

PHÂN TÍCH ĐA HÌNH ĐƠN NUCLEOTIDE CỦA THỤ THỂ KHỬU GIÁC cOR52H9 VÀ cOR9S13 TRÊN CHÓ NGHIỆP VỤ

Lê Thị Huệ¹, Phạm Thị Khánh Linh^{1,2}, Nguyễn Ngọc Hưng³, Lê Văn Trọng³, Đoàn Thị Thanh Hương^{1,2*}

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Bộ Tư lệnh Cảnh sát cơ động, Bộ Công an

TÓM TẮT

Một số loài chó được quân đội và cảnh sát sử dụng vì chúng có khứu giác phi thường, nhạy hơn nhiều so với con người. Nhờ đặc điểm này nên chúng có thể phát hiện ma túy, chất nổ và thậm chí là định vị người. Từ hàng trăm năm đến nay chó đã trở thành một phần thiết yếu trong nhiều hoạt động quân sự và cảnh sát, góp phần đáng kể vào an ninh và an toàn công cộng. Các đa hình nucleotide đơn (SNP) trong gen thụ thể khứu giác là những yếu tố chính góp phần tạo nên sự khác biệt về khả năng khứu giác giữa các loài chó. Những biến thể di truyền này có thể ảnh hưởng đáng kể đến khả năng phát hiện và phân biệt giữa các mùi hương khác nhau của chó. Chính vì vậy áp dụng các phương pháp sinh học phân tử có thể cải thiện đáng kể việc lựa chọn và đào tạo các đội chó chuyên nghiệp có hiệu quả cao. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã khuếch đại và phân tích các SNPs trong gene cOR52H9 và cOR9S13 của 20 chó giống Malinois của Bộ Tư lệnh Cảnh sát cơ động, Bộ Công an. Kết quả giải trình tự cho thấy, các trình tự gene cOR52H9 và cOR9S13 có tỷ lệ tương đồng cao trên 99% so với các trình tự gene đã được công bố trên Ngân hàng gene. Gene cOR52H9 có 8 điểm Single nucleotide polymorphisms (SNP) ở các vị trí: G58A, A180G, G250A, T315A, G598A, T642G, G678A và G1042T. Gene cOR9S13 có 8 điểm Single nucleotide polymorphisms (SNP) ở các vị trí: T125A, C375T, T390C, G398A, C416T, C546G, C566A và G592A. Trong số các SNPs được xác định, chỉ có một con chó xuất hiện 1 SNP bất lợi ở vị trí 592 của gene cOR9S13 (G592A), là gen quy định khả năng khứu giác; trong khi có 2 cá thể lại xuất hiện 2 SNPs bất lợi trên gene cOR52H9 nhưng ở mức độ vừa. Việc nghiên cứu sử dụng các SNPs ở các gen mã hóa cho thụ thể khứu giác của chó sẽ giúp chọn lọc được những chú chó thuần chủng có khả năng phát hiện mùi tốt nhất cho công tác bảo tồn, phát triển nguồn gene và huấn luyện.

Từ khóa: Chó nghiệp vụ, cOR52H9, đa hình đơn nucleotit, gene thụ thể khứu giác.

MỞ ĐẦU

Chó đánh hơi đã được sử dụng rộng rãi trong quân đội, công an và dân sự trên toàn thế giới. Việc tuyển chọn chó để đưa vào huấn luyện trước đây chỉ dựa vào các đặc điểm ngoại hình. Tuy nhiên thực tế cho thấy việc đánh giá chỉ dựa trên ngoại hình là chưa đủ để lựa chọn được những cá thể chó tốt nhất cho mục tiêu phát hiện ma túy, chất nổ... (Maejiima *et al.*, 2007). Để khắc phục nhược điểm trên, thời gian gần đây đã có một số nghiên cứu bước đầu về khả năng sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử phục vụ cho ngành nuôi chó nghiệp vụ của công an (Lesniak *et al.*, 2008).

