

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ
АМПЛИФИКАЦИИ ФРАГМЕНТОВ ГЕНА
ЦИТОХРОМ В ДНК РЫБ, ОБИТАЮЩИХ НА
ТЕРРИТОРИИ ЕВРЕЙСКОЙ АВТОНОМНОЙ
ОБЛАСТИ**

КРАСИЛЬНИКОВА А.О.

**ИНСТИТУТ КОМПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА РЕГИОНАЛЬНЫХ
ПРОБЛЕМ ДВО РАН**



Систематика рыб семейства Cyprinidae по данным разных авторов

Подсемейства Cyprinidae		
Берг, 1940	Крыжанопский, 1947	Никольский, 1956
1) Hypophthalmichthyini	1) Barbini	1) Barbini
2) Psilorhynchini	2) Gobonini	2) Gobonini
3) Gobiobotiini	3) Leuciscini	3) Leuciscini
4) Cyprinini	4) Danionini	4) Cyprinini
		5) Chondrostomini
		6) Cultrini
		7) Rhodeini
		8) Hypophthalmichthyini
		9) Schizothoracini



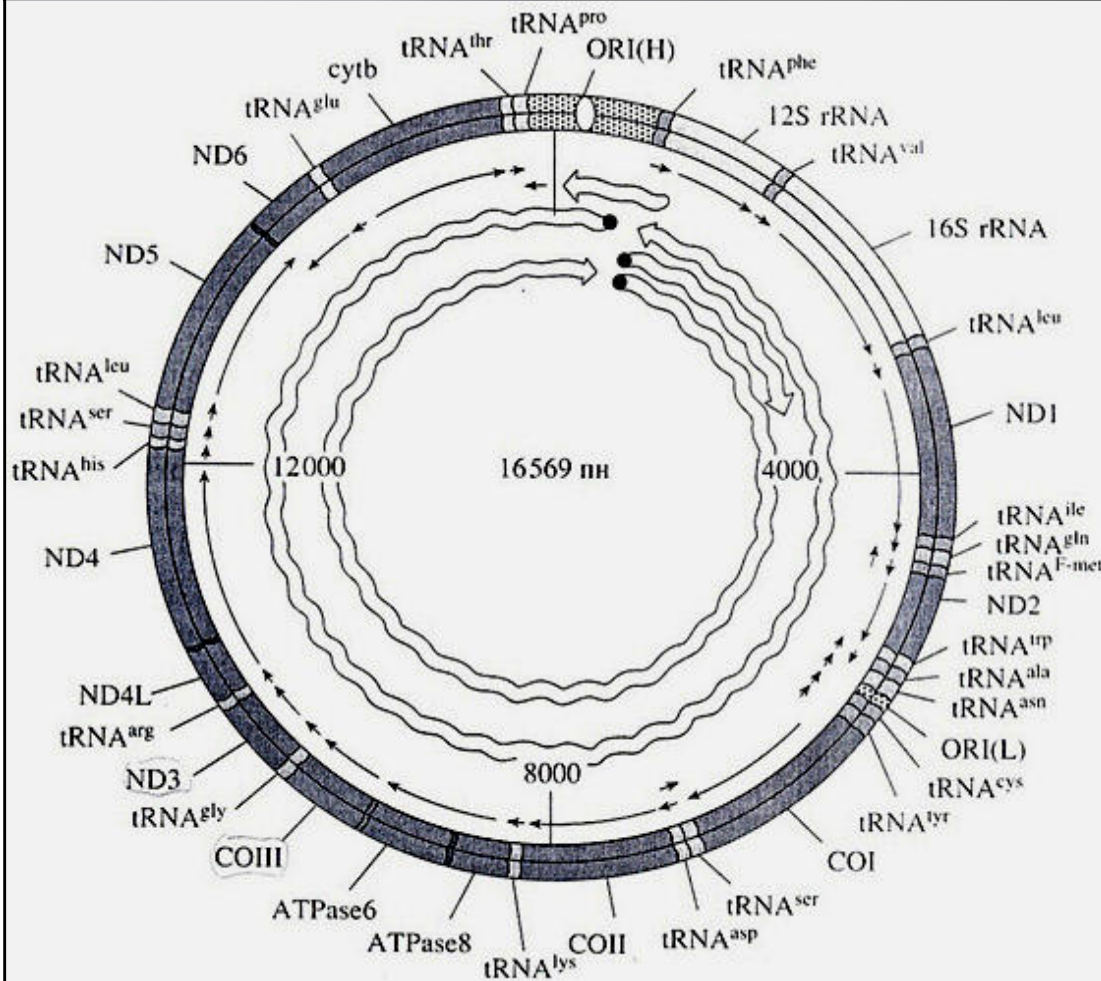
Отечественные данные (Никольский, 1971)	Данные ученых КНР (Рыбы провинции Хэйлунцзян, 1981)
Верхогляд <i>C. erythropterus</i>	Верхогляд <i>E. lishaeformis</i> Дунбэйский верхогляд <i>E. lishaeformis sungarinensis</i>
Монгольский краснопер <i>C. mongolicus</i>	Монгольский краснопер <i>C. mongolicus</i>
Горбушка <i>C. dabryi</i>	Темнохвостая горбушка <i>E. dabryi</i> Темнохвостая горбушка оз. Ханка <i>E. dabryi sinkaiensis</i> Остроголовая горбушка <i>E. oxucephalus</i>
Уклей <i>C. alburnus</i>	Красноперый уклей <i>C. erythropterus</i> Плоскотелый уклей <i>C. compressocorpus</i>
Черный амурский лещ <i>M. terminalis</i>	Черный амурский лещ <i>M. terminalis</i>
Белый амурский лещ <i>P. pekinensis</i>	Белый амурский лещ <i>P. pekinensis</i> <i>P. pekinensis strenosoma</i>
Корейская востробрюшка <i>H. leucisculus</i>	Корейская востробрюшка <i>H. leuciscus</i>
Уссурийская востробрюшка <i>H. lucidus</i>	Уссурийская востробрюшка <i>H. lucidus</i>
Буирнурская востробрюшка <i>H. leucisculus warpachowskii</i>	Буирнурская востробрюшка <i>H. leucisculus warpachowskii</i>
Обыкновенная востробрюшка <i>H. leucisculus leucisculus</i>	Обыкновенная востробрюшка <i>H. bleekeri bleekeri warpachowskii</i>
Желтощек <i>E. bambusa</i>	Желтощек <i>E. bambusa</i>
Мелкочешуйный желтопер <i>P. micrilepis</i>	Мелкочешуйный желтопер <i>P. microlepis</i>
Подуст-чернобрюшка <i>X. argentea</i>	Подуст-чернобрюшка <i>X. macrolepis</i>
Троегуб <i>O. unicrostris amurensis</i>	Троегуб <i>O. unicrostris amurensis</i>

