

Sự đa dạng di truyền của chó Bắc Hà dựa vào đoạn trình tự 582bp vùng HV1 trên bộ gen ti thể

Trần Thị Bích Huy^{1,*}, Nguyễn Thành Công¹, Lê Tuấn Lộc¹, Trần Hoàng Dũng²

¹Viện Kỹ thuật Công nghệ cao NTT, Đại học Nguyễn Tất Thành

²Khoa Công nghệ Sinh học, Đại học Nguyễn Tất Thành

*ttbhuy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Trong nghiên cứu này, bước đầu tiên hành đánh giá sự đa dạng di truyền của quần thể chó Bắc Hà dựa vào trình tự vùng HV1 trên bộ gen ti thể. Kết quả khảo sát cho thấy trong tổng số 15 cá thể đã xác định được 11 haplotype khác nhau thuộc 2 nhóm A, B. Đáng chú ý là có sự xuất hiện của 2 haplotype mới An1, An2 (chiếm 13,33%) chưa từng được công bố trong các nghiên cứu trước đây. Hầu hết các haplotype chiếm tỉ lệ khá tương tự nhau ở quần thể chó Bắc Hà. Các haplotype A44, A73, A85, A86, A121, A140 thuộc haplotype không phổ quát – haplotype chiếm đến 66,67%. Ngoài ra, kết quả phân tích các chỉ số di truyền cơ bản như đa dạng haplotype (0,952), đa dạng nucleotide (0,00849) bước đầu cũng đã cho thấy quần thể chó Bắc Hà có sự đa dạng di truyền tương đối cao. Kết quả đạt được trong nghiên cứu này sẽ góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu hữu ích cho các nghiên cứu di truyền tiếp theo trên hệ gen ti thể của quần thể chó Bắc Hà.

Nhận 02.12.2019

Được duyệt 15.11.2019

Công bố 25.12.2019

Từ khóa

Chó Bắc Hà, HV1, haplotype, haplogroup

© 2020 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Chó Bắc Hà là một trong 4 giống chó đẹp nhất Việt Nam, cùng với chó Phú Quốc, H' mông cộc đuôi và Dingo Đông Dương. Chó Bắc Hà có kích thước trung bình, săn chắc, dũng mãnh, di chuyển nhanh nhẹn, linh hoạt, nhạy bén với tiếng động nên nó được lựa chọn để làm chó săn hay chó nghiệp vụ.

Kể từ khi bộ gen ti thể của chó nhà đầu tiên được giải trình tự hoàn chỉnh bởi Kim và cộng sự (1998) với chiều dài 16728bp. Bộ gen ti thể chứa vùng không mã hóa CR dài 1270bp, 13 gen mã hóa protein, 22 gen mã hóa tRNA, 2 gen mã hóa cho rRNA (12S và 16S rRNA)[6]. Từ đó đã mở ra một hướng nghiên cứu mới đầy triển vọng, giúp cho các nhà nghiên cứu hiểu sâu hơn về đặc điểm di truyền của hệ gen ti thể ở chó nhà[6]. Trong đó, đáng chú ý là có sự hiện diện của vùng siêu biến Hypervariable region 1 (HV1) thuộc vùng điều khiển (Control Region) trên hệ gen ti thể của chó nhà. Đây được xem là vùng rất đa hình, chứa nhiều đột biến nhất trong hệ gen ti thể chó nhà; được sử dụng trong các phân tích di truyền tiến hóa, xác định haplotype, trong các phân tích pháp y trong trường hợp DNA bị thoái biến nghiêm trọng[7].

Phân tích mối quan hệ di truyền của 1.576 cá thể chó nhà trên khắp thế giới dựa vào vùng HV1 của DNA ti thể của Pang và cộng sự (2009) đã chia quần thể chó nhà trên thế