Các thụ thể khứu giác đã được Buck và Axel phát hiện năm 1990 (Buck, Axel, 1991). Người ta đưa ra giả thuyết rằng khả năng khứu giác của chó được xác định bởi tính đa hình trong gene thụ thể khứu giác (OR). Quá trình phân biệt mùi bắt đầu ở biểu mô thần kinh khứu giác nằm trong khoang mũi. Chất tạo mùi kích hoạt các thụ thể khứu giác trên bề mặt tế bào của tế bào thần kinh khứu giác, và truyền tín hiệu tiếp theo đến não. Các gene OR thuộc siêu họ GPCR chứa khoảng 1300 gene ở chó (Olender *et al.*, 2004) và được cho là họ gene có quy mô lớn nhất trong bộ gene của động vật có vú (Malnic *et al.*, 2004). Cấu trúc của thụ thể khứu giác bao gồm các phần sau: E-TM1-IC1-TM2-EC1-TM3-IC2-TM4-EC2-TM5-EC3-TM6-IC3-TM7-I. Trong đó, E là vùng đầu -NH₂ nằm bên ngoài màng tế bào; TM là phần xuyên màng; IC là phần nội bào; EC là phần ngoại bào; và I là đầu COOH nằm trong tế bào (Tacher *et al.*, 2005). Kích thước lớn của họ OR cho thấy rằng sự phân biệt ban đầu giữa các chất tạo mùi khác nhau phụ thuộc vào ái lực liên kết có chọn lọc của OR (Zhao and Firestein, 1999).

Trong các OR có 2 gene có khả năng ảnh hưởng đến khả năng khứu giác của chó phục vụ trong các lĩnh vực liên quan đến phát hiện chất nổ và ma túy, đó là: cOR52H9 (Canis lupus familiaris olfactory receptor family 52 subfamily H member 9) và cOR9S13 (Canis lupus familiaris olfactory receptor family 9 subfamily S member 13). Các nghiên cứu trước đây đã tìm thấy mối liên hệ đáng kể giữa các đa hình nucleotide đơn trên gene cOR52H9, cOR9S13, cOR10H1 với khả năng phát hiện mùi (Yang *et al.*, 2022). Cụ thể các SNPs T414G, G450A và G814T trên gene cOR52H9 và các SNPs C331T, G336A, C465T, G592A, G759A và T762C trên gene cOR9S13 đã được chứng minh có liên quan đến khả năng khứu giác của chó (Đỗ Văn Thu *et al.*, 2017; Lesniak *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2022). Đặc biệt đột biến tại vị trí 592 của gene OR9S13 có sự biến đổi nucleotide từ G > A, dẫn đến thay đổi amino acid từ Alanine > Threonine ở vùng cấu trúc EC2 sẽ làm giảm khả năng khứu giác của chó.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thu nhận và giải trình tự gene cOR52H9 và cOR9S13 của 20 chó giống Malinois. Từ đó, xác định đa hình kiểu gene/allen của hai vùng gene trên để đánh giá khả năng khứu giác của các chó nghiên cứu.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mẫu bệnh phẩm: là mẫu máu của 20 chó giống Malinois của Bộ Tư lệnh Cảnh sát cơ động, Bộ Công an. Máu chó được lấy trong ống chống đông và chuyển về phòng thí nghiệm càng sớm càng tốt ngay sau khi lấy. Sau khi về phòng thí nghiệm, ống đựng máu được bảo quản ở điều kiện nhiệt độ 4°C để sử dụng cho tách chiết DNA hệ gene.

Tách chiết DNA tổng số

Tách chiết DNA hệ gene từ máu bằng bộ kit DNeasy Blood and Tissue (Qiagen, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các bước tách chiết cụ thể như sau: Bước 1: Bổ sung 180 µL Buffer ATL vào mẫu máu, vortex và ủ 56°C trong 30 phút; bước 2: Thêm 20 µL Proteinase K, vortex và ủ ở 56°C cho đến khi mẫu được ly giải hoàn toàn; bước 3: Bổ sung 200 µL Buffer AL vào mẫu, vortex và ủ mẫu ở 70°C trong 10 phút; bước 4: Thêm 200µl ethanol (96-100%), đảo nhẹ mẫu; bước 5: chuyển cột và ly tâm 12000 vòng/phút trong 2 phút, bỏ dịch phía dưới ống hứng; bước 6: Thêm 500µl Buffer AW1 và ly tâm 12000 vòng/phút trong 2 phút, bỏ dịch dưới ống hứng; bước 7: Thêm 500 µL Buffer AW2 và ly tâm 12000 vòng/phút trong 3 phút, bỏ dịch dưới ống hứng; bước 8: Ly tâm làm khô cột 2 lần với tốc độ 12000 vòng/phút, mỗi lần 2 phút; bước 9: Bổ sung 30 µL Buffer AE vào giữa cột, ủ 2 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó ly tâm ở 12000 vòng/phút trong 1 phút để thu DNA tổng số.

Mẫu DNA tổng số chứa hệ gene của chó đã tách chiết được trên điện di gel agarose 1% và đo quang phổ hấp thụ ở bước sóng 260/280nm trên máy NanoDrop lite (hãng Thermo scientific) để đánh giá chất lượng.