Цель:

- ▣ Ревизия в систематике рыб среднего Приамурья на примере ЕАО на основе генетической variability митохондриальной ДНК.
- ▣ «Исследование фенотипических признаков не может предоставить всей информации о биоразнообразии и эволюции организмов» (Алтухов, 2003)



Схема кольцевой молекулы митохондриальной ДНК (Льюин, 1987)



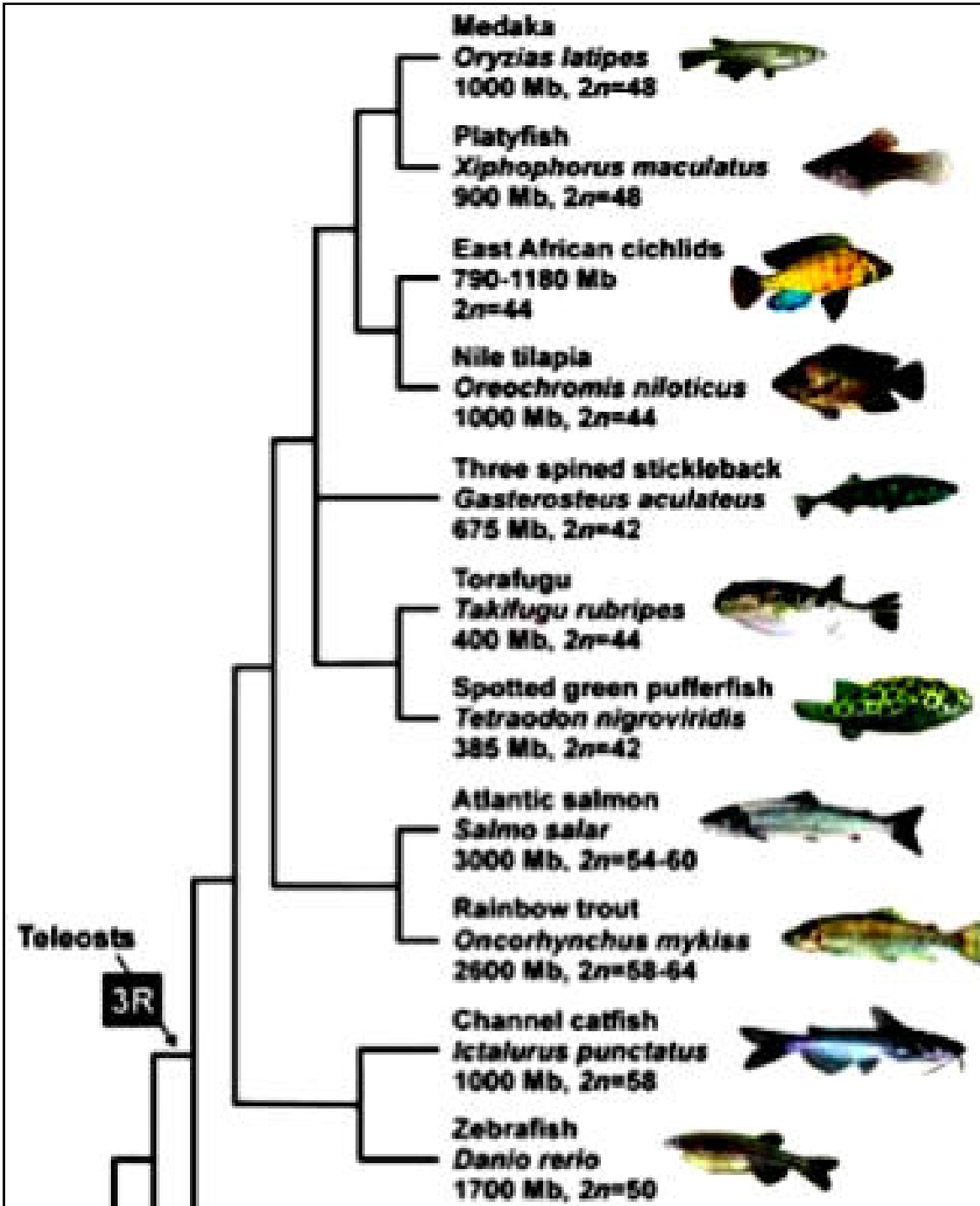
Быстрая эволюция

**Наследование по
материнской линии**

**Значительный
внутривидовой
