

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет ТВПШТСБ
Кафедра біотехнології та біоінженерії
Спеціальність 162 – «Біотехнології та біоінженерія»
Ступінь вищої освіти «Магістр»

«Допустити до захисту»

«Рекомендувати до захисту»

Декан _____ Михайло ГИЛЬ

В.о. зав. кафедри _____ Олена КАРАТЄЄВА

« ____ » _____ 2024 р.

« ____ » _____ 2024 р.

БІОІНФОРМАЦІЙНИЙ АНАЛІЗ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА *DGAT1*
ТА ЙОГО ЗВ'ЯЗОК ІЗ ГОСПОДАРСЬКИ ЦІННИМИ ОЗНАКАМИ
***BOS TAURUS* В УМОВАХ ПРОВІДНИХ ПІДПРИЄМСТВ УКРАЇНИ**

04.02. – КР. 111-О 24 09 18. 011

Виконавець:

здобувачка вищої

освіти II курсу _____ Анна ЧЕРНЕНКО

Наукові керівники:

професор _____ Віктор СТАБНИКОВ

професор _____ Сергій КРАМАРЕНКО

Рецензент:

професор _____ Михайло ГИЛЬ

Миколаїв - 2024

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
РЕФЕРАТ	5
ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	10
1.1. Будова та функції білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 та гена <i>DGAT1</i>	10
1.2. Зв'язок генетичних маркерів з молочною продуктивністю великої рогатої худоби	15
1.3. Рівень поліморфізму <i>DGAT1</i> _ехон 8_K232A в стадах молочних порід в Україні	19
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ	21
2.1. Місце та об'єкт дослідження	21
2.2. Методика виконання роботи	25
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	32
3.1. Біоінформаційний аналіз послідовності білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (<i>DGAT1</i>) ратичних	32
3.2. Біоінформаційний аналіз нуклеотидної послідовності mRNA гена <i>DGAT1</i> ратичних	43
3.3. Нуклеотидне різноманіття екзону 8 гена <i>DGAT1 Bos taurus</i>	46
3.4. Генетичний поліморфізм <i>DGAT1</i> _ехон 8_K232A в різних популяціях <i>Bos taurus</i> України	48
3.5. Мета-аналіз зв'язку між поліморфізмом <i>DGAT1</i> _ехон 8_K232A та молочною продуктивністю корів	51

3.6. Економічна частина	56
РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ	58
РОЗДІЛ 5. БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ	61
РОЗДІЛ 6. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	64
ВИСНОВКИ	67
ПРОПОЗИЦІЇ	69
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	70
ДОДАТОК А	76

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

<i>DGAT1</i>	- ген діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1;
<i>DGAT1</i> _exon 8_K232A	- К→А-заміна в положенні 232 білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 <i>Bos taurus</i> ;
mRNA	- матрична (інформаційна) РНК;
QTL	- локуси кількісних ознак;
3'UTR	- 3'- нетрансльована область;
SNP	- однонуклеотидний поліморфізм;
<i>Mean</i> ± <i>SE</i>	- середнє арифметичне та його статистична помилка;
95% CI	- 95% довірчий інтервал;
<i>F_{IS}</i> , <i>F_{IT}</i> , <i>F_{ST}</i>	- F-статистики С.Райта;
<i>h_o</i> , <i>h_e</i>	- фактична та очікувана гетерозиготність.

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота складається з вступу, основної частини, яка представлена трьома розділами (аналіз літературних джерел, матеріалів і методів проведення експериментів, власне експериментального розділу), висновків та пропозицій виробництву. Четвертий, п'ятий та шостий розділи – охорона праці, безпека в надзвичайних ситуаціях та охорона довкілля відповідно. Робота викладена на 80 сторінках і містить 32 рисунка та 10 таблиць. Список використаної літератури складається з 46 джерел, з них 11 іноземними мовами.

Ключові слова: білок діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1, ген *DGAT1*, поліморфізм, молекулярні маркери, *Bos taurus*.

Об'єктом дослідження є результати біоінформаційного аналізу поліморфізму гена *DGAT1* і його зв'язок із господарськи цінними ознаками *Bos taurus*.

Предметом досліджень є процеси формування поліморфізму *DGAT1* екзон 8_K232A *Bos taurus* в умовах господарств України.

Метою даної роботи був аналіз впливу поліморфізму *DGAT1* екзон 8_K232A *Bos taurus* при формуванні господарськи цінних ознак *Bos taurus* в умовах господарств України.

Для виконання поставленої мети визначені такі завдання:

- охарактеризувати будову та функції білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 та гену *DGAT1*;
- провести біоінформаційний аналіз послідовності білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) ратичних;
- провести біоінформаційний аналіз нуклеотидної послідовності mRNA гена *DGAT1* ратичних;
- проаналізувати нуклеотидну структуру екзону 8 гена *DGAT1* *Bos taurus*;

- проаналізувати рівень генетичного поліморфізму *DGAT1*_exon 8_K232A в умовах господарств України;
- провести мета-аналіз зв'язку між поліморфізмом *DGAT1*_exon 8_K232A та вмістом жиру і білка в молоці корів.

Результати роботи та їх новизна:

1. Діацилгліцерол О-ацилтрансфераза 1 (*DGAT1*) – маркер QTL для властивостей виробництва молока, розташований в центромерній області 14 хромосоми *Bos taurus* (BTA14), займає положення 603,035..612,781 пар нуклеотидів та складається з 17 екзонів. Ген *DGAT1* великої рогатої худоби транскрибується в мРНК, що містить 245 п.н. послідовності 5'-нетрансльованої області; 1470 п.н., що кодує білок з 489 амінокислот, і 275 п.н. послідовності 3'-нетрансльованої області, включаючи сигнал поліаденілування AATAAA.

2. Найбільше відрізняються за амінокислотним складом білка *DGAT1* від биків і буйволів види коней (рід *Equus*) і свиня свійська (*Sus scrofa*). Найближчими до биків і буйволів є коза, вівця та вівцебик, хоча свійська коза має деякі особливості в структурі цього білка. Дещо далі від них розташовані оленеві (олені, лані, північний олень).

3. Проаналізовано 12 послідовностей ДНК, що відносилися до екзону 8 гена *DGAT1* *Bos taurus*, в результаті чого було виявлено 7 поліморфних сайтів. Оцінка гаплотипного різноманіття для цих проаналізованих послідовностей склала $Hd = 0,939 \pm 0,058$, а оцінка нуклеотидного різноманіття складала $\pi = 0,00587 \pm 0,00067$. Для гаплотипів 2-7 мала місце одночасно дві заміни $g \rightarrow a$ (10433) та $c \rightarrow a$ (10434), тоді як для гаплотипу 8 відмічається лише одна заміна $g \rightarrow a$ (10433), а для гаплотипу 9 – лише одна заміна $c \rightarrow a$ (10434).

4. Для різних порід худоби України, так і для п'яти популяцій УЧоРМ породи, спостерігається значний надлишок особин із гетерозиготним генотипом (АК). Рівень генетичної міжпородної диференціації був відносно високим ($F_{ST} = +0,065$), тоді як п'ять досліджених популяцій УЧоРМ породи

були дуже гомогенними за частотами генотипів поліморфізму *DGATI*_exon 8_K232A ($F_{ST} = +0,016$).

5. За показником надою за 305 днів генотип АА має суттєву перевагу над КК, що підтверджено статистично значущою різницею ($SMD = 0,42$ [0,03; 0,81]). Генотип АК також демонструє перевагу над КК ($SMD = 0,42$ [0,04; 0,81]).

6. За показником вмісту жиру в молоці генотип КК демонструє суттєво вищий вміст жиру порівняно з АК ($SMD = -1,13$ [-1,53; -0,73]) та АА ($SMD = -1,48$ [-3,27; 0,32]).

Апробація досліджень: результати досліджень було представлено на VII міжнародній науково-практичній конференції «The process and dynamics of the scientific path» (м. Афіни, 2024 р.), з публікацією тез доповіді на тему «Вплив поліморфізму QTL-гену *DGATI* на молочну продуктивність *Bos taurus* та його використання у маркер-опосередкованій селекції (MAS)»

ВСТУП

Актуальність дослідження. Ідентифікація генів та їхніх мутацій, які визначають напрям і ступінь розвитку кількісної ознаки (наприклад, величини надою, середньодобових приростів тварин на відгодівлі, вмісту жиру і білка в молоці, тощо) у країнах з розвиненим тваринництвом забезпечує отримання суттєвих прибутків завдяки швидкому досягненню генетичного прогресу, основними складовими якого є інтенсивність селекції, її точність і скорочення генераційного інтервалу [21].

Генотипування тварин за маркерними алелями, пов'язаними з бажаними господарськоцінними ознаками дозволить проводити селекцію тварин на рівні ДНК, що значно підвищить ефективність ведення селекційної роботи. Перевагою ДНК-діагностики перед оцінюванням ознак за їх фенотиповим проявом є те, що вона базується безпосередньо на аналізі спадкової інформації, яка лежить в основі тієї чи іншої ознаки [25].

Життєво важлива роль *DGAT1* у метаболізмі робить ген найкращим вибором як кандидата на маркер у тваринництві. Зокрема, він відповідає за ряд фізіологічних процесів у вищих еукаріотів, таких як регуляція концентрації триацилгліцеролів у крові, формування жирової тканини, дозрівання ооцитів та ін. Дефіцит *DGAT1* призводить до порушення синтезу жирних кислот у жировій тканині, скелетних м'язах, а також у молочній залозі аж до повної відсутності лактації [23].

Таким чином, *головною метою* даної роботи був аналіз впливу поліморфізму *DGAT1_exon 8_K232A Bos taurus* при формуванні господарськи цінних ознак *Bos taurus* в умовах господарств України.

Для виконання поставленої мети визначені такі *завдання*:

- охарактеризувати будову та функції білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 та гену *DGAT1*;
- провести біоінформаційний аналіз послідовності білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) ратичних;

- провести біоінформаційний аналіз нуклеотидної послідовності *mRNA* гена *DGAT1* ратичних:

- проаналізувати нуклеотидну структуру екзону 8 гена *DGAT1 Bos taurus*;

- проаналізувати рівень генетичного поліморфізму *DGAT1_exon 8_K232A* в умовах господарств України;

- провести мета-аналіз зв'язку між поліморфізмом *DGAT1_exon 8_K232A* та вмістом жиру і білка в молоці корів.

Об'єктом дослідження є результати біоінформаційного аналізу поліморфізму гена *DGAT1* і його зв'язок із господарськи цінними ознаками *Bos taurus*.

Предметом досліджень є процеси формування поліморфізму *DGAT1_exon 8_K232A Bos taurus* в умовах господарств України.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Будова та функції білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 та гена *DGAT1*

Діацилгліцерол О-ацилтрансфераза 1 – трансмембранний білок, який функціонує як ключовий метаболічний фермент. Кодований білок має масу 55,602 Да та каталізує перетворення діацилгліцерину та ацил-КоА як субстратів на триацилгліцерин (рис. 1). Експресія *DGAT1* була підтверджена в тонкому кишечнику, печінці, жировій тканині та молочній залозі [37].

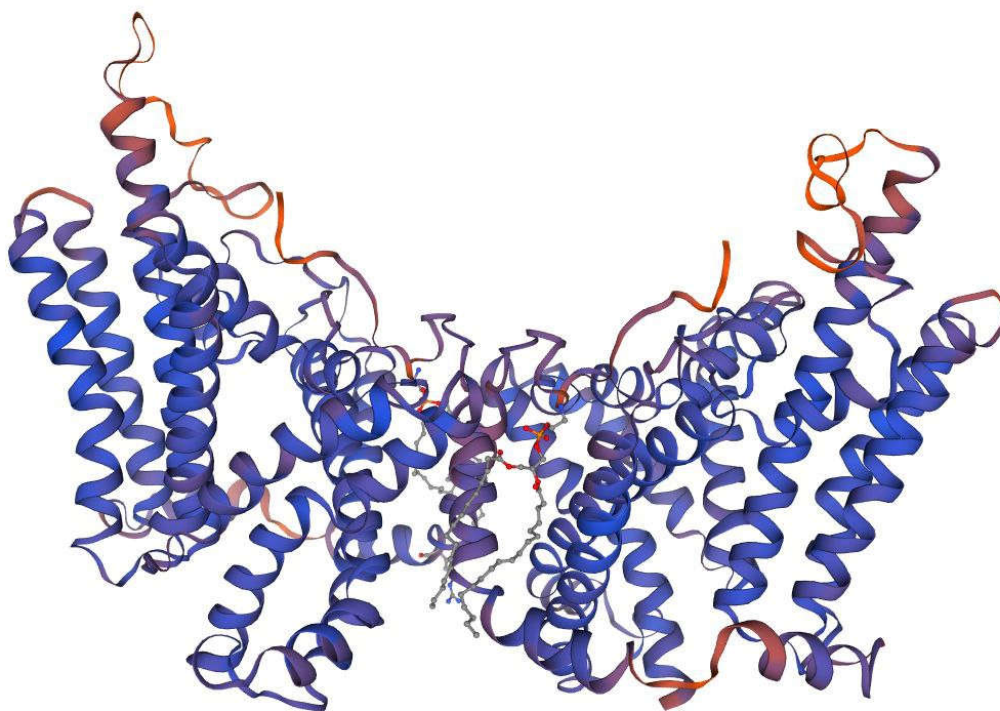


Рис. 1. 3D-модель молекули білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 *Bos taurus* [44]

Діацилгліцерол О-ацилтрансфераза 1 (*DGAT1*) – маркер QTL для властивостей виробництва молока, розташований в центромірній області 14 хромосоми *Bos taurus* (BTA14), займає положення 603,035..612,781 пар

нуклеотидів та складається з 17 екзонів (рис.2). Ген *DGAT1* у буйволів, розташований на хромосомі 15, має розмір 10 733 п.н., розподілених у 19 екзонах.

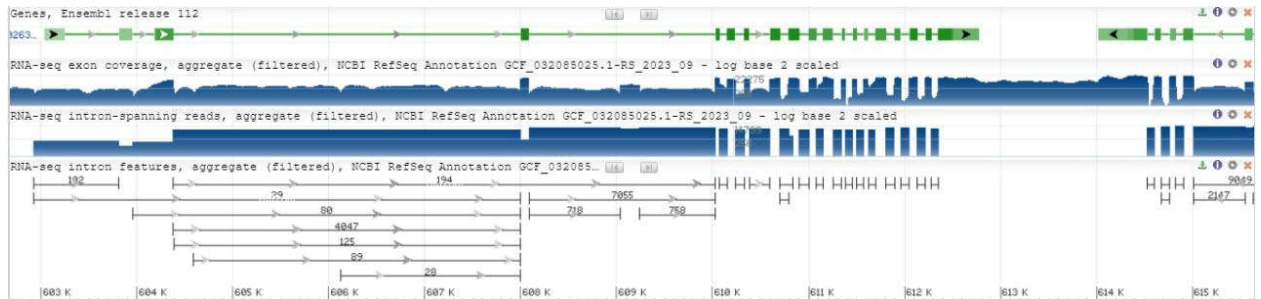


Рис. 2. Схема структури гену діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) *Bos taurus* [46]

Ген *DGAT1* великої рогатої худоби транскрибується в мРНК, що містить 245 п.н. послідовності 5'-нетрансльованої області; 1470 п.н., що кодує білок з 489 амінокислот, і 275 п.н. послідовності 3'-нетрансльованої області, включаючи сигнал поліаденілування ААТААА [45, 36].

Життєво важлива роль *DGAT1* у метаболізмі робить ген найкращим вибором як кандидата на маркер у тваринництві. Зокрема, він відповідає за ряд фізіологічних процесів у вищих еукаріотів, таких як регуляція концентрації триацилгліцеролів у крові, формування жирової тканини, дозрівання ооцитів та ін. Дефіцит *DGAT1* призводить до порушення синтезу жирних кислот у жировій тканині, скелетних м'язах, а також у молочній залозі аж до повної відсутності лактації [23].

Окрім цього, також досліджувався вплив на регуляцію метаболізму, біосинтез меланіну (пігментацію), розвиток кісток і виробництво м'яса у молочної худоби [37]. Було задокументовано плейотропну здатність *DGAT1* впливати на якість м'яса та молока у молочної худоби [41].

Відомо, що *DGAT1* відіграє вирішальну роль у виробництві молока, оскільки миші з нокаутом *DGAT1* не здатні виробляти молоко, і ліпіди майже не накопичуються в області секретії молочної залози у цих мишей [40].

DGAT1 є основним ферментом, відповідальним за регуляцію рівня синтезу тригліцеридів в адипоцитах молочної залози. Розвиток молочної залози є багатогранним і складним біологічним процесом, який відіграє ключову роль у забезпеченні нормальної лактації. Цей процес базується на тісній взаємодії між епітеліальними клітинами молочної залози та навколишньою стромою, що створює необхідне мікросередовище для формування, функціонування та підтримання тканини молочної залози. Строма не лише забезпечує механічну підтримку, але й бере участь у регуляції процесів росту та диференціації клітин завдяки сигналам, які передаються між епітелієм і стромою. Важливу роль у цьому процесі відіграють адипоцити, які є домінуючими клітинами у складі строми.

Стромальні адипоцити синтезують і зберігають велику кількість триацилгліцерину, які можуть служити резервуарами субстратів для виробництва молока епітелієм молочної залози. Під час цього процесу триацилгліцерин адипоцитів повинні бути гідролізовані, а жирні кислоти перенесені в епітеліальні клітини для повторної етерифікації. Синтез триацилгліцерину каталізується ферментами діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*), які ковалентно з'єднують діацилгліцерин із жирним ацил-КоА [40].

Згідно з дослідженнями [39], нуклеотидна заміна GC→AA в позиціях 10433/10434 призводить до амінокислотної заміни Ala→Lys в 232 положенні білка *DGAT1*. Мутація K232A пов'язана з вмістом жиру і білків в молоці: алельний варіант K – з більшим вмістом жиру в молоці, а алель A – з виходом молока та сумарним вмістом білків.

Також було виявлено 4 поліморфізми в гені *DGAT1* (рис. 3): (1) динуклеотидна заміна ApA на GpC в екзоні VIII, що спричиняє заміну амінокислоти K на A (K232A), (2) заміна A на G в інтроні 12, вісім пар основ нижче за екзон XII [Nt984 + 8(A-G)], (3) заміна C на T в інтроні 12, 26 п.н. нижче за екзон XII [Nt984 + 26(C-T)], і (4) перехід C до T в області 3'UTR [Nt1501(C-T)] [36].

