

ISSN 2311-455X

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Московская государственная академия ветеринарной  
медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина»  
Издательский дом «Научная библиотека»

**Научно-практический  
журнал**

# **ВЕТЕРИНАРИЯ, ЗООТЕХНИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ**

**VETERINARIYA,  
ZOOTEKHNIIYA I  
BIOTEKHNLOGIYA**

**К вопросу генетических основ резистентности  
северных оленей**

**Влияние суягности овцематок на развитие  
и химический состав матки с плацентой  
по периодам беременности**

**Фармакокинетические свойства азитромицина  
и флуниксина в организме телят и поросят**

**Сравнительная ветеринарно-санитарная  
оценка качества меда из различных регионов  
Российской Федерации**

**Особенности диагностики туберкулёза  
слонов и обезьян**

**Тромбоцитарно-коагуляционные изменения  
у коров айрширской породы, имеющих  
овариальные дисфункции**

**Влияние средств, обладающих  
сахароснижающим действием (СОСД),  
на показатели теста на толерантность  
к глюкозе у интактных кроликов  
и при аллоксановом диабете**

**№ 6**

**ИЮНЬ**

**2016**



**Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Московская государственная академия ветеринарной  
медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина»  
Издательский дом «Научная библиотека»**

# **ВЕТЕРИНАРИЯ, ЗООТЕХНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ**

**Научно-практический журнал**

**№ 6, 2016 г.**

**Москва**

# Veterinariya, Zootekhnika i Biotekhnologiya

Scientific and practical journal

Published once a month

№ 6, 2016

The journal is registered in the Ministry of Communications and Mass Communications, the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Communications (ROSKOMNADZOR). Certificate of Mass Media Registration PI № FS 77 – 55860 from 07.11.2013

## Founders:

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher education «Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA named K. I. Skryabin», Ltd. «Publishing house «SCIENTIFIC LIBRARY»

**Publisher:** LLC «Publishing house «SCIENTIFIC LIBRARY»

**Chief Editor:** Balakirev N.A. – RAS academician,  
FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabina

## Members of the editorial Board:

Vasilevich F. I. – RAS academician, FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Gulyukin M. I. – RAS academician, GNU VIEV  
Devrishov D. A. – RAS corresponding member, FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Dorozhkin V. I. – RAS corresponding member, GNU VNIIVSGE  
Zaitsev S. Yu. – Doctor of Biological Sciences, Professor FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Kochish I. I. – RAS corresponding member, FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Lysenko N. P. – Doctor of Biological Sciences, Professor FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Maksimov V. I. – Doctor of Biological Sciences, Professor FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Sotnikova L. F. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Samuilenko A. Ya – RAS academician, GNU VNIT&BP  
Slesarenko N. A. – Doctor of Biological Sciences, Professor FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Stekolnikov A. A. – RAS corresponding member, FGBOU VO SPbGAVM

Brenig B. - Prof. Dr. Dr., Institute of Veterinary Medicine, University of Göttingen, Germany  
Starke A. – The University of Leipzig, Germany

## Editorial Board of Experts:

Tinaeva E. A. – Doctor of Biological Sciences, Professor FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin (chairman)  
Bakai A. V. – Doctor of agricultural Sciences, Professor FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Vasilevsky N. M. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor FGBU «FZTRB-VNIV»  
Gavrilo V. A. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Gryazneva T. N. – Doctor of Biological Sciences, Professor FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Danilevskaya N. V. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin  
Kozlov S. A. – Doctor of Biological Sciences, Professor FGBOU VO MGAVM&B – MVA named after K. I. Skryabin

### Official address:

127566, Moscow, Altufievskoe highway,  
house 48, building 2

**Phones:** +7 (495) 592-2998, 8-916-925-5954

**E-mail:** idnb11@yandex.ru, sci@mgavm.ru

**Internet:** : <http://www.sciencelib.ru>

**Signed for printing:** 20.06.2016. Format 60x90 1/8  
The price is negotiable. Number of sheets – 11,75 P.L. Edition

**Printing-house of Ltd. «Kantsler» Yaroslavl,  
ul. Polushkina Roshcha, 16, 66A  
E-mail: kancler2007@yandex.ru**

### Articles are read.

Reprinting the materials published in the journal «Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya» is permitted only by the written permission of the publisher.

