

УДК 575.116.577.34:636.4

**В.П. Патика, доктор биологических наук, академик УААН**

*Национальный аграрный университет*

**Т.Т. Глазко**

*Институт агроэкологии и биотехнологии*

## **ГЛАВНЫЕ ГЕНЫ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

*Висвітлено проблеми сучасного стану та напрямів розвитку основних методів і принципів генетичного картування хромосом сільськогосподарських видів тварин, зокрема на основі міжвидових радіаційних клітинних гібридів, що сприяє картуванню хромосом та виявленню генів, які беруть участь в генетичній детермінації кількісних ознак.*

**Ключові слова:**  *картування генів, молекулярні маркери, хромосоми, велика рогата худоба, гібридизація, продуктивність.*

Для решения проблем селекции и племенного дела сельскохозяйственных животных необходимо формирование стад с желательным уровнем продуктивности, адаптацией к конкретным регионам разведения, промышленным технологиям, стойкостью животных к разным заболеваниям при сокращении времени селекционного процесса. Традиционно этот процесс занимает большой период времени и порой низко эффективен.

Для решения подобных задач обычно используют контроль изменчивости количественных полигенных признаков, данные о происхождении животных, многолетнюю оценку племенных животных по потомству. Очевидно, что изменчивость количественных, полигенных признаков зависит от влияния окружающей среды и прямой их контроль не может привести к гарантированному ускорению селекционной работы. Необходим активный поиск других характеристик. Эти характеристики должны тестироваться на ранних стадиях онтогенеза, не зависеть от влияний окружающей среды и иметь простой характер наследования. Таким требованиям отвечают полиморфные молекулярно-генетические маркеры. В этой связи в последние годы ведется широкий поиск молекулярно-генетических маркеров, полиморфизм которых тесно сцеплен с изменчивостью хозяйствен-

© Патика В.П., Глазко Т.Т., 2006

но ценных количественных признаков [2, 11]. Сформировалось новое направление исследований – картирование главных генов количественных признаков (QTL – quantitative trait loci) с помощью молекулярно-генетических маркеров. Предполагается, что в дальнейшем это может привести к развитию методов селекции с помощью маркеров (Marker Assistant Selection – MAS), которые позволят резко сокращать селекционный процесс и достаточно легко получать животных с желательными свойствами.

Формулирование представлений о главных генах количественных признаков (QTL), полиморфизм которых вносит определяющий вклад в их изменчивость, не противоречит положениям [6] **о комплексном влиянии на каждый фенотипический признак всего генома (генотипической среды) организма**, поскольку влияние отдельных элементов генома на признак может варьировать от минимального, до максимально возможного. В этой связи интересно отметить, что ряд количественных признаков, **в принципе, могут переходить в категорию качественных под влиянием мутаций в генах**, вклад которых в формирование фенотипического признака, является определяющим. Так, например, такой классический количественный признак как скорость роста, при наличии мутации карликовости, превращается в качественный.

Предполагается, что MAS – селекция с помощью маркеров, основанная на картировании главных генов количественных признаков (QTL) в конечном итоге приведет к формированию качественно нового этапа в селекции. Необходимо подчеркнуть, что к настоящему времени уже стало понятно, что необходим специальный подбор признаков, для которых имеет смысл разрабатывать MAS методы. Необходимо учитывать, что традиционная оценка по потомству увеличивает точность селекции по ряду признаков на 90 %. Поэтому ускорение селекции с помощью MAS не может быть целесообразно для всех без исключения хозяйственно ценных признаков. По-видимому, для использования этих методов, необходимо проводить предварительный подбор признаков, селекция которых затруднена с использованием традиционных приемов. К ним, по-видимому, могут относиться признаки с низким коэффициентом наследуемости, их учет должен быть дорог и редко включаться в оценки по потомству, или они должны измеряться в позднем возрасте. К ним могут относиться качественные признаки, которые учитывают после забоя животных, а также связанные с устойчивостью к болезням, требующие дорогостоящего и трудоемкого тестирования.

**Картирование генов.** Принцип картирования QTL заключается в анализе совместного наследования количественных показателей признаков и аллельных вариантов высоко полиморфных молекулярно-генетических маркеров, как правило, микросателлитных локусов, с известной локализацией в хромосомах. При плотном насыщении генетических карт такими маркерами удается выделить хромосомные фрагменты, фланкированные микросателлитными локусами, наследование аллелей которых оказывается тесно ассоциированным с наследованием определенного количественного проявления анализируемого признака. Это и позволяет предполагать локализацию генов, детерминирующих данный признак, именно в этих хромосомных сегментах. В таком случае аллельные варианты таких генетически тесно сцепленных микросателлитных локусов и являются маркерами желательных аллелей генов, детерминирующих развитие количественных признаков.

Для картирования выполняют анализ фенотипических характеристик признаков продуктивности групп животных, принадлежащих к информативным семействам: бабки-матери-внучки. Используют разные типы маркеров – структурные гены, микросателлитные локусы, картированные на хромосомах. Учитывают частоты рекомбинаций между наследованием аллелей маркерных генов и признаками продуктивности, потом с помощью методов математического анализа по распределению рекомбинационных событий по длине хромосом, определяют наиболее вероятные участки локализации «кандидатных» генов, участвующих в формировании признаков продуктивности, в сегментах хромосом, с фланговыми маркерами которых они оказываются генетически сцеплены.

