

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**«ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ
БИОЛОГИЯ»**

**МАТЕРИАЛЫ
IV МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНОЙ
ИНТЕРНЕТ - КОНФЕРЕНЦИИ**

Ставрополь, 2016

УДК 53:542.98:57:615.035.061.3 (081)

ББК 28.070 я 431

Ф 50

«ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ». МАТЕРИАЛЫ IV МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНОЙ ИНТЕРНЕТ – КОНФЕРЕНЦИИ. - Ставрополь. Изд-во: СтГМУ, 2016. –180 с.

ISBN 978-5-89822-482-0

Члены редакционной коллегии:

д.м.н., профессор Щетинин Е.В.

д.б.н., профессор Эльбекьян К.С.

к.ф-м.н. Дискаева Е.И.

к.ф-м.н. Вечер О.В.

Ответственный редактор: ректор Ставропольского государственного медицинского университета д.м.н., профессор В.И. Кошель

В сборнике представлены материалы IV международной научной Интернет – конференции по перспективным проблемам биотехнологии лекарственных средств, разработки биологически активных веществ, химии, биологии, экологии, актуальным вопросам теплофизики, термодинамики, физической гидродинамики и особенностям преподавания физики и химии в медицинском вузе.

Рецензент:

А.Б. Ходжаян – проректор по учебной деятельности, д.м.н., профессор

УДК 53:542.98:57:615.035.061.3 (081)

ББК 28.070 я 431

Ф 50

ISBN 978-5-89822-482-0

Рекомендовано к печати редакционно-издательским советом СтГМУ

Ставропольский государственный
медицинский университет, 2016

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ (SSR-МАРКЕРОВ) В КОНТРОЛЕ ДОСТОВЕРНОСТИ ПРОИС- ХОЖДЕНИЯ ЛОШАДЕЙ

Глинская Н.А., Приловская Е.И., Поливко В.А., Тихонова И.А.
Полесский государственный университет, Пинск, Беларусь

В современных условиях в связи с появлением большого числа частных владельцев, высокой стоимости племенных животных, увеличением экспорта и импорта, участием в международных соревнованиях, а также применением биотехнологических методов при воспроизводстве возникает необходимость надежной системы идентификации и контроля происхождения лошадей. Поэтому цель нашей работы - адаптация технологии оценки достоверности происхождения лошадей по микросателлитным локусам (SSR-маркерам) с последующим изучением их полиморфизма. Исследования были проведены в научно-исследовательской лаборатории «Прикладной и фундаментальной биотехнологии» на базе УО «Полесский государственный университет», а также в научно-исследовательской лаборатории ДНК-технологий на базе УО «Гродненский государственный аграрный университет». Объектом исследования являлась популяция лошадей, разводимых в СПК «Прогресс-Вертилишки» Гродненской области (n=50).

ДНК экстрагировали из проб буккального эпителия животного перхлоратным методом с двойной очисткой (по методу Зиновьевой). Концентрацию ДНК оценивали спектроскопическим методом на спектрофотометре Implen P360. Оптимальная концентрация геномной ДНК, необходимой для проведения мультиплексной реакции, составляла 1-10 нг/мкл. Нативность ДНК определяли проведением электрофореза в 1% агарозном геле при напряжении 100V 20–30 мин по отсутствию «шлейфа» фрагментов ДНК и интенсивности свечения бромистого этидия в УФ-свете. Амплификацию проводили с использованием реакционной смеси объемом 15 мкл, включающей следующие компоненты: буфер – 2,5 мкл; дНТП – 4,0 мкл, Taq-полимераза – 0,5 мкл, деионизированная вода – 3 мкл, смесь праймеров – 4,0 мкл, геномная ДНК – 1-10 нг/мкл [1].

Для проведения реакции использовали ПЦР программу: 1. денатурация – 10 минут при температуре 95⁰С; 30 циклов: плавление – 30 секунд при температуре 95⁰С, отжиг праймеров – 30 секунд при температуре 60⁰С, элонгация – 1 минута при температуре 72⁰С; финальная элонгация – 1 час при температуре 72⁰С; финальное удержание при температуре 4⁰С.

Образцы, перед постановкой в секвенатор, денатурировали в течение 5 мин при 95⁰С, с последующим охлаждением при 4⁰С. Затем производилась непосредственная загрузка образцов в генетический анализатор 3500, позволяющего проводить генетическую экспертизу в автоматическом режиме с высокой степенью точности, руководствуясь протоколом. Далее проводился анализ результатов с помощью программного обеспечения GeenMapper 5.