Advertisers are responsible for authenticity of ads.

The journal is included into the Russian scientific citation index indexed in: Scientific electronic library eLIBRARY.RU (Russia).

The points of view of the authors of the articles may not coincide with those of the editorial office staff.

Decision of the Higher attestation Commission under the Ministry of education and science of the Russian Federation (VAK at the Ministry of education of Russia) the journal is included in the List of peer-reviewed scientific publications, which should be published basic scientific results of theses on competition of a scientific degree of candidate of Sciences, on competition of a scientific degree of the doctor of Sciences

© FGBOU VO «Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K. I. Skryabin»,

© Ltd. company «Publishing house «SCIENTIFIC LIBRARY»

# Ветеринария, Зоотехния и Биотехнология

Научно-практический журнал

Выходит 1 раз в месяц

№ 6, 2016

Журнал зарегистрирован в Министерстве связи и массовых коммуникаций, Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (РОСКОМНАДЗОР). Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС 77 – 55860 от 07.11.2013

Учредители: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина, Общество с ограниченной ответственностью «Издательский дом «НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА»

Издатель: ООО «Издательский дом «НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА»

Главный редактор: Балакирев Николай Александрович – академик РАН, ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина

## Члены редакционной коллегии:

Василевич Ф. И. – академик РАН, ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Гулюкин М. И. – академик РАН, ГНУ ВИЭВ  
Девришов Д. А. – член-корреспондент РАН, ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Дорожкин В. И. – член корреспондент РАН, ГНУ ВНИИВСГЭ  
Зайцев С. Ю. – доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Кочиш И. И. – член-корреспондент РАН, ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Лысенко Н. П. – доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Максимов В. И. – доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Сотникова Л. Ф. – доктор ветеринарных наук, профессор ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Самуйленко А. Я. – академик РАН, ГНУ ВНИТиБП  
Слесаренко Н. А. – доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Стекольников А. А. – член-корреспондент РАН, ФГБОУ ВО СПбГАВМ

Брениг В. – доктор, профессор, Институт ветеринарной медицины, Университет Геттингена, Германия  
Штарке А. – Лейпцигский университет, Германия

## Редакционно-экспертный совет:

Тинаева Е. А. – доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина (председатель)  
Бакай А. В. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Василевский Н. М. – доктор ветеринарных наук, профессор ФГБУ «ЦТГРБ-ВНИВИ»  
Гаврилов В. А. – доктор ветеринарных наук, профессор ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Грязнева Т. Н. – доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Данилевская Н. В. – доктор ветеринарных наук, профессор ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина  
Козлов С. А. – доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина

### Юридический адрес журнала:

127566, г. Москва, Алтуфьевское шоссе, д. 48, корп. 2

Телефоны: +7 (495) 592-2998, 8-916-925-5954

E-mail: idnb11@yandex.ru, sci@mgavm.ru

Internet: <http://www.sciencelib.ru>

Верстка: Свиридова О.Г.

Подписано в печать: 20.06.2016. Формат 60x90 1/8  
Цена договорная. Объем 11,75 п.л. Тираж 5000 экз.

Отпечатано в типографии ООО «Канцлер»

г. Ярославль, ул. Полушкина Роща, 16, строение 66а  
E-mail: [kancler2007@yandex.ru](mailto:kancler2007@yandex.ru)

### Статьи рецензируются

Перепечатка материалов, опубликованных в журнале «Ветеринария, зоотехния и биотехнология», допускается только с письменного разрешения редакции

Ответственность за достоверность рекламных объявлений несут рекламодатели

Журнал включен в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), индексируется в Научной электронной библиотеке eLIBRARY.RU (Россия)

Точка зрения авторов статей может не совпадать с мнением редакции

Решением Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации (ВАК при Минобрнауки России) журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

© ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина»  
© ООО «Издательский дом «НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА»



