ОЦЕНКА ИНФОРМАТИВНОСТИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ОРЛОВСКОЙ РЫСИСТОЙ ПОРОДЫ ЛОШАДЕЙ

Мысина В.А., Былино О.В., Мысин М.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

В настоящее время в молекулярной генетике одним из способов изучения генетического разнообразия культурных популяций животных является использование микросателлитных маркеров. Микросателлиты, обладая высокой скоростью мутирования, большим аллельным разнообразием и гетерозиготностью, можно применять не только для изучения генетического разнообразия породы в целом, но и для выявления генетической дифференциации между субпопуляциями животных находящихся в разных природно-климатических зонах и составляющих одну породу, что особенно важно, если порода имеет ограниченный генофонд. Такой породой, которая разводится в различных регионах России и имеет сегодня ограниченный генофонд, является орловская рысистая порода лошадей. Так проведённый нами в 2011-2012 гг мониторинг данной породы лошадей показал, что численность её племенного ядра в настоящее время составляет 491 матка и 31 жеребец-производитель, хотя эффективная численность породы должна быть не менее 1000 голов. Основная проблема заводских пород животных России заключается в том, что их генетическое разнообразие в большинстве своём определяется количеством структурных единиц (линий) в породе, что малоэффективно в условиях малочисленности культурных популяций. Поэтому использование микросателлитов, которые позволяют заглянуть под «каркас» породы и оценить её молекулярное разнообразие, является заметным подспорьем классическим методам селекции определения генетического разнообразия в заводских породах животных имеющих ограниченный генофонд. Кроме того, применение еще и мтДНК, которая используется для исследования филогении пород, при критической численности популяции также расширяет представление о её молекулярном состоянии.

В связи со всем выше изложенным, для того, чтобы изучить генетическое разнообразие, а также исследовать филогенетическую структуру орловской рысистой породы лошадей, мы сперва, оценили информативность предложенных ранее молекулярных маркеров на примере одной племенной кобылы орловской рысистой породы. В исследовании использовали ДНК кобылы Попутки (Паводок – Плитка), номер животного по ГПК – 20137, линия Барчука, Хреновской конный завод.

Микросателлиты. Молекулярно-генетический анализ производился с использованием 15 локусов, рекомендованных ISAG/FAO (International Society for Animal Genetics/Food and Agricalture organisation). Для типирования аллелей в данных локусах использовали следующие пары праймеров: AHT4 (F), ASB2 (R), COR07 (F), HMS1 (R), HMS3 (R), HMS6 (F), HMS7 (R), HTG4 (F), HTG7 (R), LEX33 (R), TKY301 (F), TKY325 (F), TKY333 (F), TKY337 (F), TKY341 (R) [1]. В круглых скобках указан праймер, с которым ставили реакцию секвенирования (F-forward и R-reverse, соответственно). В результате проведенного анализа последовательности ДНК, полученной после секвенирования, установлено, что все перечисленные праймеры распологаются вокруг микросателлита типа AC/TG. Обнаружено, что длина микросателлитного повтора AC/TG варьирует от 9 до 28 единиц в зависимости от локуса. 10 из 15 изученных локусов находились в гетерозиготном состоянии и 5 в гомозиготном, соответственно. У гетерозигот разница в количестве микросателлитных повторов у двух разных аллелей не превышала 1-7 единиц, что может указывать на неравный кроссинговер или генную конверсию в изученных локусах.

мтДНК. Для целей подбора условий гаплотипирования митохондриального генома и последующего исследования филогенетических связей в популяции орловской рысистой породы лошадей мы также амплифицировали участок D-петли (control region 15469-16660 п.н.) митохондриальной ДНК протяженностью 510 п.н. (15343-15852 п.н. согласно RefSeq NC_001640.1 INSDC X79547.1) с праймерами CGC ACA TTA CCC TGG TCT TG (forward) и GAA CCA GAT GCC AGG TAT AG (reverse)[2]. Реакцию секвенирования ставили с reverse-праймером. Полученная после секвенирования последовательность ДНК составила 430 п.н., что достаточно для выявления гаплотипов митохондриальной ДНК в популяции лошадей.

Таким образом, полученные результаты по микросателлитному и мтДНК анализу племенной кобылы, позволяют сделать вывод об информативности и пригодности данных маркеров для изучения генетического разнообразия орловской рысистой породы лошадей.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Президента Российской Федерации для молодых российских учёных (проект № МК-113.2011.4) и РФФИ (проект № 11-04-01515-а). Литература: 1. Prystupa J.M. et al. 2012. Animal, 6:1, 19–30.; 2. Xu,X. and U.Amasson, 1994. Gene,148, 657-662.