

УДК 575.1:599.742.4

ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ОКРАСА МЕХА СОБОЛЯ (*Martes zibellina* L.), ПОИСК МУТАЦИЙ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ОТСУТСТВИЕ ПИГМЕНТАЦИИ (АЛЬБИНОС)¹

© 2024 г. П. А. Филимонов¹, А. Д. Манахов^{1, 2, 3}, М. И. Митина², А. А. Онохов¹,
И. Е. Чернова⁴, Л. В. Максимова⁴, С. Н. Каштанов^{1, *}, Е. И. Рогаев^{2, 3, 5}

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, г. Москва, 119991 Россия

²Центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», пгт. Сириус, 354340 Россия

³Центр генетики и генетических технологий, Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова, Москва, 119234 Россия

⁴АО «Русский соболь» Московская область, пос. Зверосовхоз, 141214 Россия

⁵Медицинская школа Чан Массачусетского университета, департамент психиатрии,
Шрусбери, 01545 США

*e-mail: snkashtanov@mail.ru

Поступила в редакцию 27.04.2024 г.

После доработки 10.06.2024 г.

Принята к публикации 25.06.2024 г.

В одомашнированной популяции соболя, спустя почти 100 лет отбора, были зафиксированы первые особи с цветной окраской меха. Так, в потомстве пары соболей черной окраски меха родился щенок окраски пастель. По результатам исследования была выявлена однонуклеотидная инсерция в гене *TYRP1*, определяющая этот окрас меха соболя, тип наследования рецессивный. В 2022 г. в этой популяции у представителей двух линий соболей родились одновременно щенки с белой окраской меха. У большинства видов млекопитающих альбинизм обусловлен мутациями в гене *TYR*, кодирует фермент тирозиназу. В настоящем исследовании ген соболя *TYR* был исследован как функциональный ген-кандидат на альбинизм. Анализ нуклеотидных последовательностей кодирующей области гена *TYR* и сайтов сплайсинга не выявил у соболей белой окраски отличий от соболей стандартной окраски, что позволяет предположить, что исследуемый фенотип обусловлен генетическими вариантами в других генах.

Ключевые слова: *Martes zibellina*, соболь, тирозиназа, ген-кандидат, ген *TYR*, сайт сплайсинга.

DOI: 10.31857/S0016675824110107 **EDN:** WAXTHA

Создание ферм по разведению соболя в начале XX в. связано с промысловым уничтожением ряда природных популяций, снижением численности вида в целом и последующей фрагментацией ареала [1, 2]. Генофонд первой в России фермерской популяции соболя формировался с 1929 г. в Подмосковье, ферма «Пушкинский». Для этих целей из природных популяций Сибири и Дальнего Востока было изъято более 1000 соболей [3]. Необходимо отметить, что вид представлен несколькими географическими типами, различающимися по ряду количественных признаков и окраске меха. Так, популяции на краях ареала светлых тонов от песочно-желтой до коричневой, в центре более

темной, иногда черной окраски. Эти различия приобретены в процессе освоения новых территорий. Основанная на данных фенотипических различиях особей из популяций географических регионов таксономическая структура вида представлена в ряде публикаций [4–7]. Всего при формировании первой фермерской популяции соболя было привлечено более десяти природных популяций, следовательно, можно предположить, что большая часть генетического разнообразия вида была задействована на первом этапе одомашнивания. Дифференциация географических популяций соболя, проведенная по данным количественных признаков, подтверждается исследованиями с применением генетических маркеров [8, 9].

Анализ племенных документов начального периода одомашнивания показал, что значительная часть соболей природных популяций смогла

¹Дополнительные материалы размещены в электронном виде по doi статьи.



Рис. 1. Щенок соболя окраски альбинос (номер в коллекции 9706), родился в зверохозяйстве «Пушкинский» от пары соболей окраски «пастель».

адаптироваться к фермерскому содержанию и впоследствии к направленному отбору по количественным признакам [10, 11]. Среди соболей природных популяций, поступивших на ферму для разведения, не выявлено животных с окрасом меха, отличающимся от стандартов географических популяций.

