

4. Определитель бактерий Берджи /Под. ред. Дж.Хоулта, Н.Крига, П.Снита, Дж.Стейли, С.Уилльямса.-М.:Мир.-1997. –Т.1.-С.185.
5. *Разин С.В.* Хроматин и регуляция транскрипции // Молекулярная биология. - 2007.-Т.41, №3.-С.387-394.
6. *Murphy D.B., Pembroke J.T.* Transfer of the IncJ plasmid R391 to recombination deficient *E.coli* K12: evidence that R391 behaves as a conjugal transposon // FEMS Microbiology Letters. -1995. -vol.134. - P.153-158.
7. *Маниатис Т.,Фрич Э., Сэмбрук Дж.* Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. - М.:Мир. -1984.-С.84.
8. *Иванова Э.А., Вафина Г.Х.* Способ выделения растительных клеточных ядер // Пат. РФ №1701747.-Бюл.изобр. -1991. №48.
9. *Иванова Э.А., Вафина Г.Х.* Способ получения ядерных фракций, обладающих протеиназной и ингибирующей активностью // Пат. РФ №1733471.-Бюл.изобр. - 1992. №18.
10. *Збарский И.Б.* Организация клеточного ядра. –М.: Медицина. -1988. –С.24.
11. *Збарский И.Б., Кузьмина С.Н.* Скелетные структуры клеточного ядра. –М.: Наука. -1991. -С.30-39.
12. *Караванов А.А., Афанасьев Б.Н.* Негистоновые белки хроматина // Молекулярная биология. -1983.-Т.47, №2.-С.213-233.
13. *Свердлов Е.Д.* Биологический редуционизм уходит? Что дальше? // Вестник РАН. -2006. -Т.76, №8. –С.707-721.
14. *Волькенштейн М.В.* Биополимеры и эволюция // Молекулярная биология. -1985.- Т.19, №1.-С.55-66.
15. *Газиев А.И., Фоменко Л.А., Закржевская Д.Т., Сигаева В.А.* Прочно связанные с ДНК белки в составе нуклеоида *E.coli* // Биохимия. -1985.-Т.50, №5.-С.814-819.
16. *Хмель И.А.* Регуляция экспрессии бактериальных генов в отсутствие активного роста клеток // Генетика. -2005.-Т.41, №9.-С.1183-1202.

Резюме

Показано, что молекулярный механизм *Arg-X* протеолиза функционирует в протеоме генома эу-, так и прокариотов.

Molecular mechanism of *Arg-X* proteolysis acts in the proteom of genome as eu- as prokaryotes is shown.

КАМЫШ Н.А., МИХАЙЛОВА М.Е., ВОЛЧОК Н.М., БЕЛАЯ Е.В.

*ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»,
Республика Беларусь, 220027, г. Минск, ул. Академическая, 27,
e-mail: L.Belaya@igc.bas-net.by*

ДНК-ТИПИРОВАНИЕ БЕЛОРУССКИХ ПОПУЛЯЦИЙ СВИНЕЙ ПО ГЕНУ H- ФАВР, ДЕТЕРМИНИРУЮЩЕМУ СОДЕРЖАНИЕ ВНУТРИМЫШЕЧНОГО ЖИРА

С развитием молекулярной генетики становится возможным идентификация генов, напрямую или косвенно связанных с хозяйственно-полезными признаками. Выявление предпочтительных с точки зрения селекции вариантов таких генов (маркер-сопутствующая селекция) позволяет наряду с традиционным отбором животных, например, по толщине шпика, приросту живой массы и т.п., проводить селекцию непосредственно на уровне ДНК, т.е. по генотипу. В настоящее время известен спектр генов-кандидатов, полиморфные варианты которых оказывают прямое или косвенное

влияние на развитие признаков продуктивности у свиней. Одним из таких генов является ген FABP–маркер содержания внутримышечного жира [1].

FABP – fatty acid-binding proteins – мультигенное семейство белков, связывающих жирные кислоты. В настоящий момент известны 8 разновидностей комплекса FABP, выявленные в тканях печени (L), сердца и мышцах (H), жировых клетках (A), эпидермиса (E), мозга (B), миелина (M), кишечника (I), семенников (T) [8]. Гены данного семейства активно изучаются у человека как факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний и у свиней, как факторы качества мясной продукции. H-FABP, экспрессирующийся в сердце и скелетных мышцах, отвечает за внутриклеточный транспорт жирных кислот, играет одну из ключевых ролей в липидном обмене и считается основным претендентом в маркеры качества мяса.

