

## ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА СЕМЕЙСТВА АЛЬФА-МАКРОГЛОБУЛИНОВ СВИНЬИ В СВЯЗИ С НЕКОТОРЫМИ ПРОБЛЕМАМИ СЕЛЕКЦИИ

**В.И. Ермолаев<sup>1</sup>, М.А. Савина<sup>1</sup>, С.П. Князев<sup>2</sup>, Н.С. Юдин<sup>1</sup>, Р.Б. Айтназаров<sup>1</sup>,  
В.А. Бекенев<sup>3</sup>, В.С. Деева<sup>3</sup>, С.В. Никитин<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: ermolaev@bionet.nsc.ru;

<sup>2</sup> ФГОУ ВПО Новосибирский государственный аграрный университет,  
Новосибирск, Россия, e-mail: knyser@ Rambler.ru;

<sup>3</sup> ГНУ Сибирский научно-исследовательский институт животноводства Российской академии  
сельскохозяйственных наук, Краснообск, Новосибирская область, e-mail: sibnii@ngs.ru

На основе данных многолетнего скрининга находящихся в Новосибирской области популяций свиней крупной белой породы по комплексу аллотипических маркеров альфа-макроглобулинов (АМ) сыворотки крови установлено влияние дифференцирующего отбора на отдельные гаплотипы АМ-семейства. Оно проявляется в разной представленности гаплотипа *AM1.2*, контролирующего полиморфизм двух тесно сцепленных генов, *A2M* и *A1M*, у животных разных производственных групп. Предполагается, что в этот процесс могут быть вовлечены и другие гены, как тесно сцепленные физически в составе хромосомы 5 с *AM*, так и связанные с ним структурно-функциональной коадаптированностью, к множеству которых можно отнести следующие.

1. Кластер из 8 генов рецепторов вкуса (*TASTE*), располагающийся непосредственно между генами *AMR6-A2M*.
2. Четыре кластера генов рецепторов запаховых сигналов (*OLFACTORY*) общим числом более 100, коадаптированных, по-видимому, с генами рецепторов вкуса (*TASTE*).
3. Два функционально полиморфных гена (*APOBEC3-APOBEC3F*), фланкирующих участок *A1M-AMR1* и предопределяющих устойчивость к ретровирусным инфекциям.
4. Два QTL-локуса (*21DWT*, *BF60K*), определяющих однотипные морфометрические показатели роста, развития, набора массы, но в разные периоды онтогенеза, и имеющих привязку к генам гомеобокса (*HOX*) и геркулина (*MYF6*) соответственно, но находящихся на разных концах хромосомы. Гапоблоки частично перекрываются друг с другом в разных сочетаниях, особенно плотно в районе локализации АМ-семейства. Можно предположить, что векторы отбора на каждый гапоблок разнонаправлены. Отбору же подвергаются не отдельные гены и семейства генов, а довольно большие участки хромосомы, состав и аллелокомпозиция которых сбалансированы естественным отбором и многолетней селекцией.

**Ключевые слова:** семейство альфа-макроглобулинов АМ свиньи, комплекс генов *A1M-AM2-PZP-OVO-TASTE-AMR6*.

### Введение

В настоящее время установлено, что гены, контролирующие белки семейства альфа-макроглобулинов (АМ), находятся в длинном плече хромосомы 5. Длина хромосомы 5 составляет 110 542 536 п.н., длина отрезка, содержащего гены семейства альфа-макроглобулинов, –

430 797 п.н. Этот участок занимает позиции 63 447 471–63 878 268, т. е. расположен поблизости от середины хромосомы 5 (NCBI *Sus scrofa* 9.2, 2010; PGSP *Sus scrofa* 10, 2011). Согласно версии NCBI *Sus scrofa* 9.2 (2010), на данном участке хромосомы 5 лежат четыре полноценных гена семейства: овостатин (овариальный макроглобулин – *OVO*); макрогло-

булин зоны беременности (*PZP – Pregnancy Zone Protein*); альфа-2-макроглобулин (*A2M*); альфа-1-макроглобулин (*A1M*) и несколько псевдогенов. В непосредственной близости располагается семейство генов рецепторов AM, AMR. Каждый из генов семейства AM имеет протяженность около 50 000 п.н. (46726-46564-46378-59186), примерно десятикратно уменьшенную кодирующую часть и предопределяет синтез полипептидной цепи длиной около 1450 (1425-1489-1477-1396) аминокислотных остатков.

У взрослых свиней A2M синтезируется главным образом в печени. В проявлении паралогов имеет место как стадия специфичность, так и тканеспецифичность (Petersen, 1993; Bijtebier *et al.*, 2009). В кровотоке зрелые молекулы секретируются в виде тетрамеров ( $4 \times 180$  кДа) с молекулярной массой  $\approx 720$  кДа. Они являются ингибиторами протеаз, транспортируют некоторые цитокины, мелкие лиганды и пр. (Sottrup-Jensen, 1989), а также участвуют в процессах, связанных с поддержанием стабилизации систем крови (Tortorella *et al.*, 2004), выполняя множество функций (Ireland *et al.*, 2004), в том числе внеклеточных шаперонов (French *et al.*, 2008; Ozawa *et al.*, 2011).

Иммуногенетическое изучение семейства генов альфа-макроглобулинов началось более 30 лет назад (Janik *et al.*, 1983). Установлено, что каждый из пяти аллотипов (AM1, AM2, AM3, AM4, AM5) проявляется кодоминантно (Ермолаев и др., 1990, 1991; Yermolaev *et al.*, 1992). Гены пар AM2–AM4 и AM3–AM5 находятся в аллельных отношениях. У аллотипа AM1, гена *A2M*, аллельного варианта не обнаружено. Перечисленные аллотипы наследуются в виде шести устойчивых сочетаний – аллогрупп, три из которых (AM1.2.3, AM3.4, AM4.5) с высокой частотой встречаются у большинства культурных пород свиней, а три другие (AM-2.3, AM3.4.5, AM1.3) являются редкими (Ермолаев и др., 1991).

