

растворе. Если амплификация не происходит, флуорофор и гаситель находятся недалеко друг от друга и флуоресценции не наблюдается.

## **6.2. Селекция животных с помощью генетических маркеров**

### **6.2.1. Маркерная селекция (MAS – marker assistant selection)**

Большая часть хозяйственно ценных селекционных признаков характеризуется как полигенные. При этом разнообразие этих признаков под воздействием факторов внешней среды может достигать 50% (Веллер, 2018). В то же время имеются гены или группа генов, вклад которых в проявление того или иного признака продуктивности при любых условиях среды существенен и имеет четко выраженный эффект. Такие гены называются основными генами количественных признаков (Quantitative Trait Loci, QTL) и являются основой маркерной селекции (MAS).

Преимущество MAS перед традиционными методами селекции заключается в следующем:

- позволяет генотипировать и отбирать животных в раннем возрасте независимо от пола;
- позволяет осуществлять целенаправленный подбор животных для получения потомства заданных генотипов;
- доступна для широкого использования и не требует больших затрат.
- повышает интенсивность селекции животных как по признакам продуктивности, так и по устойчивости к заболеваниям.

Еще одним современным методом селекции является геномная селекция (genomic selection) – метод, позволяющий при использовании равномерно распределенных по геному ДНК-маркеров проводить отбор по генотипу при отсутствии данных о генах, влияющих на признак.

На текущий момент известны следующие основные виды молекулярных маркеров:

- RFLP (restriction fragment length polymorphism) – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов;
- AFLP (amplified fragment length polymorphism) – полиморфизм длины амплифицированных фрагментов;
- ISSR (inter simple sequence repeats) – межмикросателлитные последовательности;
- RAPD (random amplified polymorphic DNA) случайно амплифицированная полиморфная ДНК;
- SSR (simple sequence repeats) – простые повторяющиеся последовательности (микросателлиты);
- STS (sequence tagged site) – сайт/локус, маркированный нуклеотидной последовательностью;
- DArT (diversity array technology) – ДНК-чип технология для изучения разнообразия;
- SNP (single nucleotide polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм.
- ISSR, RAPD, SSR, STS, DArT, SNP – широко используются для исследования биоразнообразия сельскохозяйственных животных, пород, популяций.

Прежде чем генетический маркер будет использоваться в селекции животных, необходимо выполнить следующие шаги:

- 1) выделить спектр генов-кандидатов, которые могут служить молекулярно-генетическими маркерами QTL;
- 2) разработать тест-системы для анализа их аллельного полиморфизма;
- 3) определить частоты встречаемости аллельных вариантов данных генов у различных пород сельскохозяйственных животных;
- 4) провести корреляционный анализ;

5) оценить эффективность использования предлагаемых маркеров в селекции.

К настоящему времени накоплено большое количество данных, свидетельствующих о высокой успешности этого подхода, который можно разделить на два направления:

– анализ полиморфизма генов, выполняющих роль системных регуляторов, продукты которых являются гормонами или рецепторами к ним (например, соматотропный гормон, лептин, пролактин и т.д.) и факторами регуляции транскрипции;

– анализ полиморфизма собственно структурных генов, продукты которых являются ключевыми в отдельных метаболических процессах (например, казеины коровьего молока, определяющие аллергенность, пригодность для получения твердых сыров; кальпаастатин, с отсутствием ингибирования протеаз кальпаинов, определяющий пост-убойную нежность мяса; миостатин, делеция в котором приводит к развитию двойной мускулатуры и так далее). В этой группе особое значение имеет полиморфизм генов, определяющих генетически детерминированные заболевания, такие как стресс-чувствительность у свиней, дефицит адгезивности лейкоцитов у крупного рогатого скота, аномалии опорно-двигательного аппарата, судорожные состояния у лошадей в ответ на повышенную концентрацию калия в кормах, повышенная чувствительность животных разных видов к инфекционным агентам, в том числе и к прионам.

Активно развиваются работы по выявлению ключевых генов для систем устойчивости млекопитающих к экстремальным для животноводства факторам окружающей среды, которые нередко оказываются сходными у разных видов млекопитающих. Так, например, некоторые ключевые гены устойчивости к высокогорной гипоксии одинаковы у лошади, овец и человека, к холоду – у якутского скота и человека.

