

УДК 575.22:631.52:636.03

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ И В СЕЛЕКЦИИ

© 2013 г. Е.К. Хлесткина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: khlest@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 14 мая 2013 г. Принята к публикации 1 ноября 2013 г.

Еще в первые десятилетия развития генетики стало ясно, что генетические маркеры могут быть полезными при анализе сложных признаков. Однако низкая встречаемость и ряд других недостатков не позволили классическим генетическим маркерам, а впоследствии и белковым маркерам широко войти в селекционную практику. Последнее поколение генетических маркеров (молекулярные, или ДНК-маркеры) характеризуется более высокой частотой встречаемости в геноме и основано на универсальных, а значит широко востребованных и постоянно развивающихся методах анализа. Это стало залогом бурного развития направлений генетики и селекции, связанных с использованием ДНК-маркеров.

В настоящей статье рассматриваются основные типы молекулярных маркеров и направления их использования.

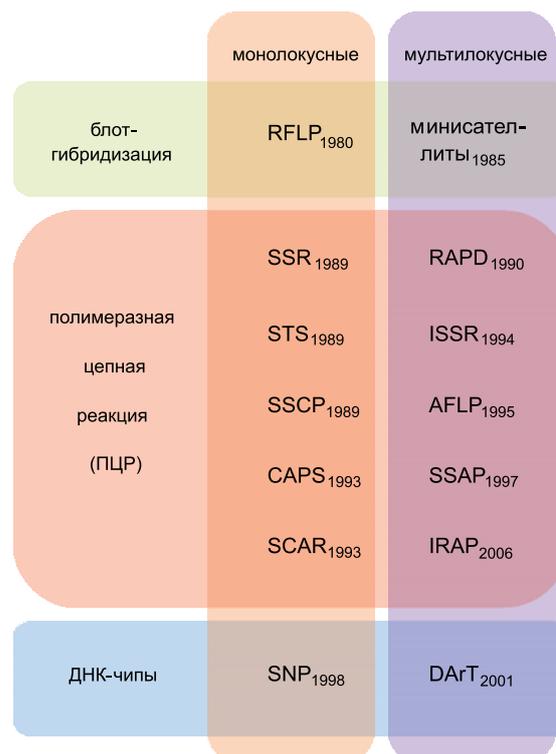
Ключевые слова: генетические маркеры, ДНК-маркеры, молекулярные маркеры, классификация ДНК-маркеров, картирование генома, отбор с помощью маркеров, геномная селекция.

Роль молекулярных маркеров в современной генетике трудно переоценить. С их помощью составлены подробные молекулярные карты генома человека и десятков видов растений и животных, на которые нанесены важнейшие гены, определяющие рост и развитие организмов, морфологические признаки, устойчивость к заболеваниям и другие свойства. Молекулярные маркеры широко используются в популяционной генетике, сравнительной генетике и геномике, в филогенетических исследованиях. Благодаря молекулярным маркерам расширяются возможности медицинской диагностики, появляются новые более точные методы паспортизации пород животных и сортов растений. Использование молекулярных маркеров позволяет значительно ускорять процесс селекции (Алтухов и др., 2002; Банникова, 2004; Сулимова, 2004; Смарагдов, 2009; Матвеева и др., 2011; Хлесткина, 2011).

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ: КЛАССИФИКАЦИЯ И ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ

Молекулярные маркеры (синоним – **ДНК-маркеры**) – это генетические маркеры, анализируемые на уровне ДНК. ДНК-маркеры являются третьим поколением генетических маркеров. Им предшествовали **белковые маркеры**, а еще ранее – **классические генетические маркеры**. Впервые теоретическое обоснование использованию генетических маркеров («сигналей») дал около века назад А.С. Серебровский: «... сигналами мы называем удобные для менделистических наблюдений альтернативные гены с более или менее известной локализацией, которые, не оказывая воздействия на изучаемый трансгрессирующий признак и влияя достаточно определенным образом, облегчают генетический анализ этого признака,

- **Классический генетический маркер** соответствует гену, аллели которого имеют четко выраженные отличия на уровне фенотипа.
- **Белковый маркер** соответствует гену, аллели которого имеют отличия (разную молекулярную массу) на уровне белкового продукта.
- **Молекулярный маркер** соответствует гену или некодирующему участку генома, разные варианты (аллели) которого отличаются на уровне ДНК. Отличия на уровне ДНК (**полиморфизм ДНК**) могут быть выявлены:
 - с помощью гибридизации с известными нуклеотидными последовательностями;
 - при секвенировании нуклеотидной последовательности;
 - при сравнении длины фрагментов, полученных с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР);
 - в результате обработки ДНК эндонуклеазами рестрикции.



позволяя следить за наследованием того участка хромосомы, в котором эти сигналы расположены» (Серебровский, 1970).

