

# Мировые генетические ресурсы

## Рекомендуемая литература:

### а) основная литература:

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции: учеб. для студентов вузов. - 2-е изд., доп. и перераб. - Санкт-Петербург: Изд-во Н-Л, 2010. - 720 с.

### б) дополнительная литература:

1. Генетические ресурсы сельскохозяйственных животных: редкие и исчезающие отечественные породы [Текст] / И.Г. Моисеева, И.А. Захаров, Р.С. Митичашвили. - Москва: Наука, 1992. - 136 с.
2. Этногеномика и геогеография народов Восточной Европы / С.А. Лимборская, Э.К. Хуснутдинова, Е.В. Балановская. - М.: Наука, 2002. - 260 с.
3. Сингер М., Берг П. Гены и геномы [Текст]: в 2 т. / пер. с англ. - Москва: Мир, 1998. Т.1. - 376 с., Т. 2. - 392 с.
4. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях [Текст]: учеб. пособие / отв. ред. Л.А. Животовский. - 3-е изд., перераб. и доп. - Москва : Академкнига, 2003. - 431 с.
5. Савченко В.К. Геогеномика. Организация геносферы [Электронный ресурс]: монография — Электрон. текстовые данные.— Минск: Белорусская наука, 2009.— 415 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/10067>.— ЭБС «IPRbooks», по паролю.

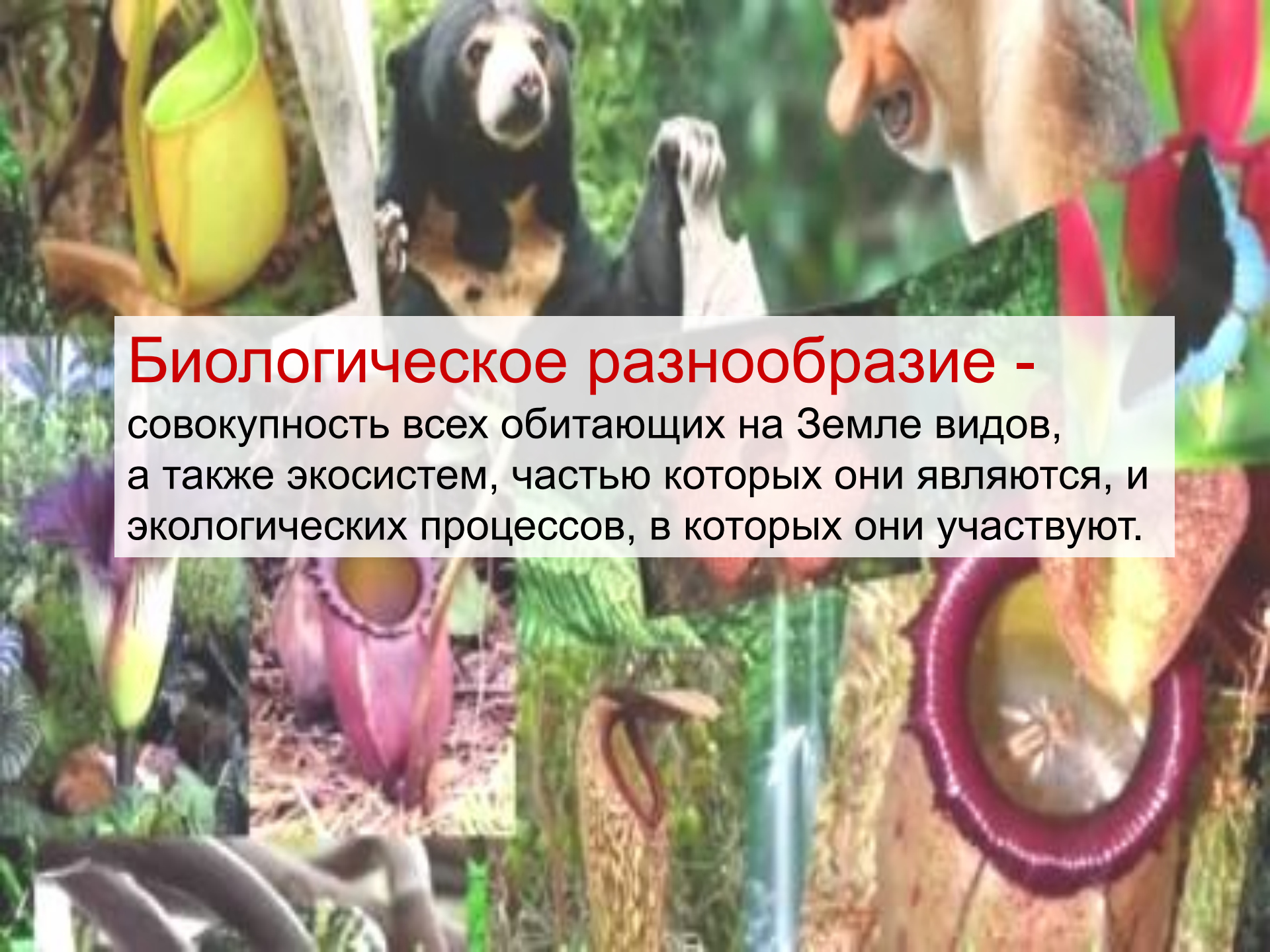
## Рекомендуемая литература (продолжение):

6. Генетические основы селекции растений. Общая генетика растений. Том 1 [Электронный ресурс]: монография/ А.В. Кильчевский [и др.].— Электрон. текстовые данные.— Минск: Белорусская наука, 2008.— 551 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/12295>.— ЭБС «IPRbooks», по паролю.
7. Генетические основы селекции растений. Том 4. Биотехнология в селекции растений. Геномика и генетическая инженерия [Электронный ресурс]/ О.Ю. Урбанович [и др.].— Электрон. текстовые данные.— Минск: Белорусская наука, 2014.— 654 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/29578>.— ЭБС «IPRbooks», по паролю.
8. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия [Электронный ресурс]: учебно-справочное пособие. — Электрон. текстовые данные.— Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2010.— 514 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/5668>.— ЭБС «IPRbooks», по паролю.
9. Игнасимуту С. Основы биоинформатики [Электронный ресурс]: учебное пособие. — Электрон. текстовые данные.— Москва, Ижевск: Регулярная и хаотическая динамика, Ижевский институт компьютерных исследований, 2007.— 324 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/16582>.— ЭБС «IPRbooks», по паролю.
10. Вавилов Н.И. Происхождение и география культурных растений [Текст] - Ленинград: Наука. Ленингр. отд-ние, 1987. - 438 с.

## Рекомендуемая литература (продолжение):

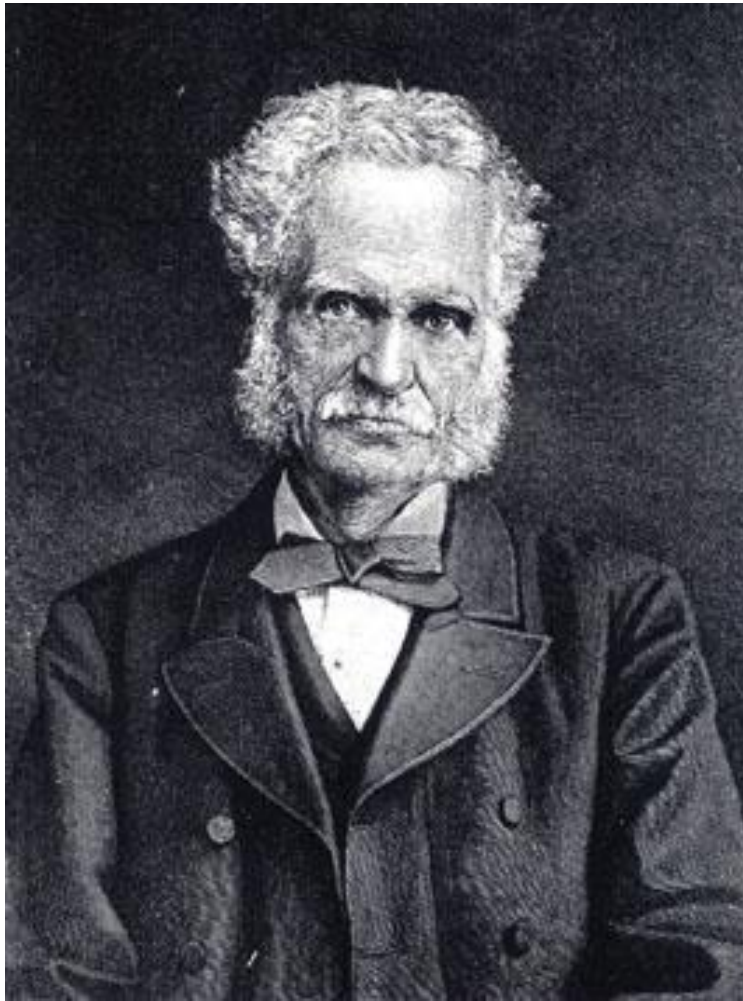
### в) справочная литература:

1. Генетические основы селекции растений. Частная генетика растений. Том 2 [Электронный ресурс]: монография/ А.В. Кильчевский [и др.].— Электрон. текстовые данные.— Минск: Белорусская наука, 2013.— 579 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/12296>.— ЭБС «IPRbooks», по паролю.
2. Генетические основы селекции растений. Том 3. Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия [Электронный ресурс]/ В.С. Анохина [и др.].— Электрон. текстовые данные.— Минск: Белорусская наука, 2012.— 490 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/29441>.— ЭБС «IPRbooks», по паролю.
3. Генофонд и геногеография народонаселения. Т.1: Генофонд населения России и сопредельных стран. СПб.: Наука, 2000.
4. Генофонд и геногеография народонаселения. Т.2: Геногеографический атлас населения России и сопредельных стран. СПб.: Наука, 2003.
5. Примроуз С.Б., Тваймен Р.М. Геномика. Роль в медицине [Текст] / пер. с англ. О. Н. Королевой; под ред. Е.Д. Свердлова, С.А. Лимборской. - Москва: БИНОМ. Лаб. знаний, 2008. - 277 с.
6. Ридли М. Геном [Текст]: автобиограф. вида в 23 гл. / пер. с англ. и ред. О.Н. Ревы. - Москва: Эксмо, 2008. - 426 с.



