

УДК 575.174.0153:591.51:636.934.57

## ОТБОР ПО ПОВЕДЕНИЮ И СОСТОЯНИЕ СИСТЕМ МАКРОГЛОБУЛИНОВ И ЛИПОПРОТЕИНОВ У АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ (*NEOVISON VISON*)

© 2014 г. В.И. Ермолаев, М.А. Савина, Н.С. Юдин,  
Р.Б. Айтназаров, С.В. Никитин, Л.И. Трапезова, О.В. Трапезов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,  
e-mail: ermolaev@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 2 сентября 2013 г. Принята к публикации 4 октября 2013 г.

С использованием 6 аллотипов *Lpm*-системы, *AIM* члена семейства альфа-макроглобулинов и двух аллотипов *Ld*-системы, гомолога *APOB* липопротеина низкой плотности, выполнено популяционно-генетическое сравнение норок с ручным и агрессивным поведением. Установлены различия между попарно сравниваемыми группами по маркерам *Lpm1*, *Lpm3*, *Lpm5* и *Lpm10*. Выявлена статистически достоверная ассоциация аллелей с аллотипами *Lpm1*, *Lpm3* с агрессивным типом поведения и аллельного варианта *Lpm* не10 с ручным типом поведения. Не обнаружено статистических различий между группами по встречаемости аллотипов *Ld1* и *Ld2* системы *Ld* липопротеина низкой плотности.

**Ключевые слова:** американская норка, *Neovison vison*, полиморфизм семейства *Lpm* = *AM*, *Ld* = *APOB*, аллотипы, ручное и агрессивное поведение.

### ВВЕДЕНИЕ

Американская норка характеризуется видоспецифичным содержанием нейтральных липидов и липопротеидов, представляя тем самым интересную модель в изучении некоторых механизмов атерогенеза (Никитин и др., 1982). При исследовании у животных двух генетических систем, *Lpm* и *Ld*, отнесенных по биохимическим свойствам к липопротеинам, была выявлена полиморфная *Lpm*-система (**Lipo Protein of Mink**) с 14 аллотипами (*Lpm1*–*Lpm14*), 11 аллогруппами и, соответственно, 11 гаплотипами. В противоположность ей система липопротеинов низкой плотности *Ld* (**Light density**) с аллельными маркерами *Ld1* и *Ld2* оказалась мономорфной (Баранов и др., 1975; Baranov *et al.*, 1978; Baranov, Savina, 1979; Баранов, Савина, 1988; Yermolaev *et al.*, 1992).

В данной работе изучались последствия длительного эксперимента по селекционному преобразованию поведения американских норок на их иммуногенетический полиморфный статус.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили американские норки из популяции экспериментальной зверофермы Института цитологии и генетики СО РАН. Эти животные уже на протяжении 75 поколений разводятся на специализированных зверофермах мира, но все еще сохранили поведение, характерное для диких норок, и стандартный фенотип. Для сравнения коррелированных ответов на селекцию по поведению использовались норки стандартного генотипа (+/+) 15-го поколения селекции как на доместикационное, так и на агрессивное поведение (рис.). В качестве контроля служили животные, не затронутые специальным отбором по поведению (Трапезов, 2008).

Образцы крови норок проанализировали стандартно, с использованием набора аллоанти-сывороток-реагентов, приготовленных ранее путем аллоиммунизаций (Baranov *et al.*, 1976, 1978). После длительного перерыва в экспериментальной работе по иммуногенетическим



**Рис.** Изменение среднего балла поведения в популяциях норок, селекционируемых на доместикационное и агрессивное поведение, за 15 поколений отбора.

исследованиям (1990–2011 гг.) удалось восстановить активность некоторых антисыворотокреагентов и проанализировать систему *Lpm* по маркерами *Lpm1*, *Lpm2*, *Lpm3*, *Lpm4*, *Lpm5*, *Lpm10* (Baranov *et al.*, 1976, 1978; Баранов, Ермолаев и др., 1984), а также систему *Ld* с маркерами *Ld1*, *Ld2* (Baranov, Savina, 1979, 1981).

Частоту аллотипов-маркеров определяли путем подсчета животных в выборке, имеющих маркер, по отношению к общему числу исследованных особей. Частоты аллогрупп и соответствующих гаплотипов рассчитывали и оценивали общепринятым в иммуногенетике методом с учетом особенностей аллогруппового характера наследования (Baranov *et al.*, 1978).

Статистический анализ коэффициента ассоциации и оценку его достоверности расчи-

тывали по общепринятым формулам (Лакин, 1990).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 представлены результаты аллотипирования норок как незатронутых специальным отбором по поведению, так и в ходе отбора на агрессивное и доместикационное поведение с использованием маркеров двух иммуногенетических систем: *Lpm* и *Ld*.

