

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри молекулярних біотехнологій
проф. Олексій Юрійович Нипорко
Протокол № _____ засідання кафедри
від “ _____ ” _____ 20 ____ р.

АНАЛІЗ КІТ ГЕНУ *FELIS SILVESTRIS*

Випускна кваліфікаційна робота
магістра студента спеціальності 091
Біологія
ОП «Біологія (високі технології)»
Науменко Марії Віталіївни

Науковий керівник
доцент кафедри молекулярної
біотехнології та біоінформатики
Нипорко Олексій Юрійович

Робота виконана у відділі генетики диких тварин Сенкенберзького науково-дослідницького інституту під керівництвом голови відділу **Карстена Новака**

Оцінка захисту роботи

Київ – 2024 р.

АНОТАЦІЯ

Науменко М.В. Аналіз КІТ гену *Felis silvestris*. – Випускна кваліфікаційна робота магістра за спеціальністю 091 Біологія, ОП Біологія (високі технології) спеціалізацією біоінформатика.

У роботі проведено аналіз діагностичних морфологічних характеристик лісового kota (*Felis silvestris*) у контексті популяційної генетики та гібридизації із домашнім котом (*Felis catus*). Встановлено, що гомозиготність у КІТ вища у лісових котів з білою плямистістю та домашніх котів відносно лісових котів дикого типу. Отримані результати можуть бути використані для подальшої ідентифікації фенотипово визначних алелів КІТ гену лісового kota.

Ключові слова: *Felis*, hybridization, morphotyping, melanogenesis, КІТ.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	9
1.1 Введення в спільність <i>Felis silvestris</i> та <i>Felis catus</i>	9
1.2 Гібридизація <i>Felis silvestris</i> та <i>Felis catus</i>	11
1.2.1 Ареал поширення <i>Felis catus</i>	11
1.2.2 Ареал поширення <i>Felis silvestris</i>	12
1.2.3 Контакт двох видів.....	14
1.3 Морфологічна генетика.....	16
1.3.1 Генетичний ландшафт родини <i>Felidae</i>	16
1.3.2 Молекулярна фізіологія меланогенезу.....	17
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.....	23
2.1 Структура дослідження.....	23
2.2 Морфометричні методи.....	23
2.3 Методи генетичного аналізу.....	25
2.4 Методи статистичного аналізу.....	26
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ.....	28
3.1 Результати морфометрії.....	28
3.2 Результати генотипування.....	28
3.3 Результати статистичного аналізу.....	29
3.4 Обговорення та перспективи подальших досліджень.....	30
ВИСНОВКИ.....	32
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	33

ДОДАТКИ.....	45
--------------	----

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

CORIN - atrial natriuretic peptide-converting enzyme

ASIP - agouti signaling protein

aMSH - alpha melanocyte stimulating hormone

MC1R - melanocortin 1 receptor

cAMP - cyclic adenosine monophosphate

TYR - tyrosinase

TYRP1 - tyrosinase related protein 1

SLC45A2 - solute carrier family 45 member 2 (membrane-associated transporter protein)

MITF - melanogenesis associated transcription factor

CREB - cAMP response element-binding protein

KIT - tyrosine-protein kinase, “ген білої плямистості”.

KIT^g - KIT:c.1035_1036delinsCA

SCF - stem cell factor (coded by KITLG)

MLPH - melanophilin

RAB27A - ras-related protein Rab-27A

MYO5A - unconventional myosin-Va

pSmad – фосфорильовані Smads

Fzd – Frizzled

Pkc – протеїнкіназа C

Erk – кіназа, регульована позаклітинним сигналом/мітоген-активована протеїнкіназа

pMitf – фосфорильований Mitf

ВСТУП

Домашній кіт є культурно та історично важливим видом маленького хижого ссавця. Його близький родич, європейський лісовий кіт хоч і не має такого культурного впливу є важливою ланкою європейських екосистем. Антропогенний тиск на європейського лісового kota призводить до гібридизації цих двох видів що розглядається як важливий вплив на їх генетичний ландшафт. Деякі ознаки характерні лише для домашнього kota могли інтегруватися в ізольовані популяції європейського лісового kota, і своєю присутністю у фенотипі особин лісових котів можуть вказувати на присутність інтрогресії.

Так як розробка підручних та надійних методів розрізнення лісових, домашніх та гібридних котів у польових умовах є актуальною задачею сьогодення, у цьому дослідженні проводиться генетичний аналіз білої плямистості у лісового kota для встановлення його діагностичної ваги.

Головним завданням даного дослідження є поєднання морфометричних та генетичних методів моніторингу лісового kota для подальшої перевірки ряду гіпотез відносно демографічних особливостей лісового kota та гібридів та для розвитку точності морфометричних методів діагностики видової приналежності представників роду *Felis*.

Метою даної роботи є визначення зиготності K1T гену та перевірки гомологічності K1T^g алелю у *Felis silvestris* та *Felis catus*.

Завданнями роботи є:

- Морфометричний аналіз популяцій домашніх, лісових та гібридних котів та відбір серед них носіїв білої плямистості.
- Аналіз носіїв білої плямистості за K1T маркерами.
- Аналіз розподілення чи присутності носіїв K1T^g алелю.

Актуальність роботи: польова ідентифікація лісових, гібридних та домашніх котів є необхідною для оцінок рівня гібридизації в досліджуваних популяціях.

Об'єкт дослідження – популяційна та морфологічна генетика *Felis silvestris*, *Felis catus* та їх гібридів, морфометрія.

РОЗДІЛ І. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Введення в спільність *Felis silvestris* та *Felis catus*

Європейський лісовий кіт (*Felis silvestris*) це вид роду Кіт (*Felis*) родини Котячих (*Felidae*), що є близьким родичем kota домашнього (*Felis catus*). За палеонтологічними та генетичними даними, *F. lybica* та *F. silvestris* розділилися приблизно 2 мільйони років тому (Li, 2016). *F. catus* почав відокремлюватися від *F. lybica* близько 2 тисяч років тому (Driscoll, 2007) (Davis, 2008).

Так як домашній, степовий та лісовий коти еволюційно розійшлися нещодавно, це проявляється їхньою високою фенотиповою схожістю. Неозброєним оком їх може бути важко розрізнити не спеціалісту. Саме для цього за століття їх вивчення були розроблені різноманітні критерії (Додатки 5-8). Усі три види зазвичай покриті подрібненими темними смужками, фелінологами цей патерн позначається як макрель таббі (Kaelin, 2010)(Lyons, 2006). Ці смужки формують “сіточку”, “маску” на обличчі тварин, утворюючи характерну “М” на лобі та темні смуги під очима що тягнуться на щоках.

Окрім макрель таббі *F. lybica ornata* (азіатський степовий кіт) демонструє плямистий патерн, за що і отримав назву *ornata*. Це різнить його від африканських підвидів степового kota.

Домашній кіт в свою чергу має дуже велике різноманіття характеристик, що пов'язано із domestикацією. Паттерни “дикого типу” у домашнього kota можна визначити як ті що він наслідує від свого предка степового kota. А саме макрель таббі, а також низькоконтрастний, майже

монотонний макрель таббі. Крім того показовою є присутність часткового чи повного лейцизму, присутність меланізму. Їх присутність майже завжди вказує на належність до виду кіт домашній. Важливо зазначити що плямистий патерн *F. l. ornata* був наслідуваний домашнім котом через вільне схрещування азіатських популяцій цих двох видів, і є характеристикою що підтримується у племінній роботі над багатьма лініями. Таким чином цей патерн не є діагностичним коли ми намагаємося розрізнити *F. catus* та *F. l. ornata*, але є діагностичним коли ми намагаємося відрізнити *F. catus* від *F. silvestris*.

Цікавим критерієм для визначення видової приналежності є темні (зазвичай чорні) плями на п'ятках, які часто присутні і на кистях. У лісового kota ці плями короткі та зміщені до зовнішнього краю лапи (Piechocki, 1990). На відміну від них, у домашнього kota темна пляма зазвичай простягається на всю довжину п'ятки (Додаток 5). Іншою цікавою характеристикою, притаманною лише лісовому коту, є Нерінгова пляма – світлі цятки на темних плямах п'яток (Müller, 2018)(Додаток 8).

Розрізнення гібридів між представниками роду *Felis* особливо ускладнюється в найпівденніших ареалах лісового kota, де він поступово переходить у степового kota. Чіткої межі між їхніми популяціями немає, і геномні аналізи показують, що лісові коти мають маркери, успадковані від степового kota, які були введені в їхній генетичний пул задовго до появи *Felis catus*. Це означає, що окремі ознаки або маркери можуть свідчити не тільки про недавню гібридизацію, а й про дуже давню (Davis, 2008).

Хутро також є важливим показником: його щільність і довжина можуть вказувати на зоогеографічний регіон походження kota. *Felis lybica lybica* має досить коротке хутро, тоді як *Felis catus* з фенотипом дикого типу теж має коротку шерсть. *Felis lybica ornata* демонструє значну варіативність довжини хутра залежно від сезону, з помірно довгим зимовим хутром. *Felis silvestris silvestris* має дуже щільне та довге хутро, пристосоване до європейських зим.

Важливою діагностичною ознакою лісового kota є його широкий та пухнастий хвіст, який помітно відрізняється від тонких та загострених хвостів *F. catus* та *F. lybica* (Додатки 4-7).

1.2. Гібридизація *Felis silvestris* та *Felis catus*

1.2.1. Ареал поширення *Felis catus*.

Домашній кіт є космополітичним видом, що досяг свого максимального ареалу завдяки близьким відносинам із людиною. Вид поширений на всіх континентах крім Антарктиди бік о бік з людськими поселеннями (Ottoni, 2017). Завдяки широкому та щільному поширенню в природі він гібридується не лише із іншими представниками роду *Felis* із якими співіснує, а й з *Prionailurus bengalensis*.

Цікаві аспекти динаміки впливу домашнього kota на сусідні дикі види котів полягають в:

- Різниці в щільності та кількості між ними, домашніх котів помітно більше, а диких сусідів менше і відносно домашніх вони розріджені.
- Поширення своїх хвороб домашнім котом що легко заражають інших фелід.

Схоже що два ці фактори разом можуть опосередковано штовхати дикі сусідні види або до витіснення, або ж до гібридизації з домашнім. Коли щільність представників дикого виду менша за щільність домашніх котів, шанси на гібридизацію вищі. Також, можливо, здійснюється тиск домашнім котом пулом своїх інфекційних хвороб, зокрема вірусних, на популяції диких родичів, що в свою чергу може не лише стимулювати конвергентність великого комплексу гістосумісності (Major Histocompatibility Complex, МНС)

у цих популяціях а й стимулювати до гібридизації із домашнім котом щоб отримати більше різноманіття МНС алелей (Howard-McCombe, 2023).

Зокрема всередині роду *Felis* цей процес може відбуватися дуже швидко через фертильність самців-гібридів другого покоління, на відміну від гібридизації домашнього кота з представниками *Prionailurus*. Кількість беккроссів на які здатні гібриди всередині роду *Felis* необмежена, що також видно досить добре в ландшафті гаплотипів (Li, 2015).

1.2.2. Ареал поширення *Felis silvestris*.

Ареал *Felis silvestris silvestris* включає Центральну Європу, Середземномор'я та Причорномор'я. На островних територіях цей вид також зустрічається на Британських островах (Шотландія), Сардинії та Корсиці. В Австрії, Нідерландах, Англії та Уельсі вид вимер. У Франції є дві ізольовані популяції: одна в Арденнському лісовому масиві на північному сході, яка поширюється до Люксембургу, Німеччини та Бельгії, інша — на півдні Франції, можливо, пов'язана з популяціями Іспанії та Португалії через Піренеї (Say, 2012). У континентальній Італії є дві фрагментовані популяції: центрально-південна та східно-альпійська, яка може бути пов'язана з популяціями Словенії та Хорватії. Третя, сицилійська популяція, є єдиною середземноморською островною популяцією, яка не є інтродукованою (Mattuci, 2013). Вид також широко поширений на Балканському півострові (Migli, 2021). Присутній і в Карпатах: ареал карпатського кластера охоплює територію від північної Польщі, через Словаччину, Угорщину, Румунію та Молдову до західної України (Okarma, 2002). В Україні цей вид мешкає в Закарпатті, Прикарпатті, Поділлі, інколи зустрічається на Поліссі та в Бессарабії (Zagorodniuk, 2014)(Drebet, 2019). В Україні він є рідкісним видом, що підлягає охороні (Акімов, 2009).

Протягом останніх кількох століть ареал цього виду систематично скорочувався, головним чином через переслідування з боку людини. У 1920-х і 1930-х роках європейський лісовий кіт пережив серйозний генетичний вузький горлечко, що призвело до зменшення його ареалу в Німеччині до гір Гарц, Пфальцького лісу та Гесських Нагір'їв (Piechocki 1990).

Лісовий кіт полює вночі, з піками активності на заході та сході сонця (Migli, 2021). Він надає перевагу листяним і змішаним лісам, уникаючи лісостепу, відкритих місцевостей та антропогенних ландшафтів. Це обмежує його здатність до міграції та призводить до розмежованості популяцій. Лісові коти досягають репродуктивного віку у 2 роки, а повної зрілості – у 3 роки. Самка народжує кошенят в середньому раз на рік або раз на два роки. Середній розмір посліду складає 3-4 кошеняти. З весни до кінця літа розмір посліду значно зменшується (Ruiz-Olmo, 2018).