**Биологическое разнообразие** - совокупность всех обитающих на Земле видов, а также экосистем, частью которых они являются, и экологических процессов, в которых они участвуют.





Термин «биологическое разнообразие» впервые употреблен в **1863 г.** в популярной книге **Генри Уолтера Бейтса «Натуралист на Амазонке»** о его путешествии в Бразилию, где ему удалось описать 700 видов бабочек за 1 час

## Уровни биологического разнообразия:

### **Генетическое разнообразие**

представляет весь объем наследственно закрепленной информации, содержащейся в генах всех живых организмов, населяющих планету.

### **Видовое разнообразие**

отражает количество видов и частоту встречаемости особей разных видов на конкретных территориях.

### **Экосистемное (ландшафтное) разнообразие**

образуется совокупностью различных местообитаний биотических сообществ и экологических процессов в рамках отдельных экосистем и биосферы в целом.

# Видовое разнообразие

**5-80 млн.** видов живых организмов (по разным оценкам).  
Около **2 млн. видов** с установленной таксономической принадлежностью, включая 500 тыс. видов растений и 1,5 млн. видов животных. Описаны:

**750 тыс.** видов насекомых (самый многочисленный класс);

**30 тыс.** видов паукообразных;

**8,6 тыс.** видов птиц;

**6 тыс.** видов млекопитающих;

**5,5 тыс.** видов пресмыкающихся.

Предполагается существование:

**1 млн.** видов микроорганизмов;

**1 млн.** видов нематод;

**10 млн.** видов насекомых;

**10 млн.** видов грибов.

Особенно плохо изучены **влажные тропики**, где, как полагают, описан только **1 из 20** обитающих видов (особенно среди насекомых, грибов, а также почвенной фауны).



**Биоценоз** – совокупность популяций биологических видов, принимающих участие в формировании и функционировании данной экосистемы.

Видовое разнообразие биоценоза в каждый момент времени определяется числом видов (**видовой насыщенностью**), которая измеряется суммой входящих в него популяций и их количественными характеристиками.

Богатство (бедность) видового состава определяется **абсолютным или относительным числом видов**.

В **бедных** видами биоценозах содержатся **десятки и сотни видов** растений и животных; в **богатых** – **несколько тысяч и более видов**.

Видовое разнообразие биоценозов связано с **разнообразием сред обитания** и зависит от **возраста сообщества**: молодые сообщества гораздо беднее по видовому составу по сравнению со зрелыми или климаксными сообществами.

# Оценка видового разнообразия

обычно проводится по:

- ❑ соотношению между отдельными видами (доминантные, второстепенные и редкие виды);
- ❑ значениям их численности, биомассы, продуктивности;
- ❑ отношению числа видов к единице площади или объема.

## Компоненты видового разнообразия (Одум, 1986)

**видовое богатство**  
**(плотность видов)**  
общее число имеющихся  
видов

**выравненность**  
относительное обилие или другой  
показатель значимости вида  
и положение его в структуре  
доминирования

## Критерии оценки роли отдельного вида в структуре биоценоза:

- а) обилие вида** – число особей данного вида на единицу площади или объема занимаемого пространства, которое изменяется во времени и пространстве и выражается в баллах, особях или их биомассе;
- б) степень доминирования** – отношение числа особей данного вида к общему числу всех особей в рассматриваемой экологической группировке (обычно в %).
- в) частота встречаемости** – отношение числа проб или учетных площадок, где встретился вид, к общему числу проб или площадок, характеризующее равномерность распределения вида в биоценозе;
- г) постоянство вида** – отношение числа выборок, содержащих изучаемый вид к общему числу взятых выборок (в %): постоянные виды встречаются более чем в 50 % выборок, добавочные – в 25-50 % выборок, случайные – менее чем в 25 % выборок. Некоторые виды присутствуют только на определенной стадии жизненного цикла (гусеницы бабочек, головастики)

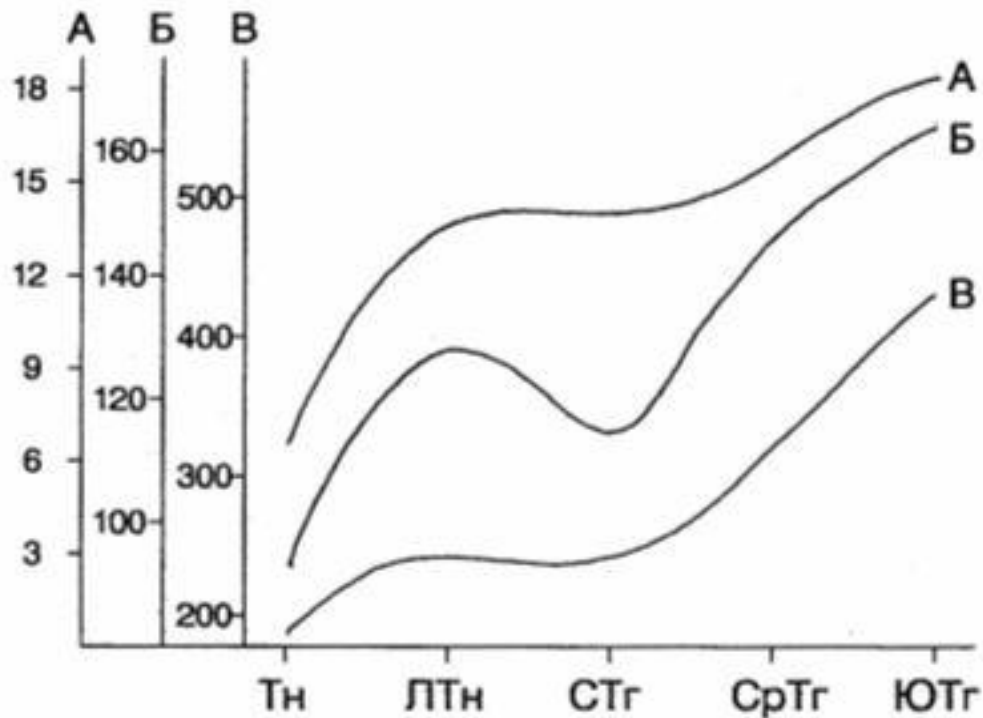
## **Правило А. Уоллеса:**

**видовое разнообразие увеличивается от полюсов к экватору.**

**Наиболее бедными по числу видов являются биоценозы арктических и антарктических пустынь, тундры, аридных экосистем на засоленных почвах (содержат единицы видов растений и животных).**

**В наземных и водных экосистемах тропического пояса общее количество видов может исчисляться десятками тысяч.**





**А** – средняя температура июля,  
**Б** – число дней с температурой выше 0°C,  
**В** – число видов.  
**Тн** - тайга,  
**ЛТн** – лесотундра,  
**СТг** – северная тайга,  
**СрТг** – средняя тайга,  
**ЮТг** – южная тайга.

**Изменение гамма-разнообразия (числа видов в конкретной флоре) и некоторых климатических показателей на градиенте С-Ю, проведенном через Средне-Сибирское плато**

Ю.К.Виноградова, С.Р.Майоров, Л.В.Хорун

## Чёрная книга флоры Средней России



В настоящее время из-за деградации природной среды, загрязнения, разрушения биоценозов биосфера ежегодно теряет 10-15 тыс. биологических видов.

По оценкам «пессимистов» один вид живых организмов исчезает с лица Земли менее чем за час, по оценкам «оптимистов» – ежедневно.



## Ценность видов: примеры обнаружения новых полезных свойств

В губке *Tethia cripta* из Карибского моря обнаружено биологически активное вещество, представляющее сильнейший **ингибитор для роста раковых клеток при лейкемии**. Другое вещество из той же губки оказалось весьма эффективным при **лечении вирусного энцефалита и других вирусных заболеваний**.

От **губок, актиний, моллюсков, морских звезд, кольчатых червей** получены новые соединения, пригодные для **лечения гипертонии и сердечно-сосудистых заболеваний**.

