

## ИССЛЕДОВАНИЕ t-ГАПЛОТИПОВ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ДОМОВОЙ МЫШИ

СООБЩЕНИЕ I. ВЫЯВЛЕНИЕ t-ГАПЛОТИПОВ В ПОПУЛЯЦИЯХ  
MUS MUSCULUS L. ТАДЖИКИСТАНА

Ю. С. ДЕМНИ, В. И. КРЮКОВ, В. И. ОРЛОВ

*Институт эволюционной морфологии и экологии животных  
имени А. Н. Северцова АН СССР, Москва*

Проведено тестирование домашних мышей (*Mus musculus* L.), отловленных в двух локальностях Таджикистана, на гетерозиготное носительство рецессивных мутаций в локусе T. В обеих выборках найдены животные — гетерозиготные носители рецессивных гаплотипов локуса T. Частоты их — 0,1 и 0,3. Найденные мутации входят в группу с высоким ( $s_{ix} > 50\%$ ) отношением передачи от гетерозиготных самцов. Полученные факты позволяют также предположить, что в генофонде естественных популяций *M. musculus* представлены модификаторы фенотипического проявления гена T у гетерозигот T/+.

Изучение наследственного полиморфизма у млекопитающих связано с рядом аспектов эволюционного процесса, в том числе желанием понять, во-первых, закономерности, определяющие и поддерживающие этот полиморфизм, и, во-вторых, особенности внутривидовых генетических процессов в связи со структурой вида. Оба эти аспекта исследования полиморфизма связаны также с проблемой охраны генофонда диких животных.

У домашней мыши *M. musculus* L. известна локализованная в проксимальном околоцентромерном районе 17-й хромосомы (IX группа сцепления) высокополиморфная система — локус T (*Brachyury*), — в которой насчитывают ~100 спонтанных и индуцированных рецессивных мутаций («t-гаплотипов») [1—3]. Наряду с высокой степенью полиморфизма, который не уступает в этом отношении наследственной изменчивости белковых систем и близок к таковой системе главного локуса тканевой совместимости (H-2), локус T имеет особенности, делающие его удобной моделью для исследований в области эволюционной генетики млекопитающих.

t-Гаплотипы широко распространены в популяциях *M. musculus*. Локус T — единственная известная пока что у млекопитающих система, популяционные частоты генов которой наряду с другими факторами определяются также гаметическим отбором [4, 5]. Многие из рецессивных мутаций в локусе T — эмбриональные летали, причем нарушения онтогенеза специфичны для каждого из летальных t-гаплотипов [6]. Локус T сцеплен с локусом H-2, с которым, как полагают, он образует суперген и, будучи связан с гаметическим отбором, может, по-видимому, влиять на популяционный полиморфизм и частоты гаплотипов главного локуса тканевой совместимости [7, 8]. Локус T интересен также тем, что он позволяет успешно сочетать популяционно-генетический анализ с лабораторным генетическим и онтогенетическим анализом [9]. При наличии доминантного гена — тестера T в лабораторных условиях можно определять частоты t-

гаплотипов в выборках из природных популяций, а также проводить более детальное тестирование выделенных мутаций [3].

Полиморфизм по T-локусу установлен в популяциях разных подвидов *M. musculus* Австралии, Канады, США, Франции, Дании, ГДР, Японии. В Таиланде t-гаплотипы не обнаружены, что может быть связано с недостаточным объемом исследованной выборки [4, 10]. В СССР тестирование t-гаплотипов в естественных популяциях до сих пор не производилось, хотя имеются сведения о присутствии их в одной локальности в Западной Сибири [10].

Очевидна, таким образом, перспективность использования локуса T в популяционно-генетических и онтогенетических исследованиях у *M. musculus*. Кроме того, эта система является удобной моделью для изучения роли гаметического отбора в эволюционных процессах в популяциях [4, 11]. И наконец, по классификации Худа с соавторами [12], locus T входит в группу информационных мультигенных семейств — единицу эволюции и функции, которая является, вероятно, характерной ступенью организации генома у высших эукариот. Поэтому изучение его генетики и фенотипики имеет общепрограммный интерес. Учитывая эти соображения, мы начали популяционно-генетическое изучение вида *M. musculus*. В данной работе сообщается о тестировании и выявлении t-гаплотипов в природных популяциях домашних мышей Таджикистана.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Животные пойманы в двух локальностях Таджикистана, расстояние между которыми ~150 км: заповедник «Тигровая балка» — мыши отловлены в тугайных зарослях поймы р. Вахш на высоте ~400 м над уровнем моря; заказник «Каратау» — мыши отловлены в горных фисташковых лесах (редколесье) на высоте ~2000 м. Обе выборки взяты в апреле — мае 1978 г.