# CONTENTS

## VETERINARY SCIENCE AND ZOOTECHNICS

### ZOOTECHNICS

- Yuzhakov A. A., Yudin N. S., Layshev K. A.** To the question of the genetic basis of resistance reindeer ..... 6
- Salaev B. K., Arilov A. N., Yuldashbaev Yu. A.** Influence of a suyagnost of ewes on development and chemical composition of a uterus with a placenta on the pregnancy periods ..... 12
- Yarovan N. I., Litovchenko D. V.** Natural Khotynetskikh zeolites and lipolic acid impact on protein spectrum of blood serum of cows during technological stresses ..... 18

### VETERINARY SCIENCE

- Filippov Yu. I., Akimov A. V., Sidorova Yu. I.** Minimally invasive locking compression plate osteosynthesis in the veterinary surgery ..... 22
- Lobova P. S.** Pharmacokinetic properties of azithromycin and flunixin in calves and pigs ..... 29
- Tretyakova I. V., Levchenkova T. V., Belousova R. V.** Evolution antigenic activity of inactivated vaccine using statistical methods ..... 33
- Menshikova Z. N., Tolmacheva V. A.** Comprehensive veterinary and sanitary evaluation of the quality of honey from different regions of Russia ..... 37
- Kalmykov V. M., Naimanov A. Kh., Kalmykova M. S.** The tuberculosis diagnosis features of elephants and monkeys ..... 43

## PHYSIOLOGY

- Krapivina E. V., Makurina O. N.** Physiological dynamics of hematological and hemostatic parameters in weak calves and piglets suckling power receiving «Gamavit» ..... 50
- Glushenkova E. E., Zinoveva S. A., Kozlov S. A., Markin S. S.** Using the method of wedge dehydration drops of serum to characterize the body condition of horses ..... 56
- Shakhsufbekova O. M., Kholov A. K., Azonov Ch. A.** The hypoglycemic remedy (HGR) influence to the glucose indicators test tolerance with intact rabbits and at alloxan diabetes ..... 64
- Nikolaev A. A.** The parameters of blood in dogs after a splenectomy ..... 74
- Oshurkova Yu. L.** Platelet-coagulation changes in ayrshire cows breed with ovarian dysfunction ..... 78

## GENERAL BIOLOGY

- Arisov M. V., Smirnova E. S.** Pharmaco-toxicological assessment of new comprehensive drug «Gelmintal» (tablets) based on moxidectin and praziquantel ..... 84

## PHYSICO-CHEMICAL BIOLOGY

- Bantikova T. N., Tukhfatova R. F.** Effect of antioxidant supplementation on biochemical blood values in weaner pigs for the prevention of technological stress ..... 90

Подписка на журнал проводится  
во всех отделениях связи России, Казахстана и Белоруссии  
по каталогам «Пресса России» и «Урал-Пресс»  
индекс подписки 41440

# СОДЕРЖАНИЕ

## ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

### ЗООТЕХНИЯ

- Южаков А. А., Юдин Н. С., Лайшев К. А.** К вопросу генетических основ резистентности северных оленей ..... 6
- Салаев Б. К., Арилов А. Н., Юлдашбаев Ю. А.** Влияние суягности овцематок на развитие и химический состав матки с плацентой по периодам беременности ..... 12
- Ярован Н. И., Литовченко Д. В.** Влияние Хотынецких природных цеолитов и липоевой кислоты на белковый спектр сыворотки крови коров при технологическом стрессе ..... 18

### ВЕТЕРИНАРИЯ

- Филиппов Ю. И., Акимов А. В., Сидорова Ю. И.** Минимально инвазивный костный остеосинтез пластинами с угловой стабильностью при хирургическом лечении собак с оскольчатыми переломами костей голени ..... 22
- Лобова П. С.** Фармакокинетические свойства азитромицина и флуниксина в организме телят и поросят ..... 29
- Третьякова И. В., Левченкова Т. В., Белоусова Р. В.** Оценка антигенной активности инактивированных комбинированных вакцин с использованием статистических методов ..... 33
- Меньшикова Э. Н., Толмачева В. А.** Сравнительная ветеринарно-санитарная оценка качества меда из различных регионов Российской Федерации ..... 37
- Калмыков В. М., Найманов А. Х., Калмыкова М. С.** Особенности диагностики туберкулёза слонов и обезьян..... 43

