

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ ПЯТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГЕНОВ И ТРЕХ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ КУРИЦЫ НА МИТОТИЧЕСКИХ ХРОМОСОМАХ ПЕРЕПЕЛА МЕТОДОМ ДВУХЦВЕТНОЙ FISH-ГИБРИДИЗАЦИИ

© А. В. Трухина, А. Ф. Смирнов

Кафедра генетики и селекции С.-Петербургского государственного университета;  
электронный адрес: [trukhina\\_ant@mail.ru](mailto:trukhina_ant@mail.ru)

Для локализации генов и микросателлитов курицы на митотических хромосомах перепела применили метод гетерологичной двухцветной FISH и хромосомоспецифичные ВАС-клоны курицы, которые проверили методом ПЦР. Анализ результатов показал, что гены *maf*, *aldh1a1*, *pno*, *fzf* и *cw01* в геноме перепела входят в одну группу сцепления с генами *mclr*, *igvps*, *acaca*, *bmp7* и *ubap2w* соответственно. Если учесть, что номенклатура хромосом перепела такая же, как у курицы, то их локализация будет соответствовать следующим хромосомам: CJA11 (*maf*), 15 (*aldh1a1*), 19 (*pno*), 20 (*fzf*) и W (*cw01*). Микросателлит ADL0254 оказался расположенным на одной и той же микрохромосоме с геном *insr* (CJA 28), а микросателлиты LEI0342 и MCW0330 попали в одну группу сцепления с геном *hspa5* (CJA17). Такую же работу провели и для генома курицы. Были получены другие результаты. Локализация ВАС-клонов, содержащих гены *cw01*, *fzf* и микросателлит MCW0330, полностью подтвердилась: они расположены на хромосомах GGAW, 20 и 17 соответственно. Для микросателлитов ADL0254 и LEI0342 обнаружено по два сайта, а локализация остальных генов (*maf*, *aldh1a1* и *pno*) на хромосомах GGA11, GGA15 и GGA19 оказалась недействительной и требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: ген, группа сцепления, микросателлит, ВАС (bacterial artificial chromosome), *Coturnix c. japonica*, FISH, *Gallus g. domesticus*.

Принятые сокращения: *maf* — протоонкоген *c-maf* курицы, *aldh1a1* — ген цитозольной алкогольной дегидрогеназы A1, *pno* — ген опсина, *cw01* — последовательность района неповторяющейся ДНК W-хромосомы курицы, *fzf* — ген опухоли Уилмса (Wilms tumor), *ubap2w* — убиквитин-ассоциированный протеин 2 изоформа 1, *hspa5* — ген белка теплового шока 70 кДа, *insr* — ген инсулинового рецептора, *bmp7* — ген морфогенного белка кости 7, *mclr* — ген рецептора меланокортина-1, *igvps* — ген иммуноглобулина, псевдо-V26 и -V6, *acaca* — ген ацетил-коэнзим А карбоксилазы  $\alpha$ , ADL0254, LEI0342 и MCW0330 — микросателлиты курицы, GGA — хромосома курицы, CJA — хромосома перепела, HSA — хромосома человека, MMU — хромосома мыши.

Кариотип перепела *Coturnix japonica* состоит из 39 пар хромосом: нескольких пар морфологически различимых макрохромосом (1—8 и половые хромосомы ZW) и многочисленных цитогенетически неидентифицируемых микрохромосом. Во многом он похож на кариотип курицы, за исключением морфологии четырех макрохромосом (1, 2, 4 и W). Кроме того, хромосомная гомология этих двух видов является высококонсервативной. Обнаружено только небольшое количество перестроек. Поэтому номенклатура хромосом перепела соответствует таковой у курицы (Kayang et al., 2006).

Маленький размер микрохромосом у обоих видов осложняет картирование генов на этой фракции генома. Для того чтобы получить средство точной локализации генов и маркеров на микрохромосомах, а также для интеграции и насыщения генетических карт из генома курицы были выделены специфичные пробы для микрохромосом и созданы ВАС-библиотеки ДНК курицы с большими вставками (Schmid et al., 2000, 2005).

