

**ПОЛІМОРФІЗМ МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДНК У ТВАРИН СІРОЇ УКРАЇНСЬКОЇ
ТА УКРАЇНСЬКОЇ БІЛОГОЛОВОЇ ПОРІД ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ**

Ю. В. Подоба, завідувач сектору генетичного моніторингу
Інститут розведення і генетики тварин НААН

*Проведено порівняльний аналіз послідовностей мітохондріального геному сірої української та української білоголової порід великої рогатої худоби (*Bos taurus*) із світового генетичного банку. Аналіз доступних 10-ти сиквенсів мтДНК української білоголової породи та 9-ти сиквенсів мтДНК сірої української породи дозволив розподілити їх за приналежністю до європейської, африканської та азійської гаплогруп.*

Ключові слова: *Bos taurus*, сіра українська, українська білоголова, мтДНК, гаплогрупа, SNP.

Реалізація програм збереження генофонду тварин передбачає розробку і застосування системи генетичного моніторингу, за допомогою якої відстежують межі внутріпопуляційних генних потоків [1, 2]. При збереженні генетичного різноманіття основне завдання полягає в тому, щоб не втратити специфічні генні комплекси, які обумовлюють фенотипові породні та індивідуальні характеристики, пов'язані з екстер'єрними особливостями, продуктивністю, життєздатністю, резистентністю тварин [4].

В якості об'єкта контролю при збереженні порід різних видів сільськогосподарських тварин виступають внутрішньо- і міжпородна генетична різноманітність, здійснюється оцінка та прогнозування її динаміки, визначається оптимум і межі допустимих змін. Генетичний поліморфізм (структурних генів, полілокусних послідовностей ДНК, хромосомних і геномних мутацій) характеризує генетичну структуру породи, що береться за основу при збереженні генофонду рідкісних та зникаючих порід.

В останні роки в пошуках поліморфних молекулярно-генетичних маркерів все ширше стала використовуватися мітохондріальна ДНК (мтДНК). Поліморфні варіанти мтДНК можуть служити базою для оцінки ролі цитоплазматичного фактора у формуванні продуктивних характеристик. Варіації в структурі мтДНК можуть впливати на рівень енергетичного метаболізму, рівень якого корелює з продуктивністю тварин та їх відтворною здатністю. Материнський цитоплазматичний ефект, пов'язаний з материнським успадкуванням мтДНК, впливає на молочну продуктивність, вміст жиру і білка в молоці.

Швидкість мутування мтДНК у 5-10 разів вища за ядерну і становить 10⁻⁹ п.н. за 1 млн років [8]. Найбільша кількість однонуклеотидних замін (переважно транзицій) спостерігається у гіперваріабельних районах некодуєчої послідовності, яка є найбільш дивергентною частиною мітохондріального геному. МтДНК має унікальні властивості: суворе успадкування за материнською лінією, високу швидкість накопичення мутацій і відсутність рекомбінацій, велику кількість копій молекул мтДНК в клітинах, що дозволяє використовувати дані про поліморфізм мтДНК для філогене-

тичного аналізу, дослідження з походження і підтвердження батьківства за материнською лінією, маркування породних і внутрішньопородних особливостей тварин [3]. Гаплоїдність і материнський характер успадкування у поєднанні з наявністю високополіморфних ділянок надають унікальну перевагу використання маркованих характеристик мтДНК для генетичної ідентифікації особин в рамках материнських сімейств на основі подібності гаплотипу будь-яких родичів по материнській лінії [8, 11]. Індивідууми всередині виду, що походять від різних матерів, є генетично ізольованими один від одного щодо мтДНК навіть у тому випадку, коли вони є членами перехресованих популяцій.

Існує істотна різниця у особливостях виникнення поліморфізму ядерного і мітохондріального геному. У диплоїдному ядерному геномі поліморфні варіанти поширюються в популяції через кросинговер між генами в процесі мейозу, в той час як у мітохондріях поліморфізм виникає шляхом клонального відбору мутантів [10].

Мітохондріальний геном великої рогатої худоби представлений кільцевою дволанцюговою ДНК розміром 16337-16341 п.н. У ссавців мітохондріальна ДНК (мтДНК) складає 1% сумарної ДНК і кодує дві субодиниці рибосомальної РНК, 22 транспортні РНК і до 30-ти мітохондріальних білків, переважно ферментів окисного фосфорилювання дихального циклу. МтДНК має некодуєчу послідовність приблизно 910 п.н., так звану D-петлю (D-loop), яка знаходиться між генами тРНК фенілаланіну та проліну, і контролює реплікацію мтДНК.

