



ПОЛИМОРФИЗМ ДНК ЛОШАДИ *EQUUS CABALLUS* И МЕТОДЫ ЕГО ВЫЯВЛЕНИЯ

¹Гарафутдинов Р.Р., ¹Гайнуллина К.П., ²Кирьянова О.Ю.,
³Юрина А.В., ³Долматова И.Ю., ⁴Логинов О.Н., ¹Чемерис А.В.

- ¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, Проспект Октября, 71, E-mail: chemeris@anrb.ru
²Уфимский государственный нефтяной технический университет, Россия, 450062, Уфа, ул. Космонавтов 1
³Башкирский государственный аграрный университет, Россия, Уфа, 450001, ул.50-летия Октября, 34
⁴Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450059, Уфа, ул. Р.Зорге, 19

Резюме

Дана краткая информация о численности лошадей в мире, в том числе в России, а также в Республике Башкортостан, при этом определенный акцент сделан на башкирской породе лошадей, создававшейся методом народной селекции на протяжении нескольких столетий. Показано эволюционное развитие методов детекции полиморфизма ДНК лошадей и проведены параллели с подобными подходами, используемыми в криминалистических исследованиях при ДНК-идентификации личности. Значительное внимание уделено микросателлитным повторам, служащим на протяжении уже почти трех десятилетий маркерными признаками при анализе пород, популяций и отдельных особей лошадей, для чего созданы специальные тест-системы на основе 17 динуклеотидных микросателлитных локусов. Приведены сведения о референсном ядерном геноме лошади EquCab3.0, включая позже секвенированную Y-хромосому, а также о митохондриальном геноме. Созданы специальные высокопроизводительные ДНК-чипы, позволяющие вести одновременный анализ до двух миллионов снипов, которых для лошадей выявлено уже более 20 миллионов. Отмечено, что методы, ранее разработанные для исследования полиморфизма ДНК человека, через некоторое время обязательно начинают применяться для других объектов, включая сельскохозяйственных животных. Так, заслуживает внимания ДНК-паспортизация отдельных племенных лошадей, которая может проводиться разными способами, обеспечивая, в том числе, возможность генетического штрих-кодирования и высокий уровень ДНК-цифровизации. Высказана мысль о применимости к лошадям ряда подходов, предложенных для ДНК-регистрации людей. Отмечено, что крайне важно для сохранения уникальной местной породы лошадей, являющейся брендом Республики Башкортостан, определение полного генома башкирской лошади, и представитель породы должен для этого быть отобран после тщательного высокопроизводительного анализа многих снипов башкирской лошади, а также якутской и казахской лошадей, с помощью которых велось восстановление башкирской породы. Помимо ядерного генома, необходимо секвенирование нескольких митохондриальных геномов внутривидовых типов башкирской лошади.

Ключевые слова: лошадь, башкирская порода лошадей, *Equus caballus*, ДНК, геном, митохондриальный геном, микросателлиты, однонуклеотидный полиморфизм, снипы, RAPD-анализ, ДНК-цифровизация, ДНК-паспортизация, генетическое штрих-кодирование, селекция

Цитирование: Гарафутдинов Р.Р., Гайнуллина К.П., Кирьянова О.Ю., Юрина А.В., Долматова И.Ю., Логинов О.Н., Чемерис А.В. Полиморфизм ДНК лошади *Equus caballus* и методы его выявления // Биомика. 2020. Т.12(2). С. 272-299. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-16

© Авторы

DNA POLYMORPHISM OF HORSES AND METHODS OF ITS DETECTION

¹Garafutdinov R.R., ¹Gainullina K.P., ²Kiryanova O.Yu., ³Yurina A.V., ³Dolmatova I.Yu., ⁴Loginov O.N., ¹Chemeris A.V.

¹Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Russia, Ufa, 450054, 71 Pr. Oktyabrya, E-mail: chemeris@anrb.ru

²Ufa State Petroleum Technological University, Russia, Ufa, 450062, 1 Kosmonavtov str.

³Bashkir State Agrarian University, Russia, Ufa, 450001, 34 50-letiya Oktyabrya str.

⁴Bashkir Research Institute of Agriculture, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Russia, Ufa, 450059, 19 R. Zorge Str.

Resume

Brief information is given about the number of horses in the world, including Russia, as well as in the Republic of Bashkortostan, while a certain emphasis is placed on the Bashkir horse breed, which was created by the method of national selection for several centuries. The evolutionary development of methods for detecting horse DNA polymorphism is shown, and parallels are drawn with similar approaches used in forensic research for DNA identification of individuals. Considerable attention is paid to microsatellite repeats, which have been used as markers for the analysis of breeds, populations and individuals for almost three decades and special test-systems based on 17 dinucleotide microsatellite loci have been created for this purpose. At the same time, microsatellites have a number of disadvantages, including a high rate of mutations and extremely poor DNA digitization of the data obtained with their help, which has recently become increasingly important. In addition, microsatellites can only indirectly provide information about the genetic (phenotypic) features of horses due to linkage groups. Information is provided on the EquCab3.0 reference nuclear genome of the horse, including the later sequenced Y-chromosome, as well as on the mitochondrial genome. Special high-performance DNA chips have been created that allow simultaneous analysis of up to two million SNPs from 20 millions already known for horse. It is noted that the methods previously developed for the study of human DNA polymorphism after some time necessarily begin to be applied to other objects, including farm animals. It is noted that it is extremely important to preserve the unique local horse breed, which is the brand of the Republic of Bashkortostan, to determine the complete genome of the Bashkir horse, which must be selected after a thorough high-performance analysis of many SNPs of the Bashkir horse breed, as well as the Yakut and Kazakh horses, with which the Bashkir breed was restored. In addition to the nuclear genome, it is necessary to sequence several mitochondrial genomes of intra-breed types of the Bashkir horse.

Keywords: horse, equine, Bashkir horse breed, *Equus caballus*, DNA, genome, mitochondrial genome, microsatellites, single-nucleotide polymorphism, SNP, RAPD-analysis, DNA digitization, genetic barcoding, DNA-cataloguing, breed, breeding

Citation: Garafutdinov R.R., Gainullina K.P., Kiryanova O.Yu., Yurina A.V., Dolmatova I.Yu., Loginov O.N., Chemeris A.V. DNA polymorphism of horse *Equus caballus* and methods of its detection. *Biomcs.* 2020. Vol. 12(2). P. 272-299. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-16 (In Russian)

© The Authors

Введение

Лошади (*Equus caballus* L.) стали верными спутниками человека около 5 тысячелетий назад, и за это время их численность постоянно росла, пока не появились автомобили и прочая самодвижущаяся техника. Так, достигнув 60 млн. голов в конце XIX века, численность лошадей с наступлением XX века стала снижаться, причем в разных странах по-разному. Тем, не менее, с увеличением населения Планеты количество лошадей также возросло, и уже на протяжении нескольких последних десятилетий колеблется вокруг той же отметки в 60 млн. За все это время выведено, по некоторым оценкам, более 400

пород лошадей, весьма сильно отличающихся своим экстерьером. В СССР разводили приблизительно 60 пород лошадей, в нынешней Российской Федерации таковых несколько меньше с общей численностью около 1,3 млн. голов, тогда как в 1990 году было в два раза больше, а в 1916 г. в России насчитывалось более 38 млн. лошадей.

Поскольку в рамках данной статьи значительное внимание будет уделено башкирской породе лошадей, то о ней нужно сказать отдельно. Башкирская порода лошадей формировалась в течение VII-XIV веков на основе аборигенной лошади лесного типа, скрещивавшейся с азиатскими

лошадьми кочевников. В итоге в Башкирии исторически сформировались два основных внутривидовых типа, имеющих разное предназначение. При этом башкирская лошадь – одна из немногих пород, пригодных для получения из кобыльего молока целебного кумыса. Выносливость башкирской лошади пригодилась и в военном деле, когда в Отечественную войну 1812 года и затем в Великую Отечественную войну на ее основе формировались кавалерийские полки. Довольно подробное описание башкирской лошади сделано В.С.Мурсалимовым и Б.Х.Сатыевым (Mursalimov, Sateyev) [1988].

В послевоенные годы племенная работа с башкирской породой лошадей проводилась в Башкирском НИИ сельского хозяйства под руководством известного специалиста И.А.Сайгина [Сайгин (Saigin), 1955]. Позже эта работа была продолжена, что вылилось в создание двух внутривидовых типов: ирандыкского – молочного направления продуктивности (Ахатова И.А., Мурсалимов В.С., Лукманов М.А., Мукминов Н.Г.) и учалинского мясного (Гайнуллин Ю.А., Мухаметова Н.А., Рахматуллин Д.Н., Сатыев Б.Х.), внесенных в начале 1990-х годов в Госреестр селекционных достижений РФ. Так, в последнем издании «Государственного реестра селекционных достижений, допущенных к использованию, Том 2 «Породы животных»»¹ [Государственный реестр ... (State Register...), 2019] под номером 9354321 значится Башкирская порода лошадей с двумя внутривидовыми типами, оригинаторами / патентообладателями которых совместно с ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр РАН являются ГУСХП Уфимский конный завод 119, Государственный племенной конный завод «Ирандыкский» и СПК «Байрамгуловский». По данным Росстата, в рейтинге субъектов Российской Федерации Республика Башкортостан занимает второе место по численности всех пород лошадей (112 тыс. голов) после Республики Саха-Якутия (178 тыс. голов) и опережает другие регионы с наибольшим поголовьем лошадей – Республику Алтай (104 тыс. голов), Забайкальский край (98 тыс. голов) и Республику Тыва (82 тыс. голов). По данным ГАУ Центра компетенций по коневодству и конному спорту «Акбузат», в Республике Башкортостан на начало 2020 года действуют 12 племенных организаций по разведению башкирской породы лошадей; из них 5 хозяйств имеют статус племенного завода и 7 – статус племрепродуктора. Во всех этих

хозяйствах содержится 7430 голов лошадей башкирской породы, в том числе кобыл – 3554 голов.

Поскольку популяция башкирской лошади, созданной, как считается, народной селекцией, восстанавливалась с помощью скрещиваний с близкими породами – якутской и казахской, то представляет огромный интерес установление генетических особенностей всех этих пород лошадей с помощью широкомасштабного анализа однонуклеотидного полиморфизма ДНК, ставшего доступным в последние годы, а также однозначная ДНК-паспортизация отдельных чистокровных особей лошадей башкирской породы для использования в селекционной работе и с целью слежения за их потомством. При этом полиморфизм ДНК настолько велик, что любые два организма, неважно какого вида, размножающиеся половым путем, всегда будут нести различия в их ДНК, которые могут быть выявлены тем или иным способом. Существует целая линейка методов выявления полиморфизма ДНК, которые будут рассматриваться здесь с соблюдением до некоторой степени хронологии их появления и применения. Но главной тенденцией развития и совершенствования таких методов является их усложнение, однако и задачи, которые они были призваны решать, становились все более масштабными. Методы выявления полиморфизма ДНК, применяемые к лошадям, мало отличаются от подобных при изучении полиморфизма ДНК человека, в том числе используемых для ДНК-идентификации отдельных индивидов, что рассмотрено нами недавно довольно подробно [Чемерис и др. (Chemeris et al.), 2018]. Однако за прошедшие два года произошли серьезные подвижки в этом вопросе, что нашло отражение в другой нашей статье [Чемерис и др. (Chemeris et al.), 2020], но применительно к лошадям подобные подходы еще не применяются. Однако с учетом того, что методы, разработанные для исследований ДНК человека, затем начинают применяться и к другим организмам, то можно не сомневаться, что и для лошадей когда-нибудь станет использоваться этот способ выявления полиморфизма ДНК на основе определенных микроаплотипов. Тем более, геномы человека и лошади близки по размеру. Собственно, и общие принципы полиморфных состояний ДНК у этих видов, равно как и у прочих эукариотических организмов, схожи, и если коротко, то их все (не беря во внимание крупные хромосомные перестройки) можно свести всего к двум типам² – однонуклеотидные замены и инделы

¹ Всего в данном Реестре перечислены 50 пород лошадей преимущественно отечественной селекции.

² Более подробно об организации генома лошади будет говориться в специальном разделе данной статьи.

(инсерции/делеции) одного или некоего количества нуклеотидов, куда можно отнести и мини- и микросателлитные последовательности.

Ввиду того, что данная статья посвящена исключительно анализу методов выявления полиморфизма ДНК лошадей, то генетические особенности популяций этих животных и распределения в них тех или иных локусов, а также эволюция лошадей и их domestикация останутся за пределами рассмотрения. Тем более, что этим вопросам посвящено немало статей как зарубежных [Warmuth et al., 2011; 2012; Librado et al., 2016; de Barros Damgaard et al., 2018; Fages et al., 2019 и др.], так и отечественных авторов, среди которых, как и можно было ожидать, выделяются публикации сотрудников ВНИИ Коневодства [Калашников и др. (Kalashnikov et al.), 2014; Храброва (Khrabrova), 2015; Храброва, Алексеева (Khrabrova, Alexeyeva), 2015; Храброва, Блохина (Khrabrova, Blokhina), 2018; Блохина, Храброва (Blokhina, Khrabrova), 2019; Храброва и др. (Khrabrova et al.), 2019 и др.].

Определенный акцент в этой статье будет сделан на оцифровке первичных результатов, поскольку в век цифровизации без этого не обойтись, но округленные данные не могут считаться истинно цифровыми. Можно считать, что благодаря секвенированию ДНК биология вошла в группу точных наук, и этим следует пользоваться. Так, определение нуклеотидных последовательностей с точностью 99,999% и установление размеров фрагментов ДНК (ампликонов) с точностью до нуклеотида в полной мере этому способствуют.

Выявление полиморфизма ДНК методами, не требующими знания нуклеотидных последовательностей всего генома или отдельных генов

Некоторое время назад нами опубликован обзор, в котором весьма детально были рассмотрены методы выявления полиморфизма ДНК с помощью ПЦР с праймерами с произвольной последовательностью или с праймерами, рассчитанными на амплификацию неких сателлитных последовательностей, считая, что такие в любом геноме наверняка есть [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018], и поэтому здесь остановимся лишь на подходах, применяемых для лошадей.

Но начать нужно с метода, обходящегося без амплификации ДНК и использующего блот-гибридизацию с минисателлитными зондами, что явилось также первым поколением маркерных признаков и для ДНК-идентификации человека [Jeffreys et al., 1985]. Так, в 1988 г. была опубликована статья, в которой для выявления полиморфизма ДНК ряда домашних животных, среди

которых была и лошадь, использовались несколько минисателлитных зондов, включая последовательность фага M13 с коровым мотивом GAGGGTGGNGGNTCT [Georges et al., 1988]. Недостатками этого подхода являлись необходимость для анализа большого количества ДНК и крупный размер выявляемых блот-гибридизацией с радиоактивной пробой фрагментов ДНК, укладываемых преимущественно в диапазон от 2 до 5 т.п.н., что не позволяло устанавливать их размеры с высокой точностью и что служило препятствием для сопоставления разных образцов. По сути, такое сравнение, которое велось по принципу «похоже / не похоже», могло проводиться только в рамках одного блот-гибридизационного эксперимента. В другой подобной работе тех лет авторы использовали в качестве гибридизационного зонда минисателлитную последовательность ДНК человека и также смогли выявить некоторый полиморфизм ДНК у шести неродственных особей лошадей [Troyer et al., 1989]. Возможно, последней опубликованной статьей [Anglana et al., 1996], в которой описывалось изучение полиморфизма ДНК лошадей с использованием блот-гибридизации с минисателлитной ДНК, стала работа итальянских авторов, обнаруживших заметные различия между 40 особями лошадей из трех популяций, а зондом им послужила последовательность минисателлитной ДНК лошади (TTTGAGGTGGATGGAC)_n.

В ряде работ для выявления полиморфизма ДНК лошадей использовался такой метод как RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), предложенный еще в 1990 г. [Williams et al., 1990]. Так, в одной из статей применялось 30 праймеров с произвольными последовательностями, приведшими к образованию 135 ампликонов [Shiue et al., 1999]. Другими авторами [Egito et al., 2007] для дифференциации пяти популяций лошадей бразильской породы Pantaneiro были опробованы 146 стандартных декамерных RAPD-праймеров, предложенных фирмой Operon Technologies (США), из которых в окончательный анализ были взяты 13, образовавших 44 полиморфных фрагмента ДНК, для которых, к сожалению, не указаны их размеры, и даже метод разделения получившихся ампликонов в том или ином типе гелей не упоминается, хотя можно предположить, что это, скорее всего, была агароза, исключая точное (до нуклеотида) измерение длин фрагментов ДНК. Для выявления генетических различий между арабской породой лошадей и местной египетской породой в другом исследовании были выбраны 14 декамерных праймеров из опробованных стандартных 25, давших в итоге 40 ампликонов, из которых 37 были переменными [Mahrous et al., 2010]. При этом размеры ампликонов

варьировали от 70 до 2000 пар нуклеотидов (в статье приводятся их приблизительные размеры), однако в полиакриламидном (секвенирующем) геле можно устанавливать истинные размеры фрагментов одноцепочечной ДНК уверенно только до 600-700 нуклеотидов длиной. Для характеристики лошадей якутской породы, в том числе жеребцов-производителей, отечественными авторами также применялся RAPD-анализ с 25 и 18 стандартными декамерными праймерами соответственно [Осипов и др. (Osipov et al.), 2015; Козлова (Kozlova), 2018]. При этом ими было отмечено, что данный подход для исследования пород лошадей используется нечасто. В обеих работах сообщается, что ампликоны имели преимущественные размеры от 350 до 1500 пар нуклеотидов (округленно), и их разделение велось с использованием агарозного геля. Ранее В.И.Глазко и соавт. (Glazko et al.) [1999] с использованием праймеров UBC-85 и UBC-126 проведен RAPD-анализ довольно большого числа лошадей целого ряда пород, а также местных якутских и гуцульских лошадей, помимо которых еще были изучены лошади Пржевальского. С этими же праймерами проведен RAPD-анализ лошадей башкирской породы, продемонстрировавший значительный полиморфизм, позволивший выявить 35 переменных локусов, которые авторы рекомендовали для изучения генетического полиморфизма популяции башкирской лошади [Ахатова, Хворов (Akhatova, Khvorov), 2000].