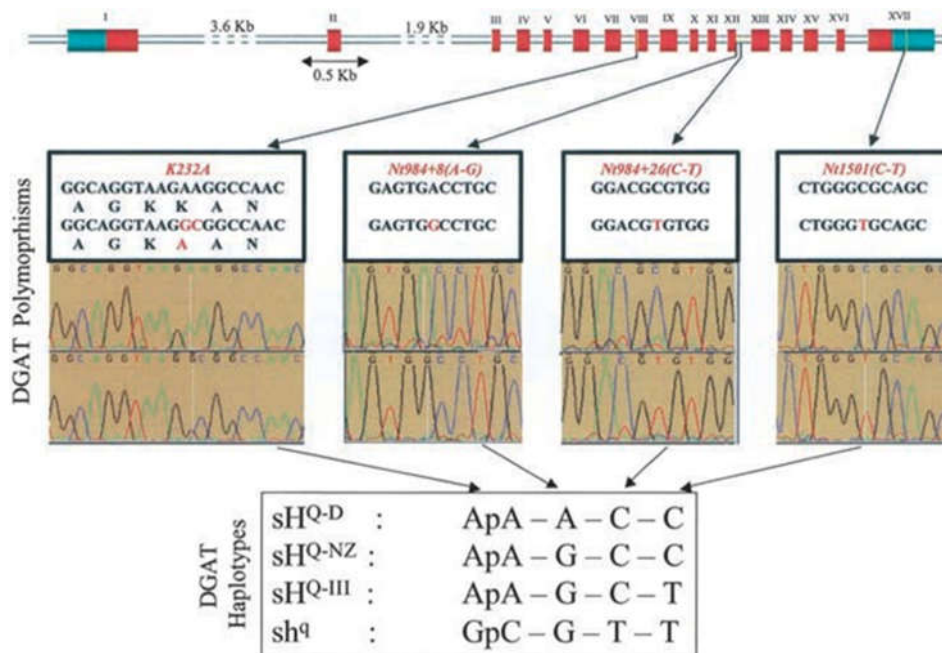


Рис. 3. Геномна організація, поліморфізм і гаплотипи, виявлені в бичачому гені *DGAT1*: зеленим – лідерна послідовність; червоним – кодуюча послідовність; сірим – інтронні ділянки [36]

Дані щодо впливу K232A, однак, відрізняються між дослідженнями поміж молочними породами великої рогатої худоби. Відмінності у величині впливу можуть бути пов'язані з взаємодією з генетичним фоном, що може відрізнитися між популяціями.

Дослідження ірландської голштинсько-фризької худоби ще раз демонструють, що алель K асоціюється зі зниженим надоем і виходом білка, але впливає на більший вихід молока та концентрацію жиру в молоці. Одна копія алелю була пов'язана ($P < 0,001$) із на 77 кг меншим виходом молока, на 4,22 кг більшим виходом жиру, на 0,99 кг меншим виходом білка та на 1,30 більшою концентрацією молочного жиру. Однак, не було зафіксовано жодного зв'язку між поліморфізмом K232A та плідністю, виживанням молодняку, продуктивністю отелення, ознаками м'яса або будь-якою ознакою конформації, за винятком ширини огузка [33].

Згідно з даними [42], генотип AA збільшує вихід жиру менш помітно у джерсійських корів, ніж у голштино-фризьких корів. Подібна тенденція спостерігалася і для великої рогатої худоби ангельської та нормандської породи, однак результати були досить суперечливими в різних дослідженнях.

Було показано, що поліморфізм K232A впливає на жирнокислотний склад наступним чином: молоко від корів типу AA має більш сприятливий жирнокислотний склад через нижчий загальний вміст насичених жирних кислот, співвідношення насичених і ненасичених жирних кислот, індекс атерогенності та вищий рівень олеїнової кислоти та загальних ненасичених жирних кислот [43].

Крім того, було показано, що молочний білок безпосередньо пов'язаний із вмістом фосфатів, кальцію та магнію; таким чином, поліморфізм *DGATI* K232A може змінити мінеральний склад молока [35].

Додатково, вивчався вплив поліморфізму *DGATI* K232A на метаболізм і протеом молока, отриманих від двох груп корів (корів генотипу AA і KK). Було виявлено, що молоко від корів з генотипами KK складалося з меншої кількості цукру, цитрату та креатину, пов'язаного з уридиндифосфатом (UDP), і більше стоматину, холіну, карнітину та сфінгомієліну порівняно з молоком, отриманим від корів з генотипами AA. Дані, наведені в дослідженні, свідчать і про те, що мембранна організація або клітинна структура епітеліальних клітин у молочних залозах можуть відрізнятися у корів *DGATI* генотипів KK та AA [38].

1.2. Зв'язок генетичних маркерів з молочною продуктивністю великої рогатої худоби

Наразі селекційна робота у молочному скотарстві нерозривно зв'язана з використанням досягнень сучасної генетики, включенням їх у програми поліпшення і створення нових порід, типів та ліній. Особливо актуальним завданням є виявлення та використання маркерних генів, які

безпосередньо корелюють із проявом певних фенотипових ознак, зокрема, рівнем молочної продуктивності [17].

Визначення генетичних маркерів дозволяє прослідкувати їхнє успадкування із покоління в покоління, установлювати розподіл генетичного матеріалу, локалізованого у маркірованих ними хромосомах при характеристиці порід, ліній та родин, та не лише підвищувати ефективність відбору тварин за бажаними характеристиками, а й розробляти цілеспрямовані програми селекції, які сприяють створенню популяцій із підвищеним потенціалом продуктивності. Таким чином, використання імуногенетичних досліджень у селекції дозволяє вивчати особливості генетичної структури порід [32].

Геномна селекція та відбір за допомогою маркерів (MAS – marker-assisted selection) спрощує процедуру відбору, особливо у видів із довгими циклами розмноження або для тих ознак, які мають низьке успадкування, або для яких вимірювання фенотипу є складним, дорогим або можливим лише в пізньому віці. Аналіз генетичного зчеплення, дослідження асоціацій з корисними ознаками чи захворюваннями, а також функціональне вивчення генів дозволяють ідентифікувати поліморфізми, що можуть бути цінними маркерами для селекції бажаних характеристик [30].

Ідентифікація генів та їх варіацій, які визначають той або інший розвиток кількісних ознак (QTL), в європейських країнах та США дає можливість отримання прибутків за рахунок скорочення генераційного інтервалу, раннього введення ремонтного поголів'я в процес відтворення та застосування селекції з допомогою маркерів MAS, тобто проводити підбір батьківських пар і добір певних генотипів та отримувати нащадків з відповідним генетичним потенціалом щодо основних показників продуктивності [17].

Генетичним маркером називають ген відомої локалізації, за допомогою якого можна виявляти інші гени. Генетичні маркери мають відповідати певним вимогам: мати високий рівень поліморфізму, стабільний характер

успадкування, рівномірний розподіл в геномі похромосомах, селективно нейтральну поведінку, високу відтворюваність результатів, забезпечувати легкий обмін даними між лабораторіями [8].

Для вирішення проблем селекції використовуються різні типи ДНК-маркерів – полілокусні або мультилокусні, які мають множинну локалізацію в геномі (*RAPD*, *ISSR*) та монолокусні, що характеризують певну ділянку геному (*SSR*, *PCR-RFLP*, *Indel*, *SNP*), що дозволило оцінювати генетичну мінливість не за фенотипом, а безпосередньо на рівні спадкового матеріалу і в результаті призвело до поширеного розповсюдження ДНК-технологій у практичній роботі генетичних лабораторій по всьому світу [2].

Комерційними фірмами з виробництва реагентів та обладнання для молекулярно-генетичного тестування розроблено спеціальні набори, до складу яких входять найбільш інформативні маркери для більшості порід певного виду, які допомагають провести генетичний аналіз за принципом: одна тварина – одна пробірка. Це сприяє скороченню часу та ресурсів на проведення генетичного аналізу однієї тварини [8].

Основна перевага цього підходу, на відміну від морфологічних та білкових маркерів, полягає в тому, що він дозволяє більш точно і швидко ідентифікувати бажані генетичні ознаки на ранніх стадіях розвитку організму, незалежно від впливу зовнішніх факторів.

В таблиці 1 наведено більш детальне порівняння переваг систем ДНК-маркерів.

Молочна продуктивність є однією з ключових груп господарськи важливих ознак у молочній худобі, і її формування відбувається під впливом багатьох генетичних локусів.

Складна взаємодія великої кількості генів відповідає за кількісні та якісні характеристики молока, такі як його обсяг, вміст жиру, білка та інші параметри, що мають безпосередній вплив на продуктивність [36].

Як потенційні маркери молочної продуктивності можуть розглядатись передусім алелі генів молочних білків і гормонів.

Таблиця 1

**Порівняння молекулярних маркерів із білковими та класичними
(морфологічними) маркерами [32]**

Критерій	Молекулярні маркери	Білкові маркери	Класичні маркери (морфологічні)
Точність і надійність	Висока точність, безпосередньо пов'язана з генетичною інформацією	Менш точні, залежать від зовнішніх факторів і умов експерименту	Обмежена точність, залежить від суб'єктивного спостереження
Спадковість	Пряма спадковість, що підлягає чіткому генетичному аналізу	Непряма спадковість, залежна від епігенетичних чинників	Часто визначається множинними генами або зовнішніми факторами
Інформаційна цінність	Забезпечують велику кількість генетичної інформації	Менш інформативні, оскільки працюють лише на рівні білків	Обмежена інформація, оскільки описують лише зовнішні ознаки
Кількість ознак для дослідження	Необмежена кількість ознак	Обмежена кількість, оскільки відображають лише білкові властивості	Вкрай обмежена кількість ознак
Час отримання результатів	Швидкий, особливо з використанням сучасних технологій	Середній час, залежить від умов експерименту	Тривалий, оскільки потребує спостереження за розвитком
Вплив на живий організм	Неінвазивний, не потребує змін у фізіології організму	Вимагає взяття зразків білків, вплив мінімальний	Може бути інвазивним (наприклад, потребує експериментального відбору особин)

Серед QTL-генів, вплив яких на продуктивні ознаки вивчається в молочному та м'ясному скотарстві України та сусідніх країн, можна виділити

наступні: ген гормону росту (*bGH*), лептину (*LEP*), гіпофіз-специфічного фактора транскрипції (*Pit-1*), міостатину (*MSTN*), калпаїну (*CAPN1*), тиреоглобуліну (*TG5*), С-рецептора ретиноєвої кислоти (*RORC*) та стирол-СоА десатурази (*SCD*) [27].

Найчастіше у молочному скотарстві вивчаються асоціативні зв'язки локусів, що з більшою вірогідністю можуть бути пов'язані з ознаками молочної продуктивності, зокрема, якісними показниками молока, такі як лептин (*LEP*), гормон росту (*GH*), капа-казеїн (*CSN3*), бета-лактоглобулін (*β LG*) [5].

Отже, використання різних систем ДНК-маркерів дає можливість проводити комплексні дослідження локусів кількісних ознак (QTL), здійснювати моніторинг генетичних аномалій, а також оцінювати генетичне різноманіття як між різними видами, так і всередині окремих порід. Використання цих маркерів сприяє розробці нових підходів до селекції, а також створенню сучасних моделей для генетичної оцінки різних порід і видів тварин.

1.3. Рівень поліморфізму *DGAT1*_ехон 8_K232A в стадах молочних порід в Україні

Аналіз генетичної структури стад української чорно-рябої молочної худоби (200 голів дійних корів), яка відтворюється у сільськогосподарських підприємствах Сквирського району Київської області, виявив поліморфізм за генотипами *DGAT1* – А і К. Генетична структура дослідженої породи характеризується низькими частотами алельних варіантів К (0,385) і вдвічі вищою частотою варіантів А – 0,615 [7].

Було досліджено структурні гени у тварин корів бурої карпатської породи з приватних домогосподарств с. Нижні Ворота Мукачівського району Закарпатської області. За результатами проведеного дослідження виявлено, що поліморфізм генів *DGAT1* представлений алелями *DGAT1^A*,

$DGAT1^K$ і відповідно генотипами $DGAT1^{KA}$, $DGAT1^{KK}$. Встановлено висока частота алеля $DGAT1^K$ – 0,585 і дещо нижча частота алеля $DGAT1^A$ – 0,415 [22].

Виявлені особливості алельного спектру генів $DGAT1$, які характерні для дослідженої популяції української аборигенної лебединської породи корів з господарства ПГ «Голосієво» Київської області, Україна. Так, частота «бажаного» алеля К (0,75) у тварин лебединської породи, у 3 рази була вищою, від частоти алеля А (0,25). Це знайшло своє відображення в частоті генотипів $DGAT1^{KK}$ та $DGAT1^{KA}$, які зустрічалися в однаковій кількості тварин – 16 гол. і 16 гол., відповідно. Тварин з генотипом $DGAT1^{AA}$ в даній вибірці виявлено не було. Оцінка ступеня генетичної різноманітності виявила, що показник гомозиготності за геном $DGAT1$ у вивчених тварин знаходився на рівні 50%, тобто 16 голів. Значення фактичної рівноваги у тварин лебединської породи ВРХ на 0,125 перевищує теоретично очікувану. Відповідно до закону Касла-Гарді-Вайнберга, за локусом діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 у дослідженої вибірки тварин порушена генетична рівновага [23].

Для вивчення генетичної структури української чорно-рябої породи було використано чистопорідне поголів'я, яке відтворюється в умовах агростанції «Митниця» Васильківського району, Київської області. Всього було досліджено 223 тварини. За результатами, цей локус був представлений генотипами АА, АК та КК. Більш поширений алель А (0,668) [26].

На прикладі української чорно-рябої молочної породи ВРХ розроблено біотехнологічні підходи, щодо комплексної оцінки генетичного потенціалу тварин. Досліджували чистопорідне поголів'я молочної породи (251 голова), яке відтворюється в умовах агростанції «Митниця» Васильківського району, Київської області. Для аналізу генів кількісних ознак ВРХ, які пов'язані з молочною продуктивністю, використовували метод ПЛР-ПДРФ. Розподіл алельних частот у дослідженої групи тварин, в основному, відповідав очікуваному (відповідно до закону Касла-Гарді-Вайнберга). Виявлено високу

частоту зустрічання господарсько цінних алелів за локусами ацил-КоА-діацилгліцерол ацилтрансферази 1 ($DGAT1^A$ – 0,683). Високий ступінь кореляції було встановлено між генотипами гена $DGAT1$ та масовою часткою жиру ($r = 0,748$, $P < 0,001$) і білка в молоці ($r = -0,629$, $P < 0,001$). Виявлені залежності засвідчують можливість використання даних кореляційних зв'язків для подальшого вдосконалення селекційного процесу та отримання високопродуктивних тварин української чорно-рябої молочної породи за рахунок проведення селекції в напрямі виведення тварин з генотипами AA або KK за локусом $DGAT1$ [25].

Проаналізовано зразки від 296 корів молочних порід української селекції. За геном $DGAT1$ для чорно-рябої породи частота виявлення генотипів складала: AA – 0,65, АК – 0,30 та KK – 0,06, у червоно-рябої AA – 0,75, АК – 0,24 та KK – 0,01 [29].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ

2.1. Місце та об'єкт дослідження

У таблиці 2 представлені амінокислотні послідовності білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) для різних таксонів *Bovini*, що були використані для філогенетичного аналізу. Перелік включає різні таксони, як-от *Bos taurus* (велику рогату худобу), *Bos indicus* × *Bos taurus* (гібридні породи), *Bos grunniens* (яка), *Bos mutus* (дикого яка), *Bubalus kerabau* (домашнього буйвола), та *Bubalus bubalis* (азійського буйвола).

Таблиця 2

Таксони, що було використано для філогенетичного аналізу *Bovini* на підставі амінокислотних послідовностей білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1

Таксон	Номер запису в GenBank
<i>Bos taurus</i>	NP_777118.2_Bos_taurus; CAC86391.1_Bos_taurus; DAA22842.1_Bos_taurus
<i>Bos indicus</i> × <i>Bos taurus</i>	XP_027416302.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus; XP_027416303.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus
<i>Bos grunniens</i>	AEE80957.1_Bos_grunniens; AEE80956.1_Bos_grunniens
<i>Bos mutus</i>	MXQ93666.1_Bos_mutus
<i>Bubalus kerabau</i>	XP_055401509.1_Bubalus_kerabau
<i>Bubalus bubalis</i>	AAH89443.1_Bubalus_bubalis; NP_001277831.1_Bubalus_bubalis; XP_006064685.2_Bubalus_bubalis

Послідовності взято з бази даних GenBank, кожен запис містить унікальний номер, який дозволяє ідентифікувати конкретну послідовність для виду або міжвидового гібрида.

На основі амінокислотних послідовностей білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 було проведено філогенетичний аналіз видів ратичних (родина *Bovidae* та інші) (табл. 3).

Таблиця 3

Таксони, що було використано для філогенетичного аналізу ратичних на підставі амінокислотних послідовностей білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1

Таксон	Номер запису в GenBank
<i>Bubalus bubalis</i>	AAX89443.1_Bubalus_bubalis
<i>Bubalus kerabau</i>	XP_055401509.1_Bubalus_kerabau
<i>Bos taurus</i>	NP_777118.2_Bos_taurus
<i>Bos indicus</i> × <i>Bos taurus</i>	XP_027416302.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus
<i>Bos grunniens</i>	AEE80957.1_Bos_grunniens
<i>Bos mutus</i>	MXQ93666.1_Bos_mutus
<i>Rangifer tarandus</i>	CAI9154942.1_Rangifer_tarandus_platyrhynchus
<i>Capra hircus</i>	KAJ1075922.1_Capra_hircus
<i>Ovibos moschatus</i>	KAL1287358.1_Ovibos_moschatus
<i>Ovis aries</i>	NP_001103634.1_Ovis_aries
<i>Sus scrofa</i>	NP_999216.1_Sus_scrofa
<i>Equus caballus</i>	XP_005613422.2_Equus_caballus
<i>Equus asinus</i>	XP_014713654.1_Equus_asinus
<i>Equus quagga</i>	XP_046497944.1_Equus_quagga
<i>Oryx dammah</i>	XP_040117468.1_Oryx_dammah
<i>Cervus canadensis</i>	XP_043340314.1_Cervus_canadensis
<i>Cervus elaphus</i>	XP_043735671.1_Cervus_elaphus
<i>Dama dama</i>	XP_060978953.1_Dama_dama

Було наведено види, до яких належать як представники родини *Bovidae* (наприклад, *Bos taurus*, *Bubalus bubalis*), так і види інших родин, таких як оленеві (*Cervus canadensis*, *Cervus elaphus*), свиневі (*Sus scrofa*), і коневі (*Equus caballus*, *Equus asinus*).

Набір таксонів включає як близькоспоріднені види, так і віддаленіші таксономічно групи, що дало змогу порівняти білкові послідовності між видами з різних екологічних та географічних ніш.

Таблиця 4 містить таксони з підродини *Bovini*, які були використані для філогенетичного аналізу на основі нуклеотидних послідовностей mRNA гена *DGAT1*. Дані таблиці дозволяють порівнювати еволюційні взаємозв'язки між близькими видами *Bovini* та оцінити генетичну варіативність у межах підродини.

У таблиці вказані різні види великої рогатої худоби та інші види з підродини, зокрема *Bos taurus*, *Bos indicus* × *Bos taurus* (гібрид), *Bos grunniens* (як), *Bos javanicus*, *Bos mutus*, *Bubalus bubalis* (водяний буйвол) та *Bubalus kerabau*.

Для кожного таксона надано відповідні номери записів у базі GenBank, які містять інформацію про їхні нуклеотидні послідовності.

Файл із початковими даними був збережений у форматі FASTA, що дозволяє зберігати послідовності в зручному для аналізу вигляді.

Для подальшого аналізу всі амінокислотні послідовності були вирівняні за допомогою методу множинного вирівнювання (Multiple Sequence Alignment) з використанням алгоритму ClustalW у програмному середовищі MEGA 5.0. В результаті вирівнювання проаналізовано наявність замін, вставок (інсерцій) та видалень (делецій) в амінокислотних послідовностях білка.

Для побудови філогенетичного дерева, яке відображає еволюційні зв'язки між різними видами ссавців на основі амінокислотних послідовностей білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1, застосовано метод «найближчого сусіда» (Neighbor-Joining method), також доступний у програмі MEGA 5.0.

