

СТАТЬЯ

УДК 575:636.71

АНАЛИЗ ГАПЛОТИПОВ ГЕНОВ ЛОКУСА DLA КЛАССА II У СОБАК РАЗНЫХ ПОРОД

¹Сафарова М.Х., ²Кан С.В., ²Душанова Г.А.

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»,
Санкт-Петербург, e-mail: smuxlisa@gmail.com;

²Самаркандский государственный университет имени Шарофа Рашидова, Самарканд

Главный комплекс гистосовместимости является ключевым элементом иммунной системы млекопитающих и служит модельной системой для изучения механизмов поддержания генетического разнообразия в популяциях. Гены комплекса демонстрируют высокий уровень полиморфизма, особенно в участках, кодирующих пептид-связывающие домены, что обеспечивает широкий спектр распознавания антигенов и адаптацию к патогенам. В данной работе представлено исследование полиморфизма генов класса II локуса DLA (Dog Leukocyte Antigen) у четырех пород собак российского разведения: самоедской лайки, сибирского хаски, русского черного терьера и боксера. С использованием методов молекулярной биологии, включая ПЦР, секвенирование и биоинформатический анализ, была охарактеризована аллельная вариабельность генов DRB1, DQA1 и DQB1. Установлены различия в численности и частотах аллелей между породами, что может отражать как особенности селекционного отбора, так и степень изоляции популяций. Полученные данные подчеркивают важность учета генетического разнообразия при планировании разведения собак и позволяют использовать собак как модельный объект для иммунных и трансплантационных исследований. Работа вносит вклад в понимание популяционной генетики иммунных генов у домашних животных и их потенциальной роли в ветеринарной медицине.

Ключевые слова: главный комплекс гистосовместимости собак, гаплотипы, полиморфизм

ANALYSIS OF HAPLOTYPES OF DLA CLASS II LOCUS GENES IN DOGS OF DIFFERENT BREEDS

¹Safarova M.Kh., ²Kan S.V., ²Dushanova G.A.

¹Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, e-mail: smuxlisa@gmail.com;

²Samarkand State University named after Sharof Rashidov, Samarkand

The Major Histocompatibility Complex is a key component of the mammalian immune system and serves as a model system for studying the mechanisms of maintaining genetic diversity in populations. MHC genes exhibit a high level of polymorphism, particularly in regions encoding peptide-binding domains, which ensures a broad spectrum of antigen recognition and adaptation to pathogens. This study presents an investigation of class II gene polymorphism at the DLA (Dog Leukocyte Antigen) locus in four Russian-bred dog breeds: Samoyed Laika, Siberian Husky, Russian Black Terrier, and Boxer. Using molecular biology techniques including PCR, sequencing, and bioinformatics analysis, allelic variability of the DRB1, DQA1, and DQB1 genes was characterized. Differences in allele numbers and frequencies among the breeds were identified, which may reflect the effects of selective breeding as well as the degree of population isolation. The results highlight the importance of considering genetic diversity in dog breeding programs and support the use of dogs as a model organism for immunological and transplantation research. This work contributes to the understanding of population genetics of immune genes in domestic animals and their potential role in veterinary medicine.

Keywords: canine major histocompatibility complex, haplotypes, polymorphism

Введение

Главный комплекс гистосовместимости (ГКГ) представляет собой область генома, содержащую гены, критически важные для иммунного ответа. Классические гены ГКГ кодируют специализированные гликопротеины, выполняющие функцию презентации антигенов — как эндогенных, так и экзогенных — на клеточной поверхности для распознавания Т-лимфоцитами и NK-клетками. Наиболее примечательной характеристикой генов ГКГ является их исключительный полиморфизм: в природных популяциях описаны десятки и даже сотни аллельных вариантов. Максимальное разнообразие наблюдается в пептид-связывающем домене PBS (peptide binding sites),

особенно в участках непосредственного контакта с антигеном. Эволюционный анализ свидетельствует об адаптивной природе этого полиморфизма, доказательством являются преобладание несинонимичных замен в PBS, повышенные значения коэффициентов отбора и сохранение аллельного разнообразия в течение длительного эволюционного времени. Уникальное сочетание высокого полиморфизма с породоспецифичным распределением аллелей делает гены ГКГ идеальной моделью для изучения механизмов поддержания генетического разнообразия в популяциях под действием естественного отбора [1].

Гены главного комплекса гистосовместимости человека *HLA* подразделяются

на три основных класса и локализованы на 6-й хромосоме. Гены класса I ответственны за презентацию антигенов, локализованных в цитоплазме, гены класса II осуществляют презентацию антигенов, находящихся во внеклеточной среде или внутриклеточных везикулах, тогда как гены класса III вовлечены в процессы воспалительного ответа [2].

Сходство иммунных систем человека и млекопитающих, включая развитие аналогичных патологий при их нарушениях, делает животных ценными моделями для исследований. Домашняя собака *Canis lupus familiaris* является одним из наиболее перспективных видов для таких исследований. Изучение генов главного комплекса гистосовместимости собаки *DLA* (*dog leucocyte antigen*) относится к началу 1960-х гг. [3]. В этих работах была установлена главная биологическая роль антигенов собаки в процессе отторжения или приживления аллогенных тканевых трансплантатов [4]. Эти работы вызвали большой интерес в плане изучения главного комплекса гистосовместимости и рассмотрения собаки как модели для разработки методов трансплантации органов и тканей человека [5].