Для изучения пород лошадей отечественными авторами было предложено использовать ISSR-маркеры (Inter-Simple Sequences Repeats), широко применяемые для генотипирования растений [Бардуков и др. (Bardukov et al.), 2010, 2014; Воронков и др. (Voronkov et al.), 2011; Феофилов и др. (Feofilov et al.), 2011; Донт и др. (Dont et al.), 2018; Голик и др. (Golik et al.), 2018]. В этих работах в качестве праймеров служили протяженные олигонуклеотиды из ди- и/или тринуклеотидных повторов с закоренным одним или двумя нуклеотидами (преимущественно dC на 3'-конце), что обеспечивало наработку большего или меньшего числа полиморфных ампликонов с размерами от 180 до 1500 пар нуклеотидов, что исключало возможность точного измерения длин крупных фрагментов, поэтому и ампликоны небольших размеров также определялись округленно. Фактически метод ISSR амплификации можно считать неким вариантом аллель-специфичной ПЦР, и использование dC на 3'-конце праймеров вполне оправданно, поскольку именно цитозин обладает наилучшей дискриминирующей способностью, тогда как гуанин довольно легко спаривается с тиминном с образованием неканонических пар [Гарафутдинов и др. (Garafutdinov et al.), 2019]. Это видно, в частности,

из результатов, приведенных в одной из цитированных выше работ [Донт и др. (Dont et al.), 2018], где авторы выставляли оценки эффективности амплификации, и праймеры с одним или двумя dC на 3'-конце получили «пятерки», тогда как праймер с GG получил «единицу». При использовании ISSR-праймеров производится амплификация участков ДНК, фланкируемых повторяющимися элементами генома, служащих местами отжига таких праймеров, тогда как при детекции микросателлитных последовательностей имеет место амплификация как раз участков ДНК с повторами, и различия в их числе обеспечивают полиморфизм по длине выявляемых фрагментов, но для этого подхода требуется знание нуклеотидных последовательностей подобных мест в геноме исследуемого организма.

Выявление полиморфизма ДНК с помощью ПЦР на основе знаний нуклеотидных последовательностей отдельных генов или прочих участков генома

Появление ПЦР и установление первичных структур отдельных генов лошадей позволило подбирать праймеры к конкретным местам в геноме, при этом несущих отдельные переменные нуклеотиды, и использовать метод ПЦР-ПДРФ (Полиморфизм Длины Рестрикционных Фрагментов) для амплификации участков ДНК как ядерного, так и митохондриального геномов с последующим расщеплением подходящей рестрикционной эндонуклеазой [Ishida et al., 1996; Lindgren et al., 1998; Senese et al., 1999; Matiasovic et al., 2002]. Но дифференцирующие способности этого подхода крайне низки. Фактически, ПЦР-ПДРФ можно считать примитивным методом выявления однонуклеотидного полиморфизма генома, на котором подробнее остановимся ниже.

Тем не менее, метод ПЦР-ПДРФ в коневодстве находит применение и в настоящее время при типировании по генам мастей, что важно не только для корректной идентификации масти конкретной лошади, но и для получения приплода желаемой масти. Известно, что проявление базовых мастей (вороной, гнедой и рыжей) детерминировано генами двух локусов: *Extension (MC1R)*; аллели E^E и E^e и его антагониста *Agouti (ASIP)*; аллели A^A и A^a . Аллель E^E контролирует синтез черного пигмента (эумеланина), аллель E^e - синтез красного пигмента (феомеланина), A^A - предопределяет гнедую масть, тогда как аллель A^a - «не гнедую» масть. Появление лошадей соловой, буланой и изабелловой мастей вызвано действием гена-осветлителя *Cream* [Политова и др. (Politova et al.), 2006]. Для лошадей башкирской породы также актуальным является тестирование на наличие гена *Dun* – гена «дикий окраски» (саврасости), который является

доминантным геном-осветлителем. Он осветляет одновременно как черный, так и рыжий пигмент, но при этом его воздействие на пигмент в волосах гривы, хвоста и на ногах ограничено. Масти на основе гена саврасости являются самыми древними мастями, ранее всех остальных появившимися у лошадей, что дает основание называть их «дикими», поскольку они наилучшим образом позволяют лошади маскироваться на местности. В гене *Dun* имеется две мутации, одна из которых связана с делецией 1610 п.н. в гене *TBX3* и приводит к полной потере окраски дикого типа (аллель d_2), тогда как вторая мутация (аллель d_1) представляет собой однонуклеотидную замену, приводящую к неполной функциональности данного гена, что фенотипически проявляется в ослаблении отметин дикого типа. Не так давно был проявлен интерес к мастям древних лошадей Бурятии [Куслий и др. (Kusliy et al.), 2016]. У башкирской лошади также изучался полиморфизм ДНК отдельных генов *MC1R*, *MATR*, *PMEL17* [Калинкова и др. (Kalinkova et al.), 2019] и митохондриальной ДНК [Назарова и др. (Nazarova et al.), 2016].

Использование микросателлитных повторов, пришедшим на смену минисателлитам, ознаменовало целую эпоху в генотипировании лошадей. Причем подобная смена технологий выявления полиморфизма ДНК при ДНК-идентификации человека началась чуть раньше, когда было предложено использовать микросателлиты [Litt, Luty, 1989; Edwards, 1991], называемые также STR-локусами (Short Tandem Repeats), но, как ни странно, для человека использование минисателлитов, правда уже однолокусных, продержалось дольше. Впервые о выявлении и клонировании фрагментов генома лошади, содержащих динуклеотидные повторы (TG)_n и (TC)_n, было сообщено в 1992 г. [Ellegren et al., 1992], после чего последовали многочисленные работы, в которых с помощью ПЦР с фланкирующими праймерами на основе определенных для этих участков ДНК нуклеотидных последовательностей выявлялся значительный полиморфизм таких ампликонов у пород лошадей, а также при выяснении родственных отношений отдельных особей [Marklund et al., 1994; Binns et al., 1995; Lindgren et al., 1998]. Если в этих работах наряду с флуоресценцией для детекции ампликонов с микросателлитами использовалась радиоактивная метка и этап радиоавтографии, то в последующих экспериментах уже проводилось разделение одноцепочечных (денатурированных) ампликонов в автоматических секвенаторах сначала пластинного, а затем и капиллярного типов [Bowling et al., 1997; Tozaki et al., 2001]. Впервые о готовом наборе из 12 микросателлитных локусов (в виде двух

мультиплексов из 8 и 4 локусов) было сообщено на 25-ой конференции ISAG (International Society of Animal Genetics) в 1996 г. сотрудниками американской фирмы Applied Biosystems, показавшими различия между тремя породами лошадей [Bozzini et al., 1996]. В той же секции Polymorphism and Biodiversity другие авторы сделали доклад по использованию этого нового набора для типирования 9 пород лошадей [Colling, Kelly, 1996].

В 1998 г. ISAG рекомендовало для генетических исследований лошадей использовать 9 микросателлитных локусов (*AHT4*, *AHT5*, *ASB2*, *HMS3*, *HMS6*, *HTG4*, *HTG7*, *HTG 10*, *VHL20*), а с 1 января 2011 г. ISAG было рекомендовано увеличить комплект еще на три локуса – *ASB17*, *ASB23*, *HMS2* [van de Goor et al., 2011]. Но еще в 2003 г. появилась публикация сотрудника той же фирмы Applied Biosystems [Dimsoski, 2003], в которой описывался новый 17-плексный набор для генотипирования лошадей, где к уже использовавшимся в тот момент 12 локусам добавилось еще 5. Нужно заметить, что данный набор StockMarks Equine Genotyping Kit (локусы³ - *ASB2*, *LEX3*, *ASB17*, *HMS3*, *AHT5*, *CA425*, *VHL20*, *HMS6*, *HTG10*, *AHT4*, *HTG6*, *HTG7*, *HMS1*, *HMS2*, *ASB23*, *HTG4*, *HMS7*) до сих пор производится этой фирмой, ставшей частью концерна Thermo Fisher Scientific. Подобный набор Equine Genotypes Panel 1.1. (содержащий те же локусы) производится фирмой Finnzymes Diagnostics, также вошедшей в состав концерна Thermo Fisher Scientific. Японскими авторами было сообщено о применении Microsatellite 15 TKY System, основанной на предложенных ими 15 микросателлитных локусах, для установления родственных взаимоотношений лошадей [Tozaki et al., 2001]. Несмотря на то, что в России используются преимущественно 17-плексные наборы StockMarks Equine Genotyping Kit [Блохина и др. (Blokhina et al.), 2018; Гавриличева (Gavrilicheva), 2019 и др.], можно встретить применение и этих ТКУ-микросателлитов [Калинкова (Kalinkova), 2017].

Отдельно стоит коснуться выявления полиморфизма лошадей башкирской породы, проводимой как по 17 маркерным микросателлитным локусам [Долматова и др. (Dolmatova et al.), 2017], так и по меньшему их числу (шести) [Шириев и др. (Shiriev et al.), 2014; Юмагузина, Уразбахтин (Yumaguzina, Urazbakhtin), 2014]. По результатам исследования 155 голов лошадей по 14 микросателлитным локусам, для которых было

³ Данные локусы предложены разными авторами в разные годы, но такая детализация выходит за рамки этой статьи и вместе с информацией по праймерам и размерам конкретных ампликонов может быть найдена, например, в работе van de Goor et al. [2010].

выявлено 130 аллелей (54 из которых оказались редко встречающимися), отмечен в целом высокий уровень внутривидового полиморфизма башкирской лошади в сравнении с чистокровной верховой породой [Калинкова и др. (Kalinkova et al.), 2016].

В литературе сообщается также о разработке 24-плексной [Chen et al., 2010] и даже 29-ти [Dorji et al., 2018] системы на основе микросателлитных последовательностей для генотипирования лошадей. Ранее для генотипирования лошадей было использовано 50 микросателлитных локусов из разных систем в составе четырех мультиплексов, включая ТКУ набор [Glowatzki-Mullis et al., 2006]. Здесь можно заметить, что, безусловно, привлечение большего числа локусов может дать более точную информацию о родстве лошадей и генетической характеристике породы, но должен действовать принцип разумной достаточности, и вообще микросателлитным локусам присущи определенные недостатки, о которых будет говориться ниже. Однако здесь стоит упомянуть еще одну недавнюю работу, авторы которой решили создать унифицированный набор микросателлитных локусов, который бы подходил для генотипирования сразу 9 видов сельскохозяйственных животных, а также человека [Liu et al., 2019]. Для этого ими были проанализированы полные геномы этих видов и выработаны некие принципы выбора комплекта подходящих локусов и даже сравнены с системой CODIS, применяемой для ДНК-идентификации человека, но, учитывая огромный полиморфизм ДНК, эта их затея обречена на провал.

В 2006 г. в рамках рабочего совещания постоянного комитета по генетике лошадей, состоявшегося в ходе ISAG конференции, во время дискуссии было рекомендовано обратить больше внимания на однонуклеотидный полиморфизм ДНК, или иначе снипы (SNP – Single-Nucleotide Polymorphism). Но еще до этого в одной из работ генотипирование лошадей, помимо микросателлитных маркеров, осуществлялось еще и с помощью 6 биаллельных снипов [Swinburne et al., 2000]. При этом детекция части снипов велась с помощью уже упоминавшегося выше низкопроизводительного ПЦР-ПДРФ, а для других был применен весьма трудоемкий метод Genetic Bit Analysis [Nikiforov et al., 1994], в котором производилась ПЦР с генотипирующими праймерами и через несколько стадий требовалась завершающая колориметрическая детекция антител, конъюгированных с пероксидазой и щелочной фосфатазой. Однако технологии детекции снипов очень бурно развивались, и через несколько лет 53 снипа лошадей в двух мультиплексных ПЦР (27 и 26 снипов) после амплификации и однонуклеотидного

удлинения разделялись времяпрелетной масс-спектрометрией с помощью высокопроизводительного прибора Sequenom MassARRAY system [Hirota et al., 2010]. Причем эта статья была направлена в печать за несколько дней до того, как оказалась опубликованной установленная большим международным коллективом авторов нуклеотидная последовательность полного генома лошади [Wade et al., 2009].

Геном лошади

Поскольку у животных организмов ДНК, кроме ядра, находится еще и в митохондриях, то по хронологии начнем с секвенирования митохондриального генома, нуклеотидная последовательность которого в силу малого размера была определена гораздо раньше ядерного [Xu, Arnason, 1994]. Референсный геном митохондрий лошадей размером 16600 пар нуклеотидов оказался схож по организации с аналогичными геномами всех млекопитающих, включая человека. С геномом близкого родственника лошади – осла *Equus asinus*, он совпадает в целом на 93,1%, с дивергенцией в наиболее полиморфном так называемом контрольном регионе в 11,2% [Chowdhary, 2013]. Дальнейшее секвенирование наследуемого по материнской линии митохондриального генома различных пород лошадей (которых уже известно довольно большое количество) показало его некоторую вариабельность, что косвенно свидетельствует о разных центрах одомашнивания современных лошадей.

Для секвенирования полного ядерного генома лошади по целому ряду причин был выбран не жеребец, а кобыла по кличке Twilight, относящаяся к породе чистокровных скаковых лошадей Thoroughbred. После завершения секвенирования по методу Сэнгера с 6,8-ми кратным покрытием и получения чернового генома, названного как EquCab2.0, оказалось, что его размер составляет около 2,7 млрд. пар нуклеотидов [Wade et al., 2009; Wade, 2013]. Анализ секвенированных последовательностей позволил предсказать 20322 белок-кодирующих гена. В рамках того же проекта было проведено частичное секвенирование геномов еще 7 пород лошадей, что позволило выявить около одного миллиона снипов, причем около 700 тысяч из них пришлись на две хромосомы, секвенированные у других пород лошадей в более полном объеме. Таким образом, было предположено, что в геномах лошадей по одному снипу приходится в среднем на 1000 нуклеотидов. О некотором уточнении чернового генома лошади, произведенного с помощью секвенирования ДНК методом нового поколения, было сообщено в 2015 г. [Rebolledo-Mendez et al., 2015]. Но до этого был секвенирован еще один полный геном лошади (также кобылы) породы

Quarter с покрытием, кратным 24.7, оказавшийся первым, выполненным с помощью метода новых поколений [Doan et al., 2012]. При этом по сравнению с референсным геномом было выявлено 3,1 миллиона снипов и 193 тысячи инделов. Несколько позже был секвенирован геном лошади породы Marwari, позволивший авторам выявить в нем компоненты как арабской, так и монгольской пород [Jun et al., 2014].

В том же 2014 г. был инициирован новый проект по уточнению генома лошади EquCab2.0, что привело к формированию более точной его последовательности, получившей обозначение EquCab3 или EquCab3.0 [Kalbfleisch et al., 2018]. Недавно сообщено о завершении секвенирования геномов сразу шести пород лошадей с довольно высоким покрытием от 15 до 24-х кратного на лошадь [Al Abri et al., 2020]. Этот результат позволил уточнить разнообразие геномов лошадей разных пород и, в частности, стало ясно, что снипы составляют около 0,7% генома (всего у всех пород по сравнению с референсной было выявлено 17 миллионов 594 тысячи 817 снипов) и что они в среднем встречаются через каждые 136 нуклеотидов. И это почти в 8 раз чаще, чем предполагалось ранее. Собственно, схожая тенденция наблюдается и с геномом человека, только у человека с учетом гораздо большего числа секвенированных полных геномов и снипов известно уже порядка 115 миллионов при схожих размерах геномов. Хотя людей на Планете приблизительно на два порядка больше, чем лошадей, разнообразие пород лошадей настолько велико, что можно предполагать, что во всей их 60-ти миллионной популяции снипов будет не меньше, чем у 7 миллиардов человек.

Помимо снипов в геномах лошадей обнаружено почти два миллиона коротких инделов [Al Abri et al., 2020]. Имеются еще варьирование числа копий отдельных элементов генома и прочие структурные вариации общим числом свыше 5 миллионов. Таким образом, как и следовало ожидать, наибольшую вариабельность геномам лошадей (в том числе это характерно и для отдельных особей) обеспечивает однонуклеотидный полиморфизм в виде снипов. В последние годы секвенировано еще немало полных геномов лошадей разных пород [Zhang et al., 2018; Seong et al., 2019; Cosgrove et al., 2020; Hack et al., 2020] и один экзом [Pereira et al., 2019]. В одной из публикаций сообщается о выявлении при секвенировании в геномах лошадей 23,5 млн. снипов [Jagannathan et al., 2018], из чего можно сделать вывод об их встречаемости в среднем через каждые 100 нуклеотидов.

Y-хромосома лошади (жеребца) была секвенирована отдельно [Janeska et al., 2018; Felkel et al., 2019a] и оказалась самой маленькой из всех –

около 9,5 млн. пар нуклеотидов, тогда как самая маленькая из аутосом 31-ая хромосома содержит около 25 млн. пар нуклеотидов, при этом другая половая X-хромосома несет 124 млн. пар нуклеотидов, а самая крупная хромосома 1 – почти 186 млн. пар нуклеотидов. Причем, если митохондриальный геном у лошадей довольно вариабелен, то Y-хромосома, напротив, высоко консервативна, что связывают с использованием для скрещивания небольшого числа элитных жеребцов.

Массовое выявление однонуклеотидного полиморфизма ДНК

Выявление однонуклеотидного полиморфизма у любых организмов представляет большой интерес, и поэтому методов его детекции разработано огромное количество, среди которых одним из наиболее простых (не принимая во внимание ПЦР-ПДРФ, поскольку речь идет об относительно производительных подходах) является аллель-специфичная ПЦР. Упомянутый выше вариант однонуклеотидного удлинения специфичного праймера, сопровождаемого времяпролетной масс-спектрометрией, можно считать некой промежуточной ступенью, поскольку наиболее производительными являются ДНК-чиповые технологии [Ding, Jin, 2009], которые прежде появились для исследования генома человека, а затем были разработаны и для других важных для человека объектов (геномов).

