

## ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ МІКРОСАТЕЛІТІВ ДНК У СОБАК ПОРОДИ РОСІЙСЬКИЙ ТОЙ-ТЕР'ЄР

**В. В. ДЗІЦЮК<sup>1</sup>, С. Г. КРУГЛИК<sup>2</sup>, В. Г. СПИРИДОНОВ<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН

<sup>2</sup>Українська лабораторія якості та безпеки продукції АПК

[dzitsiuk@yandex.ua](mailto:dzitsiuk@yandex.ua)

*Досліджено рівень генетичного поліморфізму п'яти мікросателітних локусів у собак породи російський той-тер'єр, що розводяться в Україні. У досліджених вибірках тварин, виявлені значення показників поліморфності кожного локусу та рідкісні алелі. Виключення випадкового збігу алелів на рівні 99,8 % надають можливість використання отриманої популяційно-генетичної інформації для підтвердження походження, індивідуальної ідентифікації і породної паспортизації собак.*

**Ключові слова:** собака, ДНК-маркери, мікросателіти, поліморфізм, той-тер'єр, алель, локус

### RESEARCH MICROSATELLITE DNA POLYMORPHISM IN THE DOG BREED RUSSIAN TOY-TERRIER

**V. V. Dzitsiuk<sup>1</sup>, S. H. Kruglyk<sup>2</sup>, V. H. Spirydonov<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Animal Breeding and Genetics of NAAS (Chubynske, Ukraine)

<sup>2</sup>Ukrainian Laboratory of Quality and Safety of Agricultural Products, v. Chabany, Kyiv region, Ukraine

[dzitsiuk@yandex.ua](mailto:dzitsiuk@yandex.ua)

*The level of genetic polymorphism of five microsatellite loci in the dog breed Russian toy terrier bred in Ukraine. In the studied sample of animals revealed values of each locus polymorphism and rare alleles found. Except for the occasional coincidence of alleles at the level of 99.8% is delivering possibility of using the population-genetic information to confirm the origin of individual identification and certification of pedigree dogs.*

**Key words:** dog, DNA markers, microsatellite, polymorphism, toy terrier, allele, locus

### ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА МИКРОСАТЕЛЛИТОВ ДНК У СОБАК ПОРОДЫ РОССИЙСКИЙ ТОЙ-ТЕРЬЕР

**В. В. Дзицюк<sup>1</sup>, С. Г. Круглик<sup>2</sup>, В. Г. Спиридонов<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Институт разведения и генетики животных имени М. В. Зубца НААН

<sup>2</sup>Украинская лаборатория качества и безопасности продукции АПК

[dzitsiuk@yandex.ua](mailto:dzitsiuk@yandex.ua)

*Исследован уровень генетического полиморфизма пяти микросателлитных локусов у собак породы русский той-терьер, разводимых в Украине. Выявлены разные значения показателей полиморфности каждого локуса и редкие аллели. Исключение случайного совпадения аллелей на уровне 99,8% дают возможность использования полученной популяционно-генетической информации для подтверждения происхождения, индивидуальной идентификации и породной паспортизации собак.*

**Ключевые слова:** собаки, ДНК-маркеры, микросателлиты, той-терьер, полиморфизм, аллель, локус

**Вступ.** Досягнення в області молекулярної генетики створили передумови для використання молекулярних маркерів у селекції тварин [1]. Не стали виключенням у цьому відношенні і різні породи собак. Літературні дані, що є нині, свідчать про широке застосування ДНК-маркерів для вивчення рівня генетичної мінливості різних порід собак, а також для їх паспортизації і підтвердження достовірності походження [2]. З цією метою у кінології використовують дослідження мікросателітних ділянок ДНК відповідно до стандартів і методик Міжнародного Товариства Вивчення Генетики Тварин (ISAG) та за рекомендаціями АКС (American Kennel Club).

Такі дослідження стали стандартним інструментом для перевірки походження та ідентифікації кращих представників порід собак у багатьох країнах, ДНК профілі яких занесені у міжнародні бази даних, однак в Україні метод ще не набув широкого поширення для створення єдиної генетичної бази даних для собак.