Длина рекомбинационной карты крупного рогатого скота известна по экспериментальным данным. У самцов млекопитающих частота рекомбинаций в среднем ниже, чем у самок; у крупного рогатого скота длина рекомбинационной карты быков составляет 2500 сМ (сантиморган), у коров – около 3100 сМ [3]. Одна из последних карт сцепления крупного рогатого скота (<http://www.sol.marc.usda.dov>) состоит (без хромосомы У) из 2893 сМ. Средняя длина групп сцепления, соответственно, содержит около 96 сМ с пределами от 52 сМ хромосомы 28 до 150 сМ хромосомы Х. На 29 мая 2003 года в генных картах хромосом крупного рогатого скота локализовано 4109 локусов, из них структурных генов 1503, микросателлитных локусов – 2241 (BOVMAP: <http://www.locus.jouy.inra.fr>).

**QTL характеристик молочной продуктивности у крупного рогатого скота.** В большинстве работ у крупного рогатого скота пытаются картировать главные гены характеристик молочной продуктивности: об-

щий удой, молочный жир (кг), молочный белок (кг), процент жира (%), процент белка (%) в молоке, продолжительность продуктивного периода, количество соматических клеток (тысяч) в 1 мл молока.

Открытие широкой распространенности в геномах и высокого уровня полиморфизма микросателлитных локусов позволило существенно углубить и уточнить генетические карты животных. Поскольку характеристики молочной продуктивности крупного рогатого скота последние 10 лет привлекают особое внимание [37], большое количество работ, в которых используются микросателлитные локусы, выполнено именно для локализации QTL в разных хромосомных сегментах, которые ассоциированы с характеристиками молочной продуктивности [15, 21, 34, 35, 42]. Причем, важно подчеркнуть, что к настоящему времени выявлено много фрагментов хромосом, в которых предположительно локализованы QTL характеристик молочной продуктивности. То есть, фрагменты, полиморфизм фланговых микросателлитных локусов которых оказывается тесно связан с изменчивостью показателей молочной продуктивности, однако до сих пор не удалось обнаружить конкретных структурных генов в них, непосредственно отвечающих за такую связь.

Некоторые хромосомы, например, ВТА6 (*Bos taurus* autosome 6) и ВТА20, вероятно, имеют QTL, которые влияют больше, чем на один признак, связанный с молочной продуктивностью. Так, выполнено «сканирование» аутосом на присутствие QTL, влияющих на признаки молочной продуктивности у норвежского молочного скота [26]. С использованием методов регрессионного анализа выполнены исследования 6-ти семейств полусибсов, включающих суммарно 285 сыновей, организованных в схему «granddaughter design» (в которой учитываются информация по молекулярно-генетическим маркерам и селекционные индексы быков). Предполагаемые QTL, влияющие на один или несколько признаков молочной продуктивности (общий удой, % белка, общий белок, % жира и общий жир) были выявлены на хромосомах 3, 5, 6, 11, 13, 18 и 20. Наиболее четкие результаты были получены около маркера FBN9 на хромосоме 6, где выявлено присутствие QTL, аллели которого ассоциированы с существенным уменьшением процента жира и белка одновременно и увеличением общего удоя. Результаты по оценкам процентов жира и белка были высоко достоверны при повторных тестированиях. Позиция QTL для этих признаков была определена в районе 16 сМ на хромосоме 6.

Одна из первых работ по поиску QTL, связанных с признаками молочной продуктивности у крупного рогатого скота, была выполнена Веллер Дж. и со. [37]. Они проанализировали 11 микросателлитных мар-

коров в популяции датских молочных коров и пришли к выводу, что некоторые маркеры ассоциированы с сильным влиянием на молочную продуктивность и здоровье животных, в т.ч. хромосома ВТА2 – молочный жир, процент жира (%), ВТА4 – продолжительность продуктивного периода, ВТА7 – число соматических клеток в 1 мл молока, ВТА15 – молочный жир и процент жира (%).

Первые масштабные исследования по картированию QTL молочной продуктивности у крупного рогатого скота, с использованием 181-го микросателлитного локуса, были проведены Георгес М и др. [15]. Они пришли к выводу о следующем распределении QTL: в хромосоме ВТА1 – главные гены характеристики «общий удой»; QTL на ВТА1 – молочный белок (кг); QTL на ВТА6 – удой, вклад жира (%), белка (%); QTL на ВТА9 – удой и молочный белок (кг); QTL на ВТА20 – признак «белковость молока (%)».

Рон М. и др. [32] использовали 10 микросателлитных маркеров для поиска QTL, влияющих на молочную продуктивность израильских голштинов (7 семей). Был идентифицирован один маркер на хромосоме ВТА21, влияющий на величины общего удоя и молочного белка в одной семье.

Спелман Р и др. (1996) [34] выявили локус QTL, влияющий на содержание белка в молоке (%) у датских голштинов на хромосоме ВТА6.