Первым поколением ДНК-чипов для массового выявления снипов стала технология фирмы Illumina EquineSNP50 Genotyping BeadChip, основанная на 54602 снипах, происходящих из 31 аутосом лошадей, находящихся в них согласно EquCab2.0 Assembly на расстоянии в среднем 43,2 тыс. пар нуклеотидов друг от друга. С помощью таких чипов были изучены генетические особенности 814 лошадей из 36 пород [Petersen et al., 2013], а вслед за данной статьей вышла еще одна публикация этих авторов, в которой сообщалось об аналогичном исследовании 744 особей, относящихся к 33 породам лошадей [Petersen et al., 2013a]. Недавно вышла статья, где с помощью такого же чипа исследовались генетические особенности 8 японских пород лошадей в сравнении с 32 породами со всего мира [Tozaki et al., 2019]. В нескольких статьях сообщается об использовании второго поколения таких чипов EquineSNP70 Genotyping BeadChip, несущих 65157 снипов из всех 31 аутосом⁴, расположенных в среднем на расстоянии 40 тыс. пар нуклеотидов друг от друг, для генотипирования отдельных лошадей разных

⁴ EquineSNP70 Genotyping BeadChip в отличие от EquineSNP50 Genotyping BeadChip несет еще двадцать снипов из X-хромосомы и два снипа из Y-хромосомы

пород (финских, китайских, итальянских) и сравнения полученных результатов с аналогичными данными по другим породам мира [Kvist et al., 2019; Ma et al., 2019; Ablondi et al., 2020]. Следующим поколением ДНК-чипов для генотипирования лошадей стал чип Axiom Equine Genotyping Array фирмы Affymetrix (сейчас Thermo Fisher Scientific), несущий 670796 снипов, приблизительно 400 тысяч из которых рассчитаны на выявление межпопуляционных различий, а также около 200 тысяч снипов – на внутривидовые особенности, тогда как оставшиеся приблизительно 70 тысяч снипов были из прежних подобных чипов. С помощью этих 670К чипов были исследованы 370 японских скаковых лошадей [Fawcett et al., 2019], 1476 лошадей 12 европейских пород [Grilz-Seger et al., 2019], 1755 лошадей 8 европейских пород [Sole et al., 2019]. Наконец, с помощью чипа MNEc2M, несущего 2001826 снипов той же фирмы Affymetrix (сейчас Thermo Fisher Scientific), изучены 332 лошади 20 пород [Schaefer et al., 2017] и 485 лошадей 32 различных пород [Beeson et al., 2019]. Краткую характеристику ДНК-чипов SNP50, SNP70, MNEc670 и MNEc2M можно получить из работы Beeson и соавт. [2019a].

Анализ сразу большого числа снипов позволяет выявлять как породные характеристики, так и популяционные особенности, включая генеалогию отдельных особей, а также прогнозировать черты, могущие оказаться полезными при селекции на выносливость, быстроту и прочие важные показатели. Безусловно, секвенирование всего генома несет еще больше ценной информации, но оно значительно дороже и длительнее. При этом однозначная ДНК-паспортизация отдельных лошадей может производиться и с помощью меньшего числа генетических различий между особями, о чем будет говориться дальше.

ДНК-паспортизация пород лошадей и отдельных особей

В настоящее время ДНК-идентификация человека производится на основе полиморфизма двух десятков STR-локусов. Причиной тому служит относительная простота их выявления и значительное число аллельных комбинаций, обеспечивающих должные генетические различия отдельных индивидов. Собственно, из тех же соображений свои микросателлиты используются при исследовании лошадей. Однако для них все входящие в коммерческие наборы микросателлитные локусы являются динуклеотидными, тогда как при генотипировании ДНК человека от таковых очень быстро отказались в силу худшей воспроизводимости результатов и перешли на микросателлиты с более протяженными коровыми мотивами. Основной проблемой при амплификации подобных повторяющихся элементов генома, особенно в

системах *in vitro*, является проскальзывание цепей при репликации ДНК, приводящее к образованию так называемых статтерных фрагментов с неверным числом повторов в них по сравнению с исходными. Это особенно заметно проявляется при анализе смешанных образцов ДНК, например, преступника и жертвы, что для анализа ДНК лошадей, впрочем, неактуально. При этом выявление микросателлитов требует присутствия в исследуемых образцах ДНК относительно крупного размера, что в случае лошадей может служить проблемой при исследовании ископаемых останков. Здесь нужно отметить одну работу, в которой по аналогии с miniSTR-локусами, используемыми для ДНК-идентификации проблемных (поврежденных, старых) образцов биологического материала людей, разработаны подобные комплекты праймеров для части из 17-ти микросателлитных локусов лошадей, причем для четырех из них удалось уменьшить размеры ампликонов более чем на 100 нуклеотидов [Kun et al., 2018]. Но есть и другие недостатки микросателлитных или STR-локусов, от которых нельзя «отмахнуться» при исследовании, в виде гораздо более высокой мутационной скорости, присущей этим элементам генома, что снижает достоверность результатов при выяснении родства и прочих генеалогических исследованиях. Хотя указанные в одном из обзоров [Balanovsky, 2017] обобщенные из целого ряда публикаций сведения относительно скорости мутационных процессов микросателлитных STR-последовательностей и снипов относятся к человеку, тем не менее, считаем возможным их здесь привести, поскольку эукариотические ДНК-полимеразы делают схожие ошибки при репликации. Так, для снипов скорость мутаций составляет менее чем 10^{-9} , тогда как для STR-локусов она значительно выше – более чем в 10^{-3} .

Отдельного внимания заслуживает действующая номенклатура используемых маркеров для лошадей, практически исключая четкую оцифровку данных. Уже довольно давно по аналогии с подобной номенклатурой для STR-локусов человека известными специалистами в области ДНК-криминалистики было рекомендовано остановиться на наиболее оптимальной номенклатуре и следовать ей [Budowle et al., 2005]. Спустя некоторое время было предложено взять за основу количество повторов в тех или иных локусах, и была осуществлена конверсия подобных данных в «цифру» [van de Goor et al., 2010], приведенная нами здесь в таблице. Хотя нужно признать, что до сих пор сохранилось использование буквенных обозначений, на которых стоит остановиться подробнее ввиду целого ряда возможных ограничений в их применении и плохой цифровизации.

Таблица

Конверсия буквенной ISAG номенклатуры в цифровую в виде числа повторов
Conversion of alphabet ISAG nomenclature to digital repeat-number nomenclature

RN ISAG	AHT4	AHT5	ASB2	ASB17	ASB23	CA425	HMS1	HMS2	HMS3	HMS6	HMS7	HTG4	HTG6	HTG7	HTG10	LEX3	VHL20
9			B														
10			C														
11				D													
12					D	F							G				
13			F	F		G				K	G					F	I
14		H	G	G		H	I			L			I			G	J
15		I		H	G	I	J	H		M			J	K		H	K
16		J	I	I	H	J	K	I		N	J		K			I	L
17		K	J	J	I	K	L	J		O	K		L			J	M
18		L	K	K	J	L	M	K		P	L		M			K	N
19		M	L	L	K	M	N	L		Q	M		N			L	O
20		N	M	M	L	N	O	M	H		N		O			M	P
21		O	N	N		O	P		I		O		P			N	Q
22			O	O		P	Q	O			P		Q			O	R
23		Q	P	P				P			Q					P	
24			Q	Q	P			Q	L							Q	
25	H		R	R	P			R	M								
26	I		S	S	Q			S	N								
27	J			T	R				O								
28	K				S			U	P								
29	L			V	T				Q								
30	M			W	U				R			K					
31	N				V				S			L					
32	O			Y								M					
33	P											N					
34	Q											O					
35	R											P					
36												Q					

RN – Repeat Number

ISAG – 17 микросателлитных локусов, рекомендованных International Society of Animal Genetics

Данная номенклатура микросателлитных локусов основана на использовании букв английского алфавита, и находящаяся в его середине буква **N** присваивается среднему числу повторов, обнаруженных для того или иного микросателлитного элемента генома. Так, из таблицы можно видеть, что для разных микросателлитных локусов одинаковые буквы английского алфавита могут обозначать разные количества повторов в них. И это логично. Но как быть, например, с локусом ASB2, у которого выявляемые 9 коровых мотивов обозначаются буквой **B**, а у какой-то лошади их окажется всего 7 или того меньше? Букв-то уже хватать не будет! В силу того же проскальзывания цепей при репликации, в том числе *in vivo*, и высокой скорости мутации микросателлитных участков ДНК нельзя исключать возникновение и даже уже наличие

у еще неисследованных особей повторов с 8 и меньшим числом коровых мотивов. И тогда вся относительно стройная система буквенного кодирования микросателлитных локусов будет нарушена. Собственно, подобные проблемы могут возникнуть еще для целого ряда используемых микросателлитных локусов. В частности, для самого полиморфного локуса ASB17, для которого известно число коровых повторов находится в диапазоне от 11 до 32 (с некоторыми промежутками). При этом нет никакой гарантии обнаружения в будущем их меньшего или большего числа, и букв английского алфавита может попросту не хватить ни «вверх», ни «вниз». Причем, сами создатели подобной номенклатуры не исключили выявления неизвестных аллелей, пропустив, например, для локуса ASB23, буквы **F, G, H, N, O, P** (13, 14, 21, 22, 23 коровых

повтора соответственно), поскольку прекрасно понимали, что они могут со временем быть найдены. Следовательно, вполне можно ожидать и уменьшения/увеличения числа таких повторов в любых микросателлитных локусах, оказывающихся за пределами нынешних размерных границ и, соответственно, букв английского алфавита. Поскольку мы проводим параллели между использованием микросателлитных локусов лошадей и аналогичным им STR-локусами человека, то нужно заметить, что таких локусов с неожиданным ранее числом повторов для человека выявлено уже немало. Поэтому ввиду большой неопределенности любых микросателлитных локусов, ДНК-цифровизация по ним представляет большую проблему, особенно в плане организации четкой базы данных с фиксированным числом ячеек. У нас есть свое кардинальное предложение на этот счет, но оно будет озвучено в разделе **Заключение**.

Существуют и альтернативные подходы к ДНК-паспортизации лошадей и характеристике пород. Так, например, уже упоминавшийся выше RAPD-анализ в определенных условиях может быть применим для однозначной ДНК-идентификации отдельных особей. Поскольку в этом же номере журнала есть биоинформатическая статья [Кириянова и др. (Kiryanova et al.), 2020], посвященная виртуальной амплификации ДНК ряда видов растений и подробно описывающая теорию этого метода, то здесь на этом останавливаться не будем, заметив лишь, что предлагаемый подход способен

обеспечить гигантское число комбинаций, в определенных случаях превышающее гугол (10^{100}), и получаемые результаты легко переводятся в двоичный (0, 1) код. Хотя выше и говорилось, что RAPD-анализ относится к методам, обходящимся без знания нуклеотидных последовательностей генома, тем не менее, когда таковые известны, можно заранее прогнозировать результат амплификации таких случайных фрагментов ДНК, в том числе в мультиплексном варианте. Это дает заметную экономию ресурсов и времени, поскольку освобождает от химического синтеза большого числа праймеров и их апробирования в «мокрых» экспериментах. Для такого *in silico* анализа мы выбрали 6 декамерных праймеров (AACCAGACAA, AAGGGACAAA, AACCGAACAA, AACGCACAAA, AAAACGCCAA, AACGCCAAAA) и с помощью написанной нами ранее программы ABCDNA_GS [Кириянова и др. (Kiryanova et al.), 2020a] определили возможные ампликоны в диапазоне от 51 до 500 нуклеотидов (который с помощью капиллярного гель-электрофореза позволяет устанавливать их размеры с точностью до нуклеотида), переводя затем эти числа в двоичный код, исходя из отсутствия (0) или присутствия (1) фрагмента ДНК той или иной длины из указанного выше размерного диапазона. В итоге мы получили для референсного генома лошади EquCab3.0 размерный ряд из 21 анонимного фрагмента ДНК, который был превращен в генетический штрих-код, изображенный на рис. 1.

Виртуальные ампликоны	Генетический штрих-код
70*, 113, 140, 141, 177, 187, 190, 205, 220, 242, 260, 302, 324, 326, 376, 386, 442, 458, 462, 469, 480	

* - данные числа означают размеры ампликонов, выраженные в нуклеотидах.

Рис. 1. Генетический штрих-код референсного генома лошади EquCab3.0, образуемый шестью мультиплексными декамерными праймерами

Fig. 1. Genetic barcode of the reference genome of the horse EquCab3.0, formed by six multiplex decamer primers

Согласно теории вероятности, при нахождении 21 фрагмента ДНК (ампликона) в воображаемых 450 ДНК-ячейках число возможных комбинаций занятия ими разных ячеек достигает многих дециллионов, что невероятно много и практически исключает случайное совпадение подобных генетических штрих-кодов других лошадей. Можно с большой уверенностью прогнозировать, что для других пород / отдельных лошадей будут выявляться близкие количества ампликонов, при этом несколько отличающихся по размерам, что и будет служить ДНК-паспортом

лошади / породы. Поскольку эти участки генома, как правило, происходят из разных хромосом, то получается как бы своеобразный «срез» генома, могущий служить, по крайней мере, предварительной характеристикой породы и/или конкретной популяции лошадей без привязки к ее фенотипическим особенностям.

Но нужно признать, что данный подход не лишен ряда сложностей при его реальном (не виртуальном) воплощении, и его предпочтительнее применять к тем организмам, чьи полные геномы или совсем неизвестны, или известны только для одного

образца, и информации по сникам маловато. К тому же данный подход больше пригоден для паспортизации тех объектов, которые представляют собой некую популяцию типа группы индивидуальных растений, формирующих тот или иной сорт. Что касается лошадей, то их относительно немного, и ДНК-паспортизация коснется персонально отдельных особей. К тому же, помимо референсного генома, секвенировано еще несколько геномов других пород лошадей, и хотя большинство из них еще не завершены настолько, чтобы быть выложенными в базах данных, тем не менее информации по сникам, о чем уже говорилось выше, довольно много, и есть из чего выбрать наиболее подходящие сники для ДНК-паспортизации конкретных особей. При этом частота мутации сников на несколько порядков ниже, нежели у микросателлитных локусов, что обеспечивает гораздо лучшее выстраивание родословных. К тому же размер анализируемых фрагментов ДНК может быть совсем небольшим – всего около 50 пар нуклеотидов, что тоже немаловажно. При этом самой большой проблемой сников является их

преимущественно биаллельный характер (снижающий число комбинаций), но известны и три-, и тетрааллельные сники. Во избежание недоразумений следует заметить, что для одной особи в силу двуродительской природы любой сник всегда будет биаллельным (как гомо-, так и гетерозиготным), но ввиду неизбежного полиморфизма в популяции (внутри породы) у разных особей могут встречаться и три, и четыре разных нуклеотида.

Некоторое время назад нами [Гарафутдинов и др. (Garafutdinov et al.), 2015; Чемерис и др. (Chemeris et al.), 2019] предложен уникальный способ цифровизации однонуклеотидного полиморфизма, обеспечивающий формирование баз данных с фиксированными полями, в отличие от данных, получаемых при STR-генотипировании. Так, при оцифровке неких условных ячеек сников целиком, а не отдельных нуклеотидов в них, представляется возможным присваивать таким четырехбитным ячейкам соответствующие двоичные числа в виде четырехразрядного кода.

ACGT	ACGT	ACGT	ACGT	ACGT	ACGT	ACGT	ACGT	ACGT	ACGT	ACGT
A	C	G	T	AC	AG	AT	CG	CT	GT	
1000	0100	0010	0001	1100	1010	1001	0110	0101	0011	0000

Рис. 2. ДНК-цифровизация однонуклеотидного полиморфизма в виде отдельных сников (пояснения в тексте)
 Fig. 2. DNA digitization of single-nucleotide polymorphism in the form of separate SNPs (explanations in the text)

На рис. 2 представлены ячейки сников с графическим отображением возможных комбинаций полиморфных нуклеотидов в них, их бинарное кодирование согласно принципу оцифровки сразу всей ячейки сников, состоящей из четырех «размещенных» в ней в порядке латинского алфавита нуклеотидов А С G T. Черные вертикальные полосы в ячейках символизируют нуклеотид(ы), обнаруживаемые у какой-либо особи в конкретном снике, и соответствуют компьютерным «1». Белые невидимые вертикальные линии в снике, символизирующие отсутствующие (не находимые в данном снике) нуклеотиды, соответствуют компьютерным «0». «Лестницы» в виде квадратиков и рамка для сника СС носят здесь технический характер и показаны для обозначения границ ячеек сников, а сами «ступеньки лестниц» из квадратиков соответствуют нуклеотидам А, С, G и T и приведены здесь для наглядности и «привязки» черных вертикальных полос к их точному положению в

условной ячейке сника. Дополнительная 11-ая безнуклеотидная ячейка, необходимость которой возникает вследствие вероятности невыявления полиморфных нуклеотидов в снике из-за неверно сделанного анализа или мутаций, кодируется четырьмя «0».

Для ДНК-паспортизации конкретной лошади на основе однонуклеотидного полиморфизма ДНК потребуется специальная панель из ограниченного числа сников из последовательно расположенных четырехбитных ячеек, где цифровая информация в виде единой линейной записи из перемежающихся «нулей» и «единиц» принадлежит комплекту всех сников. При выявлении, например, для некоего условного жеребца в подобранной панели, например из 33 сников (по одному снику из аутосомных и половых хромосом лошади), нуклеотидов С АС GT С АG G T G C А CG G C АС GT CT С А T T АТ АС АТ T АТ АС CG АС T АС T T CG АС GT АС CG G GT CT CG T GT АС G CG А АС GT, в двоичном

четырёхрядном формате эти данные будут иметь вид:

0100110000110100101000100001001001001000011000
1001001100001101010001100000010001100111001001
0001100111000110110000011100000100010011.