Многощетинковый морской червь *Lumbrinerus brevicirra* служит источником нейротоксического **инсектицида «падан»** – высокоэффективного средства для борьбы с колорадским жуком, хлопковым долгоносиком, капустной молью, в т. ч. невосприимчивыми к фосфор- и хлорорганическим соединениям.

Из бактерий вида *Thermus aquaticus*, выделенных из естественных термальных источников Америки был выделен фермент **термостабильная ДНК-полимераза**, необходимый для проведения ПЦР.

**Броненосцы** – единственные животные на Земле, болеющие **проказой**.

Планктонная водоросль *Umbilicosphera* способна **концентрировать продукты распада урана** с коэффициентом накопления в 10 000.



# Промышленное использование некоторых растительных продуктов (по Фаулеру)

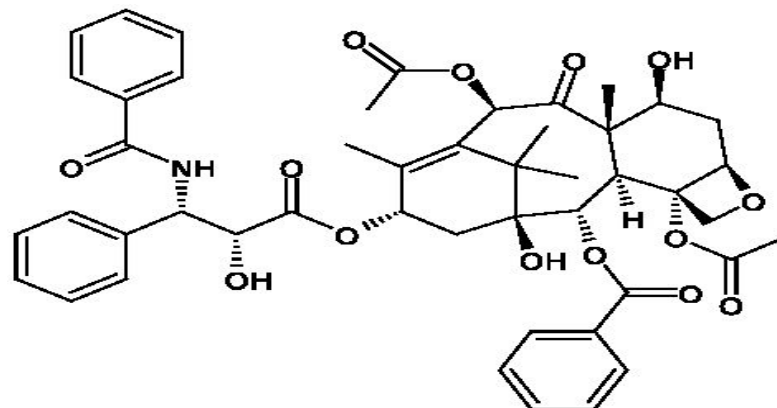
Отрасль производства	Растительный продукт	Вид растения	Использование
Фармацевтическая	Коденн (алкалоид)	<i>Papaver somniferum</i>	Болеутоляющее средство
	Диосгенин	<i>Dioscorea deltoidea</i>	Противозачаточное средство
	Хинин (алкалоид)	<i>Cinchona ledgeriana</i>	Антималарийное средство
	Дигоксин (сердечный гликозид)	<i>Digitalis lanata</i>	Препарат, тонизирующий сердечную деятельность
	Скополамин (алкалоид)	<i>Datura stramonium</i>	Понижающее давление средство
	Винкрестин (алкалоид)	<i>Catharanthus roseus</i>	Антилейкемическое средство
Химическая	Пиретрин	<i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i>	Инсектицид
Пищевая	Хинин (алкалоид)	<i>Cinchona ledgeriana</i>	Вещество, усиливающее горечь
	Тауматин (халькон)	<i>Thaumatococcus danielli</i>	Низкокалорийное вещество, заменяющее сахар
Производство косметики	Жасмин	<i>Jasminum sp.</i>	Отдушки



# Коммерческая ценность некоторых вторичных соединений

Product	Use	Plant species	Cost (US\$ per kilogram)
Ajmalicine	Antihypertensive	<i>Cath. roseus</i>	37,000
Artemisinin	Antimalarial	<i>Artemisia annua</i>	400
Ajmaline	–	<i>Ra. serpentina</i>	75,000
Acinitine	–	<i>Acotinum spp.</i>	n/a
Berberine	Intestinal ailment	<i>C. japonica</i>	3250
Camptothecin	Antitumour	<i>Camptotheca acuminata</i>	432,000
Capsaicin	Counterirritant	<i>Ca. frutescens</i>	750
Castanospermine	Glycoside inhibitor	<i>Castanospermum australe</i>	n/a
Codeine	Sedative	<i>P. somniferum</i>	17,000
Colchicine	Antitumour	<i>Colchium autumnale</i>	35,000
Digoxin	Heart stimulant	<i>Di. lanata</i>	3000
Diosgenin	Steroid precursor	<i>Dioscorea deltoidea</i>	1000
Ellipticine	Antitumour	<i>Orchrosia elliptica</i>	240,000
Emetine	–	<i>Cephaelis ipecacuanha</i>	1500
Forskolin	Bronchial asthma	<i>Coleus forskolii</i>	n/a
Ginsenosides	Health tonic	<i>Panax ginseng</i>	n/a
Morphine	Sedative	<i>P. somniferum</i>	340,000
Podophyllotoxin	Antitumour	<i>Podophyllum petalum</i>	n/a
Quinine	Antimalarial	<i>Cinchon. ledgeriana</i>	500
Sanguinarine	Antiplatelet	<i>Sanguinaria canadensis</i>	4,800
Shikonin	Antibacterial	<i>L. erythrorhizon</i>	4500
Taxol	Anticancer	<i>Taxus brevifolia</i>	600,000
Vincristine	Antileukemic	<i>Cath. roseus</i>	2,000,000
Vinblastine	Antileukemic	<i>Cath. roseus</i>	1,000,000

# Таксол



- *Тритерпеновое производное, содержится в коре тихоокеанского тиса *Taxus brevifolia* в количестве 0.001%*
- *Эффективен при подавлении раковых опухолей различного генезиса*
- *Вековое дерево содержит 300мг таксола – 1 дозу*
- *11 хиральных атомов C -  $2^{11} = 2048$  стереоизомеров*
- *Сегодня существуют суспензионные культуры, синтезирующие 200 мг таксола на 1 л жидкой культуры*
- *Клеточные культуры получены на основе -T. brevifolia*
- *- T. cuspidata*
- *-T. suspidata*

# Получение дигоксина\* из растений наперстянки (*Digitalis purpurea*)

\* Используется в терапии сердечно-сосудистых заболеваний и рака, блокируя продукцию пептида HIF-1



## Конвенция о биологическом разнообразии

Согласованный текст принят 22 мая 1992 г. на **Конференции в Найроби** (Кения).

Открыта для подписания с 5 июня 1992 г. на **Конференции ООН в Рио-де-Жанейро** (до 4 июня 1993 г.) и была подписана 168 сторонами.

Вступила в силу с 29 декабря 1993 г.

Ратифицирована в РФ 17 февраля 1995 г.

**Цели:** сохранение биоразнообразия, устойчивое использование его компонентов и совместное получение на справедливой и равной основе выгод, связанных с использованием генетических ресурсов (Ст. 1).

29 октября 2010 г. на **Конференции Сторон Конвенции в Нагое** (префектура Айти, Япония) был принят пересмотренный и обновленный *Стратегический план в области сохранения и устойчивого использования биоразнообразия* на период 2011-2020 гг.



## Стратегии сохранения биоразнообразия

```
graph TD; A[Стратегии сохранения биоразнообразия] --> B[Сохранение ex-situ]; A --> C[Сохранение in-situ];
```

*Сохранение ex-situ* означает сохранение компонентов биологического разнообразия вне их естественных мест обитания. Подразумевается сохранение видов в зоопарках и в лабораториях, в частности предлагается ведение генетических банков данных вымирающих видов, дабы в дальнейшем иметь возможность восстановить утраченное (например, путём клонирования).

*Сохранение in-situ* означает сохранение экосистем и естественных мест обитания, а также поддержание и восстановление жизнеспособных популяций видов в их естественной среде, а применительно к одомашненным или культивируемым видам — в той среде, в которой они приобрели свои отличительные признаки. Как правило, подразумевается сохранение компонентов биологического разнообразия на особо охраняемых природных территориях (ООПТ): заповедниках, заказниках, национальных парках, памятниках природы и т. п.

# Сохранение *ex situ*: плюсы и минусы

- **Сосредоточенность** растительного разнообразия как исходного материала **в одном месте**, в искусственно **контролируемых условиях**.
- Относительная **безопасность** и **гарантия сохранения**.
- Возможность последовательного и **целенаправленного изучения**, а также – **ускоренного использования** в селекции.
- Оперативная **доступность** для пользователя.
- Централизованное управление, возможность обработки данных, создание **единой БД**.
- Возможность постоянного **учета** и контроля за продвижением материала.

- Сохраняются лишь отдельные фрагменты популяций: отдельные растения, семена, ДНК, пыльца или вегетативные части растений.
- Состав коллекции постепенно обедняется в связи с постоянным пересевом и механическими потерями.
- Содержание коллекций и их поддержание в живом виде связано с большими финансовыми затратами.
- Наличие штата научных сотрудников и технического персонала для работы с коллекцией и необходимость их профессиональной подготовки

## Генетическое разнообразие –

наследственная (генотипическая) изменчивость внутри популяции (вида), проявляющаяся в виде наследственно обусловленного полиморфизма (т. е. существования в пределах популяции или вида фенотипически и генотипически различных форм живых организмов).

## Генетические ресурсы –

генетическое разнообразие, необходимое для удовлетворения всех нужд общества, основанное на богатстве генофондов диких и одомашненных видов, включая многие виды, не имеющие непосредственной потребительской ценности, но существенно важные для выживания экономически ценных.

## Генофонд

1. Совокупность всех генотипов (суммарный пул генов – совокупность всех аллельных форм всех локусов) особей популяции составляет **генофонд популяции**.
2. Обобщенный генофонд всех популяций данного вида представляет **генофонд вида**.
3. Генетическое разнообразие всех видов объединяется в **генофонд планеты (мировой генофонд)**.