В настоящее время насчитывается несколько десятков типов молекулярных маркеров. Наиболее широко используемые ДНК-маркеры перечислены на рис. 1. Их разделяют на три группы, согласно основному методу анализа:

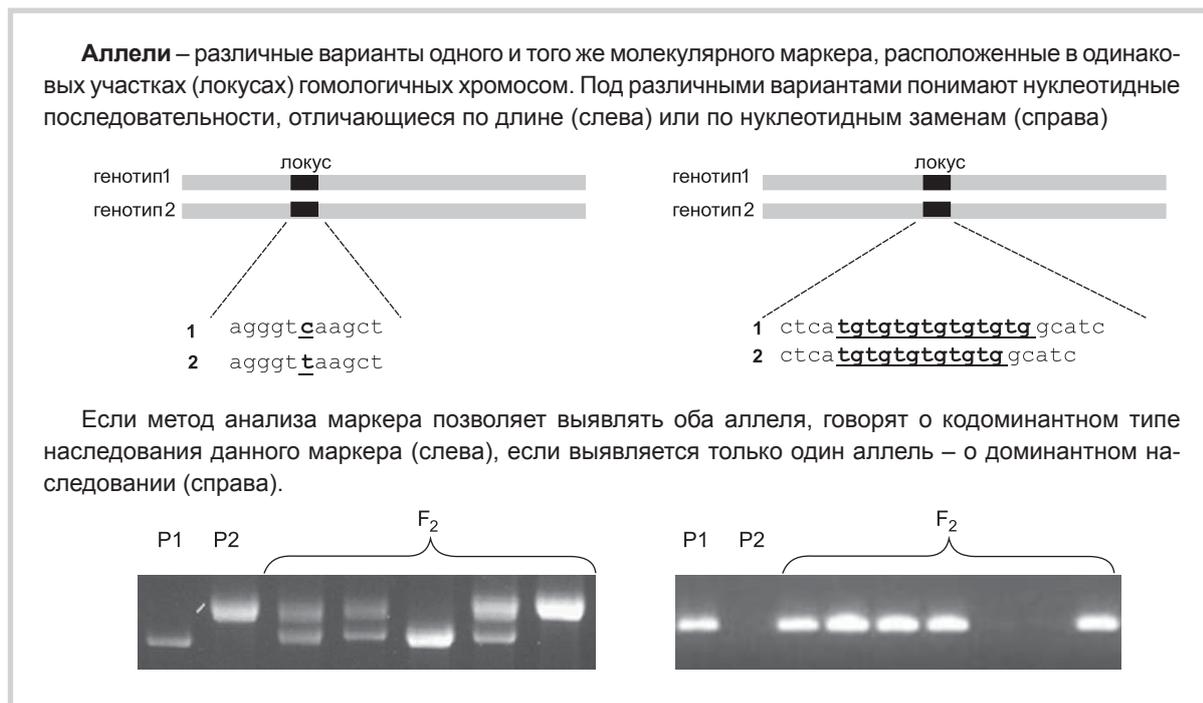
Рис. 1. Схематическая классификация молекулярных маркеров и год их первого упоминания в публикациях.

Слева указан основной метод, используемый для анализа данного класса маркеров.

маркеры, исследуемые с помощью (1) блот-гибридизации, (2) ПЦР и (3) ДНК-чипов.

Основные классы молекулярных маркеров

- **AFLP** (amplified fragment length polymorphism) – полиморфизм длины амплифицированных фрагментов.
- **CAPS** (cleaved amplified polymorphic sequences) – расщепленные амплифицированные полиморфные последовательности.
- **DArT** (diversity array technology) – ДНК-чип технология для изучения разнообразия.
- **IRAP** (inter-retrotransposon amplified polymorphism) – полиморфизм амплифицированных последовательностей между ретротранспозонами.
- **ISSR** (inter simple sequence repeats) – межмикросателлитные последовательности.
- **RAPD** (random amplified polymorphic DNA) – случайно амплифицированная полиморфная ДНК.
- **RFLP** (restriction fragment length polymorphism) – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов.
- **SCAR** (sequence characterized amplified region) – амплифицированная область, охарактеризованная нуклеотидной последовательностью.
- **SNP** (single-nucleotide polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм.
- **SSAP** (sequence-specific amplification polymorphism) – полиморфизм сиквенс-специфичной амплификации.
- **SSCP** (single strand conformation polymorphism) – полиморфизм конформации одноцепочечной ДНК.
- **SSR** (simple sequence repeats) – простые повторяющиеся последовательности (микросателлиты).
- **STS** (sequence tagged site) – сайт/локус, маркированный нуклеотидной последовательностью.



Данная классификация отражает процесс «эволюции» ДНК-маркеров. Первая из трех перечисленных выше групп представляет собой первое поколение ДНК-маркеров, получивших широкое распространение в 1980-е годы. В 1990-е годы ключевые позиции заняли ПЦР-маркеры, в 2000-е годы их существенно потеснили молекулярные маркеры, основанные на использовании ДНК-чипов. В последние 2–3 года для анализа полиморфизма ДНК все чаще используют метод прямого секвенирования генома или его отдельных участков.

К молекулярным маркерам наравне с классическими генетическими применяют термины «локус», «аллель», «доминантный», «кодоминантный». Молекулярные маркеры подразделяют на монолокусные и мультилокусные (рис. 2). Монолокусные маркеры наследуются чаще всего по кодоминантному типу, мультилокусные – по доминантному.