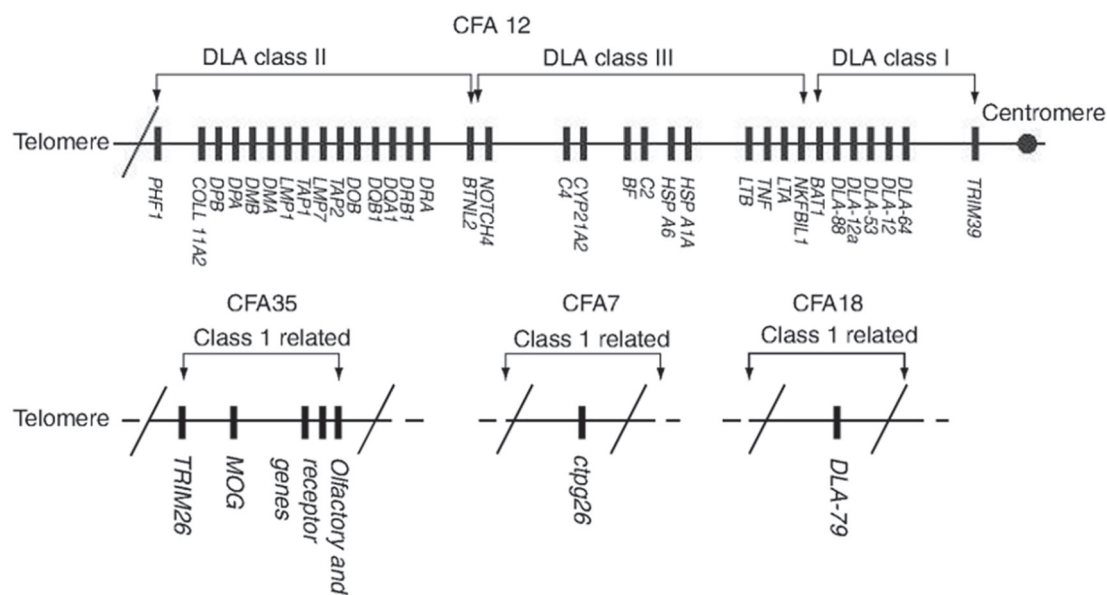
Локус лейкоцитарного антигена *DLA* у собак, содержащий большое количество функциональных генов иммунной системы, расположен на 12-й хромосоме [6]. *DLA* собак играет важную роль в системе иммунного ответа и состоит из трех районов, обозначаемых как класс I, класс II и класс III. Схема организации *DLA* собак представлена на рис. 1. Гены *DLA* принадлежат к пер-

вым двум классам и вовлечены в регуляцию участия антигенов в иммунной системе. Было идентифицировано 4 гена, входящих в класс I локуса *DLA* собаки. Это *DLA-12*, *DLA-64*, *DLA-79*, *DLA-88* [7]. Для каждого из перечисленных генов обнаружено разное число аллелей, причем 3 из них, *DLA-12*, *DLA-64*, *DLA-79*, имеют 17, 9 и 8 аллелей, соответственно, а для гена *DLA-88* описано 139 аллельных вариантов [8–10].

Структура локуса *DLA* класса II включает 4 гена: *DRA1*, *DRB1*, *DQA1* и *DQB1*. Ген *DRA1* является мономорфным, в то время как гены *DRB1*, *DQA1* и *DQB1* полиморфны и включают 181 *DRB1*, 30 *DQA1* и 86 *DQB1* аллельных вариантов [12]. Полиморфизм локуса *DLA* ограничен внутри одной породы, но существуют значительные различия в аллельных вариантах и их частотах встречаемости у представителей разных пород собак [13]. Локус *DLA* класса III у домашних собак содержит гены ортологи системы комплемента, цитокинам и белкам теплового шока, которые полностью соответствуют по структуре и функции генам *HLA* класса III у человека.

Актуальность изучения ограниченного разнообразия гаплотипов генов локуса *DLA* класса II у чистопородных собак возрастает в связи с расширением практики породного разведения в географически изолированных популяциях, поскольку данный фактор может иметь существенное клинико-эпидемиологическое значение.

Целью исследования была оценка полиморфизма генов класса II локуса *DLA* среди собак пород российского разведения.



Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на образцах буккального эпителия, полученного от собак четырех пород российской селекции. Отбор пород для анализа проводили исходя из двух ключевых критериев: необходимости первичной молекулярно-генетической характеристики и наличия литературных данных о взаимосвязи полиморфизма генов главного комплекса гистосовместимости с иммунопатологиями у различных пород собак. Так были отобраны представители четырех пород, среди которых самоедская лайка, сибирский хаски, русский черный терьер и боксер. Для проведения исследования использовали по 12 образцов ДНК клинически здоровых особей каждой породы, предоставленных ветеринарной клиникой «Зооген». При формировании выборки соблюдали гендерный баланс, включив равное количество особей каждого пола.

Методы, примененные в исследовании: выделение геномной ДНК, амплификация и анализ генов локуса DLA, секвенирование и статистический анализ ампликонов, построение филогенетических деревьев по методу Байеса.

Выделение геномной ДНК

Экстракцию ДНК из образцов буккального эпителия проводили методом ферментативного лизиса с температурной денатурацией [14]. Протокол включал: инкубацию проб при 65 °C для лизиса клеток; сорбцию нуклеиновых кислот на силикатной матрице; серию отмывок для удаления белковых примесей; элюцию ДНК в ТЕ-буфере (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0); финальную очистку методом центрифугирования (10,000 ×g).