Их отображение в графическом формате будет выглядеть соответственно как . Чтобы соотнести размеры генетического штрих-кода на основе RAPD-анализа, состоящего из 450 ДНК-ячеек, и генетического штрих-кода на основе однонуклеотидного полиморфизма из 33 снипов в виде четырехбитного кодирования (132 ДНК-ячейки), приведем последний в сопоставимом масштабе с таковым на рис. 1, изобразив его на рис. 3:



Рис. 3. Генетический штрих-код условного жеребца, созданный на основе панели из 33 снипов

Fig. 3. Genetic barcode of an undetermined stallion, created on the basis of a panel of 33 SNPs

На самом деле размеры генетического штрих-кода для ДНК-паспортизации – дело второстепенное, поскольку в базах данных будет храниться их запись в двоичном формате из нулей и единиц, и длина такой записи не столь принципиальна, ввиду того, что даже, если создавать ДНК-паспорт отдельных лошадей на основе большего числа снипов, например 60, то это будет всего 240 бит информации (меньше 1 килобайта) на одну особь, что намного меньше, чем требуется сейчас при записи буквенных обозначений микросателлитных локусов. И это весьма высокий уровень ДНК-цифровизации.

Теоретическое число комбинаций генетического штрих-кода на основе снипов рассчитывается иначе, нежели для RAPD-полиморфизма. Если исходить, что выбранные снипы будут иметь биаллельный характер с приблизительно равной представленностью в них двух полиморфных нуклеотидов, то число возможных комбинаций составит квинтиллионы, что на 10–12 порядков превышает все живущее на Планете поголовье лошадей. В случае три- и тетрааллельности некоторых снипов, теоретическое число комбинаций дополнительно значительно вырастет. Упомянутые выше микрогаплотипы, представляющие собой группу наследуемых сцепленно снипов, расположенных вблизи друг от друга, обеспечат несравнимо большее число комбинаций, но, во-первых, таковое для лошадей излишне (учитывая их общую численность и тем более ограниченное количество паспортизируемых особей), а во-вторых, исследование микрогаплотипов предполагает

выяснение полиморфных нуклеотидов в снипах для каждой парной хромосомы по отдельности, что, с одной стороны, намного сложнее, а с другой – по лошадям, в отличие от человека, таких сведений пока недостаточно, и поэтому можно вполне ограничиться обычным анализом снипов. По крайней мере, в обозримом будущем.

Недавно нами произведены подсчеты необходимого числа снипов для однозначной ДНК-идентификации всего человечества и определено, что даже 72 снипов с высокой частотой полиморфизма вполне достаточно [Garafutdinov et al., 2020]. Учитывая, что лошадей на два порядка меньше, да и не всех нужно ДНК-паспортизировать, можно прогнозировать, что 33 снипов с большим запасом окажется достаточно, чтобы присвоить ДНК-паспорт каждой заслуживающей того лошади. При этом упоминаемые выше ДНК-чипы SNP50, SNP70, 670K, 2M с довольно большим и даже огромным числом анализируемых снипов для этой цели ДНК-паспортизации излишни и требуются для характеристики породы, а также для отдельных породистых лошадей в плане их всестороннего генетического анализа, говорящего о фенотипе.

Можно не сомневаться, что рано или поздно все человечество будет ДНК-паспортизировано, что на самом деле крайне важно по многим соображениям, и прежде всего это необходимо, конечно, для правоохранительных органов. Периодически в мире в разных странах звучат призывы к этому [Williamson, Duncan, 2002; Dedrickson, 2017; Hazel et al., 2018; Smith, 2018]. О создании базы данных, в которой бы содержалась информация о ДНК всего населения, включая приезжих, поднимался вопрос и в России. В частности, об этом говорил глава Следственного комитета при прокуратуре РФ А.И.Бастрыкин, выступивший с этим предложением на расширенной коллегии Генпрокуратуры летом 2010 года. Дальше всех в этом вопросе продвинулся Кувейт, который уже в 2016 г. был готов приступить к этой работе, но правозащитники заставили их отказаться от этой затеи. Но как бы то ни было, мир идет к тому, что подобная ДНК-паспортизация всего населения рано или поздно неизбежно произойдет. В этой связи можно привести одно недавнее высказывание, сделанное в книге «ДНК и ее человек. Краткая история ДНК-идентификации» [Клещенко (Kleshchenko), 2019, с. 247], где прямо говорится, что «...надо признать, что включение того или иного объема ДНК-данных в биометрию паспортов всего мира – скорее всего, лишь вопрос времени. Слишком уж удобен этот метод идентификации». Мы тоже придерживаемся подобных взглядов [Анисимов и др. (Anisimov et al.), 2019]. Однако необходимо признать,

что имеется ряд препятствий, поскольку некоторые считают, что тем самым будут нарушены права граждан на неприкосновенность частной жизни и может появиться практически неограниченный доступ к информации о них в виде их персональных ДНК-данных. Но с персональными данными человека в виде его ДНК не все так просто, и им нужно придавать особый статус, однако дискуссия на эту тему выходит за рамки данной статьи. Возвращаясь к лошадям, нужно отметить, что подобных этических проблем с ДНК-паспортизацией отдельных, представляющих в первую очередь коммерческий интерес, заводских производителей (даже не нужно поголовной) не существует, и к ней можно приступить, выбрав подходящие локусы, которые на наш взгляд могут быть только снипами и никак не микросателлитными последовательностями.

Заключение

Поскольку башкирская порода лошадей является культурным наследием и брендом Республики Башкортостан, ей необходимо уделять должное внимание, используя новейшие достижения молекулярной биологии и молекулярной генетики. Так, важными шагами в этом направлении должны стать биоинформатический анализ геномов разных пород лошадей и выбор подходящих снипов для целей ДНК-паспортизации племенных жеребцов и кобыл, который позволит проследить их потомство. При этом движением в правильном направлении следует считать постепенный уход от использования микросателлитных локусов для генотипирования лошадей, как, скорее всего, это произойдет и с ДНК-идентификацией человека. Появились более серьезные проблемы, как ни странно, после внедрения передовой технологии секвенирования ДНК новых поколений, называемых в ДНК-криминалистике массивным параллельным секвенированием. Так, массивное параллельное секвенирование STR-локусов показало, что они несут гораздо больше отличий, чем только изменение числа коровых мотивов, выявляемых капиллярными секвенаторами. Прогресс науки неумолим, и запрет применения полногеномных секвенаторов и пользование только капиллярными приборами невозможны. Фактически, все криминалистические базы данных становятся пригодными не в полной мере, поскольку появление новой, доселе неизвестной информации заметно меняет ситуацию в ДНК-криминалистике. Правда, следует признать, что пока еще не так много криминалистических лабораторий в мире оснащены полногеномными секвенаторами, но эти технологии развиваются настолько стремительно, что можно не сомневаться, что через несколько лет капиллярных секвенаторов в

них практически не останется, поскольку получаемые с их помощью данные перестанут признаваться как судами, так и всем криминалистическим сообществом. К тому же довольно активно развиваемый в последние годы подход с использованием для ДНК-идентификации личности микрогаплотипов, несущих разное число снипов, имеет массу преимуществ перед STR-полиморфизмом и вполне может стать новым поколением маркерных признаков для ДНК-криминалистики, а его применение невозможно без массивного параллельного секвенирования. При этом, как уже отмечалось выше, все технологии, нашедшие применение для исследования ДНК человека, через некоторое время оказываются в арсенале тех, кто изучает ДНК животных. Возможно, стоит поторопиться и приступить к их освоению уже сейчас и в чем-то даже успеть опередить ДНК-криминалистов, тем более этических проблем при изучении ДНК лошадей не существует.

К тому же микросателлиты не несут какой-либо ценной информации о генетических (фенотипических) особенностях лошадей, у которых они выявляются. В лучшем случае их можно считать сцепленными с некими полезными признаками, но это больше от лукавого. Безусловно, использование микросателлитов сыграло очень большую роль при индивидуальной идентификации лошадей, контроле их происхождения, грубой оценке генетической структуры популяций и некоторых внутривидовых различий. Но появление новых технологий диктует уход от применения устаревающих методов и от получения с их помощью малоинформативных сведений. Требуется переход к использованию новой передовой информации, какими когда-то были сами микросателлитные локусы, но их время неумолимо уходит. Поэтому только анализ снипов, кодирующих, в том числе и фенотипические признаки, может дать ценную информацию как в целом о породах лошадей и их популяциях, так и об отдельных особях. Конечно, эта технология дорогостояща, но и данные, которые будут получены с ее использованием, не идут ни в какое сравнение с анализом микросателлитных повторов, ничего не говорящих о функциональных особенностях генома лошадей.

Важнейшей информацией должны стать данные о ядерном геноме башкирской породы лошадей, полученные в результате полногеномного секвенирования, которое может быть выполнено на заказ в специализированных центрах. При этом выбор конкретных лошадей для секвенирования их полных геномов должен осуществляться через предварительный полногеномный анализ снипов с использованием упоминаемых выше высокопроизводительных ДНК-чипов, который в

свою очередь должен проводиться путем тщательного отбора для него конкретных лошадей на основании их экстерьерных признаков. Возможно, потребуется провести подобный анализ снипов у сохранившихся в музеях или иных местах конских волосах двухсот-трехсот летней давности, включая ископаемые останки лошадей еще большего возраста. Помимо ядерного генома башкирской лошади необходимо будет провести секвенирование митохондриального генома, который в силу его малого размера можно секвенировать у довольно большого числа особей, относящихся к внутрипородным типам, а также у старых и древних образцов.

Благодарности

Отчасти интерес к данной тематике вызван выполнением при финансовой поддержке РФФИ научного проекта по гранту РФФИ-мк № 18-29-14076, а также НИР ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ «Оценка генофонда и генетического разнообразия сельскохозяйственных животных в Республике Башкортостан». Данное исследование в рамках ГК №05.621.21.0033 выполнено с использованием оборудования РЦКП «Агидель» и УНУ «КОДИНК».

Литература

1. Анисимов В.А., Гарафутдинов Р.Р., Сагитов А.М., Сахабутдинова А.Р., Хуснутдинова Э.К., Аминев Ф.Г., Чемерис А.В. ДНК-криминалистика – зарождение, современность и перспективы // *Биомика*. 2019. Т.11(3). С. 282-314. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-26
2. Ахатова И.А., Хворов В.В. Новое в селекции лошадей башкирской породы // *Труды ВНИИК*. Дивово. 2000. С.36 - 39.
3. Бардуков Н.В., Коновалова Г.К., Глазко В.И. Профили ДНК-маркеров (ISSR-PCR) у лошадей рысистых пород // *Известия Тимирязевской Сельскохозяйственной Академии*. 2010. №6. С. 152-157.
4. Бардуков Н.В., Феофилов А.В., Глазко Т.Т., Глазко В.И. ISSR-PCR маркеры и мобильные генетические элементы в геноме домашней лошади *Equus caballus* // *Сельскохозяйственная биология*. 2014. №4. С.42-57. doi: 10.15389/agrobiology.2014.4.42rus
5. Блохина Н.В., Храброва Л.А., Зайцев А.М., Гавриличева И.С. Оценка генетического разнообразия микросателлитных локусов у лошадей тяжелоупряжных пород // *Генетика и разведение животных*. 2018. №2. С. 39-44.
6. Блохина Н.В., Храброва Л.А. Характеристика чистокровных верховых жеребцов разных линий

- по микросателлитным локусам // *Генетика и разведение животных*. 2019. № 3. С. 11-17.
7. Воронкова В.Н., Цэндсүрэн Цэдэв, Сулимова Г.Е. Сравнительный анализ информативности ISSR-маркеров для оценки генетического разнообразия пород лошадей // *Генетика*. 2011. Т. 47. №8 Год: С. 1131-1134.
 8. Гавриличева И.С. Генетико-популяционная характеристика русской рысистой породы лошадей по локусам микросателлитов ДНК // *АгроЗооТехника*. 2019. Т.2. №3. С.1-8. doi: 10.15838/alt.2019.2.3.2.
 9. Гарафутдинов Р.Р., Баймиев Ан.Х., Малеев Г.В., Алексеев Я.И., Зубов В.В., Чемерис Д.А., Кирьянова О.Ю., Губайдуллин И.М., Матниязов Р.Т., Сахабутдинова А.Р., Никоноров Ю.М., Кулуев Б.Р., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Разнообразие праймеров для ПЦР и принципы их подбора. *Биомика*. 2019. Т.11(1). С. 23 – 70. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-04
 10. Гарафутдинов Р.Р., Сахабутдинова А.Р., Василев Р.Г., Чемерис А.В. Генетическое штрих-кодирование родственных индивидов. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2015. Т. 11(2). С. 20-26.
 11. Глазко В.И., Облап Р.В., Кушнир А.В., Щирский О.Н. Генетические маркеры лошадей // *Сельскохозяйственная биология*. 1999. № 4. С. 38-47.
 12. Голик Т.В., Эркенов Т.А., Глазко Т.Т., Глазко В.И. Спектры ISSR-PCR маркеров в оценках популяционно-генетической дифференциации Карачаевской лошади в хозяйствах Карачаево-Черкесской Республики // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2018. №3. С.61-77. doi: 10.26897/0021-342X-2018-3-61-77.
 13. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Том 2 «Породы животных» (официальное издание), М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. 204 с.
 14. Долматова И.Ю., Нияштин Ф.И., Уразбахтин Р.Ф. Популяционно-генетическая характеристика лошадей башкирской породы по микросателлитам ДНК // *Коневодство и конный спорт*. 2017. №4. С. 17-19.
 15. Донт Ю.У., Тимарова А.В., Комарова Л.В., Боронникова С.В. Генетический полиморфизм трех пород лошади домашней // *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*. 2018. №1. С.50-56. doi: 10.17072/1994-9952-2018-1-50-56.
 16. Калашников В.В., Храброва Л.А., Зайцева М.А., Гавриличева И.С., Калинкова Л.В., Калинкина Г.В., Махмутова О.Н. Использование

- микросателлитных локусов ДНК для оценки генетического разнообразия Орловской рысистой породы лошадей // *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*. 2014. № 2. С. 30-33.
17. Калинин Л.В. Эффективность дополнительных микросателлитных маркеров при тестировании чистокровных арабских лошадей на достоверность происхождения // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2017. №12. С.51-57.
 18. Калинин Л.В., Зайцев А.М., Брэм Г., Калашников В.В. Генетический портрет башкирской лошади // *Коневодство и конный спорт*. 2016. №6. С.5-7.
 19. Калинин Л.В., Зайцев А.М., Калашников В.В. Полиморфизм генов MC1R, MATP и PMEL17 у лошадей башкирской породы // *Коневодство и конный спорт*. 2019. №6. С.27-28.
 20. Кирьянова О.Ю., Кирьянов И.И., Кулуев Б.Р., Чемерис А.В., Гарафутдинов Р.Р., Губайдуллин И.М. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2020610703 ABCDNA_GS (Amplified Bar-Coded DNA Genome/Specimen) от 17.01.2020 г.
 21. Кирьянова О.Ю., Кулуев Б.Р., Кулуев А.Р., Губайдуллин И.М., Чемерис А.В. Мультиплексный *in silico* RAPD-анализ ряда родственных растений с отличающимися размерами геномов и перспективы такого подхода для ДНК-паспортизации сортов сельскохозяйственных растений // *Биомика*. 2020. Т.12. №2. С. 194-210. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-10
 22. Клещенко Е. ДНК и ее человек. Краткая история ДНК-идентификации / Елена Клещенко. научн. ред. д-р биол. наук С. Боринская. М.: Альпина нон-фикшн, 2019. 314 с.
 23. Козлова Л.Г. Исследование ДНК полиморфизма двух линий жеребцов производителей якутской породы методом RAPD-PCR // *Тенденции развития науки и образования*. 2018. № 43-6. С. 34-38.
 24. Кулуев Б.Р. Методы ПЦР для выявления мультилокусного полиморфизма ДНК у эукариот, основанные на случайном праймировании / Кулуев Б.Р., Баймиев Ан.Х., Геращенко Г.А., Чемерис Д.А., Зубов В.В., Кулуев А.Р., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. // *Генетика*. 2018. Т. 54. С. 495-511. DOI: 10.7868/S0016675818050016
 25. Куслий М.А., Дружкова А.С., Попова К.О., Воробьева Н.В., Макунин А.И., Юрлова А.А., Тишкин А.А., Миняев С.С., Трифонов В.А., Графодатский А.С., Дымова М.А., Филипенко М.Л. Генотипирование и определение масти древних лошадей Бурятии // *Цитология*. 2016. Т.58(4). С.304-308.
 26. Мурсалимов В.С., Сатыев Б.Х. Башкирская лошадь. Уфа. Башкирское книжное издательство. 1988. 160 С.
 27. Назарова А.Ф., Визерова К.В., Потапов С.Г. Исследование полиморфизма митохондриальной ДНК лошадей разных пород // *Альманах мировой науки*. 2016, № 5-1 (8). С. 23-32. doi: 10.18534/amn.2016.05.01
 28. Осипов В.Г., Козлова Л.Г., Прокопьева М.И. Применение метода RAPD-PCR в оценке генетической структуры лошадей якутской породы // *Фундаментальные и прикладные исследования: проблемы и результаты*. 2015. № 22. С. 99-103.
 29. Политова М.А. Райсманн М., Вагнер Х.-Й. Молекулярно-генетический анализ локусов Agouti, Extension и Albino в популяции русской верховой породы лошадей // *Проблемы сохранения генофонда, повышения племенных и продуктивных качеств заводских и местных пород лошадей: тез. докл. Всерос. координац. совещ. по н.-и. работе в коневодстве / Всерос. НИИ коневодства*. Дивово/ 2003. С. 24-28.
 30. Сайгин И.А. Башкирская лошадь и пути ее улучшения. Уфа: Башкир. кн. изд-во. 1955. 72 С.
 31. Феофилов А.В., Бардуков Н.В., Глазков В.И. Дифференциация генофондов алтайской и рысистых пород по ISSR-PCR маркерам // *Генетика*. 2011. Т. 47(9). С. 1230-1235.
 32. Храброва Л.А. Использование ДНК-технологий в коневодстве // *Эффективное животноводство*. 2015. № 6 (115). С. 13-17.
 33. Храброва Л.А., Алексеева Е.И. Прогресс ДНК-технологий в коневодстве // *Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета*. 2015. № 39. С. 149-154.
 34. Храброва Л.А., Блохина Н.В. Генетический мониторинг чистокровной верховой породы лошадей по локусам микросателлитов ДНК // *Генетика и разведение животных*. 2018. № 3. С. 11-16.
 35. Храброва Л.А., Блохина Н.В., Сулейманов О.И., Рождественская Г.А., Пустовой В.Ф. Оценка дифференциации линий в чистокровной верховой породе лошадей с использованием микросателлитов ДНК // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019. Т. 23. № 5. С. 569-574.
 36. Чемерис Д.А., Гарафутдинов Р.Р., Сагитов А.М., Сагитова М.А., Михайленко К.И., Зубов В.В., Васильев Р.Г., Сломинский П.А., Анисимов В.А., Хуснутдинова Э.К., Алексеев Я.И., Курочкин В.А., Лавров Г.С., Воробьев А.А., Аминев Ф.Г., Чемерис А.В. Микродиплотипы как новые маркеры для ДНК-идентификации