Phản ứng PCR khuếch đại gene cOR52H9 và cOR9S13

Vùng gene cOR52H9 được thu nhận bằng hai cặp mồi cOR52H9-F1 - cOR52H9-R1 và cOR52H9-F2 - cOR52H9-R2. Vùng gene cOR9S13 được thu nhận bằng cặp mồi cOR9S13-F - cOR9S13-R (Bảng 1).

Bảng 1. Các cặp mồi sử dụng trong phân lập gene cOR52H9 và cOR9S13

Gene	Tên mồi	Trình tự mồi	Kích thước dự tính
cOR52H9	cOR52H9-F1	3'-TCTTTCTTCATTTGAGCCAGG-5'	1,4 kb
	cOR52H9-R1	3'-TTTCCTCCCTTCCCATACTTTG-5'	
	cOR52H9-F2	3'-ATCGCTAATGTGTCCTCAGGG-5'	1 kb
	cOR52H9-R2	3'-ACTTCTCCTTCAGTGACTCTCC-5'	
cOR9S13	cOR9S13-F	3'-ACTTGACCCACTTAATCTGCCA-5'	1,1 kb
	cOR9S13-R	3'-AGTGGCAATCTCCGTATCCTC-5'	

Phản ứng PCR được thực hiện trên tổng thể tích 50 µL bao gồm: 25 µL PCR Master Mix (2X), 2 µL mỗi loại mồi (10pmol/µL) và 3 µL cDNA khuôn và nước tinh khiết cho đủ 50 µL. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR như sau: 94°C-5 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ [94°C-1 phút, 52°C-1 phút, 72°C-2 phút] và 72°C-10 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên agarose 1%.

Giải trình tự và xác định đa hình kiểu gene

Sản phẩm PCR dương tính có chất lượng tốt được tinh sạch và giải trình tự trực tiếp tại công ty TNHH dịch vụ và thương mại Nam Khoa bằng phương pháp Sanger. Chuỗi nucleotide được xử lý bằng chương trình Seqed1.3, so sánh bằng chương trình AssemblyLIGN1.9 và MacVector8.2 (Accelrys Inc.) trên máy tính Mactintosh. Các trình tự nucleotide và amino acid thu nhận được so sánh đối chiếu với chuỗi gene tương ứng đăng ký tại Ngân hàng gene bằng chương trình GENEDOC2.7 (<http://www.nrbsc.org/gfx/genedoc/>) để xác định các vị trí đột biến trong gene.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

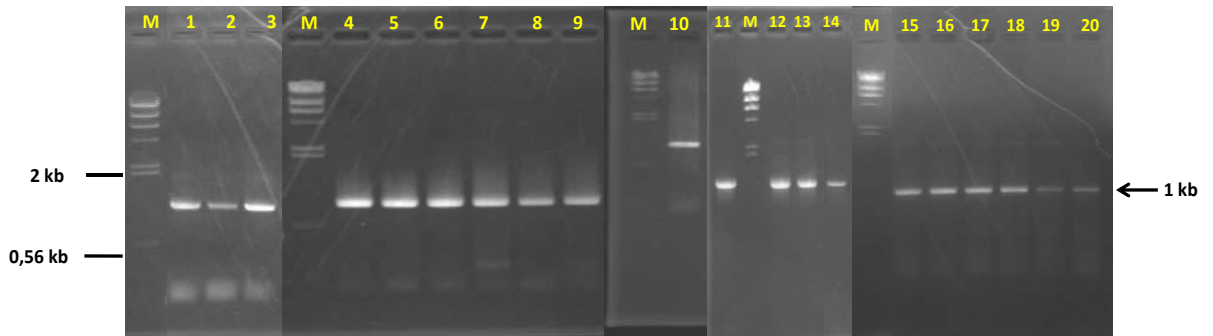
Các chó nghiên cứu được cung cấp đầy đủ thông tin cho nghiên cứu. DNA tổng số của các mẫu máu sau tách chiết được kiểm tra bằng điện di trên agarose 1% và đo trên máy quang phổ hấp thụ đều đảm bảo đạt tiêu chuẩn cho các phân tích tiếp theo.

Kết quả thu nhận và phân tích gene cOR52H9

Từ DNA tổng số tách từ mẫu máu đã thu nhận được sản phẩm PCR vùng gene cOR52H9 của 20 chó nghiên cứu, với kích thước lần lượt là 1,4 kb (với cặp mồi cOR52H9-F1 - cOR52H9-R1) và sản phẩm PCR kích thước khoảng 1 kb (với cặp mồi cOR52H9-F2 - cOR52H9-R2) (Hình 1 và Hình 2).