Методика выявления животных — гетерозиготных носителей t-гаплотипов (+/t<sup>x</sup>) — была основана на факте, что компаунды по гену-тестеру *Wachungu* и рецессивному t-гаплотипу (T/t) имеют характерную бесхвостость, которая четко тестируется сразу же после рождения (см. рисунок). Были использованы компаунды T/t<sup>6</sup> и T/t<sup>12</sup> из коллекции t-аллельных мышей ИЭМЭЖ им. А. Н. Северцова. Фенотипически нормальных животных, отловленных в естественных популяциях, скрещивали с животными какой-либо из этих линий-тестеров. Появление в потомстве бесхвостых T/t<sup>x</sup>-мышат указывает на то, что «дикий» родитель несет рецессивный t<sup>x</sup>-гаплотип:

$$T/t^x \times +/t^x \rightarrow T/+ : T/t^x : +/t^x : t^6/t^x$$

(t-гаплотипы из природных популяций в настоящей работе будут обозначаться t<sup>x</sup>, чтобы не смешивать их с другими мутациями, свойства которых уже установлены [6]). Генотип T/t хорошо дифференцируется от других классов потомков, характеристики которых имеются в обзорах Беннета [6] и Демина и Сафроновой [13]. Генотип животных T/t<sup>x</sup> проверяли также анализом по потомству.

Из «Тигровой балки» на скрещивание были поставлены 88 животных — 60 ♀♀ и 28 ♂♂, потомство получено от 12 ♀♀ и 25 ♂♂, всего 92 помета. Из «Каратау» на скрещивании были 20 животных — 14 ♀♀ и 6 ♂♂. Потомство получено от 4 ♀♀ и 4 ♂♂, всего 25 пометов. «Процент успеха», рассчитанный как частота животных, давших потомство, от общего количества введенных в скрещивание, оказался близким в обеих выборках — 42 и 40% соответственно.



Фенотипы мышей — носителей мутаций в локусе  $T$ :  
 $a$  — бесхвостость — компаунды  $T/t$ ;  $б$  — укороченный или измененный хвост — гетерозигота  $T/+$ ;  $в$  — нормальный хвост — гомозигота  $+/+$  или гетерозиготный носитель  $+/t$

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Результаты генетического анализа животных из природных популяций представлены в табл. 1—3. Материалы скрещиваний, на основании которых дикие самцы и самки отнесены к гомозиготной группе  $+/+$ , даны в табл. 1 и 2. В выборке из «Каратау» найдены 3 таких самца и 1 самка, в выборке из «Тигровой балки» — 20 самцов и 12 самок. Плодовитость в скрещиваниях колебалась в пределах 5,8—7,8 детенышей на помет, в среднем 6,8, что соответствует нормальной плодовитости многих линий. Характерно, что в потомстве от скрещивания диких  $(+/+)$  самцов с компаундными  $T/t^6$ - или  $T/t^{12}$ -самками (см. табл. 1) соотношение фенотипов  $T/+$  и  $+/t$  в потомстве статистически значимо отличалось от расщепления 1:1, которое ожидается для данного типа скрещиваний на основании наших наблюдений и данных других авторов [14—17].

В табл. 2 и 3 представлены материалы скрещиваний, на основании которых дикие самцы и самки отнесены к группе гетерозиготных носителей  $(+/t^x)$ . В выборке из «Каратау» найдены 3 самки  $+/t^x$  и 1 самец, в выборке из «Тигровой балки» — 5 самцов  $+/t^x$ , самок этого генотипа мы не обнаружили. Плодовитость составила в среднем 6,6 детенышей в помете (см. табл. 2, 3), т. е. оказалась сходной с плодовитостью, полученной при тестировании диких  $+/+$ -животных.

