

4. Rademaker J.L.W., Brijijn F.J. Characterization and classification of microbes by Rep-PCR genomic fingerprinting and computer-assisted pattern analysis // Appl. Envir. Microbiol.— 1998.— Vol.64.— P. 2096–2104.

5. Карпова И.С., Горовенко Н.Г., Подольская С.В., Россоха З.И., Корецкая Н.В., Дмитренко В.В., Рымарь С.Е. Инсерционный механизм ДНК-мутагенеза // Вісн. Укр. товариства генетиків і селекціонерів.— 2006.— Т.4, №1.— С. 124–129.

6. Кузьменко О.Л., Негруцька В.В., Пальчиковська Л.Г., Карпова І.С., Лукаш Л.Л. Застосування методу геномного фінгерпрінтингу (REP-ПЛР) для дослідження інсерційних мутантів *Bacillus subtilis* // Фактори експериментальної еволюції організмів.— К.: Логос.— 2009.— Т.7.— С. 32–36.

7. Sakaguchi K. Invertrons, a class of structurally and functionally related genetic elements that includes linear DNA plasmids, transposable elements, and genomes of adenovirus // Microbiol. Rev.— 1990.— Vol.54, N1.— P. 66–74.

### Резюме

Методом гер-ПЛР з використанням ВОХ-праймерів, виявлено кількісні і якісні відмінності патернів ДНК Alu-інтегранта *B. subtilis*, як від стандартних штамів, так і субклонів з ознаками суттєвого порушення росту колоній.

Посредством метода гер-ПЦР с использованием ВОХ-праймеров выявлены количественные и качественные отличия паттернов ДНК Alu-интегранта *B. subtilis* как от стандартных штаммов, так и субклонов с признаками существенного изменения роста колоний.

Quantitative and qualitative deviations in DNA patterns from control and derivatives of the *B. subtilis* strain which contain Alu-insertion were shown using rep-PCR method with primers to BOX elements.

**КОНОВАЛОВ В.С., КОПЫЛОВ К.В., СТАРОДУБ Л.Ф.,  
АЛЕКСЕЕНКО Т.И., ШЕБУНЬКО М.В.**

*Институт разведения и генетики животных НААН, Украина.*

*Научно-методический центр, Украина. e-mail konovalov\_vs@ukr.net*

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РИСКИ И УПРАВЛЕНИЕ ИМИ В СЕЛЕКЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ

Современные методико-технологические достижения молекулярной генетики позволили не только углубить понимание механизмов мутационного процесса, но и понять, что существенная часть “нейтральных” мутаций [1], на самом деле представляют собой рецессивные “молчащие” мутации проявляющие свои кодоминантные свойства как адаптивный ответ на меняющийся уровень антропогенного давления [2]. Реализация ранее скрытой от селекционера изменчивости обязывает нас глубже анализировать проблемы генетического груза и дифференцировать генетические риски в зависимости от их влияния на гомеостатические механизмы жизнеспособности и воспроизводительной способности организма. В этой связи в методологии фено-цитогенетического мониторинга наследственных патологий раз-

вития считаем целесообразным выделять ее сигналь-летальную (А) и селекционно-стратегическую (В) составляющие.

*(А) сигнал-летальный скрининг.* На данном этапе развития высокопродуктивного животноводства в европейских странах, США и Канаде широко применяется сигнальный фено-цито-ДНК скрининг летальных мутаций. Результаты мониторинга, сочетающиеся с автоматизированным первичным зоо-ветеринарным учетом дают возможность оперативно применять программу упреждающего запрета на использования в селекционном процессе выдающихся производителей-носителей мутаций. Комплексное использование вышеперечисленных методов с дифференциальной окраской хромосом позволяет существенно расширить международный список 46 летальных мутаций [3] до 450 наименований наследственных патологий [4]. Если исходить из понимания, что количество потенциальных мутаций в геноме основывается на числе имеющимся в нем нуклеотидов очевидно, что фено-цито-ДНК скрининг это “бесконечная гонка на упреждение”. Именно отсутствие (1980–2000 гг.) методов упреждающего скрининга таких наследственных патологий как BLAD, CVM, DUMS и др. способствовало их существенному накоплению в генофонде голштинской породы. Средний показатель насыщенности генофонда голштинской породы вредными мутациями в европейских странах, США и Канаде колеблется в границах 19,15% [5]. В этой связи современные требования генетической безопасности племенного животноводства требуют обязательного ДНК-скрининга нижеследующих мутаций (табл.).

Очевидно, что своевременный фено-цито-ДНК скрининг перечисленных мутаций существенно снизит темпы коррозии генофонда пород.