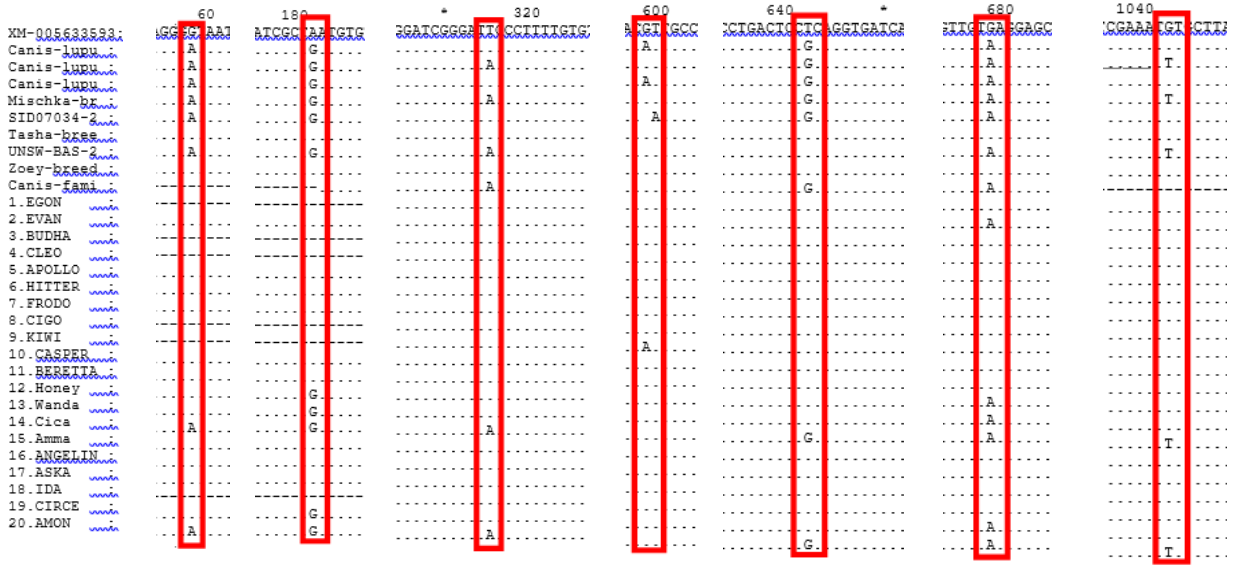


Hình 1. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR khuếch đại gene cOR52H9 của chó với cặp mồi cOR52H9-F1 - cOR52H9-R1
 Ghi chú: Giếng M là thang DNA chuẩn Lambda/HindIII, Giếng 1-20 là sản phẩm PCR của 20 mẫu chó nghiên cứu



Hình 2. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR khuếch đại gene cOR52H9 của chó với cặp mồi cOR52H9-F2 - cOR52H9-R2
 Ghi chú: Giếng M là thang DNA chuẩn Lambda/HindIII, Giếng 1-20 là sản phẩm PCR của 20 mẫu chó nghiên cứu