Ниже приведено описание некоторых генов, связь которых с продуктивностью хорошо изучена и подтверждена во многих исследованиях.

Ген каппа казеина (*CSN3*). Одним из генов, представляющих интерес в современной селекции сельскохозяйственных животных, является ген каппа-казеина. Каппа-казеин ( $\kappa$ -Сп, *CSN3*) представляет собой фракцию казеина, подверженную действию сычужного фермента и способствующая формированию казеинового комплекса молока. Казеин включает в себя 4 фракции -  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\chi$ . Фракции имеют различия по растворимости, чувствительности к ионам кальция и по физико-химическим свойствам и особый интерес для перерабатывающей промышленности представляет  $\beta$  фракция, обеспечивающая получение наилучшего белкового сгустка для производства сыра.

Ген пролактинового рецептора (*PRL*). Пролактин – один из универсальных гормонов гипофиза с точки зрения его биологической функциональности. Ему принадлежит определяющая роль в лактогенезе, где основное его действие – стимуляция развития молочных желез и лактации. Он действует на альвеолы молочных желез и отвечает за синтез основных компонентов молока, включая белки, лактозу и липиды. Пролактин участвует в каждой стадии экспрессии генов молочного белка, то есть транскрипции, стабилизации мРНК, трансляции и посттрансляционной модификации белков.

Ген бета-лактоглобулин (*LGB*). *LGB* достаточно большой и состоит из 7-и экзонов, охватывающих около 4000 п. о. Длина цепи белка бета-лактоглобулина составляет 178 аминокислот. Ген бета-лактоглобулина (*LGB*) отвечает за белковомолочность и является одним из показателей биологической ценности молока. Вариант *LGBB* связан с высоким содержанием в молоке казеиновых белков, высоким процентом жира, а вариант *LGBA* характеризуется высоким содержанием сывороточных белков.

Гипофизарный фактор роста (*PIT 1*). *PIT-1* участвует в регуляции экспрессии генов пролактина (*PRL*), соматотропина (*GH*) и тиреотропного

гормона, а также направляет дифференциацию и пролиферацию клеток гипофиза.

Полиморфизм *Pit1*EBH может быть информативным маркером молочной и мясной продуктивности. Было установлено преимущество коров с AA-генотипом по удою, тогда как преимущество коров с BB-генотипом по следующим признакам: масса при рождении, средний прирост, длина тела и охват груди за 6 и 12 месяцев (Бейшова, Белая, Поддудинская, 2016).

У свиней варианты гена *PIT1* ассоциированы со скоростью роста и содержанием жира в туше.

*Соматотропин (гормон роста, GH)*. GH принадлежит к семейству соматолактогенных гормонов, которые включают плацентарный лактоген, пролактин и гематопэтические факторы роста. GH является анаболическим гормоном, синтезируемым и секретируемым соматотрофными клетками. Основной биологический эффект соматотропина заключается в стимуляции постнатального роста и метаболизма (липидного, белкового, углеводного и минерального), а также во влиянии, оказываемом на лактацию и состав молока. Нарушение и тем более выпадение любого звена синтеза гормона роста влечет за собой изменения в работе соматотропиновой оси, которые могут привести как к различиям в фенотипических проявлениях количественных 20 признаков продуктивности у сельскохозяйственных животных, так и к заболеваниям, развивающимся на разных этапах онтогенеза. Основной биологический эффект заключается как в регуляции метаболизма, лактации, состава молока.

*Кальпаин-кальпастатиновая система (CALP-CAST)*. В реализации признаков мясной продуктивности животных участвует протеолитическая кальпаин-кальпастатиновая система. Увеличение скорости роста скелетных мышц регулируется понижением темпов деградации мышечного белка за счет уменьшения активности кальпаинового локуса (*calpain, CAPN*) и одновременного повышения активности белков кальпастатинового каскада (*calpastatin, CAST*). Кроме того, кальпаин-кальпастатиновый комплекс

регулирует протеолитические и цитолитические реакции после убоя, определяя скорость разрушения Z-дисков скелетной мускулатуры и ослабления связей между мышечными волокнами, что играет ключевую роль в распаде тубулина и титина в период созревания и при формировании так называемой нежности мяса (Бейшова, Белая, Поддудинская, 2018).