## ФИЗИОЛОГИЯ

- Крапивина Е. В., Макурина О. Н.** Физиологическая динамика гематологических и гемостатических показателей у ослабленных телят и поросят молочного питания, получавших «Гамавит»..... 50
- Глушенкова Е. Е., Зиновьева С. А., Козлов С. А., Маркин С. С.** Использование метода клиновидной дегидратации капли сыворотки крови для характеристики состояния организма лошадей..... 56
- Шахсуфбекова О. М., Холов А. К., Азонов Ч. А.** Влияние средств обладающих сахароснижающим действием (СОСД) на показатели теста на толерантность к глюкозе у интактных кроликов и при аллоксановом диабете ..... 64
- Николаев А. А.** Показатели крови у собак после спленэктомии..... 74
- Ошуркова Ю. Л.** Тромбоцитарно-коагуляционные изменения у коров айрширской породы, имеющих овариальные дисфункции ..... 78

## ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ

- Арисов М. В., Смирнова Е. С.** Фармако-токсикологическая оценка нового комплексного препарата Гельминтал таблетки на основе моксидектина и празиквантела ..... 84

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

- Бантикова Т. Н., Тухфатова Р. Ф.** Влияние антиоксидантного препарата на биохимические показатели сыворотки крови при профилактике технологического стресса поросят ..... 90

## К вопросу генетических основ резистентности северных оленей

**А. А. Южаков**

доктор сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник,  
Северо-Западный Центр междисциплинарных исследований проблем продовольственного обеспечения, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: alyuzhakov@yandex.ru

**Н. С. Юдин**

кандидат биологических наук, доцент,  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Российская Федерация  
E-mail: yudin@bionet.nsc.ru

**К. А. Лайшев**

доктор ветеринарных наук, член-корреспондент РАН,  
Северо-Западный Центр междисциплинарных исследований проблем продовольственного обеспечения, Российская Федерация

### Аннотация

Обоснована необходимость проведения исследований генетических основ устойчивости северного оленя к инфекционным и инвазионным заболеваниям для оптимизации селекционных и ветеринарных мероприятий. Экспериментальным путем определена часть нуклеотидной последовательности 3'-нетранслируемой области гена GRO1 у тундровых северных оленей ненецкой породы.

**Ключевые слова:** северный олень, генетические основы резистентности, нуклеотидная последовательность ДНК, нетранслируемая область гена.

**Veterinary science and zootechnics: zootechnics**

## To the question of the genetic basis of resistance reindeer

**A. A. Yuzhakov**

doctor of Agricultural Sciences, North-Western Centre for interdisciplinary studies of the problems of food security, St. Petersburg, Russian Federation  
E-mail: alyuzhakov@yandex.ru

**N. S. Yudin**

candidate of Biological Sciences, associate Professor, senior researcher, FSBI Institute of Cytology and genetics SB RAS, Russian Federation  
E-mail: yudin@bionet.nsc.ru

**K. A. Layshev**

doctor of Veterinary Sciences, corresponding member of RAS,  
North-Western Centre for interdisciplinary studies of the problems of food security,  
St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract**

The necessity of making studies of the genetic basis of resistance of reindeer to infectious and parasitic diseases to optimize breeding and veterinary activities. Experimentally determined part of the nucleotide sequence 3'-untranslated region of the gene GRO1 among the tundra Nenets reindeer breed.

**Keywords:** reindeer, genetic basis of resistance, the nucleotide sequence of DNA, noncoding region of the gene.

Одним из основных факторов породообразования в северном оленеводстве является отбор животных на увеличение естественной резистентности. Это диктует необходимость проведения исследований в области генетики с целью изучения генетических основ устойчивости северного оленя к инфекционным и инвазионным заболеваниям (бруцеллез, некробактериоз, эхинококкоз, цистицеркоз и др.), к неблагоприятным факторам внешней среды (аномально низкая зимняя и высокая летняя температура воздуха, низкокалорийное или неполноценное питание и т.п.) для оптимизации селекционных и ветеринарных мероприятий [7, 14].