Таблиця 4

Таксони, що було використано для філогенетичного аналізу *Bovini* на підставі нуклеотидної послідовності mRNA гена *DGAT1*

Таксон	Номер запису в GenBank
<i>Bos taurus</i>	NM_174693.2_Bos_taurus; XM_059893129.1_Bos_taurus
<i>Bos indicus</i> × <i>Bos taurus</i>	XM_027560501.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus; XM_027560502.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus; XM_027560503.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus
<i>Bos grunniens</i>	JF913456.1_Bos_grunniens; F913457.1_Bos_grunniens;
<i>Bos javanicus</i>	XM_061438234.1_Bos_javanicus; XM_061438235.1_Bos_javanicus
<i>Bos mutus</i>	XM_014478833.1_Bos_mutus
<i>Bubalus bubalis</i>	XM_025264738.2_Bubalus_bubalis; XM_025264740.2_Bubalus_bubalis; XM_044928323.1_Bubalus_bubalis; XM_044928325.1_Bubalus_bubalis
<i>Bubalus kerabau</i>	XM_055545533.1_Bubalus_kerabau; XM_055545534.1_Bubalus_kerabau; XM_055545535.1_Bubalus_kerabau; XM_055545538.1_Bubalus_kerabau

Таблиця 5 включає більшу кількість таксонів, включаючи як представників підродини *Bovini* (як у таблиці 4), так і представників інших родів та видів парнокопитних: *Capra hircus* (домашня коза), *Ovis aries* (вівця) та *Oryx dammah* (антилопа).

Для кожного таксона наведено відповідні номери записів у GenBank, з метою ідентифікувати конкретні послідовності мРНК гена *DGAT1*, які були використані в аналізі.

Таблиця 5

Таксони, що було використано для філогенетичного аналізу ратичних на підставі нуклеотидної послідовності mRNA гена *DGAT1*

Таксон	Номер запису в GenBank
<i>Bos taurus</i>	XM_059893129.1_Bos_taurus
<i>Bos indicus</i> × <i>Bos taurus</i>	XM_027560501.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus
<i>Bos grunniens</i>	JF913456.1_Bos_grunniens
<i>Bos javanicus</i>	XM_061438234.1_Bos_javanicus; XM_061438235.1_Bos_javanicus
<i>Bos mutus</i>	XM_014478833.1_Bos_mutus
<i>Bubalus bubalis</i>	XM_025264740.2_Bubalus_bubalis
<i>Bubalus kerabau</i>	XM_055545533.1_Bubalus_kerabau
<i>Capra hircus</i>	XM_018058728.1_Capra_hircus
<i>Ovis aries</i>	EU301803.1_Ovis_aries
<i>Oryx dammah</i>	XR_005724623.1_Oryx_dammah

Для детального дослідження нуклеотидної структури екзону 8 гена *DGAT1* було обрано 12 нуклеотидних послідовностей, що охоплювали 5'-кінцеву ділянку та екзон 8, і які належали до різних представників підродини *Bovinae*.

Усі послідовності були отримані з міжнародної бази даних GenBank, що забезпечує доступ до великих колекцій генетичних даних (табл. 6). Для пошуку необхідних послідовностей був використаний алгоритм BLAST, що дозволяє визначити послідовності з високим рівнем подібності до вихідної послідовності NP_777118.2_Bos_taurus., яка слугувала орієнтиром для подальшого аналізу.

Файл із вихідними даними був збережений у форматі FASTA для подальшої обробки. На наступному етапі всі послідовності були вирівняні з використанням методу множинного вирівнювання (Multiple Sequence

Alignment), що реалізується через алгоритм ClustalW у програмному забезпеченні MEGA 5.0.

Таблиця 6

Послідовності, що було використано для аналізу нуклеотидної структури екзону 8 гена *DGAT1 Bos taurus*

Таксон	Номер запису в GenBank
<i>Bos taurus</i>	AJ318490.1_Bos_taurus
	JQ897353.1_Bos_taurus
	JQ897352.1_Bos_taurus
	JQ897351.1_Bos_taurus
	EU077528.1_Bos_taurus
	AM263425.1_Bos_taurus
	AM263422.1_Bos_taurus
	AM263424.1_Bos_taurus
	AM263423.1_Bos_taurus
	LC767277.1_Bos_taurus
	LC767274.1_Bos_taurus
	LC767272.1_Bos_taurus

Після цього був проведений порівняльний аналіз нуклеотидного складу різних ділянок всіх 12 послідовностей. Для цього використовувалася програма DNAsp, що дозволила виявити поліморфні сайти та побудувати матрицю нуклеотидних замін. На основі отриманої матриці була побудована філогенетична модель замін нуклеотидів, яка відображала варіації між окремими гаплотипами екзону 8 гена *DGAT1* у родині *Bovidae*.

Цей аналіз був виконаний за допомогою програми POPArt, що дозволила візуалізувати і проаналізувати різноманітність та еволюційні зв'язки між гаплотипами.

2.2. Методика виконання роботи

Об'єктом дослідження є результати біоінформаційного аналізу поліморфізму гена *DGAT1* і його зв'язок із господарськи цінними ознаками *Bos taurus*.

Предметом досліджень є процеси формування поліморфізму *DGAT1*_exon 8_K232A *Bos taurus* в умовах господарств України.

Загальну схему проведених досліджень наведено на рис. 4.

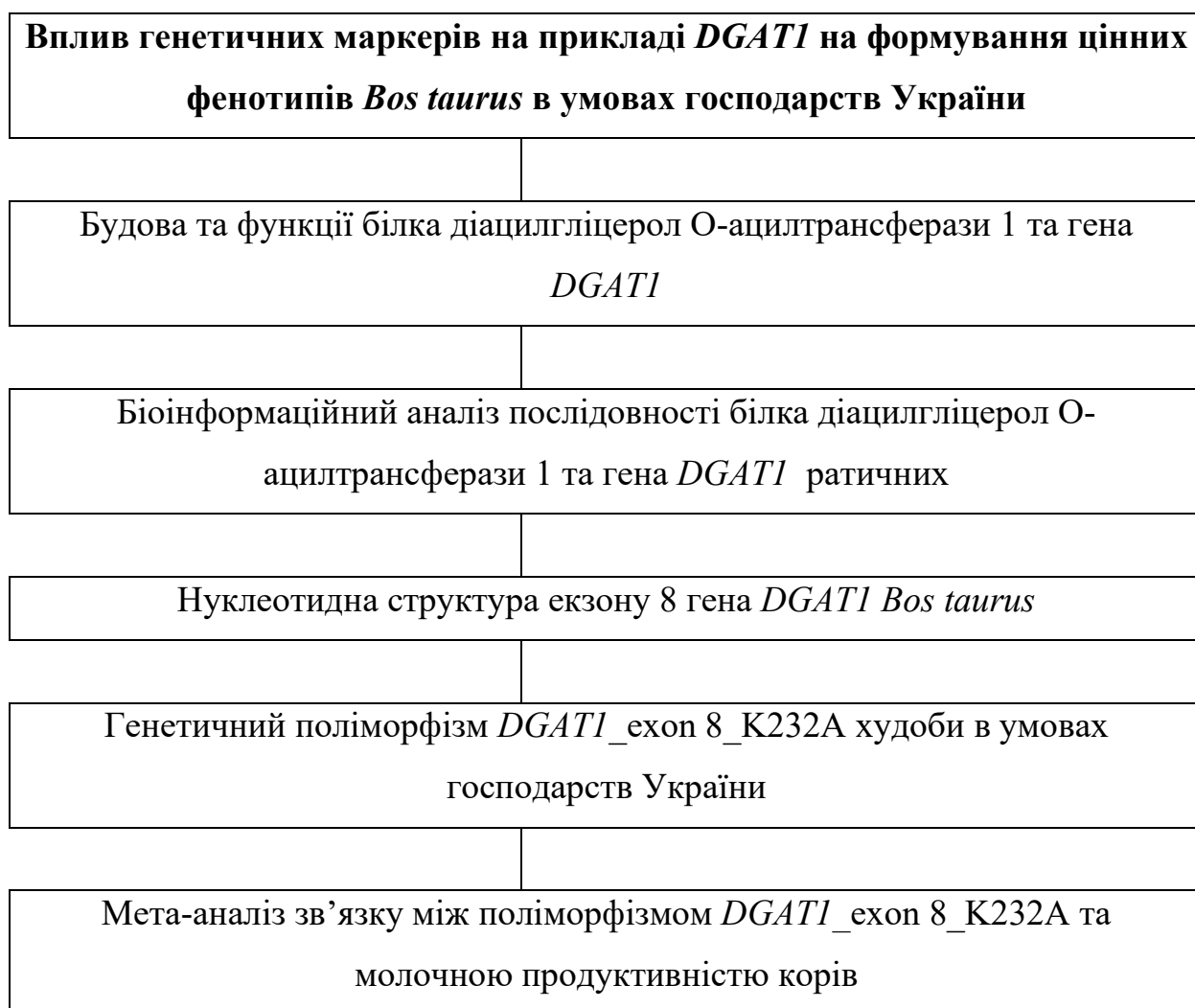


Рис. 4. Загальна схема проведених досліджень

Молекулярно-генетичні дослідження проводилися на базі відділу біологічних досліджень та обліку Миколаївського науково-дослідного експертно-криміналістичного центру МВС України.

Зразки крові відбирали з яремної вени в об'ємі 5 мл в вакуумні пробірки з сухим ЕДТА. У центрифужну пробірку вносили 1 мл стерильної дистильованої води та 5 мкл крові, інкубували при ретельному перемішуванні 20 хвилин при кімнатній температурі 16 °С.

Геномну ДНК виділяли згідно зі стандартною методикою, використовуючи реагент «Chelex-100» («Bio-Rad» (США)). Центрифугували при 10 000 g 3 хвилини і видаляли супернатант, суспензію зразка крові та Chelex-100 інкубували в термошейкері TS-100 (Biosan) при 56 °С протягом 30...60 хвилин. Клітинні мембрани руйнуються та розпочинається лізис еритроцитів та лейкоцитів, вивільняючи ДНК.

Після лізису пробірку прогривають в термостаті до 100 °С на 8 хвилин для денатурації білків і ферментів, таких як нуклеази, що можуть руйнувати ДНК. Після термічної обробки зразок центрифугували при 13 300 об/хв протягом 5 хвилин. Смола Chelex-100 разом із домішками осідає на дно пробірки, залишаючи чисту ДНК у супернатанті. Супернатант (верхній шар рідини), який містить очищену ДНК, відбирали у нову пробірку, після чого використовували у молекулярно-генетичному дослідженні.

Дослідження поліморфізму генів, що асоціюються з важливими господарсько-корисними ознаками (QTL), проводилось за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з подальшим аналізом рестрикційних фрагментів ДНК (ПЛР-ПДРФ).

Для проведення ПЛР було використано наступний склад реакційної суміші: 2 мкл буфера для ДНК-полімерази, що забезпечує оптимальні умови для ферментативної реакції; 1,0 мкл суміші дезоксинуклеотидтрифосфатів (дНТФ), виготовленої компанією «Qiagen» і необхідної для синтезу нової ДНК-ланцюга; 1,0 мкл відповідного праймера для специфічної ампліфікації потрібної ділянки геному; 0,2 мкл ДНК-полімерази (виробник Fermentas, Литва), що відповідає за каталіз реакції синтезу ДНК.

До цієї суміші додавали 2,0 мкл геномної ДНК, виділеної зі зразка, а залишок об'єму (ddH₂O) заповнювали до загального об'єму реакційної суміші

10 мкл. Ампліфікацію ДНК проводили на програмованому термоциклері, який дозволяв циклічно змінювати температурні умови для денатурації, відпалу праймерів і синтезу нових ДНК-фрагментів.

Після ПЛР продукти ампліфікації піддавали обробці специфічними рестрикційними ферментами для розрізання ДНК у визначених місцях. Для цього до 10 мкл ПЛР-продукту додавали 5 одиниць/мкл рестриктази та 1,5 мкл буфера для рестрикції, після чого зразки інкубували при температурі 37 °С протягом 12 годин. Ця процедура забезпечувала точне розщеплення ампліфікованих фрагментів у специфічних локусах, що дозволяло оцінити генетичний поліморфізм за допомогою подальшого аналізу фрагментів.

Для візуалізації результатів рестрикційного аналізу використовували електрофорез у 2...3% агарозному гелі з додаванням броміду етидію для флуоресцентного фарбування ДНК. Електрофорез проводили в 1xTBE-буфері при постійній напрузі 100 В протягом 90 хвилин. Після завершення процедури гель аналізували за допомогою ультрафіолетового транслюмінатора (ТУВ-1) при довжині хвилі 312 нм. Для визначення розмірів отриманих фрагментів ДНК використовували молекулярні маркери: GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder та Thermo Scientific™ GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder, що дозволяють точно визначати довжину ампліфікованих фрагментів.

Результати електрофорезу документували за допомогою цифрової камери, що дозволяло детально аналізувати поліморфізм на основі отриманих фрагментів.

Для ампліфікації гену діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 використовуються наступні праймери:

F: 5' – GCACCATCCTCTTCCTCAAG – 3'

R: 5' – GGAAGCGCTTTCGGATG – 3'

Праймери були розроблені на основі послідовності бичачої ДНК, отриманої з експресованої мітки послідовності (EST), послідовності кДНК людини та отриманої послідовності бактеріальної штучної хромосоми (BAC)

за допомогою програми PRIMER3 (http://www.genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi). Рестрикцію ампліфікованого фрагмента здійснювали за допомогою ендонуклеази рестрикції *Psu* I.

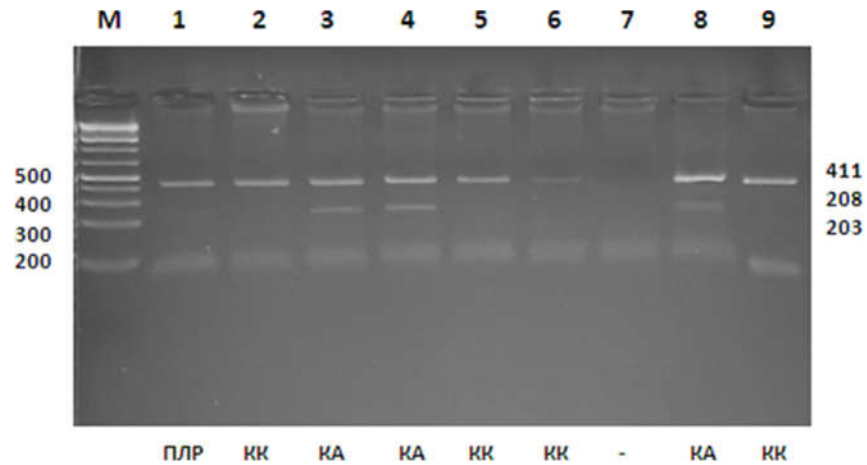


Рис. 2. Електрофоретичний аналіз продуктів рестрикції при визначенні генотипів за геном *DGAT1*: М – маркер молекулярних мас; 2-8 – генотипи тварин [22].

Для аналізу генетичного поліморфізму гена *DGAT1* у молочних порід великої рогатої худоби з різних господарств України було проведено літературний пошук за допомогою пошукової системи Google Академія (<https://scholar.google.com.ua/>). Усі наукові публікації, що містили ключові слова «ген *DGAT1*», «поліморфізм», «худоба» і «лактація», були використані для створення вихідної бази даних з метою детального аналізу нуклеотидної послідовності гена *DGAT1* і його зв'язку з продуктивними ознаками тварин.

Зібрані публікації містили інформацію щодо порід худоби, місцезнаходження господарств, абсолютної частоти різних генотипів за локусом *DGAT1* (АА, АК, КК) та їх впливу на продуктивні характеристики. У базі даних також відображені середні арифметичні показники таких ознак, як вміст жиру і білка в молоці, а також відповідні статистичні похибки для окремих груп тварин, виділених на підставі їхнього генотипу (АА, АК, КК) (табл. 7).

Додатково були включені дані про кореляційні зв'язки між різними генотипами гена *DGAT1* і ключовими показниками продуктивності, зокрема, кількісними та якісними характеристиками молочної продуктивності, включаючи лактаційні об'єми, жирність та вміст білку молока. Це дозволило провести порівняльний аналіз серед різних порід і виявити потенційні генетичні переваги, що можуть бути використані у селекційних програмах для поліпшення продуктивності.

Таблиця 7

Розподіл частот генотипів поліморфізму *DGAT1*_exon 8_ K232A різних порід худоби України

Порода/ Популяція	n	Генотип			Джерело
		AA	AK	KK	
UBP-1	106	46	50	10	[25]
UBP-2	223	95	108	20	[25]
UBP-3	166	108	49	9	[28]
UBP-4	251	118	107	26	[24]
UBP-5	200	64	118	18	[7]
URP	130	98	31	1	[28]
Leb	32	0	16	16	[21]
Brown	30	0	25	5	[22]
Total	1138	529	504	105	

Для кожної популяції худоби для поліморфізму *DGAT1*_exon 8_ K232A було проведено оцінку частот алелів А та К, а також розраховано фактичну (h_o) і очікувану (h_e) гетерозиготність. Оцінки гетерозиготності допомогли виявити рівень генетичної варіабельності у досліджуваних групах.

Для визначення рівня диференціації між окремими популяціями або породами було обчислено оцінки F-статистик за методикою С. Райта, що дозволило оцінити генетичну структуру популяцій та ступінь їхньої ізоляції або схожості. Всі алгоритми, використані для цих розрахунків, описані у відповідному джерелі [18].

Для мета-аналізу зв'язку між поліморфізмом гена *DGATI* та такими продуктивними показниками, як вміст жиру і білка в молоці, були використані дані з 8 опублікованих досліджень.

На першому етапі аналізу було проведено розрахунок адитивної (A) та домінантної (D) компонент для адитивно-домінантної моделі, яка описує вплив поліморфізму *DGATI*_exon 8_ K232A на молочну продуктивність. Оцінки компонент визначалися для зв'язку між поліморфізмом K232A гена *DGATI* і рівнем жиру та білка в молоці.

На другому етапі було проведено мета-аналіз для трьох попарних порівнянь генотипів: між генотипами AA і АК, між генотипами КК і АА, а також між генотипами КК і АК. Як міру оцінки було використано SMD (Standardized Mean Difference – стандартизована середня відмінність) разом із відповідними 95% довірчими інтервалами. Це дозволило оцінити значущість відмінностей між генотипами за продуктивними показниками і виявити, які алелі гена *DGATI* можуть мати найбільший вплив на селекційні програми.

Усі обчислення було виконано за допомогою програми MetaMar (<https://www.meta-mar.com/>), що дозволяє проводити комплексний мета-аналіз і статистичну оцінку результатів з різних досліджень.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Біоінформаційний аналіз послідовності білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGATI*) ратичних

Для проведення біоінформаційного аналізу білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGATI*) було використано 12 послідовностей представників родини *Bovidae*, що входили до двох родів – *Bos* (справжні бики) із п'ятьма видами та *Bubalus* (буйвіли) із двома видами. Після вирівнювання загальна довжина послідовності складала 513 амінокислот.

В цілому, порівняння цих послідовностей встановило наявність декількох замін у порівнянні із референтною послідовністю NP_777118.2_Bos_taurus. Наприклад, було встановлено наявність А→S заміни в позиції 29 та А→V заміни в позиції 30 амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGATI*) у азійського буйвіла (*Bubalus kerabau*) (рис. 3).

Protein Sequences	
Species/Abbrv	*** * * *
1. NP_777118.2_Bos_taurus	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAAAEEE
2. XP_027416302.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAAAEEE
3. CAC86391.1_Bos_taurus	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAAAEEE
4. AEE80957.1_Bos_grunniens	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAAAEEE
5. XP_055401509.1_Bubalus_kerabau	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAVVEE
6. AAX89443.1_Bubalus_bubalis	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAAAEEE
7. NP_001277831.1_Bubalus_bubalis	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAAAEEE
8. MXQ93666.1_Bos_mutus	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAAAEEE
9. DAA22842.1_Bos_taurus	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAAAEEE
10. XP_027416303.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAAAEEE
11. AEE80956.1_Bos_grunniens	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAAAEEE
12. XP_006064685.2_Bubalus_bubalis	MGDRGGAGGSRRRRRTGSRPSIQGGSGFAAVEE

Рис. 3. Наявність А→S заміни в позиції 29 та А→V заміни в позиції 30 амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGATI*) у азійського буйвіла (*Bubalus kerabau*)

В першому випадку, це була заміна амінокислоти аланін на серін, що було викликано $g \rightarrow t$ заміною на I-у місці триплету. У другому, це заміна аланіну на валін, що було викликано $c \rightarrow t$ заміною у II-у місці триплету.