Следующее масштабное картирование QTL, связанных с молочной продуктивностью, выполнено в работе [31]. Картирование хромосомных сегментов с помощью одного маркера (IM) и с их сочетанием (CIM) использовали для выявления локализации QTL, контролирующих общий удой, содержания белка и жира, а также количества клеток в молоке (SCS). Использовали схему «granddaughter» (дочери семей определенных быков-основателей) для одновременного анализа молекулярно-генетической информации с известным характером передачи аллелей потомству (РТА) и оценок отклонений у дочерей от средних значений характеристик молочной продуктивности (DYD) по 8-ми семьям голштинов, включенных в коллекцию ДНК семей молочных быков. Рассматривался полиморфизм 174 микросателлитных локуса, локализованных в 29 аутосомах крупного рогатого скота. На аутосому приходилось, в среднем, 3 таких информативных маркера, количество информативных сыновей на семью и маркер варьировало от 21 до 173. На аутосоме ВТА3 локализован QTL, в позиции около 32 сМ, влияющий на содержание общего белка, в семье 5 и QTL в позиции 74 сМ, влияющий на общее содержание жира, в семье 8. Выявлены два участка на хромосоме ВТА21, ассоциированные с SCS, один в позиции 33 сМ в семье 1 и другой в позиции 84 сМ в семье 3. QTL влияющий на

общий белок молока, обнаружен в участке между 26 и 36 сМ на ВТА6, в семье 6, и QTL, ассоциированный с общим удоем, наблюдался в позиции 116 сМ на ВТА7 в семье 7. QTL в позиции 3 сМ на ВТА14, влияющий на общее содержание жира в молоке, обнаружен в семье 4. На хромосоме ВТА29 выявлены две позиции, ассоциированные с изменчивостью общего удоя (позиция 0сМ) и общего жира (позиция 14 сМ) в семье 7. Авторы полагают, что полученные результаты свидетельствуют о наличии одиночных QTL с плейотропными эффектами на многие признаки, либо о множестве QTL внутри маркированных фрагментах хромосом.

В общем, полученные к настоящему времени данные свидетельствуют о большом размахе изменчивости по результатам картирования QTL одних и тех же признаков молочной продуктивности в хромосомах у представителей разных информативных семей крупного рогатого скота. Более того, в работе, в которой выполнялся поиск локализации QTL в тех сегментах хромосом, где они были выявлены в работе [9] на американских голштинах, в семьях крупного рогатого скота Англии, часть которых была генеалогически связана с теми же самыми американскими голштинами, были получены иные результаты картирования [38]. Рассмотрено 5 таких сегментов, связь которых с признаками молочной продуктивности ранее была выявлена [15] **в 16-ти семьях голштинов в Англии. Четкая связь была найдена только для сегмента, локализованного ранее в хромосоме 6.** Выявлено также определенное влияние сегмента хромосомы 9 на характеристики молочной продуктивности. Авторы полагают, что выявленные ими QTL могут отличаться от картированных у американских голштинов.

В общем, если рассмотреть результаты локализации главных генов характеристик молочной продуктивности, выполненных на животных одной и той же голштинской породы, но в разных странах и разными исследовательскими группами, можно увидеть, что в большинстве случаев результаты такой локализации оказываются разными (табл.1). Более того, в 2005 г на сайте базы данных Техасского аграрного университета приводятся данные о том, что главные гены характеристик молочной продуктивности у крупного рогатого скота к настоящему времени локализованы уже на 16-ти аутосомах из 29 возможных (<http://bovinegenome.org/>).

С целью увеличения точности локализации различных QTL, выполнены исследования, в которых были объединены данные, полученные в разных группах информативных семей крупного рогатого скота голштинской породы (из Франции и Германии) [9]. Объединенные данные состояли в среднем из 231 сына на одного основателя семьи, молекулярно-гене-

тические маркеры включали 133 локуса, локализованные в 9-ти хромосомах. В результате анализа выявлены QTL молочной продуктивности на хромосоме 14, общего удоя на хромосоме 5, и ассоциированные с общим содержанием жира на хромосоме 19 в группах семей из обеих стран. Некоторые QTL картировались в группе семей только из одной страны, но не из другой. Ранее не выявленные QTL были обнаружены при объединении информационных семей из разных стран для общего количества жира в хромосомах 19 и 26, общего белка в хромосоме 26, содержания белка в хромосоме 5, и количества клеток в молоке – в хромосомах 2 и 19.

**1. Результаты картирования главных генов молочной продуктивности с использованием микросателлитных локусов**

Характеристики молочной продуктивности						Авторы
общий удой	% белка	общий белок	% жира	общий жир	количество соматических клеток в мл молока	
-	-	-	2, 15	2, 15	7	Weller J.I. et al., 1990
21	-	21	-	-	-	Ron M. et al., 1994
1, 6, 9	6, 20	1, 9	6	-	-	Georges M. et al., 1995
-	6	-	-	-	-	Spelman R.J. et al., 1996
6, 9	-	6, 9	-	6, 9	-	Wiener P et al., 2000
6	6	-	6	-	-	Olsen HG et al., 2002
7, 29	-	3, 6	-	3, 14, 29	21	Rodriguez-Zas SL et al., 2002
5, 14	5	26	-	19, 26	2, 19	Bennewitz J et al., 2003
-	-	-	-	-	18	Freyer G, et al., 2003

По приведенным выше данным видно, что чаще всего QTL, ассоциированные с молочной продуктивностью, выявляются в хромосоме 6. В этой связи выполнен поиск QTL с плеiotропным действием на признаки молочной продуктивности, локализованные в хромосоме 6 [14]. Этот анализ был выполнен на 5-ти семьях немецкого голштинского сосочного скота с использованием 16-ти микросателлитных локусов, локализованных в хромосоме 6. Получены данные о локализации двух QTL с сильными эффектами в позициях 49 и 64 сМ по отношению к общему удою в различных семьях и в одной семье выявлен QTL в позиции 68 сМ ассоциированный с общим жиром, и в позиции 71 сМ, влияющий на общий белок. Мультивариантный анализ позволил выявить QTL с плеiotропным

эффектом на общий жир и общий белок в позиции 68 сМ, который прерывается маркерами TGLA37 и FBN13.