Потребителей прежде всего интересует питательная ценность мясной продукции и ее качественные показатели. Присутствие жировых прожилок в постном мясе (так называемое «мраморное мясо») дает возможность получить изысканный букет готового мясного продукта в сочетании с нежными вкусовыми качествами и сочностью мяса [9]. Поэтому такие гены как Adipocyte-FABP (A-FABP) и Heart-FABP (H-FABP) изучаются как гены-кандидаты, оказывающие основное влияние на отложение внутримышечного жира у свиней. На сегодняшний день, в гене H-FABP известно, по крайней мере, 3 сайта полиморфизма, которые легко детектируются с помощью исследования ПДРФ спектров, которые получаются после обработки соответствующей рестриктазой (HinfI – выявляет так называемый H-полиморфизм, HaeIII – D-полиморфизм, MspI – A-полиморфизм). Все мутации являются молчащими [4,5].

Наиболее стабильно и эффективно проявляются аллельные варианты H-полиморфного участка гена H-FABP, поэтому популяционно-генетические исследования с его использованием являются весьма популярными. Полиморфизм A-типа встречается крайне редко, эффекты различных аллелей изучены недостаточно [6,7].

Была поставлена цель охарактеризовать популяции свиней по аллельным вариантам гена H-FABP следующих мясных пород: ландрас, дюрок, крупная белая, эстонская беконная, белорусская черно-пестрая.

Материалы и методы

Объектом исследования являются выборки животных свиноводческих комплексов РУСПП «Борисовский» Минской области, «Северный» Витебской области, КУСП «Заря» Гомельской области.

ДНК из отщипов ушных раковин животных выделяли методом солевой экстракции. ДНК-диагностика животных по D- и H- полиморфизму гена H-FABP проводили методом амплификации с дальнейшим анализом полиморфизма длин рестриктных фрагментов [4,8].

Для амплификации гена H-FABP (D-система) использовали праймеры:

1:FABP3: ATTCAGCTACTCAGCTGTTTCC

2:FABP4: AACAACTCTCAGGAATGGGAG

Основными компонентами реакционной смеси являются: Трис-НСl, КCl, MgCl₂, смесь нуклеотидтрифосфатов (АТФ, ГТФ, ЦТФ, ТТФ), праймеры, препарат анализируемой ДНК, термостабильная ДНК-полимераза. Каждый из компонентов реакционной смеси непосредственно участвует в полимеразной цепной реакции, а концентрация реагентов напрямую влияет на ход амплификации [3].

Рестрикция проводилась с использованием рестриктазы Hae III. Продукты рестрикции разделяли в 2% агарозном геле. Результаты генотипирования по D-системе гена H-FABP хорошо видны на электрофореграмме (Рис. 1).

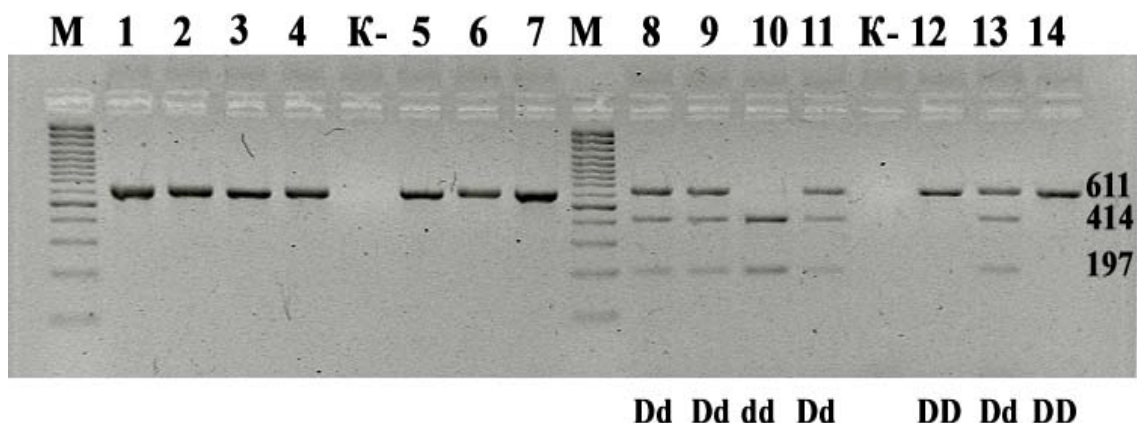


Рис.1 Электрофореграмма ПЦР-ПДРФ анализа D-полиморфизма гена H-FABP
Условные обозначения:

М – маркер 100bp DNA Ladder Plus; К- - отрицательный контроль;
дорожки 1-7 – амплифицированные фрагменты ДНК; 8-14 — рестриктные фрагменты;
dd и Dd – предпочтительные генотипы с низким содержанием внутримышечного жира

Для выявления полиморфизма H-системы гена H-FABP использовали следующие праймеры:

FABP1: 5' – AAG AGG ACC AAG ATG CCT ACG - 3'

FABP2: 5'- TGC TGT CCA CTA GCT TCC AGG - 3'

Рестрикция проводилась с использованием рестриктазы HinfI. Генотипирование особей по H-системе гена H-FABP представлено на электрофореграмме (Рис.2).