Амплификация и анализ генов локуса DLA

Для ПЦР-анализа были разработаны специфические праймеры, фланкирующие полиморфные регионы генов: *DRB1* (322 п.н.), *DQA1* (347 п.н.) и *DQB1* (300 п.н.). Амплификацию проводили с универсальным T7-праймером, рекомендованным для секвенирования высокогетерозиготных участков. Полученные ампликоны подвергали электрофоретическому разделению в 2% агарозном геле с последующей визуализацией в УФ-свете.

Секвенирование и статистический анализ ампликонов

По завершении ПЦР-амплификации продукты реакции были направлены в Ресурсный центр СПбГУ для проведения сек-

венирования по методу Сенгера. Определение нуклеотидных последовательностей генов *DRB1*, *DQA1* и *DQB1* выполняли с использованием прямых и обратных праймеров и стандартного протокола терминаторного секвенирования. Для каждой из исследуемых пород было проанализировано по 12 индивидуальных ПЦР-амплификатов, что в сумме составило 48 сиквенсов на ген. Биоинформатический анализ включал визуализацию хроматограмм в программе Chromas 2.6.6, выравнивание полученных последовательностей с референсными геномами и идентификацию аллельных вариантов по базе данных IPD-MHC [15]. Для определения частот гаплотипов применяли подход, описанный Кеннеди с соавт., в котором частоту гомозиготных особей вычисляли как отношение числа гомозигот к общему количеству исследованных животных в породной группе. Частоту гетерозигот определяли аналогичным образом [10, 11, 13].

Построение филогенетических деревьев по методу Байеса

Для выявления эволюционных взаимосвязей между аллельными вариантами генов локуса DLA (*DRB1*, *DQA1*, *DQB1*) класса II был проведен комплексный Байесовский филогенетический анализ с использованием алгоритма, предложенного Джарвисом с соавт. [16]. Анализ включал построение отдельных филогенетических реконструкций для каждого исследуемого гена в рамках каждой анализируемой породы.

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам секвенирования образцов ДНК, полученных от собак четырех исследованных пород: самоедской лайки, сибирского хаски, русского черного терьера и боксера – был проведен анализ аллельного разнообразия генов класса II локуса DLA (рис. 2).

При сравнительном анализе числа аллелей по отдельным генам в пределах каждой из пород следует отметить, что у самоедской лайки максимальное число аллелей, 12, отмечено для гена *DQB1*. Такое же число аллелей для этого гена обнаружено в породе русский черный терьер, а схожее число аллелей, 12, обнаружено для гена *DRB1* в породе сибирский хаски. Эти два гена характеризуются наибольшей изменчивостью по числу аллелей, по сравнению с геном *DQA1* во всех четырех породах. В частности, у самоедской лайки и русского черного терьера было выявлено 4 и 5 аллелей соответственно, а для сибирского хаски и боксера – 8 и 7 аллелей соответственно.

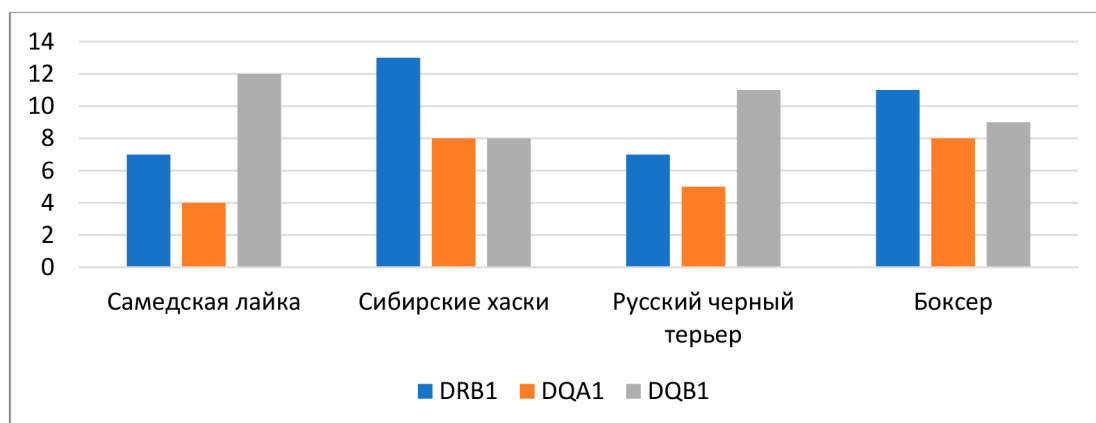


Рис. 2. Число аллелей по генам *DRB1*, *DQA1*, *DQB1* у собак пород российского разведения
 Источник: составлено авторами

Таблица 1

Породоспецифичные гаплотипы по генам *DRB1*, *DQA1*, *DQB1* локуса *DLA* пород самоедская лайка, сибирский хаски, русский черный терьер, боксер российской селекции (выделены характерные гаплотипы)