**Сергей Сергеевич Четвериков (1880-1959)**

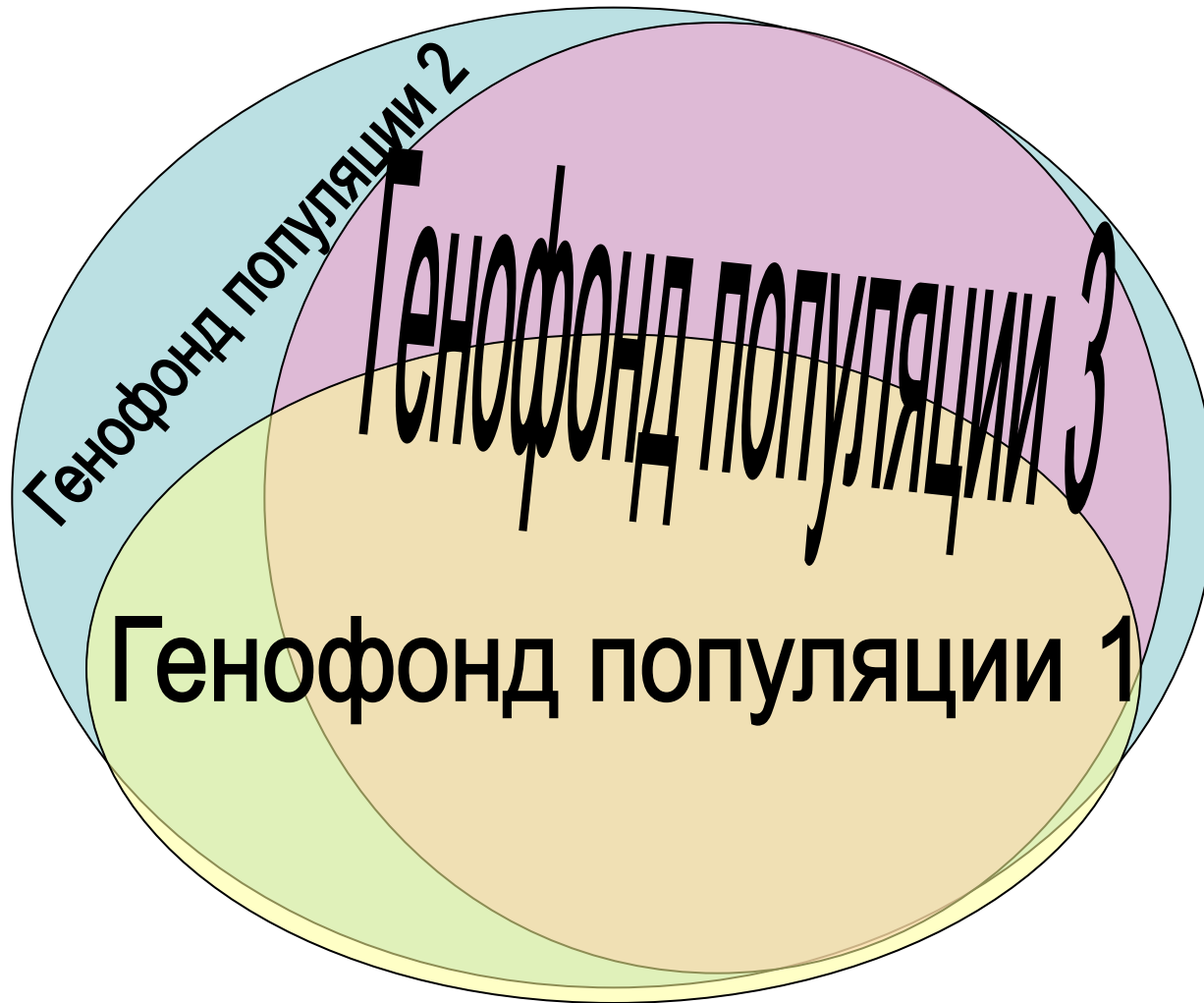


**Александр Сергеевич Сербровский (1892-1942)**





**Феодосий Григорьевич Добржанский (1900 – 1975)**



**Генофонд вида, представленного тремя популяциями**

# Биологическое значение генетического разнообразия

Генетическая изменчивость в популяции предоставляет исходный материал для действия естественного отбора и служит необходимой базой для протекания микроэволюционных процессов.

Генетическое разнообразие определяет экологическую пластичность – способность индивидуума или целой популяции приспособляться к изменяющимся условиям внешней среды и противостоять неблагоприятному воздействию различных факторов.

Генетически разнородная популяция, представленная особями с разными генотипами, благодаря широкому спектру нормы реакции осваивает окружающую среду более эффективно, в ее генофонде накапливается большой объем резервной (скрытой) наследственной изменчивости.

**«Мобилизационным резервом наследственной изменчивости»**

И.И. Шмальгаузен (1968) называл наследственные изменения, которые могут существовать в генофонде в скрытых формах в течение длительного времени. Этот резерв может быть использован в экстремальных условиях среды.



## Почему необходимо противостоять утрате генетического разнообразия?

Утрату генетического разнообразия трудно измерить или оценить визуально. Напротив, вымирание или уменьшение численности популяций или видов заметить гораздо легче.

Вымиранию вида предшествует падение генетического разнообразия, что уменьшает способность вида выполнять в экосистемах свойственные ему функции. Уменьшение генетического разнообразия внутри вида может вылиться в утрату его полезных или желательных качеств (например, сопротивляемости к вредителям и болезням) и уничтожить возможности использования новых ресурсов как будущих пищевых, технических или лекарственных организмов.



# Основные характеристики популяции

- Ареал
- Численность и плотность
- Возрастная и половая структура
- Рождаемость и смертность
- Фенотипическая и генотипическая структура (частоты фенотипов, генов и генотипов)
- Фенофонд и генофонд

## ***Эффективная численность популяции –***

ключевой параметр для контроля и регуляции генотипической изменчивости в популяции. При такой численности может поддерживаться столь же высокий уровень изменчивости по большинству количественных признаков, как и в бесконечно большой популяции. Любые меры по увеличению численности популяции или скорости ее роста повлекут за собой снижение вероятности утраты генетической изменчивости.

$$N_L \approx \frac{4 \cdot N_1 \cdot N_2}{N_1 + N_2}$$

где  $N_1$  – число самцов в популяции,  $N_2$  – число самок.

## Модель С. Райта

Описывает изменения средней гетерозиготности для изолированной популяции, в которой ген представлен двумя аллелями: **средняя гетерозиготность популяции от поколения к поколению убывает в геометрической прогрессии со знаменателем  $(1 - 0,5N_L)$ .**

**Популяция из 50 особей** в следующем поколении из-за утраты редких аллелей сохранит 99% гетерозиготности, а через 10 генераций – только 90%.

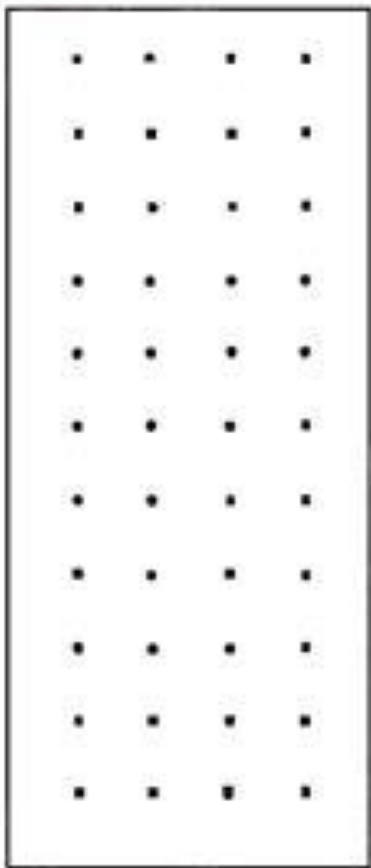
Однако малочисленная **популяция из 10 особей** гораздо ближе к утрате генетического разнообразия: через 1 поколение она сохранит 95% исходной гетерозиготности, а через 10 поколений – только 60%.

### Коэффициент убывания гетерозиготности

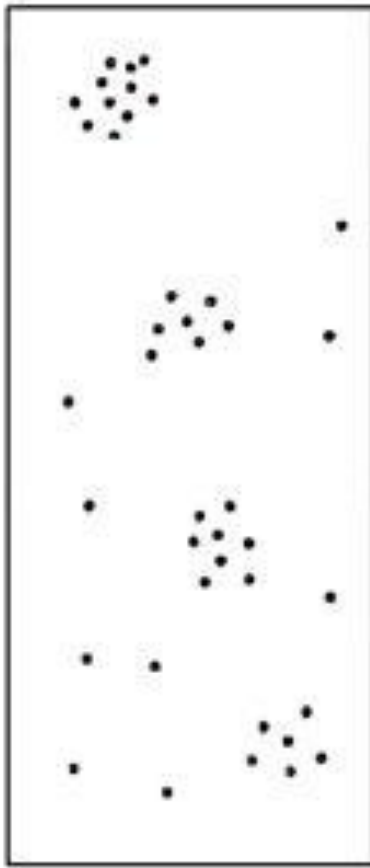
$$\lambda = 1 - \frac{N_1 + N_2}{8 \cdot N_1 \cdot N_2},$$

где  $N_1$  – число самцов в популяции,  $N_2$  – число самок.