Крім того, для представників всього роду Буйвіли (*Bubalus*) мала місце наявність $V \rightarrow A$ заміни в позиції 37 амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) (рис. 4).

Species/Abbrv	**	*	*	*	**
1. NP_777118.2_Bos_taurus	E	V	R	D	V
2. XP_027416302.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus	E	V	R	D	V
3. CAC86391.1_Bos_taurus	E	V	R	D	V
4. AEE80957.1_Bos_grunniens	E	V	R	D	V
5. XP_055401509.1_Bubalus_kerabau	E	V	R	A	V
6. AAX89443.1_Bubalus_bubalis	E	V	R	D	V
7. NP_001277831.1_Bubalus_bubalis	E	V	R	D	V
8. MXQ93666.1_Bos_mutus	E	V	R	D	V
9. DAA22842.1_Bos_taurus	E	V	R	D	V
10. XP_027416303.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus	E	V	R	D	V
11. AEE80956.1_Bos_grunniens	E	V	R	D	V
12. XP_006064685.2_Bubalus_bubalis	E	V	R	A	V

Рис. 4. Наявність $V \rightarrow A$ заміни в позиції 37 амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) у буйвілів (*Bubalus*)

Це була заміна амінокислоти валін на аланін що було викликано $g \rightarrow t$ заміною на I-у місці триплету. У другому, це заміна аланіну на валін, що було викликано $t \rightarrow c$ заміною у II-у місці триплету.

Знову ж, для свійського азійського буйвіла (*Bubalus bubalis*) було відмічено наявність $N \rightarrow S$ заміни в позиції 81 та $M \rightarrow K$ заміни в позиції 92 амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) (рис. 5). В першому випадку, це була заміна амінокислоти аспарагін на серін, що було викликано двома замінами: $a \rightarrow t$ заміною на I-у місці триплету та $a \rightarrow c$ заміною на II-у місці триплету. У другому, це заміна метіоніну на лізин, що було викликано $t \rightarrow a$ заміною на II-у місці триплету.

I, нарешті, було відмічено наявність К→А заміни в позиції 232 амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) у свійської худоби (*Bos taurus*) (рис. 6).

Protein Sequences	
Species/Abbrv	* * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
1. NP_777118.2_Bos_taurus	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL
2. XP_027416302.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL
3. CAC86391.1_Bos_taurus	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL
4. AEE80957.1_Bos_grunniens	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL
5. XP_055401509.1_Bubalus_kerabau	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL
6. AAX89443.1_Bubalus_bubalis	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL
7. NP_001277831.1_Bubalus_bubalis	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL
8. MXQ93666.1_Bos_mutus	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL
9. DAA22842.1_Bos_taurus	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL
10. XP_027416303.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL
11. AEE80956.1_Bos_grunniens	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL
12. XP_006064685.2_Bubalus_bubalis	FSSDSGFSNYRGIILNWCVVMLIL

Рис. 5. Наявність N→S заміни в позиції 81 та M→K заміни в позиції 92 амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) у свійського азійського буйвіла (*Bubalus bubalis*)

Вона була викликана заміною амінокислоти лізин на аланін, що було обумовлено двома замінами: а→g заміною на I-у місці триплету та а→с заміною на II-у місці триплету.

Protein Sequences	
Species/Abbrv	* * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
1. NP_777118.2_Bos_taurus	AKAKAALAGKKAANGG
2. XP_027416302.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus	AKAKAALAGKKAANGG
3. CAC86391.1_Bos_taurus	AKAKAALAGKKAANGG
4. AEE80957.1_Bos_grunniens	AKAKAALAGKKAANGG
5. XP_055401509.1_Bubalus_kerabau	AKAKAALAGKKAANGG
6. AAX89443.1_Bubalus_bubalis	AKAKAALAGKKAANGG
7. NP_001277831.1_Bubalus_bubalis	AKAKAALAGKKAANGG
8. MXQ93666.1_Bos_mutus	AKAKAALAGKKAANGG
9. DAA22842.1_Bos_taurus	AKAKAALAGKKAANGG

Рис. 6. Наявність К→А заміни в позиції 232 амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) у свійської худоби (*Bos taurus*)

Аналіз також показав наявність суттєвих відмінностей щодо вмісту певних амінокислот в складі білка діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) серед представників підродини *Vovinae* (рис. 9).

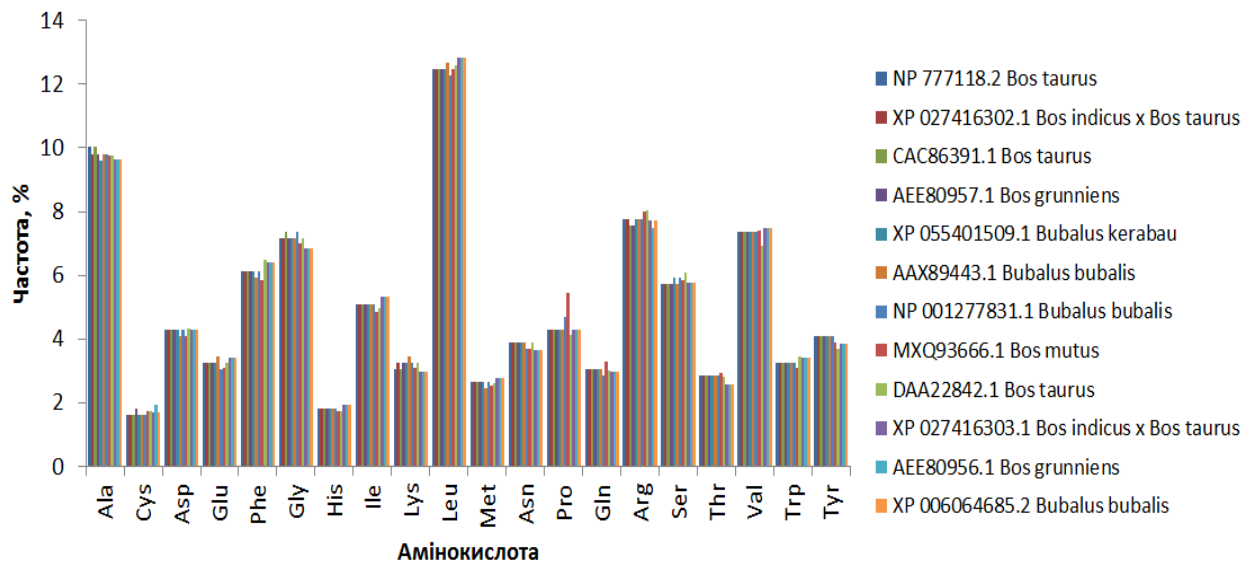


Рис. 9. Міжвидові відмінності вмісту амінокислот в складі послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) серед представників підродини *Vovinae*

В найбільшому ступені порівнювальні послідовності відрізнялися за вмістом проліну ($CV = 8,1\%$) та цистеїну ($CV = 5,6\%$). В першому випадку це було викликано значним збільшення проліну в послідовності MXQ93666.1_Bos mutus, що належить дикому яку, а у другому – збільшенням цистеїну в послідовності AEE80956.1_Bos grunniens, що належить свійському яку.

Філогенетичне NJ-дерево, побудоване на підставі амінокислотного складу діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) представників підродини *Vovinae* виявилось не дуже інформативним (рис. 10). Представників родів *Bos* (справжні бики) та *Bubalus* (буйвіли) формують змішаний паттерн, хоча, в цілому, представники роду *Bubalus* (буйвіли) більш віддалені від загального «кореня» дендрограми.

І з цього боку філогенетичне UPGMA-дерево є більш інформативним (рис. 11).

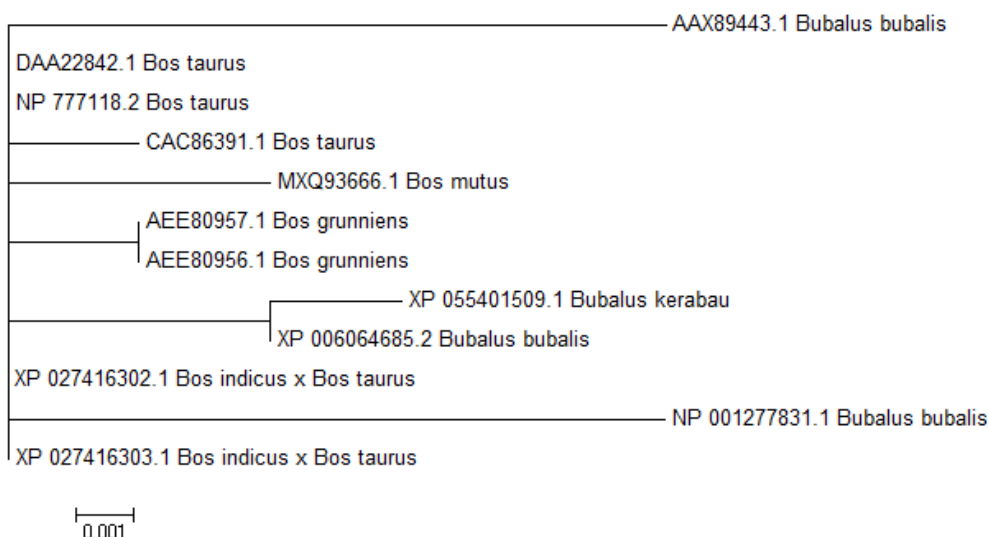


Рис. 10. Філогенетичне NJ-дерево, побудоване на підставі амінокислотного складу діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) представників підродини Bovinae

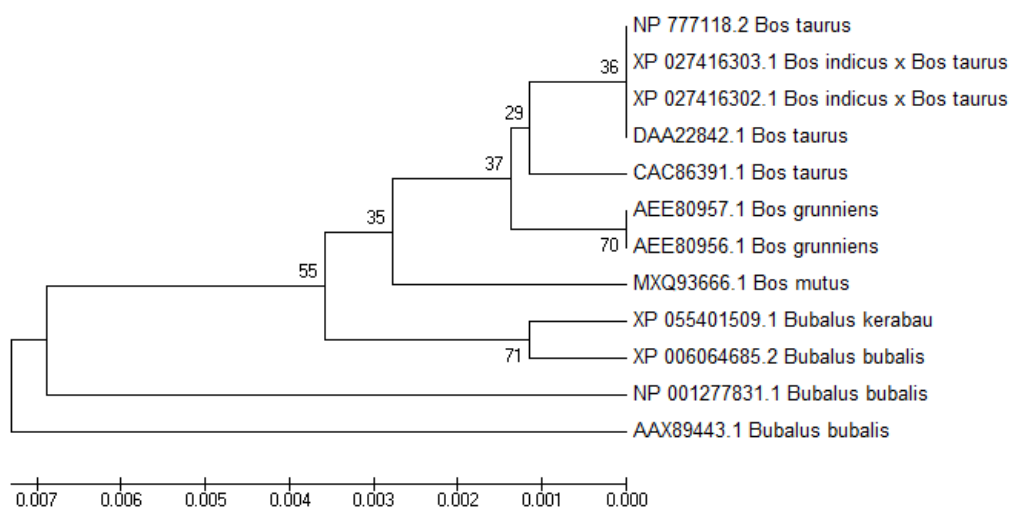


Рис. 11. Філогенетичне UPGMA-дерево, побудоване на підставі амінокислотного складу діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) представників підродини Bovinae

В цьому випадку формується три групи видів. Перший включає свійську худобу (*Bos taurus*) та їх помісі із худобою зебу (*Bos indicus*).

Другий представлено свійським та диким яком. І, нарешті, третій включає представників роду *Bubalus* (буйвіли).

Більш детальний біоінформаційний аналіз було нами проведено для різних представників ратичних. В першу чергу було відмічено суттєві відмінності амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) у представників роду коні (*Equus*). Так, для них було встановлено наявність декількох замін (в позиціях 19, 20, 21 та 24) амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) (рис. 12).

Protein Sequences	
Species/Abbrv	Δ
1. AAX89443.1_Bubalus_bubalis	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGG
2. AEE80957.1_Bos_grunniens	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGG
3. CAI9154942.1_Rangifer_tarandus_platyrhynchus	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGG
4. KAJ1075922.1_Capra_hircus	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGN
5. KAL1287358.1_Ovibos_moschatus	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGN
6. MXQ93666.1_Bos_mutus	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGG
7. NP_001103634.1_Ovis_aries	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGN
8. NP_777118.2_Bos_taurus	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGG
9. NP_999216.1_Sus_scrofa	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGG
10. XP_005613422.2_Equus_caballus	MGDRGGAGGRRRRRIGSRALSIQGGGG
11. XP_014713654.1_Equus_asinus	MGDRGGAGGRRRRRIGSRALSIQGGGG
12. XP_027416302.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGG
13. XP_040117468.1_Oryx_dammah	MGDRGGAGGRRRRRIGSRSSISIQGGGG
14. XP_043340314.1_Cervus_canadensis	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGG
15. XP_043735671.1_Cervus_elaphus	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGG
16. XP_046497944.1_Equus_quagga	MGDRGGAGGRRRRRIGSRALSIQGGGG
17. XP_055401509.1_Bubalus_kerabau	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGG
18. XP_060978953.1_Dama_dama	MGDRGGAGGRRRRRIGSRPISIQGGGG

Рис. 12. Наявність замін в позиціях 19, 20, 21 та 24 амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) у роду коні (*Equus*)

Крім різних видів коней, було також відмічено наявність G→V заміни в позиції 166 амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) у а свині (*Sus scrofa*) (рис. 13). Крім замін, було також виявлено присутність делеції в позиціях 231-252 амінокислотної послідовності діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) у шаблерогої антилопи (*Oryx dammah*) та інсерція в позиціях 284-287 у свійської кози (*Capra hircus*) (рис. 14).

Species/Abbrv	Δ	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	**	
1. AAX89443.1_Bubalus_bubalis		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
2. AEE80957.1_Bos_grunniens		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
3. CAI9154942.1_Rangifer_tarandus_platyrhynchus		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
4. KAJ1075922.1_Capra_hircus		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
5. KAL1287358.1_Ovibos_moschatus		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
6. MXQ93666.1_Bos_mutus		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
7. NP_001103634.1_Ovis_aries		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
8. NP_777118.2_Bos_taurus		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
9. NP_999216.1_Sus_scrofa		L	I	H	V	A	L	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
10. XP_005613422.2_Equus_caballus		L	L	H	V	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	L	L	L		
11. XP_014713654.1_Equus_asinus		L	L	H	V	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	L	L	L		
12. XP_027416302.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
13. XP_040117468.1_Oryx_dammah		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
14. XP_043340314.1_Cervus_canadensis		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
15. XP_043735671.1_Cervus_elaphus		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
16. XP_046497944.1_Equus_quagga		L	L	H	V	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	L	L	L		
17. XP_055401509.1_Bubalus_kerabau		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		
18. XP_060978953.1_Dama_dama		LL	H	G	V	L	A	I	L	C	F	A	A	V	A	F	L	L	L		

Рис. 13. Наявність $G \rightarrow V$ заміни в позиції 166 амінокислотної послідовності діацилгліцерол O-ацилтрансферази 1 (DGAT1) у роду коні (*Equus*) та свині (*Sus scrofa*)

Species/Abbrv	Δ																			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	**
1. AAX89443.1_Bubalus_bubalis		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
2. AEE80957.1_Bos_grunniens		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
3. CAI9154942.1_Rangifer_tarandus_platyrhynchus		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
4. KAJ1075922.1_Capra_hircus		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
5. KAL1287358.1_Ovibos_moschatus		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
6. MXQ93666.1_Bos_mutus		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
7. NP_001103634.1_Ovis_aries		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
8. NP_777118.2_Bos_taurus		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
9. NP_999216.1_Sus_scrofa		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
10. XP_005613422.2_Equus_caballus		G	A	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
11. XP_014713654.1_Equus_asinus		G	A	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
12. XP_027416302.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
13. XP_040117468.1_Oryx_dammah		A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
14. XP_043340314.1_Cervus_canadensis		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
15. XP_043735671.1_Cervus_elaphus		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
16. XP_046497944.1_Equus_quagga		G	A	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
17. XP_055401509.1_Bubalus_kerabau		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	
18. XP_060978953.1_Dama_dama		AG	K	A	G	G	A	A	R	V	Y	S	L	L	A	D	L	Y	F	L	F	A	L	C	Y	E	L	F	S	R	R	I	K	F	L	L	S	---	LL	

Рис. 14. Наявність делеції в позиціях 231-252 амінокислотної послідовності діацилгліцерол O-ацилтрансферази 1 (DGAT1) у шаблерогої антилопи (*Oryx dammah*) та інсерція в позиціях 284-287 у свійської кози (*Capra hircus*)

Хоча, з іншого боку, нами було виявлено декілька консервативних ділянок (наприклад, у позиціях 58-115) амінокислотної послідовності діацилгліцерол O-ацилтрансферази 1 (DGAT1) у представників ратичних (рис. 15).

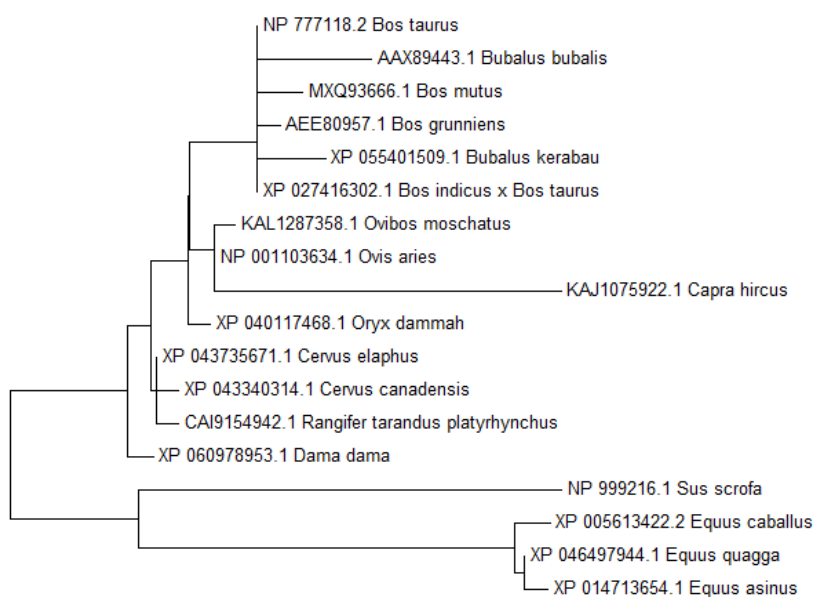


Рис. 16. Філогенетичне NJ-дерево, побудоване на підставі амінокислотного складу діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) представників ратичних

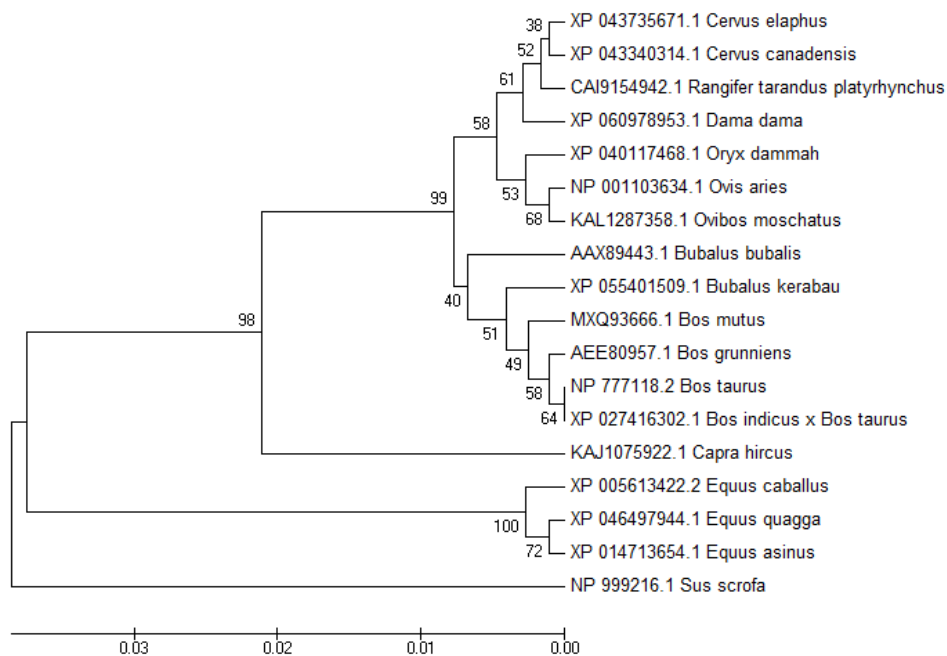


Рис. 17. Філогенетичне UPGMA-дерево, побудоване на підставі амінокислотного складу діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (*DGAT1*) представників ратичних

3.2. Біоінформаційний аналіз нуклеотидної послідовності mRNA гена *DGAT1* ратичних

Всього до аналізу було включено 18 послідовностей mRNA гена *DGAT1*, які представляли два роди биків (*Bovini*) – *Bos* та *Bubalis* (рис. 18).