Сведения по генетике и структурной геномике северного оленя немногочисленны. На территории России северные олени были достаточно широко изучены с помощью методов белкового электрофореза [5, 8], более современные методы изучения генетического разнообразия к популяциям северного оленя в России стали применяться только в последние 10 лет.

В работе Н. В. Кол [2] был впервые изучен полиморфизм митохондриальной ДНК северных оленей Тувы, а также Чукотки, Якутии и Магаданской области, а также впервые применен метод ISSR для анализа полиморфизма у северных оленей.

В. В. Гончаровым с соавторами [1] проведено сравнение трех популяций домашних северных оленей с использованием случайных праймеров. Выявлены различия RAPD-спектров при анализе частот встречаемости ДНК-фрагментов. Рассчитаны популяционно-генетические параметры.

Т. М. Романенко с соавторами [4] исследовала популяции домашнего северного оленя о. Колгуев с целью оценки генетической структуры по полиморфизму межмикросателлитных последовательностей ДНК.

На Аляске проводятся сравнительные исследования митохондриальной ДНК и микросателлитов ДНК у домашних и диких северных оленей [9]. Предсказание индивидуальной генетической предрасположенности к инфекции на основе последовательности ДНК является сложным процессом и требует специфических знаний об ассоциациях генотип (фенотип) в популяциях, подвергающихся влиянию разнообразных факторов внешней среды. Один из путей идентификации этих ассоциаций начинается с исследований по типу «случай-контроль» генных районов, которые имеют фундаментальные биологические взаимосвязи с фенотипом [13].

В последние годы получили распространение методы, основанные на анализе однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) различных генов. ОНП – это замены нуклеотидов в последовательности ДНК, частота которых в популяции может варьировать в широких пределах [3]. Для выявления ассоциаций «генотип-фенотип» в исследованиях по типу «случай-контроль» предложены две общие стратегии для исследования ОНП маркеров. Первый, прямой подход, ставит цель идентифицировать каждый ОНП на протяжении всего гена-кандидата для прямой идентификации, предрасполагающей к заболеванию мутации. Второй, косвенный подход, ставит целью идентифицировать фракцию ОНП в районе гена-кандидата и выявить мутацию, предрасполагающую к заболеванию, через сцепленное неравновесие. Последний подход более распространен, так как он требует небольшого числа ОНП и способен зафиксировать аллельные ассоциации с предрасполагающими к заболеванию мутациями в более широком геномном районе. Когда последний подход сочетается с хорошо организованными исследованиями «случай-контроль», ассоциация может быть зафиксирована, если маркерный аллель встречается с существенно более



высокой частотой у пораженных индивидуумов, по сравнению с контрольными особями.

У северных оленей ОНП маркеры, имеющиеся у крупного рогатого скота, отсутствуют, поскольку распределение их на хромосоме даже у близкородственных видов может не совпадать [11].

В связи с этим, особый интерес представляют гены хемокинов, которые ответственны за активацию лейкоцитов и формирование иммунного ответа хозяина на инфекцию [12]. Полиморфизмы этих генов могут быть перспективными генетическими маркерами для генетического анализа экотипов и породных групп северных оленей. Ранее в 3'-нетранслируемой области гена *GRO1* обнаружено два ОНП, представленные у некоторых пород крупного рогатого скота с высокой частотой [6, 10].

В настоящем исследовании осуществлен анализ нуклеотидной последовательности нетранслируемой области гена *GRO1* северного оленя для выявления потенциальных ОНП.

Целью работы является создание банка образцов ДНК, отражающего генетическое разнообразие популяции северного оленя и амплификация с помощью полимеразной цепной реакции фрагмента ДНК гена *GRO1*, участвующего в формировании врожденного иммунитета к инфекционным заболеваниям у крупного рогатого скота.