Загальне відновлення європейських популяцій лісового kota пов'язують з міграцією людей з малонаселених місцевостей до великих міст після Другої світової війни та частковим відновленням лісових масивів (Pereira, 2015)(Mueller, 2020). Висока антропофобія лісового kota обмежує його міграцію та обмін особинами між популяціями. Для збереження міграційного потенціалу лісового kota та інших видів у Німеччині була розроблена система "зелених коридорів". Такі проекти спрямовані на відновлення лісів шляхом посадки кущів і дерев між районами, де мешкає лісовий кіт, і придатними для його розселення, уздовж площі понад 500 км² (Hartmann, 2013)(Jerosch, 2016, 2018).

Моніторинг популяцій зазвичай здійснюється за допомогою фотопасток, вилову та маркування особин нашійниками, а також за допомогою збирання шерсті, використовуючи валеріанові приманки, об які тварини труться та залишають шерсть (Steyer, 2013).

1.2.3. Контакт двох видів

Антропогенно опосередковане поширення *Felis catus* і їх контакт з природними популяціями *Felis silvestris silvestris* вважається однією з основних загроз для чистоти популяцій лісових котів у Європі. Високий рівень гібридизації спостерігається в угорських та шотландських популяціях (Beaumont, 2001)(Daniels, 2001)(Pierpaoli, 2003)(Lecis, 2006). Цікаво, що тільки кустарні схрещування виявлені в Італії, Німеччині та Португалії, де популяції лісового kota чітко відрізняються від домашніх і зберігають свій генетичний ландшафт (Randi, 2001) (Pierpaoli, 2003)(Lecis, 2006)(Oliveira, 2008)(Ferrerias, 2021).

Піднімається питання про небезпеку гібридизації лісового kota з домашнім: чи є вона дійсно загрозою і які заходи потрібно вживати? Більшість досліджень з 2000-х років розглядають лісового kota під ризиком повної генетичної асиміляції з домашнім котом та аутбредної депресії ізольованих популяцій лісового kota (MacDonald, 2010) (Witzenberger, 2014)(Senn, 2018)(Oliveira, 2008).

Однак найбільшого ризику генетичної асиміляції зазнають ізольовані та малочисельні популяції лісового kota. Це пов'язано з відсутністю партнерів свого виду та великою щільністю острівних популяцій, де два види активно контактують і розмножуються. Майже всі шотландські лісові коти є гібридами, утворюючи так званий "гібридний рій", що складається з чистокровних лісових котів, гібридів різних філій та різних беккросів (MacDonald, 2010).

Деякі дослідження не вважають гібридизацію однозначною загрозою, адже значний відсоток популяцій все ще зберігають чітку сегрегацію між видами (Gil-Sanchez, 2015). Це може бути пов'язано з екологічними відмінностями між домашніми та лісовими котами. Домашні коти прив'язані до антропогенних середовищ, тоді як лісові коти є дуже антропофобними.

Тому збереження "генетичної чистоти" може бути менш важливим, ніж збереження екології лісового kota (середовища існування та здобичі).

Екологія потомства, включаючи гібридне, визначається поведінкою їхніх батьків. Дикі особини виховують кошенят в ізольованих від людей середовищах, навчаючи їх уникати антропогенних середовищ. Тоді як ручні або напівручні особини, навпаки, привчають кошенят до життя поруч з людьми. Таким чином репродуктивна цінність гібридів може залежати від впливу батьківської особини на екологію потомства. Гібриди, вирощені самкою лісового kota, ймовірно, матимуть високу репродуктивну цінність через екологію, подібну до чистокровних лісових котів. Водночас гібриди, вирощені самкою домашнього kota, будуть асимільовані до синантропної екології і матимуть низьку цінність для збереження лісового kota *ex situ*.

Дослідження гібридного рою в Шотландії показують, що гібридизація може бути стратегією лісового kota для здобуття стійкості до хвороб, які приносять домашні коти. Нещодавнє дослідження шотландського гібридного рою показало, що лісові коти успадкували багато алелів МНС локусу від домашнього kota (Howard-McCombe, 2023), що може надавати їм перевагу у щільному співіснуванні з домашніми котами.

Найнебезпечнішими хворобами домашніх котів є панлейкопенія (котяча чумка, FPLV), котячий каліцивіроз (FCV) та котячий вірус імунодефіциту (FIV). Вони є великою проблемою для ізольованих популяцій диких видів, адже через повну відсутність контакту з ними дикі феліди є вкрай вразливими до цих патогенів.

Функціональна репродуктивна гібридизація з домашнім котом можлива тільки для інших представників роду *Felis*. З іншими фелінами гібридизація ускладнена поведінковими відмінностями та низькою або відсутньою фертильністю гібридів першого покоління (Davis2015). У цьому контексті

генетична спорідненість з домашнім котом надає лісовому коту перевагу для швидкої адаптації до їхніх спільних патогенів.

1.3. Морфологічна генетика

1.3.1. Генетичний ландшафт родини *Felidae*

Серед усієї родини *Felidae* (Котячих) найбільш детально вивченим та прокартованим є геном *F. catus*. Що в цілому є явищем очікуваним вважаючи що він є найпоширенішим та найдоступнішим для збору генетичного матеріалу видом в людському середовищі. А також, будучи видом свійським та культурно впливовим загалом має тенденцію до повертання до себе більшого рівня уваги та кількості досліджень порівняно із іншими подібними видами.

В зв'язку з цим фактором більшість моделей генетики інших видів родини Котячих спирається на генне мапування домашнього кота. Загальна спільність генетичної структури між різними представниками родини Котячих є помітною з урахунком достатньо вільної гібридизації всередині підродин, із фертильністю гібридів жіночої статі із першого покоління. Всередині роду обмеження на фертильність будь-якого покоління гібриду через дефекти сперматогенезу взагалі не спостерігається що дозволяє необмежену кількість зворотних схрещувань як у батьківський так і у материнський вид (Li, 2015).

Описана необмежена кількість зворотних схрещувань є стабільним явищем всередині роду *Felis*, що було одним із факторів у класифікації трьох

видів цього роду, *F. silvestris*, *F. lybica* та *F. catus*, як підвидів одного виду (Davis, 2008).

У зв'язку із тим що *F. silvestris* та *F. lybica* є виключно близькими до домашнього kota це значно спрощує екстраполяцію моделей, адже картування геному за морфологічними ознаками очікується дуже подібним між цими трьома видами, вважаючи що вони поділяють велику кількість гаплотипів та алелів (Davis, 2008).

Одна із основних ознак одомашненості виду це його значна поліморфність відносно дикого типу, що виникла завдяки зменшенню тиску оточення на фенотип та завдяки дизруптивному відбору (а саме непостійної та непередбачуваної селекції окремих ознак зі сторони людей).

Все це вказує на те що морфологічна мінливість не є прерогативою лише домашнього kota і відповідно може бути присутньою у лісового kota без жодних слідів гібридизації із домашнім. Дослідити чи є біла плямистість в лісовому коті нативною мінливістю чи інтрогресією і є задачею даного дослідження.

1.3.2. Молекулярна фізіологія меланогенезу

Гени та нелокалізовані локуси відповідальні за колорацію та меланогенез домашнього kota наведені нижче в ієрархічному порядку епістазу:

White pattern shape modifiers > KIT > TYR > Chinchilla&Shaded > Inhibitor “silver” > OSL > MC1R > Dilution modifier > MLPH > TYRP1 > ASIP > CORIN > DKK4 > Hybrid pattern modifiers > LVRN

Загальна сітка взаємодій цього каскаду генів проілюстрована у Додатку 1 і проявляє себе в більшості ссавців наступним чином. CORIN інгібує ASIP.

ASIP інгібує MC1R, в той час як α -MSH стимулює MC1R. Активація MC1R генерує цАМФ через AC, стимулюючи мембранні білки TYR, TYRP1, SLC45A2 та інші (не вказані на діаграмі), що призводить до підвищення синтезу еумеланіну. Інгібування MC1R знижує рівень цАМФ підвищує експресію цистеїнового транспортера SLC7A1, що веде до підвищення синтезу феомеланіну. Коли меланосоми дозрівають вони транспортуються до дендритних кінчиків при процесі що залежить від неконвенційного міозину MYO5A, α GTP-зв'язуючого білка RAB27A, та адаптерного протеїну MLPH (Ishida2006).

Індивідуальні функції вказаних генів та їх алелів наведені нижче.

ASIP - меланізм

Agouti gene (A/a) - agouti signaling protein (ASIP; Q865F0) знаходиться на А3 хромосомі. Ієрархія алелів: ASIP^A (agouti, дикий тип, наявність таббі) > ASIP^a (*nonagouti*, відсутність добре роздільного таббі патерну) (Lyons2006).

Сигнальний білок агуті (ASIP) є конкурентним антагоністом альфа-меланоцит-стимулюючого гормону (α -MSH) для зв'язування з білками рецептора меланокортину 1 (MC1R). Активація α -MSH викликає інтенсивніше вироблення еумеланіну, в той час як активація ASIP викликає інтенсивніше вироблення феомеланіну. Це означає, що там, де і поки виражається агуті, зростаюча частина волосся буде жовтою чи рудою, а не бурою чи чорною.

LVRN - таббі патерн

Tabby gene (Ta^M/Ta^b) - transmembrane aminopeptidase Q (LVRN, M3XFH7) локалізований у В1 хромосомі. Ієрархія алелів представлена: LVRN^M (дикий тип, макрель-таббі, тонкі смужки) > LVRN^b (класичний таббі, *blotched*, широкі розпливчасті смужки і плями) (Lyons2006). Ідентифіковано

що аналогічний до LVRN^b алель цього гену також відповідає за королівську морфу гепардів (Kaelin2010).

DKK4 - мікінг

DKK4 Dickkopf 4 Wnt Signaling Pathway Inhibitor, локалізований в хромосомі В1 (Kaelin, 2021)(Lyons, 2021). Інгібуючи Wnt-сигналінг у меланоцитах він впливає на їх проліферацію та диференціацію, впливаючи таким чином на форму відмітин на тілі тварини. У лінії меланоцитів серія транскрипційних факторів, включаючи Pax3, Sox10, Creb, Lef1 та Mitf, відіграє ключову роль у регуляції проліферації, диференціації та виживання меланоцитів. Експресія основного регуляторного гену меланоцитів Mitf регулюється синергічною дією Pax3, Sox10, Lef1 та Creb на його промотор/енхансер. Mitf активує власний промотор через позитивний зворотний зв'язок. Після трансляції білок Mitf фосфорилується кіназою Erk, що активується шляхом сигнального шляху c-Kit. Фосфорилування Mitf призводить до стабілізації комплексу Mitf-p300, тим самим підвищуючи його транскрипційну активність для стимулювання експресії цільових генів, включаючи Dct, Tyr та Tgrp1. Сигналізація c-Kit також стимулює експресію Vcl2 для підтримки виживання меланоцитів. Активація сигнального шляху меланокортину збільшує концентрацію цАМФ у цитоплазмі, що призводить до активації CREB. Активований CREB безпосередньо зв'язується з цАМФ-чутливими елементами на промоторних ділянках генів Mitf та різних меланосомних генів, стимулюючи їх експресію. Сигналізація Wnt необхідна для розвитку меланоцитів. Активація сигнального шляху Wnt стабілізує комплекс β -катенін/Lef, що призводить до транскрипційної активації генів-мішеней, таких як Mitf, для сприяння специфікації долі меланоцитів та їх диференціації. Навпаки, експресія TGF- β у кератиноцитах відіграє роль у пригніченні меланогенезу. Активація сигнального шляху TGF- β призводить до репресії Pax3 через фосфорильовані Smads, що веде до пригнічення Mitf для блокування активації меланоцитів. Активація сигнального шляху Notch є

важливою для виживання меланобластів, хоча молекулярний механізм цього явища залишається невідомим (Osawa, 2009).

MLPH - “розчинення”

Dilution (D/d) - melanophilin (MLPH). Меланофілін це адаптерний білок задіяний в транспорті зрілих меланосом в дендритні кінчики. Ієрархія алелів представлена: $MLPH^D$ (дикий тип) > $MLPH^d$ (*diluted*, “розчинений”). Менш ефективний алель призводить до слабшого розподілення зрілих меланосом по дендритах та менш щільного пакування меланосом у волосини, що призводить до загального ослаблення колорації тварини (Ishida, 2006).

CORIN - “золото”

Golden (WB/wbBSH/wbSIB/wbeSIB) - serine peptidase (CORIN). Альтернативні алелі цього гену відповідають за “золоті” фенотипи *golden* та *sunshine*, що характеризуються вицвітанням та розмиванням таббі-відміток, не зачіпаючи при цьому фоновий відтінок (феомеланінову базу). Механізм що за цим лежить проявляє себе у розширенні довжини феомеланінових смуг на ворсині відносно еумеланінових смуг. Сам білок CORIN є інгібітором вищезазначеного ASIP, який в свою чергу і займається переключенням із синтезу феомеланінової смуги на чорну та навпаки. Послаблене інгібування призводить до більш повільного переключення на синтез еумеланінової смуги, що робить її коротшою (Abitpol, 2022)(Beauvois, 2021).