*Ген миостатина (myostatin, MSTN).* Один из наиболее изученных генов-кандидатов мясной продуктивности животных. Интерес к *MSTN* появился при изучении механизма его действия у млекопитающих и рыб и участия в обеспечении гоночной работоспособности собак. Миостатин известен также как фактор роста и дифференцировки 8 (growth differentiation factor 8, GDF8).

Расшифровка геномов сельскохозяйственных животных позволила разработать для их генотипирования ДНК-чипы (основной разработчик компания Illumina (Сан-Диего, США)).

*ДНК-чип* представляет собой пластину площадью около 1 см<sup>2</sup>, на которой в строго определенном порядке размещены ячейки, каждая из которых содержит одно цепочечные поли нуклеотиды определенной последовательности оснований. Количество таких полинуклеотидных ячеек, а, следовательно, и количество различных нуклеотидных последовательностей, может превышать 1 млн. на 1 см<sup>2</sup>, их длина варьирует от 9-10 до 1000 нуклеотидов.

В основе использования чипов лежит принцип аллель-специфической гибридизации – взаимодействия комплементарных цепей ДНК. Одна из них – это проба с известной последовательностью нуклеотидов, которая иммобилизована (прикреплена) на подложке, а другая – это анализируемая ДНК-проба, она метится флуоресцентной меткой, и наносится на ДНК-чип. Флуоресцентно-меченный ПЦР-продукт с соответствующей последовательностью нуклеотидов гибридизуется на чипе. После гибридизации чип промывается, не связавшиеся участки ДНК удаляются. Анализ микрочипа заключается в сканирование флуоресценции меченных молекул при помощи

лазера, что и позволяет в итоге установить последовательность ДНК образца. Наиболее известные производители ДНК-чипов – Иллюмина (Illumina), Аффиметрикс (Affymetrix).

Разработка ДНК-чипов привела к внедрению новой технологии в совершенствовании продуктивных качеств сельскохозяйственных животных – геномной селекции.

Геномная селекция – технология для повышения точности племенной ценности молодых животных на основе информации о десятках тысяч мутаций (SNP) по всему геному. Сканирование генома происходит с использованием чипов (матриц) на 50-60 тыс. SNP (которые маркируют основные гены количественных признаков) для выявления однонуклеотидных полиморфизмов по всему геному животного, определения генотипов с желательным проявлением совокупности продуктивных признаков и оценки племенной ценности животного. Впервые термин «геномная селекция» был введен Хейли и Вишером в 1998 г. Meuwissen с соавторами в 2001 году разработал и представил методологию аналитической оценки племенной ценности с помощью карты маркеров, охватывающих весь геном. Практическое применение геномной селекции началось с 2009 года. Геномная селекция – это мощный инструмент для использования сегодня и в будущем. В настоящее время эффективность геномной селекции ограничена различным характером взаимодействия количественных признаков локусов, изменчивостью количественных признаков у разных пород, влиянием на проявление признака факторов внешней среды. Однако результаты исследований во многих странах подтвердили, что использование статистических методов совместно с геномным сканированием повышает точность прогноза племенной ценности.

Использование геномной селекции позволяет повысить надежность и достоверность оценки племенной ценности, определить крайних животных, как на верхнем, так и на нижнем уровнях этого диапазона племенной ценности. К основным преимуществам геномной селекции относят:

- повышение точности оценки при рождении до 70%;
- владение информации о моногенных заболеваниях;
- точность происхождения;
- ускоренный генетический прогресс за счет уменьшения интервала между поколениями.

Для осуществления геномной селекции необходима референсная база животных, которые имеют точные данные о происхождении; собственной продуктивности; продуктивности потомства; генотипе, полученного с использованием ДНК-чипа.

На основе этих данных каждое животное проходит систему геномной оценки GBLUP по BLUP, Sire Model, Animal Model.

Референсные популяции в странах развитого молочного скотоводства достигают десятки тысяч животных, особый прогресс достигнут в последнее десятилетие (таблица 6.1).

*Таблица 6.1*

**Динамика количества животных, генотипированных с использованием ДНК-чипов, и составляющих референсные популяции**

Вид животных	Количество	
	2009 год	2010-2019 годы
Молочный скот	22 350	5 385 500
Мясо-молочный скот	20 150	1 500 000
Мясной скот	-	550 000
Свиньи	-	400 000
Птица	-	1 000 000

Страны Европы (Финляндия, Дания, Нидерланды, Швеция) объединились в консорциум по молочному скоту EuroGenomics, с тем, чтобы объединить свои референсные базы и увеличить точность прогноза племенной ценности молодых быков. Так, в 2009 году она составляла около 50 тысяч, в 2018 году – более 950 тысяч, 2021 году – около 1 млн. 200 тысяч.