№ собаки	DRB1	DQA1	DQB1
Самоедская лайка			
1	DRB1*040:01	DQA1*022:01	DQB1*019:01 DQB1*054:02
2	DRB1*015:01	DQA1*006:01	DQB1*019:01 DQB1*SAM1
3	DRB1*015:01	DQA1*022:01	DQB1*019:01 DQB1*054:02
4	DRB1*015:01	DQA1*006:01	DQB1*019:01 DQB1*SAM2
5	DRB1*015:01	DQA1*006:01	DQB1*019:01 DQB1*SAM3
6	DRB1*015:01	DQA1*006:01	DQB1*019:01 DQB1*054:02
7	DRB1*SAM3	DQA1*006:01	DQB1*057:01 DQB1*SAM4
8	DRB1*001:01 DRB1*009:01	DQA1*022:01 DQA1*014:01:1	DQB1*036:01 DQB1*SAM6
9	DRB1*SAM1 DRB1*SAM2	DQA1*001:01	DQB1*002:01 DQB1*SAM5
10	DRB1*015:01	DQA1*006:01 DQA1*001:01	DQB1*019:01 DQB1*SAM7
Сибирский хаски			
1	DRB1*015:01	DQA1*010:01	DQB1*019:01
2	DRB1*HAS1 DRB1*HAS2	DQA1*009:01 DQA1*010:01	DQB1*023:01 DQB1*020:01
3	DRB1*040:01	DQA1*010:01	DQB1*019:01
4	DRB1*040:01 DRB1*015:02	DQA1*022:01 DQA1*010:01	DQB1*019:01 DQB1*HAS1
5	DRB1*040:01 DRB1*001:01	DQA1*022:01 DQA1*HAS2	DQB1*019:01 DQB1*HAS2
6	DRB1*040:01	DQA1*010:01	DQB1*019:01
7	DRB1*040:01	DQA1*010:01	DQB1*019:01

Окончание табл. 1

№ собаки	DRB1	DQA1	DQB1
8	DRB1*040:01 DRB1*HAS5	DQA1*024:01:1 DQA1*HAS3	DQB1*019:01 DQB1*029:01
9	DRB1*049:01 DRB1*HAS6	DQA1*024:01:1 DQA1*HAS3	DQB1*019:01 DQB1*HAS4
10	DRB1*015:01	DQA1*006:01	DQB1*023:01
11	DRB1*05701 DRB1*HAS3	DQA1*024:01:1 DQA1*HAS3	DQB1*019:01 DQB1*HAS3
12	DRB1*049:02 DRB1*HAS4	DQA1*010:01 DQA1*HAS1	DQB1*HAS4
Русский черный терьер			
1	DRB1*001:01	DQA1*003:01	DQB1*004:01
2	DRB1*018:01 DRB1*001:01	DQA1*010:01 DQA1*RBT1	DQB1*005:04 DQB1*RBT3
3	DRB1*001:05 DRB1*RBT1	DQA1*003:01 DQA1*005:01:1	DQB1*048:02 DQB1*RBT1
4	DRB1*005:01 DRB1*006:01	DQA1*005:01:1 DQA1*003:01	DQB1*HAS1 DQB1*RBT2
5	DRB1*001:01	DQA1*003:01	DQB1*RBT4
6	DRB1*001:01	DQA1*003:01	DQB1*004:01
7	DRB1*001:01	DQA1*003:01	DQB1*HAS1
8	DRB1*001:01	DQA1*003:01	DQB1*004:01
9	DRB1*001:01 DRB1*020:01	DQA1*003:01 DQA1*004:01	DQB1*048:02
10	DRB1*001:01	DQA1*003:01	DQB1*004:01
11	DRB1*001:01 DRB1*006:01	DQA1*003:01 DQA1*005:01:1	DQB1*004:01 DQB1*028:01
12	DRB1*001:01 DRB1*006:01	DQA1*003:01 DQA1*004:01	DQB1*038:02 DQB1*RBT5
Боксер			
1	DRB1*015:02	DQA1*006:01	DQB1*023:01
2	DRB1*015:02	DQA1*006:01 DQA1*BOX3	DQB1*023:01
3	DRB1*004:01 DRB1*013:01	DQA1*014:01:1 DQA1*BOX4	DQB1*015:01 DQB1*002:01
4	DRB1*015:02	DQA1*006:01	DQB1*023:01
5	DRB1*015:02 DRB1*013:01	DQA1*BOX3 DQA1*BOX4	DQB1*058:01 DQB1*BOX4
6	DRB1*004:03 DRB1*BOX1	DQA1*014:01:1 DQA1*002:01	DQB1*BOX1 DQB1*BOX5
7	DRB1*015:02 DRB1*BOX2	DQA1*006:01 DQA1*001:01	DQB1*023:01 DQB1*002:01
8	DRB1*004:02 DRB1*BOX3	DQA1*014:01:1 DQA1*BOX4	DQB1*BOX1 DQB1*BOX2
9	DRB1*015:02 DRB1*BOX4	DQA1*006:01 DQA1*010:01	DQB1*015:01 DQB1*BOX3
10	DRB1*004:02 DRB1*BOX5	DQA1*014:01:1 DQA1*BOX4	DQB1*BOX1 DQB1*BOX5
11	DRB1*015:02 DRB1*BOX6	DQA1*006:01 DQA1*001:01	DQB1*058:01 DQB1*BOX4
12	DRB1*015:02 DRB1*004:01	DQA1*006:01 DQA1*002:01	DQB1*023:01 DQB1*015:01

Источник: составлено авторами.

Средний уровень полиморфизма характеризует ген *DRB1* самоедской лайки (7 аллелей) и русского черного терьера (6 аллелей), а также генов *DRB1*, *DQB1* и *DQA1* боксера (9, 9 и 7 аллелей соответственно).