Современная интегрированная карта групп сцепления генома перепела (Kayang et al., 2006), основанная на сегрегационном анализе анонимных маркеров и функциональных генных локусов, не является достаточно полной, так как некоторые хромосомы перепела до сих пор не имеют маркеров (CJA08, CJA17 и 23 пары микрохромосом). Тем не менее у курицы и перепела методом межвидовой FISH-гибридизации было установлено высокое сходство в порядке маркеров для 8 макрохромосом (CJA1-7) и 14 изученных микрохромосом (в том числе CJA09, 10, 13, 14, 18, 20 и 27) (Kayang et al., 2006). Однако до сих пор информация, доступная в базах данных по генам перепела, остается скудной. Поэтому работа по насыщению генетических карт генома перепела остается актуальной. В связи с этим целью данной работы была локализация ортологов генов курицы на митотических хромосомах перепела с использованием хромосомоспецифичных ВАС-клонов курицы и с помощью гетерологичной двухцветной FISH.

## Материал и методика

Реактивы: формамид (АНАЛИТПРИБОР, Ангара); цитрат натрия (База №1 Химреактивов, Россия); колхицин (Диаэм, Россия); этанол (Киришский биохимический завод, Россия); biotin-11-dUTP (Силекс М, Россия); Vasto agar, EDTA, MgCl<sub>2</sub>, NaCl, SDS, Tryptone, Tris-(hydroxymethyl) aminomethane and yeast extract (Helicon, Россия); KCl, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> и Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Экрос, Россия); Anti-AVIDIN-bio, AVIDIN-FITC, 10×блокирующий реагент и набор для НИК-трансляции (Boehringer Mannheim, Германия); Tween 20 (Ferak, Германия); 10×буфер для Taq ДНК-полимеразы, dNTP, протеиназа К, РНКазы А и Taq ДНК-полимераза (Fermentas, Литва); параформальдегид (Merck, Darmstadt); Anti-DIG-Rhodamin, Anti-mouse-Ig-DIG и dig-16-dUTP (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Германия); декстрансульфат и этидиумбромид (SIGMA, Германия); DAPI (4', 6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride) (Sigma-Aldrich, США); антифэйд Vectashield (Vector, США).

Материал для приготовления препаратов митотических хромосом из эмбрионов перепела и курицы получен из частного хозяйства А. Л. Вахромеевой (Ленинградская обл.). В работе использованы ВАС-клоны из геномных библиотек TAM32 и CHORI-261, любезно предоставленные М. Н. Романовым (Университет штата Мичиган, США). Информация о ВАС-клонах и содержащихся в них генах и маркерах представлена в табл. 1 и 2.

ВАС-клоны размножили и выделили из них ДНК согласно стандартным методам (Кузнецова, Винтер, 1997; <http://hbz.tamu.edu>). Наличие в ВАС-клонах соответствующих генов и маркеров проверяли с помощью метода ПЦР. Дизайн праймеров для ПЦР (табл. 1, 2) определяли с использованием программы primer 3 Input (Rozen, Skaletsky, 2000; <http://frodo.wi.mit.edu/>) (табл. 1, 2). Условия реакций подбирали эмпирически.

ПЦР проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 1—10 нг ДНК, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1 U Taq ДНК-полимеразы, 200 мкМ каждого dNTP, по 0.2 мкМ каждого праймера и однократный буфер для Taq ДНК-полимеразы. Реакция ПЦР состояла из следующих этапов: денатурация в течение 6 мин при 94 °С, 30 циклов амплификации (30 с при 94 °С, 30 с при 55—60 °С, 1 мин при 72 °С); конечный этап: элонгация в течение 10 мин при 72 °С. Размер амплифицированных фрагментов оценивали с помощью электрофореза в 2%-ном агарозном геле.

Мечение ДНК-зондов с помощью НИК-трансляции осуществляли согласно протоколу, предложенному фирмой-изготовителем для набора по НИК-трансляции. Хромосомоспецифичные ВАС-клоны метили biotin-11-dUTP, а исследуемые — dig-16-dUTP. Меченые ВАС-клоны после осаждения и высушивания растворяли в 20 мкл гибридационной смеси (pH 7.6—8.0) : 50%-ный формамид в 2×SSC (20×: 3 M NaCl, 0.3 M цитрат натрия, pH 7.0), 10 % декстрансульфата (SIGMA) и хранили при –20 °С.

Для приготовления препаратов митотических хромосом из 72-часовых эмбрионов перепела и курицы использовали стандартную методику (Lichter et al., 1991) с некоторыми модификациями: гипотонию проводили при комнатной температуре в течение 15 мин и вместо метанола использовали этанол.

