

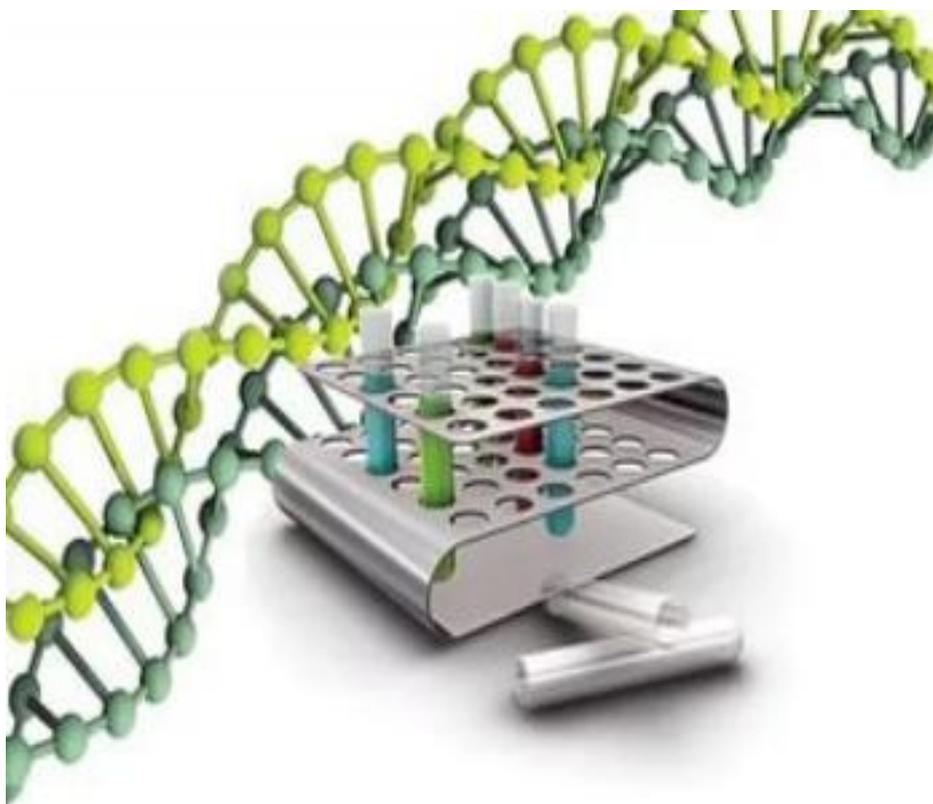
Министерство сельского хозяйства РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Смоленская государственная сельскохозяйственная академия»

В.И. Листратенкова

Краткий курс лекций по дисциплине

**«МЕТОДЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И ИХ
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ»**



Направление подготовки: 36.04.02 Зоотехния

Направленность (профиль) программы: «Технология производства
продукции животноводства (по отраслям)»

Форма обучения: очная, заочная

Смоленск 2023

Рецензент: Машаров Ю.В., доцент кафедры биотехнологий и ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Смоленская ГСХА, кандидат ветеринарных наук.

Листратенкова В.И.

Л 63 Методы генетического анализа и их использование в животноводстве. Краткий курс лекций / В.И. Листратенкова,- Смоленск: ФГБОУ ВО Смоленская ГСХА, 2023.- 31с.

Краткий курс лекций по дисциплине «Методы генетического анализа и их использование в животноводстве» составлен в соответствии с рабочей программой дисциплины и предназначен для студентов направления подготовки 36.04.02 Зоотехния направленность (профиль) программы: «Технология производства продукции животноводства (по отраслям). Содержит теоретический материал по основным вопросам дисциплины, включающим методологическую основу генетики в селекции животных при использовании разных методов генетического анализа: гибридологического, анализа родословных, близнецового, цитогенетического, молекулярно-генетического, биохимического, генно-инженерного, анализа белкового полиморфизма и популяционно-статистического.

Печатается по решению научно-методического совета ФГБОУ ВО Смоленская ГСХА, протокол № 6 от 29 июня 2023 года

УДК 636

© Листратенкова В.И. 2023

© Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Смоленская государственная сельскохозяйственная академия, 2023

Оглавление

стр.

	Введение	4
1	Лекция 1. Генетический анализ как методологическая основа генетики и селекции животных	4
2	Лекция 2 Методы генетического анализа 1.	11
3	Лекция 3 Методы генетического анализа 2	14
4	Лекция 4. Методы генетико-статистического анализа по качественным признакам в популяции	20
5	Список рекомендуемой литературы	30

Введение

Цель дисциплины «Методы генетического анализа и их использование в животноводстве»: формирование у магистрантов общепрофессиональной компетенции, теоретических знаний и практических навыков использования методов генетического анализа в практике животноводства.

Задачи:

- изучить принципы и методы наследования качественных и количественных признаков у животных,
- изучить основные методы генетического анализа и их использование в зоотехнической науке и практике;
- изучить современные молекулярные и иммуногенетические маркеры, используемые для оценки генетической структуры популяций, проверке происхождения животных и мониторинга генетического груза в животноводстве;
- изучить традиционные и инновационные методы совершенствования животных с использованием достижений иммунной и молекулярной генетики.

Лекция 1. Генетический анализ как методологическая основа генетики и селекции животных

1. Предмет генетического анализа. Понятие "признак" в генетике

1.2. Генетические коллекции

2. Задачи генетического анализа

3. Логика, принцип и этапы генетического анализа.

I. Предмет генетического анализа. Понятие "признак" в генетике

Предметом изучения в генетическом анализе является фенотип организма, его отдельные признаки. Признаком в генетике считают любое свойство, любую особенность, по которым особи могут отличаться друг от друга. Это - морфологические, биохимические, физиологические, анатомические различия, чувствительность или устойчивость кразличного рода воздействиям, особенности поведения и т. д. По генетической структуре признаки можно разделить на элементарные (простые) и сложные. Подобно тому, как генотип особи можно разложить на элементарные наследственные единицы - гены, фенотип особи также можно представить как совокупность элементарных единиц - "фенов", каждый из признаков позволяет выявить

связь между геном и фенотипом, изучать функции и структуру каждого гена, его плеiotропные эффекты и изменчивость.

Анализ сложных признаков проливает свет на механизм неаллельных взаимодействий, позволяет исследовать на биохимическом уровне этапы метаболизма, изменение которых приводит к тому или иному фенотипическому проявлению изучаемого признака. Генетические коллекции, их роль и использование в генетическом анализе. Генетический анализ может проводиться только при наличии наследственно различающихся форм и тем успешней, чем больше различных наследственных вариантов имеется у исследователя. Поэтому на первом этапе генетического анализа необходимо создание генетических коллекций, представляющих собой совокупность форм какого-либо вида, которые характеризуются наследственными различиями по одному или нескольким признакам.

1.2. Генетические коллекции - основа наших знаний о наследственной изменчивости, норме реакции отдельных генотипов и т. д. Образцы коллекций служат эталоном при идентификации новых мутаций и источником ценного исходного материала для селекции. Частная генетика любого вида строится на изучении (и создании в процессе изучения) генетической коллекции. Значение генетических коллекций особенно возрастает в наше время в связи с тем, что современные селекционные программы основываются на использовании узкоспецифических сортов и пород, что уменьшает генетическую изменчивость культивируемых видов и ведет (а в ряде случаев уже привело!) к потере ценного генетического материала. Поэтому необходима консервация местных сортов и пород и сохранение диких видов животных и растений.

Методы создания и хранения коллекционного материала зависят от биологии размножения, жизненного цикла и других биологических особенностей вида. Среди растений по-разному создаются и хранятся коллекции однолетних и многолетних культур. В коллекциях однолетних перекрестноопыляющихся растений чаще всего собраны спонтанные мутанты, а также формы, выделенные из популяций при инбридинге. Индуцированный мутагенез у этих растений практически не используется, так как выделению мутантов и анализу их по потомству препятствуют существующие у них генетические системы самонесовместимости. У растений самоопылителей коллекции состоят из сортов, инбредных линий; для получения новых мутаций широко применяется индуцированный мутагенез.

Основным материалом для хранения в коллекциях являются семена, которые пересеваются с определенной периодичностью. В генетических коллекциях многолетних растений, например плодовых культур, сохраняется живой материал - дикие формы и культурные сорта, подвой дикарей и т. п. Сложности создания и сохранения

коллекционных образцов у многолетних культур связаны с большой продолжительностью их жизненного цикла, гетерозиготностью и полиплоидностью многих видов, склонностью их к апомиксису, низкой всхожестью семян и др.