Gene cOR52H9 có kích thước 1170 nucleotide bao gồm mã mở đầu (ATG) và mã kết thúc (TGA). Kết quả giải trình tự gene của 20 cá thể chó giống Malinois cho thấy có tỷ lệ đồng nhất cao (từ 99.3% đến 100%) khi so sánh với nhau và so với các trình tự gene tương ứng đăng kí trên Ngân hàng gene, và phát hiện được 8 điểm SNPs bao gồm các vị trí: G58A, A180G, G250A, T315A, G598A, T642G, G678A và G1042T (Hình 3). So sánh với kết quả nghiên cứu của Đỗ Văn Thu và đồng tác giả (2017), chúng tôi đã phát hiện được thêm 2 SNPs khác bao gồm G58A và A181G. Tuy nhiên các sai khác về nucleotide không làm sai khác về amino acid của OR (Bảng 1), từ đó suy đoán không bị ảnh hưởng đến khả năng khứu giác. Bên cạnh đó, theo Đỗ Văn Thu và cộng sự, kiểu gene TT ở vị trí T315A có điểm phát hiện ma túy cao (Đỗ Văn Thu và cộng sự, 2017). Kết quả phân tích trình tự gene cho thấy 18/20 cá thể chó nghiên cứu có kiểu gene đồng hợp tử TT ở vị trí này, chứng tỏ có khả năng ngửi mùi tốt. Bên cạnh đó, ba SNPs được chứng minh có ảnh hưởng đến khả năng khứu giác của chó ở mức độ vừa gồm T642G, G678A và G1042T; trong đó các kiểu gen tương ứng là GG, AA và TT có điểm phát hiện ma túy thấp hơn so với các kiểu gen khác (Đỗ Văn Thu *et al.*, 2017). G680A mã hóa cho amino acid Valine tại đoạn xuyên màng 4 (TM4), SNP tại vị trí G1042T làm thay đổi amino acid Valine thành Leucine tại đoạn xuyên màng thứ 7 (TM7), có vai trò đối với khả năng phân biệt mùi của của thụ thể khứu giác (Liu *et al.*, 2003). Kết quả nghiên cứu trên 20 chó nghiệp vụ cho thấy có 14 cá thể chó nghiên cứu có chứa kiểu gen GA ở SNP G678A và 18 cá thể chó nghiên cứu có chứa kiểu gen GT ở SNP G1042T – là các kiểu gen có điểm phát hiện ma túy cao; 06 cá thể chó nghiên cứu có chứa kiểu gen AA ở SNP G678A và 02 cá thể chó nghiên cứu có chứa kiểu gen TT ở SNP G1042T – là các kiểu gen có điểm phát hiện ma túy thấp. Tổng hợp số liệu phân tích toàn bộ gen cOR52H9 cho thấy chỉ có hai cá thể chó số 14 và số 20 mang hai đồng thời hai SNPs bất lợi ở mức độ vừa về khả năng khứu giác trên gene cOR52H9. Tuy nhiên cần tiếp tục có những nghiên cứu mở rộng về mối liên quan này (Đỗ Văn Thu *et al.*, 2017).



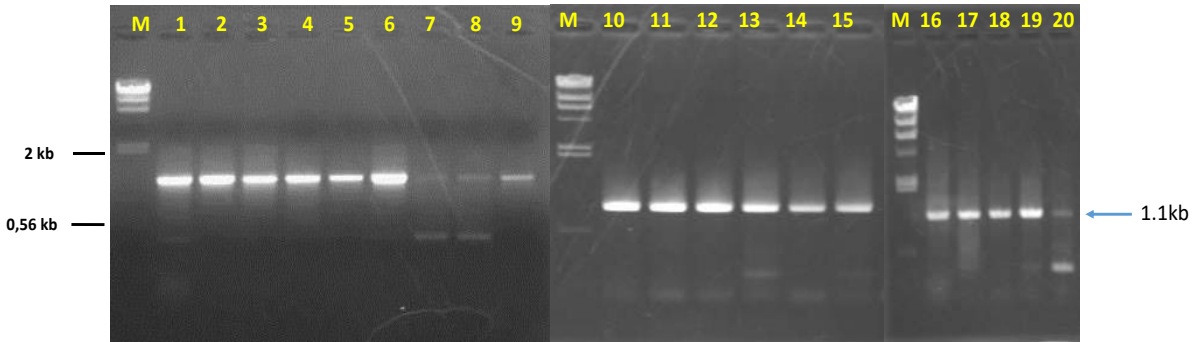
Hình 3. Các vị trí đa hình (SNPs) trên gene cOR52H9 của 20 chó nghiên cứu

Bảng 2. Vị trí các SNPs và amino acid tương ứng trong cOR52H9

SNPs	G58A	A180G	G250A	T315A	G598A	T642G	G678A	G1042T
Amino acid	Val20	Leu60	Asp84	Ile105	Val200	Pro214	Val226	Val348

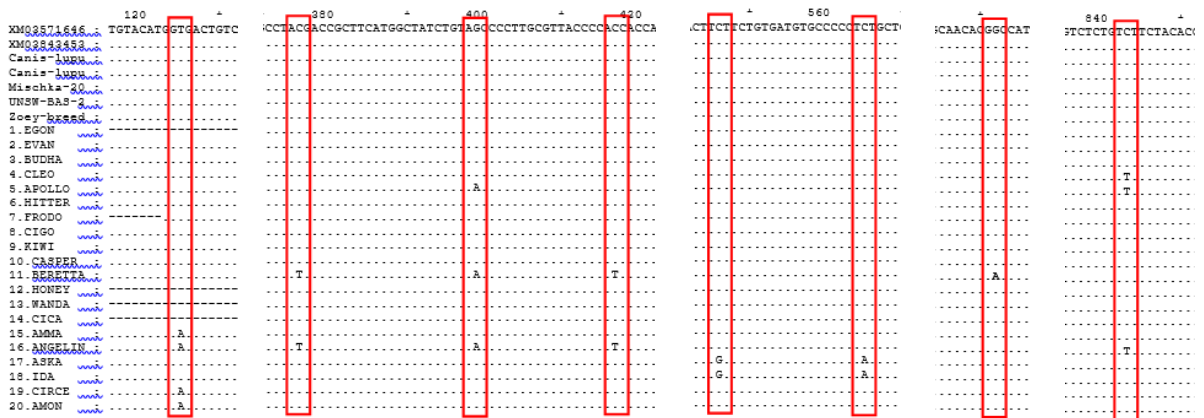
Kết quả thu nhận và phân tích gene cOR9S13