Двухцветную флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH) выполняли по методике Делани и

соавторов (Delany et al., 2007) с небольшими модификациями. Результаты гибридизации регистрировали с использованием системы флуоресцентного микроскопа Leica DM6000B (Leica Microsystems GmbH, Германия) при увеличении объектива 100×, окуляра 10×, оборудованного цветной цифровой CCD-камерой Leica DC500, подключенной к компьютеру, и программного обеспечения Leica QWin v.1.2. В каждом случае гибридизаций анализировали по 20—30 случайных метафазных пластинок с хорошим распределением хромосом.

## Результаты

Для определения локализации пяти ортологичных генов и трех микросателлитов курицы на митотических хромосомах перепела использовали метод гетерологичной двухцветной FISH и хромосомоспецифичные ВАС-клоны курицы (табл. 1). Все клоны проверяли с помощью ПЦР на наличие соответствующих вставок. Нами проанализированы результаты FISH не менее 20 метафазных пластинок, выбранных случайным образом и с хорошим разбросом хромосом, для каждой пары ВАС-клонов (рис. 1). Эффективность гибридизации составила более 90 %.

Анализ результатов гибридизации FISH показал: ген *maf* (Acc. № D28596) локализуется на одной и той же микрохромосоме с геном *mclr* (CJA11), ген *aldh1a1* (Acc. № X58869) обнаружен на одной группе сцепления с геном *igyvs* (CJA 15), гены *pno* (Acc. № U87449) и *fzf* (Acc. № U27196) картированы соответственно на микрохромосомах с генами *acaca* (CJA 19) и *bmp7* (CJA 20), а последовательность *sw01* (Acc. № D85614) вместе с геном *ubap2w* была локализована на W-хромосоме (рис. 1). Микросателлит ADL0254 (Acc. № G01674) оказался расположенным на одной микрохромосоме с геном *insr* (CJA28), а микросателлиты LEI0342 (Acc. № AJ240689) и MCW0330 (Acc. № G32085) — вместе с геном *hspa5* на CJA17 (рис. 1).

Такая же работа была проведена на митотических хромосомах курицы. Получены другие результаты (рис. 2). Гены *maf*, *aldh1a1* и *pno* не локализируются в тех микрохромосомах (GGA11, GGA15 и GGA19 соответственно), которые указаны в литературных источниках и в базах данных, а микросателлиты ADL0254 и LEI0342 кроме указанных микрохромосом GGA28 и GGA17 имеют еще один сайт локализации (микрохромосомы не определены). Для генов *sw01*, *fzf* и микросателлита MCW0330 локализация подтвердилась (GGAW, GGA20 и GGA17).

## Обсуждение

В геноме курицы ген *mclr* локализован на микрохромосоме 11 (Schmid et al., 2000, 2005). В состав этой же микрохромосомы, согласно некоторым базам данных (<http://www.thearkdb.org/chicken>), входит и исследованный нами ген *maf*. Однако результаты нашей работы показали, что эти два гена у курицы локализованы раздельно (рис. 2, а, б). Такое несоответствие в локализации можно объяснить тем, что ген *maf* входит в состав семейства из 5 генов, разбросанных по геному и имеющих высокую степень гомологии друг с другом. Анализ результатов FISH на митотических хромосомах перепела показал, что ген *maf* образует одну группу сцепления с геном *mclr* (рис. 1, а, б). Такое же сцепление наблюдается и в гено-

Таблица 1

## Хромосомоспецифичные ВАС-клоны, использованные в работе, и содержащиеся в них маркеры и их праймеры

ВАС-клон <sup>а</sup>	Гены, GGA <sup>б</sup>	Праймеры	ПЦР-продукт, п. о.
r46G23	<i>mc1r</i> (GGA11)	F: CAGCACCGTCTTAATCACCT R: GATGAAGAAGACTCCCAGCA	229
r24F14	<i>igvps</i> (GGA15)	F: ATGGCTAATAGCAGATGACACCTG R: GAGGTTAGTGCATCAGTTGTACCT	258
r32P08	<i>hspa5</i> (GGA17)	F: CTCACCAAGGACAATCATCT R: TTAGCCGATTCTGATCATTT	187
r21A11	<i>acaca</i> (GGA19)	F: GGGACAGGAAGAAAGTTGAC R: GGAACATCTCATAGGACCAG	171
r13H01	<i>bmp7</i> (GGA20)	F: TGTCATGCTGGACCTCTAC R: AACTCTCTGTCATGCTCCAC	208
r79A19	<i>insr</i> (GGA28)	F: CATGGTTGCAGAGGACTTCA R: ACGTTGTGAATACGCCATCC	152
CH114G22	<i>ubap2w</i> (GGAW)	F: CTCCTCCCAGGTAAACCTCC R: GCAGGCTCTGATCCAAACTC	261