Коллекции животных могут быть представлены породами, линиями, культурами тканей и клеток. Достаточно широко проводится также хранение спермы, ооцитов и эмбрионов. В коллекциях грибов и бактерий сохраняют генетически маркированные штаммы (ауксотрофные мутанты, мутанты, дефектные по системам репарации, рекомбинации и пр.). В коллекциях содержат формы, различающиеся или сходные фенотипически по самым разнообразным признакам, имеющие разное происхождение. Это могут быть 4 генные, хромосомные или геномные мутации.

Для решения специальных задач на основе коллекционного материала создаются и сохраняются особые тестерные формы, линии-анализаторы с различными рецессивными или доминантными маркерами, с перестройками хромосом - делениями, инверсиями, транслокациями, перемещающимися генетическими элементами, препятствующими прохождению кроссин-говера, или меняющими локализацию и активность того или иного гена; серии моно-, три- и нуллисомиков по разным хромосомам и т. п. Генетические коллекции создаются обычно на базе селекционно-генетических центров и институтов, а также в университетах.

Крупнейшим в мире центром по сохранению наследственного разнообразия многих культур растений является Всесоюзный институт растениеводства им. Н. И. Вавилова. Он имеет опорные пункты и опытные станции в разных регионах нашей страны, где проводят исследования по выявлению нормы реакции тысяч образцов по каждой культуре. Старейшей коллекцией среди растений следует называть коллекцию кукурузы в США. Она содержит разнообразные образцы с мутациями, контролирующими мутабельность и экспрессивность генов, поведение хромосом в мейозе и митозе; ферментные системы; структуру эндосперма; образование и распределение хлорофилла; структуру различных элементов генеративной системы; ядерные и неядерные мутанты и т. п.

В этой коллекции собрано более 3 тыс. образцов, выявленных учеными Америки и других стран. В университетах США есть также коллекции ячменя, анеуплоидных пшениц и других растений. В ФРГ создан центральный семенной банк арабидопсиса, содержащий 149 природных рас и более 500 мутантов. Подобные банки организованы и в других странах - США, Англии, Испании, Нидерландах и др.

В нашей стране создана уникальная по объему и возможностям использования при изучении генетики озимой и яровой ржи коллекция, которая содержит более 100 автостерильных форм, отличающихся от стандартного типа по одному или нескольким признакам, а также более

300 автофертильных линий, многие из которых также имеют генетические маркеры. Кроме того, ЛГУ имеет коллекции земляники, редиса, ячменя. В Молдавии находятся крупнейшие коллекции томатов, кукурузы и других культур. В Ленинграде Всесоюзный институт защиты растений собрал коллекцию микологического гербария, необходимую для изучения природы иммунитета у растений. Значимость этой коллекции трудно переоценить, так как ведущие сельскохозяйственные культуры в настоящее время поражаются более чем 1500 заболеваниями, возбудителями которых являются 50 тысяч видов грибов. При этом некоторые возбудители способны поражать несколько видов растений. В коллекции хранятся гербарные образцы пораженных растений с их патогеном и чистые культуры паразитов. В ней собрано около 150 тыс. образцов грибов; более 600 тыс. образцов патогенов находятся в соответствующих национальных коллекциях США.

Коллекции разновидностей мыши, одного из наиболее изученных видов млекопитающих, собраны в Джексоновской лаборатории в США, в Институте цитологии и генетики СО АН СССР и в других странах. Эти коллекции, содержащие, помимо обычных морфологических и прочих мутантов набор линий, различающихся по генам тканевой совместимости (более 200), используются не только для решения задач генетики, но и в экспериментальной онкологии. Крупнейшие коллекции одного из ведущих модельных объектов генетических исследований - дрозофилы - имеются в США, где создано два центра линий на базах университетов, есть Европейский центр линий в Швеции.

В ряде стран созданы коллекции кур, пушных зверей и др. Существуют также коллекции грибов и бактерий, содержащих штаммы, различающиеся по морфологии колоний, биохимическим мутациям (ауксотрофы), устойчивые к антибиотикам и др. - в США, Японии, СССР. Банки клеточных культур человека и животных приобретают в настоящее время большое значение в связи с возможностью сохранения в них гибридом, возникающих при слиянии нормальных клеток лимфоцитов с миеломными клетками, придающими гибриdomам свойства миеломы - способности неограниченного роста. Гибридомы используются для получения моноклональных антител, т. е. антител, продуцируемых потомками одной клетки. Они обладают высокой специфичностью и направлены против одной антигенной детерминанты.

Клеточные культуры применяют для получения биологически активных веществ высокой чистоты, для определения антигенов гистонесовместимости при трансплантации и пр. Среди банков клеточных культур, сохраняемых путем консервации в жидком азоте, можно назвать американскую коллекцию типовых культур; культуры клеток человека, полученные от нормальных и больных людей с наследственными патологиями, клеточные линии мышечных опухолей.

Наконец, благодаря развитию методов получения рекомбинантных молекул ДНК, создаются банки генов, которые представляют собой

наборы клонов бактерий, содержащих рекомбинантные плазмиды или вирусы, несущие фрагменты генома определенного вида. Сведения о коллекциях систематически публикуются в виде каталогов и служат в качестве справочников при подборе исходного материала для генетических исследований и в селекционной работе. В них дан перечень наименований и символов генов, описание типов их взаимодействия, характеристика плеiotропного действия отдельных генов, жизнеспособности мутантов; приводятся генетические и цитологические карты, характеристика образцов и способов их размножения и поддержания в коллекции; список основных работ по генетике и цитогенетике объекта.

Например, систематически издается каталог мировой коллекции ВИРа, опубликовано более 350 выпусков; публикуется ежегодник ассоциации генетиков по кукурузе "MaizeGeneticCooperationNewsletter"; дважды в год издаются каталоги по мутантным и инбредным линиям мышей - "InbredstrainsofMice" в США и "MauseNewsletter" в Англии.

Ежегодное издание бюллетеня DrosophilaInformationService (DIS) публикует списки генетических коллекций дрозофилы лабораторий всего мира и их адреса, списки генетиков, работающих с дрозофилой; сообщает сведения о новых мутациях, о текущих работах. Необходимые для работы образцы коллекции обычно выписываются исследователями из соответствующих центров и лабораторий.

Логика, принцип и этапы генетического анализа.

В основе генетического анализа лежит следующая логика: разложение признаков на фены, установление гена; от гена - к генному продукту и выяснению молекулярных механизмов его действия, к расшифровке генетического контроля метаболических путей, обуславливающих развитие изучаемого признака.

Принцип анализа - получение наследственно различающихся по изучаемым признакам форм и изучение этих различий на разных уровнях: организменном, клеточном, молекулярном, популяционном.

Основная задача первого этапа анализа - изучение наследования отдельных признаков для установления гена.

Следующий этап анализа предполагает локализацию установленных генов в группе сцепления и картирование хромосом. Расшифровка биохимических нарушений метаболизма в результате действия установленных генов, выяснение механизмов их действия и функций и анализ структуры генов - **завершающий этап** изучения генетического контроля отдельных признаков.

Основываясь на данных о наследовании отдельных признаков, решают другие задачи генетического анализа: изучают генетическую структуру организмов, проводят геномный и популяционный анализ и др. На каждом этапе могут использоваться разные методы анализа.

Генетический анализ является методологической основой генетики. Его первым специфическим методом, который предложил И. Г. Мендель в 1865 г., был гибридологический метод анализа отдельных признаков.

Впервые определение генетического анализа как "системы опытов, наблюдений и вычислений, имеющих целью разложение свойств (признаков) организма на отдельные наследственные элементы, "отдельные признаки", и изучение свойств соответствующих им генов" было дано одним из основоположников генетического анализа Александром Сергеевичем Серебровским в книге "Генетический анализ" (1970).

Она до сих пор служит единственным пособием, в котором рассматриваются сложные вопросы анализа наследования признаков организмов и описываются некоторые его методы. Однако книга была написана в 20-40-е гг., задолго до установления генетической роли ДНК, расшифровки тонкой структуры и молекулярно-биохимических основ действия генов, до выяснения механизмов мутирования и т. д.