На основании анализа полиморфизма трех генов класса II локуса *DLA* можно заключить, что порода самоедская лайка и русский черный терьер оказываются генетически выровненными по генам *DRB1* и *DQA1*, но полиморфными по гену *DQB1*. Что касается пород сибирский хаски и боксер, то гены *DRB1*, *DQA1* и *DQB1* у них относительно выравнены генетически, за исключением гена *DRB1* у сибирского хаски. Можно предположить, что в случае аборигенных пород отечественного разведения сниженное разнообразие аллелей этих генов связано с изолированностью локальной популяции и сопутствующим инбридингом при разведении в ней собак. Особо следует выделить породу русский черный терьер, которая своим происхождением связана с российским питомником «Красная звезда».

В исследованиях, так же как и в работе зарубежных коллег, среди 85 из общего числа выявленных аллелей 40 аллелей были впервые охарактеризованы (табл. 1). Появление новых неохарактеризованных аллелей свидетельствует о высоком уровне полиморфизма генов *DRB1*, *DQB1* и *DQA1* локуса *DLA*. Из-за сложности депонирования новых аллелей в базе IPD-MHC дальнейшая характеристика и присвоение названий является задачей ближайшего будущего. Название новой аллели в данной работе включает название гена, сокращенное название породы собак и порядковый номер аллельного варианта в исследуемой выборке. В последующем планируется осуществить депонирование вновь выявленных аллелей в базе данных ISAG.

Для популяционных исследований информация о гаплотипах ГКГ обладает существенными преимуществами по сравнению с частотами аллелей одного локуса. Это связано с тем, что отсутствие рекомбинации между генетическими локусами в ГКГ обеспечивает поддержание определенных гаплотипов. В результате анализа гаплотипов был обнаружен 61 гаплотип в локусе *DLA*, при этом по 14 из них относятся к породе самоедская лайка и русский черный терьер, 16 гаплотипов принадлежат сибирскому хаски, а 17 – боксеру (табл. 1). Анализ встречаемости разных гаплотипов в четырех исследуемых породах собак позволяет выделить гаплотипы, преимущественно встречающиеся у собак одной породы. Так, к породоспецифичным гаплотипам можно отнести *DRB1*015:01-DQA1*006:01-DQB1*019:01*,

*DRB1*040:01-DQA1*010:01-DQB1*019:01*, *DRB1*001:01-DQA1*003:01-DQB1*004:01*, *DRB1*015:02-DQA1*006:01-DQB1*023:01*, которые характерны для собак породы самоедская лайка, сибирский хаски, русский черный терьер и боксер соответственно. Наименьшая частота встречаемости гаплотипов составила 0,05 для породы сибирский хаски, а для собак породы русский черный терьер, самоедская лайка и боксер частоты гаплотипов были одинаковые – 0,08. Существование определенных гаплотипов в отдельных породах может быть аргументировано благодаря хорошо известной информации о генетической структуре класса II локуса *DLA*, в котором 3 гена расположены в хромосоме 12 в непосредственной близости друг от друга, что значительно снижает частоту рекомбинаций между ними.

В настоящей работе не удалось выявить общих гаплотипов по аллелям трех генов класса II *DLA* среди собак всех четырех пород. Следует обратить внимание на высокую частоту встречаемости гаплотипа *DRB1*001:01-DQA1*003:01* по двум генам в породе русский черный терьер – 9 из 14 гаплотипов для этой породы (табл. 1). Это может указывать на относительно молодой возраст породы, а также демонстрирует явление нарушения равновесия по сцеплению. Вновь выявленные аллели локуса *DLA* в отдельных породах собак в данном исследовании расширили круг гаплотипов по сравнению с уже известными. К ним можно отнести гаплотип *DRB1*001:01-DQA1*003:01-DQB1*RB14*, который встретился у одной собаки породы русский черный терьер из 12, гаплотип *DRB1*004:02-DQA1*014:01:1-DQB1*BOX1*, встретившийся дважды в породе боксер из 12 исследованных особей.

Еще одной характеристикой генетической изменчивости четырех описываемых пород является показатель гетеро- и гомозиготности по генам *DLA* (табл. 2). Сравнение частоты гомозиготных собак разных пород по гену *DRB1* демонстрирует, что максимальная частота отмечается в породе самоедская лайка (0,8), далее у русского черного терьера она составляет 0,5 и сравнима с этой частотой встречаемость гомозиготных собак в породе сибирский хаски (0,42). Наименьшая частота гомозиготных собак характерна для породы боксер (0,25). По гену *DQA1* распределение гомозиготных собак по четырем породам полностью повторяет отмеченную картину для гена *DRB1*. Что касается гена *DQB1*, то распределение частот гомозиготных собак в разных породах резко отличается от предыдущих случаев. Не встретились гомозиготные собаки в породе самоедская

лайка, сходная частота встречаемости гомозигот по этому гену была обнаружена для пород сибирский хаски и русский черный терьер (0,5–0,6). Показатель гомозиготности для собак породы боксер оказался неизменным (0,25). Объяснением наблюдаемой изменчивости по частотам гомозиготных собак в разных породах служат две причины: разная степень давления отбора внутри породы при разведении, а также время, прошедшее с момента создания породы.

С целью поиска связей между аллелями каждого из изученных генов, а также выяснения возможных межпородных связей аллелей генов *DRB1*, *DQA1*, *DQB1* локуса *DLA* у собак пород самоедская лайка, сибирский хаски, русский черный терьер и боксер было проведено построение филогенетических деревьев, результаты которого приведены на рис. 3–5. Был использован метод Байеса, который позволяет определить вероятное дерево родственных связей между организмами на основе имеющихся данных относительно характеристик ДНК или белков, а также моделей эволюционных изменений. Построение филогенетических деревьев осуществлялось поэтапно, включая построение деревьев на основе аллельного разнообразия по каждому изучаемому гену в пределах отдельной породы. После этого были построены филогенетические деревья для каждого конкретного гена с привлечением данных по четырем изученным породам. Вероятные клады на филогенетических деревьях на рисунках отмечены овалами.