Преимущества domestikации и селекция являются основными движущими силами, ответственными за высокий уровень фенотипической изменчивости фермерских популяций пушных зверей. В связи с изменением вектора отбора по сравнению с природными популяциями (в частности, направленный отбор на разведение особей – носителей мутаций, влияющих на окраску меха), в domestikцированных популяциях пушных зверей появились группы зверей различных окрасов меха. В основном это носители рецессивных мутаций в генах, влияющих на проявление окраски меха [12–14].

В исследуемой популяции соболя звероводческого хозяйства «Пушкинский» спустя почти 100 лет отбора в стаде стали фиксировать особей с новыми окрасками меха. Так, в 2005 г. в потомстве пары соболей черной окраски меха родился щенок окраски «пастель». Проведенными исследованиями выявлена однонуклеотидная инсерция в гене *TYRP1* (с.1503dupT), которая привела к фенотипу пастель окраски меха соболя, тип наследования рецессивный. Ген *TYRP1* кодирует связанный с мембраной тирозиназоподобный фермент, который экспрессируется как в меланоцитах, так и в эпителии сетчатки [15]. Далее, в 2022 г. в фермерской популяции зафиксировано рождение щенков соболей с белой окраской меха, анализ наследования этой окраски меха приведен в настоящей работе (рис. 1).

Альбинизм – наследуемая аномалия, проявляется как частичное или полное отсутствие

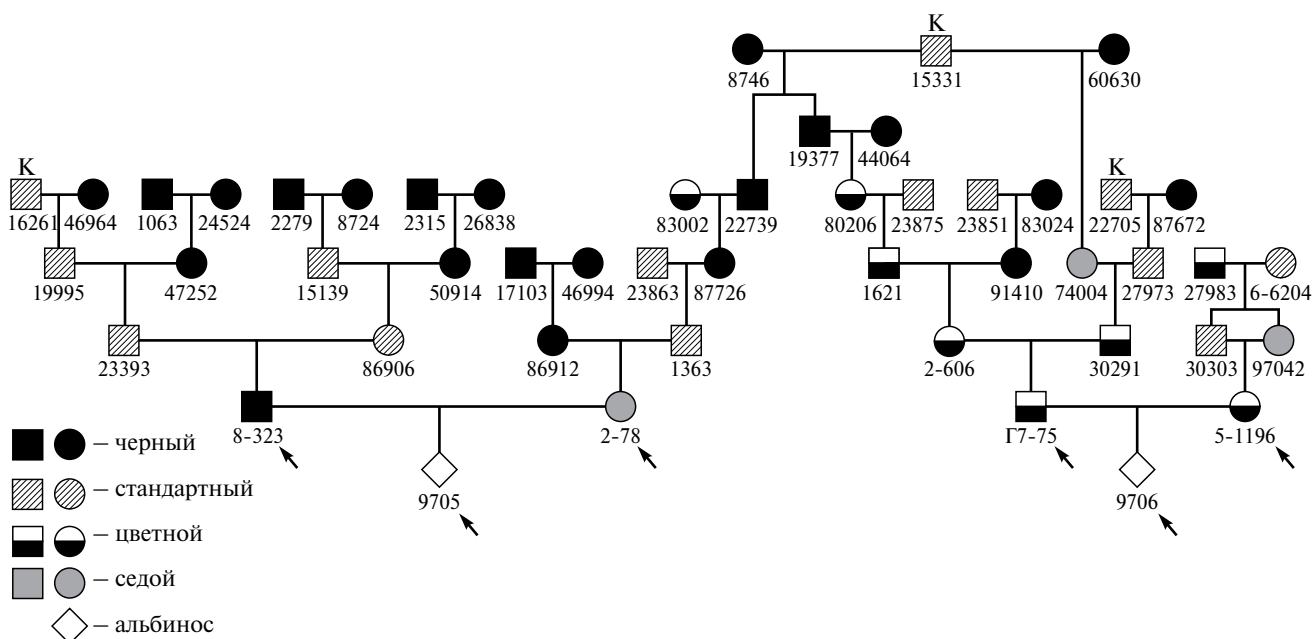


Рис. 2. Родословная соболей окраски альбинос, результат скрещивания двух линий, родоначальник – самец 15331 (заводской номер). Знаком «К» отмечены особи, завезенные с п-ва Камчатка. Стрелками обозначены индивиды, вошедшие в исследование.