Выполнен широкий поиск QTL и ряда других, селекционно значимых функциональных характеристик у крупного рогатого скота голштинской породы [22]. Для этих целей использовали 263 генетических маркера, локализованных на всех аутосомах и в псевдоаутосомальных районах половых хромосом, в 16-ти информационных семьях, включающих 872 быка. Исследовали материнский и отцовский эффекты на дистоцию (DYSm, DYSD) и мертворождение (STIm, STId) так же как материнские и отцовские эффекты на перегулы коров в течение 90 дней (NR90m, NR90p). Рассматривались также показатели функциональной жизни стад (FHL) и отклонения у дочерей от средних показателей по количеству клеток в молоке (SCC). QTL, ассоциированный с DYSm, был локализован на хромосоме 8 и QTL, влияющий на SCC – на хромосоме 18. В общем, 24 потенциальных QTL, влияние которых на различные фенотипические характеристики превышало 5 % порог достоверности, были картированы на хромосомах 7, 8, 10, 18, и псевдоаутосомальных районах хромосом X и Y.

Рассмотрены локализация QTL для 14-ти различных признаков, связанных с молочной продуктивностью коров, у трех французских молочных пород [10]: французские голштины, нормандская и монтбельярская молочные породы. Схема исследований включала потомство 1548 быков, принадлежащих к 14-ти семьям быков-основателей и анализировалась в тесте по потомству по 24-м признакам (продуктивность, характеристики молока, плодовитость, устойчивость к маститу, молокоотдача). Определяли генотипы по 169 генетическим маркерам, в основном, микросателлитным локусам. QTL были выявлены для всех признаков, даже для имеющих низкий коэффициент наследуемости. В общем, было выявлено 120 QTL с низким порогом достоверности (3 %), соответствующий 15 % ошибки. Из них 32 QTL были картированы с высокой достоверностью. Для данных QTL информативными оказались только 1-5 семей из 14-ти исследованных. Доверительный интервал для локализации QTL во всех случаях был большим и всегда больше, чем 20 сМ. В этом анализе трех пород локализация ряда QTL совпала с опубликованными ранее, однако в большинстве случаев выявлена локализация новых QTL.

Не смотря на противоречивость накопленных данных по локализации QTL, ассоциированных с молочной продуктивностью, выполнены попытки оценить эффективность использования информации о них в селекционном процессе, направленном на повышение молочной продуктивности [7]. Рассмотрены три варианта селекционных схем с использовани-



ем информации по QTL. В первой схеме в течение 3 лет ожидают оценки продуктивности молодых бычков по молочной продуктивности их сестер. Во второй – оценивают быков по истечению 5-ти лет, пока их дочери заканчивают лактацию. Учитывали также промежуточный вариант оценки быков в течение 4 лет. Выполнено имитирование селекционного процесса продолжительностью в 16 лет с перекрывающимися поколениями на основе характеристик, полученных на группе американских голштинов. Вклад использования QTL оценивался путем сравнения результатов селекционной работы с учетом данных по QTL и селекционной работы без привлечения данных по QTL. Рассматривали 4 селекционируемые группы: быки основатели, юные быки, матери этих быков и коровы в первой лактации. Наблюдали тенденцию к низкой эффективности использования QTL в начальные годы селекции, которая увеличивалась до определенного плато в последующие годы, а затем уменьшалась. Преимущества использования QTL были наибольшими в 3-х летней селекционной схеме и наименьшими – в 4-х летней схеме. На плато в схеме 3-х летней селекции преимущества использования QTL варьировали от 16 до 26 %; от 3 до 12 % в 4-х летней схеме селекции, и от 5 до 13% – для 5-ти летней схемы.

Необходимо подчеркнуть, что подробное насыщение карт молекулярно-генетическими маркерами важно не только для поисков QTL, контролирующих развитие хозяйственно ценных признаков, но и для поисков других генетических элементов, участвующих в ответе на действие факторов искусственного и естественного отбора. Так, выполнены исследования возможности использования молекулярно-генетических маркеров для оценки давления искусственного и естественного отборов [16]. Геномный ответ на различные варианты отбора измерялся с использованием оценок аллельной сегрегации в сперматозоидах сыновей быков, подвергавшихся и не подвергавшихся отбору, а также с учетом записей по их ростовым характеристикам. Рассматривали геномный ответ на искусственный отбор в 6-ти семьях коммерческих производителей, включающих 285 сынов-полусибсов, отбираемых по скорости прироста живой массы, с использованием 282 генетических маркеров, локализованных во всех аутосомах крупного рогатого скота. Обнаружено, что распределение аллельных вариантов маркеров, локализованных в хромосомах 6, 10 и 16, совпадало с отбором на скорость прироста живой массы. Это позволило авторам прийти к выводу о том, что данные участки хромосом отвечают на факторы искусственного отбора. Авторы полагают также, что обнаруженные ими неслучайные изменения аллельных вариантов в генетических маркерах,

локализованных в хромосомах 1, 7 и 17 могут быть обусловлены или генным дрейфом, или ответом на факторы естественного отбора.