Цель настоящей статьи заключается в сопоставлении наиболее интересных результатов, полученных авторами за последние 20 лет, касающихся связи полиморфизма белков альфа-макроглобулинов с особенностями селекции свиней, с опубликованными результатами секвенирования генома свиньи.

## Материал и методы

Материалом для исследования послужили результаты тестирования поголовья племенных свиней крупной белой породы из 4 хозяйств Новосибирской области: племзавода «Большевик», ЗАО АПК «Иня», ЗАО «Чебулинское» и ЗАО «Кудряшовское». В анализ вошло 17 выборок животных, что в сумме составляет 1202 головы (табл. 1). Аллотипирование проводили методом двойной иммунодиффузии в агаровом геле с использованием набора иммуногенетических реагентов, аллоантисывороток, прошедших сертификацию ISAG (Ермолаев и др., 1990, 1991; Yermolaev *et al.*, 1992). Оно позволяет точно идентифицировать аллогруппу AM1.2 на фоне аллогрупп AM3.4 и AM4.5 и определять генотип отдельной особи и, соответственно, частоты генотипов в выборках животных. Так как аллотипы AM1 и AM2 маркируют продукты разных генов (*A2M* и *A1M*), то аллогруппа AM1.2 является более информативной, чем AM3.4 и AM4.5, имеющие отношение только к гену *AMI*. Статистическая обработка материала проводилась стандартными методами (Животовский, 1991). Частота носителей аллогруппы AM1.2 определялась как сумма частот носителей аллогрупп AM1.2 и AM-2 (Князев и др., 2000).

## Результаты и обсуждение

Все представленные в настоящей работе выборки относятся к генеральной совокупности, именуемой «крупная белая порода Новосибирской области», а вариация частоты аллогруппы AM1.2 и соответствующего ей гаплотипа обусловлена дрейфом генов (хозяйства) и деятельностью человека (формирование выборок по полу, возрасту и производственному назначению). Данное утверждение позволяет рассмотреть динамику изменения частоты гаплотипа *AMI.2* в совокупности свиней крупной белой породы Новосибирской области за последние годы (с 1988 по 2009 гг.) (табл. 2). Коэффициент корреляции между годом исследования выборки животных и частотой носителей гаплотипа *AMI.2* составляет 0,13 (корреляция недостоверна, число пар сравнения равно 17). Следовательно, отбор, направленный на изменение частоты

Таблица 1

Материал исследования: описание выборок свиней крупной белой породы

Выборка	Год	Номер выборки	Число особей
Племзавод «Большевик»			
Контрольный откорм. Ферма 1	1988	1	55
Контрольный откорм. Ферма 2	1988	2	113
Хряки	1989	3	95
Всего особей	–	–	263
ЗАО АПК «Иня»			
Свиноматки	2003	4	207
Свиноматки – 10, хряки – 7, поросята – 81	2004	5	98
Контрольный откорм	2005	6	85
Свиноматки	2008	7	49
Ремонтные хряки	2008	8	52
Поросята	2008	9	48
Контрольный откорм	2008	10	31
Свиноматки, продажа в «Чебулинское»	2008	11	37
Свиноматки, хряки, поросята	2009	12	97
Всего особей	–	–	704
ЗАО АПК «Чебулинское»			
Хряки и свиноматки	2006	13	42
Хряки	2007	14	60
Всего особей	–	–	102
ЗАО АПК «Кудряшовское»			
Основные хряки	1998	15	34
Хряки	1999	16	33
Хряки	2000	17	66
Всего особей	–	–	133
Всего		–	1202

данного гаплотипа, либо отсутствует, либо не эффективен. Наблюдаемая на протяжении двух десятилетий выборочная вариация частоты гаплотипа *AM1.2* формируется в результате действия различных факторов и имеет среднее значение, равное 0,34 (табл. 2).

Среди факторов, которые могут влиять на частоту носителей гаплотипа *AM1.2*, можно выделить принадлежность особи к определенной целевой группе (табл. 3). Это обусловлено

тем, что производственные группы различаются по силе и направлению искусственного отбора. Так, группа «поросята» включает особей, которых искусственный отбор коснулся еще незначительно. В группу контрольного откорма входят особи стандартного возраста и живой массы ( $\approx 2$  месяца,  $\approx 30$  кг). В группу ремонтных хряков попадают животные, лучшие по показателям роста живой массы и развития. Животные основного стада (репродуктивного ядра) уже прошли отбор по интенсивности роста, поэтому для них существенно большее значение приобретает отбор по воспроизводительным качествам.

Оценка принадлежности производственных групп свиней к единой генеральной совокупности по частоте носителей гаплотипа *AM1.2* показала статистически значимую неоднородность ( $\chi^2 = 16,90$ ,  $d.f. = 4$ ,  $p < 0,01$ ), т. е. группы различаются. При сопоставлении производственных групп по частоте носителей гаплотипа *AM1.2* нельзя не заметить следующую зависимость. Доля особей с гаплотипом *AM1.2* возрастает по направлению от значения в группе «поросята» к значению в группе контрольного откорма и далее к значению в группе ремонтных хряков. Затем у животных основного стада (хряков и свиноматок) частота носителей гаплотипа *AM1.2* падает до уровня, наблюдаемого в группе поросят (табл. 3). Приняв, что белки семейства альфа-макроглобулинов способны влиять на рост живой массы свиней, обнаруженную зависимость можно интерпретировать следующим образом. В целом изменения частоты носителей гаплотипа *AM1.2* полностью совпадают с изменениями интенсивности отбора по росту живой массы. Поросята представляют исходный для популяции уровень, у них отбор по живой массе еще не успел проявить себя в достаточной мере, частота гаплотипа *AM1.2* минимальна. У молодняка контрольного откорма прошел отбор по живой массе в подсосный период и в период дорастивания, частота носителей гаплотипа *AM1.2* увеличилась. У ремонтных хрячков прошел более жесткий отбор по интенсивности роста живой массы как в подсосный, так и в послеотъемный периоды; отбор по росту живой массы в период после отъема, частота носителей гаплотипа *AM1.2* опять увеличилась. Основные хряки и свиноматки: отбор по росту

