-
8605	Реципиент $A_1A_2I_1KQA'_2O'Q'X_2L'FLH'H''ZR'$		
Второй цикл иммунизаций			
8356	Донор $A_1A_2I_1Y_2A'_2Q'WX_2FMH''ZR'$	$Y_2A'_2X_2M$	$X_2$
4126	Реципиент $A_1A_2B_2G_2G_3I_1I_2O_2QB'E'_3G'Q'G''R_2WFLS_2H'U'H''ZR'$		
8436	Донор $A_1A_2G_2G_3I_1KQY_2E'_3G'T'Q'G''C_1C_2R_2FLH'H''R'$	$C_2R'$	$C_2$
4348	Реципиент $A_2G_2G_3I_1KQY_2D'E'_3G'J'_2O'Q'G''R_2WX_2FLMH'U'H''Z$		
8666	Донор $A_1A_2KQ'C_1C_2WL'H'$	$C_1C_2WL'$	$L'$
8450	Реципиент $A_1A_2G_2G_3I_1I_2KE'_3G'J'_2Q'R_2FS_2H'H''ZR'$		
4123	Донор $A_1A_2I_1KD'E'_3G'J'_2O'Q'G''C_1C_2R_2WX_2L'FLH''Z$	$D'O'C_2W$	-
8484	Реципиент $A_1A_2I_1KQY_2E'_3G'J'_2G''R_2FLMH'H''Z$		
4121	Донор $A_1A_2B_2G_2G_3KQ''O'Q'C_1C_2WX_2FVLH'H''R'$	$B_2G_2KQ'C_2$	-
4340	Реципиент $A_1A_2I_1KO_1O_2QA'_2E'_3G'O'R_2X_2L'FVH'H''$		
8353	Реципиент $I_1KD'E'_3G'J'_2O'Q'G''C_1C_2R_2WX_2L'FLMH''Z$		

Результаты проведенных иммунизаций в СПК «Колхоз имени Свердлова» представлены в таблице 2.

В СПК «Колхоз имени Свердлова» проведено две серии иммунизаций.

Для каждой иммунизации подобрано по 6 пар животных крупного рогатого скота «донор-реципиент», проведено взятие 150 мл крови от доноров и прилитие ее реципиентам. Первично иммунизировано 6 животных. В результате прилития во время первой серии иммунизаций среагировали с выработкой антител 5 реципиентов.

Получено 3 реagenta: F, H', Z и два неустановленных реagenta. В последующем проведена реиммунизация. Все реципиенты перед иммунизацией проверены на наличие естественных антител, т.к. присутствие их препятствует выработке запланированных антител.

Животных-реципиентов иммунизировали 3 раза кровью, взятой от животных-доноров крупного рогатого скота. После третьего раза проводили взятие крови на сыворотку. Из 6 иммунизированных животных крупного рогатого скота первоначальное антителообразование отмечено от 5 голов, что составило 83,3%.

Затем проведена вторая серия иммунизаций. Животных-реципиентов крупного рогатого скота иммунизировали 3 раза, кровью, взятой от животных-доноров. После третьего раза проводили взятие крови на сыворотку. По окончании второй серии иммунизаций изготовлено 2 реagenta: I<sub>1</sub>, L и четыре полиспецифических сыворотки. Из 6 иммунизированных животных первоначальное антителообразование отмечено от 6 голов, что составило 100%.

В СПК «Колхоз имени Свердлова» сыворотки получены при центрифугировании отстоявшейся крови, взятой во время забоя бычков на откорме, что обеспечило получение большого объема сыворотки. Таким образом, от одного бычка получили до 8 литров сыворотки.

Таблица 2

### Иммунизация в СПК Колхоз имени Свердлова

Инв. № жив.	Группа крови животного	Планир. реагент	Получен. реагент
Первый цикл иммунизаций			
12	Донор A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> O <sub>2</sub> P <sub>2</sub> K'J'2O'G"2C <sub>1</sub> WX <sub>2</sub> FLH'UH"N'	X <sub>2</sub> Y <sub>2</sub>	F
11	Реципиент A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> O <sub>2</sub> P <sub>2</sub> E' <sub>3</sub> G'TF' <sub>2</sub> K'J' <sub>2</sub> O'Y'G"2C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> WFVLS <sub>1</sub> S <sub>2</sub> H'UU'H"N'		