Таблица 1. Праймеры, использованные для амплификации полных последовательностей пяти экзонов, а также сайтов сплайсинга гена *TYR* соболя

Название	Последовательность	Ожидаемый размер продукта, пн	Т отжига, °С
TYR_ex1F	GTCTCAGCCAAAACATGTGA	999	58
TYR_ex1R	GATGGGGAGGGAGGTGTAT		
TYR_ex2F	TGGGCAATTAACTCGTTTT	628	58
TYR_ex2R	TCGTGTGTGTCAGATTACGG		
TYR_ex3F	TAAATAAGCAGTGGGCATCC	421	60
TYR_ex3R	GTTTCAGGGCTGTTTCTGG		
TYR_ex4F	TGAGGCTTTAACCCACTGAG	526	60
TYR_ex4R	AAGGCTTTGGGGATAACATT		
TYR_ex5F	ACTCCGCAAGGATAATGATG	877	58
TYR_ex5R	TCAGAACTATGGCAGGAAGG		

меланинового пигмента, хорошо известное в природе явление, встречающееся как у млекопитающих, так и в других таксономических классах животных. Широко распространены альбиносы среди домашних и лабораторных животных, например, крыса [16] и хорек [17]. Описаны альбино-формы и для экономически ценных пушных зверей, например, лисы [18] и американской норки [19], данный тип окраски пользуется широкой популярностью на рынке пушнины фермерского происхождения.

С молекулярно-генетической точки зрения глазокожный альбинизм (oculocutaneous albinism) обусловливается мутациями в генах *TYR*, *TYRP1*, *DCT*, *OCA2*, *LRMDA* и *SLC24A5* [20]. Следует отметить, что другие синдромы, например, синдром Германски–Пудлака, обусловленный мутациями, обнаруженными по меньшей мере в 11 генах [21], также характеризуются глазокожным альбинизмом [22], такие фенотипы описаны как у человека [20], так и у мыши [23].

Среди млекопитающих у большинства видов альбинизм обусловлен мутациями в гене *TYR* [24], который кодирует тирозиназа-зависимый белок, входящий в структуру тирозиназы и являющийся ключевым в процессе биосинтеза меланина [25]. В связи с этим изучение молекулярно-генетических основ альбинизма у соболя нами было решено начать именно с анализа данного гена. Интересно, что типы и положения мутаций в гене *TYR* сильно различаются внутри вида и между видами. Эти различия повышают интерес к локусу *TYR* также с точки зрения сравнения. В настоящей работе ген соболя *TYR* был исследован как функциональный ген-кандидат на альбинизм.

Для анализа использовали две семейные группы соболей (рис. 2), в которых в 2022 г. одновременно появились щенки-альбиносы.

Родоначальником обеих родословных является самец 15331, завезенный в 1991 г. с п-ва Камчатка. В линии скрещивания с потомками другого самца, завезенного из этого региона (16261), преобладают черные соболи и звери стандартной окраски. Вторая родословная характеризуется высоким уровнем инбридинга и насыщенностью особями с окраской меха пастель. Представители этих семей (четыре родительские особи стандартной окраски и две особи с окраской альбинос) были генотипированы, дополнительно в анализ был включен один образец ДНК соболя из природной популяции со стандартной (темно-коричневой) окраской мехового покрова. Анализ нуклеотидных последовательностей кодирующей области гена *TYR*, общей длиной 1596 нуклеотидов, что составляет 100% от кодирующей части гена *TYR*, проводили путем прямого секвенирования по Сэнгеру. ПЦР проводили с использованием набора реагентов GenPack PCR Core (Изоген) и праймеров, позволяющих амплифицировать полные последовательности пяти экзонов, а также сайты сплайсинга, гена *TYR* (табл. 1). Полученные в результате ПЦР фрагменты очищали непосредственно из реакционной смеси или вырезали из геля. Очистку проводили с использованием набора Cleanup Standard (Евроген). Сиквенсную реакцию проводили с помощью набора реагентов BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) в объеме 10 мкл. Полученные продукты реакции очищали на колонках DyeEx 2.0 Spin Kit

было выявлено различий от соболей стандартной окраски как из фермерской, так и из природной популяции.

Таким образом, полученные нами результаты демонстрируют отсутствие значимых генетических изменений в кодирующей области гена *TYR* у соболей-альбиносов (Приложение). Это позволяет предположить, что у соболя данный фенотип обусловлен генетическими вариантами в других генах. Целесообразным представляется проведение полногеномного секвенирования у альбиносов и анализа полученных данных.