Протягом останніх років генетичні дослідження активно проводяться на базі відділу молекулярно-діагностичних досліджень Української лабораторії якості та безпеки продукції АПК, де науковцями відділу здійснюється генетична експертиза походження та підтвердження батьківства різних сільськогосподарських тварин (коні, ВРХ, свині, риби, собаки і т.д.) за допомогою ДНК-маркерів [9].

Метою наших досліджень є оцінка мікросателітних локусів ДНК для перевірки спорідненості та ідентифікації окремих вибірок собак від різних вітчизняних заводчиків, зокрема собак породи російський той-тер'єр, для їх паспортизації та створення єдиної генетичної бази даних в Україні, для ведення ефективної селекції та збереження біорізноманіття.

Порода собак російський той-тер'єр (рис. 1) належить до групи декоративних собак і є однією із найменших у світі. Тварини дружелюбного норову, не бояться холоду і мають відмінні сторожові якості. Масть собак – чорно-підпала, коричнево-підпала, голубо-підпала, а також руда любого відтінку з коричневим напливом або без нього. Для тварин цієї породи характерні висота в холці 20–28 см, маса до 3 кг, великі стоячі вуха, прикрашені густою бахромою з довгої шовковистої шерсті. Собаки цієї породи легко піддаються дресуванню. В генетичному плані порода російський той-тер'єр вивчена мало. Дослідження мікросателітних послідовностей ДНК дозволяє проаналізувати набір алелів, який унікально диференціює дану групу генетично однорідних особин від інших.



Рис. 1. Собаки породи російський той-тер'єр

**Матеріали і методи досліджень.** У дослідження включені 22 собаки породи російський той-тер'єр. Для аналізу використали клітини буккального епітелію, які відбирали зіскобом слизової оболонки ротової прожнини тварин. Зразки інкубували протягом 3 годин з додаванням протеїназного буферу та протеїнази К при температурі 65°C. ДНК виділяли за

допомогою набору реактивів «ДНК-сорб В» («Амплісенс», Росія), згідно з інструкцією виробника.

Для генетичного аналізу використано п'ять мікросателітних локусів: PEZ1, PEZ6, PEZ8, які рекомендовані American Kennel Club та FHC 2010, FHC2054 з метою генотипування собак (табл. 1) [3]. Дизайн олігонуклеотидних праймерів та флуорисцентно мічених зондів для ДНК-маркерів собак для досліджень підбирались за допомогою програми Primer Express (Applied Biosystems).

### 1. Характеристика відібраних праймерів для ПЛР

Локус	№ алелів	Нуклеотидна послідовність праймера	Повтор	Розмір алелів, п.н	Флуоресцентна мітка
PEZ1	9	GGCTGTCACTTTTCCCTTTC ACCACAATCTCTCATAAATAC	TATG	92-136	FAM
PEZ3	7	CACTTCTCATACCCAGACTC CAATATGTCAACTATACTTC	AAG	95-154	FAM
PEZ6	12	ATGAGCACTGGGTGTTATAC ACACAATTGCATTGTCAAAC	AAAT	164-212	FAM
PEZ8	9	TATCGACTTTATCACTGTGG ATGGAGCCTCATGTCTCATC	AAAT	221-257	FAM
FHC201	11	AAATGGAACAGTTGAGCATGC CCCCTTACAGCTTCATTTCC	ATGA	208-260	FAM
FHC205	11	GCCTTATTCATTGCAGTTAGGG ATGCTGAGTTTTGAACTTTCCC	GATA	141-181	FAM

Полімеразну ланцюгову реакцію проводили у термоциклері Applied Biosystems 2720 (Applied Biosystem, США). Ампліфікат денатурували формамідом (Sigma, США) та розділяли за допомогою капілярного електрофорезу на генетичному аналізаторі «ABI Prism 3130» Genetic Analyzer (Applied Biosystem, США) згідно з рекомендаційним протоколом виробника. Для визначення розміру ампліфікованих фрагментів використовували внутрішній стандарт GeneScan-350-ROX (Applied Biosystem, США). Аналіз результатів проводили у програмі «Gene Mapper 3.7» (Applied Biosystem, США).