Одна із гіпотез в рамках ширшого дослідження генетики лісового kota полягає в тому що патерни 2 і 3 (Додаток 7) пов’язані із геном CORIN або подібним йому фактором що розширює феомеланінову смугу на тлі ворсини (*widebanding*). Це планується перевірити у подальших експериментах.

У Додатку 3 наведені усі фенотипові комбінації які діагностичними для ідентифікації особини як представника *F. catus*.

TYR - колорпойнт

TYR кодує тирозиназу, що представлена на мембранах протомеланосом та поглинає та окислює тирозин, стимулюючи вироблення та пакування меланінів.

Ієрархія алелів представлена: TYR^C (дикий тип, нормальна пігментація) $> TYR^{cb}$ (“бурманська сепія”, менш контрастна ніж колорпойнт) $\geq TYR^{cs}$ (класичний сіамський колорпойнт, кодомінант із cs) $> TYR^{ca}$ (альбінізм із пігментацією очей) $> TYR^c$ (повний альбінізм).

Фенотипово алелі TYR^{cs} (світліша варіація) та TYR^{cb} (темніша варіація) проявляють себе як відсутність нормальної пігментації усюди крім обличчя, вух, лап та хвоста. TYR^{cs} надає більш контрастне забарвлення, активніше висвітлюючи хутро тулуба. $TYR^{cs/cb}$ кодомінантні коти мають проміжний контраст хутрового покриву, таке забарвлення називають “норковим”. Ділянки що не зачеплені проявом алелю (голова, ноги та хвіст) будуть мати колір відповідно до наявних у них варіацій генів TYRP1, LVRN, ASIP та ін., тобто чорний, бурий, рудий, сірий, черепаховий і т.д. Меланіни слабо синтезуються на теплих частинах тіла, та сильно на прохолодних (ніс, вуха, лапи, хвіст). З цієї причини носії цього алелю темніють з віком, коли загальна температура тіла падає. Також хутро може іноді потемніти або посвітліти через значну травму (Schmidt-Kuentzel, 2007).

KIT - біла плямистість

White spotting gene (W/w), що кодує tyrosine-protein kinase (KIT; Q28889) відомий як біла плямистість і епістатичний білий (також відомий як домінантний білий), довгий час вважалися двома окремими генами, але зараз відомо, що вони обидва локалізовані в KIT. Біла плямистість може проявлятися в різних формах - від маленької білої плями до майже повного або повного покриття тіла білим (Montague2014).

Ієрархія алелів представлена як:

KIT^D (домінантний білий, опціонально блакитні очі та глухота) $>$ KIT^S (біла плямистість, кодомінант, змінна експресія) $>$ KIT^W (дикий тип, відсутність білих плям) $>$ KIT^g (білі рукавички Бірмана) (Montague2014).

KIT^S демонструє кодомінантність та змінну експресію - гетерозиготні коти мають ~0-50% білого хутра, а гомозиготні коти мають ~50-100% білого хутра.

Білі ліпи можуть бути ознакою що виникла в популяції лісових котів незалежно від домашнього кота, або ж це і є KIT^g інтродукований із пулу домашнього кота. Іншим алелем із яким ця ознака може бути потенційно пов'язаною це KIT^S алель, вірогідно отриманий від інтрогресії із домашнім котом, та певні його регулятори. Якщо саме KIT^S зумовлює білі плями на пальцях то за ним особини мають бути гетерозиготними.

Детальна схема порівняння білої плямистості у домашнього кота із KIT^S та білої плямистості у лісових котів представлена в Додатку 8. Біла плямистість у домашнього кота характеризується тим що:

- Краї білих плям є чіткими
- Білі плями перекривають собою таббі-паттерн
- Зазвичай формують високі плями на кистях та п'ятках у формі “рукавичок” та “чобітків”.

Білі плями у лісових котів зустрічаються тільки на животі та лапах, мають розмиті межі та поступово переходять у інші кольори хутра. Вони не перекривають таббі-паттерн, а просто освітлюють його. Світле хутро на животі зазвичай утворює лінію від комірця на шиї, зіркоподібні плями на грудях та кільця у паховій області. Діагностичним критерієм також є наявність Нерінгової цятки на подушечках лап.

РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Структура дослідження

В рамках ширшого дослідження зв'язку генетики із морфологією хутра у європейського лісового, домашнього котів та їх гібридів було зібрано та кластеризовано фотоматеріал із територій Німеччини, Швейцарії та деяких інших країн центральної Європи (Науменко, 2022).

Проморфотиповані особини були також проаналізовані на видову приналежність мітохондріальним гаплотипуванням та SNP панелью щоб підкріпити та порівняти видове визначення морфометричними методами.

Після визначення спорідненості цей пул особин був проаналізований маркерною панелью K1T гену, що має продемонструвати алельний ландшафт гену що відомий як відповідний за білу плямистість.

2.2 Морфометричні методи

Формат фотоданих який був використаний для збору, наведений у Додатку 4, це фотографії тварини в профіль, вздовж, зі спини, з живота та ззаду, що потрібні для максимального опису всіх діагностичних для виду характеристик.

Опис морфологічних характеристик здійснювався за параметрами що були визначені як діагностичні у ширшому, бакалаврському проєкті (Науменко, 2022), що в свою чергу були засновані на шкалі (Kitchener, 2017), а саме:

- тип таббі-патерну
- тип спинної смуги
- форма хвоста (лише взимку)
- відмітки на плечах
- короткі плями на п'ятках
- китиці на вухах
- нерінгова пляма

Ілюстрація цих характеристик наведена у Додатках 2-4.

При оцінці вищезазначених характеристик також враховувались демографічні параметри:

- стать
- вік
- сезон хутряного покриву

Вік оцінювався за пропорціями частин тіла (Piechocki1990). Даний параметр є важливим адже до 4 тижнів віку морфометричне визначення виду не є надійним.

Сезонність хутра визначається (Додаток 2):

Березень (03) та вересень (09) - перехідні сезони для шерстяного покриву.

Квітень (04) по серпень (08) - літнє хутро.

Жовтень (10) по лютий (02) - зимове хутро.

Оцінка сезону хутра у особин здійснювалася за датою знаходження/вилову.

2.2 Методи генетичного аналізу

Виділення ДНК з різних типів зразків проводилося за допомогою набору DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Німеччина) відповідно до інструкцій виробника. Для обраних зразків диких і домашніх котів, включаючи особин з диким типом шерсті та шерстю з білою плямистістю (див. Додаток 9), були використані маркери feline KIT (Montague et al., 2014), за винятком маркера 5'UTR. Екстракти ДНК кількісно визначали на Nanodrop (Thermo Scientific, США) і нормалізували до концентрації 5 нг/μл за допомогою води, вільної від нуклеїнових кислот, перед проведенням ПЛР. Одна реакція для полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) складалася з 5 мкл Multiplex PCR Kit (Qiagen, Німеччина), 0,4 мкл відповідної пари праймерів, 1,2 мкл води, вільної від нуклеїнових кислот (Carl Roth, Німеччина), і 3 мкл нормалізованого екстракту ДНК. Використовувався наступний протокол термоциклера: 1x 15 хв при 95°C, 35x 95°C протягом 15 сек, 58°C протягом 30 сек та 72°C протягом 60 сек, і 1x 10 хв для фінальної елонгації, з подальшим зберіганням при 10°C. Всі зразки аналізувалися в дублікатах, і всі експерименти ПЛР включали негативні контролю (NTC). Ефективність ПЛР кожного маркера перевірялася шляхом випадкової вибірки з використанням агарозного гелевого електрофорезу. Перед секвенуванням методом Сенгера продукти ПЛР очищали за допомогою ExoSAP-IT (ThermoFisher Scientific, США) відповідно до інструкцій виробника та розбавляли наступним чином: один реплікат кожного зразка і ПЛР розбавляли додаванням 2,5 мкл продукту ПЛР у 48 мкл води, а другий реплікат — додаванням 2,5 мкл продукту ПЛР у 72 мкл води. Мікросателітні та SNP маркери розбавляли, додаючи 3 мкл продукту ПЛР у 12 мкл води. Нарешті, вихідні дані отримували за допомогою ABI Genetic Analyzer 3700 (Thermo Scientific, США).

Хронологічно процеси були проведені у наступному порядку:

- Екстракція. Стандартні протоколи екстракції ДНК для свіжих зразків (слина та шерсть) та видозмінений протокол для музейних шкір через погану збереженість ДНК в цьому виді зразків.
 - Стандартний протокол для свабів слини: ATL буфер 430 мкл, протеїн кіназа 25 мкл. Шейкер 1200 rpm 56° 2-5 годин. Автоматизована екстракція в QIACube.
 - Стандартний протокол для шерсті: буфер 330 мкл, протеїн кіназа 25 мкл, інкубація 2-12 годин. Автоматизована екстракція в QIACube.
 - Для музейних шкір: екстракція в вищому об'ємі, AFL буфер 430 мкл, протеїн кіназа 25 мкл, DDT 25 мкл.
- ПЦР
 - ПЦР мікс: вода 44 мкл, PCR Multiplex 550 мкл, STA (Shifted Termination Assay) custom WK_randi mix 110 мкл. Машина Biometra, програма Sensifast, 1 година.
 - Для музейних шкір: real-time PCR.
- Гаплотипування mtDNA
 - Мікс праймерів: Sensifast - 300, CHR - 24, LF4 - 24. По 7 мкл/лунку.
 - EchoFastAP 2 мкл/лунку.
- Сортування зразків за якістю відгуку до mtDNA панелі.
- Аналіз відсортованих зразків КІТ маркерами.

2.3 Методи статистичного аналізу

Так як були порівняні дві категоріальні змінні, зиготність та популяція, для обробки був обраний метод статистичного аналізу χ^2 тест незалежності (independence test). Із трьох категорій котів (лісові коти дикого типу, лісові

коти із білою плямистістю та домашні коти) було сформовано дві таблиці спряженості (контингентності).

H₀ це незв'язаність зиготності маркерів KIT гену із популяцією котів певної колорації.

H₁ це зв'язаність зиготності маркерів KIT гену із популяцією котів певної колорації.

РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Результати морфометрії

Морфометричні показники були проаналізовані у 59 зразків, результуючи у даних 59 особин.

$n = 22$ *Felis silvestris* дикого типу.

$n = 14$ *Felis catus* дикого типу.

$n = 9$ *Felis silvestris* із білою плямистістю.

$n = 10$ *Felis catus* із білою плямистістю.

$n = 1$ *Felis catus* × *Felis lybica* із білою плямистістю.

$n = 6$ підозрюваних гібридів

3.2 Результати генотипування

Аналіз гаплотипів мітохондріальної ДНК був проведений у 59 зразків (59 особин), і дав результати у 47 зразків (47 особин). З них:

$n = 21$ підтверджених *Felis silvestris* дикого типу.

$n = 7$ підтверджених *Felis silvestris* з білою плямистістю.

$n = 4$ *Felis catus* × *Felis silvestris* F1 гібридів.

$n = 1$ (*Felis catus* × *Felis silvestris*) × *Felis silvestris* F2 з білою плямистістю.

$n = 1 (Felis catus \times Felis silvestris) \times Felis silvestris$ F2.

$n = 1 ((Felis catus \times Felis silvestris) \times Felis silvestris) \times Felis silvestris$ F3.

$n = 1 Felis catus \times Felis lybica$ F1 гібрид із білою плямистістю.

$n = 10$ підтверджених *Felis catus* дикого типу.

$n = 8$ підтверджених *Felis catus* з білою плямистістю.

12 зразків не дали результатів аналізу мітохондріальної ДНК, вказуючи на погану збереженість генетичного матеріалу, через що були виключені із подальшого маркерного аналізу. Сирі дані гаплотипування та маркерного аналізу наведені у додатках 10-14.

3.3 Результати статистичного аналізу

В силу досить маленького об'єму отриманих даних вони оброблені у простому статистичному калькуляторі DATAtab.

Таблиця 3.3.1. Спостережена частота

	Лісовий кіт дикого типу	Лісовий кіт з білою плямистістю	Домашній кіт
гомозиготність	19	22	8
гетерозиготність	20	18	22

Таблиця 3.3.2. Очікувана частота при незалежності зиготності лісового kota
дикого типу від зиготності домашнього kota.

	Лісовий кіт дикого типу	Домашній кіт
гомозиготність	15,04285714	11,57142857
гетерозиготність	23,4	18

Chi² statistic = 3.46.

p-value = 0.063. Результат не значимий при $p < .05$

Таблиця 3.3.3. Очікувана частота при незалежності зиготності лісового kota з білою плямистістю від зиготності домашнього kota.

	Лісовий кіт плямистий	Домашній кіт
гомозиготність	16,71428571	12,85714286
гетерозиготність	22,28571429	17,14285714

Chi² statistic = 5.62.

p-value = 0.018. Результат значимий при $p < .05$.

Таблиця 3.3.4. Очікувана частота при незалежності зиготності лісового kota з білою плямистістю від зиготності лісового kota дикого типу.