Таблица 2

Встречаемость аллогрупп AM1.2 и AM-.2 среди групп свиней крупной белой породы

Номер выборки*	Число особей	Носители аллогруппы AM1.2		Носители аллогруппы AM-.2		Носители гаплотипа AMI.2	
		Число	Частота	Число	Частота	Число	Частота
1	55	17	0,31	0	0,00	17	0,31
2	113	31	0,27	1	0,01	32	0,28
3	95	34	0,36	1	0,01	35	0,36
«Большевик»	263	82	0,31	2	0,01	84	0,32
4	207	43	0,21	18	0,09	61	0,29
5	98	60	0,61	1	0,01	61	0,62
6	85	41	0,48	2	0,02	43	0,51
7	49	21	0,43	0	0,00	21	0,43
8	52	27	0,52	0	0,00	27	0,52
9	48	14	0,29	0	0,00	14	0,29
10	31	5	0,16	5	0,16	10	0,32
11	37	9	0,24	0	0,00	9	0,24
12	97	15	0,15	0	0,00	15	0,15
«Иня»	704	235	0,33	26	0,04	261	0,37
13	42	12	0,29	0	0,00	12	0,29
14	60	15	0,25	4	0,07	19	0,32
«Чебулинское»	102	27	0,26	4	0,04	31	0,30
15	34	6	0,18	0	0,00	6	0,18
16	33	9	0,27	0	0,00	9	0,27
17	66	12	0,18	2	0,03	14	0,21
«Кудряшовское»	133	27	0,20	2	0,02	29	0,22
Всего	1202	371	0,31	34	0,03	405	0,34

\* Описание выборки см. в табл. 1.

Таблица 3

Частота носителей гаплотипа AMI.2 в производственных группах свиней крупной белой породы

Производственная группа	Число особей	Носители гаплотипа AMI.2	
		число	частота
Поросята	48	14	0,29
Контрольный откорм	171	70	0,41
Хряки ремонтные	52	27	0,52
Хряки основные	288	83	0,29
Свиноматки основные	293	91	0,31

живой массы окончен, начался интенсивный отбор по воспроизводительным признакам и качеству потомства, частота носителей гаплотипа AMI.2 снизилась до таковой в группе поросят (табл. 3). Селекционный и производственный циклы замкнулись.

Приняв, что семейство альфа-макроглобулинов связано с ростом живой массы свиней, обнаруженную зависимость можно интерпретировать следующим образом. В период от рождения особи до попадания ее в группу ремонта отбор по показателям роста живой массы является превалирующим. Собственно говоря, если в этот период живая масса особи не будет удовлетворять стандартным требованиям, прописанным в «Инструкции по бонитировке

свиней» (1976), остальные ее признаки могут даже и не рассматриваться. В этот период уровень отобранности животных по интенсивности роста живой массы увеличивается, соответственно, увеличиваются и частоты генетических маркеров, связанных с этим признаком (гаплотипа *AM1.2*). После того как особь была переведена в репродуктивное ядро, давление отбора по росту живой массы снижается практически до нуля, так как масса особей основного стада соответствует стандарту племенных свиней. Однако уровень, достигнутый частотами генетических маркеров, в частности гаплотипов альфа-макроглобулинов, при отборе по живой массе в основном стаде, не фиксируется. Причина в том, что меняется вектор отбора, первостепенное значение приобретают признаки воспроизводства и качество потомства. Соответственно, значение приобретает другой набор маркеров (гаплотипов альфа-макроглобулинов). Это приводит к снижению частоты гаплотипа *AM1.2*, очевидно, связанного с интенсивностью роста живой массы до уровня, типичного для данной совокупности, который имеет место у поросят. Таким образом, в совокупности свиней крупной белой породы в Новосибирской области на протяжении 20 лет по гаплотипам альфа-макроглобулинов имеет место равновесие Харди–Вайнберга, при котором их частоты у родителей (основные хряки и матки) и потомков (поросята) равны (табл. 3) и, очевидно, являются оптимальными в данном регионе для данной породы. Увеличение частоты гаплотипа *AM1.2* в промежуточных группах особей (контрольный откорм и ремонтный молодняк) – результат селекционной деятельности человека, отбирающего в этот период наиболее интенсивно растущих животных. Однако интенсивный рост особи, ее репродуктивные признаки и качество ее потомства являются показателями в значительной степени независимыми. Поэтому, когда на смену искусственному отбору по интенсивности роста приходит отбор по репродуктивным признакам и качеству потомства (табл. 3), около половины носителей гаплотипа *AM1.2* не переходит из группы ремонта в репродуктивное ядро (основные хряки и свиноматки).