<sup>а</sup> ВАС — a bacterial artificial chromosome. <sup>б</sup> Точная локализация гена в геноме курицы взята из базы данных (Schmid et al., 2000, 2005; Romanov et al., 2003; <http://poultry.mph.msu.edu/resources/Resources.htm#bacdata>).

мах человека (*Homo sapiens*) (HSA16, GeneID: 4094; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) и мыши (*Mus musculus*) (MMU8, GeneID: 17132; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Ген *aldh1a1* в геноме курицы является представителем большого семейства генов (19—20 членов). Результаты FISH-гибридизации на митотических хромосомах перепела показали, что ген *aldh1a1* локализован в одной

группе сцепления с геном *igvps* (GGA15) (рис. 1, в, з) (Schmid et al., 2000, 2005). Интересны результаты его локализации в геноме курицы: по нашим данным оказалось, что этот ген не образует одну группу сцепления с геном *igvps* (рис. 2, в, з). Кроме того, в некоторых базах данных по геному курицы (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/chicken>; GenBank X58869.4; [Таблица 2](http://www.en-</a></p>
</div>
<div data-bbox=)

## ВАС-клоны, исследованные в данной работе, праймеры для маркеров, которые они содержат, и предполагаемая локализация соответствующих маркеров в геноме перепела

ВАС-клон <sup>а</sup>	Гены, GJA <sup>б</sup>	Праймеры	ПЦР-продукт, п. о.
r40P04	<i>maf</i> (CJA11)	F: CTTTCCAATGCACTGAAGCA R: ATGGGGCAGATCACCTACAG	262
r20G17	<i>aldh1a1</i> (CJA15)	F: TGTCCTTCACAGGCTCTACT R: СТАТАСААСАСАТГСССТТГГ	189
r36H02	MCW0330 (CJA17)	F: TGGACCTCATCAGTCTGACAG R: AATGTTCTCATAGAGTTCTCTGC	277
r27G22	LEI0342 (CJA17)	F: AAACCAAATAGTTCCGGATT R: GCTTTCACTTGACATCCTTC	336
r21N16	<i>pno</i> (CJA19)	F: TTTGTTCCAGGGTTGAGGAC R: CGAGAGAGAACCCAAAGCAC	268
r80A21	<i>fzf</i> (CJA20)	F: TGAGGTGTGTTTCAGCCTCAG R: CCCGTAAGACTTCCAAACCA	360
r27G07	ADL0254 (CJA28)	F: CAGCGTGAAGCAATAAATG R: CACTCATCCCAACCACTG	133
r55E18	<i>cw01</i> (CJAW)	F: ATCAGTGCCAACAACAACGA R: TTCTGGGAAAGGAAACCAAA	226

<sup>а</sup> ВАС — a bacterial artificial chromosome. <sup>б</sup> Предполагаемая локализация в геноме перепела, основанная на данных по геному курицы (Schmid et al., 2000, 2005; Romanov et al., 2003; <http://poultry.mph.msu.edu/resources/Resources.htm#bacdata>).