Эти открытия, а также применение различных факторов, многократно повышающих частоты мутирования генов, в значительной мере увеличили разрешающую способность генетического анализа, способствовали дальнейшей разработке его теории и новых методов

Задачи генетического анализа

Изучение наследования отдельных признаков
Изучение наследования отдельных признаков - важнейшая часть генетического анализа, позволяющая определить тип наследования (ядерное или внеядерное), установить гены, по которым различаются исходные формы, и общее число генов, контролирующих данный признак, выявить типы взаимодействия генов и характер их наследования. В случае обнаружения внеядерного наследования выясняют, с какими органеллами (пластидами, митохондриями, цитоплазмой) или другими компонентами клетки (плазмидами, вирусами и пр.) оно связано.
Локализация генов

В решение этой задачи входит определение группы сцепления для вновь обнаруживаемых мутаций, изучение совместного наследования нескольких признаков, локализация генов в группе сцепления с помощью уже картированных генов, построение генетических, цитологических, физических (рестриктных) карт хромосом. Арсенал методов, применяемых для локализации генов, достаточно велик. Это метод гибридизации с использованием специально создаваемых линий, маркированных по разным хромосомам рецессивными или доминантными мутациями или перестройками хромосом; картирование на основе митотического кроссинговера; гибридизация соматических клеток; рестриктное или физическое картирование; гибридизация *insitu*.

Анализ структуры и функции гена Включает этап установления аллельности вновь возникших и уже изученных мутаций, затрагивающих изучаемый признак, локализацию мутаций внутри гена (внутригенное картирование). Основные методы изучения - гибринологический, метод делеционного картирования; выделение, клонирование и секвенирование ДНК, а также рестрикционный анализ. Для изучения структуры генов эукариот применяют также электронно-микроскопические наблюдения гетеродуплексов между зрелыми мРНК и соответствующими генами.

Геномный анализ Проводится только на растениях для изучения генетического потенциала родов на основе оценки степени их родства. Единицей анализа является геном - исходное гаплоидное число хромосом, качественно специфичное для данного вида. Родство геномов определяется на основе наличия гомологии или гомеологии хромосом при отдаленной гибридизации и полиплоидии. Гомологичные хромосомы конъюгируют между собой (синdez) в профазе мейоза и образуют биваленты. Гомеологичные хромосомы неспособны конъюгировать в мейозе, но могут функционально взаимозаменять друг друга в процессе онтогенеза растений. Это хромосомы менее близких видов и родов. Виды, обладающие гомеологичными геномами, скрещиваются между собой, но дают бесплодные гибриды. Основными методами геномного анализа являются отдаленная гибридизация, а также цитогенетический анализ, с помощью которого изучают конъюгацию хромосом в мейозе у гибридов для определения их гомо- и гомеологии. Используют также метод полиплоидии, биохимические методы и др.

Анализ генетической структуры популяций. Выявление генетической структуры популяций начинается с изучения их генетической гетерогенности при разных способах размножения. Для этого используют метод гибринологического анализа на основе инбридинга и изучения потомков инбредных поколений, в которых выявляются рецессивные гены, часто скрытые в популяциях в гетерозиготах. Поскольку число и форма хромосом - это систематические видовые признаки, то для изучения хромосомного полиморфизма в популяциях исследуют кариотипы разных видов и их гибридов. Частоты генотипов, генов и аллелей в популяциях определяются на основе анализа результатов свободных скрещиваний и инбридинга. Для оценки полиморфизма широко используют биохимические методы, такие, как электрофорез в гелях и др.

Анализ мутаций. Заключается в изучении спектра и частоты мутаций, возникающих спонтанно и при индуцированном мутагенезе. В зависимости от объекта применяют разные методы этих оценок. У низших эукариот для выделения и количественного учета мутаций используют методы отпечатков и селективные среды, молекулярно-генетические методы. У диплоидов рецессивные мутации могут

проявляться только в поколениях. Для их анализа создают специальные линии-тестеры, маркированные различными мутациями и перестройками хромосом, препятствующими прохождению кроссинговера; используют цитогенетические методы и др.

Лекция 2. Методы генетического анализа 1

1. Гибридологический метод. Типы скрещивания. Системы скрещивания между несколькими формами

2. Анализ родословных, близнецовый, цитогенетический, молекулярно-генетические, биохимические, генно-инженерные и другие методы анализа, их применение

Гибридологический метод. Типы скрещивания. Системы скрещивания между несколькими формами

Основной специфический метод генетического анализа - гибридологический метод - создан и разработан И. Г. Менделем в 1865 г. Его основные особенности заключаются в следующем. Для скрещивания подбираются (или создаются) гомозиготные исходные формы, различающиеся по одному или нескольким альтернативно, контрастно проявляющимся признакам. Проводится индивидуальный анализ **потомства** от каждого скрещивания в ряду поколений. В каждом поколении ведется строгий количественный учет всех потомков по всем изучаемым признакам, причем отдельно по каждому признаку, независимо от других. Это - один из важнейших принципов анализа расщеплений. Обычно анализируют два или три (иногда больше) поколения реципрокных скрещиваний.

Реципрокные скрещивания - система из двух скрещиваний (прямое и обратное). В прямом скрещивании признак в одном из своих проявлений вносится со стороны матери, в обратном - со стороны отца. Например: (Прямым можно называть любое из этих скрещиваний.)

Уже по результатам F1 таких скрещиваний в большинстве случаев можно определить характер генетической природы признака (ядерная или внеядерная), выявить сцепление признака с полом. Анализ расщеплений в F2 служит основой для предложения гипотез о числе генов, типе их взаимодействия и характере наследования.

Анализирующее скрещивание - скрещивание с гомозиготной рецессивной формой, которая служит анализатором, так как образует только один тип гамет с рецессивными аллелями, на фоне которых выявляются аллели анализируемой особи. На основе расщепления в F_a можно определять все, что и в F₂, кроме типа взаимодействия генов, но на меньшей по сравнению с F₂ выборке. Его используют для анализа наследования при сцеплении, для картирования хромосом и оценки частоты гамет, образуемых гетерозиготным родителем.

Возвратные скрещивания F_v - скрещивания потомков с одним из родителей. В ряде случаев оно может оказаться анализирующим. Для решения ряда задач ставятся системы скрещиваний с участием нескольких форм.

Насыщающие или поглотительные скрещивания - последовательные скрещивания женских потомков нескольких поколений возвратных скрещиваний, имеющих 8 цитоплазму, пришедшую от матери в исходном скрещивании, с исходной отцовской формой. Эти скрещивания применяются, в частности, при изучении материнского эффекта цитоплазмы и других типов неядерного наследования.

Циклические скрещивания - система скрещиваний многих форм, различающихся или сходных по одному признаку, друг с другом во всех сочетаниях. Применяются для выявления генетического контроля признаков.

В *диаллельных скрещиваниях* также используется много форм, но анализ не всегда проводится по полной схеме циклического скрещивания. Часто он включает лишь часть этих скрещиваний. Например, исследует только результаты прямых скрещиваний либо только обратные скрещивания и т. д. При этом родительские линии могут быть специально отобраны для проведения их оценки, либо они случайно выбираются из некоторой популяции, параметры которой нужно оценить на основании этих скрещиваний. По результатам этих скрещиваний выявляют комбинационную ценность инбредных линий, которая проявляется в варьировании величины гетерозиса по отдельным гибридным комбинациям. Комбинационная ценность одной и той же линии может быть выражена средней величиной гетерозиса, наблюдаемого у всех гибридных комбинаций с этой линией - общая комбинационная способность, либо степенью гетерозиса в конкретной комбинации - специфическая комбинационная способность. Поэтому в диаллельных скрещиваниях часто анализируются результаты только первого гибридного поколения.

Анализ родословных, близнецовый, цитогенетический, молекулярногенетические, биохимические, генно-инженерные и методы анализа, их применение

В тех случаях, когда невозможно проводить скрещивания, применяют другие методы анализа. При изучении наследования признаков у человека или при работе с мало плодовитыми животными используют **генеалогический метод или метод анализа родословных**. При анализе родословных проводят описание фенотипов в семьях у нескольких поколений, учитывая проявление изучаемого признака у членов семьи разного пола, число потомков с этим признаком и лишенных его проявления, а также родственные отношения между всеми членами родословной. На основе этого анализа устанавливают,

наследуется ли признак, одним или многими генами контролируется различие, сцеплен ли признак с полом, доминантность и рецессивность его проявления (в том случае, если наследование моногенное).

В основе близнецового метода лежит сопоставление сходства (конкордантности) и различий (дискордантности) по изучаемому признаку между близнецами в группах монои дизиготных близнецов и в популяции. Повышенная конкордантность монозиготных (однойяйцевых) близнецов по сравнению с дизиготными (двухяйцевыми) служит указанием на наследственный характер признака.