В России научное сопровождение внедрения геномной селекции в молочном скотоводстве осуществляют ФИЦ ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста, руководитель академик РАН Н.А.Зиновьева, Центр геномной селекции в АХ «Мираторг», ООО КСИВЕЛЮ» (КСИТЕСТ), лаборатории молекулярно-генетической экспертизы АО «Агроплем», ООО «Мой Ген».

### **6.2.2. Молекулярно-генетическое тестирование заболеваний сельскохозяйственных животных**

У сельскохозяйственных животных известны десятки аномалий, возникновение которых связано с рецессивными или доминантными мутациями генов. Эти аномалии встречаются в отдельных популяциях с разной частотой, что зависит от скорости мутационного процесса, системы разведения животных. Знание конкретных форм врожденных аномалий у животных каждого вида, а также частоты их проявления в отдельных породах необходимо ветеринарным специалистам для селекционной профилактики распространения генетической патологии (Коновалова, Костюнина, Романенкова, 2019).

Генетические аномалии – это морфофункциональные нарушения в организме животных, возникающие в результате генных и хромосомных мутаций.

В настоящее время с использованием молекулярно-генетических тестов или ДНК-чипа можно провести генотипирование на носительство/отсутствие следующих мутаций:

*Карликовость, ассоциированная с мутацией в гене RNF11.* Проявляется в течение полугода в виде замедления роста с формированием узкого черепа и избыточной волосатости головы. До 6-месячного возраста около 30% телят с данным дефектом погибают от инфекционных заболеваний.

*Гипопигментация кожи и глаз.* Генетический дефект мясных пород скота характеризуется бледно-голубой радужкой и светло-коричневой склерой глаза. Интенсивность пигментации шерсти снижается, например, черный цвет

шерсти становится коричневым. Контролируется простой рецессивной мутацией.

*Дефицит уридинмонофосфатсинтетазы (DUMPS).* Обусловлен однонуклеотидной заменой в гене UMPS хромосомы 1. Это моногенное летальное аутосомно-рецессивное заболевание, связанное с нарушением синтеза нуклеиновых кислот и дефицитом пиримидина. Гибель гомозиготных эмбрионов, как правило, после первых 40 дней беременности. Животные-носители фенотипически нормальные, однако, активность уридинмонофосфатсинтетазы составляет половину от нормальной. Кроме того, в период лактации у носителей регистрируют повышенный уровень оротовой кислоты в молоке и моче; для носителей также характерны более длительные межотельные периоды. Распространенность: <0.01%.

*Цитруллемия (CIT).* Обусловлена однонуклеотидной заменой в гене ASS хромосомы 11. Моногенное летальное аутосомно-рецессивное заболевание, связанное с нарушением обмена веществ. Из-за дефицита фермента синтеза мочевины (аргининсукцинат синтетазы) возникает накопление аммиака в организме. Сразу после рождения больные (гомозиготные по мутантному аллелю) телята выглядят фенотипически нормальными. Со второго дня жизни начинают плохо есть, болезнь быстро прогрессирует: телята бесцельно блуждают, развивается неустойчивая походка, судороги, погибают в течение первых 7 дней. При вскрытии наблюдается нарушения в тканях мозга. Клинические признаки такие же, как при отравлении аммиаком. Распространенность: от 0,16% до 0,5%

*Дефицит фактора свертывания крови XI.* Генетический признак обусловлен нарушением синтеза фактора свертывания крови XI. У животных отмечается увеличенное время свертывания крови, присутствие крови в молоке, анемия, нарушение репродуктивных функций и повышенная восприимчивость к инфекционным заболеваниям.