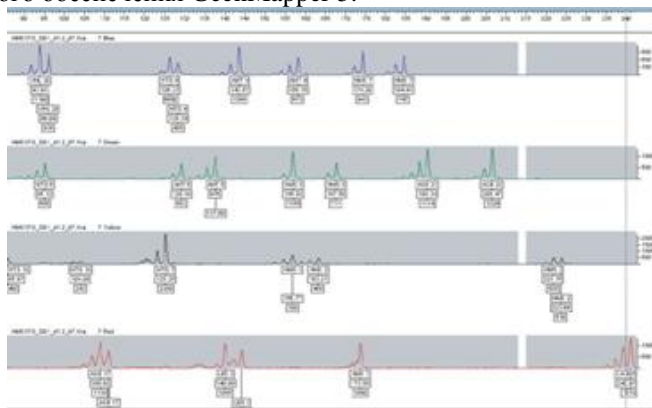


Рисунок 1 – Анализ амплифицированных SSR-локусов на генетическом анализаторе 3500

В ходе анализа аллелофонда исследованных пород лошадей по 17 микросателлитам ДНК были получены данные, которые характеризуют полиморфизм каждого из маркеров. По 17-ти изученным SSR-локусам идентифицировано от 6 до 15 аллелей. Чем большим числом аллелей представлена популяция и чем более равномерно они распределены, тем более варибельным является генетический потенциал популяции. С другой стороны, чем большим числом аллелей представлены STR-локусы, тем более информативными они являются для характеристики популяции.

Средний показатель уровня полиморфности локуса составил 3,771 единицы, в связи с чем все локусы были разделены на две группы. В первую группу вошли локусы, которые имеют значение уровня полиморфности ниже среднего уровня – это локусы HTG4, HTG7, HMS6, HMS1, HTG6, АНТ4, СА425, HMS2. Минимальным значением характеризовался локус HTG4 – 2,609. Вторую группу составили локусы, имеющие значение уровня полиморфности превышающие средние показатели: ASB2, ASB17, ASB23, HTG10, LEX3, VHL20. Максимальным уровнем полиморфности обладает локус ASB2 – 5,131.

Учитывая, что уровень полиморфности, по сути, является показателем эффективно действующих в популяции аллелей, эта величина коррелирует с числом аллелей, выявленных в каждом из исследованных локусов (т.е. чем больше выявлено аллелей, тем больше уровень полиморфности) [2].

В вопросах динамики генетического состава популяций важным параметром является гетерозиготность. Это генетическое явление наблюдается у организмов, гомологичные хромосомы которых имеют разные формы (аллели) того или иного гена. Гетерозиготность возникает при слиянии разнокачественных гамет в гетерозиготу, широко распространена в природных популяциях и является одной из причин гетерозиса. Гетерозиготность играет положительную роль в адаптации популяций к изменяющимся условиям окружающей среды, а также в микроэволюционном процессе. Поэтому ее оценка в настоящее время необходима практически во всех популяционно-генетических исследованиях [3].

Степень наблюдаемой гетерозиготности является мерой генетической изменчивости в популяции. Частота гетерозигот – важный показатель, поскольку каждая гетерозигота несет разные аллели и иллюстрирует наличие изменчивости [4].

Для точной оценки изменчивости популяции вводится показатель ожидаемой гетерозиготности, рассматривающий уровень аллельного разнообразия. В этой связи нами была дана оценка наблюдаемой

и ожидаемой степени гетерозиготности, рассчитанная по 17 SSR-локусам, показатели которых составили 0,704 и 0,706 соответственно.

На основании полученной характеристики аллельного разнообразия исследуемых SSR-локусов можно заключить, что все они соответствуют основным требованиям, делающим их привлекательными для анализа генетической дифференциации лошадей – высокий уровень полиморфизма, хорошо сбалансированные частоты аллелей, высокая степень гетерозиготности.

Библиографический список

1. Генетическая характеристика созданных типов скота бурой швицкой и сычевской пород с использованием полиморфизма микросателлитных локусов / Н.И. Стрекозов [и др.] // С.-х. биология. Сер. Биология животных. – 2009. – № 2. – С. 10–15.

2. Глинская, Н.А. Анализ генетического разнообразия популяций черно-пестрого крупного рогатого скота по STR-локусам / Н.А. Глинская, Т.И. Епишко, О.А. Епишко // Актуальные проблемы сельскохозяйственной биотехнологии: сб. науч. тр. / Нац. банк Респ. Беларусь, Учреждение образования "Полес.гос. ун-т"; [редкол.: Т.И. Епишко (отв. ред.) и др.]. – Пинск, 2012. – С. 21–25.

3. Зайцева, М.А. Использование микросателлитных маркеров ДНК в контроле происхождения лошадей / М.А. Зайцева // Вклад молодых ученых в развитие аграрной науки 21 века : материалы междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов, Рязань, 2–3 марта, 2004 г. / М-во сел. хоз-ва Рос. Федерации, Ряз. гос. с.-х. акад. им. П.А. Костычева. – Рязань, 2004. – С. 105–107.

4. Коновалова, Е.Н. Характеристика симментальского скота различного происхождения с использованием ДНК-микросателлитов / Е.Н. Коновалова, В.И. Сельцов, Н.А. Зиновьева // Зоотехния. – 2006. – № 8. – С. 6–9.