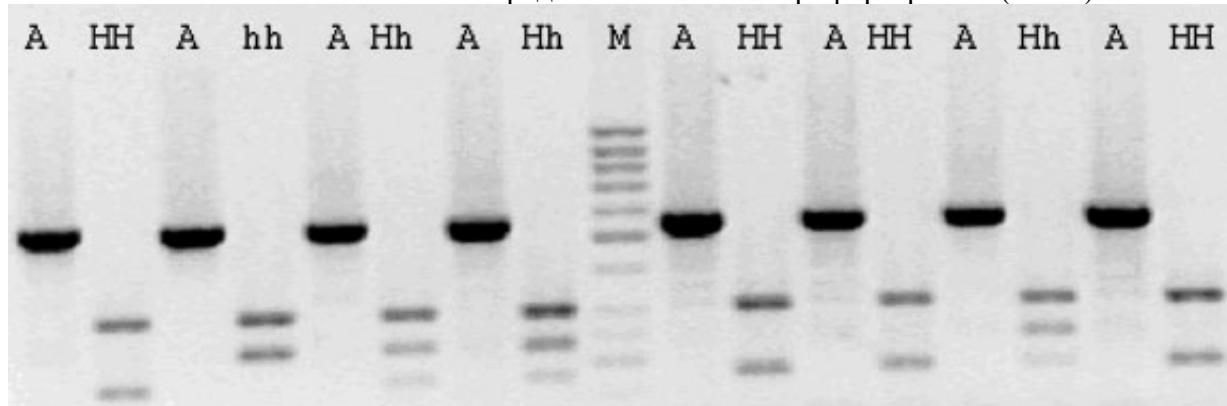


Рис. 2 Электрофореграмма ПЦР-ПДРФ анализа H-полиморфизма гена H-FABP
Условные обозначения: А - амплифицированные фрагменты ДНК; HH, Hh, hh -
генотипы животных

HH– предпочтительный генотип с низким содержанием внутримышечного жира

Результаты исследований ДНК-диагностики животных по D- и H- полиморфизму гена H-FABP в КУСП «Заря» представлены в таблицах 1,2

Таблица 1

Частота генотипов и аллелей по гену, детерминирующему содержание
внутримышечного жира (D-полиморфизм локуса H-FABP)

Порода	Кол-во про-анализ-ных особей	Частота генотипов локуса H-FABP, %			Частота аллелей локуса H-FABP	
		DD	Dd	dd	D	d
Крупная белая	54	14,8	63,0	22,2	0,46	0,54
Белорусская	39	20,5	33,3	46,1	0,38	0,62

мясная						
Эстонская беконная	35	28,6	34,3	37,1	0,45	0,55
Немецкий ландрас	28	25,0	42,9	32,1	0,46	0,54
Дюрок	44	12,5	54,2	33,3	0,39	0,61
Белорусская черно-пестрая	12	25,0	50,0	25,0	0,5	0,5

Таблица 2

Частота генотипов и аллелей по локусу, детерминирующему содержание внутримышечного жира (Н-полиморфизм локуса Н-FABP)

Порода	Количество проанализированных особей	Частота генотипов локуса Н-FABP, Н-система, %			Частота аллелей локуса Н-FABP Н-система	
		НН	Нh	hh	Н	h
Дюрок	29	58,6	34,5	6,9	0,76	0,24

По нашим данным, частота предпочтительных генотипов, детерминирующих содержание внутримышечного жира составляет 58,6 % по Н-системе и 34,5 % по D-системе гена Н-FABP. Частота более ценных Н-аллеля и d-аллеля составляет 0,76 и 0,55 соответственно. Следует отметить, что такие породы, как белорусская мясная и дюрок, имеют наибольшую частоту предпочтительного d-аллеля, дающего лучшие показатели содержания внутримышечного жира (0,62 и 0,61 соответственно).

Уменьшение толщины шпика у герозиготных животных по сравнению с особями, несущими гомозиготный генотип DD, составляло в зависимости от точки измерения от 5,9 до 13%, а у свиней с генотипом dd — от 4,4 до 9,9%. Тенденция пониженной жирности свиней с генотипом dd и Dd по сравнению с генотипом DD сохранялась и по показателю содержания внутреннего жира: уменьшение этого показателя составляло -10 и -13% соответственно.

Выявленная тенденция пониженной жирности туш свиней с генотипом Dd и dd по сравнению с генотипом DD сохранялась и при исследовании содержания сала в туше после обвалки. Процентное содержание сала в тушах свиней с генотипами Dd и dd по сравнению с животными с генотипом DD была ниже, соответственно на 8,9 и 11,5% при увеличении доли мяса соответственно на 7,0 и 10,9%. По процентному содержанию костей существенных различий между группами выявлено не было.