- личности // Биомика. 2020. Т.12(2). С. 300-317. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-17
37. Чемерис Д.А., Сагитов А.М., Аминев Ф.Г., Луценко В.И., Гарафутдинов Р.Р., Сахабутдинова А.Р., Василев Р.Г., Алексеев Я.И., Сломинский П.А., Хуснутдинова Э.К., Чемерис А.В. Эволюция подходов к ДНК-идентификации личности // Биомика. 2018. Т.10(1). С.85-140. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-16
 38. Чемерис Д.А., Чемерис А.В. Гарафутдинов Р.Р., Сахабутдинова А.Р., Сагитов А.М., Василев Р.Г., Сломинский П.А., Михайленко К.И., Сагитова М.А., Аминев Ф.Г., Хуснутдинова Э.К., Алексеев Я.И., Глубоков А.Ю., Луценко В.И., Анисимов В.А. Способ цифровой кодировки данных по однонуклеотидному полиморфизму ДНК, пригодному для ДНК-идентификации и ДНК-регистрации живых объектов, включая человека // Заявка на патент РФ № 2019126610. Дата приоритета 23.08.2019 г.
 39. Ширьев В.М., Уразбахтин Р.Ф., Гайнуллина К.П. Исследование полиморфизма микросателлитной ДНК у лошадей башкирской породы // *Вестник Российской Академии Сельскохозяйственных Наук*. 2014. №5. С. 13-15.
 40. Юмагузина Э.Э., Уразбахтин Р.Ф. Генетическое разнообразие лошадей башкирской породы // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2014. №4(48). С. 140-142
 41. Ablondi M., Dadousis C., Vasini M., Eriksson S., Mikko S., Sabbioni A. Genetic Diversity and Signatures of Selection in a Native Italian Horse Breed Based on SNP Data // *Animals (Basel)*. 2020. V. 10(6). P. 1005. doi: 10.3390/ani10061005.
 42. Al Abri M.A., Holl H.M., Kalla S.E., Sutter N.B., Brooks S.A. Whole genome detection of sequence and structural polymorphism in six diverse horses // *PLoS One*. 2020. V. 15(4):e0230899. doi: 10.1371/journal.pone.0230899.
 43. Anglana M., Vigoni M.T, Giulotto E. Four horse genomic fragments containing minisatellites detect highly polymorphic DNA fingerprints // *Anim. Genet*. 1996. V. 27(4). P. 286. doi: 10.1111/j.1365-2052.1996.tb00494.x.
 44. Balanovsky O. Toward a consensus on SNP and STR mutation rates on the human Y-chromosome // *Hum Genet*. 2017. V.136(5). P.575-590. doi: 10.1007/s00439-017-1805-8
 45. Beeson S.K., Mickelson J.R., McCue M.E. Exploration of fine-scale recombination rate variation in the domestic horse // *Genome Res*. 2019. V. 29(10). P. 1744-1752. doi: 10.1101/gr.243311.118.
 46. Beeson S.K., Schaefer R.J., Mason V.C., McCue M.E. Robust remapping of equine SNP array coordinates to EquCab3 // *Anim. Genet*. 2019a. V. 50(1). P. 114-115. doi: 10.1111/age.12745.
 47. Binns M.M., Holmes N.G., Holliman A., Scott A.M. The identification of polymorphic microsatellite loci in the horse and their use in thoroughbred parentage testing // *Br. Vet. J*. 1995. V. 151(1). P. 9-15. doi: 10.1016/s0007-1935(05)80057-0.
 48. Bozzini M, Fantin D., Ziegle J., Van Haeringen H., Jacobs W., Ketchum M., Spencer M, Bates S. Automated equine paternity testing // *Animal Genetics*. 1996. V. 27. Supplement 2. P. 32 (A065).
 49. Bowling AT, Eggleston-Stott ML, Byrns G, Clark RS, Dileanis S, Wictum E. Validation of microsatellite markers for routine horse parentage testing // *Anim. Genet*. 1997. V. 28(4). P. 247-252. doi: 10.1111/j.1365-2052.1997.00123.x.
 50. Budowle B., Garofano P., Hellman A., Ketchum M., Kanthaswamy S., Parson W., van Haeringen W., Fain S., Broad T. Recommendations for animal DNA forensic and identity testing // *Int. J. Legal Med*. 2005. V. 119(5). P. 295-302. doi: 10.1007/s00414-005-0545-9.
 51. Chen J., Uboh C.E., Soma L.R., Li X., Guan F., You Y., Liu Y. Identification of racehorse and sample contamination by novel 24-plex STR system // *Forensic Sci. Int. Genet*. 2010. V. 4(3). P. 158-67. doi: 10.1016/j.fsigen.2009.08.001.
 52. Chowdhary B.P. Defining the Equine Genome: The Nuclear Genome and the Mitochondrial Genome. In: *Equine Genomics*. Chowdhary B.P. (ed.). 2013. John Wiley & Sons. P.1-9. doi: 10.1002/9781118522158.ch1
 53. Collins D., Kelly S. Survey of microsatellite (STR) types in nine North American equine breeds // *Animal Genetics*. 1996. V. 27. Supplement 2. P. 32 (A067).
 54. Cosgrove E.J., Sadeghi R., Schlamp F., Holl H.M., Moradi-Shahrbabak M., Miraei-Ashtiani S.R., Abdalla S., Shykind B., Troedsson M., Stefaniuk-Szmukier M., Prabhu A., Bucca S., Bugno-Poniewierska M., Wallner B., Malek J., Miller D.C., Clark A.G., Antczak D.F., Brooks S.A. Genome Diversity and the Origin of the Arabian Horse // *Sci. Rep*. 2020. V. 10(1). P. 9702. doi: 10.1038/s41598-020-66232-1.
 55. Damgaard de Barros P., Martiniano R., Kamm J., Moreno-Mayar J.V., Kroonen G., Peyrot M., Barjamovic G., Rasmussen S., Zacho C., Baimukhanov N., Zaibert V., Merz V., Biddanda A., Merz I., Loman V., Evdokimov V., Usmanova E., Hemphill B., Seguin-Orlando A., Yediay F.E., Ullah I., Sjögren K.G., Iversen K.H., Choin J., de la Fuente C., Ilardo M., Schroeder H., Moiseyev V., Gromov A., Polyakov A., Omura S., Senyurt S.Y., Ahmad H., McKenzie C., Margaryan A., Hameed A., Samad A.,

- Gul N., Khokhar M.H., Goriunova O.I., Bazaliiskii V.I., Novembre J., Weber A.W., Orlando L., Allentoft M.E., Nielsen R., Kristiansen K., Sikora M., Outram A.K., Durbin R., Willerslev E. The first horse herders and the impact of early Bronze Age steppe expansions into Asia // *Science*. 2018. V. 360(6396). e7711. doi: 10.1126/science.aar7711
56. Dedrickson K. Universal DNA databases: a way to improve privacy? // *Journal of Law and the Biosciences*. 2017. V. 4(3). P. 637–647. doi: 10.1093/jlb/lx041
57. Dimsoski P. Development of a 17-plex microsatellite polymerase chain reaction kit for genotyping horses // *Croat. Med. J.* 2003. V. 44(3). P. 332-335.
58. Ding C., Jin S. High-throughput methods for SNP genotyping // *Methods Mol. Biol.* 2009. V. 578. P. 245-254. doi: 10.1007/978-1-60327-411-1_16.
59. Doan R., Cohen N.D, Sawyer J., Ghaffari N., Johnson C.D, Dindot S.V. Whole-genome sequencing and genetic variant analysis of a Quarter Horse mare // *BMC Genomics*. 2012. V.13. P. 78. doi: 10.1186/1471-2164-13-78.
60. Dorji J., Tamang S., Tshewang T., Dorji T., Dorji T.Y. Genetic diversity and population structure of three traditional horse breeds of Bhutan based on 29 DNA microsatellite markers // *PLoS One*. 2018. V. 13(6). e0199376. doi: 10.1371/journal.pone.0199376.
61. Edwards A., Civitello A., Hammond H.A., Caskey C.T. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats // *Am. J. Hum. Genet.* 1991. V.49(4). P.746-756.
62. Egito A.A., Fuck B.H., McManus C., Paiva S.R., Albuquerque M.S.M., Santos S.A., Abreu U.G.P., Silva J.A., Sereno Sereno F.T.P.S., Mariante A.S. Genetic variability of Pantaneiro horse using RAPD-PCR markers // *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2007. V.36(4). doi: 10.1590/S1516-35982007000400007
63. Ellegren H 1, Johansson M, Sandberg K, Andersson L. Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse // *Anim. Genet.* 1992. V. 23(2). P. 133-142. doi: 10.1111/j.1365-2052.1992.tb00032.x.
64. Fages A., Hanghøj K., Khan N., Gaunitz C., Seguin-Orlando A., Leonardi M., McCrory Constantz C., Gamba C., Al-Rasheid K.A.S., Albizuri S., Alfarhan A.H., Allentoft M., Alquraishi S., Anthony D., Baimukhanov N., Barrett J.H., Bayarsaikhan J., Benecke N., Bernáldez-Sánchez E., Berrocal-Rangel L., Biglari F., Boessenkool S., Boldgiv B., Brem G., Brown D., Burger J., Crubézy E., Daugnorra L., Davoudi H., de Barros Damgaard P., de Los Angeles de Chorro Y., de Villa-Ceballos M., Deschler-Erb S., Detry C., Dill N., do Mar Oom M., Dohr A., Ellingvåg S., Erdenebaatar D., Fathi H., Felkel S., Fernández-Rodríguez C., García-Viñas E., Germonpré M., Granado J.D., Hallsson J.H., Hemmer H., Hofreiter M., Kasparov A., Khasanov M., Khazaeli R., Kosintsev P., Kristiansen K., Kubatbek T., Kuderna L., Kuznetsov P., Laleh H., Leonard J.A., Lhuillier J., Liesau von Lettow-Vorbeck C., Logvin A., Lõugas L., Ludwig A., Luis C., Arruda A.M., Marques-Bonet T., Matoso Silva R., Merz V., Mijidtorj E., Miller B.K., Monchalov O., Mohaseb F.A., Morales A., Nieto-Espinet A., Nistelberger H., Onar V., Pálsdóttir A.H., Pitulko V., Pitshelauri K., Pruvost M., Rajic Sikanjic P., Rapan Papeša A., Roslyakova N., Sardari A., Sauer E., Schafberg R., Scheu A., Schibler J., Schlumbaum A., Serrand N., Serres-Armero A., Shapiro B., Sheikhi Seno S., Shevnina I., Shidrang S., Southon J., Star B., Sykes N., Taheri K., Taylor W., Teegen W.R., Trbojević Vukičević T., Trixl S., Tumen D., Undrakhbold S., Usmanova E., Vahdati A., Valenzuela-Lamas S., Viegas C., Wallner B., Weinstock J., Zaibert V., Clavel B., Lepetz S., Mashkour M., Helgason A., Stefánsson K., Barrey E., Willerslev E., Outram A.K., Librado P., Orlando L. Tracking Five Millennia of Horse Management with Extensive Ancient Genome Time Series // *Cell*. 2019. V. 177(6). P. 1419-1435.e31. doi: 10.1016/j.cell.2019.03.049.
65. Fawcett J.A., Sato F., Sakamoto T., Iwasaki W.M., Tozaki T., Innan H. Genome-wide SNP analysis of Japanese Thoroughbred racehorses // *PLoS One*. 2019. V. 14(7). e0218407. doi: 10.1371/journal.pone.0218407.
66. Felkel S., Vogl C., Rigler D., Dobretsberger V., Chowdhary B.P., Distl O., Fries R., Jagannathan V., Janečka J.E, Leeb T., Lindgren G., McCue M., Metzger J., Neuditschko M., Rattei T., Raudsepp T., Rieder S., Rubin C., Schaefer R., Schlötterer C., Thaller G., Tetens J., Velie B., Brem G., Wallner B. The horse Y chromosome as an informative marker for tracing sire lines // *Sci. Rep.* 2019. V. 9(1). P. 6095. doi: 10.1038/s41598-019-42640-w.
67. Garafutdinov R.R., Sakhabutdinova A.R., Slominsky P.A., Aminev F.G., Chemeris A.V. A new digital approach to SNP encoding for DNA identification // *Forensic Science International*. 2020. In press.
68. Georges M., A S Lequarré, M Castelli, R Hanset, G Vassart DNA fingerprinting in domestic animals using four different minisatellite probes // *Cytogenet. Cell. Genet.* 1988. V.47(3). P. 127-131. doi: 10.1159/000132529.
69. Glowatzki-Mullis M.L., Muntwyler J., Pfister W., Marti E., Rieder S., Poncet P.A., Gaillard C. Genetic diversity among horse populations with a special focus on the Franches - Montagnes breed //

- Anim. Genet.* 2006. V. 37(1). P. 33-39. doi: 10.1111/j.1365-2052.2005.01376.x
70. Grilz-Seger G., Reiter S., Neuditschko M., Wallner B., Rieder S., Leeb T., Jagannathan V., Mesarič M., Cotman M., Pausch H., Lindgren G., Velie B., Horna M., Brem G., Druml T. A Genome-Wide Association Analysis in Noriker Horses Identifies a SNP Associated With // *J. Equine Vet. Sci.* 2020. V. 88. P. 102950. doi: 10.1016/j.jevs.2020.102950.
 71. Hack Y.L., Crabtree E.E., Avila F., Sutton R.B., Grahn R.A., Oh A., Gilger B., Bellone R.R. Whole genome sequencing identifies missense mutation in GRM6 as the likely cause of congenital stationary night blindness in a Tennessee Walking Horse // *Equine Vet. J.* 2020. Jul 12. doi: 10.1111/evj.13318.
 72. Hazel J.W., Clayton E.W., Malin B.A., Slobogin C. Is it time for a universal genetic forensic database? // *Science.* 2018. V.362(6417). P.898-900. doi: 10.1126/science.aav5475
 73. Hirota K., Kakoi H., Gawahara H., Hasegawa T., Tozaki T. Construction and validation of parentage testing for thoroughbred horses by 53 single nucleotide polymorphisms // *J. Vet. Med. Sci.* 2010. V. 72(6). P. 719-26. doi: 10.1292/jvms.09-0486.
 74. Ishida N., Hasegawa T., Oyunsuren T., Mukoyama H. PCR-RFLP analysis of the cytochrome b gene in horse mitochondrial DNA // *Anim. Genet.* 1996.V. 27(5). P. 359 - 363. doi: 10.1111/j.1365-2052.1996.tb00979.x.
 75. Jagannathan V., Gerber V., Rieder S., Tetens J., Thaller G., Drögemüller C., Leeb T. Comprehensive characterization of horse genome variation by whole-genome sequencing of 88 horses // *Anim. Genet.* 2019. V. 50(1). P. 74-77. doi: 10.1111/age.12753.
 76. Janečka J.E., Davis B.W., Ghosh S., Paria N., Das P.J., Orlando L., Schubert M., Nielsen M.K., Stout T.A.E., Brashear W., Li G., Johnson C.D., Metz R.P., Al Zadjali A.M., Love C.C., Varner D.D., Bellott D.W., Murphy W.J., Chowdhary B.P., Raudsepp T. Horse Y chromosome assembly displays unique evolutionary features and putative stallion fertility genes // *Nat. Commun.* 2018. V. 9(1). P. 2945. doi: 10.1038/s41467-018-05290-6.
 77. Jeffreys A.J., Wilson V., Thein S.L. Individual-specific 'fingerprints' of human DNA // *Nature.* 1985. V. 316(6023). P.76-79. doi: 10.1038/316076a0/
 78. Jun J., Cho Y.S., Hu H., Kim H., Jho S., Gadhvi P., Park K.M., Lim J., Paek W.K., Han K., Manica A., Edwards J.S., Bhak J. Whole genome sequence and analysis of the Marwari horse breed and its genetic origin // *BMC Genomics.* 2014. V. 15. S4. doi: 10.1186/1471-2164-15-S9-S4.
 79. Kalbfleisch T.S., Rice E.S., DePriest Jr M.S., Walenz B.P., Hestand M.S, Vermeesch J.R., O Connell B.L., Fiddes I.T., Vershinina A.O., Saremi N.F., Petersen J.L., Finno C.J, Bellone R.R., McCue M.E., Brooks S.A, Bailey E., Orlando L., Green R.E., Miller D.C., Antczak D.F., MacLeod J.N. Improved reference genome for the domestic horse increases assembly contiguity and composition // *Commun. Biol.* 2018.V. 1. P. 197. doi: 10.1038/s42003-018-0199-z. eCollection 2018.
 80. Kun T.J., Wictum E.J., Penedo M.C.T. A mini-STR typing system for degraded equine DNA // *Anim. Genet.* 2018. V. 49(5). P. 464-466. doi: 10.1111/age.12716.
 81. Kvist L., Niskanen M., Mannermaa K., Wutke S., Aspi J. Genetic variability and history of a native Finnish horse breed // *Genet. Sel. Evol.* 2019. V. 51(1):35. doi: 10.1186/s12711-019-0480-8.
 82. Librado P., Fages A., Gaunitz C., Leonardi M., Wagner S., Khan N., Hanghøj K., Alquraishi S.A., Alfarhan A.H., Al-Rasheid K.A., Der Sarkissian C., Schubert M., Orlando L. The Evolutionary Origin and Genetic Makeup of Domestic Horses // *Genetics.* 2016. V. 204(2). P. 423-434. doi: 10.1534/genetics.116.194860/
 83. Lindgren G, Sandberg K, Persson H, Marklund S, Breen M, Sandgren B, Carlstén J, Ellegren H. A primary male autosomal linkage map of the horse genome // *Genome Res.* 1998. V. 8(9). P. 951-966. doi: 10.1101/gr.8.9.951.
 84. Litt M., Luty J.A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene // *Am. J. Hum. Genet.* 1989. V. 44(3). P. 397-401.
 85. Liu Y., Xu J., Chen M., Wang C., Li S. A unified STR profiling system across multiple species with whole genome sequencing data // *BMC Bioinformatics.* 2019. V. 20(Suppl 24). P. 671. doi: 10.1186/s12859-019-3246-y.
 86. Ma H., Wang S., Zeng G., Guo J., Guo M., Dong X., Hua G., Liu Y., Wang M., Ling Y., Ding X., Zhao C., Wu C. The Origin of a Coastal Indigenous Horse Breed in China Revealed by Genome-Wide SNP Data // *Genes (Basel).* 2019. V. 10(3). P. 241. doi: 10.3390/genes10030241.
 87. Mahrous K.F., Alam S.S, Hassan A.M. Genetic Variations Between Horse Breeds Using RAPD Markers // *Nature and Science.* 2010. V.8(5).P. 90-99.
 88. Marklund S, Ellegren H, Eriksson S, Sandberg K, Andersson L. Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellites // *Anim. Genet.* 1994. 25(1).P. 19-23. doi:10.1111/j.1365-2052.1994.tb00050.x
 89. Matiasovic J, Kubicková S, Musilová P, Rubes J, Horín P. Characterization of the NRAMP1 (SLC11A1) gene in the horse (*Equus caballus* L.) //