Таким образом, метод позволяет выявить, наследуется ли признак, и оценить относительную роль факторов среды в его проявлении. При обнаружении отклонений в расщеплениях, причина которых может быть связана с нарушением процесса образования гамет или других условий менделевских расщеплений, используют цитогенетический метод. Для выяснения причин отклонений изучают протекание мейоза и митоза, особенности конъюгации и расхождения хромосом, хиазообразование, разные стадии споро- и гаметогенеза; оплодотворение и т. д. (см. гл. III).

Цитогенетические методы используют и для решения других задач генализа. С помощью светового и электронного микрофотографирования, цитофотометрии, гибридизации *in situ* изучают структурную организацию хромосом и их функционирование, роль в процессах дифференцировки; строят цитологические карты хромосом. Цитогенетические методы применяются для анализа структурных изменений хромосом, их классификации, изучения поведения в мейозе; для идентификации хромосом и кариотипирования; наконец, цитогенетические методы применяют как экспресс-методы оценки действия различных факторов среды (цитогенетический мониторинг).

Молекулярно-генетические и биохимические методы применяют для изучения механизмов генетических процессов - репликации, рекомбинации, репарации, транскрипции и мутагенеза; выявления генетического полиморфизма белков; для изучения механизмов действия отдельных генов и межгенных взаимодействий, в частности генетической супрессии; выделения и клонирования генов; физического картирования хромосом и т. п.

Среди этих методов можно назвать электрофорез белков и ферментов, хроматографические методы фракционирования нуклеиновых кислот, высокоскоростное центрифугирование и др. Благодаря совершенствованию методов создания рекомбинантных ДНК на основе химических и энзимологических методов и использованию рестриктаз (рестрикционных эндонуклеаз), расщепляющих специфические последовательности в ДНК, проводится определение точной нуклеотидной последовательности в ДНК (секвенирование), создаются библиотеки генов и т. п.

Метод гибридизации соматических клеток, позволяющий получать внутри- и межвидовые гибриды соматических клеток, используют для

определения группы сцепления и картирования хромосом, для исследования процессов активации генома покоящейся клетки, анализа природы злокачественной трансформации клеток под действием онкогенных вирусов, для изучения регуляции генов в клетках эукариот и т. д. Для определения локализации гена в хромосоме применяют также метод гибридизации нуклеиновых кислот *in situ*.

Таким образом, многообразные задачи генетического анализа решаются с помощью различных методов.

Лекция 3 Методы генетического анализа 2

1. Сущность белкового полиморфизма крови.
2. Полиморфизм белков крови и его значение в селекции животных
3. Значение групп крови в генетике и селекции сельскохозяйственных животных

В последнее десятилетие важное место в интерьерных исследованиях заняло изучение групп крови и других полиморфных систем крови (а также молока) животных. Начало учению о группах крови было положено врачами-медиками, еще в прошлом столетии заметившими, что при переливании крови одного человека другому иногда происходит агглютинация (склеивание) эритроцитов, приводящая к тяжелым осложнениям и даже смерти больного. В начале XX века Ландштейнер, Янский и другие ученые установили, что это явление зависит от наличия в сыворотке крови особых веществ белкового характера - антител. Дальнейшее изучение этого вопроса привело к возникновению науки иммунологии. С 1910 г. начали проводить изучение иммунологических явлений у крупного рогатого скота и у сельскохозяйственных животных других видов.

Учение о группах крови сводится в кратком изложении к следующему. Когда в кровь животного попадают чужеродные (то есть не свойственные данному животному) белки или иные высокомолекулярные соединения, то для их обезвреживания организм вырабатывает специфические защитные антитела. Вещества же, вызывающие образование антител, принято называть антигенами. У сельскохозяйственных животных наиболее хорошо изучены антигены (или так называемые факторы крови), расположенные в оболочках эритроцитов, а также вырабатываемые против них антитела. Несмотря на то, что химический состав антигенов и антител исследован еще недостаточно, взаимодействие между ними изучено весьма детально. Оно протекает чаще всего в виде реакций гемолиза и агглютинации. Если смешать в пробирке эритроциты одного животного с сывороткой крови другого животного, в которой имеется одно или несколько антител против антигенов, находящихся в этих эритроцитах, то при соответствующих условиях антитело свяжется с антигеном, что вызовет разрушение оболочек эритроцитов. Произойдет гемолиз, то есть выход гемоглобина из разрушенных эритроцитов в сыворотку крови,

вследствие чего она окрасится в интенсивно красный цвет. Такая реакция называется гемолитическим тестом (гемолитической пробой).

Для протекания гемолиза необходимы определенная температура (20-26°) и присутствие в пробирке комплемента - вещества не выявленного пока состава, содержащегося в большом количестве в сыворотке крови кроликов и морских свинок. Гемолиз является основным типом реакции между антителами и антигенами у крупного рогатого скота и овец. Взаимодействие антигена и антитела может приводить также к агглютинации (склеиванию) эритроцитов. Реакция агглютинации применяется при исследовании групп крови у лошадей, свиней, кроликов и кур. Во всех случаях важнейшим свойством антител является их специфичность. Антитело всегда реагирует только со «своим» антигеном, против которого оно выработано, и не реагирует ни с какими другими антигенами; то же можно сказать и об антигене. Такая высокая специфичность и дает возможность проводить анализ групп крови с большой точностью.

Антитела делятся на естественные и иммунные. Естественные антитела содержатся в крови животных (а также человека) с самого рождения или образуются в течение короткого периода после рождения и присутствуют в организме большей частью в течение всей его жизни. К этой группе принадлежит несколько антител крупного рогатого скота, лошадей и свиней. Естественные антитела встречаются далеко не у всех животных данного вида, они немногочисленны и поэтому играют в учении о группах крови весьма ограниченную роль. Гораздо большее значение имеют иммунные антитела, которые удается получать посредством иммунизации животных, то есть введения эритроцитов одних животных (доноров) в кровяное русло или в мускулы других животных (реципиентов). После нескольких инъекций в сыворотке крови реципиента появляются иммунные антитела, выработанные организмом против соответствующих антигенов донора. Конечно, антитела образуются только против тех антигенов, которых нет в эритроцитах самого реципиента. Антигены донора, имеющиеся и у реципиента, не являются для последнего «чужими» веществами, и поэтому против них не вырабатываются антитела.

Донор и реципиент лишь в редких случаях отличаются друг от друга каким-либо одним антигеном. В большинстве случаев в эритроцитах донора имеется несколько антигенов, которых нет у реципиента. Вследствие этого в организме реципиента вырабатывается не одно антитело, а несколько, против всех «чужих» антигенов, и сыворотка его крови дает гемолитическую реакцию не с одним антигеном, а с несколькими. Такая сыворотка называется сырой сывороткой, и для анализа групп крови она непригодна. С целью удаления ненужных антител ее подвергают абсорбции, то есть последовательно смешивают с эритроцитами, содержащими соответствующие антигены, которые связываются с этими антителами (гемолиза при этом не происходит, так как к сыворотке не добавляют комплемент). После такой обработки в сыворотке остается антитело только против одного фактора крови. Такая сыворотка называется специфической антисывороткой и является чувствительным реагентом, с помощью которого в эритроцитах любого животного данного вида (а иногда и других видов) можно обнаружить наличие соответствующего антигена. Специфические сыворотки можно хранить в замороженном или высушенном виде в течение длительного времени.

До настоящего времени в эритроцитах крупного рогатого скота выявлено около 100 факторов крови, которые обозначаются большими буквами латинского алфавита. Когда алфавит был исчерпан, стали обозначать факторы буквами с апострофом или штрихом (например, A') или цифрами (X₂, X₃). Большинство этих факторов было открыто посредством иммунизации животных. У лошадей было найдено 8 антигенов, у свиней- 30, у овец--26, у кур --60.

При изучении наследования групп крови установлена важная закономерность: потомки могут иметь только такие факторы крови, которые есть хотя бы у одного из его родителей; если у потомка имеется хотя бы один фактор, которого нет ни у отца, ни у матери, это означает, что происхождение данного животного установлено по записям неверно. К этому нужно еще добавить, что у потомка совершенно не обязательно должны быть все факторы, имеющиеся у родителей; если родители являются гетерозиготными по каким-либо из факторов, эти антигены потомок может и не унаследовать. Если бы потомки наследовали все антигены родителей, то у всех особей данного вида имелся бы полный набор факторов крови и иммуногенетический анализ происхождения животных был бы невозможен.