	Лісовий кіт дикого типу	Лісовий кіт плямистий
гомозиготність	21,67142857	23,42857143
гетерозиготність	22,8	24

Chi² statistic = 0.31.

p-value = 0.576. Результат не значимий при $p < .05$

3.2 Обговорення

При аналізі отриманих даних було визначено що через погану якість ДНК у частині зразків постраждала величина вибірки домашніх котів із білою плямистістю, тому домашні коти з білою плямистістю та без були об'єднані в одну групу, що вже потім була попарно порівняна із лісовим котом дикого типу та лісовим котом з білою плямистістю.

Головний таргетний алель КІТ гену не дав результату при аналізі що є коректним для інтерпретації, тому потребує більше повторів для остаточних

висновків про гомологічність бірманського алелю та алелю лісового kota з білою плямистістю.

Залежність між гомозиготністю у лісових котів з білою плямистістю та у домашніх котів спостережена, і у лісових котів з білою плямистістю вона вища. Це вказує на те що у лісових котів з білою плямистістю вища гомогенність на KIT, що хоч не може підтверджувати чи спрощувати наслідуваність цих алелів у одного виду від іншого, тим не менш вказує на те що фенотип білої плямистості може потребувати цієї більшої гомогенності для експресії. А отже може опосередковано вказувати на рецесивність фенотипово вирішального алелю KIT плямистого лісового kota.

3.3 Перспективи подальших досліджень

Так як у це дослідження увійшли не усі наявні зразки це залишає простір для більш об'ємного статистичного аналізу. Заплановані дослідження представляють:

- Мапування алелів CORIN-гену у лісового kota.
- Глибший аналіз впливу філії гібрида на співвідношення різних наслідуваних характеристик. В цьому досліджень гібридів було сумарно лише 5, що є недостатнім для висновків про алельний ландшафт гібридів.

ВИСНОВКИ

1. Із усіх генів-кандидатів що пов'язані із білою плямистістю був обраний саме K1T та проаналізований на гомозиготність.
2. Залежність між гомозиготністю у лісових котів з білою плямистістю та у домашніх котів спостережена, і у лісових котів з білою плямистістю вона вища. Це вказує на те що у лісових котів з білою плямистістю вища гомогенність на K1T, що хоч не може підтверджувати чи спрощувати наслідуваність цих алелів у одного виду від іншого, тим не менш вказує на те що фенотип білої плямистості може потребувати цієї більшої гомогенності для експресії.
3. Дані опосередковано вказують на можливу рецесивність фенотипово вирішального алелю K1T лісового kota з білою плямистістю.
4. K1T ген не може бути використаний для розрізнення двох видів, вірогідно через недостаток даних у цьому дослідженні.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Науменко М.В. Варіативність та діагностична вага маркувань хутра європейського лісового kota у контексті антропогенної гібридизації та географічної мінливості. (2022). – Випускна кваліфікаційна робота бакалавра за спеціальністю 091 Біологія, ОП Біологія (високі технології) спеціалізацією молекулярна біологія.

2. Kitchener A. C., Breitenmoser-Würsten Ch., Eizirik E., Gentry A., Werdelin L., Wilting A., Yamaguchi N., Abramov A. V., Christiansen P., Driscoll C., Duckworth J. W., Johnson W., Luo S.-J., Meijaard E., O’Donoghue P., Sanderson J., Seymour K., Bruford M., Groves C., Hoffmann M., Nowell K., Timmons Z. & Tobe S. (2017). “A revised taxonomy of the Felidae. The final report of the Cat Classification Task Force of the IUCN/ SSC Cat Specialist Group”. Cat News Special Issue 11, 80 pp. [Link](#).

3. Ottoni, Claudio & Van Neer, Wim & Cupere, Bea & Daligault, Julien & Guimaraes, Silvia & Peters, Joris & Nikolay, Spassov & Prendergast, Mary & Boivin, Nicole & Morales-Muñiz, Arturo & Balasescu, Adrian & Becker, Cornelia & Benecke, Norbert & Boroneant, Adina & Buitenhuis, Hylke & Chahoud, Jwana & Crowther, Alison & Llorente-Rodriguez, Laura & Manaseryan, Nina & Geigl, Eva-Maria. (2017). The palaeogenetics of cat dispersal in the ancient world. Nature Ecology & Evolution. 1. 0139. [10.1038/s41559-017-0139](https://doi.org/10.1038/s41559-017-0139).

4. Li, Gang & Davis, Brian & Eizirik, Eduardo & Murphy, William. (2015). “Phylogenomic evidence for ancient hybridization in the genomes of living cats (*Felidae*)”. Genome research. 26. [10.1101/gr.186668.114](https://doi.org/10.1101/gr.186668.114).

5. Montague, M. J., Li, G., Gandolfi, B., Khan, R., Aken, B. L., Searle, S. M., Minx, P., Hillier, L. W., Koboldt, D. C., Davis, B. W., Driscoll, C. A., Barr, C. S., Blackistone, K., Quilez, J., Lorente-Galdos, B., Marques-Bonet, T., Alkan, C., Thomas, G. W., Hahn, M. W., Menotti-Raymond, M., Warren, W. C.

(2014). “Comparative analysis of the domestic cat genome reveals genetic signatures underlying feline biology and domestication.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(48), 17230–17235. <https://doi.org/10.1073/pnas.1410083111>

6. Piechocki, R. (1990). “Die Wildkatze“. Ziemsen Verlag.

7. Heptner, V.G. & Sludskii, A.A. (1992). “Mammals of the Soviet Union. Vol. II, Part 2” (“Wildcat Schreber, 1777”). Washington, DC: Smithsonian Institution and the National Science Foundation. pp. 398–498. Retrieved 9 September 2020.

8. Pereira, H. M., & Navarro, L. M. (Eds.) (2015). “Rewilding European Landscapes”. Springer.

9. Yamaguchi, N., Kitchener, A., Driscoll, C. & Nussberger, B. 2015. *Felis silvestris*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T60354712A50652361.

<https://www.iucnredlist.org/species/60354712/50652361#population>.

10. Акімов, А. І. (ред.) (2009). „Червона книга України. Тваринний світ“. — Київ: Глобалконсалтинг, 600 с.

11. Загороднюк, Ігор & Гаврилюк, Максим & Дребет, Михайло & Скільський, Ігор & Андрусенко, А. & Pirkhal, A.. (2014). “Wildcat (*Felis silvestris* Schreber, 1777) in Ukraine: modern state of the populations and eastwards expansion of the species”. *Studia Biologica*. 8. 233-254. 10.30970/sbi.0803.372.

12. Дребет, Михайло & Капелюх, Ярослав. (2019). “New data on distribution of the wildcat (*Felis silvestris* Schreber, 1777) in Podillia”. *Theriologia Ukrainica*. 2019. 128-132. 10.15407/pts2019.18.128.

13. Migli, Despina & Astaras, Christos & Boutsis, George & Diakou, Anastasia & Karantanis, Nikolaos Evangelos & Youlatos, Dionisios. (2021). “Spatial Ecology and Diel Activity of European Wildcat (*Felis silvestris silvestris*) in a Protected Lowland Area in Northern Greece”. *Animals*. 11. 3030. 10.3390/ani11113030.

14. Mattucci, Federica & Oliveira, Rita & Lyons, Leslie & Alves, Paulo & Randi, Ettore. (2015). "European wildcat populations are subdivided into five main biogeographic groups: Consequences of Pleistocene climate changes or recent anthropogenic fragmentation?". *Ecology and Evolution*. 6. 10.1002/ece3.1815.
15. Mattucci, Federica & Oliveira, R & Lolita, Bizzarri & Vercillo, Francesca & Anile, Stefano & Ragni, Bernardino & Lapini, Luca & Sforzi, Andrea & Alves, Paulo & Lyons, L & Randi, Ettore. (2013). "Genetic structure of wildcat (*Felis silvestris*) populations in Italy". *Ecology and Evolution*. 3. 10.1002/ece3.569.
16. Hartmann, Stefanie & Steyer, Katharina & Kraus, Robert & Segelbacher, Gernot & Nowak, Carsten. (2013). "Potential barriers to gene flow in the endangered European wildcat (*Felis silvestris*)". *Conservation Genetics*. 14. 10.1007/s10592-013-0468-9.
17. Steyer, Katharina & Simon, Olaf & Kraus, Robert & Haase, Peter & Nowak, Carsten. (2012). "Hair trapping with valerian-treated lure sticks as a tool for genetic wildcat monitoring in low-density habitats". *European Journal of Wildlife Research*. 59. 10.1007/s10344-012-0644-0.
18. Steyer, Katharina & Kraus, Robert & Mölich, Thomas & Anders, Ole & Cocchiararo, Berardino & Frosch, Christiane & Geib, Alexander & Götz, Malte & Herrmann, Mathias & Hupe, Karsten & Kohnen, Annette & Krüger, Matthias & Müller, Franz & Pir, Jacques & Reiners, Tobias & Roch, Susan & Schade, Ulrike & Schiefenhövel, Philipp & Siemund, Mascha & Nowak, Carsten. (2016). "Large-scale genetic census of an elusive carnivore, the European wildcat (*Felis s. silvestris*)". *Conservation Genetics*. 17. 10.1007/s10592-016-0853-2.
19. Steyer, Katharina & Tiesmeyer, Annika & Mölich, Thomas & Burkhard, Vogel & Nowak, Carsten. (2013). "Large-scale genetic census of wildcats (*Felis silvestris*)". *International Conference on Behaviour, Physiology and Genetics of Wildlife*, volume 9.

20. Steyer, Katharina & Kraus, Robert & Mölich, Thomas & Anders, Ole & Cocchiara, Berardino & Frosch, Christiane & Geib, Alexander & Götz, Malte & Herrmann, Mathias & Hupe, Karsten & Kohnen, Annette & Krüger, Matthias & Müller, Franz & Pir, Jacques & Reiners, Tobias & Roch, Susan & Schade, Ulrike & Schiefenhövel, Philipp & Siemund, Mascha & Nowak, Carsten. (2016). “Electronic supplementary material Large-scale genetic census of the European wildcat submission”. (Published Data).

21. Mueller, Sarah & Reiners, Tobias & Steyer, Katharina & von Thaden, Alina & Tiesmeyer, Annika & Nowak, Carsten. (2020). “Revealing the origin of wildcat reappearance after presumed long-term absence”. *European Journal of Wildlife Research*. 66. 10.1007/s10344-020-01433-7.

22. Kominos, Theodoros & Galanaki, Antonia & Oikonomakis, Nikolaos & Kiamos, Nikolaos & Kontakos, Dimitrios & Lymberakis, Petros & Youlatos, Dionisios. (2021). “Distribution and habitat use of the wildcat *Felis silvestris* in Greece”. 10.13140/RG.2.2.28128.81925.

23. Jerosch, Saskia & Kramer-Schadt, Stephanie & Götz, Malte & Roth, Mechthild. (2018). “The importance of small-scale structures in an agriculturally dominated landscape for the European wildcat (*Felis silvestris silvestris*) in central Europe and implications for its conservation”. *Journal for Nature Conservation*. 41. 88-96. 10.1016/j.jnc.2017.11.008.

24. Jerosch, Saskia & Götz, Malte & Roth, Mechthild. (2016). “Spatial organisation of European wildcats (*Felis silvestris silvestris*) in an agriculturally dominated landscape in Central Europe”. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*. 82. 10.1016/j.mambio.2016.10.003.

25. Ruiz Villar, Hector & López-Bao, José Vicente & Palomares, Francisco. (2020). “A small cat saving food for later: caching behavior in the European wildcat (*Felis silvestris silvestris*)”. *European Journal of Wildlife Research*. 66. 10.1007/s10344-020-01413-x.

26. Hobson, Keziah. (2012). “An investigation into prey selection in the Scottish wildcat (*Felis silvestris silvestris*)”. Thesis for MSc Conservation Science for University of Aberdeen.
27. Say, Ludovic & Devillard, Sébastien & Léger, F. & Pontier, Dominique & Ruelle, Sandrine. (2012). “Distribution and spatial genetic structure of European wildcat in France”. *Animal Conservation*. 15. 10.1111/j.1469-1795.2011.00478.x.
28. Okarma, H. & śnieżko, Stanisław & Olszanska, Agnieszka. (2002). “The occurrence of wildcat in the Polish Carpathian Mountains”. *Acta Theriologica*. 47. 499-504. 10.1007/BF03192474.
29. Ruiz-Olmo, Jordi & Piñol, César & Sánchez, Damià & Such-Sanz, Àngel. (2018). “Breeding pattern of wildcat *Felis silvestris* (Schreber, 1777) studied in captivity in the iberian peninsula”. *Hystrix*. 29. 202-210. 10.4404/hystrix-00056-2018.
30. Davis, Brian & Raudsepp, Terje & Pearks, Alison & Agarwala, Richa & Schaffer, Alejandro & Houck, Marlys & Chowdhary, Bhanu & Murphy, William. (2008). “A High-Resolution Cat Radiation Hybrid and Integrated FISH Mapping Resource for Phylogenomic Studies across Felidae”. *Genomics*. 93. 299-304. 10.1016/j.ygeno.2008.09.010.
31. Davis, Brian & Seabury, Christopher & Brashear, Wesley & Li, Gang & Roelke, Melody & Murphy, William. (2015). “Mechanisms Underlying Mammalian Hybrid Sterility in Two Feline Interspecies Models”. *Molecular biology and evolution*. 32. 10.1093/molbev/msv124.
32. Menotti-Raymond, Marilyn & David, Victor & Roelke, Melody & Chen, Z & Menotti, K & Sun, S & Schaffer, Alejandro & Tomlin, J & Agarwala, R & O'Brien, S & Murphy, William. (2003). “Second-Generation Integrated Genetic Linkage/Radiation Hybrid Maps of the Domestic Cat (*Felis catus*)”. *The Journal of heredity*. 94. 95-106. 10.1093/jhered/esg008.
33. Mattucci, Federica & Galaverni, Marco & Lyons, Leslie & Alves, Paulo & Randi, Ettore & Velli, Edoardo & Pagani, Luca & Caniglia, Romolo.