15	Донор A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> O <sub>2</sub> K'J' <sub>2</sub> O'X <sub>2</sub> FJLH'UH"N'	H'H"	H'
14	Реципиент A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> B <sub>2</sub> G <sub>2</sub> G <sub>3</sub> O <sub>1</sub> O <sub>2</sub> Y <sub>2</sub> B'E' <sub>3</sub> G'K'J' <sub>2</sub> O'G" <sub>2</sub> C <sub>1</sub> X <sub>2</sub> L'FN'		
26	Донор A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Y <sub>2</sub> E' <sub>3</sub> G'K'J' <sub>2</sub> O'Y'B"G" <sub>2</sub> WX <sub>2</sub> FH'ZN'	Y <sub>2</sub> K'B"Z	Z
25	Реципиент A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> G <sub>3</sub> O <sub>2</sub> E' <sub>3</sub> G'F'2J'2O'G" <sub>2</sub> C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> R <sub>1</sub> WX <sub>2</sub> L'FS <sub>1</sub> S <sub>2</sub> H'Z'		
32	Реципиент A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> B <sub>2</sub> O <sub>1</sub> O <sub>2</sub> Y <sub>2</sub> B'E' <sub>3</sub> G'O'Y'G" <sub>2</sub> WX <sub>2</sub> FJLH'UH"		
50	Донор O <sub>2</sub> Y <sub>2</sub> E' <sub>3</sub> G'G" <sub>2</sub> X <sub>2</sub> FVJLH'UH"N'	VY <sub>2</sub>	-
47	Реципиент Z'G <sub>2</sub> O <sub>2</sub> P <sub>2</sub> B'E' <sub>3</sub> G'F' <sub>2</sub> J' <sub>2</sub> G" <sub>2</sub> C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> WX <sub>2</sub> L'FJLS <sub>1</sub> S <sub>2</sub> H'UH"N'		
Второй цикл иммунизаций			
53	Донор A <sub>2</sub> G <sub>2</sub> G <sub>3</sub> I <sub>1</sub> I <sub>2</sub> KO <sub>2</sub> T <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> A' <sub>2</sub> G'O'Q'B"WX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> FLS <sub>2</sub> H'UH"Z	T <sub>1</sub> G" <sub>1</sub>	I <sub>1</sub>
54	Реципиент A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> G <sub>2</sub> G <sub>3</sub> KO <sub>1</sub> O <sub>2</sub> Y <sub>2</sub> A' <sub>2</sub> B'D'E' <sub>3</sub> K'O'Q'B'GC <sub>1</sub> C <sub>2</sub> R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> WX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> L'FV LS <sub>2</sub> UH'UH"ZR'		
51	Донор A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> I <sub>2</sub> KY <sub>1</sub> E' <sub>3</sub> C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> R <sub>2</sub> WX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> FLUH'U'Z	LU'Z	L
55	Реципиент A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> G <sub>2</sub> G <sub>3</sub> I <sub>1</sub> I <sub>2</sub> KO <sub>1</sub> O <sub>2</sub> QT <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> E' <sub>3</sub> G'Q'B"G"C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> R <sub>1</sub> WX <sub>1</sub> L'FLS <sub>2</sub> H'		
60	Реципиент A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> G <sub>2</sub> G <sub>3</sub> I <sub>1</sub> I <sub>2</sub> O <sub>1</sub> O <sub>2</sub> T <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> B'K'O'B"G'WX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> L'FS <sub>2</sub> H'UH"Z		

**Заключение.** За 2016 год изготовлено 23 реагента. Методом иммунизации изготовлено 12 реагентов, путем абсорбции ранее полученных полиспецифических сывороток - 16 реагентов. Титр данных реагентов составил 1:2 – 1:125. Таким образом, благодаря изготовленным сотрудниками лаборатории и закупленным реагентам, банк реагентов в 2016 году составил 46 наименований, что позволяет полностью аттестовать животных по группам крови. В 2016 году аттестовано 19002 голов.

## Литература

1. *Буваева Н.В.* Использование групп крови в селекции крупного рогатого скота калмыцкой породы. автореф., Ставрополь, 2012. 22 с.
2. *Веровочкин П.С., Едренин Н.Н.* Иммуногенетика в селекции крупного рогатого скота. Куйбышев. Куйбышевское книжное изд-во. 1988. 85 с.
3. *Кэтти Д., Райкундалия Ч., Браун Д.* Антитела. Методы. М. Мир. 1991. 288 с.
4. *Лазарева Ф.Ф., Сагитдинов Ф.А.* Краткие итоги научных исследований лаборатории иммуногенетики. Достижения сельскохозяйственной науки Урала – агропромышленному комплексу. Сборник научных трудов, посвященный 50-летию образования Уральского НИИСХ. Екатеринбург. 2006. С. 319-323
5. *Никитин С. В., Князев С.П., Гончаренко Г.М., Бекенев В.А.* Сцепленные с полом эритроцитарные антигены домашней свиньи. Генетика. 2007. №4. С. 521-529.
6. *Романенко Г.А.* Генетические маркеры в селекции уральского черно-пестрого скота. Аграрный вестник Урала. № 4 (58). 2009. с: 82-83.
7. *Романенко Г.А., Гридина С. Л., Сагитдинов Ф.А.* Селекционная работа с использованием маркеров высокой молочной продуктивности уральского черно-пестрого скота в стаде ЗАО «Новопышминское» Свердловской области. Сборник научных трудов ФГБНУ «Уральский НИИСХ», посвященный 60-летию института «Научные достижения и инновационные подходы к решению проблем растениеводства и животноводства на Урале». 2016. С. 290-299.
8. *Шукюрова Е., Колпакова Л., Гришина З.* Достоверность происхождения скота в Хабаровском крае. Молочное и мясное скотоводство. 2006. № 6. С. 31-32.
9. *Сороковой П.Ф., Машуров А.М.* Исследование корреляций групп крови с оплодотворением у крупного рогатого скота. Труды 2-го Международного симпозиума. София. БАН. 1973. 580 с.
10. *Foster M.* Genomanalyse. Tierzucht und allgemeine Landwirtschaftslehre fur Tiermediziner Herausgegeben von Krauslich H, Brem G., Enke Verlag, 1997. S. 77-109.