- Eur. J. Immunogenet.* 2002. V. 29(5). P. 423-429. doi: 10.1046/j.1365-2370.2002.00348.x.
90. Nikiforov T.T., Rendle RB, Goelet P, Rogers YH, Kotewicz ML, Anderson S, Trainor GL, Knapp MR Genetic Bit Analysis: a solid phase method for typing single nucleotide polymorphisms // *Nucleic Acids Res.* 1994. V.22(20). P. 4167–4175. doi: 10.1093/nar/22.20.4167
 91. Pereira G.L., Malheiros J.M., Ospina A.M.T., Chardulo L.A.L., Curi R.A. Exome sequencing in genomic regions related to racing performance of Quarter Horses // *J. Appl. Genet.* 2019. V. 60(1). P. 79-86. doi: 10.1007/s13353-019-00483-1.
 92. Petersen J.L., Mickelson J.R., Cothran E.G., Andersson L.S., Axelsson J., Bailey E., Bannasch D., Binns M.M., Borges A.S., Brama P., da Câmara Machado A., Distl O., Felicetti M., Fox-Clipsham L., Graves K.T., Guérin G., Haase B., Hasegawa T., Hemmann K., Hill E.W., Leeb T., Lindgren G., Lohi H., Lopes M.S., McGivney B.A., Mikko S., Orr N., Penedo M.C., Piercy R.J., Raekallio M., Rieder S., Røed K.H., Silvestrelli M., Swinburne J., Tozaki T., Vaudin M.M., Wade C., McCue M.E. Genetic diversity in the modern horse illustrated from genome-wide SNP data // *PLoS One.* 2013. V. 8(1). e54997. doi: 10.1371/journal.pone.0054997.
 93. Petersen J.L., Mickelson J.R., Rendahl A.K., Valberg S.J., Andersson L.S., Axelsson J., Bailey E., Bannasch D., Binns M.M., Borges A.S., Brama P., da Câmara Machado A., Capomaccio S., Cappelli K., Cothran E.G., Distl O., Fox-Clipsham L., Graves K.T., Guérin G., Haase B., Hasegawa T., Hemmann K., Hill E.W., Leeb T., Lindgren G., Lohi H., Lopes M.S., McGivney B.A., Mikko S., Orr N., Penedo M.C., Piercy R.J., Raekallio M., Rieder S., Røed K.H., Swinburne J., Tozaki T., Vaudin M., Wade CM., McCue M.E. Genome-wide analysis reveals selection for important traits in domestic horse breeds // *PLoS Genet.* 2013. V. 9(1). e1003211. doi: 10.1371/journal.pgen.1003211.
 94. Rebolledo-Mendez J., Hestand M.S., Coleman S.J., Zeng Z., Orlando L., MacLeod J.N., Kalbfleisch T. Comparison of the Equine Reference Sequence with Its Sanger Source Data and New Illumina Reads // *PLoS One.* 2015. V. 10(6). e0126852. doi: 10.1371/journal.pone.0126852.
 95. Schaefer R.J., Schubert M., Bailey E., Bannasch D.L., Barrey E., Bar-Gal G.K., Brem G., Brooks S.A., Distl O., Fries R., Finno C.J., Gerber V., Haase B., Jagannathan V., Kalbfleisch T., Leeb T., Lindgren G., Lopes M.S., Mach N., da Câmara Machado A., MacLeod J.N., McCoy A., Metzger J., Penedo C., Polani S., Rieder S., Tammen I., Tetens J., Thaller G., Verini-Supplizi A., Wade C.M., Wallner B., Orlando L., Mickelson J.R., McCue M.E. Developing a 670k genotyping array to tag ~2M SNPs across 24 horse breeds // *BMC Genomics.* 2017. V. 18(1). P. 565. doi: 10.1186/s12864-017-3943-8.
 96. Senese C., Penedo M.C., Shiue Y.L., Bowling A.T., Millon L.V. A HaeIII PCR-RFLP in the ZFY/ZFX genes of horses // *Anim. Genet.* 1999. V. 30(5). P. 390-391. doi: 10.1046/j.1365-2052.1999.00526-10.x.
 97. Seong H.S., Kim N.Y., Kim D.C., Hwang N.H., Son D.H., Shin J.S., Lee J.H., Chung W.H., Choi J.W. Whole genome sequencing analysis of horse populations inhabiting the Korean Peninsula and Przewalski's horse // *Genes Genomics.* 2019. V. 41(6). P. 621-628. doi: 10.1007/s13258-019-00795-w.
 98. Shiue Y.L., Bickel L.A., Caetano A.R., Millon L.V., Clark R.S., Eggleston M.L., Michelmore R., Bailey E., Guérin G., Godard S., Mickelson J.R., Valberg S.J., Murray J.D., Bowling A.T. A synteny map of the horse genome comprised of 240 microsatellite and RAPD markers // *Anim. Genet.* 1999. V. 30(1). P. 1-9. doi: 10.1046/j.1365-2052.1999.00377.x.
 99. Smith M. Universal forensic DNA databases: Balancing the costs and benefits. *Alternative Law Journal.* 2018. V.43(2). P. 131-135. doi: 10.1177/1037969X18765222
 - Smith M. Universal forensic DNA databases: Balancing the costs and benefits // *Alternative Law Journal.* 2018. V.43(2). P. 131-135. doi: 10.1177/1037969X18765222
 100. Solé M., Ablondi M., Binzer-Panchal A., Velie B.D., Hollfelder N., Buys N., Ducro B.J., François L., Janssens S., Schurink A., Viklund Å., Eriksson S., Isaksson A., Kultima H., Mikko S., Lindgren G. Inter- and intra-breed genome-wide copy number diversity in a large cohort of European equine breeds // *BMC Genomics.* 2019. V. 20(1). P. 759. doi: 10.1186/s12864-019-6141-z.
 101. Swinburne J., Gerstenberg C., Breen M., Aldridge V., Lockhart L., Marti E., Antczak D., Eggleston-Stott M., Bailey E., Mickelson J., Røed K., Lindgren G., von Haeringen W., Guérin G., Bjarnason J., Allen T., Binns M. First comprehensive low-density horse linkage map based on two 3-generation, full-sibling, cross-bred horse reference families // *Genomics.* 2000. V. 66(2). P.123-134. doi: 10.1006/geno.2000.6207.
 102. Tozaki T., Kakoi H., Mashima S., Hirota K., Hasegawa T., Ishida N., Miura N., Choi-Miura N.H., Tomita M. Population study and validation of paternity testing for Thoroughbred horses by 15 microsatellite loci // *J. Vet. Med. Sci.* 2001. V. 63(11). P. 1191-1197. doi: 10.1292/jvms.63.1191.
 103. Tozaki T., Kikuchi M., Kakoi H., Hirota K., Nagata S., Yamashita D., Ohnuma T., Takasu M., Kobayashi I., Hobo S., Manglai D., Petersen J.L.

- Genetic diversity and relationships among native Japanese horse breeds, the Japanese Thoroughbred and horses outside of Japan using genome-wide SNP data // *Anim. Genet.* 2019. V. 50(5). P. 449-459. doi: 10.1111/age.12819.
104. Troyer D., Howard D., Leipold H.W., Smith J.E. A human minisatellite sequence reveals DNA polymorphism in the equine species // *Zentralbl. Veterinarmed. A.* 1989. V. 36(2). P. 81-83. doi: 10.1111/j.1439-0442.1989.tb00706.x.
105. van de Goor L.H., Panneman H., van Haeringen W.A. A proposal for standardization in forensic equine DNA typing: allele nomenclature for 17 equine-specific STR loci // *Anim. Genet.* 2010. V. 41(2). P. 122-127. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01975.x
106. Van de Goor L.H., van Haeringen W.A., Lenstra J.A. Population studies of 17 equine STR for forensic and phylogenetic analysis // *Anim. Genet.* 2011. P. 42(6). P. 627-633. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02194.x.
107. Wade C.M. Assembly and Analysis of the Equine Genome Sequence In: Equine Genomics. Chowdhary B.P. (Ed). 2013. P. 103-111. doi:10.1002/9781118522158.ch6
108. Wade C.M., Giulotto E., Sigurdsson S., Zoli M., Gnerre S., Inslund F., Lear T.L., Adelson D.L., Bailey E., Bellone R.R., Blöcker H., Distl O., Edgar R.C., Garber M., Leeb T., Mauceli E., MacLeod J.N., Penedo M.C., Raison J.M., Sharpe T., Vogel J., Andersson L., Antczak D.F., Biagi T., Binns M.M., Chowdhary B.P., Coleman S.J., Della Valle G., Fryc S., Guérin G., Hasegawa T., Hill E.W., Jurka J., Kiialainen A., Lindgren G., Liu J., Magnani E., Mickelson J.R., Murray J., Nergadze S.G., Onofrio R., Pedroni S., Piras M.F., Raudsepp T., Rocchi M., Røed K.H., Ryder O.A., Searle S., Skow L., Swinburne J.E., Syvänen A.C., Tozaki T., Valberg S.J., Vaudin M., White J.R., Zody M.C., Broad Institute Genome Sequencing Platform; Broad Institute Whole Genome Assembly Team, Lander E.S., Lindblad - Toh K. Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse // *Science.* 2009. V. 326(5954). P. 865-867. doi: 10.1126/science.1178158.
109. Warmuth V., Eriksson A., Bower M.A., Barker G., Barrett E., Hanks B.K., Li S., Lomitashvili D., Ochir-Goryaeva M., Sizonov G.V., Soyonov V., Manica A. Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2012. V. 109(21). P. 8202-8206. doi: 10.1073/pnas.1111122109.
110. Warmuth V., Eriksson A., Bower M.A., Cañon J., Cothran G., Distl O., Glowatzki-Mullis M.L., Hunt H., Luís C., do Mar Oom M., Yupanqui I.T., Ząbek T., Manica A. European domestic horses originated in two holocene refugia // *PLoS One.* 2011. V. 6(3). e18194. doi: 10.1371/journal.pone.0018194.
111. Williams J.G., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // *Nucleic Acids Res.* 1990. V. 18. P. 6531-6535. doi: 10.1093/nar/18.22.6531
112. Williamson R., Duncan R. DNA testing for all // *Nature.* 2002. V. 418. P. 585-586. doi: 10.1038/418585a
113. Xu X., Arnason U. The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of the control region // *Gene.* 1994. V.148(2). P. 357-362. doi: 10.1016/0378-1119(94)90713-7.
114. Zhang C., Ni P., Ahmad H.I., Gemingguli M, Baizilaitbei A., Gulibaheti D 3, Fang Y., Wang H., Asif A.R., Xiao C., Chen J., Ma Y., Liu X., Du X., Zhao S. Detecting the Population Structure and Scanning for Signatures of Selection Horses (*Equus caballus*) From Whole-Genome Sequencing Data // *Evol. Bioinform.* 2018. V. 14. e1176934318775106. doi: 10.1177/1176934318775106.

References

1. Ablondi M., Dadousis C., Vasini M., Eriksson S., Mikko S., Sabbioni A. Genetic Diversity and Signatures of Selection in a Native Italian Horse Breed Based on SNP Data. *Animals (Basel).* 2020. V. 10(6). P. 1005. doi: 10.3390/ani10061005.
2. Ahatova I.A., Hvorov V.V. Novoe v selekcii loshadej bashkirskoj porody. Trudy VNIHK. Divovo. 2000. S.36 - 39. [New in the selection of horses of the Bashkir breed] (In Russian)
3. Al Abri M.A., Holl H.M., Kalla S.E., Sutter N.B., Brooks S.A. Whole genome detection of sequence and structural polymorphism in six diverse horses. *PLoS One.* 2020. V. 15(4):e0230899. doi: 10.1371/journal.pone.0230899.
4. Anglana M., Vigoni M.T, Giulotto E. Four horse genomic fragments containing minisatellites detect highly polymorphic DNA fingerprints. *Anim. Genet.* 1996. V. 27(4). P. 286. doi: 10.1111/j.1365-2052.1996.tb00494.x.
5. Anisimov V.A., Garafutdinov R.R., Sagitov A.M., Sakhabutdinova A.R., Khusnutdinova E.K., Aminev F.G., Chemeris A.V. DNA forensics – the origin, present state and future prospects. *Biomcs.* 2019. V.11(3). P. 282-314. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-26 (In Russian)
6. Balanovsky O. Toward a consensus on SNP and STR mutation rates on the human Y-chromosome. *Hum Genet.* 2017. V.136(5). P.575-590. doi: 10.1007/s00439-017-1805-8

7. Bardukov N.V., Feofilov A.V., Glazko T.T., Glazko V.I. ISSR-PCR markers and mobile genetic elements in the genome of the domestic horse *Equus caballus*. *Agricultural biology*. 2014. No. 4. P.42-57. doi: 10.15389/agrobiology.2014.4.42rus (In Russian)
8. Bardukov N.V., Konovalova G.K., Glazko V.I. Profili DNK-markerov (ISSR-PCR) u loshadej rysistyh porod // *Izvestija Timirjazevskej Sel'skohozjajstvennoj Akademii*. 2010. №6. S. 152-157. [DNA marker profiles (ISSR-PCR) in trotting horses] (In Russian)
9. Beeson S.K., Mickelson J.R., McCue M.E. Exploration of fine-scale recombination rate variation in the domestic horse. *Genome Res*. 2019. V. 29(10). P. 1744-1752. doi: 10.1101/gr.243311.118.
10. Beeson S.K., Schaefer R.J., Mason V.C., McCue M.E. Robust remapping of equine SNP array coordinates to EquCab3. *Anim. Genet*. 2019a. V. 50(1). P. 114-115. doi: 10.1111/age.12745.
11. Binns M.M., Holmes N.G., Holliman A., Scott A.M. The identification of polymorphic microsatellite loci in the horse and their use in thoroughbred parentage testing. *Br. Vet. J*. 1995. V. 151(1). P. 9-15. doi: 10.1016/s0007-1935(05)80057-0.
12. Blokhina N.V., Khrabrova L.A. Kharakteristika chistokrovnykh verhovykh zherebcov raznyh linij po mikrosatellitnym lokusam // *Genetika i razvedenie zhivotnyh*. 2019. № 3. S. 11-17. [Characteristics of thoroughbred riding stallions of different lines by microsatellite loci] (In Russian)
13. Blokhina N.V., Khrabrova L.A., Zaitsev A.M., Gavrilicheva I.S. Assessment of the genetic diversity of microsatellite loci in hard-harness horses. *Genetics and animal breeding*. 2018. No. 2. P. 39-44. (In Russian)
14. Bozzini M, Fantin D., Ziegler J., Van Haeringen H., Jacobs W., Ketchum M., Spencer M, Bates S. Automated equine paternity testing. *Animal Genetics*. 1996. V. 27. Supplement 2. P. 32 (A065).
15. Bowling AT, Eggleston-Stott ML, Byrns G, Clark RS, Dileanis S, Wictum E. Validation of microsatellite markers for routine horse parentage testing. *Anim. Genet*. 1997. V. 28(4). P. 247-252. doi: 10.1111/j.1365-2052.1997.00123.x.
16. Budowle B., Garofano P., Hellman A., Ketchum M., Kanthaswamy S., Parson W., van Haeringen W., Fain S., Broad T. Recommendations for animal DNA forensic and identity testing. *Int. J. Legal Med*. 2005. V. 119(5). P. 295-302. doi: 10.1007/s00414-005-0545-9.
17. Chemeris D.A., Chemeris A.V. Garafutdinov R.R., Sahabutdinova A.R., Sagitov A.M., Vasilov R.G., Slominskij P.A., Mihajlenko K.I., Sagitova M.A., Aminev F.G., Husnutdinova Je.K., Alekseev Ja.I., Glubokov A.Ju., Lucenko V.I., Anisimov V.A. Sposob cifrovoy kodirovki dannyh po odnonukleotidnomu polimorfizmu DNK, prigodnomu dlja DNK-identifikacii i DNK-registracii zhivyh objektov, vkljuchaja cheloveka // *Zajavka na patent RF No 2019126610*. Data prioriteta 23.08.2019 g. [A method for digitally encoding data on a single-nucleotide DNA polymorphism suitable for DNA identification and DNA registration of living objects, including humans] (In Russian)
18. Chemeris D.A., Garafutdinov R.R., Sagitov A.M., Sagitova M.A., Mikhailenko K.I., Zubov V.V., Vasilov R.G., Slominsky P.A., Anisimov V.A., Khusnutdinova E.K., Alekseev Ya.I., Kurochkin V.A., Lavrov G.S., Vorobev A.A., Aminev F.G., Chemeris A.V. Microdiplotypes as a new markers for DNA identification. *Biomics*. 2020. V. 12(2). P. 300-317. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-17
19. Chemeris D.A., Sagitov A.M., Aminev F.G., Lutsenko V.I., Garafutdinov R.R., Sakhabutdinova A.R., Vasilov R.G., Alexeyev Ya.I., Slominsky P.A., Khusnutdinova E.K., Chemeris A.V. The evolution of approaches to DNA identification of personality. *Biomics*. 2018. V.10(1). P.85-140. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-16 (In Russian)
20. Chen J., Uboh C.E., Soma L.R., Li X., Guan F., You Y., Liu Y. Identification of racehorse and sample contamination by novel 24-plex STR system. *Forensic Sci. Int. Genet*. 2010. V. 4(3). P. 158-67. doi: 10.1016/j.fsigen.2009.08.001.
21. Chowdhary B.P. Defining the Equine Genome: The Nuclear Genome and the Mitochondrial Genome. In: *Equine Genomics*. Chowdhary B.P. (ed.). 2013. John Wiley & Sons. P.1-9. doi: 10.1002/9781118522158.ch1
22. Collins D., Kelly S. Survey o microsatellite (STR) types in nine North American equine breeds. *Animal Genetics*. 1996. V. 27. Supplement 2. P. 32 (A067).
23. Cosgrove E.J., Sadeghi R., Schlamp F., Holl H.M., Moradi-Shahrbabak M., Miraei-Ashtiani S.R., Abdalla S., Shykind B., Troedsson M., Stefaniuk-Szmukier M., Prabhu A., Bucca S., Bugno-Poniewierska M., Wallner B., Malek J., Miller D.C., Clark A.G., Antczak D.F., Brooks S.A. Genome Diversity and the Origin of the Arabian Horse. *Sci. Rep*. 2020. V. 10(1). P. 9702. doi: 10.1038/s41598-020-66232-1.
24. Damgaard de Barros P., Martiniano R., Kamm J., Moreno-Mayar J.V., Kroonen G., Peyrot M., Barjamovic G., Rasmussen S., Zacho C., Baimukhanov N., Zaibert V., Merz V., Biddanda A., Merz I., Loman V., Evdokimov V., Usmanova E., Hemphill B., Seguin-Orlando A., Yediay F.E., Ullah I., Sjögren K.G., Iversen K.H., Choin J., de la Fuente C., Ilardo M., Schroeder H., Moiseyev V., Gromov