Популяційно-генетичну обробку результатів здійснювали за допомогою програмного забезпечення Excel 2010, а також математично-статистичних програм CERVUS 3.0.3 і PowerStatV12 (Promega), зокрема визначали індекси теоретично очікуваної (He) та фактичної (Ho) гетерозиготності, індекс поліморфізму (PIC) і вірогідність виключення випадкового збігу алелів (PE), кількість алелів на локус (Na) визначали прямим підрахунком отриманих результатів.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Методом фрагментарного аналізу мікросателітних локусів ДНК собак з детекцією результатів через капілярний електрофорез виявили існування індивідуальних і породних відмінностей собак породи російський той-тер'єр. Всі п'ять локусів (PEZ1, PEZ6, PEZ8, FHC2054, FHC2010) були поліморфні, і це дало можливість встановити генетичну структуру дослідженої мікропопуляції.

В мікропопуляції собак породи російський той-тер'єр за п'ятьма мікросателітними локусами встановлено профіль розміром від 100 до 202 пар нуклеотидів (табл. 2).

Для зручності обрахунків статистичних та аналітичних даних, нами було прийнято рішення: цифрові результати алельних варіантів перевести у букви англійського алфавіту з урахуванням нуклеотидного повтору по кожному локусу.

Загальна кількість виявлених алелів (Na) у вибірці за п'ятьма дослідженими локусами становила 40 алелів. Найбільшу кількість алелів (11) виявлено за локусом PEZ6, мінімальне число алелів ( 6) виявили у локусу FHC2010.

**2. Характеристика частот алелів за обраними мікросателітними локусами у собак породи російський той тер'єр (n=22)**

Локус	Na	Алель (частота)										
		J (0,275)	J (0,050)	L (0,300)	L (0,100)	M (0,125)	M (0,050)	N (0,025)	P (0,025)			
PEZ1	8											
PEZ8	7	H (0,150)	H (0,125)	I (0,325)	J (0,100)	K (0,050)	M (0,050)	N (0,200)				
FHC2010	6	K (0,125)	K (0,025)	L (0,175)	L (0,025)	N (0,575)	O (0,075)					
PEZ6	11	I (0,125)	J (0,175)	J (0,100)	K (0,150)	L (0,050)	M (0,075)	M (0,025)	N (0,025)	O (0,025)	P (0,150)	P (0,100)
FHC2054	8	J (0,225)	J (0,100)	K (0,125)	M (0,150)	M (0,050)	N (0,025)	N (0,150)	O (0,175)			

Найінформативніший у дослідженні даної мікропопуляції є локус FHC2010, оскільки у ньому алель N зустрічається з частотою 0,575. Найменшу частоту у російських той-тер'єрів (0,025) виявили у шести алелів – P у локусі PEZ1, J і M у локусі FHC2010 та M, N, O у локусі PEZ6.

Середнє число алелів на локус у вибірці російських той-тер'єрів встановлено 8,2. За результатами досліджень Slaska et al. (2008) [4], цей показник у собак породи хорт становив 2,5 алелі/локус, у лабрадорів – 3,3, у німецької вівчарки – 3,3 та у такси – 5,6 алелів на локус.

На основі аналізу профілю алелів і їх частоти у вибірці російського той-тер'єра виявлено типові та рідкісні алелі. Алелі, частоти яких зустрічаються рідше  $q < 0,05$  (тобто їх частота становить менше 0,05), є найбільш інформативними. За такою класифікацією алелів у даній вибірці до рідкісних алельних варіантів належать алелі локусів: PEZ1 (N,P) та PEZ6 (N,O), а до типових (J, J, L, L, M, M), PEZ8 (H, H, I, J, K, M, N), FHC2010 (K, L, M, O), PEZ6 (I, J, J, K, K, L, L, M, M, P, P), FHC 2054 J, J, K, M, M, N, N, O).

**3. Типові і рідкісні алелі мікросателітних локусів ДНК у собак породи російський той тер'єр (n=22)**

Локус	Типові алелі $p > 0,05$	Рідкісні алелі $q < 0,05$
PEZ1	J, J, L, L, M, M	N, P
PEZ8	H, H, I, J, K, M, N	-
PEZ6	I, J, J, K, L, M, P, P	N, O
FHC2010	K, L, M, O	-
FHC2054	J, J, K, M, M, N, O	-

Розраховані параметри гетерозиготності – показники Hobs і Hexp свідчать про те, що досліджена мікропопуляція, в цілому, виявляє тенденцію до гомозиготного стану, оскільки фактична гетерозиготність є меншою за очікувану (табл. 3), при цьому така тенденція спостерігається за всіма локусами. Аналіз даних таблиці показує, що серед п'яти вивчених локусів у той-тер'єрів локус PEZ1 відрізняється близьким до рівноваги розподілом, а локуси PEZ8, FHC2054 характеризуються зміщенням рівноваги в сторону недостачі гетерозигот.