Результаты изучения АМ-полиморфизма двух десятков пород свиней и четырех подвидов дикого кабана (Ермолаев и др., 1991, 2001; Yermolaev *et al.*, 1992; Князев и др., 1999, 2004,

2005; Никитин и др., 2006) дают основания полагать, что в его основе лежит гибридное происхождение современных заводских пород свиней. Зафиксировано документально, что практически все современные породы свиней являются продуктом проводившихся в конце XVIII–начале XIX вв. **скрещиваний английских маршевых свиней** сначала со средиземноморскими (романскими, неаполитанскими и португальскими), а затем с китайскими, сиамскими свиньями (Кузьмин, 1934). Полученные в результате этой гибридизации английские породы (главным образом беркширская и йоркширская крупная белая) в дальнейшем широко использовались при выведении и совершенствовании европейских континентальных и американских заводских пород (Jones, 1998; **The genetics of the pig**, 1998). **Следует отметить, что участие свиней Юго-Восточной Азии при выведении и совершенствовании крупной белой породы было весьма ограниченным.** Основой для нее послужила группа свиней неясного происхождения. С уверенностью можно сказать только, что среди исходных для этой группы форм присутствовали английские и средиземноморские свиньи (Кузьмин, 1934). Участие же свиней Юго-Восточной Азии долгое время находилось под вопросом. Во всяком случае, предпринятое для повышения скороспелости скрещивание свиней исходного для крупной белой породы типа с юго-восточными свиньями привело к неудовлетворительным результатам. Полученные помеси были выделены в отдельную мелкую белую породу и в дальнейшем опять скрещивались с исходным типом крупной белой породы. Результатом этих повторных скрещиваний стала средняя белая порода, которая, как и мелкая белая, не получила широкого распространения (Кузьмин, 1934). Таким образом, вклад свиней Юго-Восточной Азии в генофонд крупной белой породы можно считать минимальным. Однако обращает на себя внимание тот факт, что в аллелофонде крупной белой породы широко представлены АМ-гаплотипы, происходящие из трех географически удаленных регионов, в том числе из Юго-Восточной Азии. Так, *AM3.4* происходит из Европы; *AM4.5*, *AM3.4.5* – из Средней Азии; *AM1.2* – из Юго-Восточной Азии и Дальнего Востока (Ермолаев и др., 1991, 2001; Yermolaev *et al.*, 1992; Князев и др., 1999, 2005;

Никитин и др., 2006). Следует особо отметить, что южноазиатская аллогруппа AM1.2, триста лет назад интродуцированная английским свиньям, в течение этого срока, находясь большей частью в гетерозиготном состоянии, не только сохранила целостность, но и с достаточно высокой частотой встречается практически во всех современных породах.

Для домашних свиней характерно существование в локальных популяциях ограниченной, относительно малой численности (хозяйства или племенные заводы), каждая из которых при своем возникновении прошла «бутылочное горлышко» фактически хряков. В такой ситуации длительное поддержание нейтрального полиморфизма весьма сомнительно или практически невозможно (Ли, 1978). Даже при условии ограниченного обмена производителями между хозяйствами чисто случайно в одних локальных популяциях должны были фиксироваться одни гаплотипы, в других – другие. Тем не менее в популяциях домашних свиней и (возвращаясь к теме настоящего исследования) в популяциях свиней крупной белой породы (Новосибирского типа) Новосибирской области полиморфизм по аллогруппе AM1.2 поддерживается на постоянном уровне.

Для объяснения этого факта можно использовать несколько гипотез. Полиморфизм альфа-макроглобулинов (AM) в форме аллотипии сам по себе имеет адаптивное значение. Молекулы альфа-макроглобулинов имеют множество функций и участвуют во многих физиологических процессах. Учитывая их множественность (OVO-PZP-A2M-A1M), **многофункциональность** и возможную взаимозависимость, можно предположить, что влияние альфа-макроглобулинов на приспособленность, в том числе и на приспособленность к селекционным требованиям человека, если и есть, то очень расплывчатое и трудно учитываемое. Во всяком случае, наши и не только наши исследования связи AM-полиморфизма с приспособительными и (или) хозяйственно полезными признаками взаимодействия не выявили.

1. Возможно, что адаптивный селекционный эффект оказывают не гены *A1M* и *A2M*, а тесно сцепленные с ними гены того же семейства, но имеющие более узкую функциональную специализацию (OVO-PZP-AMR). **Более того,**

для белков семейства альфа-макроглобулинов имеет особый смысл рассуждать о функциональной значимости отдельных генов и белков только при их полном ассортименте, поскольку их конечный функциональный эффект может проявиться только после прохождения всего цикла существования начиная с момента синтеза, через ряд промежуточных этапов, вплоть до полной утилизации того (Shibata *et al.*, 2003).

2. Физиологически важными и объяснимыми ключевыми этапами этого процесса являются специфическое взаимодействие комплекса протеаза-AM (Sottrup-Jensen, 1989) с рецепторами клеток ретикуло-эндотелиальной системы (Jenner *et al.*, 1998), эндоцитоз этого комплекса (фагосомой), перевод его в лизосомы и последующее разрушение их катепсинами (Shibata *et al.*, 2003). Как минимум два белка и контролирующих их гена этого ключевого этапа – *LDLRP6* (Low density lipoprotein receptor-related protein 6-like) и *LDLRP1* (Low density lipoprotein receptor-related protein 1-like) участвуют в этом процессе. В контексте данной статьи их правильнее называть AMP – рецепторы AMR. Соответствующие гены (*A2M-AMR6*), например, находятся на расстоянии 1 464 606 п.н. от гена *A2M*, а от гена *OVO* находятся еще ближе (табл. 4). Частота рекомбинационного разделения генов на расстоянии 1,5 сМ (Rohrer *et al.*, 1996; Коряков, Жимулев, 2009) есть событие довольно редкое. Поэтому можно предположить, что потомкам от родителей передается совместно не только комплекс генов семейства AM, фиксируемый нами в виде гаплотипов, но и рядом расположенные, функционально связанные с ними гены AMR. Такая объединенная конструкция представляет собой расширенный гаплотип или гапоблок. Мутации, вызывающие изменения в С-концевом домене белковой части молекул AM, могут влиять на их конформацию, что может мешать распознаванию молекулы AM соответствующим белком-рецептором AMP (Jenner *et al.*, 1998). Соответственно, молекула AM не утилизируется, баланс в крови нарушается. Изменения в рецептивном домене AM-рецептора может нарушать его взаимодействие с AM, что также может приводить к нарушению кровяного гомеостаза. Изменения в разных генах могут давать одинаковый физиологический эффект. Несответствие одного другому может резко