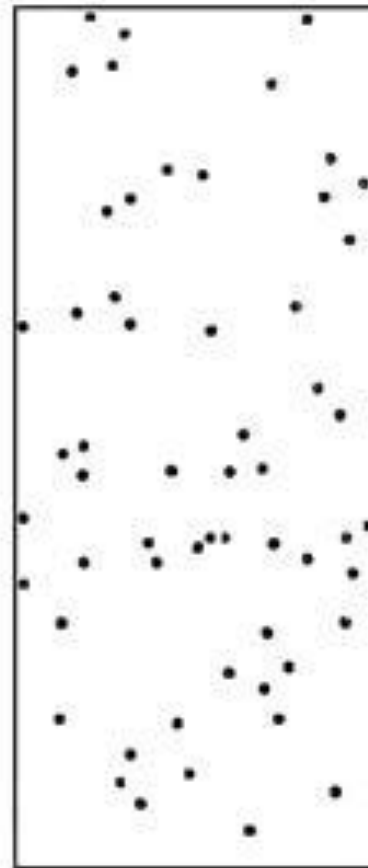
Две популяции, состоящие в одном случае из 10 самцов и 1000 самок и в другом — из 20 самцов и 20 самок, утрачивают свое генетическое разнообразие с примерно одинаковой скоростью.



а



б



в

**Типы распределения особей или групп особей в популяции (по Р. Дажо, 1975) :**

а – равномерное распределение;

б – групповое распределение;

в – случайное распределение

## ТИПЫ ВОЗРАСТНЫХ ПИРАМИД



**Возрастные пирамиды (по Ю. Одуму, 1986) :**

**а** – популяции с высокой относительной численностью молодых особей;

**б** – популяции с умеренной относительной численностью молодых особей;

**в** – популяции с малой относительной численностью молодых особей



## Начало генетического изучения популяций

положила работа В. Иогансена «**О наследовании в популяциях и чистых линиях**» (1903 г.), где экспериментальным путем была доказана эффективность действия отбора в гетерогенной смеси генотипов (все природные популяции) и неэффективность действия отбора в чистых линиях – генотипически однородном потомстве, получаемом от одной самоопыляющейся или самооплодотворяющейся особи.



**Вильгельм Людвиг Иоганнсен (1857-1927)**



**Харди** Годфри Харолд,  
английский математик





**Вайнберг** Вильгельм,  
немецкий врач

# Закон Харди-Вайнберга

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

$$(p + q)^2 = 1$$

 	$p A$	$q a$
$p A$	$p^2 AA$	$pq Aa$
$q a$	$pq Aa$	$q^2 aa$

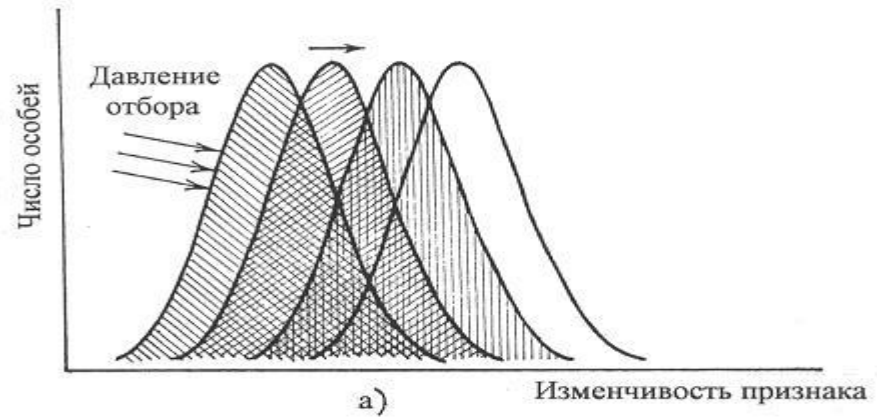
# Факторы генетической динамики популяций

- *Мутационный процесс*
- *Отбор*
- *Дрейф генов*
- *Миграции*
- *Изоляция*

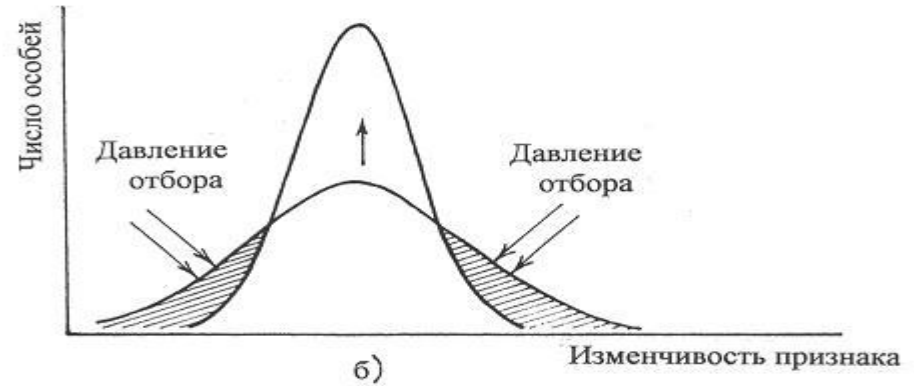


# Виды естественного отбора

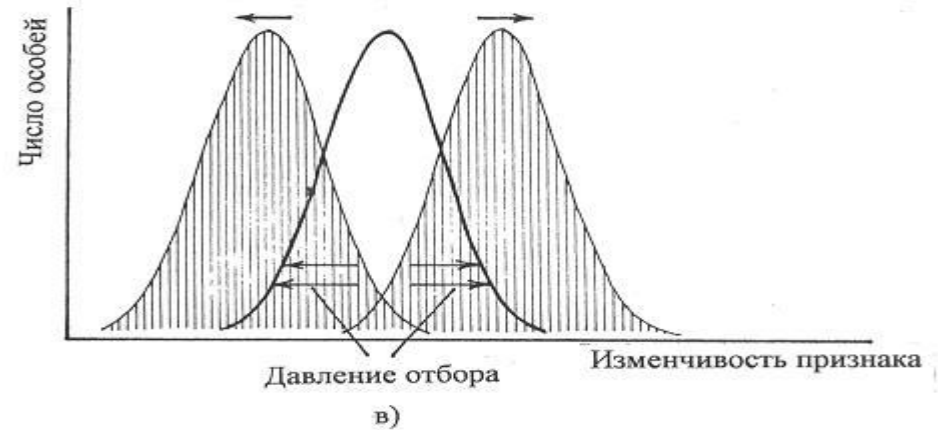
А) Движущий



Б) Стабилизирующий



В) Дизруптивный



Изоляция

Пространственная  
я  
(механическая)

Биологическая:  
-морфофизиологическая,  
- экологическая,  
-этологическая,  
-генетическая

## Генетическая гетерогенность – важнейшее свойство каждой популяции

В потомстве от скрещивания двух особей, различающихся только по 10 локусам, каждый из которых представлен 4 возможными аллелями, окажется около 10 млрд. особей с различными генотипами.

Если число локусов возрастет до 1000, а число аллелей до 10, количество возможных генотипов в потомстве может составить  $10^{1000}$ , что больше числа атомов во всей Вселенной!

## Генетический полиморфизм –

наличие в популяции нескольких генетических форм (генотипов) в состоянии длительного равновесия (т. е. на протяжении многих поколений) с частотой, превышающей 1%.

### **Адаптационный полиморфизм**

возникает, если в различных, но закономерно меняющихся условиях обитания (например, при смене времен года) отбор благоприятствует разным генотипам.

В популяциях двухточечных божьих коровок (*Adalia punctata* L.) при уходе на зимовку преобладают особи черного цвета, интенсивно размножающиеся в летний период, а весной — красного цвета, лучше переносящие холод.

### **Сбалансированный полиморфизм**

наблюдается, если отбор благоприятствует гетерозиготам в сравнении с рецессивными или доминантными гомозиготами. Он придает популяциям ряд ценных свойств — повышенную жизнеспособность, возможность гетерозиса и др.

## Для оценки полиморфизма используют:

- ✓ Морфологические признаки;
- ✓ Биохимические маркеры;
- ✓ Иммунологическое и электрофоретические свойства белков;
- ✓ Молекулярные (ДНК-маркеры).

# Показатели генетического разнообразия

## Средняя гетерозиготность

Показывает, какую долю в популяции составляют особи, гетерозиготные по изучаемым маркерам, с усреднением этого параметра по набору использованных маркеров.

## Число аллелей на локус

Применяется для оценки генетического разнообразия по маркерам, имеющим более двух аллельных состояний.

## Генетическое расстояние

Описывает степень различия и разнообразия между популяциями по наличию/отсутствию или частотам аллелей используемых маркеров.

**Генетический полиморфизм** – разнообразие популяций по признакам или маркерам генетической природы.

**ДНК-маркер** – полиморфный признак, выявляемый методами молекулярной биологии на уровне нуклеотидной последовательности ДНК для определенного гена или для любого другого участка хромосомы при сравнении различных генотипов, особей, пород, сортов, линий.