**4. Кількість алелів (Na), фактична (Hobs) та теоретична гетерозиготність (Hexp), індекс поліморфізму (PIC) та вірогідність виключення випадкового збігу алелів (PE) мікросателітних маркерів собак породи російський той тер'єр**

Маркери	російський той тер'єр				
	Na	Hobs	Hexp	PIC	PE
PEZ1	8	0,800	0,821	0,774	1,000
PEZ6	11	0,800	0,901	0,866	0,606
PEZ8	7	0,500	0,822	0,775	0,745
FHC2010	6	0,600	0,632	0,580	1,000
FHC2054	8	0,750	0,867	0,826	1,000
Середнє значення	8	0,690	0,808	0,764	0,870

Індекс поліморфізму (PIC) був уведений для аналізу поліморфізму у роботі Botstein et al. (1980) [2] з метою визначення інформативності мікросателітного маркера.

Розраховані індекси поліморфізму (PIC) свідчать, що вибірка тварин, що досліджується, характеризуються високим рівнем поліморфізму, який коливається в межах від 0,580 за локусом FHC2010 до 0,866 за локусом PEZ6.

Помірно інформативним вважається маркер, у якого значення PIC менше 0,50. У вибірці російського той-тер'єра таких маркерів немає: у всіх маркерів значення PIC більше 0,50. Високий рівень поліморфізму локусу PEZ8 узгоджується з результатами, отриманими De Nise S. et al. [5], де наводиться інформація, що саме цей локус був найінформативнішим у популяції з 9561 собаки, які представляли 108 порід, а найменш інформативним виявився локус FHC2010, що цілком узгоджується з нашими дослідженнями. Аналогічні результати отримані і Volkel et al. [6], Zenke [7].

У дослідженій мікропопуляції собак породи російський той-тер'єр вірогідність виключення випадкового збігу алелів (PE) в середньому становила 0,870 з лімітами від 0,606 до 1,000.

Так, у аналогічних дослідженнях, проведених Pribanova [8] для визначення поліморфізму мікросателітних локусів у популяції югославської вівчарки, комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (CPE) дорівнювала 1,000, тобто становила 100%, що є підтвердженням високої достовірності одержаних даних.

**Висновки.** Таким чином, на основі проведених досліджень встановлено поліморфізм мікросателітних локусів ДНК у собак породи російський той-тер'єр, що є важливим для визначення породних особливостей собак. Такі дослідження створюють підґрунтя для ефективного використання обраних маркерів системи для вирішення практичних завдань собаководства – ідентифікації окремих особин, генетичної паспортизації порід та рівня їх генетичної мінливості.

## БІБЛІОГРАФІЯ

1. Wayne, R. K. Evolutionary genomics of dog domestication / R. K. Wayne, B. M. Holdt // Mamm. Genome. – 2012. – Vol. 23. – № 1–2. – P. 3–18.
2. Wayne, R. K. Origin, genetic diversity and genome structure of domestic dog / R. K. Wayne, E. A. Ostrander // Bio Essays. – 1999. – Vol. 21. – P. 247–257.
3. Cho, G. J. Microsatellite Polymorphism and Genetic Relationship in Dog Breeds in Korea / G. J. Cho // Asian-Aust. J. Anim. Sci. – 2005. – Vol. 18. – N. 8. – P. 1071–1074.
4. Genetic variability and linkage of selected microsatellite markers in the Chinese raccoon dog / B. Slaska, G. Jezewska, G. Zieba, M. Pierzchala // Arch. Tierz., Dummerstorf. – 2008. – Vol. 51. – No 2. – P. 187–198.
5. Power of exclusion for parentage verification and probability of match for identity in American kennel club breeds using 17 canine microsatellite markers / S. De Nise, E. Johnston, J. Halverson, K. Marshall, D. Rosenfeld, S. McKenna, T. Shap, J. Edwards // Anim. Genet. – 2004. – 35. – P. 14–17.
6. Volkel, I. Breed identification in *Canis familiaris*: Various approaches based on molecular genetic studies / I. Volkel // PhD Diss. Hannover, Germany, Tierärztlichen Hochschule. – 2005. – 153 p. Available at: University electronic library. [http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/voelkeli\\_ws05.pdf](http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/voelkeli_ws05.pdf)
7. Population genetic study in Hungarian canine populations using forensically informative STR loci / P. Zenke, B. Egyed, L. Zoldag, Z. Padar // Forensic Sci. Int.-Gen. – 2011. – Vol. 31. – N. 5. – P. 31–36
8. Analysis of genetic variability in the Czech Dachshund population using microsatellite markers / M. Pribanova, P. Horak, D. Schroffelova, T. Urban, R. Bechynova, L. J. Musilova // Anim. Breed. Genet. – 2009. – N. 126. – P. 311–318.