Гіперваріабельний регіон D-петлі, який виконує регуляторні функції, є найбільш оптимальною областю пошуку. Інтерес дослідників у галузі популяційної та еволюційної генетики до цього регіону мтДНК обумовлений, насамперед, високою швидкістю накопичення мутацій, внаслідок чого є можливість пошуку специфічних маркерів материнських ліній мтДНК для дослідження питань про походження і диференціації популяцій тварин.

У мітохондріальній ДНК головний некодуєчий регіон поділяють на 3 домена: правий домен (R), що містить ділянку початку реплікації ОН,

центральний домен (С) і лівий домен (L). Співставлення Д-петлі великої рогатої худоби з мтДНК інших видів дозволяє зробити висновок, що більш консервативний центральний домен може бути використаний як молекулярний годинник, а лівий і правий периферичні домени - для виявлення дивергенції [6,8].

Аналіз гіперваріабельної послідовності Д-петлі мітохондріальної ДНК (мтДНК) дозволив встановити два центри доместикиції і два диких предка сучасної великої рогатої худоби [11]. Перший розташовується на Близькому Сході, де був одомашнений предок європейської худоби *Bos taurus*. Другий знаходиться на території сучасного Пакистану, де був одомашнений зебу *Bos indicus*. За даними філогенетичного аналізу, дикі предки цих двох груп порід ВРХ розійшлися 200-1000 тис. років тому, тобто задовго до доместикиції (8-10 тис. років тому). Всі породи європейської худоби відносяться до виду *Bos taurus*. Більш детальний аналіз походження європейської худоби (більше 400 тварин 34 порід і археологічні зразки туру) показав, що найбільша різноманітність типів мтДНК відзначається на Близькому Сході [15]. Автори зробили висновок, що худоба Європи має не місцеве походження, а бере початок від доместикованої в епоху неоліту худоби Близького Сходу. У міру розселення худоби з центру походження на північний захід генофонд популяції збіднюється.

У великої рогатої худоби на сьогодні у світовій літературі описані 5 мітохондріальних гаплогруп *Bos taurus* T1, T1a (африканська); T2 (західноазіатська); T3 (європейська), T4 (східноазіатська), T5 (Італія, Ірак); Q (італійські аборигенні по-

роди); AA (Creole), які відрізняються за характерними для кожної гаплогрупи одонуклеотидними замінами у визначених положеннях мтДНК [5, 9, 12, 13, 14, 15]. Окремо виділяють гаплогрупу *Bos indicus*. Безперечний інтерес подібні дослідження представляють з огляду на те, що відомості про різноманітність порід великої рогатої худоби України за мтДНК в літературі відсутні.

Матеріали і методи

Секвеновані послідовності мітохондріальної ДНК від тварин великої рогатої худоби (*Bos taurus*) порід української сірої та української білоголової було отримано у вільному доступі з світового генетичного банку (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>).

Локальне вирівнювання послідовностей мітохондріального геному для різних порід великої рогатої худоби проводили із використанням програми MEGA 4.0. Для виявлення нуклеотидних заміни використали сиквенс мітохондріальної ДНК *Bos taurus* геррефордської породи (Anderson S. et al., 1982) як референтний (номер доступу V00645).

Результати і оговорення

Проведено вирівнювання та аналіз послідовностей мітохондріального геному для різних порід великої рогатої худоби (*Bos taurus*) із світового генетичного банку. В результаті вирівнювання доступних сиквенсів мтДНК різних порід великої рогатої худоби встановлені одонуклеотидні заміни (транзиції, транзакції, делеції), що характеризують приналежність мтДНК тварини до визначених гаплогруп, а також надають можливість за мтДНК провести диференціацію тварин у межах досліджених порід (рис.1).

```

[
[
[
[
#Bos_taurus_V00654.1(2)
#Ukrainian_grey_GQ129208.1
#Hungarian_Grey_GQ129207.1
#Holstein-Friesian_DQ124418.1
#Holstein-Friesian_DQ124417.1
#Holstein-Friesian_DQ124416.1
#Angus_AY676873.1
#Angus_AY676872.1
#Angus_AY676871.1
#Charolais_AY676861.1
#Charolais_AY676858.1
#Limusin_AY676856.1
#Simmental_AY676855.1
[
[
[
[
1111111111 1111111111 111111
11234 4566789999 0222233334 4555666666 66666]
1133301537 9157091677 5001836790 8255000011 11123]
6656693425 0683024938 8266019707 5818357903 34411]
6945757410 9418242076 4966987871 5187000310 93941]
AAC-CGGCTT TGGTGCCGGG GTTTGAGCCC AGCGGTATGT TTTCG
..G-...A.. .....TC.. ...C.C.... .....
G..CG..A.C .....C.. .....C.... .....C.. C....
...-...A.. .....C.. ...C.C.... ..T..C..A. ....
...-...A.. .....C.C.T ...C.C.... .....C..A. ....
.G.C-...A.. ..A.C..C.. .....C....T .....
.G.G-...A.. .....T.C.. ...AC.... ...A....C .C...
...-...A.. C.....C.. A.C..C.... .....C....
.G.C-..AA.. .A.....C.. .....CA.T. ....
.G.C...A.. .A.....C.. .....CA.T. ....
...-..A.AC. ....CA. .C...C.T.. .A...G...
.G.C-...A.. ...C...C.. .....C.... G..A..... ..T.
.G.C-...A.. ...C...C.. .....C.... G..A..... ..T.