Из табл. 1 видно, что в популяции норок, не затронутых специальным отбором по поведению, полиморфизм *Lpm*-системы за период 1976–2011 гг. в виде присутствия–отсутствия аллотипов практически не менялся; отличия зафиксированы только в частоте их встречае-

**Таблица 1**

Влияние отбора по поведению на частоту аллотипов у американских норок

Аллотип	Частота аллотипов			
	Контроль без специального отбора по поведению		15-е поколение отбора (2011 г.)	
	1976 г.* (n = 326)	2011 г. (n = 233)	агрессивные (n = 105)	ручные (n = 128)
<i>Lpm1</i>	0,2982	0,2112	0,2969	0,1486
<i>Lpm3</i>	0,4123	0,2871	0,4609	0,1600
<i>Lpm5</i>	0,1082	0,0792	0,1406	0,0343
<i>Ld1</i>	0,9912	0,9934	0,9922	0,9943
<i>Ld2</i>	0,2105	0,1584	0,1641	0,1543

\* Baranov *et al.*, 1976.

мости: аллотипы **Lpm1, Lpm3, Lpm5 в 1976 г.** встречались в 1,4 раза чаще, чем в 2011 г.

Длительный направленный отбор на агрессивное поведение не привел к какому-либо дифференциальному селективному преимуществу агрессивных над контрольными животными. Более того, агрессивные норки оказались ближе к контрольным норкам выборки 1976 г.

В то же время в 15-м поколении специального отбора на доместикационное поведение количество животных-носителей аллотипов **Lpm1, Lpm3, Lpm5 уменьшается с высокой достоверностью** по сравнению с агрессивными: по **Lpm1 – в 2 раза, Lpm3 – в 2,9 раза, Lpm 5 – в 4 раза** (табл. 1).

Из табл. 1 видно, что по *Ld*-системе аллотип **Ld2, судя по частоте встречаемости (0,21–0,15), является информативным, а аллельный ему аллотип Ld1 представлен во всех выборках с частотой, близкой к единице.** На частоту аллотипа **Ld1 специальный отбор как на агрессивное, так и на доместикационное поведение не повлиял, его отсутствие зафиксировано лишь у отдельных особей.** Вариация частоты **Ld2 имеет узкий разброс, но на статистическую оценку ее достоверности очень сильно влияет число гомозиготных особей Ld2/Ld2, которое во всех группах исчисляется единичными особями, хотя тенденция к понижению концентрации Ld2 в 1,3 раза в выборках разных лет примерно та же, что и Lpm1, Lpm3 (табл. 1).**

Частоты аллотипов липопротеина низкой плотности среди ручных и агрессивных норок практически не отличаются. В закрытой двухаллельной *Ld*-системе, где имеется возможность точно идентифицировать фенотипы и генотипы,

был проведен анализ двух выборок на предмет генетического равновесия. Он показал, что наблюдаемые и ожидаемые численности животных хорошо соответствуют друг другу. Это означает, что отбор по поведению не оказал прямого влияния на полиморфизм *Ld*-системы.

В табл. 2 данные статистической оценки связи разных аллотипов с поведенческим типом животных показывают, что имеется достоверная ассоциация между аллотипами **Lpm3 и Lpm1 с агрессивным типом поведения.** Важно отметить, что речь идет о популяционных частотах порядка 0,4–0,3, т. е. отнюдь не редких. По аллотипу **Lpm5** имеется та же тенденция, но из-за его относительно небольшой популяционной встречаемости (0,1–0,07) статистическая достоверность этой связи невелика.

Коэффициент ассоциации между маркерами *Ld*-системы и типом поведения близок к нулю (точнее, имеет знак «минус»). В плане качественного анализа ассоциаций этот показатель означает, что присутствие **Ld2 связано скорее с ручным типом, чем с агрессивным.**

## ОБСУЖДЕНИЕ

В своих первых публикациях авторы описали группу маркеров **Lpm1, Lpm2, Lpm3, Lpm4 и Lpm5, названную ими Lpm-системой (Lipoprotein of mink), и аллотип Ld1 липопротеина** низкой плотности, отнесенный к *Ld*-системе (Беляев и др., 1974; Баранов и др., 1975; Baranov *et al.*, 1976, 1978; Baranov, Savina 1979, 1981). В начале 1970-х годов не имелось данных о масштабе полиморфизма ни по *Lpm*-, ни по *Ld*-системам. Поэтому данные 1976 г., получен-

Таблица 2

Тестирование разных групп норок по аллотипам и по поведению

Аллотип	Агрессивные				Ручные				$r_A$	$\chi^2$
	+	–	всего	частота + особей	+	–	всего	частота + особей		
Lpm1	38	90	128	0,2969	19	86	105	0,181	0,13	4,19*
Lpm3	59	69	128	0,4609	22	83	105	0,2095	0,26	16,08***
Ld1	127	1	128	0,9922	104	1	105	0,9943	–0,06	0,82
Ld2	21	107	128	0,1641	18	87	105	0,1714	–0,01	0,02

$r_A$  – коэффициент ассоциации.