Филогенетическое дерево по нуклеотидной последовательности гена *DRB1* для пород сибирский хаски, самоедская лайка, русский черный терьер и боксер представлено на рис. 3. Корнем этого дерева является аллель *DRB1_00103*. По результатам постро-

ения филогенетического дерева для аллелей гена *DRB1* пород самоедская лайка, сибирский хаски, русский черный терьер и боксер, можно выделить две породы – сибирский хаски и боксер, хотя это не относится ко всем аллелям данного гена. Данное филогенетическое дерево характеризуется сложной картиной взаимоотношения аллелей гена *DRB1*, в то же время можно отметить породную специфику отдельных аллелей.

Филогенетическое дерево, построенное на основе нуклеотидной последовательности гена *DQA1* для пород сибирский хаски, самоедская лайка, русский черный терьер и боксер, представлено на рис. 4. Корнем данного дерева является аллель *DQA1*012012*. Анализ данного филогенетического дерева не позволил продемонстрировать межпородное аллельное разнообразие по данному гену.

Филогенетическое дерево по нуклеотидной последовательности гена *DQB1* для пород сибирский хаски, самоедская лайка, русский черный терьер и боксер представлено на рис. 5.

Корнем этого дерева является аллель *DQB1_00803 H*. Аллели *DQB1_HAS2 H*, *DQB1_BOX1 B*, *DQB1_020_01 H*, *DQB1_029_01 H*, *DQB1_015_01 B* и *DQB1_RBT4_R* занимают базальное положение на дереве. Четыре породы, проанализированные по аллелям данного гена, демонстрируют межпородные различия. Это позволяет выделить отдельные клады аллелей для каждой породы. В частности, в кладу для боксера попадают аллели *DQB1_BOX2* и *DQB1_BOX5*, для самоедской лайки – *DQB1_SAM4* и *DQB1_SAM6*, для сибирского хаски – *DQB1_HAS3* и *DQB1_HAS4*, для русского черного терьера – *DQB1_RBT3* и *DQB1_RBT5*.

Таблица 2

Частота встречаемости гомозигот и гетерозигот по генам *DRB1*, *DQA1*, *DQB1*

<i>DRB1</i>		<i>DQA1</i>		<i>DQB1</i>	
Частота абс. (отн.)		Частота абс. (отн.)		Частота абс. (отн.)	
гомозиготы	гетерозиготы	гомозиготы	гетерозиготы	гомозиготы	гетерозиготы
Самоеды					
8 (0,80)	2 (0,20)	8 (0,80)	2 (0,20)	0 (0)	10 (1)
Хаски					
5 (0,42)	7 (0,58)	5 (0,42)	7 (0,58)	6 (0,50)	6 (0,50)
Русский черный терьер					
6 (0,50)	6 (0,50)	6 (0,50)	6 (0,50)	7 (0,50)	5 (0,50)
Боксер					
3 (0,25)	9 (0,75)	2 (0,17)	10 (0,83)	3 (0,25)	9 (0,75)

Источник: составлено авторами.



Рис. 3. Филогенетическое дерево гена *DRB1* для представителей пород самоедская лайка, сибирский хаски, русский черный терьер и боксер
Источник: составлено авторами по методу Байеса