## PEFERENCES

1. Wayne, R. K., and B. M. Holdt. 2012. Evolutionary genomics of dog domestication. *Mamm. Genome*. 23(1–2):3–18.
2. Wayne, R. K., and E. A. Ostrander. 1999. Origin, genetic diversity and genome structure of domestic dog. *BioEssays*. 21:247–257.
3. Cho, G. J. 2005. Microsatellite Polymorphism and Genetic Relationship in Dog Breeds in Korea. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 18(8):1071–1074
4. Slaska, B., G. Jezewska, G. Zieba, and M. Pierzchala. 2008. Genetic variability and linkage of selected microsatellite markers in the Chinese raccoon dog. *Arch. Tierz., Dummerstorf*. 51(2):187–198.
5. De Nise, S., E. Johnston, J. Halverson, K. Marshall, D. Rosenfeld, S. McKenna, T. Shap, and J. Edwards. 2004. Power of exclusion for parentage verification and probability of match for identity in American kennel club breeds using 17 canine microsatellite markers. *Anim. Genet.* 35:14–17.
6. Volkel, I. 2005. Breed identification in *Canis familiaris*: Various approaches based on molecular genetic studies. *PhD Diss. Hannover, Germany, Tierärztlichen Hochschule*. 153. Available at: University electronic library. [http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/voelkeli\\_ws05.pdf](http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/voelkeli_ws05.pdf)
7. Zenke, P., B. Egyed, L. Zoldag, and Z. Padar. 2011. Population genetic study in Hungarian canine populations using forensically informative STR loci. *Forensic Sci. Int.-Gen.* 31 (5): 31–36.
8. Pribanova, M., P. Horak, D. Schroffelova, T. Urban, R. Bechynova, L. Musilova. 2009. Analysis of genetic variability in the Czech Dachshund population using microsatellite markers. *J. Anim. Breed. Genet.* 126:311–318.



УДК 639.3:639.3.043

## НУТРИГЕНОМІКА ТА ЇЇ ПЕРСПЕКТИВИ У РИБНИЦЬКІЙ ГАЛУЗІ

**В. П. МАРЦЕНЮК**

*Вінницький національний аграрний університет (Вінниця, Україна)*  
*mvp@vnsau.vin.ua*

*Нутригеноміка аналізує вплив нутрієнтів на геном, протеом і метаболом. Мета нутригеноміки зрозуміти, яким чином раціон впливає на розвиток організму, підтримку імунітету та стану здоров'я тощо. Таким чином, нутригеноміка відноситься до досліджень, які вивчають взаємодію між харчуванням і геномом. Підходи нутригеноміки чітко формують інноваційні засади щодо визначення інгредієнтів кормів. Ця область забезпечує вискоєфективні технології, що дозволяють удосконалювати і модифікувати біологічно активні сполуки, які в свою чергу більш точно орієнтуються на конкретні захворювання або поліпшення стану здоров'я риб, що безпосередньо впливає на якість рибної продукції.*

*Ключові слова:* нутригеноміка, «omics», годівля риб, геноміка риб, експресія генів

**NUTRIGENOMICS AND ITS PROSPECTS FOR FISH-BREEDING**

**V. P. Martsenyuk**

*Vinnitsia National Agrarian University (Vinnitsia, Ukraine)*  
*mvp@vnsau.vin.ua*