Таким образом, к настоящему времени накоплено большое количество данных по картированию QTL, в основном, связанных с молочной продуктивностью крупного рогатого скота; обнаружена существенная зависимость возможности их локализации от семейной принадлежности животных и даже от того, в какой стране (Англии или Америке) выполняются такие исследования.

Очевидно, что успех выявления QTL, ассоциированных с признаками продуктивности и дальнейшего их использования в реальной селекционной работе непосредственно будет зависеть от такого же картирования QTL, связанных с характеристиками здоровья и плодовитости животных, с которыми признаки продуктивности часто находятся в антагонистических взаимоотношениях. Существенный вклад в продвижение таких исследований, по видимому, будут вносить работы по изучению индивидуальной изменчивости частот рекомбинационных событий у разных племенных животных в одних и тех же группах сцепления, в разных хромосомах, а также в разных участках одних и тех же хромосом. Отсутствие контроля индивидуальных особенностей рекомбинационных процессов может быть одной из причин противоречивости данных о локализации QTL одних и тех же фенотипических признаков, полученных в разных исследованиях. Другая причина может быть связана с неизученностью влияния на частоты рекомбинационных событий, сегрегацию аллельных вариантов факторов естественного отбора, которые, очевидно, трудно поддаются анализу и контролю. Можно ожидать, что преодоление этих трудностей связано с дальнейшим, более тонким картированием хромосом сельскохозяйственных видов и углубленным изучением процессов рекомбинации в их фрагментах.

**Методы картирования.** Исторически приоритет в картировании генов сельскохозяйственных видов принадлежит А.С. Серебровскому [5], в работах которого впервые был описан порядок размещения генов в половой хромосоме курицы, на основании оценок частот рекомбинаций между признаками, сцепленными с полом.

При картировании генома крупного рогатого скота используют четыре основных метода: 1) популяционно-генеалогический анализ; 2) стандартный генетический анализ; 3) метод гибридизации соматических клеток разных видов; 4) метод гибридизации *in situ* с мечеными зондами.

В настоящее время наиболее широко используется метод гибридизации *in situ*, который основан на использовании меченых зондов, гибриди-

зующихся с хромосомной ДНК на метафазных хромосомах. Этот метод позволяет не только обнаружить хромосому, в которой локализован соответствующий ген, но и ее сегмент.

Для графического представления статистической значимости ассоциации аллелей маркерных генов с определенными локусами на карте, часто дается карта вероятностей позиции локусов, в том числе и количественных признаков (QTL) вдоль хромосомы. Этот метод использует LOD баллы (likelihood of odds – вероятность, или правдоподобие шансов попадания в данный интервал – lod score test) [24]. Авторы предложили ряд аналитических методов для локализации предполагаемых локусов количественных признаков в позициях карты, составленной на основании рекомбинационных событий между разными полиморфными молекулярно-генетическими маркерами (в данном случае – на основании полиморфизма длин рестрикционных фрагментов – ПДРФ). Методы включали: (i) метод идентификации скрещиваний, позволяющих картировать QTL с использованием классической формулы С. Райта; (ii) метод (интервальное картирование) для применения карты сцепления ПДРФ маркеров с использованием оценок вероятности шансов попадания в данный интервал (LOD score test), для увеличения точности генетической локализации и оценок фенотипического эффекта QTLs; и (iii) метод (выборочное генотипирование), позволяющий существенно уменьшить количество потомков, которые необходимо исследовать. Разработка этих авторов позволяла графически представлять данные по локализации QTL на генетической карте, а также рассчитывать количество потомков, необходимых для картирования QTL.

Были опубликованы работы [17, 18] по радиационному картированию генов в хромосомах, в которых использовали радиационное фрагментирование хромосом с последующей соматической гибридизацией облученных клеток с интактными, несущими селективный маркер (чаще всего дефектный ген тимидин киназы, локализованный в хромосоме X у млекопитающих).

Предполагалось, что радиация индуцирует разрывы хромосом случайно по их длине. В результате, чем дальше от селективного маркера находится маркер, позиция которого неизвестна, тем чаще они независимо расходятся (сегрегируют) в клональном потомстве радиационных гибридов.

Р.Е. Сирулло и соавт. [12] использовали маркирование небольших сегментов хромосом по присутствию в них гена аминокил tRNA синтетаз человека. Они летально облучали клетки, затем гибридизовали их с температурно чувствительными клетками китайского хомячка и оценивали

одновременное присутствие в гибридных клетках разных маркеров хромосом человека. После этой работы было выполнено большое количество подобных исследований, которые позволили создать достаточно насыщенные карты хромосом человека [8, 13]. Примерами эффективности этого метода по выявлению порядка маркеров являются совпадения порядка маркеров на радиационной карте, генетической, цитогенетической и картах УАС-континг (клонированные вставки в хромосомы дрожжей) могут быть работы [29], по картированию короткого плеча хромосомы 12 человека, X-хромосомы [23], хромосом 5 [25], 11 [27], 13 [33], 14 [36].