Sản phẩm PCR khuếch đại gene cOR9S13 từ DNA hệ gene có kích thước khoảng 1,1 kb tương đương với kích thước dự kiến (Hình 4).



Hình 4. Kết quả điện di sản phẩm PCR thu nhận vùng gene cOR9S13 của 20 mẫu chó giống Malinois nghiên cứu

Kết quả so sánh trình tự vùng gene cOR9S13 của 20 cá thể chó giống Malinois nghiên cứu đã phát hiện được 8 điểm đa hình đơn nucleotide (SNPs) bao gồm các vị trí: T125A, C375T, G398A, C416T, C546G, C566A, G592A và C843T (Hình 5). Đột biến thay đổi nucleotide trên gene cOR9S13 đã dẫn đến thay đổi amino acid ở 6 vị trí: V42E, S133N, T139I, F182L, L189M và A198T.



Hình 5. Các vị trí đa hình (SNPs) trên gene cOR9S13 của 20 chó nghiên cứu

Theo các công bố trước đây, 6 SNPs trên gene cOR9S13 liên quan đến khả năng khứu giác của chó bao gồm các vị trí 331, 336, 465, 592, 759, và 762, tương ứng với các vị trí amino acid 111, 112, 155, 198, 253 và 254 (Lesinak *et al.*, 2008). Ở các vị trí này nếu xuất hiện kiểu gene đồng hợp tử đột biến (AA) dẫn đến thay đổi amino acid thì sẽ làm mất đi khả năng khứu giác của chó. Kết quả giải trình tự gene cho thấy cả 20 chó nghiên cứu đều không có đột biến xuất hiện kiểu gene đồng hợp tử AA ở cả 6 vị trí này. Trong 8 SNPs được phát hiện ở 20 cá thể chó nghiên cứu, chỉ có 1 SNP G592A liên quan đến khả năng khứu giác của chó.

Đột biến trong gene cOR9S13 ở vị trí 592 từ G thành A (dẫn đến thay đổi từ Alanine thành Threonine ở vị trí 198 tương ứng với vùng chức năng EC2) đã được chứng minh có ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) về hiệu suất đánh hơi của những chó săn Đức (German shepherd) trong thời kỳ huấn luyện (Lesinak *et al.*, 2008; Sacharczuk *et al.*, 2019). Trong 20 cá thể chó kiểm tra có 1/20 con mang đột biến bất lợi ở vị trí này. Vị trí thay đổi này đã được xác định có tác động tiêu cực đến khả năng khứu giác của chó (Lesinak *et al.*, 2008; Sacharczuk *et al.*, 2019). Kết quả của chúng tôi cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu của thế giới khi không phát hiện thấy có đột biến thay thế amino acid ở 5 vị trí còn lại (111Leu, 112Leu, 155Cys, 253Val và 254Thr).

Tổng hợp kết quả phân tích đa hình trên hai gene cOR52H9 và cOR9S13

Trong tổng số 14 SNPs liên quan đến khả năng khứu giác của chó (8 SNPs của gene cOR52H9 và 6 SNPs của gene cOR9S13), có 2/20 cá thể chó (số 14 và số 20) mang đột biến bất lợi ở mức độ vừa tại vị trí 680 (AA) và 1040 (TT) của gene cOR52H9; và 1/20 cá thể chó (số 11) có đột biến ở vị trí 592 của gene cOR9S13 (G>A) dẫn đến sự thay đổi về amino acid Ala>Thr, là đột biến ảnh hưởng xấu đến khứu giác của chó. Các chó còn lại đều không có đột biến bất lợi, cho thấy có nguồn gene tốt. Đây là điều thuận lợi cho công tác huấn luyện chó của đơn vị.