Указанная закономерность и лежит в основе проверки происхождения животных путем анализа групп крови. У потомка и его предполагаемых родителей берут небольшое количество крови (по 10 мл), отделяют при помощи центрифугирования эритроциты, готовят 2%-ную суспензию в физиологическом растворе, производят определение имеющихся в эритроцитах антигенов. Для этого каплю, суспензии эритроцитов смешивают в отдельных пробирках с двумя каплями каждой специфической сыворотки и каплей комплемента. Наличие гемолиза в пробирке свидетельствует о том, что в эритроцитах имеется этот антиген; если гемолиза нет, то эритроциты данного антигена не содержат. После окончания анализа сравнивают наборы факторов крови потомка и его родителей и делают тот или иной вывод о происхождении животного. В настоящее время на многих зарубежных станциях искусственного осеменения используют быков, происхождение которых проверено путем анализа группы крови. Если вспомнить, что от быка получают за год несколько тысяч потомков и что ошибки в племенных записях о происхождении быков могут привести к большим ошибкам в племенной работе, становится очевидной важность такой проверки.

Наследование факторов крови у каждого вида животных контролируется несколькими генами. Большинство факторов крови наследуется по типу аллеломорфных признаков: наличие в хромосомах различных аллелей обуславливает наследование тех или иных антигенов. При этом факторы крови могут наследоваться как поодиночке, так и целыми группами или комплексами, включающими от 2 до 8 антигенов каждая. Так, например, передается по наследству как обособленная единица группа факторов BO1QT1 дающая гемолитическую реакцию со специфическими сыворотками: анти-B, анти-Q¹, анти-Q и анти-T1. Такие, наследуемые как одно целое, факторы получили название групп крови. Группа крови может состоять из одного или нескольких факторов. Отсюда следует, что в иммунологии сельскохозяйственных животных понятие группы крови несколько отличается от привычного для нас понятия, принятого в медицине.

Каждый ген (точнее, группа аллелей, находящихся в определенном локусе определенной хромосомы) управляет наследованием одной

системы крови, включающей от одного до нескольких десятков факторов крови, которые, как уже было сказано, могут образовывать комплексы или группы. У крупного рогатого скота выявлено 11 систем крови. Наиболее простые системы: J, L, N и Z; каждая из них состоит из одного фактора крови. Генотипически эти системы могут быть представлены в виде трех возможных комбинаций: животные-гомозиготы, имеющие в каждой из парных хромосом ген данного фактора (например, L/L); гетерозиготы с наличием гена в одной хромосоме и при отсутствии его в другой (обозначение L/--) и, наконец, животные, у которых данный ген полностью отсутствует (--/--). По существу к таким системам можно отнести и систему M, состоящую из двух подгрупп -- m₁ и M₂. Система Z интересна в том отношении, что разработаны специфические антисыворотки, которые позволяют различить животных гомозиготных по фактору Z (Z/Z) и гетерозиготных (Z/--). Система FV состоит из двух факторов, которые могут встречаться в комбинациях F/F, F/V, V/V. Из двух факторов состоит также система R'S'. Система A включает в себя четыре фактора, система SU -- пять. Гораздо более сложной является система C, состоящая из десяти антигенов, комбинации которых могут составлять 35 групп крови. Самая сложная система -- это система B, включающая свыше 40 антигенов, которые могут образовать около 300 групп крови; каждая из них содержит от 1 до 8 факторов (например, BGK, BO₂Y₂, D').

Определение групп крови, входящих в систему B и C, дает больше всего данных для племенного анализа и при установлении происхождения животных. Наличие многочисленных групп крови создает возможность для образования огромного числа комбинаций аллелей, вследствие чего животные, у которых группы крови совершенно одинаковы, практически не встречаются. Исключения составляют лишь однояйцевые двойни, имеющие одинаковый тип крови (то есть совокупность всех групп крови). В литературе принято обозначать ген соответствующей группы крови большой буквой системы с обозначением аллеля, написанным рядом сверху. Например, аллель группы крови BO₁YoD' системы B обозначается как BBO₁Y₂D

У овец установлено семь систем крови, у свиней -- 16, у лошадей -- 8, у кур -- 14. Поскольку учение о группах крови животных еще очень молодо, исследователи продолжают открывать новые антигены и системы крови. Работа по изучению и практическому применению групп крови возможна только в условиях хорошо оборудованной лаборатории, при достаточно большом количестве животных (взрослых или молодых) для иммунизации и получения специфических сывороток. У иммунизированных животных приходится брать много крови (4-- 5 л) для приготовления сывороток, поэтому с этой целью ценных маток и производителей стараются не использовать.

В последние годы в России и за рубежом, кроме групп крови, стали уделять много внимания изучению полиморфизма белков крови, молока и яиц, выявляемого при помощи электрофореза на крахмальном геле. Оказалось, что многие белки (например, гемоглобин) можно разделить электрофоретическим путем на несколько типов, причем эти типы, подобно группам крови, контролируются особыми генами. Так, у крупного рогатого скота выявлено четыре типа гемоглобина, десять типов трансферринов (5- глобулинов), несколько типов казеина, лактальбумина и лактоглобулина. В яйцах кур обнаружен генетически обусловленный полиморфизм альбуминов и других белков. Проводятся

интересные исследования антигенных свойств спермы производителей. Установлено, что в некоторых случаях в организме самок образуются антитела, губительно действующие на спермин некоторых производителей, что является одной из причин яловости.

Полиморфные системы белков крови животных и возможности использования их в селекции

Разработка, освоение и внедрение в практику разведения сельскохозяйственных животных новейших достижений генетики - реальный путь повышения эффективности селекции. На фермах сложились достаточно обоснованные методы отбора и подбора животных, с оценкой их по происхождению, конституции, экстерьеру, живому весу, молочной продуктивности и качеству потомства. При бонитировке обеспечивается комплексная оценка каждого животного. Однако отдельные методы оценки и разведения животных не всегда обеспечивают ожидаемый эффект в селекции. А.И. Храповский и В.В.Павлов (1976 г.) сообщают данные о том, что показатели продуктивности матерей и более далеких предков не могут гарантировать правильной предварительной оценки потомства. Они же сообщают о довольно противоречивых данных, полученных при изучении связи экстерьера и молочной продуктивности. Статистическая обработка обширных материалов показывает, что корреляция между отдельными признаками телосложения коров и их уровнем продуктивности является функцией всего организма в целом и множества биохимических и физиологических процессов. Сложные биохимические процессы метаболизма контролируются в каждой клетке генами, генотипом. Проявление тех или иных признаков, свойств и уровня продуктивности животного, т.е. фенотипа, зависит от взаимодействия генотипа с условиями среды. Биохимическая природа животных, их наследственность и изменчивость - один из наиболее скрытых и сложных резервов повышения продуктивности. Для раскрытия этого резерва необходима разработка новых теорий и более совершенных методов генетического анализа, с использованием для характеристики животных различных биохимических показателей.

В нашей стране и за рубежом ведутся исследования генетической обусловленности биохимических показателей крови, молока, яиц, тканей, изучаются их связи с уровнем продуктивности, плодовитостью, жизнестойкостью, а также с заболеваниями животных. Особый интерес представляют белки крови. Их много. Структура каждого белка кодируется одним или несколькими генами. Для целого ряда уже хорошо изученных белков характерны разные наследственно обусловленные фракции (формы), так называемые полиморфные системы. Явление наследственного полиморфизма обусловлено множественным аллелизмом соответствующего гена. Генетически обусловленные полиморфные системы могут быть выявлены серологически (группы крови) или биохимическими методами (типы белков крови, молока, яиц и др.). Группы крови и системы полиморфных белков специфичны, индивидуальны для каждого животного и не изменяются в течение жизни, не зависят от условий среда. Это позволяет использовать полиморфные системы белков для паспортизации животных по их сугубо индивидуальным группам крови и электрофоретическим типам белков. Определяют полиморфные системы белков и их типы (фракции) методом электрофореза в

крахмальном геле по методу, разработанному в 1955 г. Смитисом и модернизированному другими исследователями. Скорость и дальность миграции каждой фракции зависит от величины ее электрического заряда и от размера макромолекулы белка. В электрическом поле молекулы одних фракций белков оказываются более подвижными ("быстрыми"), а другие менее подвижными ("медленными"). По скорости движения в электрическом поле на крахмальном геле зафиксированные и окрашенные фракции одной серии характеризуют фенотип исследуемого белка, специфичного для данного животного. Каждая из систем полиморфных белков наследуется по менделевским закономерностям, кодоминантно. При таком типе наследования ни одна из аллелей той или иной полиморфной системы белка не доминирует над другой и у гетерозигот на форе-грамме проявляются оба аллеля. При таком типе наследования фенотип белка соответствует его генотипу, который имеет такое же буквенное обозначение.