Таблица 4

Локализация структурных генов и некоторых QTL-локусов  
в хромосоме 5 свиньи по номенклатуре NCBI *Sus scrofa* 10

№ п.п.	Шифр	Краткое название	Локализация	Сокращение QTL
1	100037939	APOBEC3F	6139943=6147251	PRV
2	100518782 100518969 100519145 100154759 100152207	Нох-C12 13 13 C4 C5	20290694=20292313 20401064=20408476 17521650=17525089 20828233=20831105 20849424=20850792	BF17W WT BF40K BF60K
3	100524142 100523604	OLF6C2 (≈ 100 генов)	20004544=21754841	ADG1 ADG2
4	100519255 100519427 100519774 100514839	LDLR 1(AMR1)	21407020=21414084 21414586=21428033 21532192=21545626 24833814=24957373	
5	100515609 100515436 100515777	LDLR-6 (AMR6) LDLR-6(AMR6) LDLR-4(AMR4)	61661586=61714395 57276301=57344044 61839282=61982865	ADG LUMBBF WT
6	100156946 100154902 100517944 100522490 100522317 100522867 100523063 100523246	Taste 2-42 2-20 2-10 2-7 2-9 2-8 2-7 2-8	62124059=62125009 62161108=62162022 62197132=62198064 62207593=62208510 62213188=62213748 62233708=62234643 62236822=62237755 62242111=62243049	ADG LUMBBF WT ADG
7	100524679	OVO	63447471=63494196	
8	100153288	PZP	63586394=63632958	
9	ID 303166	A2M	63674312=63719791	
10	100155344	hPH1	63742873=63765807	
11	100152492	A1M	63790176=63878286	ADG LUMBBF WT ADG
12	100526050	APOBEC-1	64068213=64065578	PRV
13	100516195 100519092	OLF 8S1-like	73786964=73787893 74366603=74367538	ADG LUMBBF WT ADG
14	100519257 100516735	OLF 8S1-like	81140635=81141585 80846729=80847688	
15	100153269	MYF6 (геркулин)	103338282=103340139	LRIBBF WT 21DWT BFT

Примечание. Сокращения, терминология и смысл QTL (quantitative trait loci) генов, оказывающих влияние на проявление полиморфизма количественных признаков хромосомы 5 (Lee *et al.*, 2003): 21DWT – вес тела в 21 день, фактически при отъеме и переходе на смешанный тип питания. Вес особи 8 кг. Молочность самки. Молочный потенциал самки.

PRV – устойчивость–восприимчивость к вирусу псевдобешенства. АРОВЕС – комплекс ферментов цитидил деаминазы – АРОВЕС (редактор длинных последовательностей РНК). BF17W – backfat 17 weeks of age – толщина шпика в 119 дней. Однозначно коррелирует с понятием «достижение веса 100 кг». Учитываемый признак. ADG – average daily gain – средний прирост веса в разные периоды. Имеет смысл дифференцировать при необходимости: ADG1, ADG 2 – от отъема до 25 кг; ADG 3 – прирост от рождения до 21 дня; ADG 4 – прирост от 70 до 154 дня; ADG 6 – от отъема до 20 кг. WT – body weight – вес тела в разном возрасте. BF – back fat – толщина шпика. Оценивается в разном возрасте и на разных позвонках. LUMBFF – толщина шпика на пояснице. BFT – average back fat thickness – средняя толщина шпика.

влиять и на соотношение некоторых вариантов в крови. Разобраться, в чем причина, можно, только при анализе системы AM-AMP как единого целого. Генетически многократная повторяемость тех и других в форме мультигенных семейств, а также неизбежная гетерозиготность могут нивелировать эффекты уклонений, сводя все к нулю, т. е. к мягкому эффекту, не учитываемому в селекции. Структурный полиморфизм есть, но понять, как он реализуется на физиологическом уровне, невозможно. В то же время благоприятными могут быть только изменения, коадаптированные друг к другу.

Можно предположить, что между генами AM и генами-рецепторами белков AM есть два вида взаимосвязей. Во-первых, это физически близкое расположение. Во-вторых, между отдельными членами двух семейств может осуществляться жесткая структурно-функциональная зависимость по типу эффектор–рецептор, ключ–замок, когда изменение в одном звене ведет к изменению всей системы. Если комплементарность нарушается, вся система не функционирует. Понятно, что такие комбинации должны отмечаться отбором, как естественным, так и искусственным. И не имеет значения, где именно в системе произошел сбой – пара элиминируется совместно, выживают только совместимые мутации генов. Консервативность затрагивает не только участки генов, но и хромосомные районы. Это может быть одной из основ неравновесия по сцеплению и может объяснять различие между физической и рекомбинационной картой отдельных участков хромосом. В данном случае уменьшать рекомбинационное расстояние между AM-AMP, т. е. создавать видимость того, что они находятся ближе друг к другу, чем это есть на самом деле. В случае пары AM-LDLRP1 (ProLow density lipoprotein receptor-related protein 1-like), третий тип AMR, такая связь может распространяться почти на 40 000 000 п.н. (табл. 4), т. е. соответ-

ствующий гапоблок охватывает более трети хромосомы.