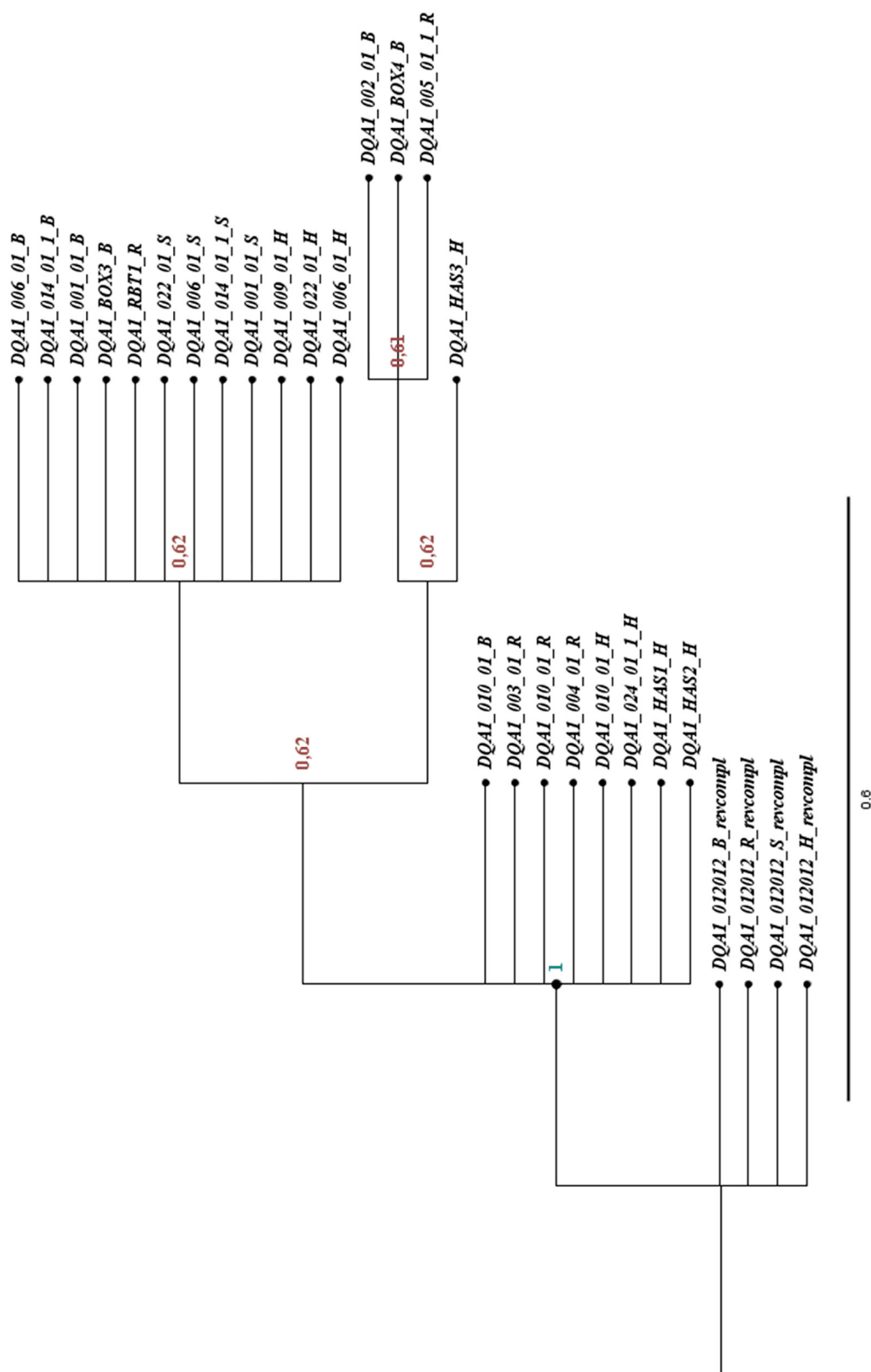


Рис. 4. Филогенетическое дерево гена DQAI для представителей пород самоедская лайка, сибирский хаски, русский черный терьер и боксер
Источник: составлено авторами по методу Байеса

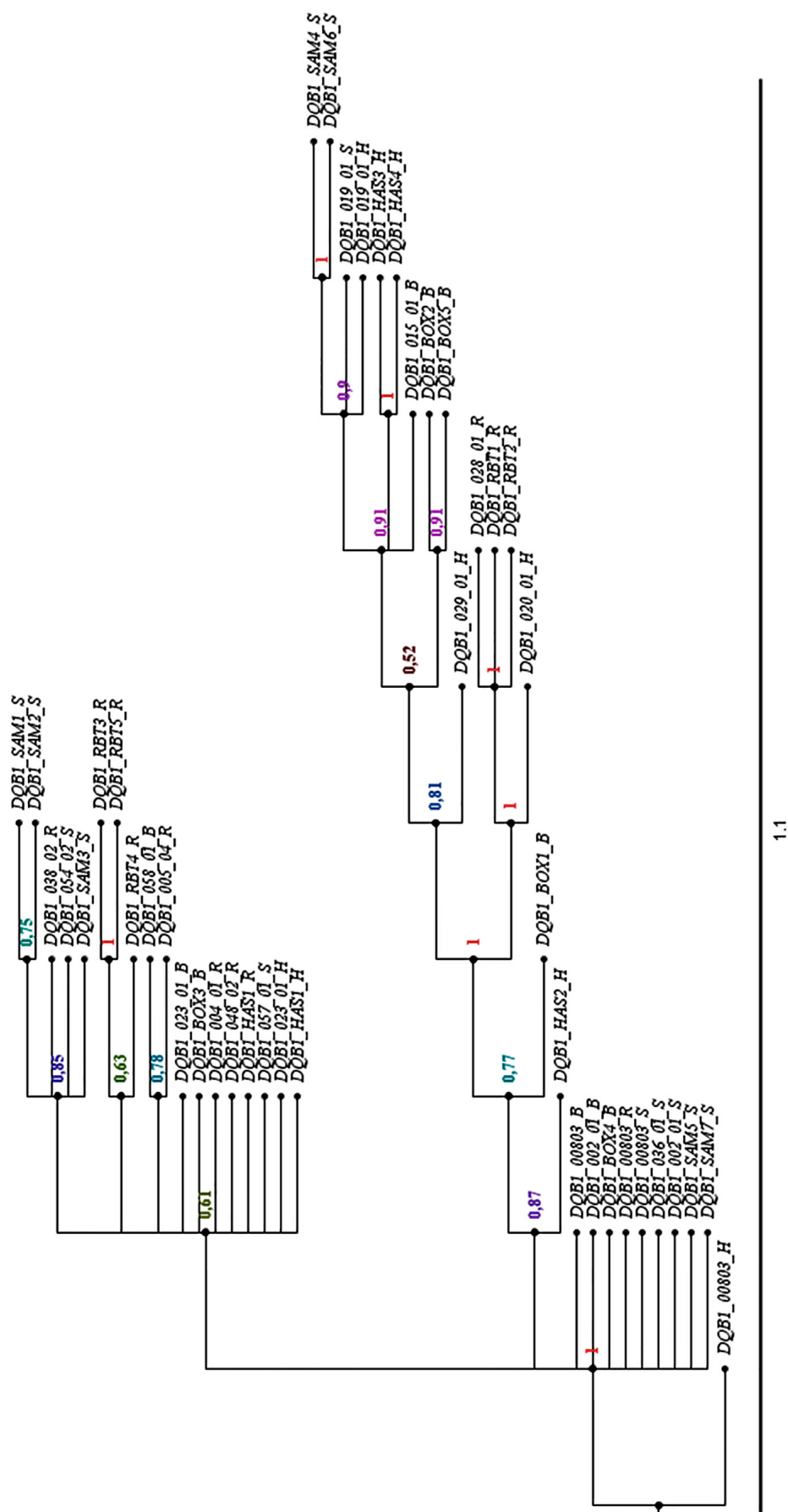


Рис. 5. Филогенетическое дерево гена *DQV1* для представителей пород самоедская лайка, сибирский хаски, русский черный терьер и боксер
Источник: составлено авторами по методу Байеса

Расширение объема выборки позволит в дальнейшем продолжить поиск филогенетических связей между породами на примере аллельного разнообразия генов локуса *DLA*.