**Материал и методика исследований.** В соответствии с поставленными задачами исследование проводилось на северных оленях ненецкой аборигенной породы. Взятие крови проводилось в декабре месяце из шейной вены (*V. Saphena*) с помощью иглы и собирали в стеклянные пробирки, которые замораживали для транспортировки в г. Новосибирск. Кровь хранилась в холодильниках до проведения анализов. Кровь брали у важенок (3–12 лет), быков-кастратов (4–15 лет) и телят (6–7 мес.).

Выделение тотальной ДНК из крови проводили с помощью экстракции фенолом и хлороформом по стандартной методике с собственными модификациями. Пробу крови (10 мл или менее) переносили в гомогенизатор Поттера, добавляли примерно 1 объем буфера «А» (0.01М Трис-НСl, рН 7.5; 10мМ NaCl; 3мМ MgCl<sub>2</sub>) и сгустки растирали до

однородной массы, затем центрифугировали 20–30 мин. при 4000 об./мин. Надосадочную жидкость удаляли и осадки дважды промывали 10 мл буфера «А» (центрифугировали 15 мин. при 4000 об./мин.). После этого к осадкам добавляли около 1 мл буфера «В» (0.05М Трис-НСl, рН 8.0; 100мМ NaCl; 10мМ EDTA), 40 мкл 20% SDS и 3 мг протеиназы и проводили лизис при 37–45 °С в течение ночи. Затем к лизированной клеточной массе добавляли по 100 мкл 5М NaCl и проводили очистку от белков с помощью последовательной экстракции фенолом, смесью фенол/хлороформ (1:1) и хлороформом, добавляя каждый раз по 750 мкл органического реагента к водной фазе и центрифугируя 10 мин. при 6000 об./мин. После этого проводили осаждение ДНК добавлением к водной фазе 750 мкл изопропилового спирта (инкубировали 1 час при –20 °С). Затем центрифугировали 15 мин. при 12 000 об./мин. и промывали осадок 2–3 раза 75% этанолом, высушивали осадок примерно 30 мин. при 56 °С и растворяли в 200 мкл ddH<sub>2</sub>O. Пробы ДНК хранили при температуре –20 °С. Всего было выделено 148 образцов ДНК.

**Амплификация фрагмента ДНК гена *GRO1* с помощью полимеразной цепной реакции.** Фрагмент ДНК длиной 266 п.н., содержащий часть 3'-нетранслируемой области гена, амплифицировали с использованием праймеров:

164-5'-TTTATTTATGTTTCAAAGCCTGTG-3'-189;

430-5'-TATCTGTTTGCTTGAACCTCCAC-3'-407.

Позиции указаны в соответствии с нумерацией нуклеотидов в амплификате фрагмента к ДНК гена *GRO1* (growth-related protein 1 gene) крупного рогатого скота *Bos taurus* в базе нуклеотидных последовательностей GenBank Национального центра биотехнологической информации США (идентификационный номер AF140641). Подбор структуры олигонуклеотидных праймеров проводили с помощью компьютерных программ Oligo и VectorNTI 5.2 (<http://www.oligo.net/>; <http://www.invitrogen.com/content.cfm?pageID=10352>).

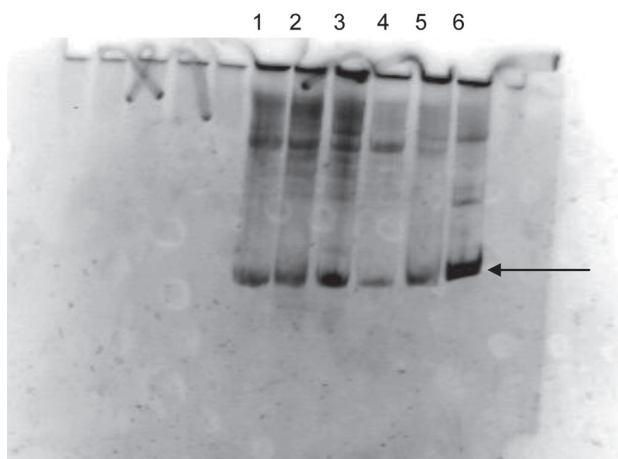
Синтез олигодезоксирибонуклеотидов осуществляли твердофазным Н-фосфонатным методом на автоматическом синтезаторе модели АСМ-102у (ТОО БИОСЕТ).

