

3. Култин А.Ю., Стороженко И.В. Применение частот встречаемости аллелей аутосомных STR-локусов для повышения идентификационной значимости результатов исследования ДНК: Методические рекомендации. – М.: ЭКЦ МВД России, 2013.

4. Кузнецов С.В. Судебно-медицинская статистическая оценка происхождения смешанных следов крови // Вестн. Сев.-Зап. гос. мед. ун-та им. И.И. Мечникова. 2016. Т. 8, № 1. 2016. С. 79-86.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ «НОВЫХ» SNP, ОБЛАДАЮЩИХ ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТЬЮ ДЛЯ РАЗЛИЧЕНИЯ ОСОБЕЙ *SUS SCROFA DOMESTICUS* И *SUS SCROFA SCROFA*

Кипень В.Н.¹, Снытков Е.В.²

¹ ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь», Минск, Республика Беларусь

² УО «Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова» БГУ, Минск, Республика Беларусь

Введение. Кабан европейский (*Sus scrofa scrofa*) является наиболее распространенным объектом, в отношении которого фиксируются факты незаконной охоты на территории Республики Беларусь. В ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь» (Минск, Республика Беларусь) с 2015 г. проводятся экспертные исследования по фактам браконьерства в отношении вида *Sus scrofa scrofa* с использованием метода ПДРФ-ПЦР. По состоянию на конец 2016 г. решение задачи по дифференциации дикого кабана от домашней свиньи осуществляется посредством анализа двух SNP: с.367G>A (*MC1R*) и г.299084751C>T (*NR6A1*). Точность дифференциации в этом случае составляет не менее 98,3%.

В то же время, как было первоначально показано в исследовании [1] и впоследствии подтверждено нами [2] с помощью биоинформатического анализа данных полногеномных проектов по секвенированию образцов вида *Sus scrofa*, существует достаточно большое количество альтернативных SNP, пригодных для решения той же задачи. Исследование полиморфных вариантов с.367G>A (*MC1R*) и г.299084751C>T (*NR6A1*) нашло свое развитие, в первую очередь, в контексте того факта, что эффект от нуклеотидных замен в данных локусах ассоциирован с фенотипическим проявлением: для *MC1R* – окрас кожи и волосяного покрова [3], для *NR6A1* – различное количество позвонков [4]. Однако значимые (т.е. пригодные для решения конкретной задачи, в нашем случае – дифференциация дикого кабана от домашней свиньи) миссенс-замены встречаются значительно реже, чем замены в интронных областях. Основное внимание при поиске «новых» SNP как раз и было сосредоточено на них, тем более что в существующих коммерческих чипах средней и высокой плотности (Pig_GSeek80K, Pig_Affu650k, Pig_Illu60Kv1, Pig_Illu60Kv2) они также количественно преобладают.

Цель и задачи. С учетом ранее полученных результатов [2] по анализу полиморфных вариантов из чипа Pig_Illu60K (Illumina) для образцов дикого кабана (24 шт.) и домашней свиньи (породы крупная белая, ландрас, дюрок, пьетрен, мейшань – 91 шт.) оценить дифференцирующий потенциал 25 SNP, расположенных на X-хромосоме в диапазоне 56716179-63109515.