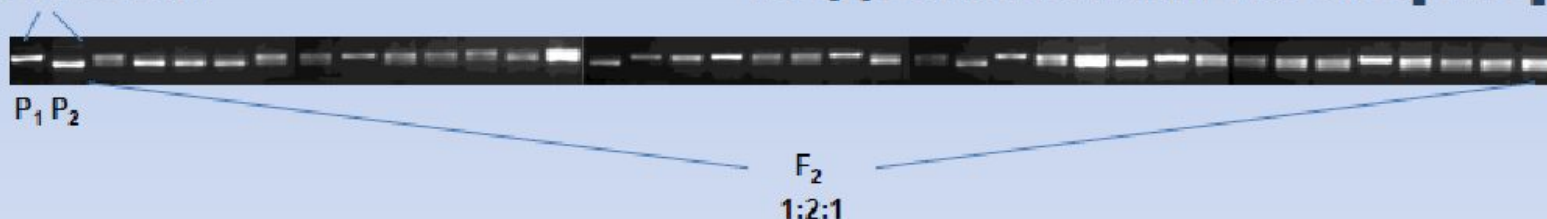
**Молекулярные маркеры** - генетические маркеры, анализируемые на уровне ДНК

**Аллели** маркерных локусов - различные формы (нуклеотидные последовательности, отличающиеся по длине и/или по нуклеотидным заменам) одного и того же **маркера**, расположенные в одинаковых участках (**локусах**) гомологичных хромосом.

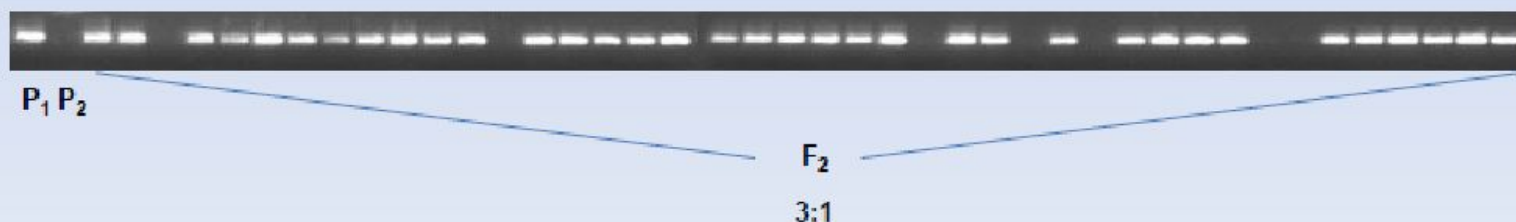
В случае, если метод анализа маркера позволяет выявлять оба аллеля, говорят о **кодоминантном** наследовании, если выявляется только один аллель - о **доминантном** наследовании.

**аллели**

**кодоминантный маркер**



**доминантный маркер**



# Молекулярные маркеры

## на основе ДНК-зондов:

полиморфизм длин рестрикционных фрагментов, ПДРФ (*RFLP*),

минисателлиты (ДНК-фингерпринт, *VNTR*) с длиной повтора 15-100 п.о.,

эндогенные вирусоподобные элементы (*EVE*-гены).

## на основе ПЦР:

полиморфизм длин амплифицированных фрагментов (в сайтах рестрикции), ПДАФ (*AFLP*),

случайно амплифицируемая полиморфная ДНК (*RAPD*),

микросателлиты (*SSR*, или *STR*; с длиной повтора 1-5 п.о.),

однонуклеотидный полиморфизм (*SNP*).

# Молекулярные маркеры

классы

Блот-гибридизация  
ПЦР  
ДНК-чипы

RFLP

RAPD

STS

SSR

ISSR

IRAP

AFLP

SNP

DArT

## **Анализ полиморфизма ДНК: Зачем?**

- **Картирование генов, хромосом и геномов**
- **Сравнительная генетика и геномика**
- **Филогения**
- **Исследование генетического разнообразия**
- **Маркирование генов**
- **Селекция с помощью молекулярных маркеров**
- **Молекулярная паспортизация сортов/пород**
- **Диагностика заболеваний**

# Варианты ДНК-полиморфизма

- Самый простой и наиболее частый вариант полиморфизма — однонуклеотидный полиморфизм (single-nucleotide polymorphism). SNP обычно имеет только два аллеля, соответствующих двум основаниям, занимающим конкретную позицию в геноме. SNP встречаются часто, в среднем в каждой 1000 пар оснований.
- Приблизительно 10% наиболее частых SNP отобрано в качестве маркеров для высокоточной карты генома человека, известной как карта гаплотипов (HapMap — haplotype map).
- По локализации различают экзонные (синонимичные и несинонимичные), интронные и промоторные SNP.

# Полиморфизм инсерций-делеций (indel)

- - результат изменений, вызываемых инсерцией или делецией от 2 до 100 нуклеотидов.
- Число инделов измеряется в геноме сотнями тысяч. Приблизительно половина всех инделов называется простыми, поскольку они имеют только два аллеля, т. е. подразумевается либо присутствие, либо отсутствие включенного или удаленного сегмента; другая половина — мультиаллельная из-за переменного числа сегментов ДНК, повторяющихся тандемно (англ. tandem – расположенные гуськом) в конкретной позиции.
- Мультиаллельные инделы подразделяются на микросателлитные и мини-сателлитные полиморфизмы.

## Микро- и мини-сателлиты

- **Микросателлиты**, или **короткие тандемные (простые) повторы** состоят из тандемно повторяющихся мономеров длиной менее 9 п.н. и образующие поля до 1 т.п.н.
- Варьирование числа повторов в микросателлитах называют **полиморфизмом коротких тандемных повторов (STRP – short tandem repeats polymorphism)**.
- В геноме человека известны десятки тысяч микросателлитных полиморфных локусов.
- **Мини-сателлиты** обусловлены последовательными инсерциями переменного числа (обычно сотен тысяч) копий последовательности ДНК от 10 до 100 п.н.
- С варьированием копий мини-сателлитов связано так называемое **переменное число тандемных повторов (VNTR – variable-number tandem repeats)**.
- С инделами в экзонах, нетранслируемых областях и регуляторных участках генов связаны различия в степени тяжести проявления ряда наследственных заболеваний человека (хореи Гентингтона, синдрома фрагильной X-хромосомы, миотонической дистрофии).



# Применение полиморфизма микро- и минисателлитов для идентификации личности

- Наиболее информативные маркеры имеют несколько десятков или больше аллелей, так что вероятность для не имеющих родственных отношений людей иметь одинаковые аллели очень мала.
- Только идентичные близнецы показывают неразличимые анализы, поэтому одновременное обнаружение полиморфизма множества мини-сателлитов было одним из первых методов ДНК типирования, использованных для установления идентичности образцов.
- Обнаружение полиморфизма мини-сателлитов блоттингом по Саузерну в основном заменено типированием микросателлитов с помощью ПЦР.
- ФБР в США к настоящему времени использует 13 STRP-маркеров для панели типирования ДНК. Два человека (кроме монозиготных близнецов) с настолько малой вероятностью могут иметь идентичные генотипы по всем 13 локусам, что панель позволяет точно определить, происходят ли два образца от одного и того же человека.

# Геномная дактилоскопия, ДНК-фингерпринтинг (DNA fingerprinting)

- — метод создания генетических «отпечатков пальцев», основанный на анализе различных типов полиморфизма ДНК.
- Геномная ДНК рестрицируется эндонуклеазами, образующиеся фрагменты разделяются при помощи электрофореза в геле и переносятся на фильтры, которые гибридизуют (например, Саузерн-блоттингом) со специфическими мечеными зондами (ДНК фага M13, различные синтетические олигонуклеотиды, мини- и микросателлитные ДНК и др.).
- Фрагменты ДНК, гомологичные зондам, образуют полиморфные полосы гибридизации, отдельные из которых специфичны для каждого индивидуума.
- Метод используется для генетической идентификации разных индивидуумов одного вида (при картировании генов, определении отцовства и материнства, в криминалистике).
- Метод был предложен А. Джеффрисом в 1985 г.