giới thành 6 haplogroup riêng lẻ (A, B, C, D, E, F). Kết quả nghiên cứu đã cho thấy 97,4% chó nhà có các haplotype thuộc haplogroup A, B, C. Ngược lại, haplogroup D, E, F được xác định là nhóm hiếm chỉ chiếm chưa tới 3% số cá thể trên toàn thế giới, trong đó nhóm E, F chỉ chiếm từ 1 – 2%. Ngoài ra, nghiên cứu cũng đã cho thấy sự khác biệt về hình thái của các nòi chó khác nhau trên thế giới không phải là kết quả thuần hóa hóa chó sói ở từng khu vực địa lý khác nhau mà do quá trình di cư và quá trình giao phối giữa các nòi chó với nhau [8,9]. Nghiên cứu này đặt nền móng cho các nghiên cứu tiếp theo về đa dạng di truyền cũng như nguồn gốc của các nòi chó khác nhau trên thế giới[10-13]. Tại Việt Nam, có 4 nhóm chó (chó lưng xoáy Phú Quốc, chó Bắc Hà, chó Dingo Đông Dương, chó H' mông cộc đuôi) có đặc điểm ngoại hình rất khác biệt và độc đáo, chúng còn được xem là quốc khuyển của Việt Nam. Tuy nhiên, đến nay các nghiên cứu về sự đa dạng di truyền dựa vào vùng HV1 trên hệ gen ti thể tập trung vào giống chó lưng xoáy Phú Quốc và một số quần thể chó nhà ở các tỉnh thành khác nhau trên khắp Việt Nam[14-16]. Giống chó Bắc Hà là giống chó quý của dân tộc H' Mông. Chúng có nhiều đặc điểm rất giống với chó Chow Chow của vùng Tây Tạng – Trung Quốc. Nên có rất nhiều giả thuyết rằng chó Bắc Hà có nguồn gốc từ vùng đất Hy Mã Lạp Sơn. Vì



vậy, bước đầu truy tìm nguồn gốc chó Bắc Hà là hết sức cần thiết và đưa đến mục tiêu công nhận chó Bắc Hà là giống chó đặc hữu của Việt Nam.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Đối tượng thực nghiệm

Tổng số 15 mẫu lông chó Bắc Hà được thu thập ngẫu nhiên tại các trang trại nhân giống ở khu vực phía Bắc. Các mẫu lông từ các cá thể chó Bắc Hà được kí hiệu từ BH1 đến BH15. DNA từ những mẫu lông này được tách chiết theo qui trình của kit thương mại The ISOLATE II Genomic DNA Kit – BIOLINE. Độ tinh sạch và nồng độ DNA được kiểm tra bằng phương pháp đo quang phổ.

2.2 Khuếch đại và giải trình tự

Tiến hành khuếch đại vùng HV1 bằng cặp mồi (15412F: CCACTATCAGCACCCAAAG, và 16625R: AGACTACGAGACCAAATGC)[17]. Thành phần phản ứng bao gồm: MyTaq Mix (1X); mồi xuôi (15412F), và mồi ngược (16225R) nồng độ cuối 0,2μM; DNA khuôn (nồng độ cuối 10 – 20ng/μl), nước cất vừa đủ thể tích 25μl. Chu kỳ luân nhiệt: giai đoạn chuẩn bị biến tính ở 95°C trong 5 phút (1 chu kì); giai đoạn chính: biến tính ở 94°C trong 2 phút, mồi bắt cặp ở 58°C trong 1 phút, kéo dài ở 72°C trong 1 phút (35 chu kì); giai đoạn kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 10 phút (1 chu kì). Sản phẩm PCR được chạy điện di trên gel agarose 2% và được nhuộm với ethidium bromide để xác định phản ứng khuếch đại thành công. Sản phẩm khuếch đại thành công được tinh sạch và giải trình tự bằng phương pháp Sanger với mồi xuôi 15412F (CCACTATCAGCACCCAAAG) và mồi ngược 16114R (CCTGAAACCATTGACTGAATAG) [17].

2.3 Phân tích dữ liệu

Trình tự DNA sau khi hiệu chỉnh bằng phần mềm SeaView sẽ được so sánh với trình tự DNA tham khảo (GenBank accession entry: U96639.2)[6]. Các vị trí đa hình được đánh số theo qui chuẩn [18]. Trình tự 582bp vùng HV1 sẽ được định loại haplotype bằng công cụ định loại haplotype đã được chuẩn [19]. Các chỉ số đa dạng di truyền như đa dạng haplotype, đa dạng nucleotide được tính toán bằng phần mềm DnaSP v6[22].

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Định loại haplotype

15 cá thể chó Bắc Hà được tiến hành định loại haplotype trên công cụ định loại của Thái Kế Quân và cộng sự (2017)[19] đã xác định được 11 haplotype thuộc 2 nhóm haplogroup khác nhau A, B[7]. 2 haplotype mới được phát hiện thuộc haplogroup A được kí hiệu An1, An2 chưa từng được công bố trong các nghiên cứu trước đây được thể hiện ở Bảng 1. Ngoài ra, không phát hiện bất kì haplotype nào thuộc haplogroup C, D, E. Kết quả này phù hợp với các

nghiên cứu trước đây khi cho rằng haplogroup D chỉ xuất hiện ở khu vực Châu Âu, haplogroup E chỉ xuất hiện ở một số nòi chó như Pungsan, Jindo, Shiba[7].