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ И ПРЕИМУЩЕСТВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

Среди молекулярных маркеров различают маркеры с известной локализацией (в определенной хромосоме или участке хромосомы, или вблизи конкретного гена) и маркеры, о локализации которых ничего не известно (как правило, это мультилокусные маркеры).

Как те, так и другие находят свое применение в генетических исследованиях и в селекции. Молекулярные маркеры с неизвестной локализацией нельзя использовать для маркирования определенного гена или хромосомы, зато их успешно применяют в филогенетических исследованиях, для паспортизации сортов растений и пород

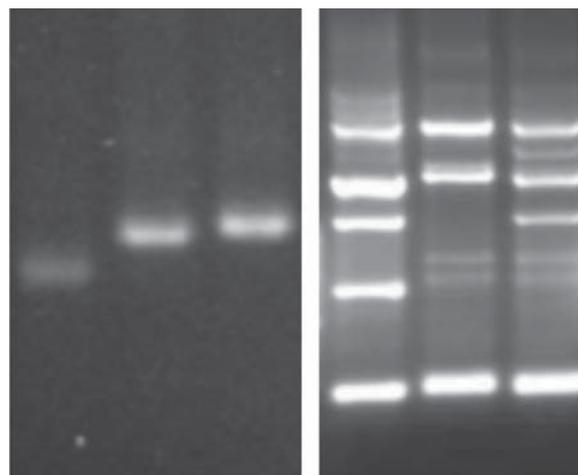


Рис. 2. Примеры монолокусного (слева) SSR-маркера и мультилокусного (справа) RAPD-маркера.

Разделение ПЦР-фрагментов в 5 %-м и 2 %-м агарозном геле соответственно.

животных. Некоторые мультилокусные маркеры подходят для создания генетических карт (DArT- и AFLP-маркеры), а также для геномной селекции (DArT). На выбор ДНК-маркеров подходящего типа для решения конкретной задачи влияют и такие характеристики, как уровень внутривидового полиморфизма и возможность автоматизации процесса анализа полиморфизма ДНК (рис. 3).

С внедрением ДНК-маркеров наибольший размах приобрели среди прочих такие направления, как построение молекулярных карт отдельных хромосом и геномов, **картирование** на них генов и локусов количественных признаков (**QTL**). В 1980 г. Дэвид Ботштейн (фото 1) совместно с Р. Уайтом, М. Школьником и Р. Дэвисом разработал первые монолокусные генетические маркеры на основе анализа полиморфизма ДНК (а именно полиморфизма длины рестриционных фрагментов – RFLP) и показал, что с их помощью можно проводить построение генетических карт (Botstein *et al.*, 1980).

За этой пионерской работой последовало создание RFLP-карт различных видов животных и растений. Насколько эффективно RFLP-маркеры позволили продвинуться в картировании геномов, иллюстрирует следующий пример. Первая RFLP-карта генома пшеницы (Liu, Tsunewaki, 1991) содержала в 1,5 раза больше локусов и была в 1,2 раза длиннее прежней

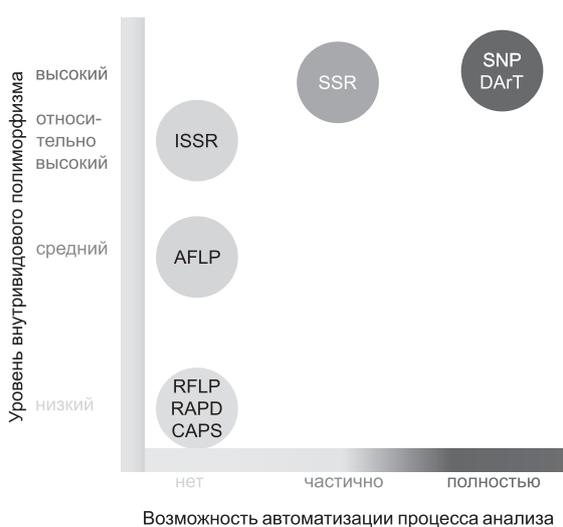


Рис. 3. Уровень внутривидового полиморфизма и возможность автоматизации анализа различных типов ДНК-маркеров (Хлесткина, 2011).

- **Основные направления использования монолокусных маркеров:**

- составление молекулярных карт хромосом и геномов;
- картирование генов и QTL;
- маркирование генов, хромосом и геномов;
- сравнительная генетика и геномика;
- отбор с помощью ДНК-маркеров в селекции;
- геномная селекция (только SNP-маркеры);
- молекулярная паспортизация сортов/пород;
- диагностика заболеваний;
- экологический мониторинг;
- исследование генетического разнообразия;
- филогенетические исследования;
- популяционная генетика.

- **Основные направления использования мультилокусных маркеров:**

- составление молекулярных карт хромосом и геномов (только AFLP- и DArT-маркеры);
- картирование генов и QTL (только AFLP- и DArT-маркеры);
- геномная селекция (DArT-маркеры);
- молекулярная паспортизация сортов/пород;
- экологический мониторинг;
- исследование генетического разнообразия ;
- филогенетические исследования;
- популяционная генетика.

классической генетической карты, ставшей результатом трудов многих исследователей в течение нескольких десятилетий.