Таблица 3

Представленность отдельных *Lpm*-аллотипов в составе *Lpm*-аллогрупп, идентифицированных в данной работе (Кутявина и др., 1987)

Аллотип, аллогруппа	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1.6.8.9.10.11.13.14	+					+		+	+	+	+		+	+
2.4.5.7.9.10.11.12.13.14		+		+	+		+		+	+	+	+	+	+
3.4.6.8.9.10.11.13.14			+	+		+		+	+	+	+		+	+
4.9.11.12 = не10				+					+		+	+		

ные на 326 норках, не затронутых специальным отбором по поведению, можно считать базовыми и использовать их для сравнений как с состоянием контрольных животных в 2011 г., так и с результатами отбора в течение 15 поколений на агрессивный и доместикационный типы поведения (табл. 1).

Характерной особенностью *Lpm*-системы как мультигенного локуса является аллогрупповой тип наследования, т. е. аллотипы передаются из поколения в поколение в составе строго определенных сочетаний. С использованием первых маркеров было выявлено шесть аллогрупп, с использованием семи аллотипов удалось идентифицировать восемь аллогрупп, с использованием 14 аллотипов описано 11 аллогрупп, генетически контролируемых комплексами тесно сцепленных генов (гаплотипами). Полный состав четырех аллогрупп, идентифицированных и исследованных в данной работе, приведен ниже: *Lpm* 1.6.8.9.10.11.12.13.14; *Lpm* 3.4.6.8.9.10.11.13.14; *Lpm* 2.4.5.7.9.10.11.12.13.14 и *Lpm* 4.9.11.12 – не10 (табл. 3).

Типирование аллотипа *Lpm1* позволяет идентифицировать присутствие всей первой аллогруппы, *Lpm5* – второй, *Lpm3* – третьей. В составе четвертой аллогруппы нет частной специфичности, поэтому ее присутствие можно обнаружить только у соответствующих гомозигот, характерной чертой которых является отсутствие аллотипа *Lpm10*, а у гетерозигот – частичное ослабление аллопреципитата, по-видимому, из-за ген-дозового эффекта снижения концентрации (Баранов и др., 1984).

Факт поддержания полиморфизма фактически на одном уровне в двух практически никогда

не перекрывающихся выборках, хотя и из одной экспериментальной зверофермы, указывает на существование механизмов, поддерживающих полиморфное состояние двух систем в практически неизменном стабильном состоянии. Результаты сравнения частот в выборках 1976 и 2011 гг. можно интерпретировать как вариацию частот аллелей за счет случайных процессов. Тогда возникает вопрос: за счет чего поддерживается стабильный уровень полиморфизма. Ответить на него возможно, если учитывать следующие обстоятельства.

Независимо от характера структурных генетических различий между гаплотипами, специфические маркеры которых исследованы в данной работе, первые три из них имеют тенденцию к ассоциации с доместикационным, а четвертый – с агрессивным поведением.

Можно предположить, что ассоциация иммуногенетических, а по сути – молекулярных маркеров со сложным многомерным поведенческим признаком может иметь одну основную причину. Полиморфные *Lpm*-гены ассоциированы с генами поведения, находящимися в той же хромосоме. Ранее нами установлено, что *Lpm*-локус локализован в хромосоме 9 норки, гомологичной хромосоме 12 человека (Yermolaev *et al.*, 1989), генный состав которой известен и достаточно сходен у многих видов млекопитающих, в том числе свиньи (Yermolaev *et al.*, 2013). Можно предположить, что у норки этот набор мало отличается от такового у человека. Возможно, детальный анализ этой области хромосомы 9 норки позволит выявить гены-кандидаты комплекса генов одомашнивания.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (научный проект № 13-04-00968-а), СО РАН (экспедиционный проект № 3э) программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № ФНМ-2012-05) и базового бюджетного проекта VI.53.1.2.