Bảng 1 Sự phân bố haplogroup, haplotype của 15 cá thể chó Bắc Hà

Nhóm	Haplotype	Tên mẫu	Số lượng (tỷ lệ %)
A	A8	BH14	1 (6,67%)
	A29	BH10	1 (6,67%)
	A44	BH13	1 (6,67%)
	A73	BH5, BH8, BH12	3 (20%)
	A85	BH6, BH16	2 (13,33%)
	A86	BH9	1 (6,67%)
	A121	BH1, BH11	2 (13,33%)
	A140	BH7	1 (6,67%)
	An1	BH2	1 (6,67%)
	An2	BH15	1 (6,67%)
B	B1	BH3	1 (6,67%)

Trong 11 haplotype được tìm thấy ở chó Bắc Hà, tần suất xuất hiện các haplotype khá tương đồng. Tần suất xuất hiện haplotype thuộc nhóm A dao động từ 6,67% đến 3%, trong đó haplotype A73 xuất hiện với tần suất cao nhất trong quần thể với tỉ lệ 3%. Đối với nhóm B, quần thể chó Bắc Hà có một haplotype B1 chiếm tỉ lệ 6,67%. Mặt khác, các haplotype A44, A73, A85, A86, A121, A140 thuộc haplotype không phổ quát – haplotype chiếm tỉ lệ thấp ở hầu hết các quần thể chó nhà trên thế giới nhưng chiếm đến 66,67% trong tổng số chó Bắc Hà khảo sát. Qua đó có thể đưa ra dự đoán rằng, các cá thể mang haplotype không phổ quát được chọn lọc theo một tiêu chuẩn hình thái được cho là đẹp và theo thị hiếu của người sưu tầm giống chó này.

3.2 Sự đa dạng DNA ti thể vùng HV1 ở chó Bắc Hà

a) Sự đa dạng ở cấp độ nucleotide

Phân tích đoạn trình tự 582bp vùng HV1 của 15 cá thể chó Bắc Hà cho thấy các đột biến đồng hoán (transition mutation) chiếm 4,12%, các đột biến dị hoán (transversion mutation) chiếm 0,34%. Tất cả các nhóm đều xuất hiện vị trí đồng hoán tại vị trí C15814T, đột biến dị hoán tại vị trí T15639A, và nhóm 11 tại vị trí T15639G; nhóm 8 xuất hiện đột biến mất 1 nucleotide tại vị trí G15931^{del} (Bảng 2). Hầu hết tất cả các vị trí đa hình đều xuất hiện trong các công bố trước đây[7-10].

Mức độ đa dạng nucleotide của giống chó Bắc Hà là 0,00849 ± 0,00217 có nghĩa là xác suất bắt được ngẫu nhiên hai nucleotide khác nhau tại một vị trí bất kì trên hai trình tự DNA bất kì trong quần thể là 0,849%, thấp hơn so với giống chó lưng xoáy Phú Quốc và chó Shiba nhưng lại cao hơn nhiều so với giống khác như chó Jindo, chó Ngao Tây Tạng (Bảng 3)

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, đề tài mã số 2019.01.49/HĐ-KHCN