Выяснилось, что RFLP-маркеры, разработанные для одного вида, могут использоваться для анализа геномов родственных видов и родов. Таким образом, стало возможным сравнительное картирование геномов, благодаря которому внутри отдельных семейств удалось выявить ряды ортологичных генов и проследить преоб-

- **Картирование гена** – определение группы сцепления и положения картируемого гена относительно других генов и маркеров данной хромосомы.

- **QTL** (quantitative trait locus) – локус, связанный с определением количественного признака.



Фото 1



Фото 2

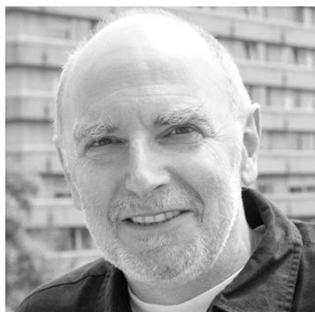


Фото 3



Фото 4

Фото 1. Дэвид Ботштейн, Стэнфордский университет, США. В 1980 г. вместе с Р. Уайтом, М. Школьником и Р. Дэвисом показал возможность использования ДНК-маркеров для построения генетических карт и сконструировал первую RFLP-карту генома человека. Их исследование стало одной из отправных точек для подготовки реализации процесса секвенирования генома человека (фото из Wikipedia).

Фото 2. Стивен Тэнкли, Корнелльский университет, США. В 1983 г. одним из первых предложил использовать ДНК-маркеры в селекции, является пионером в области позиционного клонирования генов (фото из Wikipedia).

Фото 3. Жак Бекман, Университет Лозанны, Швейцария. В 1983 г. одним из первых предложил использовать ДНК-маркеры в селекции растений и животных (фото в открытом доступе на сайте университета Лозанны, Швейцария www.unil.ch).

Фото 4. Дитхард Таутц, Институт эволюционной биологии Макса Планка, Германия. В 1989 г. впервые предложил использовать микросателлиты в качестве ДНК-маркеров (фото из <http://www.n-tv.de/wissen/Die-Maus-liebt-das-Vertraute-article3873166.html>).

разования структуры генома отдельных видов в ходе эволюции от общего предка. Результаты этих работ крайне важны для современных исследований в области сравнительной геномики (Moore *et al.*, 1995).

Благодаря использованию RFLP-карт появилась возможность определять точное положение отдельных генов в геноме и клонировать их последовательности на основе картирования (*map-based gene cloning* – позиционное клонирование генов). Пионером в области позиционного клонирования генов является американский исследователь Стивен Тэнкли (фото 2). Под его руководством при использовании данного метода был впервые клонирован ген устойчивости к бактериальной пятнистости плодов томата (*Mar-*

С помощью молекулярных маркеров можно:

- ускорять процесс селекции;
- сокращать площади, занятые селекционным материалом;
- достигать более высокой точности отбора;
- добиваться экономии трудовых и материальных ресурсов.

tin et al., 1993). С. Тэнкли был первым и среди тех, кто оценил потенциальные преимущества отбора по генотипу и в 1983 г. одновременно с Жаком Бекманом (фото 3) предложил использовать ДНК-маркеры в селекции (Beckmann, Soller, 1983; Burr *et al.*, 1983; Tanksley, 1983).

Однако массовое распространение работ по картированию генов, а также локусов количественных признаков (QTL – quantitative trait loci) произошло не в эпоху RFLP-маркеров (из-за их высокой стоимости и необходимости использования радиоактивно меченных проб), а с появлением более дешевых и удобных в применении ПЦР-маркеров. Среди ПЦР-маркеров наиболее подходящими и востребованными для картирования генов и геномов оказались микросателлитные (SSR) маркеры. Использовать гипервариабельные последовательности, состоящие из простых повторов, в качестве маркеров впервые предложил в 1989 г. немецкий исследователь Дитхард Таутц (фото 4) (Tautz, 1989).

Именно с ПЦР-маркеров началось широкое внедрение ДНК-маркеров в селекционный процесс. С помощью молекулярных маркеров можно проводить отбор по генотипу, тогда как в традиционной селекции отбор индивидуумов для скрещиваний осуществляется на основе анализа фенотипа. Отбор по генотипу имеет ряд преимуществ по сравнению с отбором по фенотипу.

Процесс генотипирования может быть полностью или частично автоматизирован, тогда как методы автоматического фенотипирования развиваются очень медленно. Приборы для автоматического анализа фенотипа отличаются узкой специализацией и очень высокой стоимостью, в то время как устройства, необходимые для анализа генотипа, дешевле их и являются универсальными.

Анализ проявления того или иного признака осуществляется на строго определенной стадии развития. Образцы для генотипирования можно отобрать практически в любой удобный момент. Отбор проб для выделения необходимого количества ДНК на ранних стадиях развития селективируемых организмов позволяет своевременно изымать из селекционного процесса значительное количество материала, не потратив на анализ и уход за ним лишних средств.

На результаты фенотипирования влияют различные факторы окружающей среды. Генотип не зависит от изменения условий среды. Если отбор ведется на основании анализа фенотипа, то при полном доминировании невозможно отличить доминантные гомозиготы от гетерозигот и, следовательно, выбрать индивидуумы

для скрещивания в текущем поколении. С помощью ДНК-маркеров легко справиться с этой задачей.