Chó Malinois của Bỉ được biết đến là loài chó có thân hình đẹp, cơ bắp, có sức bền và nhanh nhẹn. Bên cạnh đó giống chó này còn có bản tính rất thông minh, linh hoạt, khả năng cảnh giác và định hướng cao do khứu giác rất nhạy; đồng thời có khả năng huấn luyện cao. Chính vì vậy chó giống Malinois được đánh giá là có khả năng làm việc xuất sắc, đặc biệt trong các vai trò như cảnh sát, tìm kiếm cứu nạn, các hoạt động quân sự, phát hiện ma túy, chất nổ... Lựa chọn sớm được các chó tiềm năng có thể giảm chi phí và công sức, thời gian của các chương trình huấn luyện chó (Yang *et al.*, 2016).

Các gen OR của chó có tính đa hình (Robin *et al.*, 2009). Sự lựa chọn tích cực trên các gen OR dường như đã thúc đẩy sự tiến hóa của các gen OR và sự thay đổi khả năng khứu giác (Benbernou *et al.*, 2011). Do yêu cầu cấp thiết trong lĩnh vực an ninh và quân sự, trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu và thảo luận về ảnh hưởng của các gene OR lên khả năng khứu giác của chó (Tacher *et al.* 2005, Lesniak *et al.* 2008, Yang *et al.* 2016). Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng các SNPs của các gen OR có thể ảnh hưởng đến khả năng khứu giác của các giống chó khác nhau (Tacher *et al.* 2005, Lesniak *et al.* 2008, Yang *et al.* 2016). Từ đó đã đề xuất vai trò của các alen đặc hiệu trong phát hiện mùi và mối liên kết giữa đa hình nucleotide đơn (SNPs) và hiệu quả nhận biết mùi.

Khả năng phát hiện mùi của chó nghiệp vụ phụ thuộc vào nhiều yếu tố: môi trường làm việc, công tác huấn luyện và yếu tố di truyền của mỗi cá thể, trong đó khả năng phát hiện mùi của chó phụ thuộc vào nhiều gene (Sacharczuk *et al.*, 2019; Robin *et al.*, 2009). Việc phối hợp tốt giữa các yếu tố trên sẽ là cơ sở để tạo được những cá thể chó nghiệp vụ có chất lượng tốt, hiệu suất làm việc cao. Bên cạnh đó việc lựa chọn được các cá thể thuần chủng có kiểu gen tốt còn có giá trị đặc biệt trong công tác bảo tồn nguồn gen và cung cấp những cá thể chó tiềm năng cho công tác huấn luyện.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã giải mã thành công hai gene cOR52H9 và cOR9S13 của 20 cá thể chó giống Malinois. Trình tự gene thu được tương đồng cao (99.3% đến 100%) với các trình tự gene tương ứng trên Ngân hàng gene. Gene cOR52H9 và cOR9S13 trên 20 cá thể chó nghiên cứu có 8 điểm đa hình đơn nucleotide (SNP). Trong đó 2/20 cá thể chó có mang 02 SNPs bất lợi ở mức độ vừa đối với khả năng phát hiện mùi trên gen cOR52H9 (ở vị trí G680A và G1042T: là AA và TT); và 1/20 cá thể chó có một SNP bất lợi đến khả năng khứu giác của chó trên gen cOR9S13 (ở vị trí G592A: G>A dẫn đến thay đổi amino acid Ala>Thr). Cần tiếp tục mở rộng nghiên cứu trên nhiều gene khác để hoàn thiện kỹ thuật chọn lọc giống chó nghiệp vụ đạt chất lượng như mong muốn.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được tài trợ từ Đề tài “Nghiên cứu thuần chủng bảo tồn, phát triển nguồn gene chó giống Malinois phục vụ công tác nghiệp vụ của lực lượng Công an nhân dân”, mã số: BH.2018.K02.01.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Benbernou N, Robin S, Tacher S, Rimbault M, Rakotomanga M, Galibert F, Notes A (2011). cAMP and IP3 signaling pathways in HEK293 cells transfected with canine olfactory receptor genes. *J Hered* 102 (Suppl 1): S47–S61.
- Buck L, and Axel R (1991). A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell*, 65(1), 175-187.
- Do Van Thu, Doan Viet Binh, Nguyen Trong Chi, Le Xuan Phong, Nguyen Ngoc Hung, Le Thi Hue, Tran Xuan Khoi, Vo Thi Ninh (2017). Phân tích đa hình và đánh giá tương quan di truyền gene thụ thể khứu giác cOR52H9 liên quan đến khả năng phát hiện mùi của chó nghiệp vụ. *Tạp chí Sinh học*, 39(1).
- Lesniak A, Walczak M, Jezierski T, Sacharczuk M, Gawkowski M, Jaszczak K (2008) Canine Olfactory Receptor Gene Polymorphism and Its Relation to Odor Detection Performance by Sniffer Dogs. *J Hered*, 99(5): 518-527.
- Liu AH, Zhang X, Stolovitzky GA, Califano A, Firestein SJ (2003) Motifbased construction of a functional map for mammalian olfactory receptors. *Genomics*, 81: 443-456.
- Maejiima M, Inoue-Murayama M, Tonosaki K, Matsuura N, Kato S, Saito Y, Weiss A, Murayama Y, Ito S (2007) Traits and genotypes may predict the successful training of drug detection dogs. *Applied Animal Behavior Science*, 107: 287–298.
- Malnic B, Godfrey PA, Buck LB (2004). The human olfactory receptor gene family. *PNAS*, 101(8), 2584-2589.
- Olender T, Fuchs T, Linhart C, Shamir R, Adams M, Kalush F, Keh M, Lancet D (2004) The canine olfactory subgenome. *Genomics*. 83: 361-372.
- Robin S, Tacher S, Rimbault M, Vaysse A, Dréano S, André C, Hitte C, Galibert F (2009) Genetic diversity of canine olfactory receptors. *BMC Genom*, 10:21.
- Tacher S, Quignon P, Rimbault M, Dréano S, André C, Galibert F (2005) Olfactory Receptor Sequence Polymorphism Within and Between Breeds of Dogs. *J Hered*, 96(7):812-816.
- Yang M, Zhang HX, Geng GJ, Wang FJ, Liu CW, Liu JL (2022). Artificial Selection Drives SNPs of Olfactory Receptor Genes into Different Working Traits in Labrador Retrievers. *Genet Res*, 8319396.
- Yang M, Geng GJ, Zhang W, Cui L, Zhang HX, Zheng JL (2016). SNP genotypes of olfactory receptor genes associated with olfactory ability in German Shepherd dogs. *Animal Genet*, 47 (2): 240-244.
- Sacharczuk M, Walczak M, Adamkiewicz E, Walasek A, Ensminger J, Presch M, and Jezierski T (2019) Polymorphism of olfactory and neurotransmitters receptor genes in drug and explosives detection dogs can be associated with differences in detection performance. *Appl Animal Behav Sci*, 215, 52–60.
- Zhao H, Firestein S (1999). Vertebrate odorant receptors. *Cell Mol Life Sci CMLS*, 56, 647-659.