Для гетерозиготных диких самцов  $+/t^x$  был рассчитан коэффициент передачи  $s_t^x$  как доля  $T/t^x$  мышей от принятого за единицу общего их количества в двух альтернативных классах —  $T/+$  и  $T/t^x$  (в случае менделевской передачи  $s_t^x=0,5$ ) [16]. Для самцов из «Тигровой балки»  $s_t^x=0,8$ , отличия от расщепления (1:1) статистически значимы ( $\chi^2=10$ ). Для животных из «Каратау»  $st^x=0,6$ , отклонения от менделевского расщепления недостоверны; невысокий  $s_t$  и отсутствие статистически значимых отличий от менделевского расщепления определяются, очевидно, малым количеством тестируемых животных.

Частоты  $t$ -гаплотипов в обследованных популяциях, рассчитанные по формуле Харди — Вайнберга для малых выборок [18], приведены в табл. 4. При вычислении генных частот вводилась поправка на  $s_t^x$ , т. е. на менде-

Таблица 1

Результаты скрещиваний самцов ++ из природных популяций с самками T/t из лабораторной колонии

Место отлова	Генотип ♀♀	Испытано ♂♂	Число пометов	Соотношение фенотипов в потомстве (T/+ : +/t)	Средняя плодовитость	χ <sup>2</sup> с соотношением 1:1
«Каратау»	T/t <sup>6</sup>	1	1	4:4	7,8	8,2
	T/t <sup>12</sup>	2	11	26:80		
	Σ	3	12	30:64		
«Тигровая балка»	T/t <sup>6</sup>	6	14	27:50	6,3	9,0
	T/t <sup>12</sup>	14	40	114:148		
	Σ	20	54	141:198		

Таблица 2

Результаты скрещиваний самок из природных популяций с самцами T/t из лабораторной колонии

Место отлова	Генотип * ♀♀	Испытано ♀♀	Генотип ♂♂	Число пометов	Фенотип потомства	Плодовитость
«Каратау»	+/+	1	T/t <sup>12</sup>	1	(T/+:6+/+	7,0
	+/t <sup>x</sup>	3		3	8T/t <sup>x</sup> : 1T/+: ** 11+/+	6,6
«Тигровая балка»	+/+	12	T/t <sup>12</sup>	12	2T/+:66+/+	5,8

\* Генотип самок установлен на основании анализа, результаты которого приведены в данной таблице.

\*\* В этом типе скрещиваний нормальный фенотип (+/+) могут иметь также неотличимые внешне животные +/t<sup>12</sup> и, при комплементации, t<sup>6</sup>/t<sup>12</sup> [4, 6, 9].

Таблица 3

Результаты скрещиваний самцов +/t<sup>x</sup> из природных популяций с самками T/t из лабораторной колонии \*

Место отлова	Генотип ♀♀	Номер ♂♂	Число пометов	Соотношение фенотипов в потомстве T/t : T/+ : +/+ **	Плодовитость
«Каратау»	T/t <sup>12</sup>	41	6	12:6:20	6,2
	T/t <sup>6</sup>	41	3	10:9:0	
	Σ	1	9	22:14:20	
«Тигровая балка»	T/t <sup>12</sup>	28	7	24:1:30	6,7
		29	4	20:1:4	
		31	3	7:2:8	
	T/t <sup>6</sup>	45	4	13:6:1	
		47	2	2:6:9	
Σ	5	20	66:16:52		

\* Генотип +/t<sup>x</sup> установлен на основании анализа, результаты которого приведены в данной таблице.

\*\* См. сноску 2 к табл. 2.

Частота генов, эмпирические и расчетные численности генотипов в обследованных локальностях

Выборка	n	Частота гена *		Численность генотипа **			$\chi^2$
		+ (p)	t <sup>x</sup> (q)	+/+	+/t <sup>x</sup>	t <sup>x</sup> /t <sup>x</sup>	
«Тигровая балка»	37	0,9	0,1	32/30,3	5/6,4	0/0,3	0,5
«Каратау»	8	0,7	0,3	4/4,1	4/3,4	0/0,5	0,6

\* Расчет частоты генов проведен с поправкой на s<sub>t</sub><sup>x</sup>, которые для «Тигровой балки» и «Каратау» дали величины 0,65 и 0,55 соответственно.

\*\* Числитель — эмпирические данные, знаменатель — расчетные.