Анализ ряда важных признаков растений проводится после стадии развития, на которой может быть осуществлена гибридизация, поэтому скрещивание отобранных образцов проводится уже в следующий вегетационный период. При использовании ДНК-маркеров можно подобрать подходящие пары и осуществить гибридизацию в текущем поколении. Это также ускоряет селекционный процесс.

Благодаря этим преимуществам применение молекулярных маркеров стало неотъемлемой частью селекционного процесса во многих странах мира (Moose, Mumm, 2008; European Cereals Genetics ..., 2012).

МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИИ, ОСНОВАННЫЕ НА ИСПОЛЬЗОВАНИИ ДНК-МАРКЕРОВ

Методы селекции, в которых применяются ДНК-маркеры, разделяют на две основные группы: **ОПМ** и **геномная селекция**.

Метод ОПМ предполагает использование ДНК-маркеров, тесно сцепленных с целевым геном, вместо или вместе с фенотипическим анализом. Маркеры, тесно сцепленные с целевым геном, являются надежным инструментом для предсказания фенотипа. Отбор нужного аллеля целевого гена осуществляется на основе тесно сцепленного с ним аллеля соседнего

- **ОПМ** – отбор с помощью маркеров (MAS – marker-assisted selection); синонимы: MAC (маркер-ассоциированная селекция) и МОС (маркер-опосредованная/ориентированная селекция). Подход в современной селекции растений и животных, позволяющий проводить отбор по генотипу при использовании ДНК-маркеров, тесно сцепленных с селективируемым геном.
- **Геномная селекция** (genomic selection). Метод современной селекции растений и животных, позволяющий при использовании равномерно распределенных по геному ДНК-маркеров проводить отбор по генотипу в отсутствие данных о генах, влияющих на признак.

маркерного локуса. Большая точность отбора достигается при использовании пары маркеров, расположенных вблизи гена по разные стороны от него (т. е. маркеров, фланкирующих целевой ген). Если ген отсеквенирован и выявлены различия нуклеотидной последовательности разных аллелей данного гена, то можно разработать так называемый «внутригенный маркер». Использование такого маркера позволит отбирать нужные генотипы с наиболее высокой точностью. При отсутствии внутригенного или тесно сцепленного с геном ДНК-маркера можно использовать более отдаленные маркеры, однако в таких случаях целесообразно сочетать ОПМ с последующим фенотипированием. Такой комбинированный подход называется «тандемным» отбором (tandem selection), или маркер-направленным фенотипированием (marker-directed phenotyping).

Метод ОПМ хорошо зарекомендовал себя при беккроссной и линейной селекции, а также при создании пирамид генов (Moose, Mumm, 2008).

При беккроссной селекции можно вести отбор по внутригенному маркеру (foreground selection), по маркерам, тесно сцепленным с геном (recombinant selection), по генетическому фону (background selection), а также комбинировать отбор по генетическому фону с отбором по внутригенному маркеру или по маркерам, тесно сцепленным с геном (рис. 4). Два первых метода позволяют вести отбор только по целевому гену, контролируя передачу нужного аллеля от донора реципиенту в череде поколений возвратных скрещиваний. Использование значительно большего числа маркеров, равномерно распределенных по геному, позволяет не только контролировать передачу целевого гена от донора реципиенту, но и ускорять восстановление генома реципиента.

Для использования ДНК-маркеров в селекции по тому или иному признаку требуется информация о нуклеотидных последовательностях генов, контролирующих данный признак, или, по крайней мере, о локализации их в геноме, а также о тесно сцепленных с ними маркерах. Если исходные данные отсутствуют, то необходимые подготовительные исследования (рис. 5) могут занять не один год. С целью экономии времени и средств можно проводить молекулярно-генетический анализ и отбор од-

- **Беккроссная селекция на основе ОПМ** (marker-assisted backcrossing) – метод селекции, при котором в процессе последовательных возвратных скрещиваний передаются 1–2 целевых гена от сорта-донора сорту-реципиенту и происходит восстановление генотипа сорта-реципиента в оставшейся части генома; при этом отбор растений для каждого последующего скрещивания осуществляется с помощью ДНК-маркеров.
- **Линейная селекция на основе ОПМ с однократным генотипированием** (single-large scale marker-assisted selection – SLS-MAS) – метод селекции, отличающийся от традиционного метода линейной селекции (или метода педигри) тем, что в одном из ранних поколений с помощью маркеров проводится отбор растений для дальнейшей селекции, что позволяет сразу исключить нежелательные генотипы по некоторым признакам и тем самым существенно сократить объем последующих работ. Например, в случае одного основного гена, по которому ведется отбор, можно в поколении F_2 исключить из дальнейшего анализа 75 % (3/4) нежелательных генотипов, в случае 2 генов – 94 % (15/16) нежелательных генотипов, в случае 3 генов – 98 % (63/64).
- **Создание пирамид генов** (marker-assisted pyramiding) – метод селекции, при котором с помощью ДНК-маркеров ведется отбор одновременно по нескольким генам, определяющим схожие признаки (как правило, в таких случаях отбор по фенотипу затруднен): например, отбор по нескольким генам, определяющим устойчивость к разным расам одного и того же патогена или устойчивость к разным патогенам, поражающим один и тот же орган.