## ЛИТЕРАТУРА

- Баранов О.К., Савина М.А. Иммуногенетика липопротеинов. Новосибирск: Наука, 1988. 128 с.
- Баранов О.К., Ермолаев В.И., Филиппов В.В. и др. Генетика и эволюция *Lpm*-системы американской норки. Сообщение 3. Идентификация и филогенетическое исследование аллотипов *Lpm9* и *Lpm10* // *Генетика*. 1984. Т. 20. № 6. С. 1016–1023.
- Баранов О.К., Савина М.А., Беляев Д.К. Три новых аллотипа альфа-2-липопротеинов сыворотки крови норок – *Lpm6*, *Lpm7*, *Lpm8* // *Генетика*. 1975. Т. 11. № 9. С. 32–37.
- Беляев Д.К., Баранов О.К., Савина М.А. и др. Идентификация пяти аллотипов сывороточных альфа-2-липопротеинов-эстераз американской норки (*Mustela vison*) // *Генетика*. 1974. Т. 10. № 1. С. 62–70.
- Кутявина Т.В., Ермолаев В.И., Савина М.А., Баранов О.К. Генетика и эволюция *Lpm*-системы американской норки. Сообщение VII. Новый видоспецифичный аллотип *Lpm14* // *Генетика*. 1987. Т. 23. № 4. С. 738–750.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
- Никитин Ю.П., Рошке М.Л., Филимонова Т.А., Трапезов О.В. Липиды, липопротеиды и показатель этерификации холестерина плазмы крови американской норки // *Бюл. эксперим. биол. медицины*. 1982. № 5. С. 55–56.
- Трапезов О.В. Регуляторные эффекты генов поведения и управление окрасочным формообразованием у американских норок (*Mustela vison* Schreber, 1777) // *Информ. вестн. ВОГиС*. 2008. Т. 12. № 1/2. С. 63–83.
- Baranov O.K., Savina M.A. Immunogenetic study on the polymorphism of serum alpha-2-lipoproteins in mink. 3. Ld1 allotype of low-density lipoproteins in mink // *Biochem. Genet.* 1979. V. 17. No. 5/6. P. 343–350.
- Baranov O.K., Savina M.A. Immunogenetic study on the polymorphism of serum alpha-2-lipoproteins in mink. 4. Diallelism at the Ld locus of low-density lipoproteins in mink // *Biochem. Genet.* 1981. V. 19. No. 9/10. P. 997–1015.
- Baranov O.K., Savina M.A., Belyaev D.K. Immunogenetic study on the polymorphism of serum alpha-2-lipoproteins in mink. 1. Identification and genetic control of five Lpm-allotypes // *Biochem. Genet.* 1976. V. 14. No. 3/4. P. 327–345.
- Baranov O.K., Yermolaev V.I., Belyaev D.K. Immunogenetic study on the polymorphism of serum alpha-2-lipoproteins in mink. 2. Identification of allotypes Lpm7 and Lpm8 and genetic control of seven markers of the Lpm system // *Biochem. Genet.* 1978. V. 16. No. 5/6. P. 399–414.
- Yermolaev V.I., Karasik G.I., Khlebodarova T.M., Matveeva N.M., Mullakandov M.R., Nayakschin A.M., Shumny V.K., Rubtsov N.B., Serov O.L., Baranov J.R. Localization of the alpha-2-macroglobulin gene and *Lpm* gene family on mink chromosome 9 // *Theor. Appl. Genet.* 1989. V. 78. P. 93–96.
- 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 // *J. Anim. Breed. Genet.* 1992. V. 109. 42–50.
- Yermolaev V.I., Savina M.A., Knyasev S.P., Yudin N.S., Aitnazarov K.B., Bekenev D.A., Deeva V.S., Nikitin S.V. Study of swine alpha-2-macroglobulin gene family polymorphism in the context of some problems of animal breeding // *Rus. J. Genet.: Applied Res.* 2013. V. 3. No. 3. P. 225–232.

## SELECTION FOR BEHAVIOR AND CORRELATION WITH THE MACROGLOBULINE AND LYPOPROTEINE SYSTEMS IN THE AMERICAN MINK (*NEOVISON VISON*)

V.I. Ermolaev, M.A. Savina, N.C. Yudin, R.B. Aitnazarov, C.V. Nikitin,  
L.I. Trapezova, O.V. Trapezov

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: ermolaev@bionet.nsc.ru

### Summary

Genetic comparison was performed between mink populations with tame and aggressive behaviour. Six allotypes of the *Lpm* system; the A1M alpha macroglobulin; and two allotypes of the *Ld* system, homologue of APOB low-density lipoprotein, were analyzed. The populations differed in markers *Lpm1*, *Lpm3*, *Lpm5*, and *Lpm10*. Alleles with allotypes *Lpm1* and *Lpm3* were significantly associated with aggressive behavior, and allele *Lpm non-10*, with tame behavior. No statistically significant differences were found in frequencies of the *Ld1* and *Ld2* allotypes of the *Ld* low-density lipoprotein system.

**Key words:** American mink, *Neovison vison*, polymorphism in the *Lpm = AM* family, *Ld = APOB*, allotypes, tame and aggressive behavior.