	10	20	30	40
	*	*	*	*
Нап_1	TGGTCAATGAGATCTCAAATGCCCGCGGGTTGACTGAATATT			
Нап_2C...C.G.....			
Нап_3	..AC.TGAAGAGC.CTGCGC.....CAG.CAG....C			
Нап_4	...C.....CAGGC.G.....			
Нап_5	..AC.....T.....CAG.CAG.....			
Нап_6	CA.CG.....T.....ATG.ATCTACC.G.C.GGCGA.			

Рис. 18. Наявність замін нуклеотидів між окремими гаплотипами mRNA гена *DGAT1* биків (*Bovini*)

Загальна довжина послідовності складала 5559 п.н., спільною була ділянка 2618-4167 п.н. В межах цієї ділянки mRNA гена *DGAT1* нами було виявлено 42 поліморфних сайти, які формували присутність 6 гаплотипів.

Найменшу кількість замін (у порівнянні із референтною послідовністю XM_059893129.1_Bos_taurus) було відмічено для гаплотипу 2 (три заміни), тоді як найбільшу кількість замін для гаплотипів 3 та 6.

Якщо проаналізувати отримане дерево замін нуклеотидів (рис. 19) між окремими гаплотипами mRNA гена *DGAT1* биків (*Bovini*), то можна, насамперед, відмітити, гаплотип 6 (який включає представників двох видів роду *Bubalis* – буйвіли) значно відрізняється від решти видів, що входять до роду *Bos*. Хоча, при цьому, дикий як (*Bos mutus*) більше віддалений від решти видів роду *Bos*.

Найбільш подібним до *Bos taurus* виявилися помісні тварини, що представляли собою гібрид зебу та свійської худоби. Більше відмінностей було отримано для бантенга (*Bos javanicus*) та свійського яка (*Bos grunniens*).

Отже, дуже цікавим є факт такої суттєвої відмінності будови mRNA гена *DGAT1* для свійської та дикої форми яка.

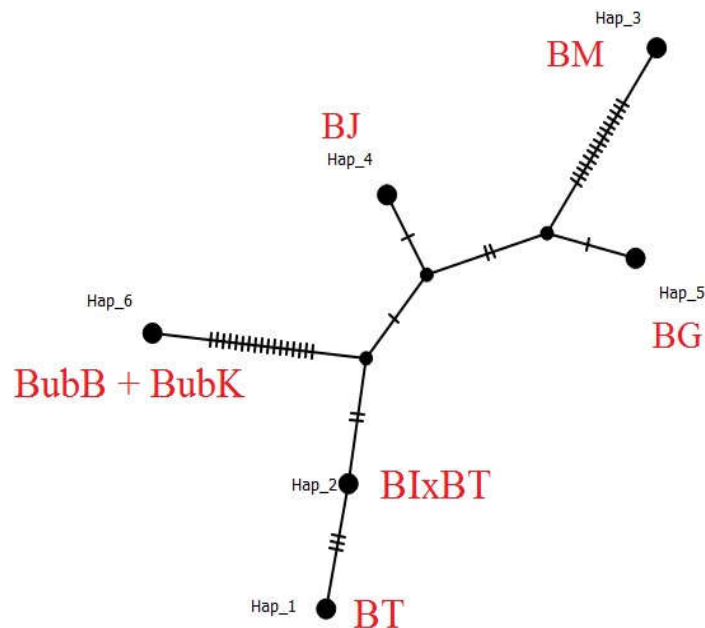


Рис. 19. Дерево замін нуклеотидів між окремими гаплотипами mRNA гена *DGAT1* биків (*Bovina*)

Для філогенетичного аналізу та визначення місця представників биків серед інших ратичних, нами було проаналізовано 11 послідовностей mRNA гена *DGAT1*, які крім представників родів биків (*Bos* та *Bubalis*), також включали і інші роди.

Загальна довжина послідовності складала 6435 п.н., спільною була ділянка 3285-3970 п.н. В межах цієї ділянки mRNA гена *DGAT1* нами було виявлено 47 поліморфних сайта, які формували присутність 8 гаплотипів (рис. 20).

Найменшу кількість замін (у порівнянні із референтною послідовністю XM_027560501.1_Bos_indicus_x_Bos_taurus) було відмічено для гаплотипу 2 (одна заміна), тоді як найбільшу кількість замін для гаплотипів 4 та 5.

	10	20	30	40
Нар_1	GGGGCCGTCGGCACAAGACAAGTCGGGCCACGACTTTTTGCCGGTCG			
Нар_2C..			
Нар_3CCC.T...CTA			
Нар_4	AAACGAAGTACAGAGGCCTGGTCTTCCAGGAACTGA.C.A....C..			
Нар_5	AAACGAAGTACAGAGGCCTGGTC.TCCAGGAACTGA.C.A....C..			
Нар_6CCC.TT..CT.			
Нар_7AC..			
Нар_8C.C.T.A.C..			

Рис. 20. Наявність замінів нуклеотидів між окремими гаплотипами mRNA гена *DGAT1* ратичних

Якщо проаналізувати отримане дерево замінів нуклеотидів між окремими гаплотипами mRNA гена *DGAT1* ратичних, то можна відмітити, що гаплотипи 4 та 5 (які включають представників двох видів роду *Bubalis* – буйвіли) значно відрізняється від решти видів. Види роду *Bos* формують певне «ядро», від якого в бік, протилежний від розташування буйволів, опинилися свійська коза (*Capra hircus*), вівця (*Ovis aries*) та антилопа шабле рога (*Oryx dammah*).

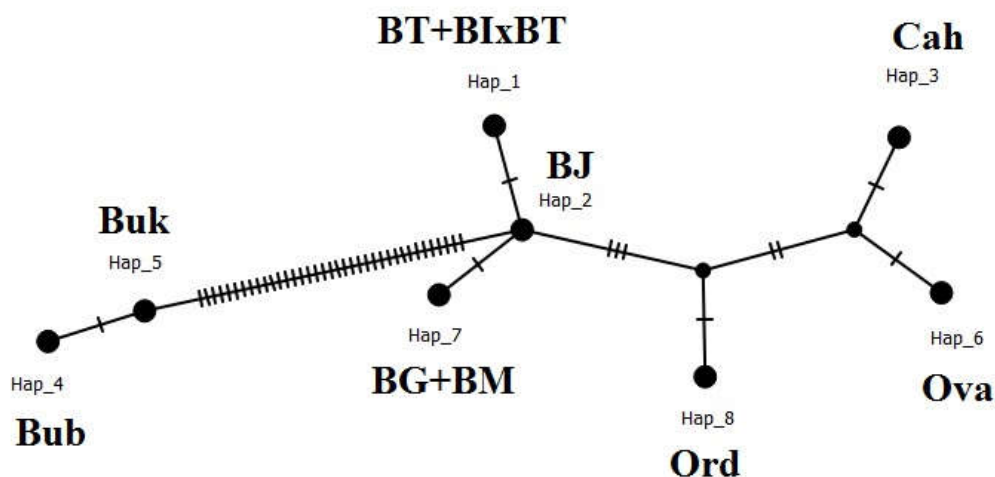


Рис. 21. Дерево замінів нуклеотидів між окремими гаплотипами mRNA гена *DGAT1* ратичних

3.3. Нуклеотидне різноманіття екзону 8 гена *DGAT1 Bos taurus*

Нами було проаналізовано 12 послідовностей ДНК, що відносилися до екзону 8 гена *DGAT1 Bos taurus*. У якості референтної була використана послідовність >AJ318490.1_Bos_taurus. Враховуючи наявність InDels, всього в аналіз було включено ділянка 10319-10626 п.н., довжиною 306 п.н.

При аналізі цієї ділянки нами було виявлено 7 поліморфних сайтів, що разом давали 9 гаплотипів (рис. 22).

Нап_1	CGCCATG
Нап_2	AAA.....
Нап_3	.AA.....
Нап_4	.AA.G..
Нап_5	.AAT...
Нап_6	.AA...T
Нап_7	.AA..C.
Нап_8	.A.....
Нап_9	..A.....

Рис. 22. Наявність замін нуклеотидів між окремими гаплотипами екзону 8 гена *DGAT1 Bos taurus*. (Виділено сайти 10433 та 10434)

Кількість замін варіювала від 1 (гаплотип № 9) до 3 (гаплотипи 2, 4-7). Оцінка гаплотипного різноманіття для цих проаналізованих послідовностей складала $Hd = 0,939 \pm 0,058$, а оцінка нуклеотидного різноманіття складала $\pi = 0,00587 \pm 0,00067$.

При цьому, гаплотип 1 був найпоширеніший і його було відмічено 3 рази, гаплотип 3 зустрічався два рази, а решта гаплотипів зустрічалася лише по одному разу.

Місця розташування поліморфних сайтів: 10336, 10433, 10434, 10454, 10460, 10536 та 10598. Найбільшу цікавість мають два сайти – 10433 та 10434. Саме ці сайти відповідають замінам $g \rightarrow a$ (10433) та $c \rightarrow a$ (10434), які і обумовлюють прояв поліморфізму *DGAT1_exon 8_K232A* у *Bos taurus*.

Як можна побачити на рис. 22, для гаплотипів 2-7 мала місце одночасно дві заміни $g \rightarrow a$ (10433) та $c \rightarrow a$ (10434), тоді як для гаплотипу 8 відмічається лише одна заміна $g \rightarrow a$ (10433), а для гаплотипу 9 – лише одна заміна $c \rightarrow a$ (10434).

Дерево замін нуклеотидів між окремими гаплотипами екзону 8 гена *DGAT1 Bos taurus* має відносно простий вигляд (рис. 23).

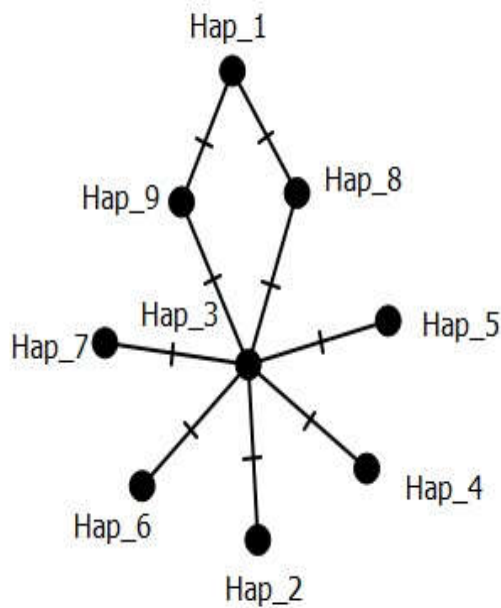


Рис. 23. Дерево замін нуклеотидів між окремими гаплотипами екзону 8 гена *DGAT1 Bos taurus*

Гаплотип 1 через гаплотипи 8 та 9 (по одній заміні) пов'язаний із гаплотипом 3 (дві заміни), від якого відходять гаплотипи 4-7 (по одній заміні в кожному випадку).

Таке відносно високе нуклетидне різноматіння екзону 8 гена *DGAT1 Bos taurus* (на 306 п.н. відмічено 7 поліморфних сайтів, що разом давали 9 гаплотипів) може свідчить про високий потенціал цього екзону та всього гену у пошуку інформативних SNPs для прогнозування продуктивних та біологічних ознак худоби молочних або м'ясних порід.

3.4. Генетичний поліморфізм *DGAT1*_ехон 8_K232A в різних популяціях *Bos taurus* України

На жаль, дослідження поліморфізму *DGAT1*_ехон 8_K232A не настільки поширено в різних популяціях *Bos taurus* України, ніж для інших структурних генів. Нам вдалося у літературі знайти інформацію лише для восьми популяцій худоби, з них, п'ять представляли УЧоРМ породи, що були генотиповані протягом 2008-2023 рр.

Але й ці обмежені дані свідчать про наявність високого внутрішньо- та міжпородного рівня мінливості за цим генетичним маркером (рис. 244).

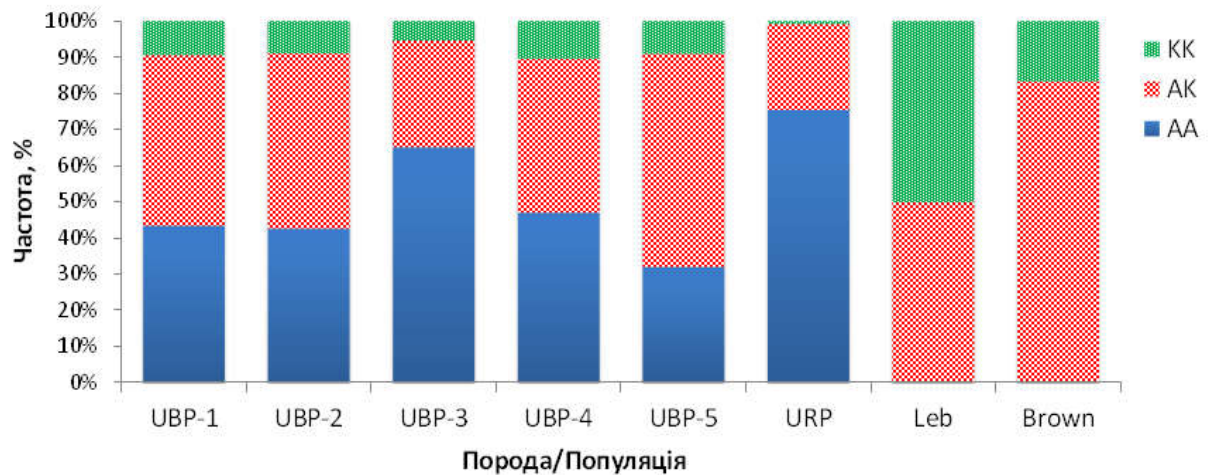


Рис. 24. Розподіл частот генотипів поліморфізму *DGAT1*_ехон 8_K232A в різних популяціях *Bos taurus* України

Частота генотипу AA варіювала від 0 (для популяцій лебединської та бурої карпатської породи) до 0,754 (для популяції УЧеРМ породи). В середньому, частота цього генотипу складала 0,382, а для п'яти популяцій УЧоРМ породи була вище (0,460).

Частота генотипу АК варіювала від 0,238 (для популяції УЧеРМ породи) до 0,500 (для популяцій лебединської породи). В середньому, частота цього генотипу складала 0,480, а для п'яти популяцій УЧоРМ породи була трохи нижче (0,453).

Нарешті, частота генотипу КК варіювала від 0,008 (для популяції УЧеРМ породи) до 0,833 (для популяцій бурої карпатської породи). В середньому, частота цього генотипу складала 0,138, а для п'яти популяцій УЧоРМ породи була нижче (0,086).

Відповідно, нами було встановлено високий внутрішньо- та міжпородного рівня мінливості за частотами алелів А та К поліморфізму *DGAT1*_ехон 8_K232A в різних популяціях *Bos taurus* України (рис. 25).

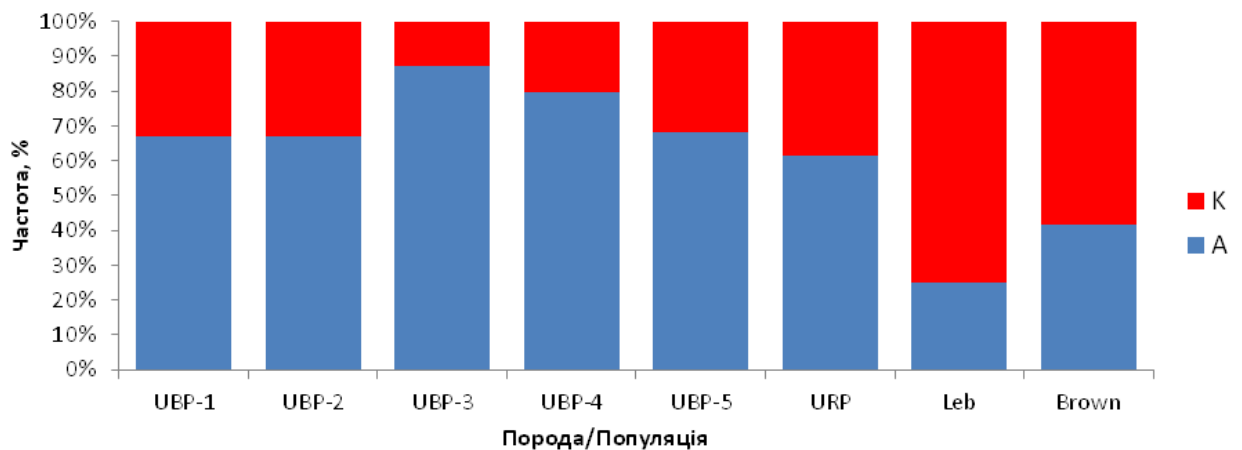


Рис. 25. Розподіл частот алелів А та К поліморфізму *DGAT1*_ехон 8_K232A в різних популяціях *Bos taurus* України

Частота алеля А варіювала від 0,250 (для популяцій лебединської породи) до 0,853 (для популяції УЧоРМ породи UBP-3). В середньому, частота цього алеля складала $0,622 \pm 0,071$, тоді як для п'яти популяцій УЧоРМ породи вона була трохи вище ($0,687 \pm 0,030$).

Відповідно, частота алеля К варіювала від 0,127 (для популяції УЧоРМ породи UBP-3) до 0,750 (для популяцій лебединської породи). В середньому, частота цього алеля складала $0,378 \pm 0,071$, тоді як для п'яти популяцій УЧоРМ породи вона була трохи нижче ($0,313 \pm 0,030$).

Рівень гетерозиготності у відношенні поліморфізму *DGAT1*_ехон 8_K232A в різних популяціях *Bos taurus* України значно коливався (рис. 26).