(2019). “Genomic approaches to identify hybrids and estimate admixture times in European wildcat populations”. *Scientific Reports*. 9. 11612. 10.1038/s41598-019-48002-w.

34. Tiesmeyer, Annika & Ramos, Luana & Lucas, José & Steyer, Katharina & Alves, Paulo & Astaras, Christos & Brix, Mareike & Cragolini, Margherita & Domokos, Csaba & Hegyeli, Zsolt & Janssen, René & Kitchener, Andrew & Clotilde, Lambinet & Mestdagh, Xavier & Migli, Despina & Monterroso, Pedro & Mulder, Jaap & Schockert, Vinciane & Youlatos, Dionisios & Nowak, Carsten. (2020). “Range-wide patterns of human-mediated hybridisation in European wildcats”. *Conservation Genetics*. 21. 10.1007/s10592-019-01247-4.

35. Quilodran, Claudio & Nussberger, Beatrice & Macdonald, David & Montoya-Burgos, Juan & Currat, Mathias. (2020). “Projecting introgression from domestic cats into European wildcats in the Swiss Jura”. *Evolutionary Applications*. 13. 10.1111/eva.12968.

36. Quilodran, Claudio & Nussberger, Beatrice & Montoya-Burgos, Juan & Currat, Mathias. (2019). “Hybridization and introgression during density-dependent range expansion: European wildcats as a case study”. *Evolution*. 73. 10.1111/evo.13704.

37. Krüger, Matthias & Hertwig, Stefan & Jetschke, Gottfried & Fischer, Martin. (2009). “Evaluation of anatomical characters and the question of hybridization with domestic cats in the wildcat population of Thuringia, Germany”. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 47. 268 - 282. 10.1111/j.1439-0469.2009.00537.x.

38. Jose María, Gil & Jaramillo, J. & Barea Azcón, José. (2015). “Strong spatial segregation between wildcats and domestic cats may explain low hybridization rates on the Iberian Peninsula”. *Zoology*. 10.1016/j.zool.2015.08.001.

39. Randi, Ettore & Pierpaoli, Massimo & Beaumont, Mark & Ragni, Bernardino & Sforzi, Andrea. (2001). “Genetic identification of wild and

domestic cats (*Felis silvestris* and their hybrids using Bayesian clustering methods”. *Mol Biol Evol* 18: 1679-1693. *Molecular biology and evolution*. 18. 1679-93. 10.1093/oxfordjournals.molbev.a003956.

40. von Thaden, Alina & Cocchiararo, Bernardino & Mueller, Sarah & Reiners, Tobias & Reinert, Katharina & Tuchscherer, Iris & Janke, Axel & Nowak, Carsten. (2021). “Informing conservation strategies with museum genomics: Long-term effects of past anthropogenic persecution on the elusive European wildcat”. *Ecology and Evolution*. 00. 1-20. 10.1002/ece3.8385.

41. Nussberger, Beatrice & Wandeler, Peter & Weber, Darius & Keller, Lukas. (2014). “Monitoring introgression in European wildcats in the Swiss Jura”. *Conservation Genetics*. 15. 1219-1230. 10.1007/s10592-014-0613-0.

42. Daniels, Mike & Beaumont, Mark & Johnson, Paul & Balharry, David & Macdonald, David & Barratt, Elizabeth. (2001). “Ecology and genetics of wild-living cats in the North-East of Scotland and the implications for the conservation of the wildcat”. *Journal of Applied Ecology*. 38. 146 - 161. 10.1046/j.1365-2664.2001.00580.x.

43. Pierpaoli, Massimo & Biró, Zsolt & Herrmann, Mathias & Hupe, Karsten & Fernandes, Margarida & Ragni, Bernardino & Szemethy, László & Randi, Ettore. (2003). “Genetic distinction of wildcat (*Felis silvestris*) populations in Europe, and hybridization with domestic cats in Hungary”. *Molecular ecology*. 12. 2585-98. 10.1046/j.1365-294X.2003.01939.x.

44. Lecis, Roberta & Pierpaoli, Massimo & Biró, Zsolt & Szemethy, László & Ragni, Bernardino & Vercillo, Francesca & Randi, Ettore. (2006). “Bayesian analyses of admixture in wild and domestic cats (*Felis silvestris*) using linked microsatellite loci”. *Molecular ecology*. 15. 119-31. 10.1111/j.1365-294X.2005.02812.x.

45. Randi, Ettore & Pierpaoli, Massimo & Beaumont, Mark & Ragni, Bernardino & Sforzi, Andrea. (2001). “ Genetic identification of wild and domestic cats (*Felis silvestris* and their hybrids using Bayesian clustering

methods". *Molecular biology and evolution*. 18. 1679-93. 10.1093/oxfordjournals.molbev.a003956.

46. M.A., Beaumont & Barratt, E & Gottelli, D. & Kitchener, Andrew & Daniels, M & Pritchard, J & Bruford, Michael. (2001). "Genetic diversity and introgression in the Scottish wildcat". *Molecular ecology*. 10. 319-36. 10.1046/j.1365-294X.2001.01196.x.

47. Oliveira, Rita & Godinho, Raquel & Randi, Ettore & Alves, Paulo. (2008). "Hybridization versus conservation: Are domestic cats threatening the genetic integrity of wildcats (*Felis silvestris silvestris*) in Iberian Peninsula?". *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 363. 2953-61. 10.1098/rstb.2008.0052.

48. Witzemberger, Kathrin & Hochkirch, Axel. (2014). The Genetic Integrity of the Ex Situ Population of the European Wildcat (*Felis silvestris silvestris*) Is Seriously Threatened by Introgression from Domestic Cats (*Felis silvestris catus*). *PloS one*. 9. e106083. 10.1371/journal.pone.0106083.

49. Kitchener, Andrew & Rees, Erin. (2009). "Modelling the dynamic biogeography of the wildcat: Implications for taxonomy and conservation". *Journal of Zoology*. 279. 144 - 155. 10.1111/j.1469-7998.2009.00599.x.

50. Macdonald, David & Yamaguchi, Nobuyuki & Kitchener, Andrew & Daniele, M. & Kilshaw, Kerry & Driscoll, Carlos. (2010). "The Scottish wildcat: On the way to cryptic extinction through hybridisation: past history, present problem, and future conservation". In book: "Biology and Conservation of Wild Felids" (pp.471-491) Publisher: Oxford University Press. Editors: D.W. Macdonald, A.J. Loveridge.

51. Oliveira, Rita & Godinho, Raquel & Randi, Ettore & Alves, Paulo. (2008). "Hybridization versus conservation: Are domestic cats threatening the genetic integrity of wildcats (*Felis silvestris silvestris*) in Iberian Peninsula?". *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 363. 2953-61. 10.1098/rstb.2008.0052.

52. Senn, Helen & Ghazali, Muhammad & Kaden, Jennifer & Barclay, David & Harrower, Ben & Campbell, Roo & Macdonald, David & Kitchener, Andrew. (2018). “Distinguishing the victim from the threat: SNP-based methods reveal the extent of introgressive hybridisation between wildcats and domestic cats in Scotland and inform future in-situ and ex-situ management options for species restoration”. *Evolutionary Applications*. 12. 10.1111/eva.12720.

53. Ballesteros Duperón, Elena & Virgós, Emilio & Moleón, Marcos & Barea Azcón, José & Jose María, Gil. (2014). “How accurate are coat traits for discriminating wild and hybrid forms of *Felis silvestris*?”. *Mammalia*. 79. 10.1515/mammalia-2013-0026.

54. Kitchener, Andrew & Yamaguchi, Nobuyuki & Ward, Jennifer & Macdonald, David. (2005). “A diagnosis for the Scottish wildcat (*Felis silvestris*): a tool for conservation action for a critically-endangered felid”. *Animal Conservation*. 8. 223 - 237. 10.1017/S1367943005002301.

55. Krüger, Matthias & Hertwig, Stefan & Jetschke, Gottfried & Fischer, Martin. (2009). “Evaluation of anatomical characters and the question of hybridization with domestic cats in the wildcat population of Thuringia, Germany”. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 47. 268 - 282. 10.1111/j.1439-0469.2009.00537.x.

56. Auger, Pierre & Pontier, Dominique. (1998). “Fast game theory coupled to slow population dynamics: The case of domestic cat populations.” *Mathematical biosciences*. 148. 65-82. 10.1016/S0025-5564(97)10003-7.

57. Vinogradov, Alexander. (1997). “Fine Structure of Gene Frequency Landscapes in Domestic Cat: The Old and New Worlds Compared.” *Hereditas*. 126. 95-102. 10.1111/j.1601-5223.1997.00095.x.

58. Shostell, Joseph & Staudinger, Julie & Ruiz-García, Manuel. (2005). “Mutant Allele Frequencies in Domestic Cat Populations in Arkansas and Tennessee. *The Journal of heredity*.” 96. 557-65. 10.1093/jhered/esi072.

59. Kaelin, Christopher & Xu, Xiao & Hong, Lewis & David, Victor & McGowan, Kelly & Schmidt-Kuentzel, Anne & Roelke, Melody & Pino, Javier & Pontius, Joan & Cooper, Gregory & Manuel, Hermogenes & Swanson, William & Marker, Laurie & Harper, Cindy & Dyk, Ann & Yue, Bisong & Mullikin, James & Warren, Wesley & Eizirik, Eduardo & Menotti-Raymond, Marilyn. (2012). "Specifying and Sustaining Pigmentation Patterns in Domestic and Wild Cats". *Science* (New York, N.Y.). 337. 1536-41. [10.1126/science.1220893](https://doi.org/10.1126/science.1220893).

60. Kaelin, Chris & Barsh, Greg. (2010). "Tabby pattern genetics - A whole new breed of cat". *Pigment cell & melanoma research*. 23. 514-6. [10.1111/j.1755-148X.2010.00723.x](https://doi.org/10.1111/j.1755-148X.2010.00723.x).

61. Lyons, L. A., Bailey, S. J., Baysac, K. C., Byrns, G., Erdman, C. A., Fretwell, N., Froenicke, L., Gazlay, K. W., Geary, L. A., Grahn, J. C., Grahn, R. A., Karere, G. M., Lipinski, M. J., Rah, H., Ruhe, M. T., & Bach, L. H. (2006). "The Tabby cat locus maps to feline chromosome B1." *Animal genetics*, 37(4), 383–386. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2006.01458.x>

62. Ortolani, Alessia. (2008). "Spots, stripes, tail tips and dark eyes: Predicting the function of carnivore colour patterns using the comparative method". *Biological Journal of the Linnean Society*. 67. 433 - 476. [10.1111/j.1095-8312.1999.tb01942.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1999.tb01942.x).

63. Howard-McCombe, Jo & Jamieson, Alex & Carmagnini, Alberto & Russo, Isa-Rita & Ghazali, Muhammad & Campbell, Roo & Driscoll, Carlos & Murphy, William & Nowak, Carsten & O'Connor, Terry & Tomsett, Louise & Lyons, Leslie & Muñoz-Fuentes, Violeta & Bruford, Michael & Kitchener, Andrew & Larson, Greger & Frantz, Laurent & Senn, Helen & Lawson, Daniel & Beaumont, Mark. (2023). Genetic swamping of the critically endangered Scottish wildcat was recent and accelerated by disease. *Current Biology*. 33. 4761-4769.e5. [10.1016/j.cub.2023.10.026](https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.10.026).

64. Ishida, Yasuko & David, Victor & Eizirik, Eduardo & Schaffer, Alejandro & Neelam, Beena & Roelke, Melody & Hannah, Steven & O'brien,

Stephen & Menotti-Raymond, Marilyn. (2006). A homozygous single-base deletion in MLPH causes the dilute coat color phenotype in the domestic cat. *Genomics*. 88. 698-705. [10.1016/j.ygeno.2006.06.006](https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2006.06.006).

65. Osawa, M., Melanocyte stem cells (June 30, 2009), StemBook, ed. The Stem Cell Research Community, StemBook, doi/10.3824/stembook.1.46.1, <http://www.stembook.org>.

66. Serre, Catherine & Busuttill, Valère & Botto, Jean-Marie. (2018). Intrinsic and extrinsic regulation of human skin melanogenesis and pigmentation. *International Journal of Cosmetic Science*. 40. [10.1111/ics.12466](https://doi.org/10.1111/ics.12466).