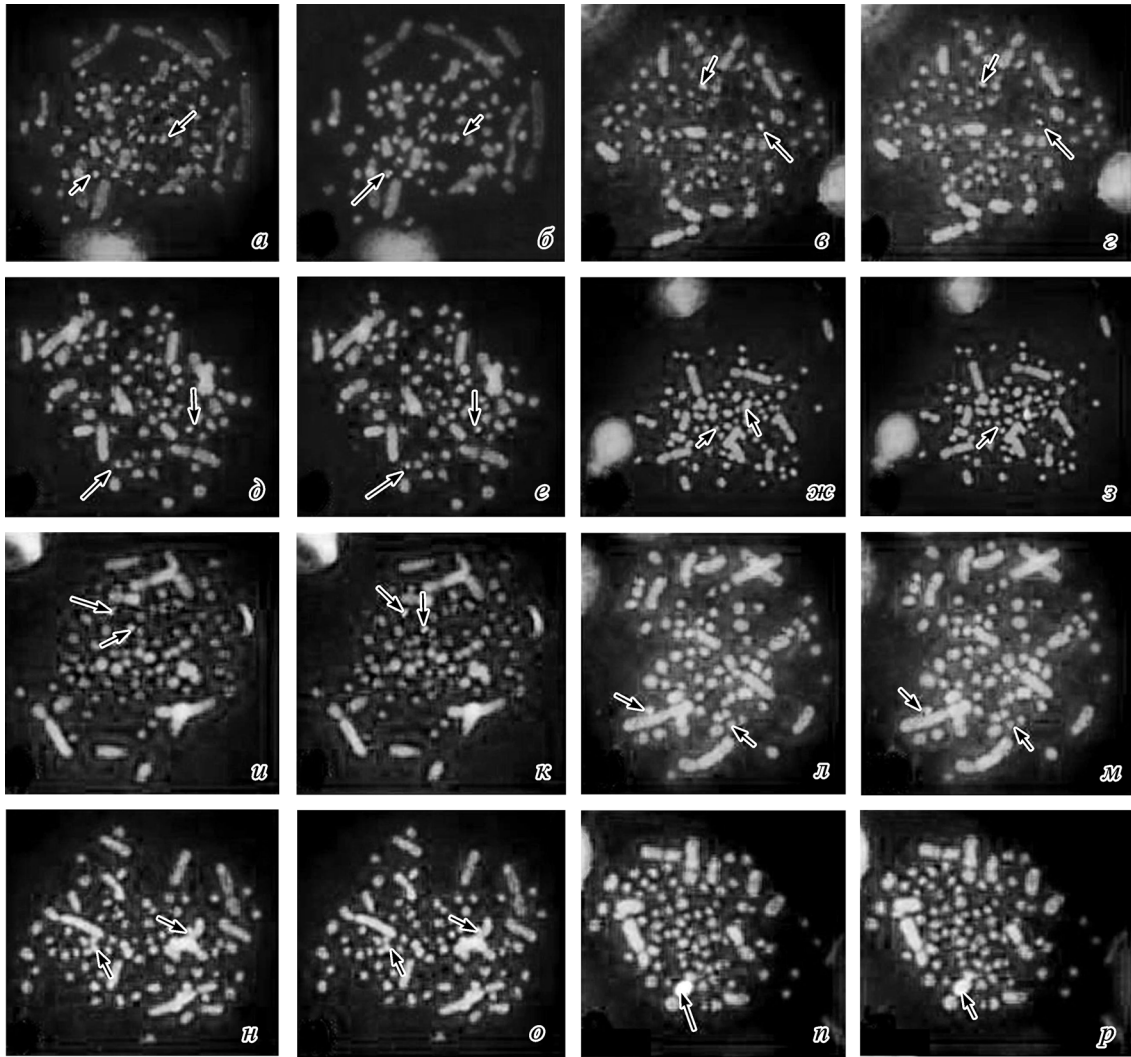


Рис. 1. Локализация ортологов генов и маркеров курицы на митотических хромосомах перепела методом двухцветной FISH-гибридизации.

*a* — *maf*, *б* — *mc1r* (та же метафаза, что и на рис. 1, *a*), *в* — *aldh1a1*, *г* — *igyvs* (та же метафаза, что и на рис. 1, *в*), *д* — LEI0342, *е* — *hspa5* (та же метафаза, что и на рис. 1, *д*), *ж* — MCW0330, *з* — *hspa5* (та же метафаза, что и на рис. 1, *ж*), *и* — *rno*, *к* — *acaca* (та же метафаза, что и на рис. 1, *и*), *л* — *fzf*, *м* — *bmp7* (та же метафаза, что и на рис. 1, *л*), *н* — ADL0254, *о* — *insr* (та же метафаза, что и на рис. 1, *н*), *п* — *sw01*, *р* — *ubap2w* (та же метафаза, что и на рис. 1, *п*). Стрелками показаны сайты специфической локализации. Об. 100×, ок. 10×.

sembl.org/Gallus\_gallus/Gene/), но не во всех (<http://www.thearkdb.org/chicken>) ген *aldh1a1* попадает в хромосому Z. Есть и косвенные данные, которые указывают на возможность локализации этого гена в Z-хромосоме: в геноме человека ген *aldh1a1* расположен на хромосоме 9 (HSA9q21.13, GeneID: 216; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), для которой была ранее показана высокая степень гомологии с Z-хромосомой курицы (Nanda et al., 1999). Однако в нашей работе этот ген также не локализуется в Z-хромосоме.