- A., Polyakov A., Omura S., Senyurt S.Y., Ahmad H., McKenzie C., Margaryan A., Hameed A., Samad A., Gul N., Khokhar M.H., Goriunova O.I., Bazaliiskii V.I., Novembre J., Weber A.W., Orlando L., Allentoft M.E., Nielsen R., Kristiansen K., Sikora M., Outram A.K., Durbin R., Willerslev E. The first horse herders and the impact of early Bronze Age steppe expansions into Asia. *Science*. 2018. V. 360(6396). e7711. doi: 10.1126/science.aar7711
25. Dedrickson K. Universal DNA databases: a way to improve privacy? *Journal of Law and the Biosciences*. 2017. V. 4(3). P. 637–647. doi: 10.1093/jlb/lsx041
26. Dimsoski P. Development of a 17-plex microsatellite polymerase chain reaction kit for genotyping horses. *Croat. Med. J.* 2003. V. 44(3). P. 332-335.
27. Ding C., Jin S. High-throughput methods for SNP genotyping. *Methods Mol. Biol.* 2009. V. 578. P. 245-254. doi: 10.1007/978-1-60327-411-1_16.
28. Doan R., Cohen N.D., Sawyer J., Ghaffari N., Johnson C.D., Dindot S.V. Whole-genome sequencing and genetic variant analysis of a Quarter Horse mare. *BMC Genomics*. 2012. V.13. P. 78. doi: 10.1186/1471-2164-13-78.
29. Dolmatova I.Ju., Nijashtin F.I., Urazbahtin R.F. Populjacionno-geneticheskaja harakteristika loshadej bashkirskoj porodny po mikrosatellitam DNK // Konevodstvo i konnyj sport. 2017. №4. S. 17-19. [Population-genetic characteristics of Bashkir horses based on DNA microsatellites] (In Russian)
30. Dont Yu.U., Timarova A.V., Komarova L.V., Boronnikova S.V. Genetic polymorphism of three breeds of equine breeds. *Bull. Perm University. Series: Biology*. 2018. No. 1. P. 50-56. doi: 10.17072/1994-9952-2018-1-50-56.
31. Dorji J., Tamang S., Tshewang T., Dorji T., Dorji T.Y. Genetic diversity and population structure of three traditional horse breeds of Bhutan based on 29 DNA microsatellite markers. *PLoS One*. 2018. V. 13(6). e0199376. doi: 10.1371/journal.pone.0199376.
32. Edwards A., Civitello A., Hammond H.A., Caskey C.T. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am. J. Hum. Genet.* 1991. V.49(4). P.746-756.
33. Egito A.A., Fuck B.H., McManus C., Paiva S.R., Albuquerque M.S.M., Santos S.A., Abreu U.G.P., Silva J.A., Sereno Sereno F.T.P.S., Mariante A.S. Genetic variability of Pantaneiro horse using RAPD-PCR markers. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2007. V.36(4). doi: 10.1590/S1516-35982007000400007
34. Ellegren H I, Johansson M, Sandberg K, Andersson L. Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse. *Anim. Genet.* 1992. V. 23(2). P. 133-142. doi: 10.1111/j.1365-2052.1992.tb00032.x.
35. Fages A., Hanghøj K., Khan N., Gaunitz C., Seguin-Orlando A., Leonardi M., McCrory Constantz C., Gamba C., Al-Rasheid K.A.S., Albizuri S., Alfarhan A.H., Allentoft M., Alquraishi S., Anthony D., Baimukhanov N., Barrett J.H., Bayarsaikhan J., Benecke N., Bernáldez-Sánchez E., Berrocal-Rangel L., Biglari F., Boessenkool S., Boldgiv B., Brem G., Brown D., Burger J., Crubézy E., Daugnorra L., Davoudi H., de Barros Damgaard P., de Los Ángeles de Chorro Y., de Villa-Ceballos M., Deschler-Erb S., Detry C., Dill N., do Mar Oom M., Dohr A., Ellingvåg S., Erdenebaatar D., Fathi H., Felkel S., Fernández-Rodríguez C., García-Viñas E., Germonpré M., Granado J.D., Hallsson J.H., Hemmer H., Hofreiter M., Kasparov A., Khasanov M., Khazaali R., Kosintsev P., Kristiansen K., Kubatbek T., Kuderna L., Kuznetsov P., Laleh H., Leonard J.A., Lhuillier J., Liesau von Lettow-Vorbeck C., Logvin A., Lõugas L., Ludwig A., Luis C., Arruda A.M., Marques-Bonet T., Matoso Silva R., Merz V., Mijiddorj E., Miller B.K., Monchalov O., Mohaseb F.A., Morales A., Nieto-Espinet A., Nistelberger H., Onar V., Pálsdóttir A.H., Pitulko V., Pitskhelauri K., Pruvost M., Rajic Sikanjic P., Rapan Papeša A., Roslyakova N., Sardari A., Sauer E., Schafberg R., Scheu A., Schibler J., Schlumbaum A., Serrand N., Serres-Armero A., Shapiro B., Sheikhi Seno S., Shevnina I., Shidrang S., Southon J., Star B., Sykes N., Taheri K., Taylor W., Teegen W.R., Trbojević Vukičević T., Trixl S., Tumen D., Undrakhbold S., Usmanova E., Vahdati A., Valenzuela-Lamas S., Viegas C., Wallner B., Weinstock J., Zaibert V., Clavel B., Lepetz S., Mashkour M., Helgason A., Stefánsson K., Barrey E., Willerslev E., Outram A.K., Librado P., Orlando L. Tracking Five Millennia of Horse Management with Extensive Ancient Genome Time Series. *Cell*. 2019. V. 177(6). P. 1419-1435.e31. doi: 10.1016/j.cell.2019.03.049.
36. Fawcett J.A., Sato F., Sakamoto T., Iwasaki W.M., Tozaki T., Innan H. Genome-wide SNP analysis of Japanese Thoroughbred racehorses. *PLoS One*. 2019. V. 14(7). e0218407. doi: 10.1371/journal.pone.0218407.
37. Felkel S., Vogl C., Rigler D., Dobretsberger V., Chowdhary B.P., Distl O., Fries R., Jagannathan V., Janečka J.E., Leeb T., Lindgren G., McCue M., Metzger J., Neuditschko M., Rattei T., Raudsepp T., Rieder S., Rubin C., Schaefer R., Schlötterer C., Thaller G., Tetens J., Velie B., Brem G., Wallner B. The horse Y chromosome as an informative marker for tracing sire lines. *Sci. Rep.* 2019. V. 9(1). P. 6095. doi: 10.1038/s41598-019-42640-w.

38. Feofilov A.V., Bardukov N.V., Glazko V.I. Differenciacija genofondov altajskoj i rysistyh porod po ISSR-PCR markeram // *Genetika*. 2011. T. 47(9). S. 1230-1235. [Differentiation of Altaic and lynx gene pools by ISSR-PCR markers] (In Russian)
39. Garafutdinov R.R., Baymiev An.Kh., Maleev G.V., Alexeyev Ya.I., Zubov V.V., Chemeris D.A., Kiryanova J.Yu., Gubaydullin I.M., Matniyazov R.T., Sakhabutdinova A.R., Nikonorov Yu.M., Kuluev B.R., Baymiev Al.Kh., Chemeris A.V. Diversity of PCR primers and principles of their design. *Biomics*. 2019. V.11(1). P. 23 – 70. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-04
40. Garafutdinov R.R., Sakhabutdinova A.R., Slominsky P.A., Aminev F.G., Chemeris A.V. A new digital approach to SNP encoding for DNA identification // *Forensic Science International*. 2020. In press.
41. Garafutdinov R.R., Sakhabutdinova A.R., Vasilov R.G., Chemeris A.V. Genetic barcoding related individuals. *Yu.A. Ovchinnikov Bulletin of Biotechnology and Physical and Chemical Biology*. 2015. V.11(2). P.20-26. (In Russian)
42. Gavriličeva I.S. Genetic and population characteristics of the Russian trotting horse breed by DNA microsatellites loci. *AgroZooTechnika*. 2019. V. 2. No. 3. P. 1-8. doi: 10.15838/alt.2019.2.3.2.
43. Georges M., A S Lequarré, M Castelli, R Hanset, G Vassart DNA fingerprinting in domestic animals using four different minisatellite probes. *Cytogenet. Cell. Genet.* 1988. V.47(3). P. 127-131. doi: 10.1159/000132529.
44. Glazko V.I., Oblap R.V., Kushnir A.V., Shhirkij O.N. Geneticheskie markery loshadej // *Sel'skohozjajstvennaja biologija*. 1999. No 4. S. 38-47. [Genetic markers of horses] (In Russian)
45. Glowatzki-Mullis M.L., Muntwyler J., Pfister W., Marti E., Rieder S., Poncet P.A., Gaillard C. Genetic diversity among horse populations with a special focus on the Franches - Montagnes breed. *Anim. Genet.* 2006. V. 37(1). P. 33-39. doi: 10.1111/j.1365-2052.2005.01376.x
46. Golik T.V., Erkenov T.A., Glazko T.T., Glazko V.I. Spectra of ISSR-PCR markers in assessments of population genetic differentiation of the Karachay horse in the farms of the Karachay-Cherkess Republic. *News of the Timiryazev Agricultural Academy*. 2018. No. 3. P. 61-77. doi: 10.26897/0021-342X-2018-3-61-77.
47. Grilz-Seger G., Reiter S., Neuditschko M., Wallner B., Rieder S., Leeb T., Jagannathan V., Mesarič M., Cotman M., Pausch H., Lindgren G., Velie B., Horna M., Brem G., Druml T. A Genome-Wide Association Analysis in Noriker Horses Identifies a SNP Associated With. *J. Equine Vet. Sci.* 2020. V. 88. P. 102950. doi: 10.1016/j.jevs.2020.102950.
48. Hack Y.L., Crabtree E.E., Avila F., Sutton R.B., Grahn R.A., Oh A., Gilger B., Bellone R.R. Whole genome sequencing identifies missense mutation in GRM6 as the likely cause of congenital stationary night blindness in a Tennessee Walking Horse. *Equine Vet. J.* 2020. Jul 12. doi: 10.1111/evj.13318.
49. Hazel J.W., Clayton E.W., Malin B.A., Slobogin C. Is it time for a universal genetic forensic database? // *Science*. 2018. V.362(6417). P.898-900. doi: 10.1126/science.aav5475
50. Hirota K., Kakoi H., Gawahara H., Hasegawa T., Tozaki T. Construction and validation of parentage testing for thoroughbred horses by 53 single nucleotide polymorphisms. *J. Vet. Med. Sci.* 2010. V. 72(6). P. 719-26. doi: 10.1292/jvms.09-0486.
51. Ishida N., Hasegawa T., Oyunsuren T., Mukoyama H. PCR-RFLP analysis of the cytochrome b gene in horse mitochondrial DNA. *Anim. Genet.* 1996.V. 27(5). P. 359 - 363. doi: 10.1111/j.1365-2052.1996.tb00979.x.
52. Jagannathan V., Gerber V., Rieder S., Tetens J., Thaller G., Drögemüller C., Leeb T. Comprehensive characterization of horse genome variation by whole-genome sequencing of 88 horses. *Anim. Genet.* 2019. V. 50(1). P. 74-77. doi: 10.1111/age.12753.
53. Janečka J.E., Davis B.W., Ghosh S., Paria N., Das P.J., Orlando L., Schubert M., Nielsen M.K., Stout T.A.E., Brashear W., Li G., Johnson C.D., Metz R.P., Al Zadjali A.M., Love C.C., Varner D.D., Bellott D.W., Murphy W.J., Chowdhary B.P., Raudsepp T. Horse Y chromosome assembly displays unique evolutionary features and putative stallion fertility genes. *Nat. Commun.* 2018. V. 9(1). P. 2945. doi: 10.1038/s41467-018-05290-6.
54. Jeffreys A.J., Wilson V., Thein S.L. Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. *Nature*. 1985. V. 316(6023). P.76-79. doi: 10.1038/316076a0/
55. Jun J., Cho Y.S., Hu H., Kim H., Jho S., Gadhvi P., Park K.M., Lim J., Paek W.K., Han K., Manica A., Edwards J.S., Bhak J. Whole genome sequence and analysis of the Marwari horse breed and its genetic origin. *BMC Genomics*. 2014. V. 15. S4. doi: 10.1186/1471-2164-15-S9-S4.
56. Kalashnikov V.V., Hrabrova L.A., Zajceva M.A., Gavriličeva I.S., Kalinkova L.V., Kalinkina G.V., Mahmutova O.N. Ispol'zovanie mikrosatellitnyh lokusov DNK dlja ocenki geneticheskogo raznobrazija Orlovskoj rysistoj porody loshadej // *Vestnik Rossijskoj akademii sel'skohozjajstvennyh nauk*. 2014. № 2. S. 30-33. [Using microsatellite DNA loci to assess the genetic diversity of the Oryol trotting horse breed] (In Russian)