*(В) селекционно-стратегический скрининг.* Но, это только одна сторона вопроса мониторинга. Находясь в скрытом гетерозиготном состоянии летальные гены эволюционируют путем мутантного образования множествен-

#### Мутации обязательного ДНК-скрининга

| Код в OMNIA | Название аномалии  | Ассоциируемый ген | Проанализированы геномные карты этих мутаций (Коновалов В.С., 2009)   |
|-------------|--------------------|-------------------|---|
| 000194      | цитруллинемия      | RPS3A             | 1. Установлен № хромосомной карты.<br>2. Место локализации гена, начало и конец считывания.<br>3. Емкость гена в МБ.<br>4. Пептидная карта аномального белка.<br>5. Нуклеотидная карта мутантного гена.<br>6. Анализируется метаболизм основного субстрата. |
| 001249      | *Ред-фактор(RF)    | TYRP1             |   |
| 001340      | СУМ                | SLC35A3           |   |
| 000262      | ДУМС               | PTPN18            |   |
| 000363      | Дефицит фактора XI | F11               |   |
| 000595      | BLAD               | ITGB2             |   |

ных аллелей, часть из которых может представлять интерес для селекции. Эти с точки зрения селекционера, положительные мутации могут представлять собой реальную базу для селекционного прогресса. Например, как ген миостатина-0, комолости и др.

### Материал и методы

Для удобства разработки методических подходов в решении подобного типа задач используем мутация ред-фактор (RF). В селекционной практике ред-фактор (RF) рассматривается как маркер “засоренности” генома чистопородного черно-пестрого скота “красным геном”. Считается, что наличие (RF) существенно снижает рейтинг качества работы селекционной фирмы. В нашем аналитическом мониторинге (RF) используется как: 1) молекулярный зонд для оценки интенсивности иммиграции вредных генов [6]; 2) маркерный ген-мутатор для оценки темпа спонтанного мутагенеза [7]; 3) модельный ген для изучения механизмов образования в геноме домашних животных множественного аллелморфизма (от 3 до 15 аллелей). Именно благодаря перечисленным свойствам (RF) мы используем данный маркер для поиска аллель специфических амплификаций (ACA) ранее перечисленных мутантных генов. Информационной служат геномные базы OMNIA (<http://omia.angis.org.au>). Приводим пример общей схемы поиска.

*Этап 1.* Для “перевода” с языка азотистых оснований нуклеиновых кислот мутантного гена (в нашем случае гена TYRP1) размером в 1554 нуклеотидов:

atgagccccctgggtggggccttctgctcggctgtctgggtgtgcgctcccgtcggggcccgggcgagtgccccagggtctcatgacgggtgggcagcctgcaggccaaggaatgctcccggcgtggggcggccagccccccaacgtctcggcgtccccgggaggg csg..... и т.д. используем таблицу (и-РНК) вырожденности генетического кода 20 аминокислот.

|   | У   | Ц   | А   | Г   |   |
|---|-----|-----|-----|-----|---|
| У | Фен | Сер | Тир | Цис | У |
|   | Фен | Сер | Тир | Цис | Ц |
|   | Лей | Сер | -   | -   | А |
|   | Лей | Сер | -   | Три | Г |
| Ц | Лей | Про | Гис | Арг | У |
|   | Лей | Про | Гис | Арг | Ц |
|   | Лей | Про | Гли | Арг | А |
|   | Лей | Про | Гли | Арг | Г |
| А | Иле | Тре | Асп | Сер | У |
|   | Иле | Тре | Асп | Сер | Ц |
|   | Иле | Тре | Лиз | Арг | А |
|   | Мет | Тре | Лиз | Арг | Г |
| Г | Вал | Ала | Асп | Гли | У |
|   | Вал | Ала | Асп | Гли | Ц |
|   | Вал | Ала | Глу | Гли | А |
|   | Вал | Ала | Глу | Гли | Г |

*Полученный результат* соответствует пептидной карте последовательности /аминокислот в полипептидной цепи фермента ДОПА-хром таутомеразы (Р.Ф.5.3.2.3) кодируемого геном TYRP1 в размере 517 аминокислот.

*Этап 2.* В результате совмещения получаемых результатов устанавливаем не только тип произошедшей точечной мутации (т.е. миссенс-мутации, сименс-мутации, нонсенс-мутации, мутации сдвиг рамки считывания), но и “горячие точки” в нуклеотидной карте анализируемого гена. По адресу <http://www.ebi.ac.uk/emboss/transeq/> имеются онлайн-машинные-переводчики (EMBOSS Transed) выполняющие эти дешифровочные работы.

*Этап 3.* Сравнивая полученные результаты с регуляторной картой метаболизма анализируемой аминокислоты генома пролонгируем возможное позитивное или негативное влияние мутантного гена на организм. Конечным результатом проведенного анализа является выбор сценария использования образующихся аллеломорфов селекционном процессе.