Весьма вероятно, что AM-гаплотипы могут подвергаться селекции за счет эффектов расположенных рядом генов (табл. 4). Так, непосредственно между генами *AIM* и *A2M* располагается ген, определяющий особенности ранних этапов роста и развития (Early development regulatory protein – Polyhomeotic-like protein 1 (*hPHI*)). Рядом с AM-генами находится функционально полиморфный ген цитидил деаминазы, *АРОВЕС*, обеспечивающий защиту от эндогенных ретровирусов (Dorrschuck *et al.*, 2011). Селективное значение имеют еще два локуса, находящиеся на разных концах хромосомы 5. Это QTL, определяющий основные параметры прироста живой массы в ранний постнатальный период (геркулин), привязываемый к гену *MYF6* (Miogenic Factor), и QTL (НОХ), определяющий фактически те же параметры, но в более поздний период, который находится на другом конце хромосомы. Таким образом, оказывается, что AM-комплекс расположен между двумя QTL, отвечающими за рост живой массы, и при этом содержит внутри себя ген *hPHI*, отвечающий за рост и развитие.

Кроме уже перечисленных, представляют интерес и другие комплексы генов. Среди селекционно значимых комплексы генов хромосомы 5 выглядят следующим образом (табл. 4): на разных концах хромосомы на расстоянии 76 000 000 п.н. друг от друга находятся гены, эффект которых явно учитывается при селекции и которые по своей функции относятся к транскрипционным факторам (НОХ-MYF). На расстоянии 30 000 000 п.н. от гена геркулина (MYF), в сторону центромеры, находится еще один кластер генов, влияющих на ранние этапы дифференцировки и развития *hPHI*. На расстоянии 20 000 000 п.н. от геркулина и 10 000 000 п.н. от AM находится семейство рецепторов запаха родопсинового типа, т. е. имеющих родство



с рецепторами зрительного восприятия. В непосредственной близости от семейства AM находятся гены **LDLR6–1 464 606–AM–189 945–АРОВЕС-1**, которые связаны с ним функционально. Между A2M и LDLR6 располагается семейство генов рецепторов вкуса, определяющих, в частности у животных, восприятие горького вкуса и, как следствие этого – рвотный рефлекс. Еще одно подсемейство генов рецепторов AM и LDLR1(AMP1) располагается рядом с семейством рецепторов запаха (OLFACTORY), а именно с тем из них, которое предопределяет адаптацию животных к смене типа питания и социальной среды (ADG1, ADG2). Рецепторы вкуса и запаха, несомненно, имеют общее эволюционное происхождение и представляют собой довольно сходные белки размером около 300 аминокислотных остатков. В хромосоме 5 свиньи эти последовательности представлены минимум четырьмя кластерами, что вряд ли является случайным (табл. 4). Возможно, что между генами и белками этого надсемейства существует функциональная коадаптация. Запах еды и ее вкус могут влиять на процессы пищеварения и усвояемости пищи. Феромоны, вернее, их восприятие, могут оказывать явный эффект на поведение животных, а особенности поведения косвенно могут сказываться на селекционно значимых признаках.

Так как современные заводские породы, в том числе крупная белая, имеют гибридное происхождение, в генофонде 5-й хромосомы могло сохраниться разнообразие предковых генов не только AM-семейства, но и других локусов. Коадаптированность некоторых генов должна была препятствовать их рекомбинационному разделению. Поэтому наблюдаемая в AM-семействе в форме гаплотипов передача в ряду поколений определенных сочетаний могла охватывать более крупные отрезки хромосомы – гапоблоки, размер которых, вероятно, может достигать 3/4 длины хромосомы, если судить по генам QTL гомеобокса и миогенному гену геркулина. Причем целостность на разных участках может поддерживаться за счет коадаптации генов разных семейств. AM-AM-рецептор являет собой пример достаточно правдоподобной и вполне доказуемой связи и механизма поддержания рекомбинационной целостности гапоблока. Очевидно, что между тесно сцеп-

ленными генами и их комплексами существует чисто генетическая связь, определяемая их физической близостью. Чем меньше расстояние между генами, тем вероятнее их совместная передача в следующее поколение. В некоторых случаях наблюдаемое рекомбинационное расстояние может уменьшаться по отношению к физическому расстоянию (Lee *et al.*, 2003). Происходит это за счет либо существования структурно-функционального соответствия типа AM-AMR-рецептор, либо участия в общем процессе, например, защите от вирусных инфекций. Видно также, что функциональная связь AM-AM-рецептор может распространяться иногда на очень большое расстояние, почти на 40 000 000 п.н., что является фактическим пределом, который может быть зафиксирован гибридологическим анализом. Взаимоотношения между вкусовыми и запаховыми генами рецепторов также могут быть коадаптированы. Запах и вкус пищи могут однозначно соотноситься в нервной системе с ее приятностью и полезностью, создавать или не создавать хороший аппетит, определять усвояемость еды. Соответствующее благоприятное сочетание аллелей в разных генах может закрепляться отбором и передаваться по наследству в виде гапоблоков, которые могут охватывать участок хромосомы почти в 40 000 000 п.н.

Для того чтобы понять, как работает этот механизм в принципе, необходимо вновь вернуться к генезису заводских пород свиней, и в частности к крупной белой породе. Как уже отмечалось, в ее генофонде четко проявляется присутствие AM-гаплотипов из трех географически удаленных источников. Можно полагать, что это относится не только к генам семейства AM, но и другим генам 5-й хромосомы. У каждого основного подвида кабана (европейского, среднеазиатского, восточноазиатского), за время их отдельного существования наверняка должен был сформироваться свой аллелофонд по каждому из селективно значимых генов хромосомы 5 (табл. 4) наряду с исходно общим. Естественно, у европейских кабанов он был одним, а у азиатских форм, обитающих в других условиях, мог быть другим. При выведении и совершенствовании крупной белой породы селекционеры отбирали животных с определенным набором качеств. Скорость роста и

