

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра молекулярной биологии**

ИВАНОВА
Екатерина Вадимовна

**АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ГЕФЕСТИНА *HER1*
НА X-ХРОМОСОМЕ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ
БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ К ДИКИМ ИЛИ ДОМАШНИМ
ПРЕДСТАВИТЕЛЯМ ВИДА *SUS SCROFA***

Дипломная работа

Научный руководитель:
к.б.н., научный сотрудник
лаборатории генетической и
клеточной инженерии
ГНУ «Институт генетики и
цитологии» НАН Беларуси
Кипень Вячеслав Николаевич

Допущена к защите

« ____ » _____ 2019 года

Зав. кафедрой молекулярной биологии
Доктор биологических наук, профессор
_____ А.Н Евтушенков

г. Минск, 2019

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 58 с., 19 рис., 13 табл., 31 ист.

Susscrofascrofa, *Susscrofadomesticus*, полиморфизм, дифференциация, ПДРФ-ПЦР, конкурентная аллель-специфическая ПЦР (KASP), плавление ампликона с высоким разрешением (HRM), генотипирование *insilico*.

Объект исследования – образцы биологического материала (ушная раковина или мясная вырезка) дикого кабана (*Susscrofascrofa*) и домашней свиньи (*Susscrofadomesticus*).

Цель работы: определить дифференцирующий потенциал полиморфизма гена гефестина *HEPH* на X-хромосоме для установления принадлежности биологических образцов к диким или домашним представителям вида *Susscrofa* и охарактеризовать точность модели для различения данных подвидов.

Были использованы методы: генотипирование *insilico* (SRA-Blat), ПДРФ-ПЦР, конкурентная аллель-специфическая ПЦР (KASP, *kompetitiveallelespecific PCR*), плавление ампликона с высоким разрешением (HRM, *HighResolutionMelting*), ROC-анализ, многофакторное сокращение размерности (MDR, *Multifactordimensionalityreduction*).

На практическом материале (образцы дикого кабана и 7 основных пород домашней свиньи, разводимых в Республике Беларусь) подтвержден высокий дифференцирующий потенциал полиморфизма H3GA0051814 (ген *HEPH*). Предложена тест-модель из трех SNP – H3GA0051814 (*HEPH*), с.367G>A (*MC1R*) и g.299084751C>T (*NR6A1*), – по дифференциации дикого кабана и домашней свиньи, которая выгодно отличается от имеющихся подходов, в первую очередь, своей универсальностью (подходит для дифференциации в том числе и домашних пород свиней азиатского происхождения), а также высокими точностью (99,14%) и специфичностью (100%). С использованием HRM-анализа разработан быстрый и простой подход к дифференциации на основании предложенной тест-модели, который призван сократить временные и финансовые затраты на молекулярно-генетическое тестирование, а также снизить риск кросс-контaminaции, т.к. процесс является одностадийным (исключены этапы рестрикции и электрофореза).

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 58 с., 19 мал., 13 табл., 31 крыніц.

Sus scrofa scrofa, *Sus scrofa domesticus*, палімарфізм, дыферэнцыяцыя, ПДРФ-ПЦР, канкурэнтная алель-спецыфічная ПЦР (KASP), плаўленне амплікона з высокім дазволам (HRM), генотыпіраванне *in silico*.

Аб'ект даследавання - ўзоры біялагічнага матэрыялу (вушная ракавіна або мясная выразка) дзікага (*Sus scrofa scrofa*) і хатняй свінні (*Sus scrofa domesticus*).

Мэта працы: вызначыць дыферэнціруючы патэнцыял палімарфізму гена гэфестина *HERN* на X-храмасоме для ўстанаўлення прыналежнасці біялагічных узораў да дзікіх або хатніх прадстаўнікам выгляду *Sus scrofa* і ахарактарызаваць дакладнасць мадэлі для адрознівання дадзеных падвідаў.

Былі выкарыстаны метады: генотыпіраванне *in silico* (SRA-Blat), ПДРФ-ПЦР, канкурэнтная алель-спецыфічная ПЦР (KASP, *kompetitiveallelespecificPCR*), плаўленне амплікона з высокім дазволам (HRM, *HighResolutionMelting*), ROC-аналіз, шматфактарнага скарачэнне памернасці (MDR, *Multifactor dimensionality reduction*).

На практычным матэрыяле (ўзоры дзіка і 7 асноўных парод хатняй свінні, якія разводзяцца ў Рэспубліцы Беларусь) пацверджаны высокі дыферэнцыруючы патэнцыял палімарфізму H3GA0051814 (ген *HERN*). Прапанаваная тэст-мадэль з трох SNP - H3GA0051814 (*HERN*), с.367G> A (MC1R) і g.299084751C> T (NR6A1), - па дыферэнцыяцыі дзіка і хатняй свінні, якая выгадна адрозніваецца ад наяўных падыходаў, у першую чаргу, сваёй універсальнасцю (падыходзіць для дыферэнцыяцыі ў тым ліку і хатніх парод свіней азіяцкага паходжання), а таксама высокімі дакладнасцю (99,14%) і спецыфічнасцю (100%). З выкарыстаннем HRM-аналізу распрацаваны хуткі і просты падыход да дыферэнцыяцыі на падставе прапанаванай тэст-мадэлі, які закліканы скараціць часавыя і фінансавыя затраты на малекулярна-генетычнае тэставанне, а таксама знізіць рызыку крос-кантамінацыі, бо працэс з'яўляецца аднастадыйнай (выключаны этапы рэстрыкцыі і электрофарэзу).

ABSTRACT

Thesis 58 p., 19pic., 13 tab., 31sources.

Susscrofascrofa, Susscrofadomesticus, polymorphism, differentiation, RFLP-PCR, competitive allele-specific PCR (KASP), high resolution amplicon melting (HRM), genotyping in silico.

The object of study - samples of biological material (auricle or meat tenderloin) of wild boar (Susscrofascrofa) and domestic pig (Susscrofadomesticus).

Objective: to spot the differentiating potential of the polymorphism of the gene Hefestine HEPH on the X chromosome to establish the affiliation of biological samples to wild or domestic members of the species Susscrofa and to characterize the accuracy of the model for distinguishing these subspecies.

The following methods were used: genotyping in silico (SRA-Blat), RFLP-PCR, competitive allele-specific PCR (KASP, kompetitive allele specific PCR), high-resolution melting of an amplicon (HRM), ROC-analysis, multifactorial reduction dimensions (MDR, Multifactor dimensionality reduction).

The high differentiating potential of the H3GA0051814 polymorphism (HEPH gene) was confirmed on the practical material (samples of wild boar and 7 main breeds of domestic pigs bred in the Republic of Belarus). A test model of three SNPs - H3GA0051814 (HEPH), c.367G> A (MC1R) and g.299084751C> T (NR6A1) - for differentiating wild boar and domestic pig, which favorably differs from the existing approaches, in the first place , its versatility (suitable for differentiating including domestic breeds of pigs of Asian origin), as well as high accuracy (99.14%) and specificity (100%). Using HRM-analysis, a quick and simple differentiation approach was developed based on the proposed test model, which is designed to reduce the time and financial costs of molecular genetic testing, as well as reduce the risk of cross-contamination, because the process is one-step (eliminated restriction and electrophoresis steps).