Материалы и методы. Анализ был выполнен с помощью алгоритма SRA Nucleotide BLAST и программы BioEdit v.7.2.5. Количество включенных в анализ SNP – 25 (rs80801780, A/T, X:56716179; rs80817425, G/T, X:56777155; rs81473227, G/T, X:56808512; rs80903635, A/G, X:57672455; rs80891217, G/T, X:58094394; rs321949235, C/T, X:58412329; rs80924261, A/C, X:58568494; rs80985865, C/T, X:58594054; rs80987186, C/T, X:58828801; rs81473228, C/T, X:58911107; rs330095107, A/G, X:59339614; rs80936726, X:59374460; rs81473257, A/C, X:59411403; rs80803330, G/T, X:60471958; rs80981028, C/T, X:60656889; rs80998473, A/C, X:62086511; rs80979282, C/T, X:62216010; rs321294367, G/T, X:62342620; rs80925206, A/G, X:62429427; rs339458440, G/T, X:62454725; rs331950236, A/C, X:62473840; rs80980235, G/T, X:62629920; rs80843461, C/T, X:62650052; rs80862185, A/G, X:62675407; rs81473281, C/T, X:63109515); число полногеномных прочтений для дикого кабана – 24, для коммерческих пород домашней свиньи – 91 (крупная белая – 19, ландрас – 23, пьетрен – 6, дюрок – 28, мейшань – 15). Общее количество проанализированных сиквенсов >16,0 млрд.

Основные результаты. Из 25 проанализированных SNP только для двух – rs81473228 (H3GA0051811) и rs80981028 (H3GA0051814) – была показана строгая специфичность: частота специфической аллели для дикого кабана составила 82,6% и 87,5% соответственно. Для всех коммерческих пород в рамках данного исследования было показано наличие только одного генотипа.

Дополнительный анализ с использованием алгоритма MDR (Multifactor dimensionality reduction, [5]), направленный на оценку возможного совместного наследования, выявил наличие строгой сцепленности между локусами (вероятность рекомбинации локусов в мейозе составляет менее 2%).

Полиморфный вариант rs81473228 (H3GA0051811) расположен в интронной области гена *HEPN* (Gene ID: 100512938). Функция ортолога *HEPN* у человека схожа с функцией церулоплазмينا, белок гефестин содержит гомологичный церулоплазмину активный центр и участки связывания меди. Гефестин участвует в метаболизме железа – он окисляет Fe²⁺ в Fe³⁺, является ферментом ферроксидазой и содержит 6 ионов меди.

Выводы. Таким образом, используя современные алгоритмы анализа «сырых» данных (SRA) проектов полногеномного секвенирования, нам удалось описать

новые SNP – rs81473228 (H3GA0051811) и rs80981028 (H3GA0051814), – которые отличаются высокой частотой специфической для дикого кабана аллели (более 80%). Анализ данных SNP может быть использован при решении задачи по дифференциации дикого кабана от домашней свиньи.

Список используемой литературы

1. Ramos, A.M. Identification of high utility SNPs for population assignment and traceability purposes in the pig using high-throughput sequencing / Ramos A.M., Megens H.J., Crooijmans R.P. [et al.] // *Anim Genet.* 2011 Dec; 42(6): 613-20. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02198.x. Epub 2011 Apr 25.

2. Кипень, В.Н. Анализ полногеномных SRA-данных проектов NGS для решения криминалистической задачи дифференциации диких кабанов и домашних свиней на основе уникальных SNP / Кипень В.Н., Котова С.А. // 4-я Всероссийская научно-практическая конференция по

геномному секвенированию «Геномное секвенирование – 2016», Москва, 2016, с. 21.

3. Fajardo, V. Differentiation of European wild boar (*Sus scrofa scrofa*) and domestic swine (*Sus scrofa domestica*) meats by PCR analysis targeting the mitochondrial D-loop and the nuclear melanocortin receptor 1 (MC1R) genes / Fajardo V., González I., Martín I. [et al.] // *Meat Sci.* 2008 Mar; 78(3): 314-22. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.06.018. Epub 2007 Jul 5.

4. Fontanesi, L. Differentiation of meat from European wild boars and domestic pigs using polymorphisms in the MC1R and NR6A1 genes / Fontanesi L., Ribani A., Scotti E. [et al.] // *Meat Sci.* 2014 Dec; 98(4): 781-4. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.07.026. Epub 2014 Aug 5.

5. Moore, J.H. A flexible computational framework for detecting, characterizing, and interpreting statistical patterns of epistasis in genetic studies of human disease susceptibility // *J Theor Biol.* 2006, p. 252-61.