*Дефицит адгезии лейкоцитов (BLAD).* Обусловлен однонуклеотидной заменой в гене ITGB2 хромосомы 1. Это моногенное летальное аутосомно-рецессивное заболевание иммунной системы. Больные животные умирают по причине иммунодефицита (неспособность лейкоцитов перейти из кровотока в пораженной ткани). Эта неспособность обусловлена отсутствием мембранного гликопротеина – лейкоцитарного интегрина ( $\beta 2$ -субъединица). Больные животные характеризуются тяжелыми рецидивирующими бактериальными инфекциями слизистых оболочек, таких как пневмония, язвенный и гранулематозный стоматит, энтерит, периодонтит, потеря зубов, задержка заживления ран, нейтрофилез, дерматофития, папилломатоз. Животные с BLAD-синдромом, часто не установленным, умирают до года из-за инфекций. Распространенность: от 0,22% до 0,4%.

*Брахиспинальный синдром (BHS).* Вызван протяженной делецией в гене FANCI хромосомы 21. Это моногенное летальное аутосомно-рецессивное заболевание опорно-двигательного аппарата. Гомозиготные по мутантному аллелю эмбрионы в большинстве случаев погибают в первые 40 дней беременности, что приводит к увеличению сервис-периода у коров. Очень редко возможно рождение мёртвых телят с различными физическими отклонениями (укорочение позвоночного столба, трубчатые кости конечностей удлиненные и истонченные, аномалии черепа, малая масса тела, неправильно сформированные внутренние органы и др.). Рецессивные гомозиготные носители данной мутации не выживают. Встречается у черно-пестрой, голштинской, фризской пород от 7,4% до 12%.

*Комплексный порок позвоночника (CVM).* Обусловлен однонуклеотидной заменой в гене SLC35A3 хромосомы 3. Это моногенное летальное аутосомно-рецессивное заболевание опорно-двигательного аппарата. Проявляется абортами, рождением недоношенных, мертворожденных телят с различными патологиями: аномалии развития позвоночного столба (укорочение шейного и грудного отдела), контрактуры конечностей, деформации костей и

суставов, врожденные патологии сердечно-сосудистой системы и др. Диагноз SVM часто затруднен из-за значительной клинической неоднородности у пораженных телят. Распространенность: не более 1%, до 23% в некоторых популяциях.

*Гаплотипы фертильности голштинов (НН).* Летальный гаплотип НН1 обусловлен мутацией в гене ARAF1, который кодирует белок, необходимый для формирования эмбриона. Мутация приводит к синтезу функционально неактивного белка. Гаплотип расположен в хромосоме 5 (Ковалюк Н.В., Волченко А.Е., Якушева Л.И., и др., 2022).

Летальный гаплотип НН3 обусловлен мутацией в гене SMC2, кодирующем белок, который участвует в спирализации хромосом и репарации ДНК. Гаплотип расположен в хромосоме 8. Характеризуется абортами в течение первых двух месяцев стельности.

Летальный гаплотип НН4 обусловлен мутацией в гене GART, расположенном в хромосоме 1. Характеризуется абортами в течение первого месяца стельности. Мутация приводит к синтезу нефункционального фермента.

Обозначения гаплотипов и наиболее распространенные быки-носители приведены в таблице 6.2.

Таблица 6.2.

#### Гаплотипы фертильности голштинов

Наименование	Наиболее распространенные быки-носители	Частота встречаемости, %	Проявление
<b>НН1</b>	Chief, Mark, Lindy, Formation, Finley, Throne, Jordan-Red, Palemо	4,5	Аборт на любом сроке беременности
<b>НН2</b>	Outside, Boulet Charles, Colby, Million, Mr Burns	4,6	Аборт до 100 дня беременности
<b>НН3</b>	Glendell, Rotate, Emory, O Man, Boss Iron, Snowman	4,7	Аборт до 60 дня беременности
<b>НН4</b>	Besne Buck, Jocko Besne	0,7	Аборт, сроки недостаточно изучены
<b>НН5</b>	Thornlea Texal Supreme, Shottle	4,8	Аборт до 60 дня беременности
<b>НН6</b>	Mountain, Chairman, Gray View Skyliner	Менее 1,0	Может приводить к потере эмбрионов

<b>HCD</b>	Maughlin Storm, Stormatic, September Storm, Goldwyn	11,0	Дефицит холестерина у телят
------------	--	------	--------------------------------

В настоящее время в каталогах быков-производителей молочных пород в обязательном порядке указываются их генотипы. Это позволяет хозяйствам, приобретающим семя этих быков, убедиться, что животные свободны от генетических мутаций и при этом являются носителями желательных аллелей признаков молочной продуктивности.