Выводы

Использование ДНК-диагностики в селекции свиней позволяет осуществлять направленное разведение предпочтительных генотипов, что дает возможность ускорить селекцию свиней на воспроизводительные, откормочные и мясные качества. ДНК-типирование в раннем возрасте племенных животных и ремонтного молодняка по гену Н-FABP, контролирующему содержание внутримышечного жира, способствует увеличению мясной продуктивности свиней. Данные, полученные в результате предлагаемого нами скрининга, станут основой для племенной работы на некоторых свиноводческих комплексах Беларуси, т.к. это позволит целенаправленно вести скрещивание животных в промышленных масштабах, дающее либо постное диетическое мясо, либо деликатесное, т. н. «мраморное» мясо с высоким содержанием жира. Побочным результатом работы является создание банка ДНК свиней различных пород, что позволит проводить масштабные популяционно- и эволюционно-генетические исследования, направленные на интенсификацию племенного процесса в отечественном животноводстве и повышение его эффективности до уровня развитых европейских стран.

Литература

1. Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А. Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных.- Материалы международной научной конференции. –Дубровицы-2002. -С.44-55.
2. Лобан Н.А. Использование методов ДНК-технологий в селекции свиней - Мат. Межд. науч. конф. «Соврем. дост. и проблемы биотех. с.-х. животных». –Дубровицы.-2002.- С.148-150.
3. Арсиенко Р.Ю., Гладырь Е.А. - Мат. Межд. науч. конф. «Соврем. дост. и проблемы биотех. с.-х. животных».- Дубровицы. -2002.- С.94-96.
4. Urban T., Mikolášová R. et al. A study of associations of the H-FABP genotypes with fat and meat production of pigs. // J. Appl. Genet. 43(4)- 2002.-P. 505-509
5. Gerbts F., Veerkamp J.H., E.van Stenderbergen Fatty acid-Binding proteins: their role in intramuscular fat deposition in pigs 18 // Animal genetics.- 2004.- vol.11. -P.1124-1126.
6. Yang G.S. Pang W.J, Sun S.D, Li Y, Chen G.D. Relationship Between Molecular Marker of Western Main Pig H-FABP Gene and IMF Content //Yi Chuan.- 2005, May; 27(3)-P. 351-356.
7. Шейко И.П., Лобан Н.А, Василюк О.Я. Разработка методов молекулярной генной диагностики и их использование в свиноводстве Беларуси. - Весці НАНБ, Серыя аграрных навук, -2005. - №1. -С.62-65.
8. Михайлова М.Е. ДНК-технологии в животноводстве. - Наука и инновации.-2007.- №1(47).-С.32-36.

Резюме.

Использование ДНК-типирования позволяет ускорить племенную оценку по мясной продуктивности свиней. Аллельные варианты гена H-FABP оказывают значительное влияние на ряд хозяйственно-ценных признаков. Показана ассоциация аллельных вариантов ddHH и DdHH гена H-FABP с такими показателями как толщина «мышечного глазка», шпика и приростом живой массы.

Використання ДНК типування дозволяє прискорити племінну оцінку по м'ясній продуктивності свиней. Алельні варіанти гена H-FABP виявляють значний вплив на ряд господарсько-цінних ознак. Представлена асоціація алельних варіантів ddHH і DdHH гена H-FABP з такими показниками як товщина «мязового волокна», шпигу і приростом живої маси.

Application of DNA-typing intensifies breed assessment for meat productivity of pigs. Allelic variants of the H-FABP gene exhibiting have a great influence on a number of economically variable traits. Association of the allelic variants ddHH and DdHH of the H-FABP gene with such parameters as eye muscle area, thickness of fat and liveweight gain is shown.

КАРПОВ П.А., ЕМЕЦ А.И., БЛЮМ Я.Б.

*Институт клеточной биологии и генетической инженерии,
ул. акад. Заболотного, 148, Киев-143, 03680, Украина, e-mail: karpov.p.a@gmail.com*

АНАЛИЗ КИНОМА *ARABIDOPSIS THALIANA* НА ОСНОВАНИИ ГОМОЛОГИИ КАТАЛИТИЧЕСКОМУ ДОМЕНУ ТИРОЗИНКИНАЗЫ *ZAR70 MUS MUSCULUS*

Обратимое фосфорилирование, катализируемое протеинкиназами и протеинфосфатазами, регулирует многие внутриклеточные процессы. В эукариотической клетке около 30% белков подвергаются фосфорилированию. Процессы фосфорилирования белков животных и человека осуществляются серин/треонин- и тирозинкиназами, имеющими общее эволюционное происхождение (Robinson et al., 2000). В отличие от животных, у растений обнаружено большое количество серин/треонин-киназ и фосфатаз, а также дуальных киназ, однако наличие специфических тирозинкиназ