полового созревания, многоплодие и интенсивность жиротложения, очевидно, заимствованы от азиатских предков. Крупные размеры, особенности телосложения, качество сала и мяса, приспособленность к условиям европейского климата, кормовые предпочтения и т.п. – от английских аборигенных свиней. Вероятно, некоторые присущие исходным формам аллельные сочетания различных генов сохраняются в генофонде крупной белой породы в результате естественного и искусственного отбора. Например, естественный отбор должен поддерживать сочетания комплекса генов АРОВЕС, препятствующие ретровирусному распространению. Искусственный отбор, очевидно, играет не менее значительную роль. Принятая для заводских пород стандартизация племенных свиней по весьма обширному комплексу признаков (Инструкция ..., 1976), контролируемых рядом различных генов, коадаптированных в виде гапблоков, должна поддерживать гапблоки, чье действие проявляется в виде удовлетворяющих стандартам породы комплексов признаков. Систематически возникающие в результате рекомбинации сочетания признаков, не соответствующие стандарту породы, будут жестко отсекаются стандартизирующим отбором (Князев, Никитин, 2011), и подобные рекомбинанты никогда не попадут в репродуктивное ядро популяции. Таким образом, стандартизирующий отбор может поддерживать целостность селективно ценных гапблоков неопределенно долгое время не за счет снижения рекомбинации, а за счет исключения рекомбинантов из состава популяции, породы, домашней формы вида *Sus scrofa*.

А теперь вернемся к хромосоме 5, которая содержит, кроме генов семейства альфа-макроглобулинов, целый ряд генов (табл. 4), чье проявление у особи в виде признака попадает в сферу действия стандартизирующего отбора в силу того обстоятельства, что они прямо или косвенно влияют на хозяйственно ценные признаки. Эти гены расположены как поблизости от концов хромосомы, так и в ее центральной части (табл. 4). В принципе совместное действие естественного и стандартизирующего отборов может поддерживать в породе целостность и константность содержимого нескольких вариантов 5-й хромосомы, происходящих от разных,

исходных для данной породы, форм свиней. Так как гены семейства альфа-макроглобулинов расположены в центральной части 5-й хромосомы рядом с селективно значимыми генами, полиморфизм АМ-системы приобретает фиксированный характер и будет совпадать с полиморфизмом по поддерживаемым отбором вариантам хромосомы 5.

## Литература

- Ермолаев В.И., Мирцхулава Э.Г., Митичашвили Р.С. и др. О результатах международного сравнительного испытания реагентов к аллотипам сывороточных белков свиньи, проведенного в 1988 г. // Генетика. 1990. Т. 26. № 5. С. 956–957.
- Ермолаев В.И., Мирцхулава Э.Г., Савина М.А. и др. О гомологии Lpm-системы аллотипов американской норки и Gr-системы аллотипов домашней свиньи // Генетика. 1991. Т. 27. № 2. С. 304–315.
- Ермолаев В.И., Савина М.А., Горелов И.Г. и др. Характеристика некоторых пород свиней и популяций дикого кабана Грузии и Западной Сибири по иммуногенетическим системам сывороточных белков крови // Генетика. 2001. Т. 37. № 5. С. 631–637.
- Животовский Л.А. Популяционная биология. М.: Наука, 1991. 272 с.
- Инструкция по бонитировке свиней. М.: Колос, 1976. 17 с.
- Князев С.П., Ермолаев В.И., Горелов И.Г., Савина М.А. Динамика и генетическая обусловленность трансформации аллогрупп, системы альфа-макроглобулинов в разных популяциях домашних свиней // Генетика. 2000. Т. 36. № 4. С. 527–532.
- Князев С.П., Никитин С.В. Стандартизирующий отбор и его последствия для генетической структуры популяции // Генетика. 2011. Т. 47. № 1. С. 103–114.
- Князев С.П., Никитин С.В., Горелов И.Г. и др. Ассоциации генетических маркеров в двух родственных породах свиней // Генетика. 1999. Т. 35. № 5. С. 674–680.
- Князев С.П., Никитин С.В., Кириченко А.В. и др. Дифференциация диких и домашних свиней по аллотипам белков сыворотки крови // С.-х. биология. 2005. № 6. С. 100–105.
- Князев С.П., Никитин С.В., Савина М.А. и др. Дрейф генов как фактор дифференциации внутривидовых популяций свиней // Докл. РАСХН. 2004. № 2. С. 35–38.
- Коряков Д.Е., Жимулев И.Ф. Хромосомы. Структура и функции. Новосибирск: СО РАН, 2009. 256 с.