```

Рис.1. Одонуклеотидний поліморфізм мітохондріальної ДНК у тварин великої рогатої худоби.

Дослідження поліморфізму гіперваріабельного регіону Д-петлі, який виконує регуляторні функції, надають інформацію для популяційної та еволюційної генетики. Аналіз одонуклеотидних замін у гіперваріабельному районі мтДНК тварин

української білоголової породи показав (рис.2), що серед 10-ти представлених генотипів 3 (FJ014303, FJ014298, FJ014294) відносяться до гаплогрупи T1a африканського походження мтДНК, для якої характерна заміна Т на С в по-

зиції 16255. Також встановлені дві тварини (FJ014301, FJ014295), однонуклеотидні заміни

мтДНК якої характерні для *Bos indicus*.

```
[
[
[
[
[
#Bos_taurus_V00654.1
#Ukrainian_Whitehead_FJ014303.1
#Ukrainian_Whitehead_FJ014302.1
#Ukrainian_Whitehead_FJ014301.1
#Ukrainian_Whitehead_FJ014300.1
#Ukrainian_Whitehead_FJ014299.1
#Ukrainian_Whitehead_FJ014298.1
#Ukrainian_Whitehead_FJ014297.1
#Ukrainian_Whitehead_FJ014296.1
#Ukrainian_Whitehead_FJ014295.1
#Ukrainian_Whitehead_FJ014294.1
1111111111 1111111111 1111111111
6666666666 6666666666 6666666666
0000000001 1111111111 1112222222
2445578890 0111122333 489334445]
2297842442 9367912078 75602895]
GTCTGCTGCTG TTTGTGTTTT TGGACCCCT
...C..... .....A.....C
.....T.....
A.TATCAT.A CCCACACCCC C.AG.TT.
.....
.....T.....
...C..... .....A.....C
.....C.....C.....T...
.C..T..... .....T...
A.TATCAT.A CCCACACCCC C.AG.TT.
...C..... .....A..TT.C
```

Рис.2. Однонуклеотидний поліморфізм гіперваріабельного району мтДНК у тварин української білоголової породи.

Серед 9-ти генотипів мтДНК сірої української худоби (рис.3) одна тварина (GQ129208) має га-

плотип *Bos indicus*, решта відноситься до гаплогрупи T1 європейського походження.

```
[
[
[
[
[
#Bos_taurus_V00654.1
#Hungarian_Grey_GQ129207.1
#Ukrainian_grey_GQ129208.1
#Ukrainian_Grey_FJ014293.1
#Ukrainian_Grey_FJ014292.1
#Ukrainian_Grey_FJ014291.1
#Ukrainian_Grey_FJ014290.1
#Ukrainian_Grey_FJ014289.1
#Ukrainian_Grey_FJ014288.1
#Ukrainian_Grey_FJ014287.1
#Ukrainian_Grey_FJ014286.1
1111 ]
24992366 ]
1357161301 ]
6534386183 ]
6395751384 ]
ACCTCGTATT
G.AC.C.CCC
.GA.TCCC..
-----..
-----..
-----..
-----..
-----..
-----..
-----..
-----..
-----..
-----..
-----..
```

Рис. 3 Однонуклеотидний поліморфізм гіперваріабельного району мтДНК у тварин сірої української породи.

Аналіз однонуклеотидних заміни у гіперваріабельному районі мтДНК української білоголової та сірої української порід великої рогатої худоби показав приналежність більшості тварин до європейської гаплогрупи T3. Результати аналізу показують ідентичність характеру розщеплення мтДНК помісних і чистопородних тварин і узгоджуються з материнським типом успадкування мітохондріального геному. Подібність гаплотипів

вихідних чистопородних і помісних тварин підкреслює збереження інтактною материнської основи при міжпородних схрещуваннях у гібридів в ряду поколінь, що впливає на оцінку генетичної гетерогенності. За будь-яких значень ступенів кровності характер енергетичного метаболізму у отриманих тварин визначається особливостями мітохондріального геному, успадкованого від матері.