новременно. Такой подход, сочетающий метод беккроссной селекции с QTL-анализом и отбором по генотипу (advanced backcross QTL analysis; рис. 6), в 1996 г. предложили использовать С. Тэнксли (фото 2) и Дж. Нельсон (Tanksley, Nelson, 1996).

Снижение стоимости секвенирования нуклеотидных последовательностей и развитие методов высокопроизводительного секвенирования открыли возможность массовой реализации программ полногеномного секвенирования.

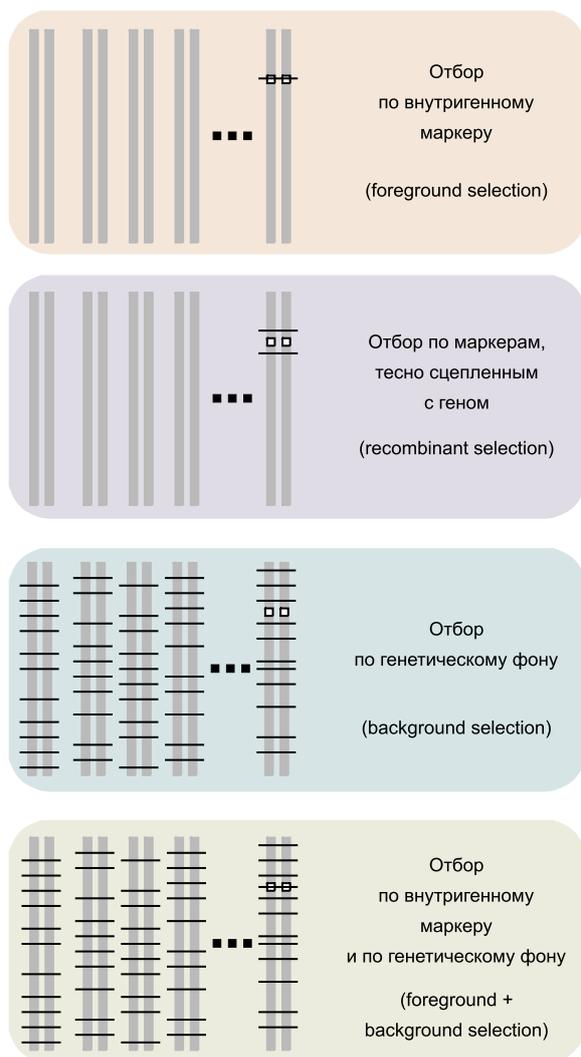


Рис. 4. Условное расположение ДНК-маркеров (обозначены черными линиями), используемых при различных вариантах беккроссной селекции, относительно селективируемого гена (белый прямоугольник).

Серые линии – условное обозначение хромосом.

Число видов растений и животных, геном которых полностью секвенирован (как модельных, так и тех, что используются в сельском хозяйстве), стремительно возрастает (рис. 7).

Секвенирование и сравнение генома разных представителей одного и того же вида (ресеквенирование генома) позволяют выявлять полиморфные участки генома и разрабатывать маркеры (как правило, SNP), равномерно и плотно покрывающие геном. К настоящему моменту разработаны полногеномные SNP-чипы для автоматического анализа полиморфизма ДНК

некоторых видов животных и растений, имеющих сельскохозяйственное значение. Внедрение методов высокопроизводительного генотипирования сельскохозяйственных объектов открыло путь для применения нового метода селекции, основанного на анализе большого числа ДНК-маркеров, равномерно распределенных по геному, – **геномной селекции** (Смарагдов, 2009).

Помимо видов, чей геном уже секвенирован, появилась перспектива применения геномной селекции и в отношении тех видов растений и животных, геном которых еще не секвенирован или вовсе не изучен. Не так давно на примере пшеницы было продемонстрировано, что в геномной селекции может быть использован другой метод высокопроизводительного генотипирования – DArT-маркеры (Charmet, 2012). DArT отличаются от SNP тем, что для их разработки не требуются данные по секвенированию генома.

Геномная селекция, как и ОПМ, подразумевает использование ДНК-маркеров и отбор по генотипу. Чем же геномная селекция принципиально отличается от ОПМ? Во-первых, для геномной селекции не требуются знания о генах, влияющих на признаки, а значит не нужны многолетние генетические исследования, предшествующие селекционному процессу. Во-вторых, геномная селекция имеет преимущество при отборе по признакам, имеющим сложный полигенный контроль, тогда как метод ОПМ, как правило, эффективен лишь в случае моно- или олигогенного контроля признаков. Тем не менее, если процесс геномной селекции приведет к нежелательной коселекции признаков (например, повышенной молочной продуктивности и предрасположенности к маститу у крупного рогатого скота), избежать дополнительных генетических исследований, подобных тем, что требуются для ОПМ (рис. 5), не удастся.