- Кузьмин С.Л. Разведение и породы свиней с основами генетики. М.; Л.: Гос. изд-во с.-х. и колх. лит.-ры, 1934. 226 с.
- Ли Ч. **Введение в популяционную генетику. М.:** Мир, 1978. 556 с. (**Ching Chung Li First course in population genetics.** The Boxwood Press Pacific Grove, California. 1976).
- Никитин С.В., Князев С. П., Николаев А.Г. и др. Разнообразие популяций диких и домашних свиней по комплексу аллотипов сыворотки крови // Генетика. 2006. № 3. Т. 42. С 403–413.
- Bijttebier J., Tilerman K., Dhaenens M. *et al.* Comparative proteome analysis of porcine follicular fluid and serum reveals that excessive alpha(2)-macroglobulin in serum hampers successful expansion of cumulus-oocyte complexes // *Proteomics*. 2009. V. 9. N 19. P. 4554–4565.
- Dorrschuck E., Fischer N., Bravo I.G. *et al.* Restriction of porcine endogenous retrovirus by porcine APOBEC3 cytidine deaminases // *J. Virol.* 2011. V. 85. N 8. P. 3842–3857.
- French K., Yerbury J.J., Wilson R.R. Protease activation of alpha-2-macroglobulin modulates a chaperone-like action with broad specificity // *Biochemistry*. 2008. V. 47. N 4. P. 1176–1185.
- Ireland J.L., Jimenez-Krassel F., Winn M.E. *et al.* Evidence for autocrine or a paracrine roles of alpha-2-macroglobulin in regulation of estradiol production by granulosa cells and development of dominant follicles // *Endocrinology*. 2004. 145. V. 6. N 5. P. 595–604.
- Janik A., Hojny J., Duniec M. Allotype polymorphism of serum globulins (Gp-system) in pigs // *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.* 1983. V. 14. N 2. P. 63–70.
- Jenner L., Husted L., Thirup S. *et al.* Crystal structure of receptor-binding domain of alpha-2-macroglobulin // *Structure*. 1998. V. 6. N 5. P. 595–604.
- Jones G.F. Genetic aspects of domestication, common breeds and their origin // *The Genetic of the Pig / Eds M.F. Rothschild, A. Ruvinsky.* Oxon, UK. CAB International, 1998. P. 17–50.
- Lee S.S., Chen Y., Moran C. *et al.* Linkage and QTL mapping for *Sus scrofa* chromosome 5 // *J. Anim. Breed. Genet.* 2003. Suppl. 1. 120. P. 38–44.
- NCBI *Sus scrofa* 9.2. 2010. [http://www.sanger.ac.uk/Projects/S\\_scrofa/](http://www.sanger.ac.uk/Projects/S_scrofa/)
- Ozawa D., Hasegawa K., Lee YH. *et al.* Inhibition of beta-2-microglobulin amyloid fibril formation by alpha-2-macroglobulin // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. N 11. P. 9668–9676.
- Petersen C.M. Alpha-2-macroglobulin and pregnancy zone protein. Serum levels, alpha-2-macroglobulin receptors, cellular synthesis and function in relation to immunology // *Dan. Med. Bull.* 1993. V. 40. N 4. P. 409–446.
- PGSP (Porcine Genome Sequencing Project). *Sus scrofa* 10. 2011. [http://www.sanger.ac.uk/Projects/S\\_scrofa/](http://www.sanger.ac.uk/Projects/S_scrofa/)
- The Genetics of the Pig / Eds M. Rotshild, A. Ruvinsky.* N.Y., 1998 (*The Genetic of the Pig / Eds M. Rotshild, A. Ruvinsky.* Oxon, UK. CAB International, 1998).
- Rohrer G.A., Alexander L.J., Hu Z. *et al.* A comprehensive map of the porcine genome // *Genome Res.* 1996. 6. P. 371–391.
- Shibata M., Sakai H., Oramoto K. *et al.* Disruption of structural and functional integrity of alpha-2-macroglobulin by cathepsin E // *Eur. J. Biochem.* 2003. 270(6). P. 1189–1196.
- Sottrup-Jensen L. Alpha-2-macroglobulin: structure, shape, and mechanism of protease complex formation // *J. Biol. Chem.* 1989. V. 264. N 20. P. 11539–11542.
- Tortorella M.D., Arner E.C., Hills R. *et al.* Alpha-2-macroglobulin is a novel substrate for ADAMTS-4 and ADAMTS-5 and represents an endogenous inhibitor of these enzymes // *J. Biol. Chem.* 2004. 279(17). P. 17554–17561.
- Yermolaev V.I., Mirtshulava E.G., Savina M.A. *et al.* A comparative study of the homologous Lpm-system allotypes of alpha-macroglobulins in American mink and Gp-system allotypes of alpha-macroglobulin in domestic pig // *Anim. Breed. Genet.* 1992. V. 109. P. 42–50.

## STUDY OF THE SWINE ALPHA-MACROGLOBULIN GENE FAMILY POLYMORPHISM IN THE CONTEXT OF SOME PROBLEMS OF ANIMAL BREEDING

V.I. Yermolaev<sup>1</sup>, M.A. Savina<sup>1</sup>, S.P. Knyazev<sup>2</sup>, N.S. Yudin<sup>1</sup>, R.B. Aitnazarov<sup>1</sup>,  
V.A. Bekenev<sup>3</sup>, V.S. Deeva<sup>3</sup>, S.V. Nikitin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: ermolaev@bionet.nsc.ru;

<sup>2</sup> Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia, e-mail: knyser@rambler.ru;

<sup>3</sup> Siberian Research Institute of Animal Husbandry, Russian Academy of Agricultural Sciences, Krasnoobsk, Russia, e-mail: sibnij@ngs.ru

### Summary

Long-term screening of Siberian populations of the Large White pig breed has been performed using a set of allotypic markers of the alpha-macroglobulin system (AM). An effect of differentiating selection on AM haplotypes, namely, on the presentation of the *AMI.2* haplotype, controlling the polymorphism of closely linked genes (*AIM* and *A2M*), was detected in animals of different breeding and producing groups. It is suggested that this process may involve other genes, both present in a short haplotype of pig chromosome 5 and linked to this haplotype by structural and functional coadaptivity:

1. A cluster of eight genes for taste perception receptors (TASTE), located directly between the *AMR6-A2M* genes.
2. Four clusters of more than 100 genes for olfactory signal receptors (OLFACTORY), which appear to be coadapted with TASTE genes.
3. Two functionally polymorphic genes for cytidine deaminase (*APOBEC3 – APOBEC3F*), flanking the *AM-AMR1* region and predetermining the resistance to retroviral infections.
4. At least two QTL-loci (21DWT and BF60K), which define same morphometric parameters at different developmental stages of piglets and are associated with the homeobox and herculin genes (*MYF6 – HOX*) genes, respectively, at different ends of the chromosome. The haploblocks partially overlap in various combinations, and the tightest overlap is recorded in the region of the AM family. It is assumed that the vectors of selection for each of the haploblocks are differently directed. The selection concerns large tracts of the chromosome rather than individual genes or gene families. The compositions and allele sets of these tracts are balanced by natural selection and long-term animal breeding.

**Key words:** pig blood alpha-macroglobulin family, the complex of genes, *OLF-AIM-AM2-PZP-OVO-TASTE-AMR-OLF*.