67. Joy Ng, Krystle & Lim, Jamien & Tan, Yolanda & Quek, Delia & Lim, Zoe & Pantelireis, Nikolaos & Clavel, Carlos. (2022). Sox2 in the dermal papilla regulates hair follicle pigmentation. *Cell Reports*. 40. 111100. [10.1016/j.celrep.2022.111100](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111100).

68. Hushcha, Y.; Blo, I.; Oton-Gonzalez, L.; Mauro, G.D.; Martini, F.; Tognon, M.; Mattei, M.D. microRNAs in the Regulation of Melanogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 6104. <https://doi.org/10.3390/ijms22116104>

69. Shahid, Naikoo & Rashid, Haroon & Kumar, Sanjay & Archoo, Sajida & Ahmad, Sheikh Umar & Lone, Nazir & Parvinder, Singh & Abdullah, Tasduq. (2023). Inhibition of melanogenesis by 3-(1'-methyltetrahydropyridinyl)-2,4,6-trihydroxy acetophenone via suppressing the activity of cAMP response element-binding protein (CREB) and nuclear exclusion of CREB-regulated transcription coactivator 1 (CRTC1). *European Journal of Pharmacology*. 952. 175734. [10.1016/j.ejphar.2023.175734](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2023.175734).

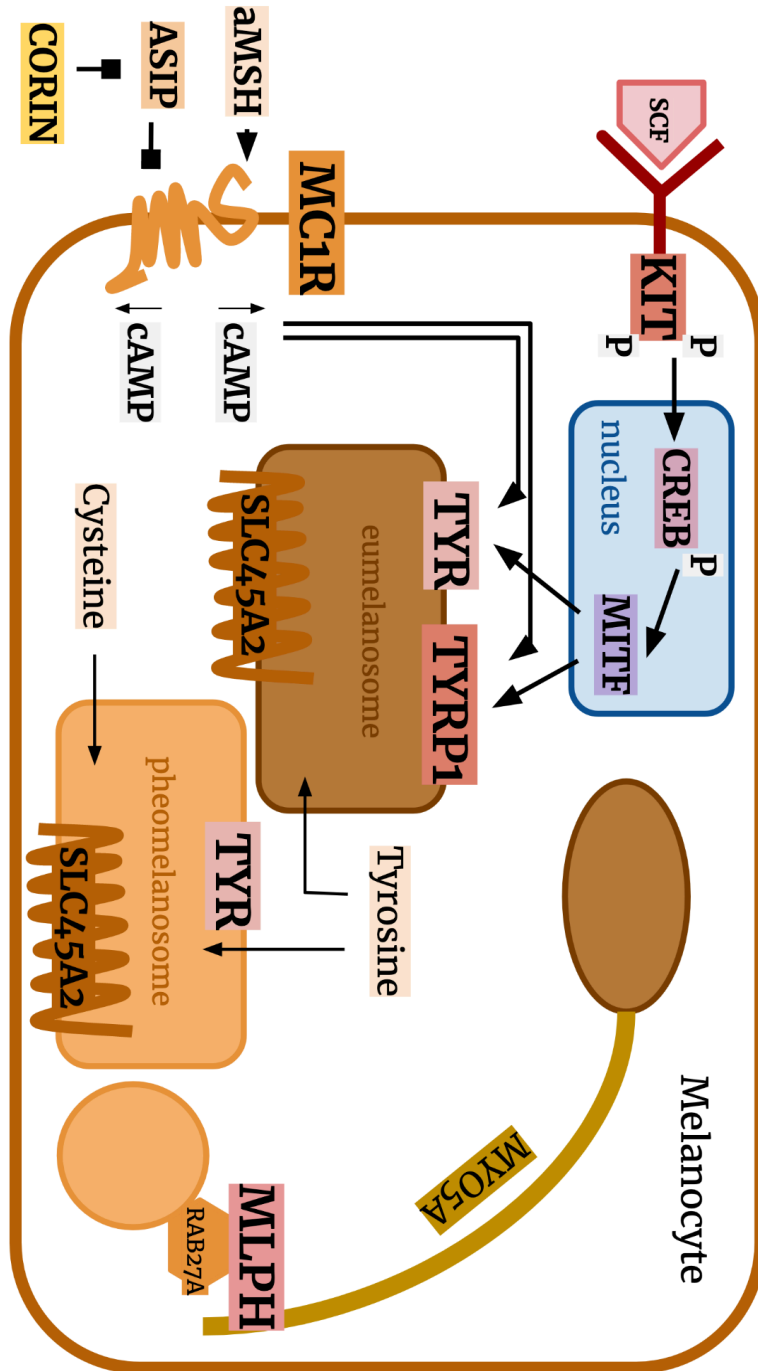
70. Pillaiyar, Thanigaimalai & Manickam, Manoj & Jung, Sang-Hun. (2017). Recent development of signaling pathways inhibitors of melanogenesis. *Cellular Signalling*. 40. [10.1016/j.cellsig.2017.09.004](https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2017.09.004).

71. Lee, Ki & Kim, Minju & Lee, Si & Kim, Kwang. (2022). The Function of Autophagy as a Regulator of Melanin Homeostasis. *Cells*. 11. 2085. [10.3390/cells11132085](https://doi.org/10.3390/cells11132085).

72. Niu, Chao & Aisa, Haji. (2017). Upregulation of Melanogenesis and Tyrosinase Activity: Potential Agents for Vitiligo. *Molecules*. 22. 1303. [10.3390/molecules22081303](https://doi.org/10.3390/molecules22081303).
73. D’Mello, S.A.N.; Finlay, G.J.; Baguley, B.C.; Askarian-Amiri, M.E. Signaling Pathways in Melanogenesis. *International Journal of Molecular Science* (2016), 17, 1144. <https://doi.org/10.3390/ijms17071144>
74. Qiu, Weiming & Chuong, Cheng-Ming & Lei, Mingxing. (2018). Regulation of melanocyte stem cells in the pigmentation of skin and its appendages: Biological patterning and therapeutic potentials. *Experimental Dermatology*. 28. [10.1111/exd.13856](https://doi.org/10.1111/exd.13856).
75. Lyons, Leslie & Buckley, R. & Harvey, R. & Consortium, the. (2021). Mining the 99 Lives Cat Genome Sequencing Consortium database implicates genes and variants for the Ticked locus in domestic cats (*Felis catus*). *Animal Genetics*. 52. [10.1111/age.13059](https://doi.org/10.1111/age.13059).
76. Schmidt-Kuentzel, Anne & Eizirik, Eduardo & O'Brien, Stephen & Menotti-Raymond, Marilyn. (2005). “Tyrosinase and Tyrosinase Related Protein 1 Alleles Specify Domestic Cat Coat Color Phenotypes of the albino and brown Loci.” *The Journal of heredity*. 96. 289-301. [10.1093/jhered/esio66](https://doi.org/10.1093/jhered/esio66). Gould, Laura (2007), *Cats Are Not Peas: A Calico History of Genetics* (2nd ed.), Wellesley, Massachusetts: A. K. Peters, Ltd., p. 175.
77. Abitbol, Marie & Dargar, Tanushri & Gache, Vincent. (2022). Golden cats: The story goes on. *Animal Genetics*. 53. [10.1111/age.13215](https://doi.org/10.1111/age.13215).
78. Beauvois, H. & Dufaure de Citres, Caroline & Gache, Vincent & Abitbol, Marie. (2021). Siberian cats help in solving part of the mystery surrounding golden cats. *Animal Genetics*. 52. [10.1111/age.13076](https://doi.org/10.1111/age.13076).

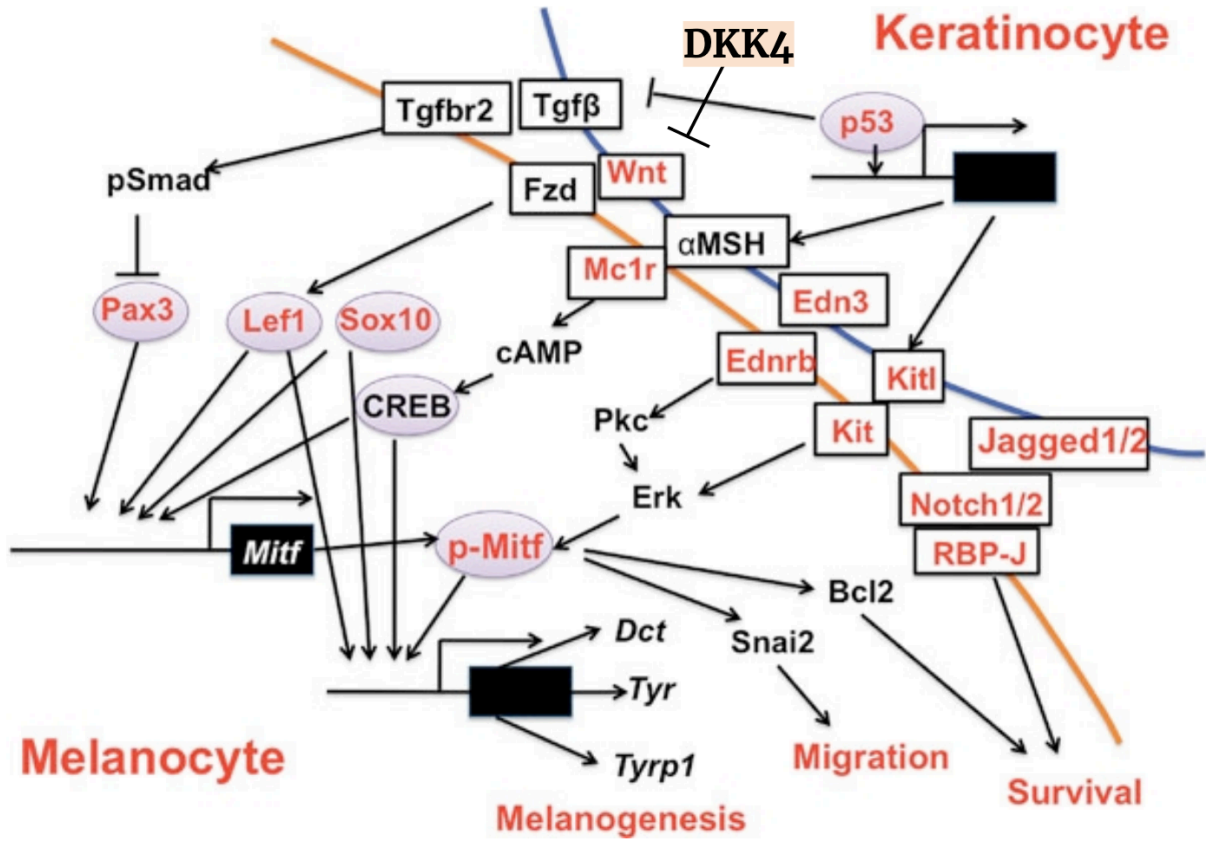
ДОДАТКИ

Додаток 1. Спрощена авторська схема меланогенезу в меланоцитах представників родини Котячих. Цей шлях є дуже схожим у всіх ссавців.

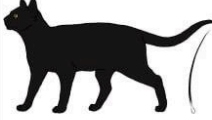
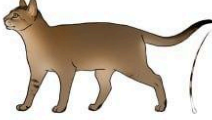
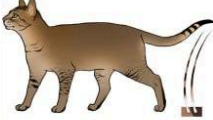
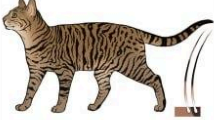
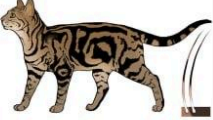
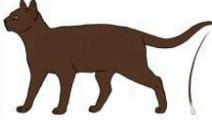
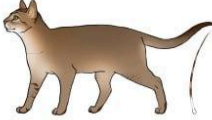
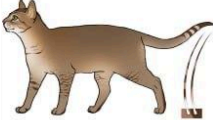


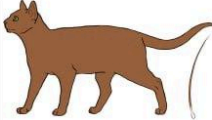
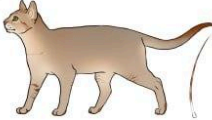
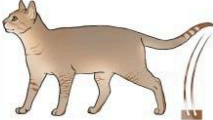
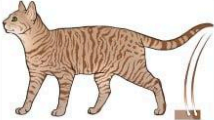
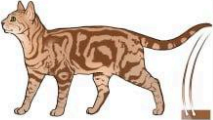
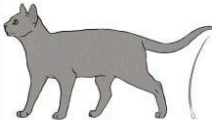
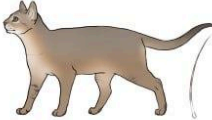
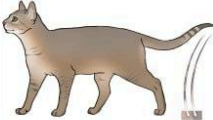
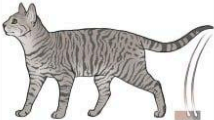

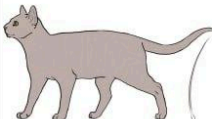
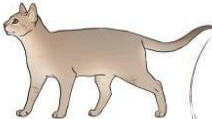
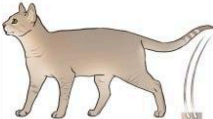
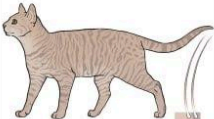
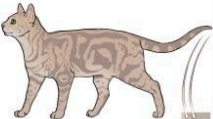
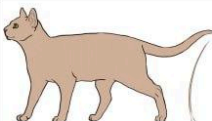
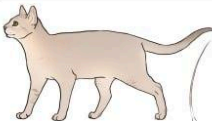
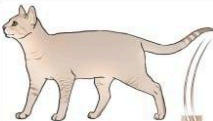
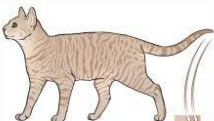
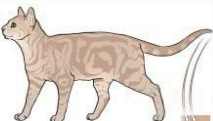