В каталогах применяют следующие сокращения: Pp – гетерозиготный носитель по гену комолости; PP – гомозиготный носитель по гену комолости. CVF (F – Free) – животное свободно от CVM (комплексный порок позвоночника). Носители обозначаются CVC (C – Carrier, носитель). BYF – животное свободно от BY (брахиспина). Носитель обозначается BYC. BLF – животное свободно от BLAD (дефицит адгезии лейкоцитов). Носитель обозначается BLC. MFF – животное свободно от Mulefoot (мульего копыта). Носитель обозначается MFC. DPF – животное свободно от DUMPS (дефицит синтеза уридинмонофосфатазы). CDF – животное свободно от HCD (дефицит синтеза холестерина). Носитель обозначается CDC.

Для обозначения гаплотипов фертильности используется система кодирования: к названию гаплотипа в конце прибавляется буква «F» (Free, свободен), либо «C» (Carrier, носитель). Например, HH1F – животное свободно от гаплотипа HH1, HH1C животное является носителем гаплотипа HH1. Или можно встретить HHF, что означает, что животное свободно от HH1, HH2, HH3, HH4, HH5 голштинского скота в гомозиготном состоянии, снижающих фертильность.

Также в каталогах встречаются другие обозначения: например, «Альта Дженетикс», или компания «Мой ген», указывают генотипы так, как это приведено в таблице 6.3.

**Генетические заболевания крупного рогатого скота**

Ген	Не носитель	Носитель
CVM (комплексный порок развития позвоночника)	TV	CV
BLAD (нарушение адгезии лейкоцитов)	TL	BL
BY (Брахиспина)	TY	BY
DUMPS (дефицит уридинмонофосфат синтазы)	TD	DP
Mullefoot (мулье копыто)	TM	MF
HCD (дефицит холестерина)	TC	CD

В мясном скотоводстве показателен опыт американской и канадской ассоциаций «Ангус», которыми введено генетическое тестирование по таким признакам как, двойная мускулатура (double muscling, DM), карликовость (dwarfism, DW), дупликация развития (developmental duplication, DD), гетерохромия радужной оболочки/глазно-кожная гипопигментация (heterochromia irides/oculocutaneous hypopigmentation, HI/OH), гипотрихоз (hypotrichosis, HY), протопорфирия (protoporphyrin, PR), легочная гипоплазия (pulmonary hypoplasia, PH), синдактилия (syndactyly, SN), большеберцовая гемимелия (tibial hemimelia, TH). Рекомендуется исследование на присутствие нежелательных аллелей в таких генах, как множественный артрогрипоз (arthrogryposis multiplex, AM), нейропатическая гидроцефалия (neuropathic hydrocephalous, NH), остеопетроз (osteopetrosis, OS), контрактная арахнодактилия (contractural arachnodactyly, CA), маннозидоз (mannosidosis, MA).

Наряду с генетическим тестированием животных ветеринарные врачи и селекционеры должны выполнять следующие мероприятия для повышения устойчивости животных к болезням и повышения продуктивности:

1. Организовать диагностику болезней. Все данные о болезнях и причинах выбытия животных должны учитываться в племенных карточках, в каталогах производителей и государственных книгах племенных животных. При этом учитываются и описываются все аномалии.

2. Проводить генеалогический анализ стада и давать комплексную оценку генофонда семейств. Выявлять семейства, устойчивые и восприимчивые к болезням. Необходимо размножать резистентные и высокопродуктивные семейства (особенно с комплексной устойчивостью).

3. Постоянно оценивать производителей по устойчивости и восприимчивости потомства к болезням. Широко использовать производителей с комплексной резистентностью к болезням. Результаты оценки производителей вносить в каталоги и государственные книги племенных животных.

4. Применять трансплантацию эмбрионов как один из методов повышения эффективности селекции на устойчивость к болезням. Животные-доноры должны происходить из семейств с комплексной резистентностью. Наряду с продуктивностью крепкое здоровье должно быть одним из показателей при отборе доноров для трансплантации.

5. Применять межвидовое и межпородное скрещивание с использованием животных, устойчивых к определенным заболеваниям.

6. Использовать методы биотехнологии, в том числе генетической и клеточной инженерии, что позволит успешно проводить селекцию на устойчивость к болезням, стрессоустойчивость и длительность продуктивного использования животных.