По Р.А.Хаертдинову, Л.А.Зубаревой (1977) в настоящее время у крупного рогатого скота известен полиморфизм по 20 системам белков и ферментов сыворотки крови, эритроцитов и молока. Наиболее широко изучались и изучаются такие полиморфные системы белок-гемоглобин (НЬ) - белок эритроцитов; он имеет два аллеля НЬ А и НЬ В, а в популяции (стаде, породе) возможны три комбинации этих аллелей, образующих фенотипы полиморфного белка - ВВ("быстрый"), АА("медленный") и АВ - две полосы (промежуточные). Карбоангидраза (Са) - белок эритроцитов, двухаллельный: Са F и Са

S, а в популяции можно встретить три фенотипа: FF ("быстрый"), SS - ("медленный") и FS - две полосы (промежуточный); церулоплазмин (Ср) - ферментативный белок сыворотки крови, имеет два аллеля-: СрА и Ср В, а в популяции образует три фенотипа: АА, ВВ, АВ. Трансферин (Тf) - белок сыворотки крови. У европейских пород скота имеет три аллеля: Тf А, Тf D, Тf Е, комбинации которых в популяции образуют шесть фенотипов (генотипов этого белка: АА, ДД, ЕЕ, АЕ, ДЕ, АД) Амилаза (Am) - ферментативный белок сыворотки крови, у европейских пород двухаллельный: Am и АтС, образующий в популяции три фенотипа (генотипа) - ВВ, СС и ВС.

Постальбумин (Ра) к альбумин (Alb-) - двухаллельные белки сыворотки крови животных, каждый из которых в популяции образует по три фенотипа.

Целый ряд отечественных исследователей полиморфных систем белков крови: Л.В.Богданов и В.М.Обуховский (1967), В.А.Джумков (1970), Ю.О.Шапиро (1970), О.А.Иванова и др.(1971), Х.Ф.Кушнер и др. (1973), Н.Н.Колесник, В.И.Сокол (1972) и др., а за рубежом Эштон, Эбертус, Буш и др. считают, что полиморфизм белков с успехом можно и нужно использовать в практике селекции животных. Постоянство типов полиморфных белков в онтогенезе, наследование по кодоминантному принципу позволяют использовать их в качестве маркеров отдельных животных для генетической характеристики популяций, анализа происхождения пород, линий, семейств, установления генетического сходства между отдельными животными, линиями, породами, контроля записей о происхождении. В последние годы ряд исследователей делают попытки установить связи различных типов белков крови и молока с биологическими особенностями и уровнем продуктивности животных, использовать их как биологические маркеры при отборе и

прогнозировании продуктивности животных в раннем возрасте. При этом исследования генетически обусловленных полиморфных систем белков крови не отвергают сложившейся системы племенной работы, а дополняют и совершенствуют ее за счет введения объективных биохимических показателей.

Лекция 4. Методы генетико- статистического анализа по качественным признакам в популяции

- 1. Основные свойства и закон панмиктической популяции.**
- 2. Основные закономерности генетической структуры популяции**
- 3. Закон Харди – Вайнберга, генное равновесие и методы его определения.**
- 4. Методы определения генетической структуры и генного равновесия популяции.**

Эволюционная теория Дарвина, утверждала, что особи одного и того же вида отличаются друг от друга по многим признакам.

Эти различия могут обеспечить приспособление к разным условиям среды и они наследственны. При этом более заметный вклад в следующие поколения вносят те особи, которые имеют наиболее приспособленные к данной среде генотипы. При изменении среды начинается отбор генов и генотипов, более соответствующих потребностям организмов для комфортного существования в новых условиях.

Из теории Дарвина следует, что эволюционируют генофонды. Эволюцию можно определить, как необратимые изменения генофондов популяций во времени. Совершается она путем накопления мутационных изменений ДНК, хромосомных преобразований, различных комбинаций генов в гомологичных парах хромосом, изменений количества хромосом в кариотипах и т.д.

Термин «популяция» происходит от латинского слова *populus* – население. Долгое время (начиная с конца XVIII в.) под термином популяция понимали (нередко и теперь) любую группу организмов, обитающих на определенной территории.

В 1903 г. датский генетик Вильгельм Людвиг Иоганнсен впервые употребил термин «популяция» для обозначения неоднородной в генетическом отношении группы особей. Он с помощью генетических и статистических методов изучал структуру популяций самооплодотворяющихся (самоопыляющихся) организмов (по массе и размерам семян фасоли – *Phaseolus vulgaris*).

В настоящее время под популяцией понимают совокупность свободно (вне зависимости от генотипа или фенотипических признаков и других особенностей) скрещивающихся особей одного вида, изолированно размножающихся от других совокупностей, характеризующаяся

общностью места обитания и приспособления к данным условиям существования.

Популяция характеризуется: ареалом обитания, который зависит от индивидуальной или репродуктивной активности; численностью особей и ее динамикой (размеры и по численности и по площади подвержены постоянным изменениям).

В природной популяции выделяют: сезонные и несезонные (периодические и непериодические) колебания численности; возрастной состав, на который влияет общая продолжительность жизни, время достижения половой зрелости и интенсивность размножения; соотношение полов (первичное обычно близко 1:1, но в силу различных явлений может быть сильно изменено); морфофизиологические характеристики, обусловленные встречаемостью разных аллелей генов; генотипическую структуру и экологическое единство (занимает свою экологическую нишу – специфическое место в экосистеме).

Популяция является структурной единицей вида.

Понятие вида можно определить как исторически сложившаяся совокупность организмов, занимающая определенный ареал обитания и характеризующаяся общностью происхождения и сходной системой приспособлений к условиям среды и воспроизведением в поколениях основных адаптивных черт и признаков.

Вид, как единая совокупность, состоит из множества различных популяций. Каждая популяция складывается под воздействием конкретных условий существования вследствие взаимодействия наследственности, изменчивости и отбора наиболее хорошо приспособленных к условиям обитания генотипов. Так как вид достаточно широко распространен и условия существования в ареале неоднородны, популяция является способом «пригонки» вида к конкретным условиям существования. С другой стороны она является наиболее рациональным способом использования факторов природной среды. У одомашненных видов животных и растений популяции создаются под воздействием искусственного отбора. В данном случае в качестве популяций можно рассматривать породы животных и сорта растений.

За популяцию можно принимать также отдельные группы населения или стада животных, если они воспроизводятся без участия других.

Популяции можно дифференцировать на :

Генетическая, или панмиктическая, популяция, для которой характерны свободное спаривание особей, отсутствие избирательности при подборе животных и отсутствие избирательности слияния гамет при оплодотворении;

гетерогенная популяция - искусственно созданное стадо на базе разных пород или линий одного вида животных;

«замкнутая» (чистая линия) популяция - группа особей, спаривающихся только друг с другом (разведение «в себе»). Генофонд

подобной популяции определяется относительной чистотой аллелей каждого локуса популяции и называется аллелотипом;

исходная популяция - исходный селекционный материал, с которым ведется целенаправленная племенная работа;

контрольная популяция - специальное стадо, предназначенное для квалифицированной оценки селекционного прогресса;

идеальная популяция - реально не существующая популяция. Используется как математическая модель для решения вопросов популяционной генетики и теоретической селекции.

Каждая популяция характеризуется определенными соотношениями генных частот и частот гомозиготных и гетерозиготных генотипов. В генетическом плане разнородна, но входящие в нее особи более схожи друг с другом, чем особи из других, близких им совокупностей.

Генетическая популяция - сложная биологическая система, которая обладает противоположными свойствами: динамичностью и постоянством. Она непрерывно подвергается влиянию факторов, способных вывести ее из генетического равновесия: разные типы скрещивания и размножения; отбор (искусственный и естественный); мутационный процесс; меняющиеся факторы среды; миграция особей; дрейф генов.

Использование популяционно-статистического метода включает

- правильный выбор популяции,
- сбор материала,
- статистический анализ полученных результатов.

Популяционная генетика изучает генетическую структуру популяций, их генофонд, взаимодействие факторов, обуславливающих постоянство и изменение генетической структуры популяций.

Под популяцией в генетике понимается совокупность свободно скрещивающихся особей одного вида, занимающих определенный ареал и обладающих общим генофондом в ряду поколений. (Генофонд - это вся совокупность генов, встречающихся у особей данной популяции).