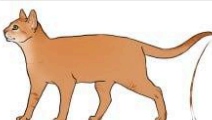
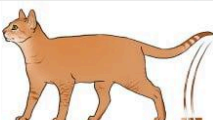
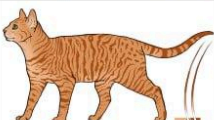
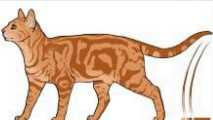

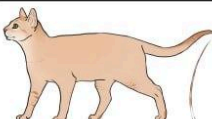
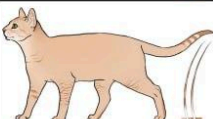
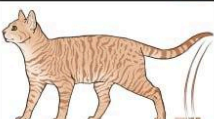
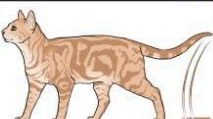


Позначення: CORIN - atrial natriuretic peptide-converting enzyme; ASIP - agouti signaling protein; aMSH - alpha melanocyte stimulating hormone; MC1R - melanocortin 1 receptor; cAMP - cyclic adenosine monophosphate; TYR - tyrosinase; TYRP1 - tyrosinase related protein 1; SLC45A2 - solute carrier family 45 member 2 (membrane-associated transporter protein); MITF - melanogenesis associated transcription factor; CREB - cAMP response element-binding protein; KIT - tyrosine-protein kinase; SCF - stem cell factor (coded by KITLG); MLPH - melanophilin; RAB27A - ras-related protein Rab-27A; MYO5A - unconventional myosin-Va

Додаток 2. Зв'язок DKK4 (Osawa, 2009) із рештою сітки проілюстрованої у Додатку 1.



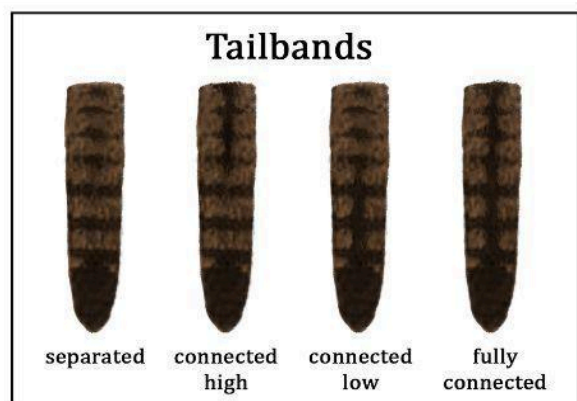
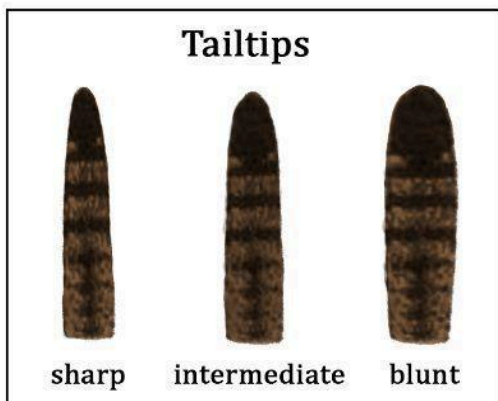
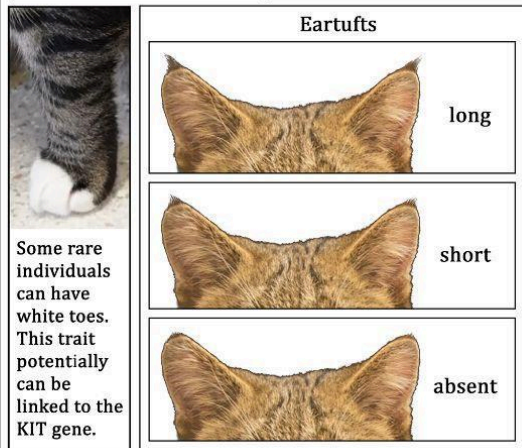
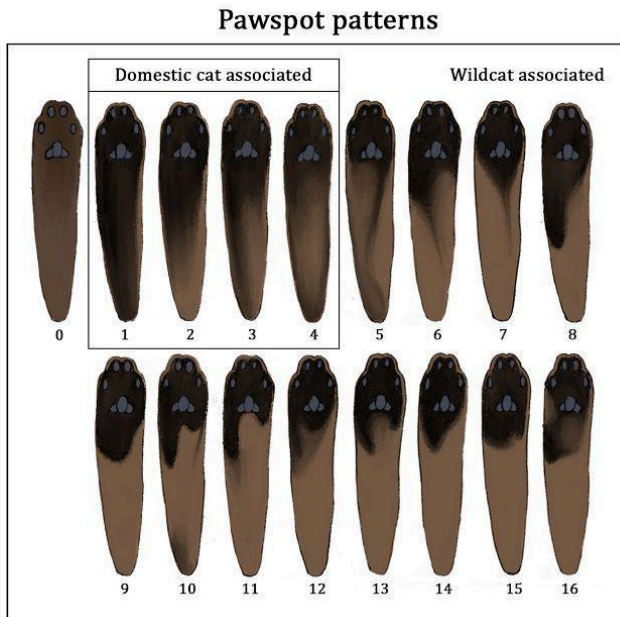
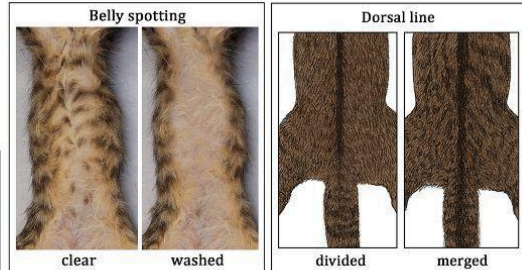
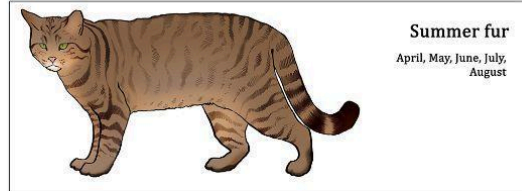
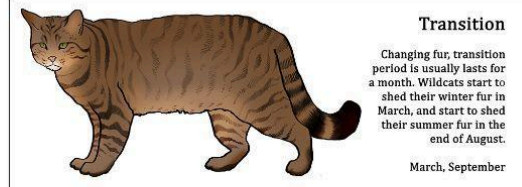
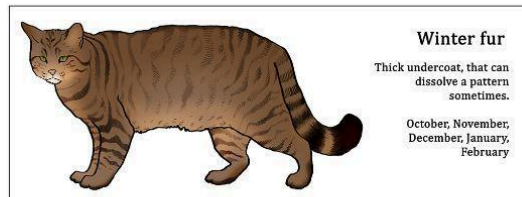
Додаток 3. Авторська ілюстрація таблиці фенотипових взаємодій вищевказаної сітки генів.

linktr.ee/bekdrogue	SOLID	TICKING	TICKING & SERVALINE	MACKEREL TABBY	BLOTCHED TABBY
	ASIP:aa LVRN:_ DKK4:AA	ASIP:A_ LVRN:M_ DKK4:AA	ASIP:A_ LVRN:M_ DKK4:A+	ASIP:A_ LVRN:M_ DKK4:++	ASIP:A_ LVRN:bb DKK4:++
BLACK/SEAL TYRP1:B_ MLPH:D_					
BROWN/CHOCOLATE TYRP1:bb MLPH:D_					
CINNAMON TYRP1:blbl MLPH:D_					
BLUE TYRP1:B_ MLPH:dd					
LILAC TYRP1:bb MLPH:dd					
FAWN TYRP1:blbl MLPH:dd					
RED/ORANGE OSL:OO MLPH:D_					
CREAM OSL:OO MLPH:dd					

Додаток 4. Формат збору морфометричних даних.



Додаток 5. Характеристики загального морфотипування.



Додаток 6. Шкала оцінки маркувань за Кітченером видозмінена автором.
Типи смуг за Кітченером зверху, а авторські знизу.

Character	Score		
	1	2	3
(1) Broken stripes on flanks & hindquarters	> 50% broken/no marking	25–50% broken	< 25% broken
(2) Spots on flanks & hindquarters	Many/no marking	Some	None
(3) Stripes on nape	Thin/no stripes	Intermediate	4 thick stripes
(4) Stripes on shoulder	Indistinct/no stripes	Intermediate	2 thick stripes

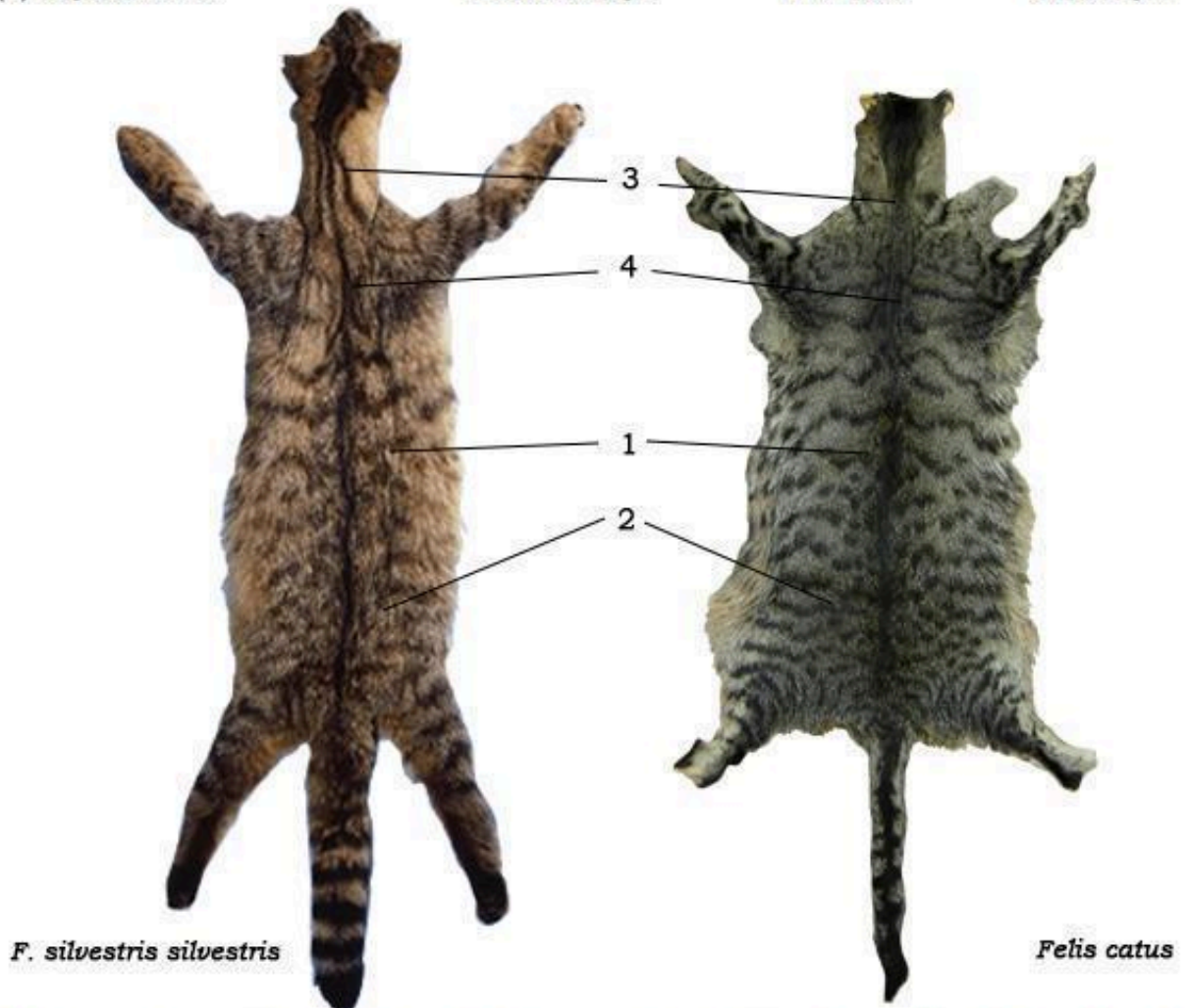


Fig. 1. Pelage characters and their character states for non-colour characters. All characters scored 3 each in A and all characters in B scored 1 each.

