

# 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 рыистой породы лошадей, мы сперва, оценили информативность предложенных ранее молекулярных маркеров на примере одной племенной кобылы орловской рыистой 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 Agriculture organisation). Для типирования аллелей в данных локусах использовали следующие пары праймеров: АНТ4 (F), ASB2 (R), COR07 (F), HMS1 (R), HMS3 (R), HMS6 (F), HMS7 (R), НТГ4 (F), НТГ7 (R), LEX33 (R), ТКУ301 (F), ТКУ325 (F), ТКУ333 (F), ТКУ337 (F), ТКУ341 (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 располагаются 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 рыистой 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 рыистой 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.