В общем, в настоящее время существует возможность создания радиационных панелей для отдельных хромосом и их сегментов, для целых геномов различных видов [1].

Идеология параллельного радиационного картирования порядка генов у лабораторных линий мышей, крупного рогатого скота, свиней, лошадей и т.д. была предложена Дж. Вумаком [40]. Такой подход существенно облегчает картирование генов у нового вида, с учетом наличия информации о расположении генов у другого, близкородственного вида.

Одна из последних карт крупного рогатого скота представлена в работе [39]. В этих экспериментах была получена первичная клеточная линия фибробластов теленка (голштинской породы). Клетки подвергались облучению дозой в 3000 рад и затем сливались с дефицитными по HPRT клетками китайского хомячка линии Wg3H. В результате 6-ти слияний были получены 224 гибридных клеточных линии. Все они далее были скринированы по 33-м микросателлитным локусам, локализованным во всех хромосомах крупного рогатого скота. Частоты сохранения маркеров в гибридных клетках варьировало от 8% до 27 % (в среднем 16 %). При исключении клеточных клонов с низкой частотой сохранения маркеров, в конечном итоге получено 94 гибридных клеточных клонов (Bovine WGRH панель, кат. №. RH10).

Для создания генетических карт всех хромосом использовали данные о генетическом сцеплении ряда структурных генов и микросателлитных локусов, представленные по ряду серверов (например, <http://www.marc.usda.gov/genome/genome.html> и [www.cgd.csiro.au](http://www.cgd.csiro.au)). Детали об использованных молекулярно-генетических маркерах, включая информацию о праймерах для ПЦР выявления, можно найти в базах данных Bovine RHDB: [www.roslin.ac.uk/radhyb/](http://www.roslin.ac.uk/radhyb/) и BOVMAP: <http://locus.jouy.inra.fr>). Маркеры типировали с использованием стандартных процедур ПЦР с соответствующими праймерами. Полученные данные были включены в базу данных

по радиационным панелям крупного рогатого скота и доступны по адресу [www.roslin.ac.uk/radhyb/](http://www.roslin.ac.uk/radhyb/).

Для включения маркеров в генетические карты каждой хромосомы крупного рогатого скота использовали пакет программ «Carthagene», доступный для использования по адресу [www.inra.fr/bia/T/CarthaGene/](http://www.inra.fr/bia/T/CarthaGene/). Этот пакет программ позволяет быстро строить генные карты с учетом особенностей маркеров. Нарушающие порядок картирования маркеры сразу представляются на карте, как аномалии и подвергаются повторному анализу на двух-точковый LOD scores тест, в результате чего происходит либо уточнение позиции маркера, либо его удаление как ошибочного. Эта характеристика является очевидным преимуществом данного пакета программ по сравнению с более традиционными, такими как RH и RHMAPPER. Далее, полученная радиационная карта, цитогенетические данные и карта сцепления сравнивались с использованием пакета программ Anubis ([www.roslin.ac.uk/cgi-bin/anubis](http://www.roslin.ac.uk/cgi-bin/anubis)). Сравнение радиационных карт всех 29 аутосом и X и Y с картами физического сцепления представлены по адресу [www.projects.Roslin.uk/comrad](http://www.projects.Roslin.uk/comrad).

Детальная радиационная карта создана и для свиньи [20, 41]. Важной чертой этой карты является подробное картирование генов в хромосоме 15, района q2.3-q2.6, в котором локализован ген RN, полиморфизм которого влияет на качество мяса и стресс-чувствительность свиней. Интересно совпадение физического порядка генов в хромосоме 15 свиньи и района q-плеча хромосомы 2 человека [30]. Данные про локализацию генов можно найти на impRH сервере (<http://imprh.toulouse.inra.fr>). Создана также хромосом-специфичная панель короткого плеча хромосомы 2 свиньи [4].

Последняя сводка данных по генетическим картам хромосом свиньи опубликована в работе [19]. **Панель клонов была создана путем облучения** клеток эндотелия аорты свиньи дозой в 5000 рад с последующим слиянием клеток с дефицитными по тимидин киназе мышиными клетками линии L-M (TK) (ATCC; CCL1.3). Анализ около 150 метафаз донорских клеток показал присутствие нормального диплоидного кариотипа самца свиньи. В результате двух слияний получено 113 гибридных клонов, из которых в дальнейшем исследовали 110 клеточных линий. Из 1091 микросателлитных локусов (MS) отобраны для картирования 842. Общая длина карты составляла 5596.2 cR. С учетом оценок физической длины карты генома свиньи в 2718 Мп.н., по данным авторов, среднее отношение между cR и физическим расстоянием оценивалось как 0.49 Mb/cR.