Хоча для більшості досліджених популяцій оцінки коефіцієнту інбридингу мали негативний знак, що свідчить про надлишок тварин із

гетерозиготним генотипом. Особливо це стосувалася популяції бурої карпатської породи, для якої фактична гетерозиготність (0,833) майже вдвічі перевищувала очікувані (0,486), що, відповідно, призвело до дуже високої та негативної оцінки коефіцієнту інбридингу (-0,714).

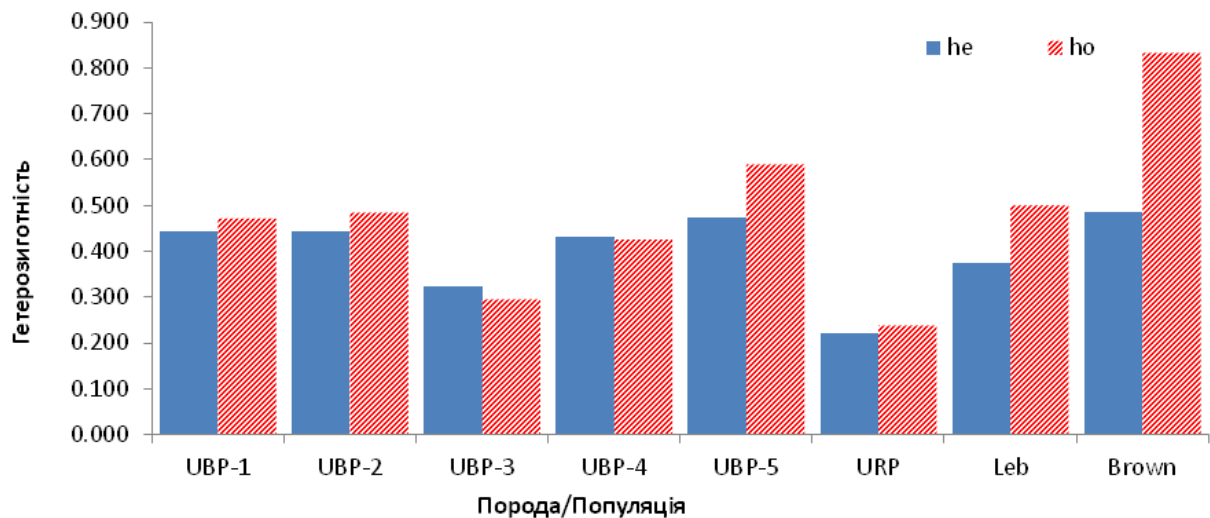


Рис. 26. Оцінки фактичної (*h_o*) та очікуваної (*h_e*) гетерозиготності у відношенні поліморфізму *DGAT1_exon 8_K232A* в різних популяціях *Bos taurus* України

Позитивні оцінки коефіцієнту інбридингу (+0,015 та +0,086) було відмічено в двох популяціях УЧоРМ породи (UBP-4 та UBP-3, відповідно).

В двох випадках (із 8 досліджених популяцій) нами було відмічено вірогідне відхилення фактичного розподілу генотипів за поліморфізмом *DGAT1_exon 8_K232A* від стану генетичної рівноваги за Касла-Гарді-Вайнбергом. Це стосувалося одній популяції УЧоРМ породи (UBP-5) та популяції бурої карпатської породи (в обох випадках $P < 0,001$). Знову ж, в обох випадках це було обумовлено надлишком тварин із гетерозиготним генотипом.

На підставі отриманих для досліджених популяцій оцінок *F*-статистик С.Райта, що було розраховано за розподілом частот генотипів за поліморфізмом *DGAT1_exon 8_K232A*, нами було встановлено, що, як в цілому для різних порід худоби України, так і для п'яти популяцій УЧоРМ породи, спостерігається значний надлишок особин із гетерозиготним

генотипом (АК). Рівень генетичної міжпородної диференціації був відносно високим ($F_{ST} = +0,065$), тоді як п'ять досліджених популяцій УЧОРМ породи були дуже гомогенними за частотами генотипів поліморфізму *DGAT1*_exon 8_K232A ($F_{ST} = +0,016$) (табл. 8).

Таблиця 8

Оцінки F -статистик С.Райта на підставі розподілу частот генотипів за поліморфізмом *DGAT1*_exon 8_K232A при різних критеріях об'єднання популяцій *Bos taurus* України

Критерій об'єднання популяцій	F -статистики		
	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Для 5-ти популяцій корів УЧОРМП	-0,073	-0,056	+0,016
Разом для восьми популяцій <i>Bos taurus</i> України	-0,100	-0,029	+0,065

3.5. Мета-аналіз зв'язку між поліморфізмом *DGAT1*_exon 8_K232A та молочною продуктивністю корів

Згідно з мета-аналізом, представленим на рисунку 27, порівняння генотипів АА та АК за поліморфізмом гена *DGAT1*_exon 8_K232A показало, що загальна стандартна різниця середніх (SMD) між генотипами становить 0,04 у 95% довірчому інтервалі $[-0,15; 0,22]$, що вказує на відсутність значної різниці в продуктивності між генотипами АА та АК за надоями. Гетерогенність аналізу є низькою ($Tau^2 = 0,0554$; $I^2 = 41\%$), що свідчить про відносно однорідні дані досліджень.

Отже, можна зробити висновок, що різниця між генотипами АА та АК за продуктивністю (надоями за 305 днів) є мінімальною, і генотип не чинить значного впливу на молочну продуктивність у досліджених популяціях.

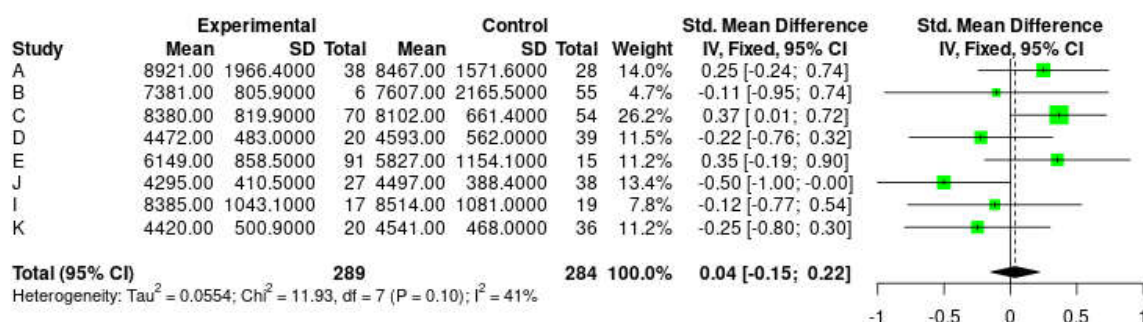


Рис 27. Результати мета-аналізу різниці між генотипами AA та АК поліморфізму *DGAT1*_ехон 8_K232A у відношенні надою за 305 днів, кг

Загальна стандартна різниця середніх (*SMD*) між генотипами AA та КК становить 0,42 у 95% довірчому інтервалі (0,03; 0,81), що свідчить про перевагу генотипу AA над КК з точки зору надоїв. Гетерогенність ($Tau^2 = 0,0001$; $I^2 = 0\%$) є мінімальною, що вказує на високу узгодженість результатів досліджень і відсутність значних відмінностей між ними. Згідно з рис. 28, генотип AA може асоціюватися з вищими показниками надою за 305 днів у порівнянні з генотипом КК, хоча різниця не є дуже великою, але статистично значущою.

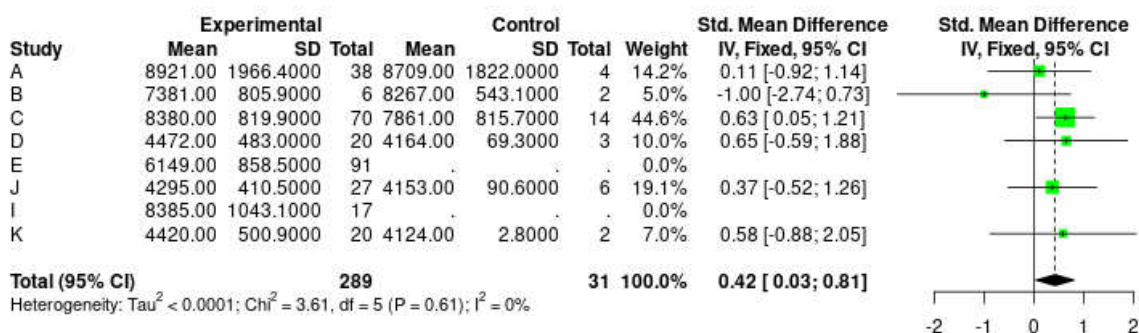


Рис. 28. Результати мета-аналізу різниці між генотипами AA та КК поліморфізму *DGAT1*_ехон 8_K232A у відношенні надою за 305 днів, кг

Порівняння генотипів АК та КК за поліморфізмом гена *DGAT1* (екзон 8, K232A) щодо надою за 305 днів демонструє, що загальна стандартна різниця середніх (*SMD*) між генотипами АК та КК становить 0,42 у 95% довірчому інтервалі (0,04; 0,81). Це вказує на помірну перевагу генотипу АК над КК у надої. Значення $Tau^2 = 0$ та $I^2 = 0\%$ свідчить про відсутність гетерогенності серед досліджень.

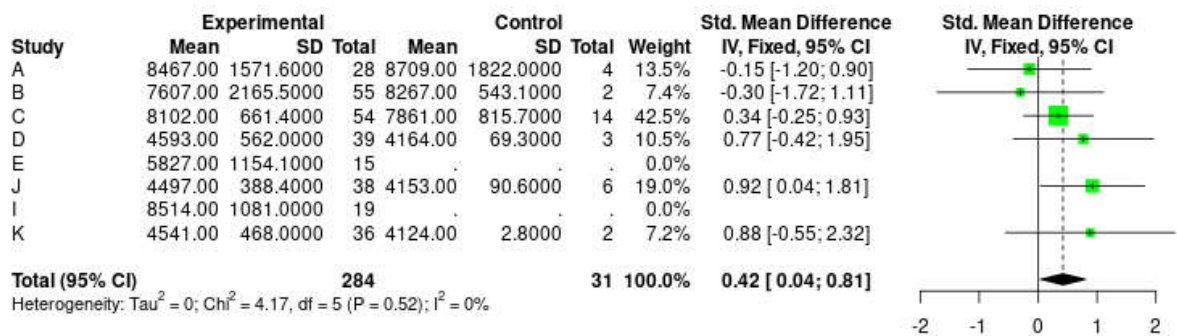


Рис. 29. Результати мета-аналізу різниці між генотипами АК та КК поліморфізму *DGAT1* екзон 8_K232A у відношенні надою за 305 днів, кг

На основі представлених результатів мета-аналізу (рис. 30), можна зробити висновок, що генотипи АА та АК за поліморфізмом *DGAT1* (екзон 8, K232A) у відношенні вмісту жиру в молоці (%) мають значущу відмінність у бік генотипу АК. Значення *SMD* становить -0,31 (95% довірчий інтервал [-0,68; 0,06]). $I^2 = 57\%$ свідчить, що більше половини варіацій між результатами обумовлено гетерогенністю між дослідженнями. Помірна гетерогенність може бути пов'язана з різними вибірками корів, умовами утримання або підходами до аналізу в окремих дослідженнях.

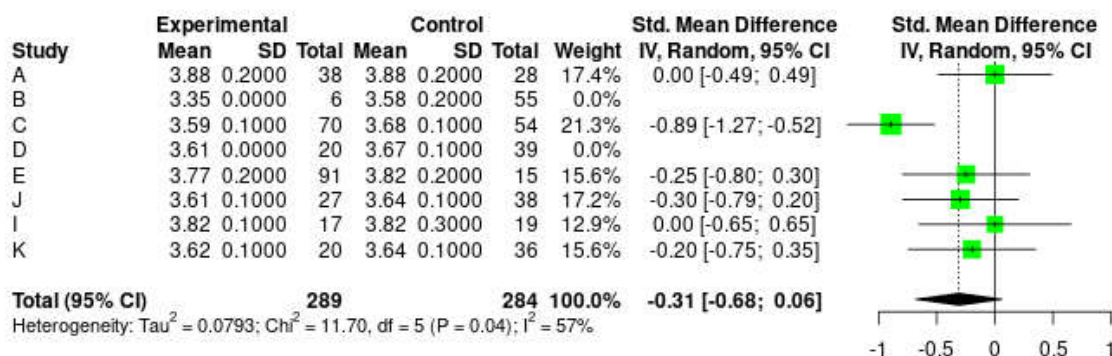


Рис. 30. Результати мета-аналізу різниці між генотипами AA та АК поліморфізму *DGAT1*_ехон 8_K232A у відношенні вмісту жиру в молоці, %

Генотип AA демонструє тенденцію до зниження вмісту жиру в молоці порівняно з генотипом КК. Значення *SMD* становить -1,48 (95% довірчий інтервал [-3,27; 0,32]). *I*² = 77% високий рівень гетерогенності, що може бути зумовлений різними умовами проведення досліджень.

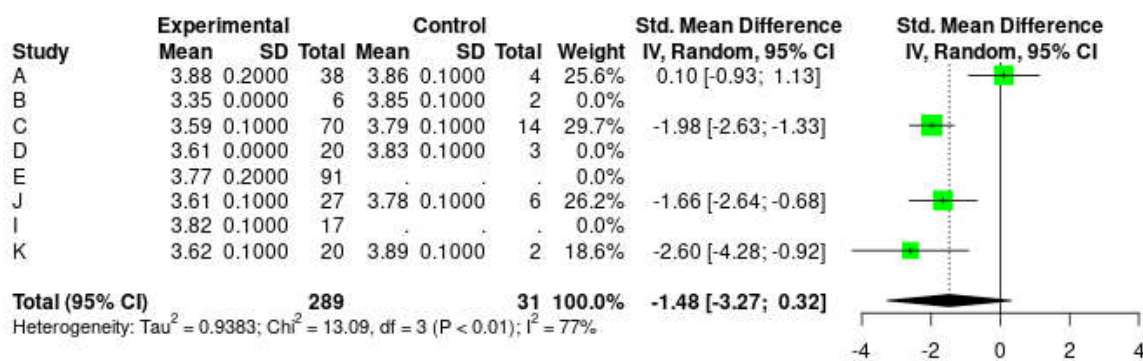


Рис. 31. Результати мета-аналізу різниці між генотипами AA та КК поліморфізму *DGAT1*_ехон 8_K232A у відношенні надою з вмісту жиру в молоці, %

Загальна стандартна різниця середніх (*SMD*) становить -1,13 (95% довірчий інтервал [-1,53; -0,73]). Це свідчить про значно нижчий вміст жиру

в молоці у корів із генотипом АК порівняно з КК. $I^2 = 44\%$ середній рівень гетерогенності, прийнятний для мета-аналізу. Генотип КК є переважним у порівнянні з АК щодо вмісту жиру в молоці, що робить його більш перспективним для селекції корів молочного напрямку.

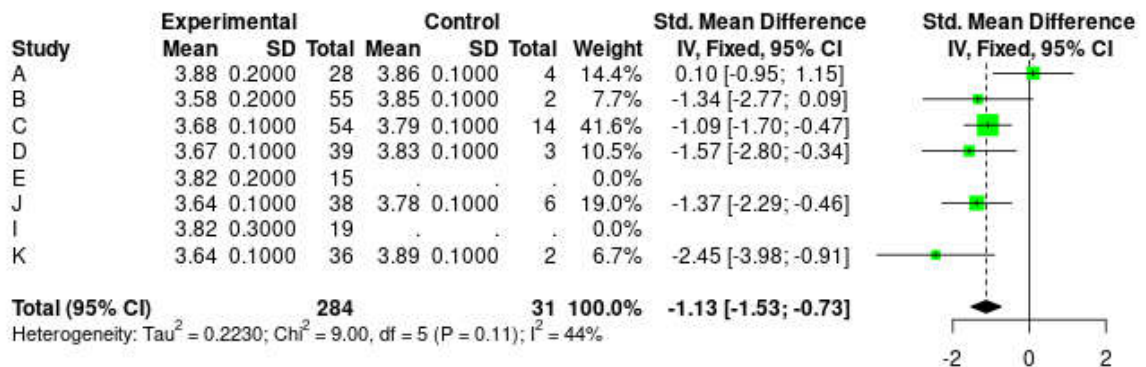


Рис. 32. Результати мета-аналізу різниці між генотипами АК та КК поліморфізму *DGAT1* екзон 8_K232A у відношенні вмісту жиру в молоці, %

На основі проведеного мета-аналізу (рисунки 26–31), можна зробити наступні висновки:

1. За показником надою за 305 днів генотип АА має суттєву перевагу над КК, що підтверджено статистично значущою різницею (SMD : 0,42 [0,03; 0,81]). Корів із генотипом АА можна розглядати як перспективних для підвищення загальної молочної продуктивності.
2. Генотип АК також демонструє перевагу над КК ($SMD = 0,42$, [0,04; 0,81]). Значущість аналогічна порівнянню АА та КК.
3. За показником вмісту жиру в молоці генотип КК демонструє суттєво вищий вміст жиру порівняно з АК (SMD : -1,13 [-1,53; -0,73]) та АА (SMD : -1,48 [-3,27; 0,32]).

3.6. Економічна частина

Інвестиції в генотипування дозволяють приймати обґрунтовані рішення щодо впровадження молекулярно-генетичних технологій, які сприяють підвищенню продуктивності, зниженню витрат та підвищенню рентабельності тваринницьких господарств у довгостроковій перспективі. Генотипування дозволяє на ранніх етапах ідентифікувати тварин із низьким генетичним потенціалом продуктивності, що допомагає уникнути затрат на їх вирощування та утримання, завдяки чому з'являється можливість відбирати тварин із бажаними алелями генів, які відповідають за молочну продуктивність, вміст жиру та білка в молоці, стійкість до хвороб тощо.

Генотипування дозволяє чітко оцінити витрати на впровадження технології порівняно з економічною вигодою у вигляді збільшення продуктивності або зменшення витрат.

Таблиця 9

Аналіз економічних витрат на генотипування ВРХ за маркерними генами молочної продуктивності

Назва гену	Методика аналізу	Вартість на 1 особу (грн)	Вартість на 100 особин (грн)
<i>DGAT1</i>	PCR-RFLP	1130,00	113 000,00
<i>CSN3</i>	PCR-RFLP	1000,00	100 000,00
<i>BLG</i>	Real-time PCR	1200,00	120 000,00
<i>PRL</i>	PCR-RFLP	900,00	90 000,00
<i>LEP</i>	Real-time PCR	1100,00	110 000,00

При генотипуванні великого поголів'я витрати суттєво зростають, тому доцільно оцінювати економічну ефективність програми селекції перед її впровадженням (табл. 10).