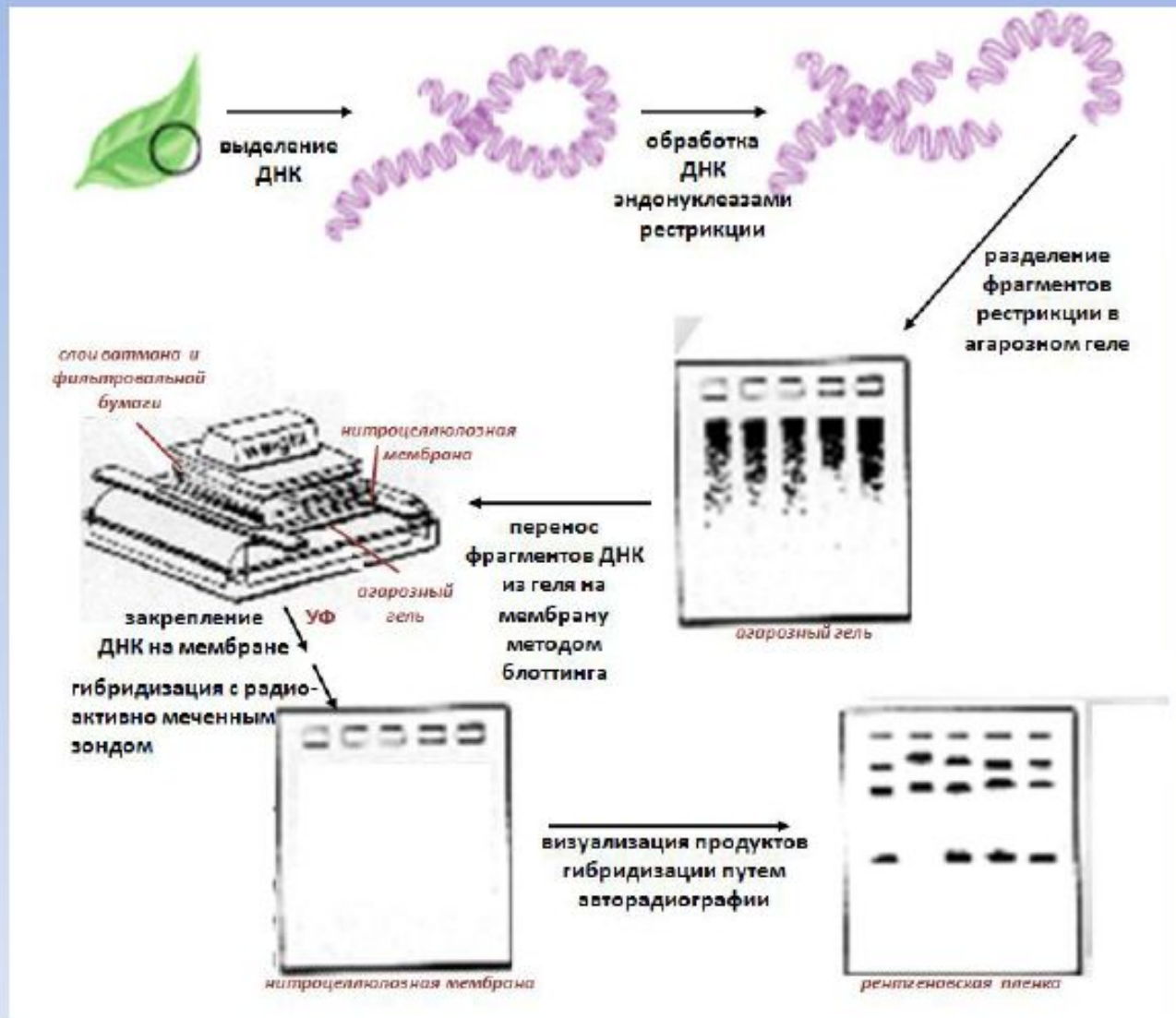
# Полиморфизм числа копий

- **(CNP – copy number polymorphism, или CNV - copy number variation)** – изменения в числе копий больших сегментов генома, (от 200 п.н. до почти 2 млн. п.н.). CNP могут иметь только два аллеля (т.е. присутствие или отсутствие сегмента) или многочисленные аллели из-за возможного присутствия двух или большего числа копий сегмента ДНК в тандеме.
- CNP обнаруживается при использовании **метода сравнительной матричной (чиповой) гибридизации генома**.
- **ДНК-чип (микроматрица)** – это организованное размещение молекул ДНК на специальном носителе – «платформе», которая представляет собой пластинку площадью около 1 см<sup>2</sup> из стекла, пластика или кремния, на которой в строго определенном порядке может быть размещено множество молекул ДНК.
- В рамках метода весь образец ДНК из одного источника (тест) помечают красной флюоресцентной краской, а другой (контрольный) образец – зеленой краской.
- Два меченных образца ДНК смешивают в равных количествах и проводят гибридизацию с микроматрицей, содержащей до 100 000 и более однонуклеотидных олигонуклеотидов, соответствующих различным уникальным последовательностям генома человека.
- Уникальные последовательности выбирают так, чтобы они были равномерно распределены (менее чем через 30 килобаз) по всему геному.
- Соотношение красной и зеленой флюоресценции, излучаемой ДНК, гибридизировавшейся с олигонуклеотидными зондами в каждой позиции, позволяет оценить **преобладание конкретного сегмента ДНК**, представленного этим олигонуклеотидом, в **образце по сравнению с контролем**.

# Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов

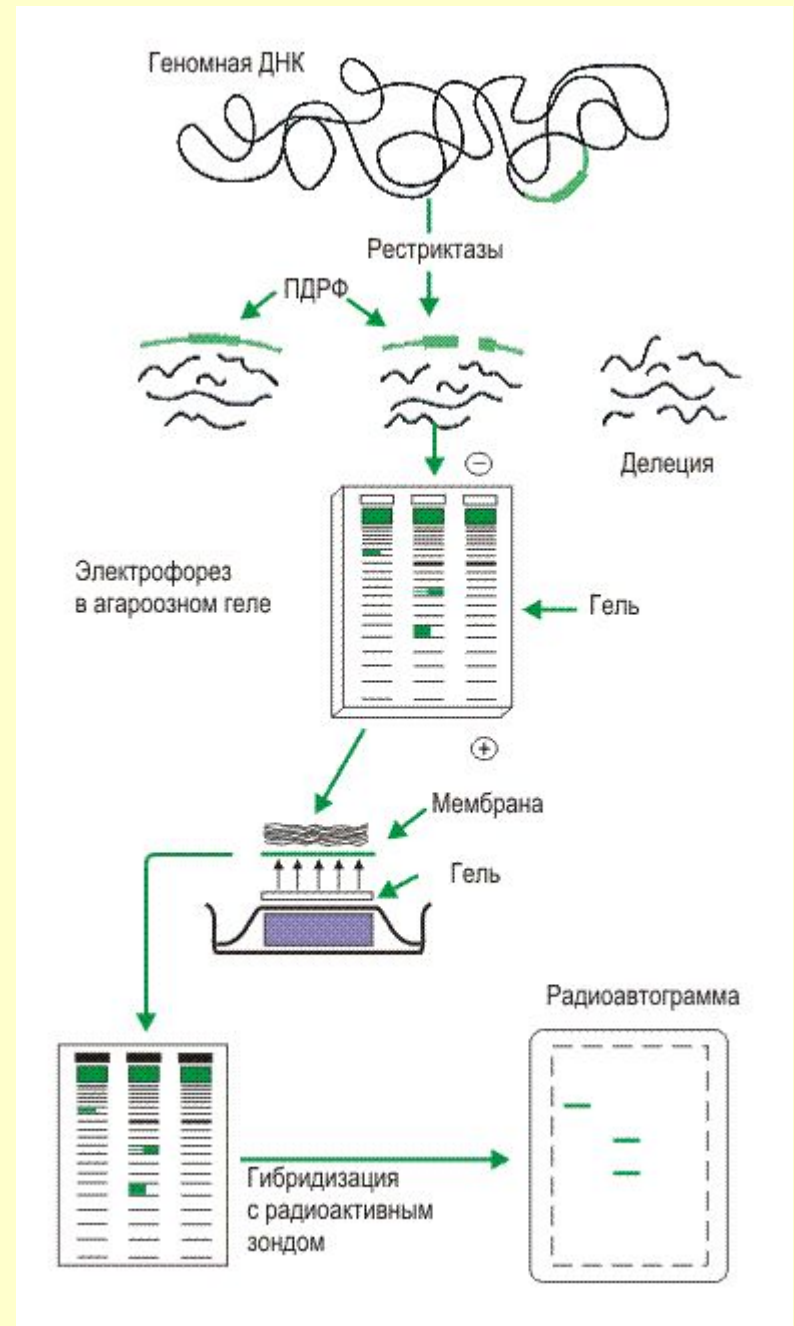
- - различия в длинах фрагментов ДНК, получаемых из генома разных людей (кроме однойцевых близнецов) после обработки рестриктазами.
- Причинами ПДРФ являются замена нуклеотидов в рестрикционном сайте или изменение длины ДНК
- ПДРФ ДНК - отражение гетерогенности популяций, причем варианты полиморфизма наследуются в соответствии с законами Менделя.
- Обработка ДНК рестриктазами с последующим блоттингом по Саузерну позволяет использовать эти варианты в качестве маркеров определенных участков генома.
- Особенно информативен ПДРФ, вариабельных по числу тандемных повторов .

# RFLP (restriction fragment length polymorphism) – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (Botstein et al., 1980).



## Блоттинг по Саузерну

- Блоттинг (буквально - промакивание) - перенос фрагментов макромолекул (ДНК, РНК или белка), разделенных с помощью электрофореза в геле, на твердую подложку - мембрану.
- В исследованиях генома человека часто используют метод блоттинга по Саузерну, при котором олигонуклеотидный зонд, находящийся в растворе, гибридизуется с ДНК, адсорбированной на мембране.
- Геномную ДНК расщепляют на короткие фрагменты, разделяют их в агарозном геле, переносят на мембрану, после чего специфические участки идентифицируют с помощью гибридизации с олигонуклеотидными зондами.
- Этим методом выявляют уникальные фрагменты ДНК, размер которых составляет приблизительно одну миллионную часть генома.
- Метод используют для выявления крупных перестроек в ДНК и некоторых точечных мутаций (большинство точечных мутаций этим методом выявить нельзя).