**Выводы.** Картирование хромосом сельскохозяйственных видов широко проводится в целях выявления генов, тесно сцепленных с главными

генами количественных признаков (QTL). Предполагается, что выявление таких генов позволит развивать методы селекции с помощью маркеров (MAS), что может существенно оптимизировать и ускорить процессы селекционной работы. Наибольшее количество работ к настоящему времени выполнено на голштинской породе крупного рогатого скота по картированию QTL характеристик молочной продуктивности. Суммарно в разных работах обнаружено 16 аутосом (из 29 возможных), в которых локализируются такие гены. В ряде аутосом, в частности, в хромосомах 6, 9, 14, 20 выявлены QTL, которые влияют больше, чем на одну характеристику молочной продуктивности. Противоречивость полученных результатов картирования QTL характеристик молочной продуктивности в разных лабораториях может быть обусловлена сложными взаимоотношениями между характеристиками продуктивности и здоровья животных, их устойчивостью к действию различных факторов окружающей среды, а также индивидуальной изменчивостью рекомбинационных событий между маркерными генами. Дальнейшее углубленное изучение этих процессов и взаимосвязей между молочной продуктивностью, адаптированностью к условиям окружающей среды, устойчивости к заболеваниям может привести к более надежной идентификации QTL на определенных хромосомах.

### **Библиографический список**

1. Жданова Н.С. Радиационное картирование геномов // Генетика. – 2002. – Т. 38. – № 5. – С. 581-594.
2. Жученко А.А. Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. – М: Наука. – 1985. – 320 с.
3. Захаров И.А. Генетические карты сельскохозяйственных животных. Выпуск 2.-Москва: Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. – 1995. – 34 с.
4. Иванова Н.В., Королева И.В., Кузнецов С.Б. и др. Радиационная карта короткого плеча хромосомы // Генетика. – 2001. – Т. 37. – № 2. – С. 230-237.
5. Серебровский А.С. Генетический анализ. – М., 1970. – 342 с.
6. Четвериков С.С. **Проблемы общей биологии и генетики.** - Новосибирск: Наука, 1983. – 272 с.
7. Abdel-Azim G, Freeman AE. Effects of including a quantitative trait locus in selection under different waiting plans of young bulls// J Dairy Sci 2003 Feb; 86(2):667-76

8. Benham F., Yart K., Crolla et al. A method for generation of hybrids containing nonselected fragments of human chromosomes // *Genomics*. – 1989. – V. 4. – P. 509-517.
9. Bennewitz J, Reinsch N, Grohs C, Leveziel H, Malafosse A, Thomsen H, Xu N, Looft C, Kuhn C, Brockmann GA, Schwerin M, Weimann C, Hiendleder S, Erhardt G, Medjugorac I, Russ I, Forster M, Brenig B, Reinhardt F, Reents R, Averdunk G, Blumel J, Boichard D, Kalm E. Combined analysis of data from two granddaughter designs: A simple strategy for QTL confirmation and increasing experimental power in dairy cattle. *Genet Sel Evol*. 2003. May-Jun; 35(3):319-38
10. Boichard D, Grohs C, Bourgeois F, Cerqueira F, Faugeras R, Neau A, Rupp R, Amigues Y, Boscher MY, Leveziel H. Detection of genes influencing economic traits in three French dairy cattle breeds.// *Genet Sel Evol*. 2003. Jan-Feb; 35(1):77-101
11. Carson H.L. The unit of genetic change in adaptation and specification// *Ann.of Miss.Bot.Garden*. – 1976. – V.63, N2. – P. 210-223
12. Cirullo R.E., Dana S., Wasmuth J.J. Efficient procedure for transferring specific human genes into Chinese hamster cell mutants // *Mol. Cell Biol*. – 1983. – V. 3. – P. 892-902.
13. Cox D., Burmeister M., Price E.R. et al. Radiation hybrid mapping // *Sci*. – 1990. – V. 250. – P. 245-250.
14. Freyer G, Sorensen P, Kuhn C, Weikard R, Hoeschele I. Search for pleiotropic QTL on chromosome BTA6 affecting yield traits of milk production *J Dairy Sci*. 2003. Mar; 86(3):999-1008
15. Georges M., Nielsen D., Mackinnon M. et al. Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing // *Genetics*. – 1995, 139. – P. 907-920.
16. Gomez-Raya L, Olsen HG, Lingaas F, Klungland H, Vage DI, Olsaker I, Talle SB, Aasland M, Lien S. The use of genetic markers to measure genomic response to selection in livestock.// *Genetics*. 2002. Nov; 162(3):1381-8.
17. Goss SJ, Harris H. Gene transfer by means of cell fusion I. Statistical mapping of the human X-chromosome by analysis of radiation-induced gene segregation *J Cell Sci*. 1977. Jun; 25:17-37
18. Goss SJ, Harris H. Gene transfer by means of cell fusion. II. The mapping of 8 loci on human chromosome 1 by statistical analysis of gene assortment in somatic cell hybrids. *J Cell Sci*. 1977. Jun; 25:39-57