Ортолог гена курицы *rno* образует в геноме перепела единую группу сцепления с геном *acaca* (рис. 1, *и*, *к*), который в геноме курицы локализован на микрохромосоме 19 (Schmid et al., 2000, 2005). Сравнение нуклеотидной последовательности гена *rno* с полным си퀀сом генома курицы в соответствующей базе данных показало, что данный ген, возможно, локализуется на микрохромосоме 19 (GenBank U87449.1). Однако результаты FISH показали, что этот ген располагается в другой микрохромосоме (рис. 2, *и*, *к*). Предположения о том, в

какой из микрохромосом располагается данный ген, делать рано. Нет данных по этому гену и в геномах человека и мыши.

Гены *fzf* и *sw01* в геноме перепела нами локализованы в одной группе сцепления с генами *bmp7* (в геноме курицы GGA20) и *ubap2w* (в геноме курицы GGAW) соответственно (сравни рис. 1, *л*, *м*, *п*). Результаты картирования генов *fzf* и *sw01* у курицы ничем не отличаются от результатов картирования у перепела (ср. рис. 2, *л*, *м*, *п*). Эти гены также попадают в микрохромосомы 20 и W.

Последовательность, гомологичная микросателлиту ADL0254 курицы, в геноме перепела обнаружена в одной группе сцепления с геном *insr* (рис. 1, *н*, *о*), который в геноме курицы принадлежит микрохромосоме 28 (Schmid et al., 2000, 2005). Исследование, проведенное с этим же микросателлитом на митотических хромосомах курицы, выявило два сайта локализации: этот микросателлит локализуется не только на микрохромосоме 28, но и еще на одной паре микрохромосом большего размера (рис. 2, *н*, *о*). Гомологичные последовательности микросателли-