полиморфизм**

Скорость нуклеотидных замен составляет 1-2% за 1 млн. лет

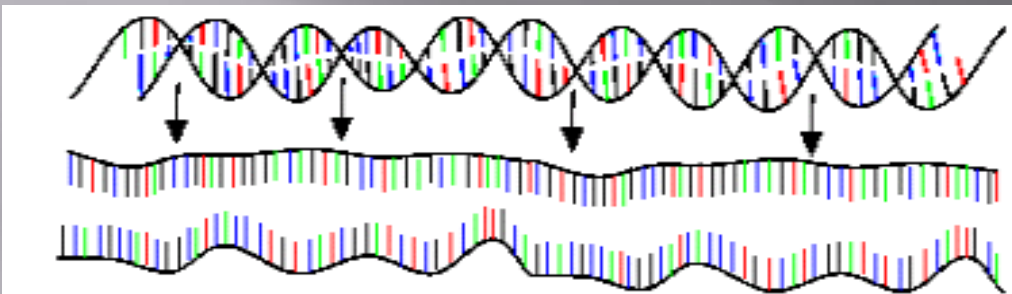
Филогенетическое древо
основанное на
изменчивости генов
митохондриальной ДНК



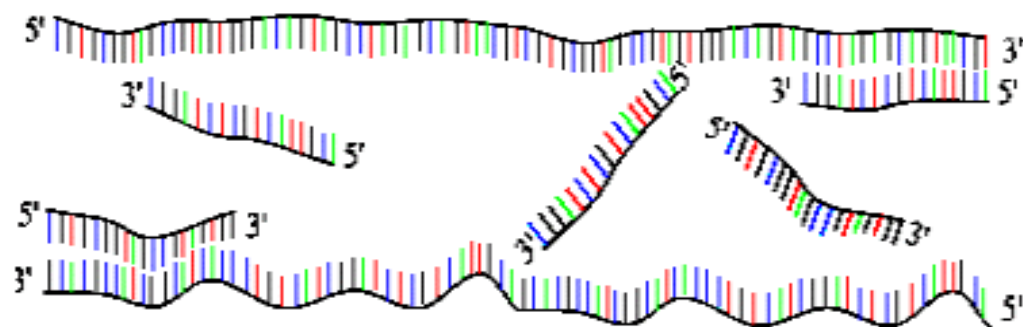
Задача настоящего этапа:

- ▣ Сравнительный анализ работы синтетических нуклеотидных праймеров, инициирующих синтез гена *cut* в мтДНК методами полимеразной цепной реакции и агарозного электрофореза.