Процесс геномной селекции включает три этапа: анализ «тренировочных поколений» (training generations) с использованием методов фенотипирования и генотипирования, выявление корреляций между фенотипом и генотипом, дальнейший отбор по генотипу среди «кандидатов на селекцию» (selection candidates). Установлено, что с помощью ДНК-маркеров можно отбирать устойчивые генные сети, сохраняющиеся в поколениях. Однако необходимыми усло-

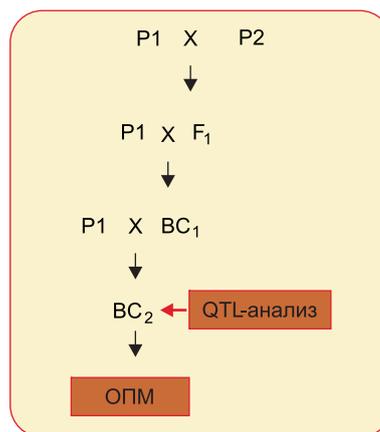
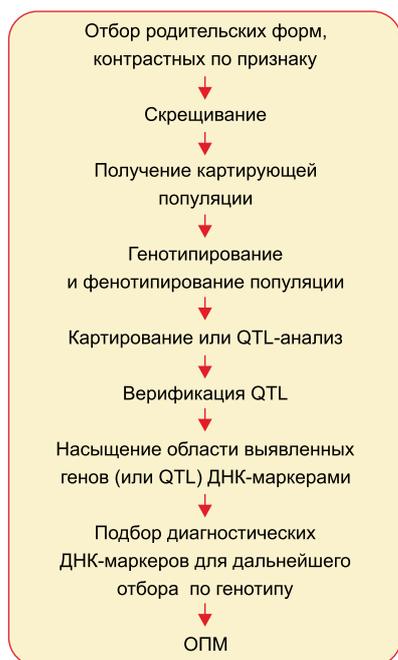


Рис. 6. Схема подхода, сочетающего метод бек-кроссной селекции с QTL-анализом и отбором по генотипу (advanced backcross QTL analysis).

Рис. 5. Схема подготовительных работ для дальнейшего применения метода ОПМ.

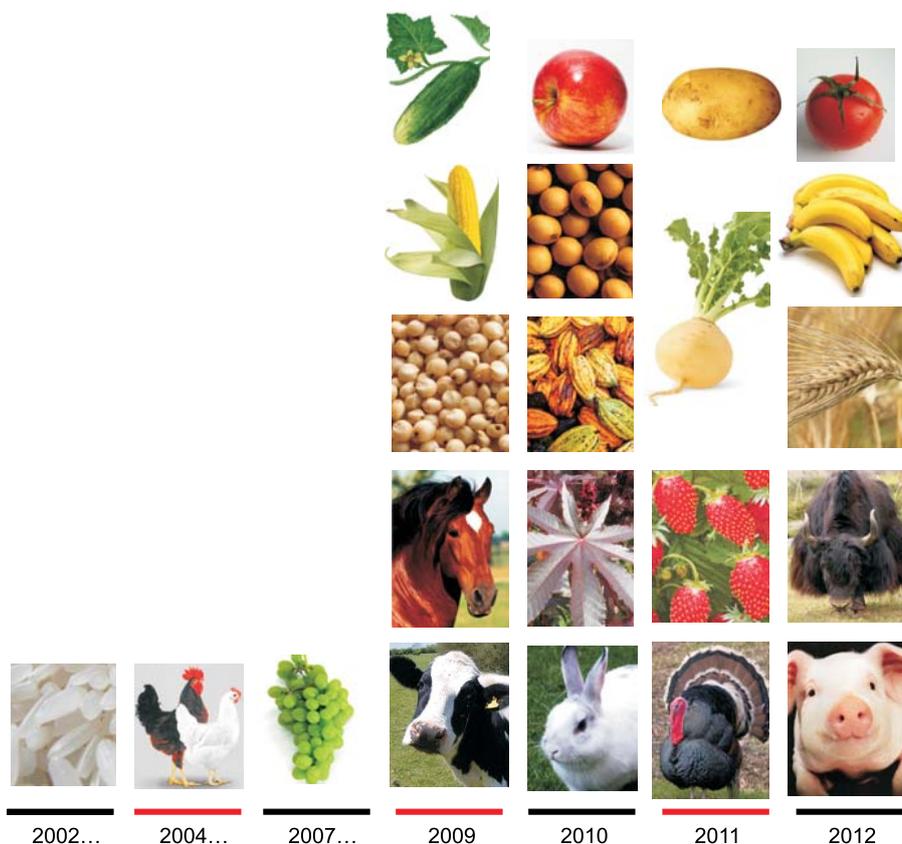


Рис. 7. Завершение полногеномного секвенирования сельскохозяйственных видов растений и животных.

Слева направо снизу вверх: рис (2002); курица (2004); виноград (2007); корова, лошадь, сорго, кукуруза, огурец (2009); кролик, клещевина, какао, соя, яблоня (2010); индейка, земляника, репа, картофель (2011); свинья, ячмень, банан, томат (2012).

виями для успешного осуществления геномной селекции являются адекватное количество тренировочных поколений, используемых маркеров и правильное соотношение числа маркеров и исследуемых генотипов.