Заключение

Проведенный анализ полиморфизма генов *DRB1*, *DQA1* и *DQB1* класса II *DLA* позволил сделать первый шаг в первичной характеристике существующего разнообразия пород собак на примере самоедской лайки, сибирского хаски, русского черного терьера и боксера российского разведения. В перспективе полученные данные могут способствовать прогнозированию риска развития у собак отдельных пород аутоиммунных заболеваний и канцерогенеза с учетом известных ассоциаций конкретных гаплотипов с определенными заболеваниями. Поиск филогенетических связей по аллелям генов локуса *DLA* расширит понимание общей картины эволюции вида *Canis lupus familiaris* – собаки домашней и происхождение отдельных ее пород.

Список литературы

1. Radwan J., Babik W., Kaufman J., Lenz T., Winternitz J. Advances in the evolutionary understanding of MHC polymorphism // *Trends Genet.* 2020. Vol. 36 (4). P. 298–303. DOI: 10.1016/j.tig.2020.01.008.
2. Chul-Woo Pyo, Michael A. Harkey, et al. Genotyping of canine MHC gene DLA-88 by NGS reveals high frequencies of new allele discovery and gene duplication // *HLA.* 2022. Vol. 100 (5). P. 479–490. DOI: 10.1111/tan.14752.
3. Miyamae J., Okano M., Katakura F., et al. Large-scale polymorphism analysis of dog leukocyte antigen genes and haplotype diversity in Japanese breeds // *Cells.* 2023. Vol. 12 (2). P. 345. DOI: 10.3390/cells12050809.
4. Anderson H.M., Thomas R., Smith M.J., Kennedy L.J. The role of DLA class II genes in canine autoimmune diseases: A systematic review // *Immunogenetics.* 2023. Vol. 75 (2). P. 105–117. DOI: 10.1007/s00251-022-01258-9.
5. Teixeira L.J., Qiao J., Hsu C., et al. Canine leukocyte antigen class II gene diversity in disease resistance and susceptibility // *Front Immunol.* 2022. Vol. 13. P. 780214. DOI: 10.3389/fimmu.2022.780214.
6. Kennedy L.J., Barnes A., Happ G.M., et al. Extensive interbreed, but minimal intrabreed variation of DLA class II alleles and haplotypes in dogs // *Tissue Antigens.* 2002. Vol. 59 (3). P. 194–204. DOI: 10.1034/j.1399-0039.2002.590303.x.
7. Wang L., Li J., Wu J., et al. Polymorphism of MHC class II genes and canine susceptibility to autoimmune diseases: A meta-analysis // *Vet Sci.* 2022. Vol. 9 (7). P. 342. DOI: 10.3390/vetsci9070342.
8. Huang J., Qiao J., Hu X., Wang Y. Polymorphism of MHC class II genes in dogs and its association with autoimmune diseases // *J Vet Med Sci.* 2019. Vol. 81 (1). P. 10–18. DOI: 10.1292/jvms.18-0422.
9. Garafutdinov R.R., Chubukova O.V., et al. Modern approaches to DNA extraction and genetic barcoding in biomedical research // *Mol Biol (Moscow).* 2017. Vol. 51 (4). P. 621–629. DOI: 10.1134/S0026898417040066.
10. Miyamae J., Kulski J.K., Moritomo T., Shiina T., Okano M. Diversity and evolution of DLA genes in Japanese dog breeds // *Immunogenetics.* 2021. Vol. 73 (5). P. 325–337. DOI: 10.1007/s00251-021-01203-2.
11. Bi K., Lyu L., Guo D., et al. Insights into the canine MHC class II region through genome-wide analysis. *Genes (Basel).* 2020. Vol. 11 (6). P. 689. DOI: 10.3390/genes11060689.
12. Wagner J.L., Burnett R.C., Storb R. Genetic diversity of dog MHC class II DLA-DRB1 alleles in different breeds // *PLoS One.* 2017. Vol. 12(9). P. e0184063. DOI: 10.1371/journal.pone.0184063.
13. Tsai K.L., Clark L.A., Murphy K.E. Understanding hereditary diseases using the dog and human as comparative models // *Vet J.* 2016. Vol. 213. P. 68–75. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.11.021.
14. Plassais J., Kim J., Davis B.W., et al. Whole genome sequencing of canids reveals genomic regions under selection and variants influencing morphology // *Nat Commun.* 2019. Vol. 10 (1). P. 1489. DOI: 10.1038/s41467-019-09373-w.
15. Schmutz S.M., Dreger D.L. Genetic testing and interpretation in veterinary practice: A canine perspective // *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2018. Vol. 48 (6). P. 1127–1137. DOI: 10.1016/j.cvsm.2018.07.002.