### ***6.2.3 Международные проекты по изучению геномов сельскохозяйственных животных***

Прогресс технологий секвенирования и генотипирования сделал возможным проведение полногеномных ассоциативных исследований (genome-wide association study, GWAS) для выявления новых однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs), связанных с экономически важными признаками животных.

Также результаты исследований вносятся в базы генетических данных, например, NCBI. В настоящее время список секвенированных геномов живых организмов в базе NCBI GenBank представлен для эукариот 9184 объектами; прокариот – 209746 объектами; вирусов – 32428 объектами; плазмид – 18162 объектами; органелл – 14566 объектами.

В базе данных NCBI для генетических исследований большой интерес представляет информационный ресурс AnimalQTLdb, который был разработан для размещения общедоступных данных количественных локусов признаков (QTL) для крупного рогатого скота, кур и свиней, чтобы предоставить инструменты для согласования различных характеристик генома с QTL и для сравнения результатов QTL. В сочетании с AnimalQTLdb сравнение QTL между видами стало возможным благодаря виртуальной сравнительной карте (Vcmap), инструменту, совместно разработанному Университетом штата Айова, Медицинским колледжем штата Висконсин и Университетом Айовы (<http://www.animalgenome.org/Vcmap>). Эти усилия позволили мировому сообществу получать и анализировать данные QTL. За последние несколько лет достигнут значительный прогресс. База данных была расширена, в нее были включены еще два вида: овцы и радужная форель.

Также огромное значение для применения данных о геномах животных в селекционных программах имеют международные проекты.

*Международный проект по изучению генома крупного рогатого скота.* Геном коровы герефордской породы был секвенирован Консорциумом по секвенированию и анализу генома крупного рогатого скота (Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium (BGSAC)), группой исследователей во главе с Национальными институтами здравоохранения (National Institutes of Health) и Министерством сельского хозяйства США (U.S. Department of Agriculture) в 2009 году. Это один из самых крупных из когда-либо секвенированных геномов.



Результаты, опубликованные в журнале Science 24 апреля 2009 года, до сих пор оказывают существенное влияние на животноводство. Они были получены благодаря объединенным усилиям более чем 300 ученых из 25 стран мира и работе, продолжавшейся шесть лет. Размер генома коровы составляет около 3 Гб (3 миллиарда пар оснований), он содержит приблизительно 22 000 генов, из которых 14 000 являются общими для всех видов млекопитающих.

Дальнейшие исследования и уточнения, а также работа с полученными данными потребовали разработки специальной базы данных с разветвленной системой запросов, в которой бы хранилась и структурировалась информация о геноме коров. Таким решением стала база данных Bovine Genome Database (BGD), разработанная в 2010 году коллективом авторов из США.

*Международный проект по изучению генома овцы.* В 2014 году в журнале Science была опубликована статья, посвященная результатам секвенирования генома овцы. Этой публикации предшествовали восемь лет кропотливой работы, в которой участвовали ученые из 26 институтов, расположенных в 8 странах мира (CSIRO Livestock Industries, AgResearch, Utah State University, BGI-Shenzhen, The Roslin Institute, HGSC – BCM, INRA Toulouse). Ученые из CSIRO (Государственное объединение научных и прикладных исследований Австралии – Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation) возглавляли коллектив исследователей, задачей которого было секвенировать геном овцы с целью поиска более эффективных стратегий разведения и разработки новых подходов к содержанию овец в Австралии и по всему миру.

С помощью технологий Illumina были секвенированы геномы овец породы Texel – сборка v1.0. Затем для ее уточнения и заполнения обнаруженных пробелов, был расшифрован геном барана этой же породы. Размер овечьего генома составляет около 2,7 миллиарда пар оснований, расположенных на 26 парах аутосом и паре половых хромосом.

На сегодняшний день разработана уже четвертая версия сборки генома овцы Oar\_rambouillet\_v1.0, датированная февралем 2017 года. Каждая последующая сборка позволяет устранить неточности и заполнить пробелы в предыдущей. Однако в качестве референсной до сих пор используется сборка Oar\_v3.1 (GCA\_000298735.1).