Список використаної літератури:

1. Генетико-селекційний моніторинг у м'ясному скотарстві / [Зубець М. В., Буркат В. П., Мельник О. Ф. та ін.] ; за ред. М.В. Зубця. — К. : Аграрна наука, 2000. — 187 с.
2. Генетико-селекційний моніторинг у молочному скотарстві / [Зубець М. В., Буркат В. П., Сфіменко М. Я. та ін.] ; наук. ред. В. П. Бурката. — К. : Аграрна наука, 1999. — 88 с.
3. Почерняев К.Ф., Гетья А.А. Установлення породності свиней з використанням поліморфізму мітохондріального геному. Розведення і генетика тварин 2007. Вип.41. - С.233-239.
4. Столповский Ю. А. Концепция и принципы генетического мониторинга для сохранения *in situ* пород domestизированных животных / Ю. А. Столповский // Сельскохозяйственная биология. — 2010.

— № 6. — С. 3—8.

5. Achilli A., Olivieri A., Pellecchia M. et al. Mitochondrial genomes of extinct aurochs survive in domestic cattle // *Current Biology*. - 2008. - V.18. - P. 157–158.

6. Avise J. C., Arnold J., Ball R. M., Bermingham E., Lamb T., Neigel J. E. et al. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics // *Annu. Rev. Ecol. Syst.* - 1987. - V.18. - P.489-522.

7. Anderson S., De Bruijn M.H., Coulson A.R., et al. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA. Conserved features of the mammalian mitochondrial genome // *Journal of Molecular Biology*. - 1982. - V.156. - P. 683–717.

8. Cymbron T., Loftus R.T., Malheiro M.I., Bradley D.G. Mitochondrial sequence variation suggests an African influence in Portuguese cattle // *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological sciences*. - 1999. - V.266. - P. 597–603.

9. Ginja C., Penedo C.T., Melucci L. et al. Origins and genetic diversity of New World Creole cattle: inferences from mitochondrial and Y chromosome polymorphisms // *Animal Genetics*. - 2010. - V. 41, № 2. - P. 128–141.

10. Kantanen J., Edwards C.J., Bradley D.G. et al. Maternal and paternal genealogy of Eurasian taurine cattle (*Bos taurus*) // *Heredity*. - 2009. V.103. - P.404–415.

11. Loftus R.T., MacHugh D.E., Bradley D.G. et al. Evidence for two independent domestications of cattle // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 1994. - V.91. - P.2757–2761.

12. Lai S.J., Liu Y.P., Liu Y.X. et al. Genetic diversity and origin of Chinese cattle revealed by mtDNA D-loop sequence variation // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. - 2006. - V.38. - P.146–154.

13. Mannen H., Kohno M., Nagata Y. et al. Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in North Eastern Asian cattle // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. - 2004. - V.32. - P. 539–544.

14. Miretti M.M., Pereira H.A., Jr. Poli M.A. et al. African-derived mitochondria in South American native cattle breeds (*Bos taurus*): evidence of a new taurine mitochondrial lineage // *Journal of Heredity*. - 2002. - V.93. - P.323–330.

15. Troy C.S., MacHugh D.E., Bailey J.F. et al. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle // *Nature*. - 2001. - V.410. - P.1088–1091.

Проведен сравнительний аналіз послідовностей митохондриального генома серої української та української білокочанної породи крупного рогатого скота (Bos taurus) з мирового генетического банку. Аналіз доступних 10-ти сиквенсів мтДНК української білоголової породи та 9-ти сиквенсів мтДНК серої української породи дозволило розподілити їх за належності до європейської, африканської та азійської гаплогруп.

Ключевые слова: *Bos taurus*, серая украинская, украинская белоголовая, мтДНК, гаплогруппа, SNP.

A comparative analysis of the mitochondrial genome sequences of Ukrainian Gray and Ukrainian Whitehead cattle breeds (Bos taurus) with global genetic bank. Analysis of the available 10 mtDNA sequences Ukrainian Whitehead breed and 9 mtDNA sequences Ukrainian Gray breed allowed to distribute them as belonging to the European, African and Asian haplogroups.

Keywords: *Bos taurus*, Ukrainian Gray, Ukrainian Whitehead, mtDNA, haplogroups, SNP.

Дата надходження в редакцію: 25.03.2013 р.

Рецензент: д.с.-г.н., професор Ю. В. Бондаренко