левскую передачу t<sup>x</sup>-гаплотипов от самцов. Поправку рассчитывали как среднее между s<sub>t</sub><sup>x</sup> самцов (0,8 или 0,6) и самок (0,5). Для «Тигровой балки» поправочная величина s<sub>t</sub><sup>x</sup>=0,65, для «Каратау» — s<sub>t</sub><sup>x</sup>=0,55. Полученные на основании рассчитанных таким путем генных частот ожидаемые численности фенотипических классов дали хорошее совпадение с эмпирическими численностями (см. табл. 4).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный анализ показал, что в естественных популяциях домашних мышей Таджикистана с высокой частотой встречаются животные — гетерозиготные носители рецессивных мутаций локуса T. Совпадение эмпирических частот с расчетными, ожидаемыми по формуле Харди — Вайнберга (см. табл. 4), показывает, что в обоих случаях обследованные популяции являются панмиксными и находятся в равновесии. По насыщенности t<sup>x</sup>-гаплотипами эти локальности различаются, их частоты — 0,1 и 0,3 для «Тигровой балки» и «Каратау» соответственно. Встречаемость t<sup>x</sup>-гаплотипов в популяциях Таджикистана соответствует частотам, полученным Дэном [4] для североамериканских популяций *M. musculus*; по его данным, средняя частота встречаемости t-гаплотипов ~0,17, максимальная частота достигает 0,3—0,4. Необходимо, однако, отметить, что в нашей работе от всех самок (см. табл. 2), от 1 самца из «Каратау» и 4 самцов из «Тигровой балки» получено по одному помету. Поэтому фактическая частота встречаемости t<sup>x</sup>-гаплотипов может быть несколько выше по причине того, что гетерозиготное носительство не всегда выявляется в первом скрещивании.

В связи с распространением в популяциях t<sup>x</sup>-гаплотипов, которые в естественных сообществах являются, как правило, эмбриональными летальными или сублетальными, встает вопрос об эволюционных механизмах, поддерживающих высокую популяционную частоту этих мутаций. Вероятно, что такой эволюционной силой является гаметический отбор: все выделенные до сих пор из естественных популяций t-гаплотипы, в том числе и найденные в настоящей работе, принадлежат к группе с высокой (>50%) частотой передачи (high ratio) от гетерозиготных самцов-носителей. Балансированное равновесие по t-летальям в популяциях *M. musculus* поддерживается, как полагают, элиминацией летальных t-гомозигот, с одной стороны, и гаметическим отбором в пользу этих же гаплотипов у гетерозигот — с другой [4, 19]. Но до сих пор не удается математически окончательно описать популяционные процессы, связанные с t-гаплотипами. Одна из возможных причин этого — недоучет факта, что в популяциях, где оперирует

гаметический отбор, накапливаются, по-видимому, гены-модификаторы, уменьшающие его интенсивность. Поэтому частоты  $s_i$ , получаемые при лабораторном тестировании и постулируемые при построении моделей, обязательно будут соответствовать реальным популяционным  $s_i$  [13, 20, 21].

Специального объяснения заслуживают материалы табл. 1, где показана статистически значимая менделевская передача T- и t-мутаций от самок в скрещиваниях с дикими самцами +/+ : общепринято, что самки-компаунды T/t в скрещиваниях такого типа передают мутации потомству в соотношении 1 : 1 [14]. В этой связи мы хотим обратиться к экспериментальным материалам Виттмана и Хамбурга [22], где показано, что пенетрантность гена T может быть не 100% и зависеть от линии, в которую он введён. Сведения получены авторами только для линии DBA-2, и, вполне вероятно, генетический фон других лабораторных линий не оказывает такого эффекта. Нельзя, однако, исключить, что в природных популяциях модификаторы фенотипического проявления гена T представлены богаче, чем в лабораторных коллекциях. Если наше предположение справедливо, то отклонение от расщепления 1 : 1, полученное в представленных в табл. 1 скрещиваниях, есть результат неполной пенетрантности мутации T в потомстве F<sub>1</sub> диких самцов.

Поступила в редакцию 6 июля 1979 г.