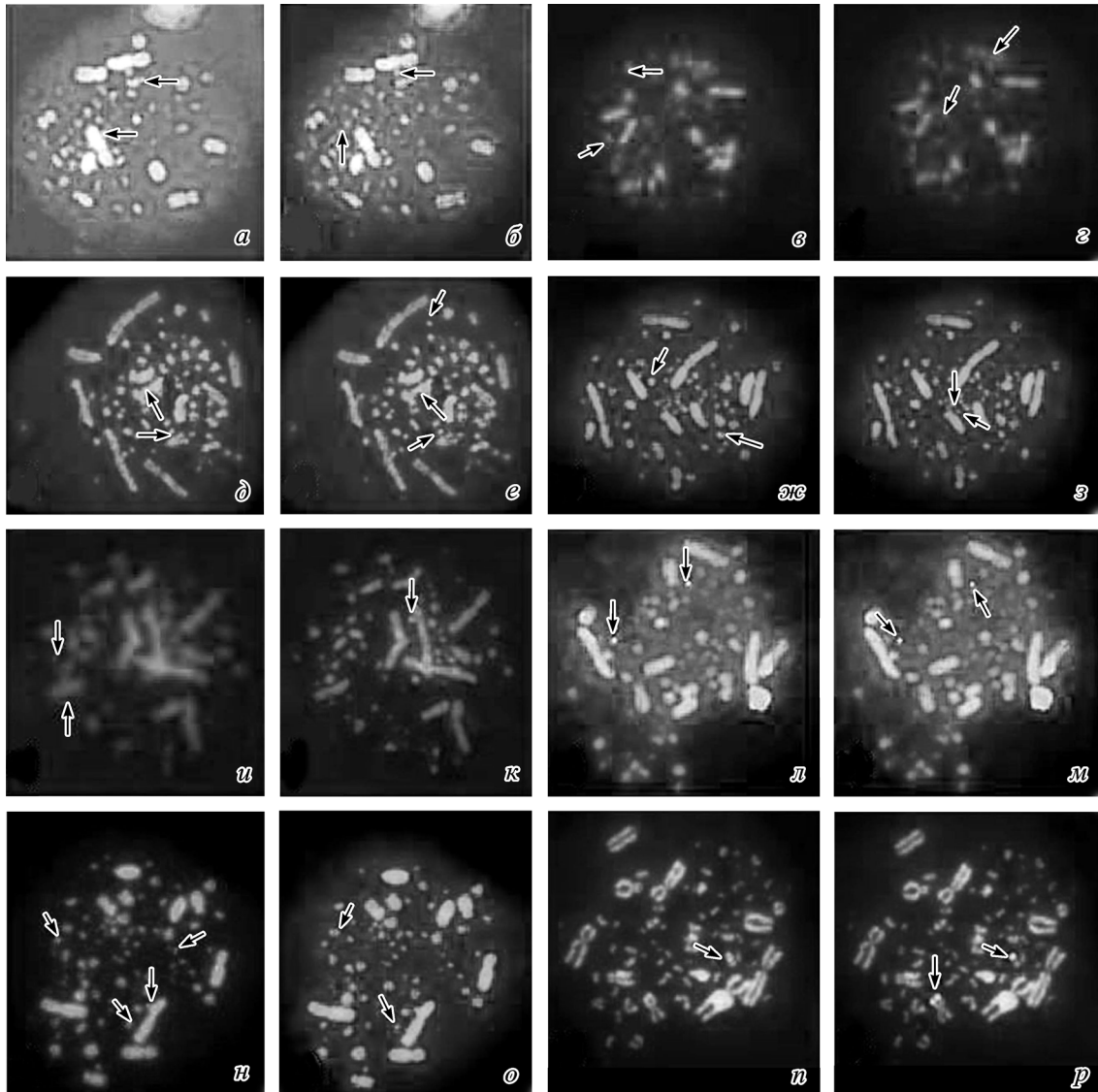


Рис. 2. Локализация генов и микросателлитов в геноме курицы методом двухцветной FISH-гибридизации.

*a* — *maf*, *б* — *mc1r* (та же метафаза, что и на рис. 2, *a*), *в* — *aldh1a1*, *г* — *igvps* (та же метафаза, что и на рис. 2, *в*), *д* — LEI0342, *е* — *hspa5* (та же метафаза, что и на рис. 2, *д*), *ж* — MCW0330, *з* — *hspa5* (та же метафаза, что и на рис. 2, *ж*), *и* — *pno*, *к* — *asaca* (та же метафаза, что и на рис. 2, *и*), *л* — *zfz*, *м* — *bmp7* (та же метафаза, что и на рис. 2, *л*), *н* — ADL0254, *о* — *insr* (та же метафаза, что и на рис. 2, *н*), *п* — *sw01*, *р* — *ubap2w* (та же метафаза, что и на рис. 2, *п*). Стрелками показаны сайты специфической локализации. Об. 100×, ок. 10×.

тов LEI0342 и MCW0330 в геноме перепела выявлены вместе с геном *hspa5* на одной и той же микрохромосоме (рис. 1, *д*—*з*). По современным данным, ген *hspa5* в геноме курицы расположен на микрохромосоме 17 (Schmid et al., 2000, 2005). Для микросателлита LEI0342 в геноме курицы кроме указанной микрохромосомы GGA17 (<http://www.thearkdb.org/arkdb/>) найден еще один сайт локализации на микрохромосомах меньшего размера (рис. 2, *д*, *е*).

Результаты, полученные нами на митотических хромосомах перепела, публикуются впервые. Они полностью подтверждают наше ожидание на основании баз данных по курице и предположения о высоком консерватизме генома птиц. Однако с теми же генами на митотических хромосомах курицы получены другие результаты, хотя изначально считалось, что они должны быть такими же, как у перепела. В геноме курицы локализация генов *sw01*, *zfz* и микросателлита MCW0330 была подтверждена на

микрохромосомах GGAW, GGA20 и GGA17 соответственно. Найдены дополнительные сайты локализации для микросателлитов ADL0254 и LEI0342. Кроме микрохромосом 28 и 17 они обнаружены на другой паре микрохромосом, которые не определялись в ходе выполнения данной работы. На митотических хромосомах курицы с помощью метода FISH также показано, что гены *maf*, *aldh1a1* и *pno* не принадлежат микрохромосомам 11, 15 и 19 соответственно.