а) частоты генов в популяции, включая частоту наследственных болезней;

б) закономерности мутационного процесса;

в) роли наследственности и среды в возникновении болезней с наследственной предрасположенностью;

г) влияния наследственных и средовых факторов в создании фенотипического полиморфизма человека по многим признакам и др.

Наследование в панмиктической популяции. Один из путей изучения панмиктической популяции – исследование частоты рас- пространения в ней особей различных генотипов, т. е. изучение ее структуры по отдельным генам или локусам.

Каждое поколение в популяции воспроизводится за счет сочетания гамет родителей. Поэтому численность особей определенного генотипа

(AA, Aa и aa) будет обусловлена частотой разных типов гамет родителей. Представим, что в какой-то популяции встречаются гомозиготы: AA (черные) и aa (красные) и их число одинаковое. Такая группа особей будет производить равное число мужских и женских гамет содержащих гены A и a (0,5 A и 0,5 a).

При свободном спаривании будут осуществляться следующие комбинации

Гамета	0,5 A	0,5 a
0,5 A	0,25 AA	0,25 Aa
0,5 a	0,25 Aa	0,25 aa

Доминантные гомозиготы AA возникают с частотой 0,25, гетерозиготы Aa - 0,5 и рецессивные гомозиготы aa – 0,25. Отсюда относительная частота различных генотипов в популяции: $0,25AA + 0,5Aa + 0,25aa = 1$, или $25\%AA + 50\%Aa + 25\%aa = 100\%$.

При полном доминировании признака, вызываемого геном A, популяция распадается на две группы: одна с доминирующим признаком – 0,25AA + 0,5Aa (черные), другая, с рецессивным – 0,25aa (красные).

Наследование данного признака идет в отношении 3/75%: 1/25%.

Каким будет характер наследования в следующем поколении? Частота гамет с аллелью A будет равна 0,5 (0,25AA + 0,25A от гетерозигот Aa), с аллелью a – также 0,5 (0,25aa + 0,25a от гетерозигот Aa), т. е. соотношение гамет будет таким же, как и в предыдущем поколении. Популяция вновь приобретает структуру: 0,25AA + 0,5Aa + 0,25aa, а соотношение доминантов к рецессивам 3:1.

Однако в популяциях чаще наблюдается разная численность гомозигот: одних больше, других меньше. Например, в популяции крупного рогатого скота численность сплошь окрашенных животных составляет 100, а пегих 180 голов. Их соотношение – 1,0:1,8, а соотношение частот аллелей – 0,2A : 0,8a.

При свободном спаривании следует ожидать:

Гамета	0,2 A	0,8 a
0,2 A	0,04 AA	0,16 Aa
0,8 a	0,16 Aa	0,64 aa

На каждые 100 зигот: 4% гомозиготных (AA), 32% гетерозиготных (Aa) сплошь окрашенных, 64% гомозиготных пегих (aa).

В следующем поколении гаметы с аллелью А будут возникать с частотой 0,2 (0,04 от гомозигот AA+0,16 от гетерозигот Aa), а гаметы с аллелью а – 0,8 (0,64 от гомозигот aa + 0,16 от гетерозигот Aa). Отсюда следует, что в данной популяции поддерживается одинаковое соотношение частот генотипов (0,2А : 0,8а) и фенотипов (64% пегих и 36% сплошь окрашенных). Подобное соотношение будет повторяться в каждой последующей генерации.

Таким образом, в популяциях каждого поколения свободного скрещивания частота генотипов с доминантной и рецессивной аллелями при любой их концентрации всегда сохраняется на одном исходном уровне.

Условия закона Харди-Вайнберга.

- Популяция должна иметь большой размер.
- Особи не должны выбирать брачного партнера в зависимости от генотипа по изучаемым генам. То есть спаривание должно происходить случайным образом.
- Миграция особей из популяции и в нее должна отсутствовать.
- В отношении изучаемого гена (его аллелей) не должен действовать естественный отбор. То есть все генотипы должны быть одинаково плодовитыми.
- Не должно возникать новых мутаций исследуемых генов.

Основной смысл закона Харди-Вайнберга состоит в том, что в идеальной популяции соотношение частоты доминантных гомозигот (AA), гетерозигот (Aa) и рецессивных гомозигот (aa) сохраняется постоянным из поколения в поколение, если никакие эволюционные факторы не нарушают это равновесие.

Соотношение численности разных генотипов и фенотипов в панмиктической популяции определяется по формуле бинома Ньютона:

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2; (P+q) = 1,$$

где p — частота доминантного аллеля А, q — частота рецессивного аллеля а, p² — частота генотипа AA (гомозигот по доминантному аллелю), q² - частота генотипа aa (гомозигот по рецессивному аллелю).

Популяционно-статистический метод дает возможность рассчитать в популяции вида, породы и.т.п. частоту нормальных и патологических генов - гетерозигот, доминантных и рецессивных гомозигот, а также частоту нормальных и патологических фенотипов, т.е. определить генетическую структуру популяции.

Подобные расчеты широко используются в медико-генетических исследованиях популяций. Вместе с тем следует отметить, что в малочисленных популяциях человека закон Харди-Вайнберга не применим, т.к. статистические закономерности, на которых он основан, не имеют значения в случае малых чисел.

Важным фактором, влияющим на частоту аллелей в малочисленных популяциях и в изолятах являются генетико-автоматические процессы или дрейф генов. Это явление было описано в 30-х гг. Н.П. Дубининым и Д.Д. Ромашовым (СССР) и С.Райтом и Р.Фишером (США). Оно выражается в случайных изменениях частоты аллелей, не связанных с их селекционной ценностью и действием естественного отбора.

Из-за дрейфа генов адаптивные аллели могут быть элиминированы из популяции, а менее адаптивные и даже патологические (в силу случайных причин) могут сохраниться и достигнуть высоких концентраций. В результате в популяции может происходить быстрое и резкое возрастание частот редких аллелей. Примером действия дрейфа генов в популяциях человека может служить «эффект родоначальника». Он наблюдается, если структура популяции формируется под влиянием аллелей ограниченного числа семей (эффект инбридинга). В таких популяциях нередко наблюдается высокая частота аномального гена, сохранившегося в результате случайного дрейфа генов.

Типы малых популяций:

1. Изолят: численность до 1500 человек, частота внутригрупповых браков > 90%, процент мигрантов из других групп < 1%

2. Дем: численность 1500-4000 человек, частота внутригрупповых браков 80-90%, процент мигрантов из других групп 1-2%

в некоторых изолятах Дагестана наблюдается высокая степень риска заболевания шизофренией – до 5 процентов (в среднем по миру этот показатель колеблется в пределах одного процента).

Особенно показателен пример одного высокогорного села, где проживает 700 жителей: на протяжении пяти поколений браки в нем заключались между двоюродными братьями и сестрами, в результате чего на данный момент восемь из девяти детей, проживающих в этом селе, болеют параноидальной формой шизофрении. Результатом дрейфа генов является разная частота рецессивных аллелей в Европе (14%) и в Японии (1%), неравномерное распространение наследственных болезней по разным группам населения земного шара. Например, в некоторых популяциях Швеции широко распространен ген ювенильной амавротической идиотии, в Южной Африке — ген порфирии, в Швейцарии — ген наследственной глухоты и др.

Новые гены могут поступать в популяцию в результате миграции (потока генов), когда особи из одной популяции перемещаются в другую и скрещиваются с представителями данной популяции. Реальные популяции редко бывают полностью изолированными.

В США потомство от смешанных браков между белыми и неграми относится к негритянскому населению. По данным Ф. Айала и Дж.

Кайгера (1988) частота аллеля, контролирующего резус-фактор у белого населения, составляет 0,028.

В африканских племенах, от которых происходит современное негритянское население, частота этого аллеля равна 0,630. Предки современных негров США были вывезены из Африки 300 лет (около 10 поколений) назад. Частота аллеля у современного негритянского населения Америки составляет 0,446.

Таким образом, поток генов от белого населения к негритянскому шел со скоростью 3,6 % за 1 поколение. В результате через 10 поколений доля генов африканских предков составляет сейчас 0,694 общего числа генов современного негритянского населения США. Около 30% генов американские негры унаследовали от белого населения. Очевидно, поток генов между белым и негритянским населением был значительным.

как фактор эволюции, мутации обеспечивают приток новых аллелей в популяцию.

Накопление мутаций в генофонде приводит к увеличению мутационного давления, что проявляется в виде генетического груза.

как фактор эволюции, мутации обеспечивают приток новых аллелей в популяцию.