Таблиця 10

Вартість реагентів для проведення генотипування

Назва реагенту	Кількість на 1 пробу	Кількість на 100 проб	Вартість за одиницю (грн)	Вартість на 1 пробу (грн)	Вартість на 100 проб (грн)
Екстракція					
Chelex 100 (смола)	200 мкл	20 мл	1,200,00 (1 г \approx 100 мл)	24,00	2,400,00
Трис-EDTA (TE) буфер	100 мкл	10 мл	3000 грн/250 мл	12,00	120,00
Дистильована вода (PCR Grade)	200 мкл	20 мл	0,10/мкл	0,20	20,00
Разом				37,00 грн	2 540,00 грн
ПЛР-ПДФ					
Буфер для ДНК-полімерази	2,0 мкл	200 мкл	2000 грн/1 мл	20,00	200,00
Суміш дНТФ (Qiagen)	1,0 мкл	100 мкл	6700 грн/1 мл	7,00	700,00
ДНК-полімераза (Fermentas)	0,2 мкл	20 мкл	6000 грн/1.25 мл	30,00	300,00
Дистильована вода (ddH ₂ O)	3,8 мкл	380 мкл	0,10 грн/мкл	0,38	38,00
Разом				58,00	1 238,00
Візуалізація					
Агароза	0,3 г	30,0 г	15000 грн/500 г, 3000 грн/100 г	9,00	900,00
Бромід етидію	2 мкл	200 мкл	12 грн/мкл	24,00	2 400,00
1xTBE-буфер (готовий розчин)	40 мл	4,000 мл	2000 грн/1000 мл	800,00	80 000,00
GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder	5 мкл	500 мкл	10,000 грн/500 мкл	100,00	10 000,00
GeneRuler™ 1 kb Plus DNA Ladder	5 мкл	500 мкл	10,000 грн/500 мкл	100,00	10 000,00
Разом				1034,00	103 300,00

РОЗДІЛ 4

ОХОРОНА ПРАЦІ

Україна як член Міжнародної організації праці (МОП) взяла на себе зобов'язання щодо виконання міжнародних конвенцій з охорони праці. До міжнародних актів, які регулюють питання охорони праці від факторів біологічного впливу, необхідно віднести такі, як Конвенція МОП про безпеку та гігієну праці та виробниче середовище, Конвенція МОП про захист працівників від професійного ризику, спричиненого забрудненням повітря, шумом та вібрацією на робочих місцях, Картахенський протокол про біобезпеку до Конвенції про біологічне різноманіття, низка рекомендацій МОП (щодо безпеки та гігієни праці і виробничого середовища, щодо охорони здоров'я працівників на робочих місцях) тощо [6].

Дотримання основних принципів охорони праці виступає в сучасному світі ефективним інструментом, що дозволяє вирішити спектр завдань:

1. Гарантія захисту працівників на виробництві від впливу небезпечних і шкідливих факторів, які безпосередньо впливають на їх здоров'я і здоров'я їхніх дітей;
2. Зниження грошових коштів, витрачених на виробничий процес;
3. Виключення ймовірності серйозних збитків внаслідок втрати робочого часу;
4. Виключення ймовірності пред'явлення претензій і призначення санкцій з боку органів, які здійснюють контроль і стеження за дотримання статей трудового законодавства України;
5. Підвищення рівня продуктивності персоналу та якості праці працівників [9].

В узагальненому вигляді процес управління охороною праці повинен передбачати алгоритм дій, виконуваних за замкнутим циклом:

1. Діагностику (аналіз та оцінку) стану системи прогнозування виробничого ризику й можливих наслідків планування запобіжних заходів прийняття управлінських рішень;
2. Організацію виконання;
3. Контроль за виконанням, процесом виробництва і діями персоналу діагностики [14]

Зміст системного підходу полягає в тому, що будь-яка система управління або її окрема частина повинна розглядатися як ціле, самостійне явище, яке характеризується метою діяльності, структурою, ресурсами, процесами та взаємозв'язками з іншими системами. Системний підхід передбачає, що ефективна система управління охороною праці має бути інтегрованою з усіма іншими аспектами діяльності організації. Вона повинна враховувати взаємозв'язки та вплив різних елементів на безпеку та здоров'я працівників [24].

Із введенням Системи управління охороною праці (СУОП) кількість недоліків охорони праці знижують ризик нещасних випадків і можливостей заподіяння шкоди здоров'ю, забезпечують усунення зупинень у виробничому процесі і пов'язаних із цим виробничих витрат [20].

До основних системоутворюючих функцій управління охороною праці (УОП) на виробництві належать:

- формування відповідної політики в галузі охорони праці (працезахоронної політики) на основі державної політики в цій сфері;
- визначення основних цілей і завдань управління охороною праці;
- розробка перспективного (стратегічного), щорічного й оперативного планів реалізації політики в галузі охорони праці;
- розробка цільових програм з охорони праці;
- реалізація (впровадження) існуючих програм і планів з охорони праці;

- формування у персоналу свідомості щодо необхідності обов'язкового виконання вимог охорони праці;
- застосування заходів щодо мотивації роботи з охорони праці;
- оперативне управління і координація дій у сфері охорони праці;
- моніторинг показників стану охорони праці;
- звітування, обмін інформацією, ведення відповідної документації;
- профілактика виробничого травматизму та професійних захворювань;
- аналіз і постійне вдосконалення СУОП.

У процесі системного аналізу необхідно брати до уваги усі ці фактори для того, щоб врахувати різні потенційні небезпеки, які можуть бути пов'язані з тією чи іншою специфічною роботою чи завданням. Процес системного аналізу поєднує поняття людських ресурсів, виробничих приміщень, технологічних процесів та (або) устаткування, які повинні функціонувати в середині специфічного виробничого середовища, виконуючи одне або декілька завдань [4]

В підсумку, стан охорони праці в Україні можна оцінити як такий, що потребує значного вдосконалення, попри існуючу нормативно-правову базу та міжнародні зобов'язання. В Україні діє досить розгалужена нормативно-правова база з охорони праці, яка враховує основні вимоги Міжнародної організації праці (МОП), однак актуальною є проблема оновлення законодавства, особливо в контексті адаптації до стандартів Європейського Союзу, що передбачено Угодою про асоціацію з ЄС.

РОЗДІЛ 5

БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

Сучасний рух суспільних процесів в Україні та світі зумовлює необхідність формування ефективного механізму управління національною безпекою, спроможного забезпечити поступ суспільства та держави на шляху до спільноти розвинутих демократичних країн. Цей механізм має забезпечити захист життєво важливих національних інтересів у складному зовнішньому та внутрішньому середовищі, яке характеризується низкою викликів і загроз національній безпеці, в тому числі у воєнній сфері [15].

Сьогодні головні загрози для безпеки країни виникають як у зовнішньої, так і у внутрішній сфері життя і діяльності суспільства. Основна небезпека – це військові дії, а також перспектива прогресуючої економічної та технічної відсталості країни, соціальної напруженості і дезінтеграції у суспільстві, швидко наростаючої екологічної небезпеки. На тлі цих явищ, як наслідок, зростає небезпека для життя кожної особистості та суспільства в цілому [13].

Військова агресія росії вимагає невідкладних змін у системі підготовки кадрового потенціалу в галузі цивільного захисту. ДСНС встановлює нові та більш суворі вимоги щодо захисту населення: розширення обов'язків(додаткові функції, такі як евакуація поранених та охорона критично важливих об'єктів), захист населення(організація прихованих укриттів та надання інструкцій стосовно обстеження обстрілюваних територій і дій під час хімічних атак співпраця з військовими(забезпечення ефективної співпраці ДСНС з військовими силами), інформаційна безпека(розповсюдження надійної інформації та захист від дезінформації), евакуація населення (готовність ДСНС до організації масової евакуації населення). Необхідність забезпечення захисту цивільного населення від воєнних злочинів, викликала зміни в законодавстві та стала основою для

подальшого розвитку та реформування системи державного нагляду у сфері пожежної та техногенної безпеки [11].

Відповідно до Кодексу цивільного захисту України, значну увагу в діяльності ДСНС звернуто на Положення про підсистему реагування на надзвичайні ситуації, проведення аварійно-рятувальних та інших невідкладних робіт єдиної державної системи цивільного захисту, яке було затверджене наказом МВС України №356 від 04 травня 2016 року. У змісті наказу МВС України №356 визначено склад органів підсистемного реагування на надзвичайні ситуації, до яких входять:

- формування оперативно-рятувальної служби цивільного захисту, які залучаються до виконання аварійно-рятувальних та інших невідкладних робіт, а також спеціальні формування в режимі надзвичайного стану та в особливий період, а також здійснення цілодобового чергування та забезпечення функціонування системи збору, оброблення, узагальнення та аналізу інформації про обстановку в районах надзвичайних ситуації;
 - спеціальні комісії з ліквідації надзвичайної ситуації;
 - керівник робіт з ліквідації наслідків надзвичайної ситуації та його робочого органу - штабу з ліквідації наслідків надзвичайної ситуації»
- [1].

Так, у 2021 році ДСНС у взаємодії з Нацполіцією та Нацгвардією виконувала завдання з ліквідації наслідків надзвичайних ситуацій і пожеж, проведення відновлювальних робіт та гуманітарного розмінування в районі проведення операції Об'єднаних сил. Упродовж минулого року до виконання завдань за призначенням від ДСНС залучалося понад 1 тис. осіб та 140 од. техніки, якими: ліквідовано 6 тис. 801 пожежу (Донецька – 4 тис. 346 пожеж, Луганська – 2 тис. 445 пожеж), під час яких врятовано 135 осіб (Донецька – 74, Луганська – 61) та 1 тис. 952 будівлі і споруди (Донецька – 732, Луганська – 1 тис. 220); відновлено 655 житлових будинків та об'єктів інфраструктури пошкоджених внаслідок обстрілів; забезпечено роботу семи пунктів надання допомоги населенню, розташованих у межах контрольних

пунктів в'їзду/виїзду уздовж лінії зіткнення на території Донецької («Майорське», «Мар'їнка», «Новотроїцьке» та «Гнутове») та Луганської («Золоте», «Станиця Луганська», «Щастя») областей, у яких надано допомогу понад 6 тисячам людей. задіяних до проведення проміжних та повторних місцевих виборів. Завдяки вжитим заходам на об'єктах задіяних до проведення виборів не допущено виникнення надзвичайних ситуацій. Всього для забезпечення пожежної і техногенної безпеки під час виборів від ДСНС залучалося понад 23 тис. 500 осіб та 7 тис. 250 од. техніки [31].

В підсумку, Україна стоїть перед серйозними викликами у сфері національної безпеки, які вимагають ефективних механізмів управління та модернізації існуючої системи. Сучасні суспільні процеси в Україні та світі вимагають створення ефективного механізму управління національною безпекою, здатного забезпечити стабільність і розвиток держави.

Ключова роль у цьому належить ДСНС, яка демонструє високу готовність до виконання завдань. Кодекс цивільного захисту та інші нормативні акти забезпечують основу для функціонування єдиної державної системи реагування на надзвичайні ситуації.

Затверджено механізми оперативного реагування, які включають постійне чергування та управління ліквідацією наслідків. Пріоритетними залишаються адаптація до нових загроз та забезпечення безпеки населення в умовах військового конфлікту.

РОЗДІЛ 6

ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

Охорона навколишнього середовища на глобальному рівні вимагає комплексного підходу до збереження біорізноманіття, що включає не лише дикі, а й сільськогосподарські види. Це означає необхідність забезпечення стійкості екосистем, підтримки різноманіття флори та фауни, включаючи тварин і рослини, які мають значення для продовольчої безпеки та економіки.

На сучасному етапі однією із глобальних проблем людства є посилення загрози неконтрольованого звуження біологічного різноманіття сільськогосподарських тварин. Генетичне різноманіття є необхідною умовою збереження генів і генних комплексів, які визначають, насамперед, адаптаційні якості, що набувають виняткового значення внаслідок поширення нових хвороб, кліматичних змін довкілля. В Україні за останні 20 років різко скоротилось підконтрольне поголів'я сільськогосподарських тварин місцевих вітчизняних порід, які є носіями особливо цінних спадкових ознак [19].

В Україні уже втрачено наступні породи: скотарство: поліська, червона смілянська, чорно-ряба подільська, українська білоспинна; вівчарство: курдючні вівці чунтук, волоські (волошські, валахські) вівці грубововнової довгохвостой породи, вівці пірні, решетилівські вівці, чушка (бесарабська, дессанська, цушка, моканка), мазаєвський меринос (молоканська, чорноморська вівця), малич (кримська вівця), гуцульська порода овець; конярство: стрілецька, германобесарабська, ногайська, а також тарпан; свинарство: три породні групи свиней та одна локальна популяція європейської коротковухой свині. На межі повного зникнення перебувають сіра українська, білоголова українська, бура карпатська, лебединська породи великої рогатої худоби, гуцульська порода коней, сокільська порода овець, миргородська, українська степова ряба та біла породи свиней [12].

Сучасна стратегія захисту біорізноманіття в тваринництві України потребує обґрунтування з урахуванням реальної ситуації, яка складається під впливом внутрішніх і зовнішніх чинників розвитку цієї галузі, кількісних і якісних змін, які відбулися у видовому та порідному складі у тваринництві. Також слід брати до уваги правові аспекти функціонування тваринництва в зв'язку із проведенням економічних реформ та євроінтеграції [28].

В системі захисту біологічного різноманіття виникає нагальна потреба: перше – прийняття одного нормативного акту з питання біологічної безпеки (наприклад, Кодексу біологічної безпеки України) та друге – імплементації норм ЄС щодо забезпечення біологічної безпеки на європейській частині континенту [16].

Проблема збереження біорізноманіття у частині порід і типів сільськогосподарських тварин в Україні має тривалу історію наукового дослідження обґрунтування і супроводу. Зокрема, активну наукову роботу у сфері раціонального використання та збереження генетичних ресурсів впродовж 1996–2017 років проводив Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН. РГТ ім. М.В. Зубця НААН з 2006 р. є головною установою, яка координує виконання програми наукових досліджень НААН «Збереження генофонду тварин», завдання якої виконують 12 наукових установ системи академії. Їх зусиллями розроблювалися питання, безпосередньо пов'язані з глобальною проблемою збереження біорізноманіття при одночасному вирішенні селекційно-генетичних питань щодо створення резерву спадкової мінливості, дослідження закономірностей генетичних процесів, що відбуваються при розведенні тварин у малочисельних закритих популяціях [28, 3].

Програма «Збереження генофонду тварин» ґрунтується на розробці методології комплексної оцінки, раціонального використання і довготривалого збереження генетичних ресурсів тварин; запровадженні методів генетико-популяційного моніторингу в генофондових стадах і системи регуляції й оптимізації чисельності генофондових популяцій на

основі поєднання біотехнологічних і генетико-селекційних технологій кріоконсервації сперми, ембріонів, ооцитів і ДНК, спрямованого добору, підбору і створення віртуальних кріоконсервованих генофондових стад. Результатом реалізації завдань програми «Збереження генофонду» є членство України з 2009 р. у Європейському регіональному центрі генетичних ресурсів тварин (European Regional Focal Point for Animal Genetic Resources, ERFP) при FAO [3].

Але незважаючи на тривалу комплексну роботу численних державних закладів з генетико-популяційного моніторингу у генофондових стадах, з регуляцією і оптимізацією їх чисельності для поєднання біотехнологічних, генетико-селекційних і кріотехнологій, кількість тварин невпинно зменшується, а внаслідок воєнної агресії РФ проти України, цей процес став критичним. На сьогодні наявність у банку генетичних ресурсів ІРГТ ім. М.В. Зубця НААН, який має статус національного надбання (розпорядження Кабінету Міністрів України від 19.09.2002 № 472-р) не відповідає потребам біотехнологій відтворення ВРХ як шляхом *in situ*, так і для створення ВРГС, причому це стосується в першу чергу незначної кількості або повної відсутності ембріонів, тобто зразків жіночих генотипів [10].

Отже, в Україні спостерігається критична ситуація з втратою місцевих порід тварин, що вже призвело до зникнення кількох порід та популяцій. Збереження генофонду вимагає комплексного підходу, включаючи прийняття нормативних актів, наукові дослідження та застосування біотехнологій для збереження генетичних ресурсів. Програма «Збереження генофонду тварин» демонструє важливість інтеграції генетичних і біотехнологічних методів, зокрема кріоконсервації, для збереження спадкової мінливості тварин. Однак, незважаючи на зусилля державних установ, війна та інші фактори призвели до погіршення ситуації, зокрема до зменшення кількості тварин, що підвищує ризики втрати унікальних генетичних ресурсів.

ВИСНОВКИ

1. Діацилгліцерол О-ацилтрансфераза 1 (*DGATI*) – маркер QTL для властивостей виробництва молока, розташований в центромерній області 14 хромосоми *Bos taurus* (BTA14), займає положення 603,035..612,781 пар нуклеотидів та складається з 17 екзонів. Ген *DGATI* великої рогатої худоби транскрибується в мРНК, що містить 245 п.н. послідовності 5'-нетрансльованої області; 1470 п.н., що кодує білок з 489 амінокислот, і 275 п.н. послідовності 3'-нетрансльованої області, включаючи сигнал поліаденілування ААТААА.

2. Найбільше відрізняються за амінокислотним складом білка *DGATI* від биків і буйволів види коней (рід *Equus*) і свиня свійська (*Sus scrofa*). Найближчими до биків і буйволів є коза, вівця та вівцебик, хоча свійська коза має деякі особливості в структурі цього білка. Дещо далі від них розташовані оленеві (олені, лані, північний олень).

3. Проаналізовано 12 послідовностей ДНК, що відносилися до екзону 8 гена *DGATI Bos taurus*, в результаті чого було виявлено 7 поліморфних сайтів. Оцінка гаплотипного різноманіття для цих проаналізованих послідовностей склала $Hd = 0,939 \pm 0,058$, а оцінка нуклеотидного різноманіття складала $\pi = 0,00587 \pm 0,00067$. Для гаплотипів 2-7 мала місце одночасно дві заміни $g \rightarrow a$ (10433) та $c \rightarrow a$ (10434), тоді як для гаплотипу 8 відмічається лише одна заміна $g \rightarrow a$ (10433), а для гаплотипу 9 – лише одна заміна $c \rightarrow a$ (10434).

4. Для різних порід худоби України, так і для п'яти популяцій УЧоРМ породи, спостерігається значний надлишок особин із гетерозиготним генотипом (АК). Рівень генетичної міжпородної диференціації був відносно високим ($F_{ST} = +0,065$), тоді як п'ять досліджених популяцій УЧоРМ породи були дуже гомогенними за частотами генотипів поліморфізму *DGATI*_ехон 8_K232A ($F_{ST} = +0,016$).

5. За показником надою за 305 днів генотип АА має суттєву перевагу над КК, що підтверджено статистично значущою різницею ($SMD = 0.42$ [0,03; 0,81]). Генотип АК також демонструє перевагу над КК ($SMD = 0,42$, [0,04; 0,81]).

6. За показником вмісту жиру в молоці генотип КК демонструє суттєво вищий вміст жиру порівняно з АК ($SMD: -1,13$ [-1,53; -0,73]) та АА ($SMD: -1,48$ [-3,27; 0,32]).

ПРОПОЗИЦІЇ

Згідно з отриманими результатами, можна запропонувати низку рекомендацій для фахівців-селекціонерів скотарських господарств України:

1. Подальше дослідження генетичних маркерів, таких як *DGAT1*, є ключовими для підвищення ефективності молочної продуктивності в сучасному тваринництві і дозволить здійснювати точний добір тварин із бажаними характеристиками.

2. За напрямом молочної продуктивності тварини із генотипами АА та АК за геном діацилгліцерол О-ацилтрансферази 1 (поліморфізм *DGAT1*_ехон 8_K232A) є найбільш перспективними для селекції за загальним надоєм. Генотип КК вірогідно є найкращим кандидатом для подальшої селекції у молочному напрямку за показником вмісту жиру в молоці.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Про затвердження «Положення про підсистему реагування на надзвичайні ситуації, проведення аварійно-рятувальних та інших невідкладних робіт єдиної державної системи цивільного захисту»: Наказ МВС України №356 від 04 травня 2016 року.

2. Альшамайлех Х. *Обґрунтування критеріїв відбору із застосуванням маркер-асоційованої селекції у молочному скотарстві* : Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії. Київ, 2023. 167 с.

3. Бащенко М. І., Гладій М. В., Полупан Ю. П. Теоретико-методологічні та науково-організаційні засади становлення Банку генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин Інституту розведення і генетики тварин імені МВ Зубця НААН. *Розведення і генетика тварин*. 2017. № 53. С. 7–14.