Следует также отметить, что во всех известных базах данных по геному курицы одни и те же маркеры имеют неодинаковую локализацию. Это в свою очередь вызывает определенные трудности при выборе нужных маркеров для идентификации микрохромосом и сравнительного картирования. В связи с этим необходимо сравнить эти базы данных и устранить все выявленные противоречия с помощью дополнительного картирования маркеров со спорной локализацией.

Авторы выражают благодарность М. Н. Романову за предоставление ВАС-клонов *G. g. domesticus*, которые были использованы в настоящей работе.

### Список литературы

Кузнецова Н. Н., Винтер В. Г. 1997. Методы генной инженерии: Учебное пособие. М.: Биоинформсервис. 180 с.

Delany M. E., Gessaro T. M., Rodrigue K. L., Daniels L. M. 2007. Chromosomal mapping of chicken mega-telomere arrays to GGA9, 16, 28 and W using a cytogenomic approach. *Cytogenet. Genome Res.* 117 : 54—63.

Kayang B. B., Fillon V., Inoue-Murayama M., Miwa M., Leroux S., Fevel K., Monvoisin J. L., Pitel F., Vignoles M., Mouilhayrat C., Beaumont C., Ito S., Minvielle F., Vignal A. 2006. Integrated maps in quail (*Coturnix japonica*) confirm the high degree of synteny conservation with chicken (*Gallus gallus*) despite 35 million years of divergence. *BMC Genomics.* 7 : 101.

Lichter P., Boyle A. L., Cremer T., Ward D. C. 1991. Analysis of genes and chromosomes by nonisotopic *in situ* hybridization. *Genet. Anal. Tech. Appl.* 8 : 24—33.

Nanda I., Shan Z., Schartl M., Burt D. W., Koehler M., Nothwang H.-G., Grutzner F., Paton I. R., Windsor D., Dunn I., Engel W., Staeheli P., Mizuno S., Haaf T., Schmid M. 1999. 300 million years of conserved synteny between chicken Z and human chromosome 9. *Nat. Genet.* 21 : 258—259.

Romanov M. N., Price J. A., Dodgson J. B. 2003. Integration of animal linkage and BAC contig maps using overgo hybridization. *Cytogenet. Genome Res.* 102 : 277—281.

Rozen S., Skaletsky H. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods Mol. Biol.* 132 : 365—368.

Schmid M., Nanda I., Burt D. 2000. First report on chicken genes and chromosomes. *Cytogenet. Cell Genet.* 90 : 169—218.

Schmid M., Nanda I., Burt D. 2005. Second report on chicken genes and chromosomes. *Cytogenet. Genome Res.* 109 : 415—479.

Поступила 21 IV 2009

### COMPARATIVE LOCALIZATION OF CHICKEN FIVE FUNCTIONAL GENES AND THREE MICROSATELLITES ON QUAIL MITOTIC CHROMOSOMES BY TWO-COLOR FISH-HYBRIDIZATION

A. V. Trukhina, A. F. Smirnov

Department of Genetics and Selection, St. Petersburg State University;  
e-mail: trukhina\_ant@mail.ru

In order to localize chicken genes and microsatellites we used two-color FISH and chicken chromosome specific BAC-clones. All BAC-clones were verified by PCR. Analysis of the results obtained showed that: *maf* gene formed one linkage group with *mc1r* gene (CJA11), *aldh1a1* — with *igvps* gene (CJA15), *pno* — with *acaca* gene (CJA19), *fzf* — with *bmp7* gene (CJA20), *cw01* — with *ubapw2w* gene (CJAW). Microsatellite ADL0254 was localized jointly with *insr* gene (CJA28), while LEI0342 and MCW0330 microsatellites — with *hspa5* gene (CJA17). The same work was fulfilled on chicken mitotic chromosomes. We obtained other results. *maf* gene was localized independently of *mc1r* (GGA11), *aldh1a1* was localized independently of *igvps* gene (GGA15), and *pno* gene (GGA19) was localized independently of *acaca* gene. ADL0254 and LEI0342 microsatellites had two sites of localization (GGA28, GGA17 accordingly and other site). Localization for genes *cw01* and *fzf*, and for MCW0330 microsatellite was confirmed.

Key words: BAC, chicken, FISH, gene, linkage group, microsatellite, quail.