Полимеразную цепную реакцию проводили на ДНК-амплификаторе Терцик («ДНК-Технология», г. Москва). Режим амплификации: денатурация при 95 °С (5 мин.); затем 10 циклов, включающих денатурацию при 94 °С (1 мин.), отжиг при 54 °С (1 мин.) и элонгацию при 72 °С (1 мин.); далее 25 циклов, включающих денатурацию при 94 °С (30 сек.), отжиг при 52 °С (30 сек.) и элонгацию при 72 °С (30 сек.).

Полученные продукты амплификации анализировали с помощью вертикального электрофореза в 4% полиакриламидном геле (Остерман, 1983). Для нанесения проб использовали буфер (6х), содержащий 0,25% бромфенолового синего, 0,25% ксилोलцианола и 30% глицерина. Электрофорез проводили в течение 30 мин. при мощности тока 25 Вт в трис-боратном буфере. Гель окрашивали бромистым этидием и фотографировали при ультрафиолетовом освещении с помощью геле-документирующей системы («БиоКом», г. Москва).

Пример анализа продуктов амплификации приведен на рис. 1.

**Результаты исследования.** Сравнение последовательности амплифицированного фрагмента северного оленя размером 266 п.н. с последовательностью 3'-нетранслируемой области гена *GRO1* крупного рогатого скота выявило совпадение в 95% позиций (рис. 2). Несовпадения связаны с наличием делеций С и А в позициях 71 и 240, вставок С и Т в позициях 74 и 242, нуклеотидных замен в позициях 58, 81, 90, 109, 150 и 194 п.н. 95. Высо-



**Рис. 1.** Анализ продуктов амплификации фрагмента ДНК гена *GRO1* с помощью полимеразной цепной реакции (дорожки 1–5 — ДНК северных оленей, дорожка 6 — ДНК крупного рогатого скота (контроль)). Фрагмент размером 266 п.н. обозначен стрелкой

кая степень гомологии 3'-нетранслируемой областью гена *GRO1* крупного рогатого скота свидетельствует, что секвенированный фрагмент ДНК действительно является результатом амплификации соответствующего района гена *GRO1* северного оленя.

Следует отметить, что изучение генома северного оленя *Rangifer tarandus*, особенно его транскрибируемой части, в настоящее время в мире лишь начинается. Так, в базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) для этого вида представлены лишь две нуклеотидные последовательности, относящиеся к мРНК двух генов: мРНК гена бета-дефенсина-1 (372 п.н.) и мРНК гена костно-

```

Олень
TTTATTTATGTTTCAAAGCCTGTGTATTGATATTCTAATATTTAAAGGTGTGAATGTATT 60
КРС.....G.....224
Олень
TGGCAGTTCTCTGGACTGTTAGTTTCAAAATTTATTTTATGTTAACTCAAAGTTAGTT119
КРС.....Т.....С.....G.....Т.....283
Олень
TGATCCTGACTGTTATTTAATTTGAAGATGATGTGTTTAAAGTGTCTTCACTTATTA179
КРС
СА.....G.....343
Олень
СТАТТТТGGGGAGGGGGTATTCCACACTGТАCTATCCACTATAGTAAAGGCTAGAGACA239
КРС.....А.....403
Олень GTTGTGGAGGGTTCAAGCAAACAGATA 266
КРС А 430

```

**Рис. 2.** Выровненные последовательности 3'-нетранслируемой области гена *GRO1* северного оленя (собственные данные) и крупного рогатого скота (последовательность AF140643 из базы данных GenBank). Гомологичные нуклеотиды обозначены точкой, делеции и инсерции – прочерком

го морфогенетического белка-3b (1647 п.н.). Определенная нами нуклеотидная последовательность части 3'-нетранслируемой области гена *GRO1* в некоторой степени дополняет имеющуюся информацию.

