

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования

«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

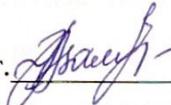
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ЗООЛОГИИ И ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ

Направление подготовки 06.03.01 Биология
Профиль «Биоресурсы и аквакультура»

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
ЗАЛЯЛОВОЙ ЭНДЖЕ РИФАТОВНЫ

**РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ МЕТОДА ИДЕНТИФИКАЦИИ
МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ ПО БЕЛКОВОМУ ПАТТЕРНУ КРОВИ**

Работа завершена:

«dd » мая 2017 г.  (Э.Р. Залялова)

Работа допущена к защите:

Научные руководители

Кандидат биологических наук, доцент

«26 » мая 2017 г.  (А. Ф. Беспалов)

Кандидат биологических наук, доцент

«16 » мая 2017 г.  (А. Р. Каюмов)

Заведующий кафедрой

Кандидат биологических наук, доцент

«6 » июня 2017 г.  (Р. М. Сабиров)

Казань – 2017

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1. Видовой состав грызунов.....	7
1.2. Краткое описание мышевидных грызунов.....	8
1.3. Особенности и отличия	10
1.4. Распространение, места обитания.....	12
1.5. Питание	14
1.6. Образ жизни.....	16
1.7. Размножение.....	18
1.8. Значение грызунов.....	21
1.9. Лабораторные мыши.....	24
2. ФИЗИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙОНА ИССЛЕДОВАНИЯ	25
3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	28
3.1. Сбор и обработка материала	28
3.2. Электрофорез белка в денатурирующих условиях в 10-15 % геле	33
3.3. Электрофорез белка в нативных условиях	35
3.4. Окраска гелей.....	36
4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	37
4.1. Создание показательной выборки грызунов	37
4.2. Подбор и оптимизация условий электрофореза образцов крови грызунов для идентификации до рода и вида	38
4.3 Верификация стабильности белкового паттерна крови внутри вида	41
4.4 Апробация метода идентификации мышевидных грызунов по белковому паттерну крови.....	44
ВЫВОДЫ	52
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	53

ВВЕДЕНИЕ

Мышевидные грызуны имеют большое значение в природных экосистемах и для человека. Благодаря своей значительной численности и высокой скорости размножения они составляют фундамент экосистем, служа пищей для хищных рептилий, птиц и млекопитающих и влияя на динамику их популяций. Для человека важный аспект биологии мышевидных грызунов заключается в том, что, размножаясь в значительных количествах, они наносят ощутимый урон урожаю сельскохозяйственных культур. Ряд видов, помимо этого, способен приводить к ущербу в других областях народного хозяйства.

Тот факт, что мышевидные грызуны подвержены различным заразным заболеваниям, которыми может болеть и человек, дополнительно подчеркивает значение этих млекопитающих для жизни современного человека. Установлено, что такие опасные болезни как чума, сибирская язва, брюшной тиф, паратифы, энцефалит, бешенство, туберкулез, туляремия и геморрагическая лихорадка с почечным синдромом и ряд других – разносятся посредством грызунов. Паразитирующие на них блохи, клещи, питаясь кровью грызунов, больных этими болезнями, передают возбудителей человеку или домашним животным, когда начинают питаться их кровью (Естафьев, 1994). Так, у рыжей полевки геморрагическая лихорадка проявляется в виде латентного вирусоносительства. Передача между грызунами осуществляется в основном через дыхательные пути. Заражение человека происходит воздушно-пылевым путем (Кучерук, 1989).

В свете этих фактов очевидным становится огромная важность изучения всех аспектов биология и экология мышевидных грызунов. Однако, несмотря на десятилетия интенсивного изучения, относительно жизни этих млекопитающих остается много вопросов. Так, лишь относительно недавно

стали проясняться механизмы, управляющие сложными многолетними циклами популяционной динамики мышей и полевок (Turchin et al., 1997).

Также все чаще появляется сведения о видах – двойниках среди некоторых групп мелких млекопитающих. Для их идентификации используются методы кариосистематики. В практике зоологических работ этот метод весьма трудоемок и редко используется. Определение таких видов составляет значительную трудность.

Для решения было предложено использовать различия в молекулярной массе белков гемоглобинов крови мелких млекопитающих (Дорохотов, 1985). Изначально было предложено использовать электрофорез в нативных условиях, где гемоглобины видны без специальной окраски благодаря естественной окраске геля. Хотя этот метод нельзя назвать универсальным, зачастую при крупномасштабных экологических исследованиях ему нет альтернативы. Он хорошо зарекомендовал себя при видовой идентификации песчанок (Ritte et al., 1976), многососковых крыс рода *Mastomys* (Green et al., 1978; Дорохотов, 1982; Robbins et al., 1983) и некоторых серых полевок (Дорохотов, 1982; Дорохотов, Малыгин, 1982). Однако гемоглобины крови далеко не у всех видов грызунов имеют значимые различия, идентифицируемые методом электрофореза (Дорохотов, 1985). Недавно методом двумерного электрофореза было показано, что межвидовое количество различающихся белков в белковом пуле различных тканей млекопитающих достигает 360 белков (Enard et al., 2002, Talamo et al., 2003), но высокая трудоемкость и дороговизна данного метода значительно ограничивает его использование.

Из этого следует актуальность разработки быстрого, простого и надежного метода идентификации мышевидных грызунов. Малая трудоемкость и быстрота благоприятствовала бы его использованию в исследованиях массового материала, а сам метод давал бы возможность отбирать первичный материал неквалифицированным специалистам, что

повышало бы его значение для служб и организаций научного и надзорного профиля.

В связи с этим, **целью** нашей работы явилась разработка и аprobация метода идентификации мышевидных грызунов путем электрофоретического разделения и анализа белкового паттерна крови

В связи с этим были поставлены следующие **задачи**:

1. Создание показательной выборки грызунов.
2. Подбор и оптимизация условий электрофореза образцов крови грызунов для идентификации до рода и вида.
3. Верификация стабильности белкового паттерна крови внутри вида.
4. Аprobация метода идентификации мышевидных грызунов по белковому паттерну крови.

Следует отметить, что в последние годы в мире получены положительные результаты по созданию метода идентификации грызунов по белковому паттерну крови. Так, в Европе (Германия, Франция, Испания, Италия) и Азии (Китай, Япония, Южная Корея) созданы методы идентификации грызунов по белковому паттерну крови, которые находят широкое применение в биотехнологии (Завариков, 2002).

В России впервые метод идентификации грызунов по белковому паттерну был разработан в Цирконо-Бородинском лесном заповеднике Уральского биосферного заповедника (Цирконо-Бородинский лесной заповедник Уральского биосферного заповедника, г. Красногорск, 1998). В дальнейшем метод идентификации грызунов по белковому паттерну был разработан в Курганской области (Соловьев, 2002).

Помимо этого в Беларусь (Логойский заповедник, г. Гомель), в Казахстан (Акмолинская область, г. Шымкент), в Киргизию (г. Бишкек), Северную Америку (США, Канада), Грецию, Македонию, Грецию, в Тайланд (Бангкок) и другие страны мира изучались белковые паттерны грызунов (Родина, Родина, 2002).

В свою очередь, в Казахстане (г. Алматы) в 2003 году было проведено исследование генетической полиморфности грызунов, выделенных из различных экологических групп (Баланов, 2003).