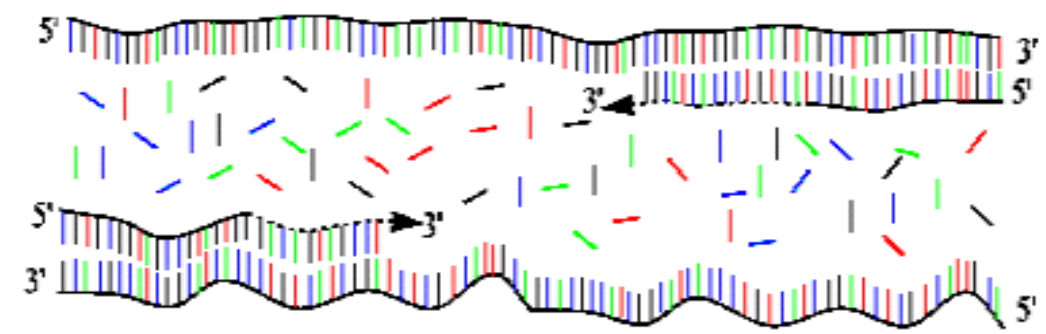
Схема процесса полимеразной цепной реакции



Этап 1: Денатурация
1 минута 94°C



Этап 2: Отжиг праймеров
45 секунд 54°C



Этап 3: Синтез цепи ДНК

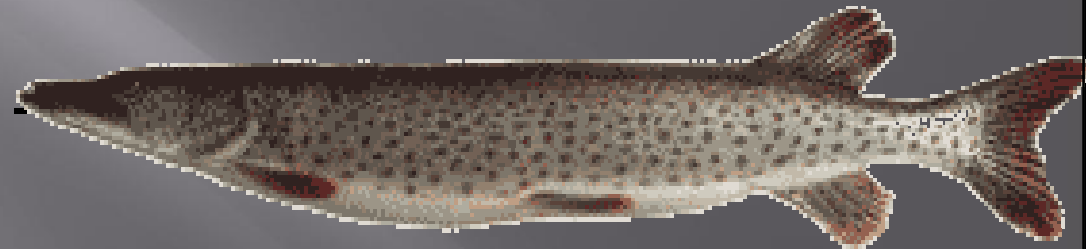
***Carassius gibelio* (Bloch, 1782) -
Карась серебряный**



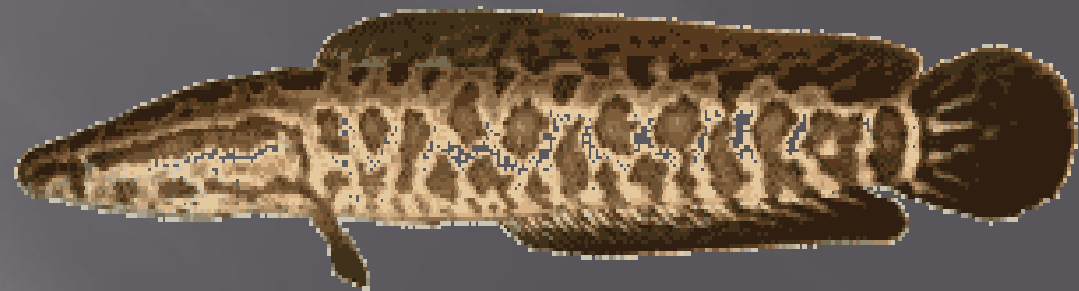
***Cyprinus carpio haemotopterus*
(Temminck et Schlegel, 1846) –
амурский сазан**