*Обсуждение.* Именно подобного типа работы создают интеллектуальный ресурс “закрытых” каталогов прогнозируемых генетических рисков. На основании проведенного анализа селекционные фирмы составляют каталоги производителей селекционного риска двух типов. *Первый тип* — *закрытые каталоги* на вновь выявленные летальные дефекты. Эти каталоги являются селекционно-коммерческой тайной фирмы. Зная, что та или иная страна импортер еще не владеет необходимыми маркерными системами для диагностики летальных дефектов при продаже племенного скота эта селекционно-генетическая информация не раскрывается перед покупателем племенного скота. Таким образом, наследственно-обусловленная патология иммигрирует вместе с производителями, спермой, эмбрионами и т.п. в страну импортера. В целях дальнейшего совершенствования технологий опережающего скрининга наследственных аномалий развития домашних животных считаем целесообразным финансовое усиление технологической базы отдела генетики института разведения и генетики животных НААН Украины.

### **Литература**

1. *Кимура М.* Молекулярная эволюция: теория нейтральности.— М., 1985.
2. *Коновалов В.С.* Механизмы плейотропного действия генов меланиновой окраски у животных организмов: Дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.15 — генетика / М-во с.х. СССР. ВАСХНИЛ. ВНИИ развед. и генет. с.-х. животных.— Ленинград — Пушкин, 1983.— 320 с.
3. *Визнер Э., Виллер З.* Ветеринарная патогенетика.— М., 1979.
4. *Millar P., Lauvergne J., Dolling C.* Mendelian inheritance in cattle. Waseningen, 2000, 9: 101.
5. *Жигачев А.И., Эрнст Л.К., Богачев А.С.* О накоплении груза мутаций в породах крупного рогатого скота при интенсивных технологиях воспроизводства и улучшения по целевым признакам. Сельскохозяйственная биология, 2008, №6, С. 25–32.
6. *Коновалов В.С., Бірюкова О.Д.* Динаміка зміни генетичної структури популяції бугаїв-плідників чорно-рябої худоби за геном “red” // Вісник Білоцерківського держ. аграр. ун-ту т.— Біла Церква, 2002.— Вип.22.— С. 79–84.
7. *Коновалов В.С., Стародуб Л.Ф.* Мутація “RED” як провокатор спонтанного мутагенезу червоно-рябої великої худоби. Сб. розведення і генетика тварин. Міжведомчий тематичний науковий збірник. вип.43, Київ. Аграрна наука, 2009, С. 173–177.

## Резюме

Обговорюється проблема контролю генетичних ризик у великої рогатої худоби у зв'язку з проявом генетичної ерозії, обумовленої звуженням генофонду в межах вигляду і усередині порід. Наголошується необхідність нових підходів до оцінки племінного матеріалу, поглибленого генетичного аналізу результатів селекції і її корекції на основі досягнень біотехнології.

Обсуждается проблема контроля генетических рисков у крупного рогатого скота в связи с проявлением генетической эрозии, обусловленной сужением видового и породного генофонда. Отмечается необходимость новых подходов к оценке племенного материала, углубленного генетического анализа результатов селекции и ее коррекции на основе достижений биотехнологии.

The problem of the control of genetic defects in cattle is discussed in connection with manifestation of genetic erosion, caused by reduction of genofond within the limits of species and breeds. The authors note the necessity of new approaches to assessment the pedigree material, more profound genetic analysis of results of selection and its correction on the basis of achievements of biotechnology.

**МЕДВЕДЬ О.М., СОКОЛОВ И.Д.**

*Луганский национальный аграрный университет*

*Украина, 91008, Луганск, e-mail: olgamed060283@rambler.ru*

## ЭВОЛЮЦИОННОЕ ЗНАЧЕНИЕ МУТАЦИЙ РЕГУЛЯТОРНОГО ГЕНА *APETALA1* У АРАБИДОПСИСА

В последнее время всё большее внимание уделяется регуляторным генам животных и растений. Им приписывается управление онтогенезом и особенно большое значение для видообразования и происхождения более крупных таксонов [1, 2]. В 1982 г. Koornneef M. Et al. у модельного растения арабидопсиса Таля (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) идентифицировали, а потом и картировали мутацию *apetala1-1*, у которой отсутствуют или рудиментарны лепестки цветков (*apetala* = без лепестков) [3]. Мутация *ap1-1* — генная рецессивная мутация. В настоящее время получена большая серия сходных по действию множественных аллелей гена *APETALA1* (*API*). Изучению эволюционного значения мутаций регуляторного гена *API* арабидопсиса и посвящена настоящая работа.

### Материалы и методы

Семена исходной гомозиготной линии *Landsberg erecta* (*Ler*) (генотип *APIAPI*) и созданной на ее генетической основе мутантной линии *ap1-1* (генотип *ap1-lap1-1*) получены нами из Ноттингемского центра образцов арабидопсиса (NASC, UK) [3]. Растения для исследований выращивали в горшочной почвенной культуре в лаборатории светокультуры кафедры биологии растений Луганского НАУ [4]. Мутация *ap1-1* внешне проявляется во время цветения [5], когда и изучали строение цветков. При обработке исходных данных, полученных при подсчётах количества органов цветков, использовали обычные методы математической статистики [6, 7]. Вычис-