Накопление мутаций в генофонде приводит к увеличению мутационного давления, что проявляется в виде генетического груза.

К факторам, нарушающим постоянство генетической структуры популяций, относится и естественный отбор, вызывающий направленное изменение генофонда путем элиминации из популяции менее приспособленных особей или снижения их плодовитости.

В современных популяциях человека действие естественного отбора снижено, отбор утратил видообразовательную функцию, он обеспечивает стабилизацию генофонда и поддержание генетического полиморфизма.

Естественный отбор

внутриутробная гибель плода – 15%

- мертворождение – 3%
- детская смертность – 2%
- не вступают в брак – 20%
- бесплодные браки – 10%

Биномиальное распределение. Если вероятности появления отдельных вариантов выражаются величинами, соответствующими коэффициентам разложения бинома Ньютона, то такое распределение называется биномиальным. Оно относится к признакам, варьирующим дискретно, прерывисто (количество больных особей, количество самок и самцов в помете и т. д.). В этом случае частоты отдельных классов пропорциональны коэффициентам разложения бинома Ньютона:

$(P + C)^k$,

где p и q — вероятности появления каждого признака; $*$ — число классов, отличающихся по появлению признака.

Если $p = 0,5$, $q = 0,5$, а k увеличивается, то биномиальная кривая приближается к нормальной кривой, которая является пределом биномиального распределения. Чем больше различаются значения p и q , тем значительнее асимметрия биномиальной кривой. Средняя арифметическая и среднее квадратическое отклонение характеризуют биномиальное распределение.

КРИТЕРИЙ ХИ-КВАДРАТ (χ^2)

При анализе результатов скрещивания организмов исследователь почти всегда сталкивается с положением, когда фактическое расщепление в большей или меньшей степени отличается от теоретически ожидаемого. Поэтому возникает необходимость оценить степень соответствия фактических данных теоретически ожидаемым.

Это достигается путем вычисления критерия соответствия χ^2 и сравнением полученной величины с табличным значением (с учетом числа степеней свободы). Критерий χ^2 является положительной величиной и изменяется от нуля до бесконечности. Если $\chi^2 = 0$ то наблюдается полное соответствие фактического расщепления теоретически ожидаемому.

С увеличением разности между эмпирическими и теоретическими частотами возрастает величина χ^2 , и при превышении определенного табличного значения различия, между фактическим и теоретическим расщеплением будут достоверными.

При сравнении достоверности разности между двумя и более группами для изучения влияния определенных факторов в изменчивости признаков наряду с дисперсионным и другими методами применяется и более простой критерий хи-квадрат.

Число степеней свободы при использовании хи-квадрата.

При оценке нормального и биномиального распределения из числа классов вариационного ряда вычитается 2 или 3.

Если фактическое и теоретическое распределение совпадают по двум параметрам (r и c), то $v = r - 2$, а если по трем (r , c , a), то $v = r - 3$. При четырех (2×2) и многопольных таблицах (2×3 , 2×4 и т. д.) используют формулу

$$v = (r - 1)(c - 1),$$

где r — число горизонтальных строк; c — число вертикальных столбцов.

Генотип	Чувствительность к MHS		Всего
	чувствительные	нечувствительные	
$H^a H^a, H^a H^b$	$a = 25$	$b = 95$	$a + b = 120$
$H^b H^b$	$c = 15$	$d = 175$	$c + d = 190$
Всего	$a + c = 40$	$b + d = 270$	$n = a + b + c + d = 310$

При распределении Пуассона $v = p - 2$. При изучении поли-морфизма белков число степеней свободы равно числу фенотипических классов минус число аллелей.

При скрещиваниях число степеней свободы равно числу фенотипических классов минус единица.

Так, если расщепление по фенотипу 3 : 1 или 9:7,

то $V = 2 - 1 = 1$,

если расщепление 1:2:1,

то $V = 3 - 1 = 2$,

при расщеплении 9:3:3:1

$v = 4 - 1 = 3$.

Изучена связь антигена H^a Н-системы групп крови свиней с синдромом злокачественной гипертермии. Среди свиней с антигеном H^a было 20,8 % чувствительных к синдрому злокачественной гипертермии, а среди животных, не имеющих этого антигена, — 7,9 %.

$$\chi^2 = \frac{(ad - bc)^2 n}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)} = \frac{(25 \cdot 175 - 95 \cdot 15)^2 310}{(25+95)(15+175)(25+15)(95+175)} = 11.$$

Находим число степеней свободы $v = (r - 1)(c - 1) = (2 - 1)(2 - 1) = 1$.

Табличное значение χ^2 при $v = 1$ составляет 3,8 — 6,6 — 10,8

Так как фактическая величина (11) больше табличного значения (10,8), нулевая гипотеза отвергается с высоким уровнем вероятности ($p > 0,999$).

Число	Вероятность (P)			Число	Вероятность (P)		
	0,95	0,99	0,999		0,95	0,99	0,999
(v)	0,95	0,99	0,999	(v)	0,95	0,99	0,999
1	3,8	6,6	10,8	11	19,7	24,7	31,3
2	6,0	9,2	13,8	12	21,0	26,2	32,9
3	7,8	11,3	16,3	13	22,4	27,7	34,5
4	9,5	13,3	18,5	14	23,7	29,1	36,1
5	11,1	15,1	20,5	15	25,0	30,6	37,7
6	12,6	16,8	22,5	16	26,3	32,0	39,3
7	14,1	18,5	24,3	17	27,6	33,4	40,8
8	15,5	20,1	26,1	18	28,9	34,8	42,3
9	16,9	21,7	27,9	19	30,1	36,2	43,8
10	18,3	23,2	29,6	20	31,4	37,6	45,3

Вывод. Животные, имеющие антиген Na, более чувствительны к синдрому злокачественной гипертермии.

Список рекомендуемой литературы

1. Бакай, А.В. Генетика: учебник – М.: КолосС, 2006. – 448 с.
2. Биометрия в MS Excel : учебное пособие / Е.Я. Лебедько, А.М. Хохлов, Д.И. Барановский, О.М. Гетманец. — Санкт-Петербург : Лань, 2018. — 172 с. — ISBN 978-5-8114-2932-5. — Текст : электронный // Электронно-библиотечная система «Лань» : [сайт]. <https://e.lanbook.com/book/102226>
3. Генетические основы селекции животных: учебное пособие / под ред. В.Л. Петухова. – М.: Агропромиздат, 1989. – 447 с.
4. Кадиев, А.К. Генетика. Наследственность и изменчивость и закономерности их реализации : учебное пособие / А.К. Кадиев. — Санкт-Петербург : Лань, 2019. — 332 с. — ISBN 978-5-8114-3214-1. — Текст : электронный // Электронно-библиотечная система «Лань» : <https://e.lanbook.com/book/121471>
5. Карманова, Е.П. Практикум по генетике : учебное пособие / Е.П. Карманова, А.Е. Болгов, В.И. Митютько. — Санкт-Петербург : Лань, 2018. — 228 с. — ISBN 978-5-8114-2897-7. — Текст : электронный // Электронно-библиотечная система «Лань» : [сайт] <https://e.lanbook.com/book/104872>
6. Практикум по ветеринарной генетике: учебное пособие / под ред. А.И. Жигачева. – М.: КолосС, 2012. – 200 с.
7. Левченкова В.П. Методы генетического анализа и их использование в селекции Учебное пособие для аспирантов https://www.sgsha.ru/sgsha/biblioteka/102Metod_gen.pdf
8. Листратенкова В.И. Методические рекомендации по изучению дисциплины «Методы генетического анализа и их использование в животноводстве» / В.И. Листратенкова– Смоленск, ФГБОУ ВО Смоленская ГСХА, 2019. – 16 с. – Режим доступа: https://www.sgsha.ru/sgsha/biblioteka/listratenkova_v_i_metody_geneticheskogo_analiza_i_ikh_ispolzovanie_v_zhivotnovodstve_meto_rekomendatsii.pdf
9. Уколов, П. И. Ветеринарная генетика : учебник для вузов / П. И. Уколов, О. Г. Шараськина. — 2-е изд., стер. — Санкт-Петербург : Лань, 2022. — 372 с. — ISBN 978-5-8114-9408-8. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/195461>

Учебное издание

Краткий курс лекций по дисциплине
Методы генетического анализа и их использование в
животноводстве

Печатается в авторской редакции

Физ. печ. л. 2,0

ФГБОУ ВО Смоленская ГСХА
214000, Смоленск, ул. Б. Советская, 10/2