***Esox reichertii* (Dybowski, 1869) -
амурская щука**

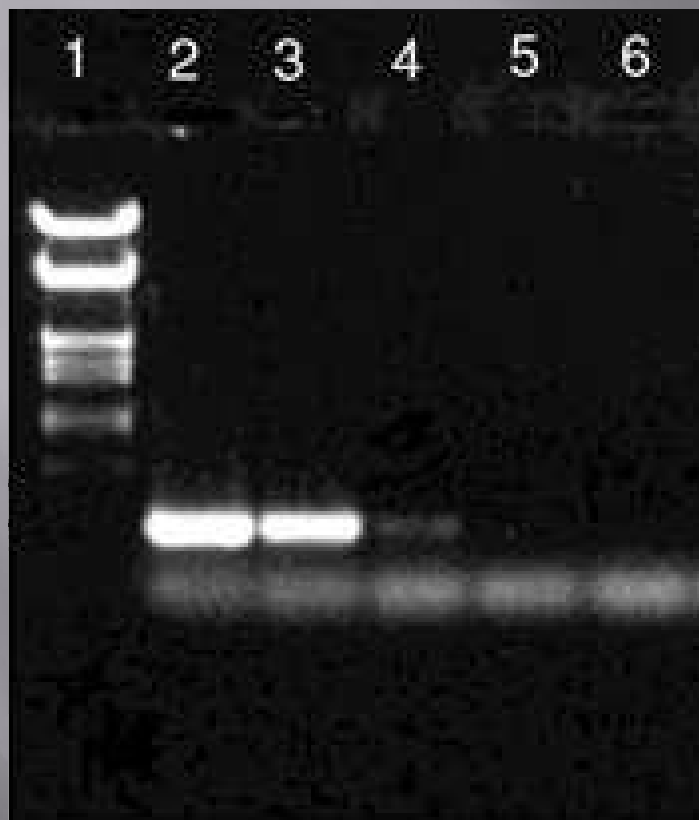


***Channa argus* (Cantor, 1842) –
змееголов**

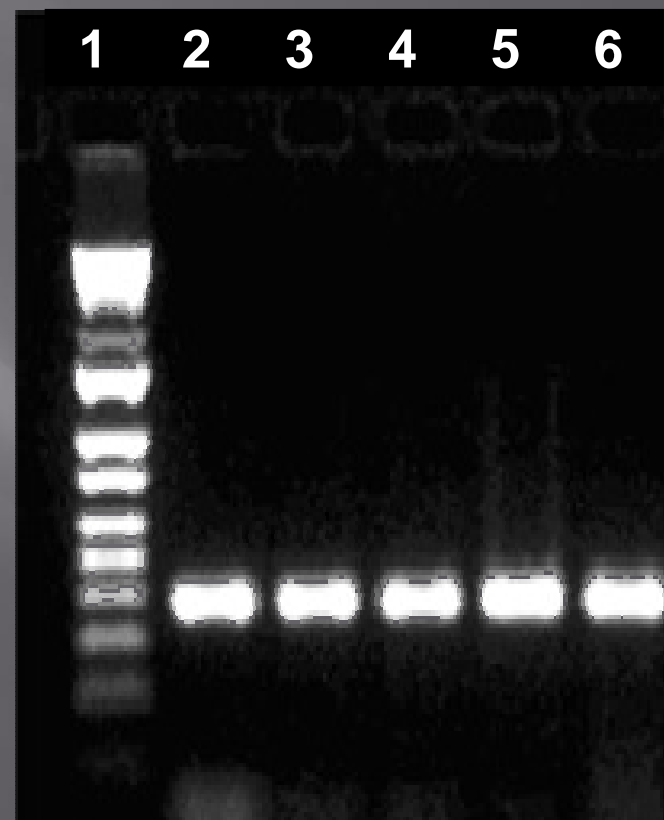


Проверка наличия амплификата в пробе ДНК *C. gibelio*
методом 1,5% агарозного электрофореза

Fish cyt b-F
Truc cyt b-R



Fish cyt b-F
THR Fish-2R



Результаты апробации праймеров

Смесь праймеров	Срабатывание праймеров			
	Род Carassius (5)*	Род Cyprinus (5)*	Род Esox (4)*	Род Channa (6)*
Fish cyt b-F THRFish-2R	+	+	+	+
Fish cyt b-F Truc cyt b-R	+	-	+	+
Fish cyt b-F THR Fish-R	-	-	+	-
Cag 1-F Cag 2-R	-	-	-	-

* - количество протестированных особей



Перспективы:

- ▣ Собрать коллекцию рыб
- ▣ Проанализировать ДНК
 - А) выделение
 - Б) амплификация
 - В) секвенирование генной последовательности
 - Г) анализ с помощью компьютерных программ
 - Д) построение филогенетической карты
- ▣ Сопоставить филогенетические схемы данного исследования с построениями других авторов, основанными на молекулярно-генетических, а также сравнительно-анатомических и остеологических анализах