Tài liệu tham khảo

1. Morey, D.F., Burying key evidence: the social bond between dogs and people. *Journal of Archaeological Science*, 2006. 33(2): p. 158-175.
2. Lindblad-Toh, K., et al., Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*, 2005. 438(7069): p. 803.
3. Fan, H. and J.-Y. Chu, A brief review of short tandem repeat mutation. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2007. 5(1): p. 7-14.
4. Forster, P., et al., A short tandem repeat-based phylogeny for the human Y chromosome. *The American Journal of Human Genetics*, 2000. 67(1): p. 182-196.
5. Wang, G.D., et al., Out of southern East Asia: the natural history of domestic dogs across the world. *Cell Res*, 2016. 26(1): p. 21-33.
6. Kim, K.S., et al., The complete nucleotide sequence of the domestic dog (*Canis familiaris*) mitochondrial genome. *Molecular phylogenetics and evolution*, 1998. 10(2): p. 210-220.
7. Savolainen, P., et al., Sequence analysis of domestic dog mitochondrial DNA for forensic use. *Journal of Forensic Science*, 1997. 42(4): p. 593-600.
8. Savolainen, P., et al., Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science*, 2002. 298(5598): p. 1610-1613.
9. Pang, J.-F., et al., mtDNA data indicate a single origin for dogs south of Yangtze River, less than 16,300 years ago, from numerous wolves. *Molecular biology and evolution*, 2009. 26(12): p. 2849-2864.
10. Savolainen, P., et al., A detailed picture of the origin of the Australian dingo, obtained from the study of mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004. 101(33): p. 12387-12390.
11. Oskarsson, M.C., et al. Mitochondrial DNA data indicate an introduction through Mainland Southeast Asia for Australian dingoes and Polynesian domestic dogs. in *Proc. R. Soc. B*. 2012. The Royal Society.
12. van Asch, B., et al. Pre-Columbian origins of Native American dog breeds, with only limited replacement by European dogs, confirmed by mtDNA analysis. in *Proc. R. Soc. B*. 2013. The Royal Society.
13. Klütsch, C., et al., Regional occurrence, high frequency but low diversity of mitochondrial DNA haplogroup d1 suggests a recent dog-wolf hybridization in Scandinavia. *Animal genetics*, 2011. 42(1): p. 100-103.
14. Thai, Q.K., et al., Evaluation of genetic diversity of phu quoc ridgeback dogs based on mitochondrial DNA hypervariable-1 region. *Journal of Biotechnology*, 2016. 14(1A): p. 245-253.
15. Thai, Q.K., et al., Evaluation of genetic diversity of Vietnamese dogs based on mitochondrial DNA hypervariable-1 region. *Research Result*, 2016. 2(3): p. 45-50.
16. Trần Hoàng Dũng, et al., Xác định nguồn gốc chó Phú Quốc bằng trình tự vùng D-loop trong genome ti thể. *Tạp chí Sinh học*, 2016. 38(2): p. 269-278.
17. Gundry, R.L., et al., Mitochondrial DNA analysis of the domestic dog: control region variation within and among breeds. *J Forensic Sci*, 2007. 52.
18. Pereira, L., B. Van Asch, and A. Amorim, Standardisation of nomenclature for dog mtDNA D-loop: a prerequisite for launching a *Canis familiaris* database. *Forensic science international*, 2004. 141(2): p. 99-108.
19. Thai, Q.K., D.A. Chung, and H.-D. Tran, *Canis* mtDNA HV1 database: a web-based tool for collecting and surveying *Canis* mtDNA HV1 haplotype in public database. *BMC Genetics*, 2017. 18(1): p. 60.
20. Bandelt, H.-J., P. Forster, and A. Röhl, Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 1999. 16(1): p. 37-48.

21. Excoffier, L. and H.E. Lischer, Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, 2010. 10(3): p. 564-567.
22. Rozas J., Ferrer-Mata A., Sanchez-DelBarrio J.C., Guirao-Rico S., Librado P., Ramos-Onsins S.E., Sanchez-Gracia A. (2017), "DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets", *Molecular Biology and Evolution*, 34(12), pp. 3299-3302

Genetic diversity of Bac Ha dog based on 582BP mitochondrial HV1 region sequence

Bich Huy Tran Thi^{1,*}, Thanh Cong Nguyen¹, Tuan Loc Le¹, Hoang Dung Tran²

¹NTT Institute of High Technology, Nguyen Tat Thanh University.

²Facility of Biotechnology, Nguyen Tat Thanh University

*tbtbhu@ntt.edu.vn

Abstract This study made an initial evaluation of the genetic diversities of Bac Ha dog population based on mitochondrial HV1 region sequence. The results showed that, in 15 sampled individuals, 11 different haplotypes of haplogroups A and B were identified. Notably, two novel haplotypes An1 and An2 (13.33% of the population), though not published in any previous studies, were found. Most haplotypes had similar shares in the Bac Ha dog population, while the uncommon ones (A44, A73, A85, A86, A121, A140) made up a proportion of up to 66.67%. Furthermore, analysis of basic genetic indexes such as haplotype diversity (0.952) and nucleotide diversity (0.00849) showed the relatively high genetic diversities of this breed. The study results will provide additional useful database for further genetic researches on mitochondrial genome of the Bac Ha dog population.

Keywords Bac Ha dog, HV1, haplotype, haplogroup