4. Березуцький В. *Управління охороною праці* : навч. посіб. для студентів спеціальн. «Цивільна безпека», освіт. програми «Охорона праці». Харків : ФОП Панов А.М., 2021. 412 с.

5. Бірюкова О. *Методологія визначення тварин бажаного типу в молочному скотарстві* : Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук. Київ, 2021. 364 с.

6. Данилова В. В., Дехтяренко Н. В., Горшунов Ю. В. Біобезпека в контексті охорони праці. Біотехнологічний і нормативно-правовий аспекти. *Наукові вісті Національного технічного університету України Київський політехнічний інститут*. 2016. № 3. С. 20–29.

7. Димань Т., Дубин О., Плівачук О. Молекулярна діагностика поліморфізму QTL-генів в української чорно-рябої молочної худоби. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2014. № 1. С. 5–8.

8. Дзіцюк В., Мельник О., Спиридонов В. Генетична експертиза походження тварин за ДНК-маркерами. *Тваринництво України*. 2015. № 8. С. 23–25.

9. Євтушенко Н. С., Твердохлебова Н. Є. Щодо важливості питань з охорони праці на підприємстві. *Безпека людини у сучасних умовах* : зб. доп. 12-ї Міжнар. наук.-метод. конф. та 144-ї Міжнар. наук. конф. Європ. Асоц. наук з безпеки (ЕАС), м. Харків, 3–4 груд. 2020 р. Харків, 2020. С. 40–42.

10. Голик А., Нечаєва А., Роман Л. Збереження зникаючих порід великої рогатої худоби України. *Актуальні аспекти розвитку науки і освіти* : Зб. матеріалів IV Міжнар. науково-практ. конф. науково-пед. працівників та молодих науковців, м. Одеса, 24–25 жовт. 2024 р. Одеса, 2024. С. 47–48.

11. Гонтаренко Л. О., Бойко В. О. Зміни вимог ДСНС у військовий час. *Міжнародна та національна безпека: теоретичні і прикладні аспекти* : Матеріали VIII Міжнар. науково-практ. конф., м. Дніпро, 15 берез. 2024 р. Дніпро, 2024. С. 431–432.

12. Гончар В. В. Збереження та ефективне використання зникаючих порід великої рогатої худоби в Україні. *Молодь – аграрній науці і виробництву. Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва, харчові технології* : Матеріали Всеукр. науково-практ. конф. здобувачів вищ. освіти, м. Біла Церква, 14 квіт. 2023 р. Біла Церква, 2023. С. 89.

13. Запорожець О. І., Азаров С. І., Сидоренко В. Л. Проблеми безпеки життєдіяльності населення під час військових конфліктів. *Безпека життєдіяльності на транспорті і виробництві - освіта, наука, практика* : Матеріали II міжнар. науково-практ. конф., м. Херсон, 17–18 верес. 2015 р. Херсон, 2015. С. 93–99.

14. Іваненко В. С. Методичні засади формування кадрової політики підприємства з питань охорони праці // *Актуальні проблеми безпеки життєдіяльності людини в сучасному суспільстві* : матеріали

Всеукраїнської науково-теоретичної інтернет-конференції, м. Миколаїв, 24 листопада 2021 р. Миколаїв : МНАУ, 2021. С.174-177.

15. Каптан М., Руснак Ю., Гудима О. Нормативно-правові аспекти механізму забезпечення національної безпеки у війсьній сфері в кризових ситуаціях. *Збірник наукових праць Центру воєнно-стратегічних досліджень НУОУ імені Івана Черняхівського*. 2023. Т. 1, № 77. С. 95–103.

16. Кочкін В. Г. Особливості нормативно-правового забезпечення біологічної безпеки. *Наукові інновації та передові технології*. 2023. Т. 13, № 27. С. 262–272.

17. Копилов К. В. Поліморфізм генів асоційованих з господарсько корисними ознаками (QTL) у різних порід великої рогатої худоби. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*. 2010. Т. 12, № 3(45). С. 52–58.

18. Крамаренко С. С., Луговий С. І., Лихач А. В., Крамаренко О. С. *Аналіз біометричних даних у розведенні та селекції тварин* : навчальний посібник. Миколаїв : МНАУ, 2019. 211 с.

19. Кругляк О. В. Організаційно-економічний механізм збереження біорізноманіття сільськогосподарських тварин України. *Збалансоване природокористування*. 2016. № 4. С. 66–75.

20. Литвин А. Пріоритетні шляхи вдосконалення умов охорони праці власником на підприємстві. *Молодий вчений*. 2018. Т. 10, № 62. С. 285–290.

21. Метлицька О. І., Копилов К. В., Березовський О. В. Сучасні молекулярно-генетичні підходи для підвищення ефективності селекційного процесу в тваринництві України. *Розведення і генетика тварин*. 2016. № 51. С. 193–199.

22. Мохначова Н. Аналіз поліморфізму генотипів популяції Лебединської породи ВРХ за генами *DGAT1* та *CAPN1*. *Екологічні науки*. 2023. Т. 3, № 48. С. 97–102.

23. Мохначова Н. Вивчення поліморфізму *DGAT1* та *PIT1* у тварин зникаючої бурої карпатської породи великої рогатої худоби. *Науковий вісник Ужгородського університету*. 2023. № 54. С. 104–108.

24. Несин М. Г., Федотов О. Ю. Способи та шляхи вдосконалення умов охорони праці на підприємстві. *Проблеми охорони праці, промислової та цивільної безпеки*. 2018. С. 280–283.

25. Новак Н. Б., Облап Р. В. Аналіз генетичної структури ВРХ та біотехнологічні підходи щодо вдосконалення показників молочної продуктивності. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2012. Т. 21, № 12. С. 73–76.

26. Новак Н. Б., Облап Р. В., Мельничук М. Д. Використання молекулярно-генетичних маркерів для оцінки генетичного потенціалу української чорно-рябої породи ВРХ. *Біологія тварин*. 2008. Т. 10, № 1-2. С. 282–286.

27. Оцінювання генетичної структури та прогнозування продуктивності тварин південної м'ясної породи за ДНК маркерами : монографія / О. С. Крамаренко. Миколаїв : Іліон, 2017. 166 с.

28. Полупан Ю. П. Проблема збереження біологічного різноманіття генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин. *Розведення і генетика тварин*. 2017. № 54. С. 200–208.

29. Рашидов А. Н., Спиридонов В. Г., Коновал О. Ідентифікація алельних варіантів генів молочної продуктивності великої рогатої худоби за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з використанням методу антипраймера. *Цитологія і генетика*. 2010. № 5. С. 13–17.

30. Супрович Т. М., Супрович М. П., Бандура В. В., Чорний І. О. Генетичні дослідження великої рогатої худоби на основі ДНК-маркерів. *Подільський вісник: сільське господарство, техніка, економіка. Серія : Ветеринарні науки*. 2023. № 1(38). С. 192-202.

31. Хитра О. Л. Особливості діяльності Державної служби з надзвичайних ситуацій щодо реалізації державної політики у сфері

цивільного захисту населення. *Scientific notes of Lviv University of Business and Law*. 2022. № 32. С. 212–219.

32. Хмельничий Л. М., Павленко Ю. М. Генетичні маркери в селекції та збереженні генофонду бурої худоби Сумського регіону. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2021. Т. 46, № 3. С. 3–6.

33. Berry D., Howard D., O'Boyle P. Associations between the K232A Polymorphism in the Diacylglycerol-O-Transferase 1 (*DGATI*) Gene and Performance in Irish Holstein-Friesian Dairy Cattle. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*. 2010. Vol. 49, no. 1. P. 1–9.

34. Bovenhuis H., Visker M. H. P. W., Poulsen N. A., Sehested J., van Valenberg H. J. F. Effects of the diacylglycerol o-acyltransferase 1 (*DGATI*) K232A polymorphism on fatty acid, protein, and mineral composition of dairy cattle milk. *J. Dairy Sci.* 2016. Vol. 99, P. 3113–3123.

35. Bovenhuis H., Visker M., van Valenberg H. Effects of the *DGATI* polymorphism on test-day milk production traits throughout lactation. *Journal of Dairy Science*,. 2015. Vol. 98, no. 9. P. 6572–6582.

36. Grisart B., Coppieters W., Farnir F. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine *DGATI* gene with major effect on milk yield and composition. *Genome research*. 2002. Vol. 2, no. 12. P. 222–231.

37. Khan M. Z., Ma Y., Ma J. Association of *DGATI* with cattle, buffalo, goat, and sheep milk and meat production traits. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021. No. 8.

38. Lu J., Boeren S., Hooijdonk T. Effect of the *DGATI* K232A genotype of dairy cows on the milk metabolome and proteome. *Journal of Dairy Science*. 2015. Vol. 98, no. 5. P. 3460–3469.

39. Matamoros C., Dechow C. D., Harvatine K. J. Interaction of *DGATI* polymorphism, parity, and acetate supplementation on feeding behavior, milk synthesis, and plasma metabolites. *Journal of Dairy Science*. 2023. Vol. 11, no. 106. P. 7613–7629.

40. Smith S., Cases S., Jensen D. Obesity resistance and multiple mechanisms of triglyceride synthesis in mice lacking Dgat. *Nature Genetics*. 2010. No. 25. P. 87–90.

41. Sorbolini S., Marras G., Gaspa G. Detection of selection signatures in Piemontese and Marchigiana cattle, two breeds with similar production aptitudes but different selection histories. *Genet Sel Evol*. 2015. Vol. 47, no. 52.

42. Suchocki T., Komisarek J., Szyda J. Testing candidate gene effects on milk production traits in dairy cattle under various parameterizations and modes of inheritance. *Journal of Dairy Science*. 2010. Vol. 93, no. 6. P. 2703–2717.

43. Yousief M., Al-Galbi H., Al-Bataat H. The relationship of *DGATI* polymorphisms and milk fatty acids production of cows bred in Iraq (Local, gross and Holstein-Friesen). *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 2024. Vol. 1, no. 38. P. 7–14.

44. <https://swissmodel.expasy.org/repository/uniprot/Q8MK44>

45. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q8MK44/entry>

46. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/282609>

ДОДАТОК А

 Primedia
eLaunch

PROCEEDINGS OF THE
VII INTERNATIONAL SCIENTIFIC
AND THEORETICAL CONFERENCE

THE PROCESS
AND DYNAMICS
OF THE SCIENTIFIC
PATH

22.11.2024

ATHENS
HELLENIC REPUBLIC

 SCIENTIA
COLLECTION OF SCIENTIFIC PAPERS

SECTION 10.

BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

Черненко Анна Сергіївна

здобувач вищої освіти факультету технології виробництва та переробки продукції тваринництва, стандартизації та біотехнології
Миколаївський національний аграрний університет, Україна

Науковий керівник: Крамаренко Сергій Сергійович

доктор біол. наук, професор, професор кафедри біотехнології та біоінженерії
Миколаївський національний аграрний університет, Україна

ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ QTL-ГЕНУ DGAT1 НА МОЛОЧНУ ПРОДУКТИВНІСТЬ BOS TAURUS ТА ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ У МАРКЕР-ОПОСЕРЕДКОВАНІЙ СЕЛЕКЦІЇ (MAS)

В умовах сучасного тваринництва одним із ключових завдань є ідентифікація та ефективне використання маркерних генів, які мають тісний зв'язок із проявом важливих фенотипових ознак, особливо таких як рівень молочної продуктивності. Генетичні маркери відкривають нові можливості для селекції, дозволяючи значно підвищити точність і результативність відбору тварин з бажаними характеристиками. Це, у свою чергу, забезпечує основу для створення більш ефективних і цілеспрямованих програм селекції. Такі програми спрямовані на формування популяцій з високим генетичним потенціалом продуктивності, що дозволяє не лише збільшити економічну ефективність господарств, а й підвищити конкурентоспроможність продукції на ринку. Крім того, використання маркерних генів у селекції сприяє збереженню генетичного різноманіття популяцій, що є важливим фактором у забезпеченні стійкості тваринництва до змін навколишнього середовища та викликів сучасної аграрної галузі.

Геномна селекція та відбір за допомогою маркерів (MAS – marker-assisted selection) спрощує процедуру відбору, особливо у видів із довгими циклами розмноження або для тих ознак, які мають низьке успадкування, або для яких вимірювання фенотипу є складним, дорогим або можливим лише в пізньому віці. Аналіз генетичного зчеплення, дослідження асоціацій з корисними ознаками чи захворюваннями, а також функціональне вивчення генів

дозволяють ідентифікувати поліморфізми, що можуть бути цінними маркерами для селекції бажаних характеристик [1].

Як потенційні маркери молочної продуктивності можуть розглядатись передусім алелі генів молочних білків і гормонів.

Серед QTL-генів, вплив яких на продуктивні ознаки вивчається в молочному та м'ясному скотарстві України та сусідніх країн, можна виділити наступні: ген гормону росту (*bGH*), лептину (*LEP*), гіпофіз-специфічного фактора транскрипції (*Pit-1*), міостатину (*MSTN*), калпаїну (*CAPNI*), тиреоглобуліну (*TG5*), С-рецептора ретиноевої кислоти (*RORC*) та стирол-СоА десатурази (*SCD*) [2].

DGATI є основним ферментом, відповідальним за регуляцію рівня синтезу тригліцеридів в адіпоцитах. Згідно з дослідженнями Matamoros, нуклеотидна заміна GC→AA в позиціях 10433/10434 призводить до амінокислотної заміни Ala→Lys в 232 положенні білка *DGATI*. Мутація K232A пов'язана з вмістом жиру і білків в молоці: алельний варіант K – з більшим вмістом жиру в молоці, а алель A – з виходом молока та сумарним вмістом білків [3].

Дослідження поліморфізму маркерного гена *DGATI*_ехон 8_K232A поки що не набули широкого поширення серед різних популяцій *Bos taurus* в Україні, особливо в порівнянні з іншими структурними генами.

Таким чином, **головною метою** даної роботи був аналіз впливу поліморфізму *DGATI*_ехон 8_K232A *Bos taurus* при формуванні молочної продуктивності.

Аналіз генетичної структури стад української чорно-рябої молочної худоби (200 голів дійних корів), яка відтворюється у сільськогосподарських підприємствах Сквирського району Київської області, виявив поліморфізм за генотипами *DGATI* – A і K. Генетична структура дослідженої породи характеризується низькими частотами алельних варіантів K (0,385) і вдвічі вищою частотою варіантів A – 0,615 [4].

Було досліджено структурні гени у тварин корів бурої карпатської породи з приватних домогосподарств с. Нижні Ворота Мукачівського району Закарпатської області. За результатами проведеного дослідження виявлено, що поліморфізм генів *DGATI* представлений алелями *DGATI^A*, *DGATI^K* і відповідно генотипами *DGATI^{KA}*, *DGATI^{KK}*. Встановлено висока частота алеля *DGATI^K* – 0,585 і дещо нижча частота алеля *DGATI^A* – 0,415 [5].

Виявлені особливості алельного спектру генів *DGATI*, які характерні для дослідженої популяції української аборигенної лебединської породи корів з

господарства ПГ «Голосієво» Київської області, Україна. Так, частота «бажаного» алеля К (0,75) у тварин лебединської породи, у 3 рази була вищою, від частоти алеля А (0,25). Це знайшло своє відображення в частоті генотипів $DGAT1^{KK}$ та $DGAT1^{KA}$, які зустрічалися в однакової кількості тварин – 16 гол. і 16 гол., відповідно. Тварин з генотипом $DGAT1^{AA}$ в даній вибірці виявлено не було. Оцінка ступеня генетичної різноманітності виявила, що показник гомозиготності за геном $DGAT1$ у вивчених тварин знаходився на рівні 50%, тобто 16 голів. Значення фактичної рівноваги у тварин лебединської породи ВРХ на 0,125 перевищує теоретично очікувану. Відповідно до закону Харді-Вайнберга, за локусом діацилгліцерол-О-ацилтрансферази 1 у дослідженій вибірці тварин порушена генетична рівновага [6].

На прикладі української чорно-рябої молочної породи ВРХ розроблено біотехнологічні підходи, щодо комплексної оцінки генетичного потенціалу тварин. Досліджували чистопорідне поголів'я молочної породи (251 голова), яке відтворюється в умовах агростанції „Митниця” Васильківського району, Київської області. Для аналізу генів кількісних ознак ВРХ, які пов'язані з молочною продуктивністю, використовували метод ПЛР-ПДРФ. Розподіл алельних частот у дослідженій групі тварин, в основному, відповідав очікуваному (відповідно до закону Харді-Вайнберга). Виявлено високу частоту зустрічання господарсько цінних алелей за локусами ацил-КоА-діацилгліцерол ацилтрансферази 1 ($DGAT1^A$ – 0,683). Високий ступінь кореляції було встановлено між генотипами гена $DGAT1$ та масовою часткою жиру ($r = 0,748, P < 0,001$) і білка в молоці ($r = -0,629, P < 0,001$). Виявлені залежності засвідчують можливість використання даних кореляційних зв'язків для подальшого вдосконалення селекційного процесу та отримання високопродуктивних тварин української чорно-рябої молочної породи за рахунок проведення селекції в напрямі виведення тварин з генотипами АА або КК за локусом $DGAT1$ [7].

Висновки. Поліморфізм гена $DGAT1$ _exon 8_K232A, зокрема його алельні варіанти А і К, має значний вплив на такі господарсько важливі показники, як вміст жиру та білка в молоці. У ході досліджень були виявлені значні відмінності в частоті алелів у різних породах великої рогатої худоби України, що вказує на високий рівень генетичної мінливості як між породами, так і всередині популяцій.

Список використаних джерел:

1. Супрович Т. М., Супрович М. П., Бандура В. В., Чорний І. О. (2023). *Подільський вісник: сільське господарство, техніка, економіка. Серія : Ветеринарні науки.* 2023. Вип. 1(38). С. 192-202. Вилучено з: https://journals.pdu.khmelnytskyi.ua/index.php/podilian_bulletin/article/view/165

2. Оцінювання генетичної структури та прогнозування продуктивності тварин південної м'ясної породи за ДНК маркерами : монографія / О. С. Крамаренко. — Миколаїв : Ліон, 2017. — 166 с. Вилучено з: <https://dspace.mnau.edu.ua/jspui/handle/123456789/3451>
3. Matamoros C., Dechow C. D., Harvatin K. J. Interaction of DGAT1 polymorphism, parity, and acetate supplementation on feeding behavior, milk synthesis, and plasma metabolites. *Journal of Dairy Science*. 2023. Vol. 11, no. 106. P. 7613–7629. Вилучено з: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030223004800>
4. Димань Т., Дубин О., Плівачук О. Молекулярна діагностика поліморфізму QTL-генів в українській чорно-рябій молочній худоби. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2014. № 1. С. 5–8. Вилучено з: <https://rcp.btsau.edu.ua/handle/БНАУ/2656>
5. Мохначова Н. Вивчення поліморфізму DGAT1 та PIT1 у тварин зникаючої бурої карпатської породи великої рогатої худоби. *Науковий вісник Ужгородського університету*. 2023. № 54. С. 104–108. Вилучено з: <https://journals.uzhnu.uz.ua/index.php/biology/article/view/881>
6. Мохначова Н. Аналіз поліморфізму генотипів популяції Лебединської породи ВРХ за генами DGAT1 та CAPN1. *Екологічні науки*. 2023. Т. 3, № 48. С. 97–102. Вилучено з: <http://ecoj.dea.kiev.ua/archives/2023/3/15.pdf>
7. Новак Н., Облап Р. Аналіз генетичної структури ВРХ та біотехнологічні підходи щодо вдосконалення показників молочної продуктивності. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2012. Т. 21, № 12. С. 73–76. Вилучено з: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILEA=&2_S21STR=Vsna_tvar_2012_12_20