Соболь — не единственный вид, у которого проявление признаков альбинизма не связано с геном *TYR*. Так, в исследованиях по генотипированию различных пород собак у носителей признака «альбинос» (у нескольких мелких длинношерстных пород собак) выявлена миссенс-мутация в *SLC45A2*, связанная с альбинизмом [26, 27].

Исследование одобрено Этическим комитетом ИОГен РАН 08.05.2024 г., протокол № 6.

Исследования проводились с привлечением средств Фонда РФ, грант № 23-26-00233 от 13.01.2023 г.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тимофеев В. В., Надеев В. Н. Соболь. М.: Заготиздат, 1955. 403 с.
2. Насимович А. А. Соболь, куницы, харза. М.: Наука, 1973. 240 с.
3. Каштанов С. Н. Соболь России: история, племенные и дочерние хозяйства, хронология разведения // Кролиководство и звероводство. 2014. № 6. С. 11–15.
4. Бакеев Н. Н., Монахов Г. И., Сеницын А. А. Соболь. 2-е изд. Вятка, 2003. 336 с.
5. Гептнер В. Г., Наумов Н. П., Юргенсон П. Б. Млекопитающие Советского Союза. Т. 2. Ч. 1. М.: Высш. шк., 1967. 1004 с.
6. Монахов Г. И. Географическая изменчивость и таксономическая структура соболя фауны СССР // Тр. ВНИИОЗ. 1976. Т. 26. С. 54–86.
7. Монахов В. Г. Географическая изменчивость соболя в ареале и филогеография // Экология. 2015. № 3. С. 219–228. DOI: 10.7868/S0367059715030075
8. Каштанов С. Н., Свищёва Г. Р., Пищулина С. Л. и др. Географическая структура генофонда соболя (*Martes zibellina* L.): данные анализа микросателлитных локусов // Генетика. 2015. Т. 51. № 1. С. 78–88. DOI: 10.7868/S001667581501004X
9. Ranyuk M., Modorov M., Monakhov V., Devyatkin G. Genetic differentiation of autochthonous sable populations in Western and Eastern Siberia // J. Zool. Systematics and Evol. Research. 2021. V. 59. № 8. P. 2539–2552. <https://doi.org/10.1111/jzs.12565>
10. Каштанов С. Н., Сулимова Г. Е., Шевырьков В. Л., Свищёва Г. Р. Селекция соболя России: этапы промышленной domestikации и генетическая изменчивость // Генетика. 2016. Т. 52. № 9. С. 1001–1011.
11. Свищёва Г. Р., Каштанов С. Н. Репродуктивная стратегия соболя (*Martes zibellina* Linnaeus, 1758): анализ наследования размера приплода в промышленных популяциях // Вестн. ВОГиС. 2010. Т. 14. № 3. С. 444–451.
12. Robinson R. Volume 4. Vertebrates of genetic interest // Handbook of Genetics. V. 4. Boston, MA.: Springer US, 1975. P. 367–398. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-4470-4_18
13. Trapezov O. V., Trapezova L. I. Whether or not selection can induce variability: model of the american mink (*Mustela vison*) // Paleontol. J. 2016. V. 50. P. 1649–1655.
14. Trapezov O. V. Black crystal: A novel color mutant in the american mink (*Mustela vison schreber*) // J. Heredity. 1997. V. 88. № 2. P. 164–167. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a023080>
15. Manakhov A. D., Mintseva M. Yu., Andreeva T. V. Genome analysis of sable fur color links lightened pigmentation phenotype to a frameshift variant in the tyrosinase-related protein 1 gene // Genes. 2021. V. 12. № 2. P. 157. <https://doi.org/10.3390/genes12020157>
16. Blaszczyk W. M., Arning L., Hoffmann K. P., Epplen J. T. A tyrosinase missense mutation causes albinism in the wistar rat // Pigment Cell Research. 2005. V. 18 № 2. P. 144–145. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.2005.00227.x>
17. Blaszczyk W., Distler C., Dekomien G. M. et al. Identification of a tyrosinase (TYR) exon 4 deletion in albino ferrets (*Mustela putorius furo*) // Animal Genetics. 2007. V. 38. № 4. P. 421–423. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2007.01619.x>
18. Yan S., Zhao D., Hu M. et al. A single base insertion in the tyrosinase gene is associated with albino phenotype in silver foxes (*Vulpes vulpes*) // Animal Genetics. 2019. V. 50. № 5. P. 550. DOI: 10.1111/age.12816
19. Anistoraei R., Fredholm M., Christensen K., Leeb T. Albinism in the american mink (*Neovison vison*) is associated with a tyrosinase nonsense mutation // Animal Genetics. 2008. V. 39. № 6. P. 645–648. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2008.01788.x