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM ANALYSIS OF OLFACTORY RECEPTORS cOR52H9 AND cOR9S13 IN POLICE DOGS

Le Thi Hue¹, Pham Thi Khanh Linh^{1,2}, Nguyen Ngoc Hung³, Le Van Trong³, Doan Thi Thanh Huong^{1,2*}

¹*Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology*

²*University of Science and Technology of Hanoi, Vietnam Academy of Science and Technology*

³*Mobile Police High Command, Ministry of Public Security*

SUMMARY

Some dog species are utilized by the military and police because they possess extraordinary olfactory senses, much more sensitive than humans. Thanks to this characteristic, they can detect drugs, explosives, and even track individuals, making dogs an essential part of many military and police operations, significantly contributing to public security and safety. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in olfactory receptor genes are key factors contributing to differences in olfactory abilities among dog species. These genetic variations can significantly impact a dog's ability to detect and differentiate between different scents. Therefore, applying molecular biology methods can significantly improve the selection and training of highly effective professional dog teams. In this study, we amplified and analyzed SNPs in the cOR52H9 and cOR9S13 genes of 20 trained dogs of the Malinois breed from the Mobile Police High Command, Ministry of Public Security. The sequence results show that the gene sequences cOR52H9 and cOR9S13 have a high similarity rate of over 99% compared to sequences deposited in the gene bank. Gene cOR52H9 exhibits 8 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) at positions: G58A, A180G, G250A, T315A, G598A, T642G, G678A, and G1042T. Gene cOR9S13 has 8 SNPs at positions: T125A, C375T, T390C, G398A, C416T, C546G, C566A, and G592A. Among the identified SNPs, only one dog showed a disadvantageous SNP at position 592 of the cOR9S13 gene (G592A), which regulates its sniffing ability; meanwhile, 2 individuals exhibited 2 disadvantageous SNPs, albeit to a moderate extent. Research using SNPs in genes encoding olfactory receptors of dogs will help selectively breed dogs with the best scent detection capabilities for training purposes.

Keywords: Working dogs, cOR52H9, single nucleotide polymorphism, olfactory receptor gene.

* Author for correspondence: Tel: 0988904605; Email: doantthuong74@gmail.com