Нуклеотидные последовательности образцов ДНК от всех восьми животных оказались полностью идентичными. Таким образом, нами не выявлено наличие ОНП маркеров в секвенированном фрагменте 3'-нетранслируемой области гена *GRO1* северного оленя. У северных оленей ОНП маркеры, имеющиеся у крупного рогатого скота (рис. 2), отсутствуют, поскольку распределение их на хромосоме, даже у близкородственных видов, может не совпадать [13].

Полученная нами информация о нуклеотидной последовательности необходима для оптимального дизайна праймеров и зондов при молекулярно-генетическом анализе этого района ДНК у северного оленя и других видов. Информация об отсутствии ОНП у северного оленя в дальнейшем позволяет избежать феномена отсутствия амплификации одного из аллелей. В этом случае животные с гетерозиготным генотипом могут быть ошибочно идентифицированы как гомозиготы. Считается, что отсутствие амплификации одного из аллелей возникает при наличии неизвестного ОНП в месте связывания ДНК с праймером [10]. Распаривание нуклеотидов между матрицей ДНК и праймером может дестабилизировать формирование ДНК-дуплекса и таким образом снизить амплификацию гаплотипа, содержащего один из аллелей с неизвестным ОНП. Наше исследование показывает, что если у северного оленя будет найден ОНП в этом районе ДНК, то при его анализе можно не опасаться отсутствия амплификации одного из аллелей, поскольку маловероятно, чтобы в таком консервативном районе рядом находились два ОНП.

#### Выводы:

1) определена часть нуклеотидной последовательности 3'-нетранслируемой области гена *GRO1* северного оленя *Rangifertarandus* размером 266 п.н.;

2) последовательности ДНК 3'-нетранслируемой области гена *GRO1* северного оленя и крупного рогатого скота крайне консервативны, что свидетельствует в пользу функциональной важности этого участка гена у представителей двух видов;

3) ОНП в 3'-нетранслируемой области гена *GRO1* северных оленей ненецкой породы не обнаружены. Возможно, они представлены в популяции с низкой частотой. Информация может быть полезна при планировании дорогостоящих исследований по оценке генетических различий между популяциями северного оленя.

#### Литература

1. Гончаров В. В., Митрофанова О. В., Деметьева Н. В. и др. Оценка генетического разнообразия домашнего северного оленя в Красноярском крае с использованием RAPD-анализа // Достижения науки и техники АПК. 2009. № 6. С. 43–45.
2. Кол Н. В., Королев А. Л., Захаров И. А. Полиморфизм митохондриальной ДНК в тувинской популяции северного оленя (*Rangife tarandus* L.) // Генетика. Т. 42. 2006. № 1. С. 110–112.
3. Кофиади И. А., Ребриков Д. В. Методы детекции олигонуклеотидных полиморфизмов: аллель-специфичная ПЦР и гибридизация с олигонуклеотидной пробой // Генетика. Т. 42. 2006. № 1. С. 22–32.
4. Романенко Т. М., Калашникова Л. А., Филиппова Г. И., Лайшев К. А. Генетическая структура популяции северных оленей о. Колгуев Ненецкого автономного округа // Достижения науки и техники АПК. 2014. № 4. С. 68–70.
5. Шубин П. Н., Ефимцева Э. А. Биохимическая и популяционная генетика северного оленя. Л.: Наука, 1988. – 103 с.
6. Юдин Н. С., Васильева Л. А., Нефедова М. В. и др. Характеристика генофондов российских пород крупного рогатого скота и свиней по полиморфизмам генов врожденной резистентности к инфекционным заболеваниям // Динамика генофондов растений, животных и человека: материалы отчета конференции. М., 2005. С. 99–101.
7. Южаков А. А. Факторы породообразования в северном оленеводстве // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2006. № 1. С. 68–75.
8. Южаков А. А., Мухачев А. А., Шубин П. Н. Хозяйственное использование и экотипы северных оленей ненецкой породы // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 1994. № 1–2. С. 53–58.