19. *Anistoroaei R., Fredholm M., Christensen K., Leeb T.* Albinism in the american mink (*Neovison vison*) is associated with a tyrosinase nonsense mutation // *Animal Genetics*. 2008. V. 39. № 6. P. 645–648. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2008.01788.x
20. *Amberger J. S., Bocchini C. A., Scott A. F., Hamosh A.* Leveraging knowledge across phenotype-gene relationships // *Nucl. Acids Res*. 2019. V. 47. № D1. P. D1038–D1043. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1151>
21. *Dessinioti C., Stratigos A. J., Rigopoulos D. & Katsambas A. D.* A review of genetic disorders of hypopigmentation: Lessons learned from the biology of melanocytes // *Experimental Dermatology*. 2009. V. 18. № 9. P. 741–749.
22. *Baxter L. L., Watkins-Chow D. E., Pavan W. J., Loftus S. K.* A curated gene list for expanding the horizons of pigmentation biology // *Pigment Cell Melanoma Res*. 2019. V. 32. № 3. P. 348–358.
23. *Nicholas F. W., Tammen I., Sydney Informatics Hub.* Online Mendelian Inheritance in Animals (OMIA). 1995 [dataset]. <https://omia.org/>. <https://doi.org/10.25910/2AMR-PV70>
24. *Körner A., Pawelek J.* Mammalian tyrosinase catalyzes three reactions in the biosynthesis of melanin // *Science*. 1982. V. 217. № 4565. P. 1163–1165. DOI: 10.1126/science.6810464
25. *Winkler P. A., Gornik K. R., Ramsey D. T. et al.* A partial gene deletion of SLC45A2 causes oculocutaneous albinism in doberman pinscher dogs // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 3. P. e92127. DOI: 10.1371/journal.pone.0092127
26. *Hiruni R., Wijesena, Sheila M. Schmutz.* A missense mutation in *SLC45A2* is associated with albinism in several small long haired dog breeds // *J. Heredity*. 2015. V. 106. № 3. P. 285–288. <https://doi.org/10.1093/jhered/esv008>

Genomic Analysis of Fur Color of Sable (*Martes zibellina* L.), Search for Mutations that Determine the Absence of Pigmentation – Albino

P. A. Filimonov¹, A. D. Manakhov^{1, 2, 3}, M. I. Mitina², A. A. Onokhov¹,
I. E. Chernova⁴, L. V. Maksimova⁴, S. N. Kashtanov^{1, *}, E. I. Rogaev^{2, 3, 5}

¹Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

²Center for Genetics and Life Science, Sirius University of Science and Technology, Sochi, 354340 Russia

³Center for Genetics and Genetic Technologies, Faculty of Biology,

Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119192 Russia

⁴АО «Russian Sable» Moscow oblast, Pregion, pos. Zverosovkhoz, 141214 Russia

⁵Department of Psychiatry, University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA 01604, USA

*e-mail: snkashtanov@mail.ru

In the domesticated sable population, after almost 100 years of selection, individuals with colored fur began to be recorded, so, in the offspring of a pair of sables with black fur, a pastel-colored puppy was born. A single-nucleotide insertion was identified in the *TYRP1* gene, which determines this sable fur color; the type of inheritance is recessive. In 2022, in this population, representatives of two sable lines gave birth to puppies with white fur at the same time. In most mammalian species, albinism is caused by mutations in the *TYR* gene, which encodes the enzyme tyrosinase. In the present study, the sable *TYR* gene was investigated as a functional candidate gene for albinism. Analysis of the nucleotide sequences coding for the *TYR* gene region and splicing sites did not reveal differences in white sables from standard-colored sables, suggesting that the phenotype under study is due to genetic variants in other genes.

Keywords: *Martes zibellina*, sable, tyrosinase, candidate gene, TYR gene, the splicing site.