В настоящее время наиболее активно развиваются программы по геномной селекции свиньи (организации TOPIGS в Нидерландах и INRA во Франции), крупного рогатого скота (INRA во Франции, КазАгроИнновация в Казахстане, VikingGenetics в Дании и Швеции, LFL-LGL-ZuchtData в Германии и Австрии, а также ряд компаний в США) и пшеницы (INRA во Франции, CIMMYT в Мексике). Экономическую выгоду от геномной селекции хорошо иллюстрируют данные по селекции крупного рогатого скота. Геномная селекция позволяет сэкономить до 92 % средств, затрачиваемых на оценку быков-производителей, и сократить время оценки с 6 лет до 1 года и 9 месяцев (Смарагдов, 2009).

Таким образом, молекулярные (или ДНК-) маркеры – это новое поколение генетических маркеров, отличающихся от прежних большим количеством и частой встречаемостью в геномах эукариот и основанных на универсальных, а значит широко востребованных и постоянно развивающихся методах анализа. Целесообразным и экономически оправданным оказалось использование ДНК-маркеров в прикладных областях, в частности в селекции, а их применение в фундаментальных исследованиях позволило выйти на новый уровень понимания организации и эволюции геномов изучаемых объектов.

Статья подготовлена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (12_04_33027_мол_а_вед), Программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и гранта Президента Российской Федерации для молодых докторов наук (МД_2615.2013.4).

ЛИТЕРАТУРА

- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике // *Генетика*. 2002. Т. 38. С. 1173–1195.
- Банникова А.А. Молекулярные маркеры и современная филогенетика млекопитающих // *Журн. общей биологии*. 2004. Т. 65. С. 278–305.
- Матвеева Т.В., Павлова О.А., Богомаз Д.И. и др. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений // *Экол. генетика*. 2011. Т. 9. С. 32–43.
- Серебровский А.С. Генетический анализ. М.: Наука, 1970. 342 с.
- Смарагдов М.Г. Тотальная геномная селекция с помощью SNP как возможный ускоритель традиционной селекции // *Генетика*. 2009. Т. 45. С. 725–728.
- Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения // *Усп. соврем. биологии*. 2004. Т. 124. С. 260–271.
- Хлесткина Е.К. Молекулярные методы анализа структурно-функциональной организации генов и геномов высших растений // *Вавилов. журн. генет. и селекции*. 2011. Т. 15. № 4. С. 757–768.
- Beckmann J.S., Soller M. Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement: methodologies, mapping and costs // *Theor. Appl. Genet.* 1983. V. 67. P. 35–43.
- Botstein D., White R.L., Scolnick M., Davis R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms // *Am. J. Hum. Genet.* 1980. V. 32. P. 314–331.
- Burr B., Evola S.V., Burr F.A., Beckmann J.S. The application of restriction fragment length polymorphism to plant breeding / Eds J.K. Setlow *et al.* Genetic Engineering. N.Y.: Plenum Press, 1983. P. 45–59.
- Charmet G., Storlie E. Implementation of genome-wide selection in wheat // *Вавилов. журн. генет. и селекции*. 2012. Т. 16. С. 61–68.
- European Cereals Genetics Co-operation Newsletter // *Proc. of the 15th Intern. EWAC Conf.* / Eds A. Börner, B. Kobijlski. Novi Sad, Serbia. 2012. 204 p.
- Liu Y.G., Tsunewaki K. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in wheat. II. Linkage maps of the RFLP sites in common wheat // *Jap. J. Genet.* 1991. V. 66. P. 617–634.
- Martin G.B., Brommonschenkel S.H., Chunwongse J. *et al.* Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato // *Science*. 1993. V. 262. P. 1432–1436.
- Moore G., Devos K.M., Wang Z., Gale M.D. Grasses, line up and form a circle // *Curr. Biol.* 1995. V. 5. P. 737–739.
- Moose S.P., Mumm R.H. Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement // *Plant Physiol.* 2008. V. 147. P. 969–977.
- Tanksley S.D. Molecular markers in plant breeding // *Plant Mol. Biol. Rep.* 1983. V. 1. P. 3–8.
- Tanksley S.D., Nelson J.C. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines // *Theor. Appl. Genet.* 1996. V. 92. P. 191–203.
- Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers // *Nucl. Acids Res.* 1989. V. 17. P. 6463–6471.

MOLECULAR MARKERS IN GENETIC STUDIES AND BREEDING**E.K. Khlestkina**

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,

e-mail: khlest@bionet.nsc.ru

Summary

Back in the early decades in Genetics, it became clear that genetic markers may be useful in the analysis of complex traits. However, the low occurrence and a number of other shortcomings hampered wide application of classical genetic markers, and later then protein markers in the breeding. The latest generation of genetic markers (molecular or DNA markers) are characterized by frequent occurrence in the genome, and are based on universal (and hence highly demanded and constantly developing) methods of analysis. This became the key to the rapid development of genetics and breeding areas related to the use of DNA markers. This article provides a brief overview of the main types of molecular markers and the fields of their application

Key words: genetic markers, DNA markers, molecular markers, classification of DNA markers, genome mapping, marker-assisted selection, genomic selection.