*Международный консорциум по геномике овец (International Sheep Genomics Consortium – ISGC)*. ISGC была создана при участии Meat&Livestock Australia и Australian Wool Innovation Limited, а также 11 австралийских и новозеландских исследовательских организаций. Австралия и Новая Зеландия стали инициаторами создания консорциума по исследованию генома овец, на долю этих стран приходится 70% от общего объема экспорта баранины в мире.

Целью ISGC является разработка ресурсов для международного научного сообщества, занимающегося геномикой овец, что позволит снизить временные и финансовые затраты. Первоначальной задачей было создание виртуального генома овец. Для этого использовались технологии WGS, Roche 454 FLX и секвенирование с помощью технологий Illumina.

Эта стратегия позволила создать 50К SNP чип для овец. Затем чип SNP использовался для создания карты гаплотипов низкого разрешения с использованием образцов, полученных от представителей разных пород. Чип 50k SNP доступен для использования исследовательскими группами для выявления маркеров, связанных с такими важными признаками, как устойчивость к болезням, а также улучшение мясных, молочных и шерстных показателей.

*База данных «Sheep Genomes Database» (SGD)* была создана благодаря финансовой поддержке Министерства сельского хозяйства США (USDA AFRI). Создание базы было инициировано Международным консорциумом по овцеводству (International Sheep Genomics Consortium) (рис. 7). База постоянно расширяется, благодаря интеграции достижений по уточнению референсной

сборки генома овец v3.1, и позволяет сообществу исследователей иметь обновленные данные в области геномики овец.

База содержит SNP, CNV и инсерции/делеции, расположенные на референсной сборке генома версии 3.1. Важно отметить, что в SGD осуществляется поиск вариантов по расположению на хромосоме, по результатам аннотирования SNP или по породам, представляющим интерес. Существует возможность пополнения базы данных.

*Международный консорциум по геномике коз (The International Goat Genome Consortium – IGGC).* Полное секвенирование генома козы стало результатом широкомасштабной работы Международного консорциума по изучению генома козы (The International Goat Genome Consortium, IGGC; <http://www.goatgenome.org>). В рамках проекта AdaptMap было генотипировано 4653 животных из 148 популяций 35 стран пяти континентов. Разработанный вариант SNP-панели основывался на анализе различий по двенадцати миллионам вариантов SNP, выявленных в геномах коз пород зааненская, альпийская, креольская, бурская, какангжанская и саванская. Дальнейшая валидация распределения SNP была проведена на десяти других породах коз. В результате было отобрано 52295 SNP, которые были успешно использованы для производства чипа 52K SNP BeadChipGoat (Illumina Inc., США).

*Международный проект по изучению генома свиньи.* В 2003 году был создан консорциум по исследованию генома свиньи, а также начат глобальный проект по его секвенированию (SGSC) (<http://www.piggenome.org/>). Стратегия SGSC была основана на секвенировании по Сэнгеру, позднее была дополнена данными NGS секвенирования, реализованного Illumina. Результатом этих усилий стала сборка и публикация проекта последовательности генома *Sus Scrofa* в 2012 году. В дополнение к этой эталонной последовательности генома, которая была получена от самки свиньи дюрок, SGSC описаны геномы еще 48 свиней различных пород и диких кабанов. Одновременно с этим была опубликована независимая сборка генома китайской мини-свиньи Wuzhishan,

основанная на технологии секвенирования Illumina. За ней последовали дополнительные сборки de novo генотипов мини-свиньи Göttingen и тибетского дикого кабана в 2013 году. С тех пор геномы сотен отдельных свиней были повторно секвенированы для изучения вариаций, эволюции генома у этого вида, и в настоящее время доступно около 350 полных геномов.

*База данных PigVar.* Статистические тесты различных эволюционных признаков SNP можно проводить с использованием <http://www.ibiomedical.net/pigvar/>), который является веб-ресурсом открытого доступа. PigVar содержит информацию о породе, географические местоположения выборки, параметры SNP, включая сводные списки местоположений вариаций в генах, кодирующих белок, и длинных межгенных некодирующих РНК (lincRNA). База данных PigVar поддерживается и постоянно обновляется, с ее помощью пользователи могут искать информацию о конкретных SNP, включая местоположение в генах, кодирующих белки или lincRNA, синонимические или несинонимические замены, а также связанные с ними положительные оценки отбора.

В настоящее время различными международными консорциумами расшифрованы геномы 200 видов животных.