19. Hamasima N, Suzuki H, Mikawa A et al., Construction of a new porcine whole-genome framework map using a radiation hybrid panel// *Anim. Genetics.* – 2003. – Vol. 34. – P. 216-220.
20. Hawken R.J., Murtaugh J., Flickinger G.H. et al. A first generation porcine whole-genome radiation hybrid map // *Mamm. Genome.* – 1999. – V. 10. – P. 824-830.
21. Kuhn C.H., Freyer G., Weikard R., Goldammer T. & Schwerin M. Detection of QTL for milk production traits in cattle by application of a specifically developed marker map of BTA6. *Animal Genetics.* 1999. 30, 333-40.
22. Kuhn Ch, Bennewitz J, Reinsch N, Xu N, Thomsen H, Looft C, Brockmann GA, Schwerin M, Weimann C, Hiendleder S, Erhardt G, Medjugorac I, Forster M, Brenig B, Reinhardt F, Reents R, Russ I, Averdunk G, Blumel J, Kalm E. Quantitative trait loci mapping of functional traits in the German Holstein cattle population // *J Dairy Sci.* 2003. Jan; 86(1):360-8).
23. Kumlien J., Griroriev A., Roest C. H. et al. A RH map spanning the entire human X-chromosome, integrating YAC<sub>s</sub>, genes, and STS markers // *Mamm. Genomt.* – 1996. – V 7. – P. 758-766.
24. Lander ES, Botstein D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. // *Genetics.* 1989. Jan; 121(1):185-99.
25. Marzella R., Viggiano L., Ricco A.S. et al. A panel of radiation hybrids and YAC clones specific for human chromosome 5 // *Cytogenet. Cell Genet.* – 1977. – V. 77. – P. 232-237.
26. Olsen HG, Gomez-Raya L, Vage DI, Olsaker I, Klungland H, Svendsen M, Adnøy T, Sabry A, Klemetsdal G, Schulman N, Kramer W, Thaller G, Ronningen K, Lien S A genome scan for quantitative trait loci affecting milk production in Norwegian dairy cattle *J Dairy Sci.* 2002. Nov; 85(11):3124-30.
27. Perlin M.W., Duggan D.J., Davis K. et al. Rapid construction of integrated maps using inner product mapping: YAC coverage of human chromosome 11 // *Genomics.* – 1995. – V. 20. – P. 315-327.
28. Pontekorvo G. Induction of directional chromosomal elimination in somatic cell hybrids // *Nature.* – 1971. – V. 230. – P. 267-269.
29. Raeymakers P., Zand K.V., Jun L. et al. A radiation hybrid map with 60 loci covering the entire short arm of chromosome 12 // *Genomics.* – 1995. – V. 29. – P. 170-178.
30. Robic A., Seroude V., Jeon J.-T. et al. A radiation hybrid map of the RH region in pig demonstrates conserved gene order compared with the human and mouse genome // *Mamm. Genome.* – 1999. – V. 10. – P. 565-568.



31. Rodriguez-Zas SL, Southey BR, Heyen DW, Lewin HA. Interval and composite interval mapping of somatic cell score, yield, and components of milk in dairy cattle. // *J Dairy Sci.* 2002. Nov; 85(11):3081-91.
32. Ron M., Band M., Yanai A. et al. Mapping quantitative trait loci with DNA microsatellites in a commercial dairy cattle population // *Anim. Genet.* – 1994. – N 25. – P. 259-264.
33. Shaw S.H., Farr J.E.F., Thiel B.A. et al. A radiation hybrid map of 95 STS<sub>s</sub> spanning human chromosome 13q // *Genomics.* – 1995. – V. 27. – P. 502-510.
34. Spelman R.J., Coppieters W., Karim L. et al. Quantitative trait loci analysis for five milk production traits on chromosome six in the Dutch Holstein-Friesian population // *Genetics.* – 1996. – N 144. – P. 1799-1808.
35. Velmala R.J., Vilkkilä H.J., Elo H.T., de Koning D.J. & Mañón-Tanila A.V. A search for quantitative trait loci for milk production traits on chromosome 6 in Finnish Ayrshire cattle. *Animal Genetics.* 1999. 30, 136-43.
36. Walter M.A., Spillett D.J., Thomas P. et al. A method for constructing radiation hybrid map of whole genomes // *Nat. Genet.* – 1994. – V. 7. – P. 22-28.
37. Weller J.I., Kashi Y. and Soller M. Power of daughter and granddaughter designs for determining linkage between marker loci and quantitative trait loci in dairy cattle // *J. Dairy Sci.* – 1990. – N 73. – P. 2525-2537.
38. Wiener P, I Maclean, J L Williams, J A Woolliams Testing for the presence of previously identified QTL for milk production traits in new populations *Animal Genetics*, 2000, 31, 385-395).
39. Williams J.L., Eggen A., Ferretti L. et al. A bovine whole-genome radiation hybrid panel and outline map// *Mammalian Genome.* – 2002. – Vol.13, N 8. P. 469-474.
40. Womack J.E., Johnson J.S., Owens E.K. et al. A whole-genome radiation hybrid panel for bovine gene mapping // *Mamm. Gen.* – 1997. – V. 8. – P. 854-856.
41. Yerle M., Pinton P., Robic A. et al. Construction of a whole-genome radiation panel for high-resolution gene mapping in pigs // *Cytogenet. Cell Genet.* – 1998. – V. 82. – P. 182-188.
42. Zhang, Q., D. Boichard, I. Hoeschele, C. Ernst, A. Eggen, B. Murkve, M. Pfister-Genskow, L. A. Witte, F. Grignola, P. Uimari, G. Thaller, and M. D. Bishop. Mapping quantitative trait loci for milk production and health of dairy cattle in a large outbred pedigree. *Genetics* 149: 1959-1973, 1998.