57. Kalbfleisch T.S., Rice E.S., DePriest Jr M.S., Walenz B.P., Hestand M.S, Vermeesch J.R., O Connell B.L., Fiddes I.T., Vershinina A.O., Saremi N.F., Petersen J.L., Finno C.J, Bellone R.R., McCue M.E., Brooks S.A, Bailey E., Orlando L., Green R.E., Miller D.C., Antczak D.F., MacLeod J.N. Improved reference genome for the domestic horse increases assembly contiguity and composition. *Commun. Biol.* 2018.V. 1. P. 197. doi: 10.1038/s42003-018-0199-z. eCollection 2018.
58. Kalinkova L.V. The effectiveness of additional microsatellite markers in testing purebred Arabian horses for the reliability of origin. *Veterinary Medicine, Animal Science and Biotechnology.* 2017. No. 12. P. 51-57. (In Russian)
59. Kalinkova L.V., Zaitsev A.M., Bram G., Kalashnikov V.V. Genetic portrait of the Bashkir horse. *Horse breeding and equestrian sport.* 2016. No. 6. P. 5-7. (In Russian)
60. Kalinkova L.V., Zajcev A.M., Kalashnikov V.V. Polimorfizm genov MC1R, MATP i PMEL17 u loshadej bashkirskoj porody // Konevodstvo i konnyj sport. 2019. №6. S.27-28. [The polymorphism of MC1R, MATP, and PMEL17 in horses of the Bashkir breed] (In Russian)
61. Khrabrova L.A. Ispolzovanie DNK-tehnologij v konevodstve // Jeffektivnoe zhivotnovodstvo. 2015. № 6 (115). S. 13-17. [Using DNA technologies in horse breeding] (In Russian)
62. Khrabrova L.A., Alekseeva E.I. Progress DNK-tehnologij v konevodstve // Izvestija Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2015. № 39. S. 149-154. [Progress of DNA technologies in horse breeding] (In Russian)
63. Khrabrova L.A., Blohina N.V., Suleymanov O.I., Rozhdestvenskaya G.A., Pustovoy V.F. Assessment of line differentiation in the Thoroughbred horse breed using DNA microsatellite loci. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2019. V.23 (5). P. 569-574. doi: 10.18699/VJ19.526 (In Russian)
64. Khrabrova L.A., Blokhina N.V. Geneticheskij monitoring chistokrovnoj verhovoj porody loshadej po lokusam mikrosatellitov DNK // Genetika i razvedenie zhivotnyh. 2018. № 3. S. 11-16. [Genetic monitoring of the thoroughbred riding breed horses for the loci of the microsatellite DNA] (In Russian)
65. Kiryanova O.Yu., Kuluev B.R., Kuluev A.R., Mardanshin I.S., Gubaydullin I.M., Chemeris A.V. Multiplex *in silico* RAPD-analysis of several related plants with different genome sizes and prospects for this approach for DNA-cataloguing of agricultural plant varieties. *Biomcs.* 2020. Vol. 12. No. 2. P. 194-210. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-10
66. Kiryanova O.Yu., Kiryanov I.I., Kuluyev B.R., Chemeris A.V., Garafutdinov R.R., Gubaidullin I.M. Certificate of state registration of computer program no. 2020610703 ABCDNA_GS (Amplified Bar-Coded DNA Genome/Specimen) dated 17.01.2020
67. Kleshhenko E. DNK i ee chelovek. Kratkaja istorija DNK-identifikacii / Elena Kleshhenko. nauchn. red. d-r biol. nauk S. Borinskaja. M.: Al'pina non-fikshn, 2019. 314 s. [DNA and its people. A brief history of DNA identification] (In Russian)
68. Kozlova L.G. Issledovanie DNK polimorfizma dvuh linij zhrebcev proizvoditelej jakutskoj porody metodom RAPD-PCR // Tendencii razvitija nauki i obrazovanija. 2018. № 43-6. S. 34-38. [Research of DNA polymorphism of two lines of stallions of producers of the Yakut breed by RAPD-PCR method] (In Russian)
69. Kuluev B.R., Baymiev An.K., Gerashchenkov G.A., Chemeris D.A., Zubov V.V., Kuluev A.R., Baymiev Al.Kh., Chemeris A.V. Random priming PCR strategies for identification of multilocus DNA polymorphism in eukaryotes. *Russian Journal of Genetics.* 2018. V. 54(5). P. 499-513. DOI: 10.1134/S102279541805006X
70. Kun T.J., Wictum E.J., Penedo M.C.T. A mini-STR typing system for degraded equine DNA. *Anim. Genet.* 2018. V. 49(5). P. 464-466. doi: 10.1111/age.12716.
71. Kusliy M.A., Druzhkova A.S., Popova K.O., Vorobieva N.V., Makunin A.I., Yurlova A.A., Tishkin A.A., Minyaev S.S., Trifonov V.A., Graphodatsky A.S., Dymova M.A., Filipenko M.L. Genotyping and coat colour detection of ancient horses from Buryatia. *Tsitologiya.* 2016. V.58(4). P.304-308.
72. Kvist L., Niskanen M., Mannermaa K., Wutke S., Aspi J. Genetic variability and history of a native Finnish horse breed. *Genet. Sel. Evol.* 2019. V. 51(1):35. doi: 10.1186/s12711-019-0480-8.
73. Librado P., Fages A., Gaunitz C., Leonardi M., Wagner S., Khan N., Hanghøj K., Alquraishi S.A., Alfarhan A.H., Al-Rasheid K.A., Der Sarkissian C., Schubert M., Orlando L. The Evolutionary Origin and Genetic Makeup of Domestic Horses. *Genetics.* 2016. V. 204(2). P. 423-434. doi: 10.1534/genetics.116.194860/
74. Lindgren G, Sandberg K, Persson H, Marklund S, Breen M, Sandgren B, Carlstén J, Ellegren H. A primary male autosomal linkage map of the horse genome. *Genome Res.* 1998. V. 8(9). P. 951-966. doi: 10.1101/gr.8.9.951.
75. Litt M., Luty J.A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.* 1989. V. 44(3). P. 397-401.
76. Liu Y., Xu J., Chen M., Wang C., Li S. A unified STR profiling system across multiple species

- with whole genome sequencing data. *BMC Bioinformatics*. 2019. V. 20(Suppl 24). P. 671. doi: 10.1186/s12859-019-3246-y.
77. Ma H., Wang S., Zeng G., Guo J., Guo M., Dong X., Hua G., Liu Y., Wang M., Ling Y., Ding X., Zhao C., Wu C. The Origin of a Coastal Indigenous Horse Breed in China Revealed by Genome-Wide SNP Data. *Genes (Basel)*. 2019. V. 10(3). P. 241. doi: 10.3390/genes10030241.
 78. Mahrous K.F., Alam S.S., Hassan A.M. Genetic Variations Between Horse Breeds Using RAPD Markers. *Nature and Science*. 2010. V.8(5).P. 90-99.
 79. Marklund S., Ellegren H, Eriksson S, Sandberg K, Andersson L. Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellites. *Anim. Genet.* 1994. 25(1).P. 19-23. doi:10.1111/j.1365-2052.1994.tb00050.x
 80. Matiasovic J, Kubicková S, Musilová P, Rubes J, Horín P. Characterization of the NRAMP1 (SLC11A1) gene in the horse (*Equus caballus* L.). *Eur. J. Immunogenet.* 2002. V. 29(5). P. 423-429. doi: 10.1046/j.1365-2370.2002.00348.x.
 81. Mursalimov V.S., Satyev B.H. Bashkirskaja lošhad'. Ufa. Bashkirskoe knizhnoe izdatel'stvo. 1988. 160 S. [Bashkir horse] (In Russian)
 82. Nazarova A.F., Vizerova K.V., Potapov S.G. Issledovanie polimorfizma mitohondrial'noj DNK lošhadej raznyh porod // Al'manah mirovoj nauki. 2016, № 5-1 (8). S. 23-32. doi: 10.18534/amm.2016.05.01 [Research of mitochondrial DNA polymorphism in horses of different breeds] (In Russian)
 83. Nikiforov T.T., Rendle RB, Goelet P, Rogers YH, Kotewicz ML, Anderson S, Trainor GL, Knapp MR Genetic Bit Analysis: a solid phase method for typing single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Res.* 1994. V.22(20). P. 4167–4175. doi: 10.1093/nar/22.20.4167
 84. Osipov V.G., Kozlova L.G., Prokop'eva M.I. Primenenie metoda RAPD-PCR v ocenke geneticheskoj struktury lošhadej jakutskoj porody // Fundamental'nye i prikladnye issledovanija: problemy i rezul'taty. 2015. № 22. S. 99-103. [Application of the RAPD-PCR method in assessing the genetic structure of Yakut horses] (In Russian)
 85. Pereira G.L., Malheiros J.M., Ospina A.M.T., Chardulo L.A.L., Curi R.A. Exome sequencing in genomic regions related to racing performance of Quarter Horses. *J. Appl. Genet.* 2019. V. 60(1). P. 79-86. doi: 10.1007/s13353-019-00483-1.
 86. Petersen J.L., Mickelson J.R., Cothran E.G., Andersson L.S., Axelsson J., Bailey E., Bannasch D., Binns M.M., Borges A.S., Brama P., da Câmara Machado A., Distl O., Felicetti M., Fox-Clipsham L., Graves K.T., Guérin G., Haase B., Hasegawa T., Hemmann K., Hill E.W., Leeb T., Lindgren G., Lohi H., Lopes M.S., McGivney B.A., Mikko S., Orr N., Penedo M.C., Piercy R.J., Raekallio M., Rieder S., Røed K.H., Silvestrelli M., Swinburne J., Tozaki T., Vaudin M.M., Wade C., McCue M.E. Genetic diversity in the modern horse illustrated from genome-wide SNP data. *PLoS One*. 2013. V. 8(1). e54997. doi: 10.1371/journal.pone.0054997.
 87. Petersen J.L., Mickelson J.R., Rendahl A.K., Valberg S.J., Andersson L.S., Axelsson J., Bailey E., Bannasch D., Binns M.M., Borges A.S., Brama P., da Câmara Machado A., Capomaccio S., Cappelli K., Cothran E.G., Distl O., Fox-Clipsham L., Graves K.T., Guérin G., Haase B., Hasegawa T., Hemmann K., Hill E.W., Leeb T., Lindgren G., Lohi H., Lopes M.S., McGivney B.A., Mikko S., Orr N., Penedo M.C., Piercy R.J., Raekallio M., Rieder S., Røed K.H., Swinburne J., Tozaki T., Vaudin M., Wade C.M., McCue M.E. Genome-wide analysis reveals selection for important traits in domestic horse breeds. *PLoS Genet.* 2013. V. 9(1). e1003211. doi: 10.1371/journal.pgen.1003211.
 88. Politova M.A. Raismann M., Vagner H.-J. Molekuljarno-geneticheskoj analiz lokusov Agouti, Extension i Albino v populjacii ruskoj verhovoj porody lošhadej// Problemy sohraneniija genofonda, povyšeniija plemennyh i produktivnyh kachestv zavodskih i mestnyh porod lošhadej: tez. dokl. Vseros. koordinac. soveshh. po n.-i. rabote v konevodstve / Vseros. NII konevodstva. Divovo, 2003. C. 24-28. [Molecular genetic analysis of Agouti, Extension and Albino loci in the population of Russian horse breeds] (In Russian)
 89. Rebolledo-Mendez J., Hestand M.S., Coleman S.J., Zeng Z., Orlando L., MacLeod J.N., Kalbfleisch T. Comparison of the Equine Reference Sequence with Its Sanger Source Data and New Illumina Reads. *PLoS One*. 2015. V. 10(6). e0126852. doi: 10.1371/journal.pone.0126852.
 90. Saigin I.A. Bashkirskaja lošhad' i puti ee uluchšeniija. Ufa: Bashkir. kn. izd-vo. 1955. 72 S. [Bashkir horse and ways to improve it] (In Russian)
 91. Schaefer R.J., Schubert M., Bailey E., Bannasch D.L., Barrey E., Bar-Gal G.K., Brem G., Brooks S.A., Distl O., Fries R., Finno C.J., Gerber V., Haase B., Jagannathan V., Kalbfleisch T., Leeb T., Lindgren G., Lopes M.S., Mach N., da Câmara Machado A., MacLeod J.N., McCoy A., Metzger J., Penedo C., Polani S., Rieder S., Tammen I., Tetens J., Thaller G., Verini-Supplizi A., Wade C.M., Wallner B., Orlando L., Mickelson J.R., McCue M.E. Developing a 670k genotyping array to tag ~2M SNPs across 24 horse breeds. *BMC Genomics*. 2017. V. 18(1). P. 565. doi: 10.1186/s12864-017-3943-8.

92. Senese C., Penedo M.C., Shiue Y.L., Bowling A.T., Millon L.V. A HaeIII PCR-RFLP in the ZFY/ZFX genes of horses. *Anim. Genet.* 1999. V. 30(5). P. 390-391. doi: 10.1046/j.1365-2052.1999.00526-10.x.
93. Seong H.S., Kim N.Y., Kim D.C., Hwang N.H., Son D.H., Shin J.S., Lee J.H., Chung W.H., Choi J.W. Whole genome sequencing analysis of horse populations inhabiting the Korean Peninsula and Przewalski's horse. *Genes Genomics.* 2019. V. 41(6). P. 621-628. doi: 10.1007/s13258-019-00795-w.
94. Shiriev V.M., Urazbahtin R.F., Gajnullina K.P. Исследование полиморфизма микросателлитной ДНК у лошадей башкирской породы // *Vestnik Rossijskoj Akademii Sel'skohozjajstvennyh Nauk.* 2014. №5. S. 13-15. [The study of polymorphism of microsatellite DNA in horses of the Bashkir breed] (In Russian)
95. Shiue Y.L., Bickel L.A., Caetano A.R., Millon L.V., Clark R.S., Eggleston M.L., Michelmores R., Bailey E., Guérin G., Godard S., Mickelson J.R., Valberg S.J., Murray J.D., Bowling A.T. A synteny map of the horse genome comprised of 240 microsatellite and RAPD markers. *Anim. Genet.* 1999. V. 30(1). P. 1-9. doi: 10.1046/j.1365-2052.1999.00377.x.
96. Smith M. Universal forensic DNA databases: Balancing the costs and benefits. *Alternative Law Journal.* 2018. V.43(2). P. 131-135. doi: 10.1177/1037969X18765222
- Smith M. Universal forensic DNA databases: Balancing the costs and benefits. *Alternative Law Journal.* 2018. V.43(2). P. 131-135. doi: 10.1177/1037969X18765222
97. Solé M., Ablondi M., Binzer-Panchal A., Velie B.D., Hollfelder N., Buys N., Ducro B.J., François L., Janssens S., Schurink A., Viklund Å., Eriksson S., Isaksson A., Kultima H., Mikko S., Lindgren G. Inter- and intra-breed genome-wide copy number diversity in a large cohort of European equine breeds. *BMC Genomics.* 2019. V. 20(1). P. 759. doi: 10.1186/s12864-019-6141-z.
98. State Register of Breeding Achievements Approved for Use. Volume 2. Breeds of animals: official publication. Moscow: FGBNU «Rosinformagrotech». 2019. 204 P. (In Russian)
99. Swinburne J., Gerstenberg C., Breen M., Aldridge V., Lockhart L., Marti E., Antczak D., Eggleston-Stott M., Bailey E., Mickelson J., Røed K., Lindgren G., von Haeringen W., Guérin G., Bjarnason J., Allen T., Binns M. First comprehensive low-density horse linkage map based on two 3-generation, full-sibling, cross-bred horse reference families. *Genomics.* 2000. V. 66(2). P.123-134. doi: 10.1006/geno.2000.6207.
100. Tozaki T., Kakoi H., Mashima S., Hirota K., Hasegawa T., Ishida N., Miura N., Choi-Miura N.H., Tomita M. Population study and validation of paternity testing for Thoroughbred horses by 15 microsatellite loci. *J. Vet. Med. Sci.* 2001. V. 63(11). P. 1191-1197. doi: 10.1292/jvms.63.1191.
101. Tozaki T., Kikuchi M., Kakoi H., Hirota K., Nagata S., Yamashita D., Ohnuma T., Takasu M., Kobayashi I., Hobo S., Manglai D., Petersen J.L. Genetic diversity and relationships among native Japanese horse breeds, the Japanese Thoroughbred and horses outside of Japan using genome-wide SNP data. *Anim. Genet.* 2019. V. 50(5). P. 449-459. doi: 10.1111/age.12819.
102. Troyer D., Howard D., Leipold H.W., Smith J.E. A human minisatellite sequence reveals DNA polymorphism in the equine species // *Zentralbl. Veterinarmed. A.* 1989. V. 36(2). P. 81-83. doi: 10.1111/j.1439-0442.1989.tb00706.x.
103. van de Goor L.H., Panneman H., van Haeringen W.A. A proposal for standardization in forensic equine DNA typing: allele nomenclature for 17 equine-specific STR loci. *Anim. Genet.* 2010. V. 41(2). P. 122-127. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01975.x
104. Van de Goor L.H., van Haeringen W.A., Lenstra J.A. Population studies of 17 equine STR for forensic and phylogenetic analysis. *Anim. Genet.* 2011. P. 42(6). P. 627-633. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02194.x.
105. Voronkova V.N., Cjendsurjen Cjedjev, Sulimova G.E. Sravnitel'nyj analiz informativnosti ISSR-markerov dlja otcenki geneticheskogo raznobrazija porod loshadej // *Genetika.* 2011. T. 47. №8 God: S. 1131-1134. [Comparative analysis of information content of ISSR markers for assessing the genetic diversity of horse breeds] (In Russian)
106. Wade C.M. Assembly and Analysis of the Equine Genome Sequence In: *Equine Genomics.* Chowdhary B.P. (Ed). 2013. P. 103-111. doi:10.1002/9781118522158.ch6
107. Wade C.M., Giulotto E., Sigurdsson S., Zoli M., Gnerre S., Inslund F., Lear T.L., Adelson D.L., Bailey E., Bellone R.R., Blöcker H., Distl O., Edgar R.C., Garber M., Leeb T., Mauceli E., MacLeod J.N., Penedo M.C., Raison J.M., Sharpe T., Vogel J., Andersson L., Antczak D.F., Biagi T., Binns M.M., Chowdhary B.P., Coleman S.J., Della Valle G., Fryc S., Guérin G., Hasegawa T., Hill E.W., Jurka J., Kiialainen A., Lindgren G., Liu J., Magnani E., Mickelson J.R., Murray J., Nergadze S.G., Onofrio R., Pedroni S., Piras M.F., Raudsepp T., Rocchi M., Røed K.H., Ryder O.A., Searle S., Skow L., Swinburne J.E., Syvänen A.C., Tozaki T., Valberg S.J., Vaudin M., White J.R., Zody M.C., Broad Institute Genome Sequencing Platform; Broad Institute Whole Genome Assembly Team, Lander

- E.S., Lindblad - Toh K. Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse. *Science*. 2009. V. 326(5954). P. 865-867. doi: 10.1126/science.1178158.
108. Warmuth V., Eriksson A., Bower M.A., Barker G., Barrett E., Hanks B.K., Li S., Lomitashvili D., Ochir-Goryaeva M., Sizonov G.V., Soyonov V., Manica A. Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2012. V. 109(21). P. 8202-8206. doi: 10.1073/pnas.111122109.
109. Warmuth V., Eriksson A., Bower M.A., Cañon J., Cothran G., Distl O., Glowatzki-Mullis M.L., Hunt H., Luis C., do Mar Oom M., Yupanqui I.T., Ząbek T., Manica A. European domestic horses originated in two holocene refugia. *PLoS One*. 2011. V. 6(3). e18194. doi: 10.1371/journal.pone.0018194.
110. Williams J.G., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res*. 1990. V. 18. P. 6531-6535. doi: 10.1093/nar/18.22.6531
111. Williamson R., Duncan R. DNA testing for all. *Nature*. 2002. V. 418. P. 585-586. doi: 10.1038/418585a
112. Xu X., Arnason U. The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of the control region. *Gene*. 1994. V.148(2). P. 357-362. doi: 10.1016/0378-1119(94)90713-7.
113. Yumaguzina Je.Je., Urazbkhtin R.F. Geneticheskoe raznoobrazie loshadej bashkirskoj porody // *Izvestija Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2014. №4(48). С. 140-142. [Genetic diversity of horses of the Bashkir breed] (In Russian)
114. Zhang C., Ni P., Ahmad H.I., Gemingguli M, Baizilaitibei A., Gulibaheti D 3, Fang Y., Wang H., Asif A.R., Xiao C., Chen J., Ma Y., Liu X., Du X., Zhao S. Detecting the Population Structure and Scanning for Signatures of Selection Horses (*Equus caballus*) From Whole-Genome Sequencing Data. *Evol. Bioinform*. 2018. V. 14. e1176934318775106. doi: 10.1177/1176934318775106