(3) Stripes on nape

- 1: 4 thin stripes
- 2: 4 thick stripes
- 3: 5 thin stripes
- 4: 5 thick stripes
- 5: distorted thin stripes
- 6: distorted thick stripes

(4) Stripes on shoulder

- 1: no stripes
- 2: distorted thin
- 3: distorted thick
- 4: 2 thin stripes
- 5: 3 thin stripes
- 6: 4 thin stripes
- 7: 2 thick stripes
- 8: 3 thick stripes
- 9: 4 thick stripes

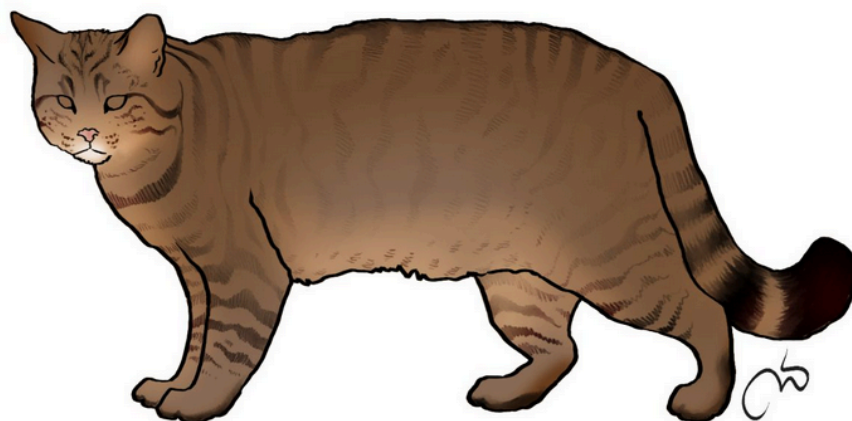
Альтернативна шкала оцінки відміток на загривку та плечах.

Додаток 7. Ілюстрація оцінки критерію (1) за шкалою Кітченера.

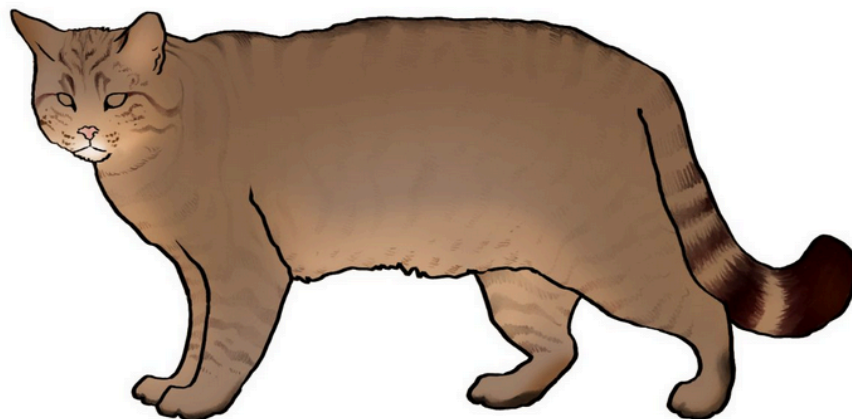
1.



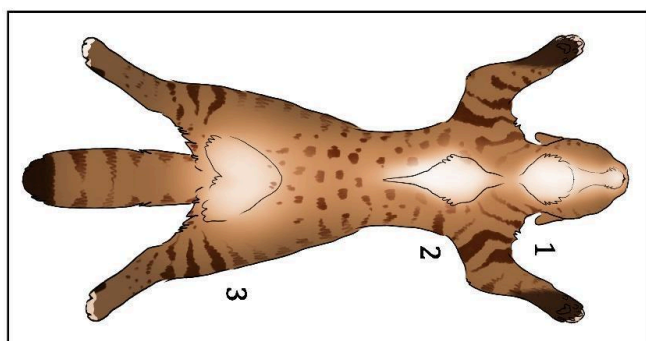
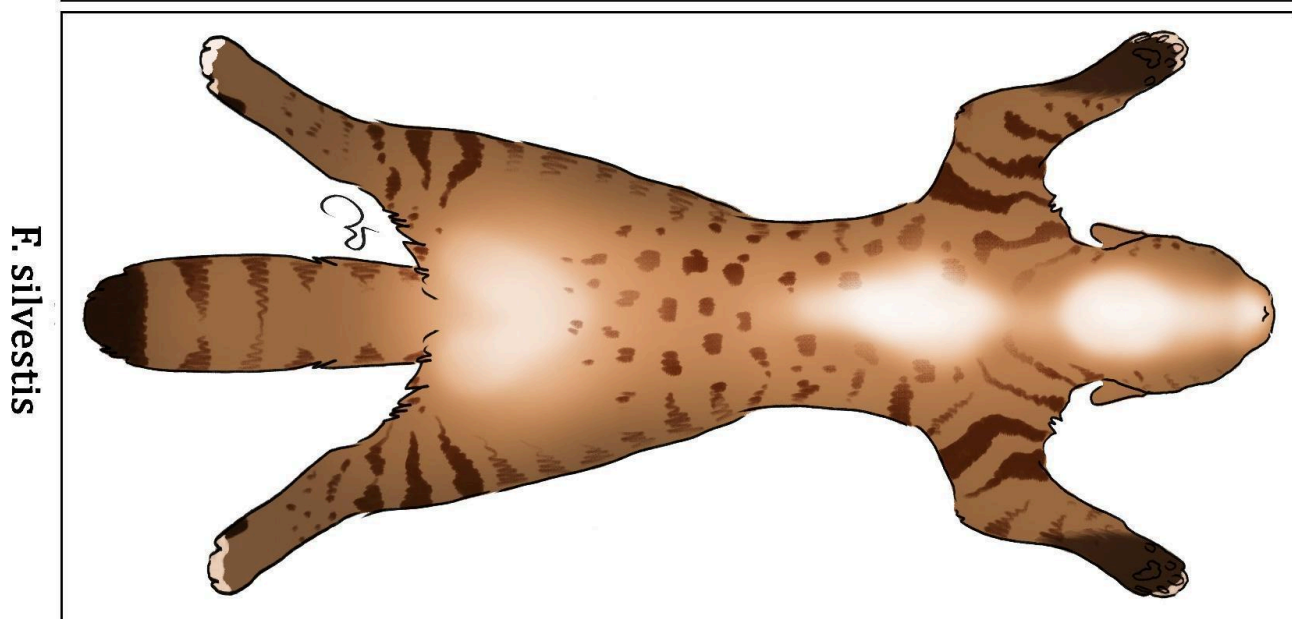
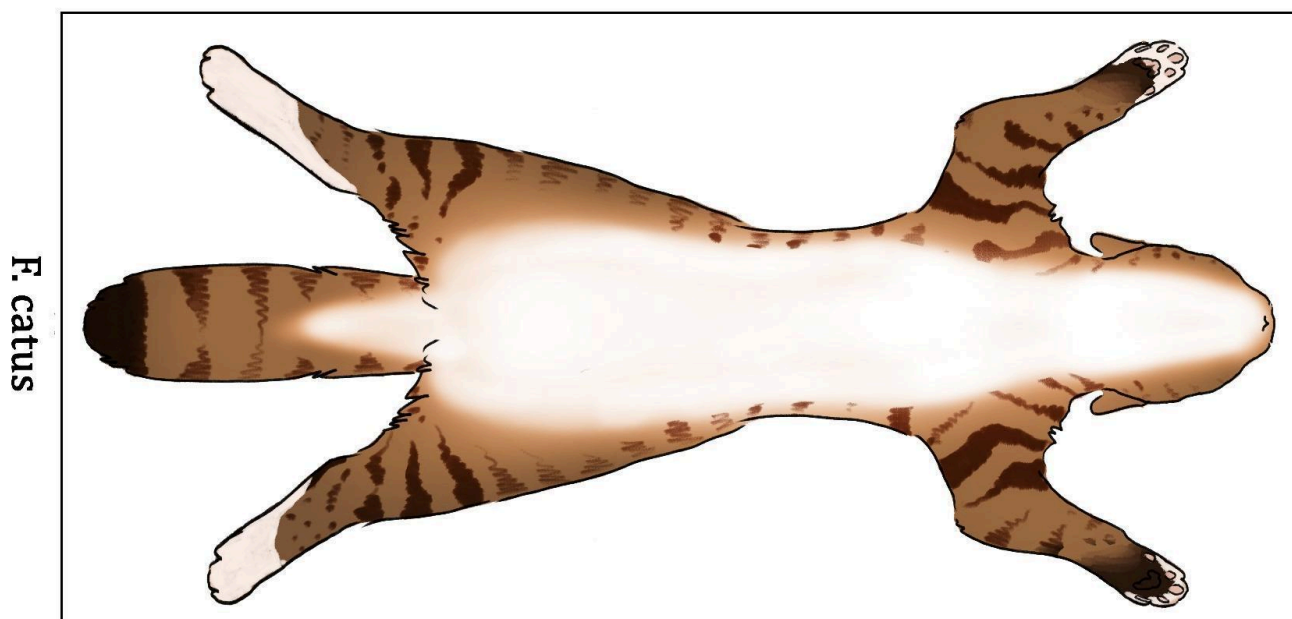
2.



3.



Додаток 8. Порівняння білої плямистості спостереженої найчастіше у *Felis catus* та *Felis silvestris*.



- 1 - "комірець"
- 2 - "зірка"
- 3 - "серце"

Градiєнт присутній



**Нерінгова
ПЛЯМА**

Додаток 9. Геномічні праймери КІТ гену за (Montague, 2014), використані в цьому дослідженні.

Exon	Exon Size (bp)	Product Size (bp)	Forward Primer 5'-3'	Reverse Primer 5'-3'	Tm/[Mg ²⁺] μM
1	154	173	TCTGGGGGCTCGGCTTTGC	GTCCGCGGGCTCTCCCAC	60/1.75
2	270	366	ATGCTTTATTTCCGCAAGGA	TCCAAAGCATAGCATGAAAGAA	58/2.25
3	282	395	GCAAAGAGAAACGTCGGAGT	CCCAGAAGAACGCGAGAA	58/1.75
4	140	237	AGGCCACCGAATAAGTTGTG	CGGGCTGTTTTCTTGATCCA	58/2.25
5	169	361	GACAGACTTGTCATGATGCTTTATT	CATTTATAGAGATACGCTTG	58/2.25
6	190	248	TTCATTAACATCTTCCCTATGATGAA	AGGCCCTGGTAAGCCAAG	60/2.00
7	116	245	CAGGCCCTTCAAAAGTGATT	CCAACACGAGCCACAACCTTA	58/2.25
8	115	212	GGTGAGGTTTTCCAGCAGTC	GTCCTTCCCTTACGCATGTC	58/2.25
9	194	295	CTTTCTGGAGTAAATCGGGTTG	TGACTGATATGGCAGGCAGA	60/1.75
10-11	107-127	394	CTGCCAATAGATTGTGATTCC	AAAGCCCCGGCTTCATAC	58/2.25
12-13	105-111	380	ACACCACCACGTGCTCTCT	TTTGAAAGATAATAAAAGTAATTTGG	58/2.25
14	151	496	TTGCCAGCAGTGTCAATAGG	TTCTGATTTTGTGCCTCGAA	58/1.75
15	92	259	CTCCCTTTTTCCATTTTG	GCACTGTTATTGGGGCTAC	58/2.25
16	128	245	CCTTGCTTTGAGGTTAATTGCT	CTCCAAAGTGGGGCTTGG	58/1.75
17	123	263	CGAAACACACATCATTGAGAG	GGTACTTACGTTTCTTTG	60/1.75
18-19	112-100	456	CCTCAGCAGGAGCAATGTCT	AGGGGAAGCACTATCTGAAGG	58/1.75
20	106	288	GCCCTGGAATTTGAGATTGT	AAAGGTCTTACCCCCAGAG	60/2.00
21	132	159	GGTGTAGGGACTGGCATGTAA	GAACCAAAGAAGAGGGATCG	60/1.75
5'UTR	/	185	GeneRacer 5' Primer (Invitrogen)	GAGCAGGAGGAGCAGGACG	62/1.50
Primer name			Allele Specific PCR primers		
KITgloA-VIC		168	GGCATATCCCAAGCCTGACA	AGGCCCTGGTAAGCCAAG	60/1.50
KITgloB-FAM		168	GGCATATCCCAAGCCTGAGC	AGGCCCTGGTAAGCCAAG	60/1.50
Primer name			Microsatellites primers		
UCDC259b		117	AGACCTTCAGAGTTGCCAGTG	TGTCCTCATTACCGTCTACC	58/2.00
UCDC489		212	GCTCTGCTCCAACATTGC	GGACCATGCTAATCTAATCGAC	58/2.00
UCDC487		158	CCTCCTCCTCAACAACCTG	CTTGAAGCATTGTAGCTGGAAC	58/2.00
UCDC443		148	GCAACTAGCCAGCTCCAG	ACTCCAATTGTTGACGATCC	58/2.00

Додаток 10. Частота гомозиготності та гетерозиготності по кожному маркеру.

Marker	Zygoty	Frequency			General number of samples		
		WW	SW	H	WW	SW	H
UCDC443	homozygote	7	7	3	8	8	6
UCDC489	homozygote	7	5	3	8	8	6
UCDC259b	homozygote	1	3	0	8	8	6
FCA097	homozygote	1	3	0	8	8	6
FCA149	homozygote	3	4	2	8	8	6
UCDC443	heterozygote	1	1	3	8	8	6
UCDC489	heterozygote	1	3	3	8	8	6
UCDC259b	heterozygote	6	5	6	8	8	6
FCA097	heterozygote	7	5	6	8	8	6
FCA149	heterozygote	5	4	3	8	8	6