#### Литература

1. L. C. Dunn. Variations in the transmission ratios of alleles through egg and sperm in *Mus musculus*. Amer. Naturalist, v. 94, 385, 1960.
2. S. Gluecksohn-Waelsch, R. P. Erickson. The T-locus of the mouse: implications for mechanisms of development. Current Topics Devel. Biol., v. 5, 281, 1970.
3. D. Bennett, L. C. Dunn, K. Artzt. Genetic change in mutation at the T/t-locus in the mouse. Genetics, v. 83, № 2, 361, 1976.
4. Л. Дэнн. Отбор на уровне гамет как эволюционная сила: сохранение полиморфизма по деталям в диких популяциях *Mus musculus*. В сб. Проблемы экспериментальной биологии. М., «Наука», 1977, с. 39.
5. Ю. С. Демин. Генетика локуса T и презиготический отбор у домашней мыши *Mus musculus* L. Цитология и генетика, т. 14, № 2, 101, 1980.
6. D. Bennett. The T-locus of the mouse. Cell, v. 6, 441, 1975.
7. G. H. Snell. The H-2 locus of the mouse: observations and speculations concerning its comparative genetics and its polymorphism. Folia Biol. (Praha), v. 14, № 5, 335, 1968.
8. C. Hammerberg, J. Klein, K. Artzt, D. Bennett. Histocompatibility-2 system in wild mice. II. H-2 haplotypes of t-bearing mice. Transplantation, v. 21, № 3, 199, 1976.
9. L. C. Dunn, D. Bennett. Abnormalities associated with a chromosome region in the mouse. II. Embryological effects of lethal alleles in the t-region. Science, v. 144, № 3616, 263, 1964.
10. L. C. Dunn, D. Bennett, J. Cookingham. Polymorphisms for lethal alleles in European populations of *Mus musculus*. J. Mammal., v. 54, № 4, 822, 1973.
11. Ю. С. Демин, Л. Д. Сафронова. Эффект женского генотипа на менделевское расщепление в потомстве самцов — носителей t-гаплотипов у домашней мыши (*Mus musculus* L.). Докл. АН СССР, т. 243, № 5, 1306, 1978.
12. L. Hood, J. H. Campbell, S. C. R. Elgin. The organization, expression and evolution of antibody genes and other multigene families. Annual. Rev. Genet., v. 9, 303, 1975.
13. Ю. С. Демин, Л. Д. Сафронова. Генетика локуса T домашней мыши. Успехи соврем. генет. М., «Наука», 1980.
14. A. W. H. Braden. Genetic influences on the morphology and function of the gametes. J. Cellular and Compar. Physiol., v. 56, № 1, 17, 1960.
15. A. W. H. Braden. T-locus in mice: segregation distortion and sterility in the male. In: The genetics of the spermatozoon. Proc. Internat. Simpos. Eds R. A. Beatty and S. Gluecksohn-Waelsch. N. Y., Edinburgh, 1972, p. 289.
16. Ю. С. Демин, Л. Д. Сафронова, М. И. Васкевич. Анализ отклонения от менделевского расщепления (явление segregation distortion) на примере t-аллелей у мышей. Генетика, т. 11, № 11, 59, 1975.

17. Ю. С. Демин, Л. Д. Сафронова. Отклонение от менделевского наследования (1 : 1) у мышей как результат действия в гаметогенезе аллелей локуса T. *Генетика*, т. 12, № 7, 64, 1976.
18. Ч. Ли. Введение в популяционную генетику. М., «Мир», 1978.
19. R. C. Levontin, L. C. Dunn. The evolutionary dynamics of a polymorphism in the mouse. *Genetics*, v. 45, № 5, 705, 1960.
20. П. Эрлих, Р. Холм. Процесс эволюции. М., «Мир», 1960.
21. Ю. С. Демин, Л. Д. Сафронова, Ю. А. Лапкин. Модифицирующее влияние генотипа самок на частоту передачи t-гаплотипов от самцов-компаньонов T/t<sup>6</sup> у мышей. *Цитология и генетика*, т. 12, № 1, 37, 1978.
22. K. S. Wittman, M. Hamburgh. The development and effect of genetic background on expressivity and penetrance of brachyury mutation in the mouse: a study in developmental genetics. *J. Exptl Zool.*, v. 168, 137, 1968.

---

## STUDY OF t-HAPLOTYPES OF NATURAL MOUSE POPULATIONS (MUS MUSCULUS L.)

### I. THE DISCOVERY OF t-HAPLOTYPES FROM THE POPULATIONS MUS MUSCULUS OF TADJIKISTAN

Yu. S. DEMIN, V. I. KRYUKOV, V. N. ORLOV

*A. N. Severtzov Institute of Evolutionary Morphology and Ecology of Animals,  
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

#### Summary

Mice are caught from two regions of Tadjikistan. The analysis of recessive t-haplotypes was carried out. The t-haplotypes are found in both regions. Their rates are 0.1 and 0.3. It is supposed also that there are the genes-modificators of the phenotypical effect of the T-gene in natural populations of *Mus musculus*.

---