# Полимеразная цепная реакция

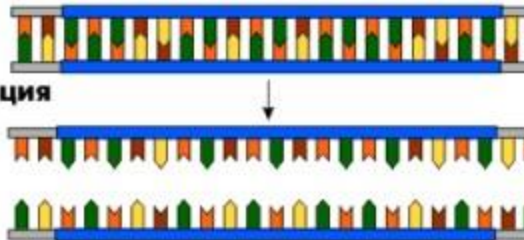
- **ПЦР (polymerase chain reaction, PCR)** — ферментативная реакция, осуществляемая *in vitro* с помощью термостабильной ДНК-полимеразы на матрице ДНК с использованием **олигонуклеотидных ДНК-затравок** (праймеров), комплементарных нуклеотидным последовательностям противоположных цепей ДНК на границах амплифицируемого участка.
- ПЦР представляет собой серию из **3-х циклически повторяющихся реакций** (обычно в сумме осуществляют **20-30 циклов**):
  - **1) денатурация ДНК,**
  - **2) отжиг ДНК-затравок с матрицей и**
  - **3) синтез ДНК с помощью ДНК-полимеразы с каждой из затравок навстречу друг другу с использованием противоположных цепей ДНК в качестве матриц.**
- По завершении каждого цикла количество синтезированного продукта удваивается и происходит **увеличение количества** анализируемой ДНК **в геометрической прогрессии**, что позволяет в миллионы раз увеличивать количество изучаемого фрагмента ДНК в пробе.
- ПЦР используется **для клонирования и секвенирования ДНК, при картировании генов, в генной инженерии и медицинской ПЦР-диагностике.**
- Метод характеризуется высокой чувствительностью.
- ПЦР предложена **К. Мюллисом в 1985 г.** (Нобелевская премия 1993 г.).



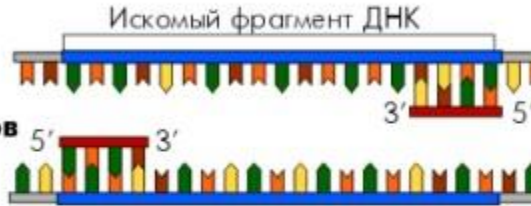
# Схема метода ПЦР

## 1-ый цикл амплификации

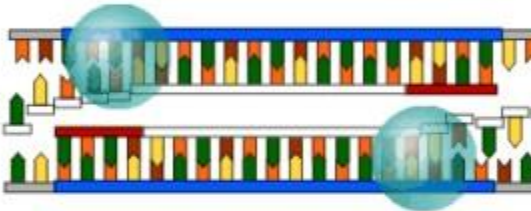
1-ый этап  
**Денатурация**  
93-95°C



2-ый этап  
**Отжиг праймеров**  
50-65°C

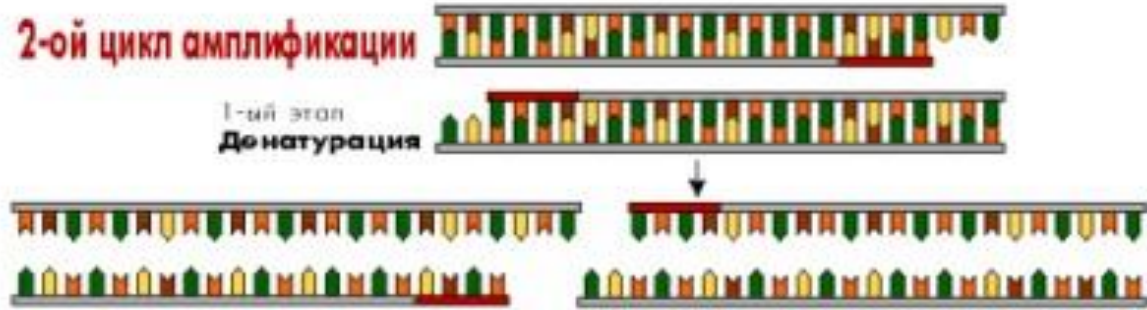


3-ий этап  
**Синтез цепи ДНК**  
72°C

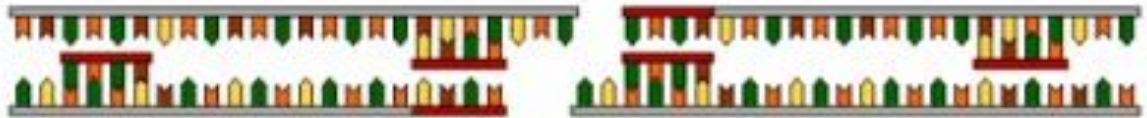


## 2-ой цикл амплификации

1-ый этап  
**Денатурация**



2-ый этап  
**Отжиг праймеров**



3-ий этап  
**Синтез цепи ДНК**



# БАЗЫ ДАННЫХ ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ МОЛЕКУЛАМ

## Базы данных по секвенированной ДНК:

- Европейская лаборатория молекулярной биологии (EMBL):  
<http://www.ebi.ac.uk/embl/index.html>
- ГенБанк: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Банк ДНК-данных Японии (DDBJ):  
<http://www.ddbj.nig.ac.jp>

## Базы данных белков:

- Швейцарский-ПРОТ:  
<http://www.expasy.ch/sprot/sprot-top.html>
- Информационные ресурсы белков (PIR):  
<http://pir.georgetown.edu/pirwww/>
- Банк данных белков (PDB):  
<http://www.rcsb.org/pdb/>

## Сервис по идентификации генов, сайты

### Био-портала:

- Геномные странички: <http://www.hgmp.mrc.ac.uk/GenomeWeb/nuc-geneid.html>
- BCM поисковое устройство:  
<http://searchlauncher.bcm.tmc.edu/>
- МОЛБИОЛ: <http://www.molbiol.net/>
- Инструменты биомолекулярных исследований  
Педро: [http://www.biophys.uni-duesseldorf.de/BioNet/Pedro/research\\_tools.html](http://www.biophys.uni-duesseldorf.de/BioNet/Pedro/research_tools.html)
- ExPASy сервер Молекулярной биологии:  
<http://www.expasy.ch/>

### Базы данных, представляющие интерес в

### связи с domestцированными животными:

- <http://locus.jouy.inra.fr/cgi-bin/bovmap/intro.pl>
- <http://www.cgd.csiro.au/cgd.html>
- <http://www.ri.bbsrc.ac.uk/cgi-bin/arkdb/browsers/>
- <http://www.marc.usda.gov/genome/genome.html>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/pig/>
- <http://www.ensembl.org/index.html>
- <http://www.tigr.org/>
- <http://omia.angis.org.au/>
- <http://www.livestockgenomics.csiro.au/ibiss/>
- <http://www.thearkdb.org/>
- <http://www.hgsc.bcm.tmc.edu/projects/bovine/>

# Значение оценки генетического разнообразия для охраны генетических ресурсов

Оценка генетического разнообразия важна при **мониторинге генетической изменчивости** популяций и видов диких и сельскохозяйственных растений и животных; на основе получаемой генетической информации разрабатывают **стратегию их сохранения и рационального использования**.

В 1983 г. Продовольственной и сельскохозяйственной организацией ООН (ФАО) году был образован межправительственный форум – *Комиссия по генетическим ресурсам для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства*, которая проводит мониторинг состояния мировых генетических ресурсов.

В 1996 г. **Глобальный план действий в целях сохранения и устойчивого использования растительных генетических ресурсов для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства** был принят в 150 странах.



## Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций

**Международный договор о растительных генетических ресурсах для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства** вступил в силу в 2004 г. и был ратифицирован более чем 120 странами. В соответствии с этим Договором страны соглашаются создать Многостороннюю систему в целях облегчения доступа к генетическим ресурсам 64 наиболее важных сельскохозяйственных культур и фуража и справедливого и равноправного распределения выгод.

**Глобальный траст-фонд по разнообразию сельскохозяйственных культур**, учрежденный в 2004 г., возглавляет международные усилия по материальному обеспечению самых ценных в мире коллекций разнообразия сельскохозяйственных культур. Траст-фонд является важным элементом финансовой стратегии Договора, поддерживающим, в частности, сохранение *ex situ* генетического разнообразия сельскохозяйственных культур.





Продовольственная и сельскохозяйственная организация  
Объединенных Наций

## Генетические ресурсы животных

С целью учёта и мониторинга породных ресурсов животных создан *Глобальный банк данных генетических ресурсов домашних животных* и публикуется «*Всемирный список наблюдения за разнообразием домашних животных*». Информация о породах животных и птиц собирается для банка данных по всем странам через национальных координаторов и добровольных помощников-специалистов.

В 1995 году созданная под эгидой ФАО рабочая группа экспертов предложила план *Глобального проекта по поддержанию (оценке) генетического разнообразия домашних животных*, предусматривающего количественную оценку генетического разнообразия среди пород основных 14 видов животных, разводимых человеком, включая четыре вида птиц (на основе генотипирования 6-50 пород одного вида с помощью 30 микросателлитных маркеров).