

КОНКОРДАНТНОСТЬ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ НЕСАХАРНОГО ДИАБЕТА И ВЫЖИВАЕМОСТИ ЕДИНОУТРОБНЫХ ПОТОМКОВ У ГИБРИДОВ КРЫС ЛИНИЙ *Brattleboro* И *WAG*

© 2021 г. И. И. Херай*

Федеральный исследовательский центр, Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090 Россия

*e-mail: khegay@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 29.12.2020 г.

После доработки 09.02.2021 г.

Принята к публикации 11.02.2021 г.

У крыс линии *Brattleboro* зафиксирована мутация *di* (*diabetes insipidus*), детерминирующая развитие несахарного диабета с высоким уровнем потребления воды. Нами исследован эффект переноса мутантного гена *di* в линию *WAG* под действие гена *c* (*альбино*). Гены *di* и *альбино* локализованы в различных хромосомах и наследуются как рецессивные аллели. Исходную родительскую пару составили самки линии *WAG* генотипа $c di^+/c di^+$ и самцы линии *Brattleboro* генотипа $C di/C di$. В F_2 дигибридного скрещивания выщепились четыре фенотипических класса. Исследование у самок F_2 индивидуального потребления воды и размеров помётов крысят к моменту отъятия от грудного вскармливания выявило высокий уровень конкордантности с коэффициентом корреляции 0.996.

Ключевые слова: вазопрессин, несахарный диабет, потребление воды, *не-агути*, *альбино*, размер помёта.

DOI: 10.31857/S0016675821110047

Крысы линии *Brattleboro* являются носителями точечной делеции в гене вазопрессина. Мутация блокирует трансляцию белкового препрогормона вследствие исчезновения в нуклеотидной последовательности стоп-кодона [1]. Физиологически мутация проявляется в форме гипоталамического несахарного диабета с высоким уровнем потребления воды. Данный признак хорошо воспроизводится и используется для идентификации мутантного генотипа [2]. Мутантный ген вазопрессина наследуется как рецессивный аллель и обозначается символом *di* (*diabetes insipidus*). Крысы *Brattleboro* представляют единственную экспериментальную линию крыс, моделирующую наследственный несахарный диабет. В литературе подробно описаны особенности водно-электролитного обмена у крыс *Brattleboro* [3, 4]. В то же время, вопрос об экспрессии мутантного гена вазопрессина в ином генетическом окружении в значительной степени остается открытым. Нами было предпринято и осуществлено селекционно-генетическое исследование по переносу и закреплению мутации на генетический фон крыс линии *WAG* (*Wistar Albino Glaxo*).

Исходные крысы линии *Brattleboro* характеризуются черным окрасом шерсти, обусловленным действием гена *не-агути*. У крыс линии *WAG* дей-

ствие гена *не-агути* маскируется мутантным геном *альбино*. Крысы линии *WAG* имеют белый окрас и одновременно являются носителями нормальных аллелей гена вазопрессина. Ген *альбино*, как и мутантный ген *di*, наследуется в скрещиваниях как рецессивный аллель. Нами было выполнено классическое дигибридное скрещивание относительно пары локусов *di* и *альбино*. Локус *альбино* зафиксирован в 1-ой хромосоме крысы [5]. Действие мутации связано с нарушением работы гена тирозиназы [6]. Нормальная форма гена тирозиназы доминирует и обозначается в геноме крыс большой литерой *C*, соответственно, мутантный аллель обозначают как *c* малое. Ген *di* нами локализован в хромосоме 3 [7]. Нормальный аллель гена вазопрессина принято обозначать символом di^+ [8].

Родительские пары были составлены из самок линии *WAG* генотипа $c di^+/c di^+$ и самцов линии *Brattleboro* генотипа $C di/C di$. На протяжении всего эксперимента у крыс измеряли индивидуальный уровень потребления воды. Все особи F_1 имели единообразный гетерозиготный генотип $c di^+/C di$ и фенотип *не-агути* с уровнем потребления воды, характерным для носителей нормально-го гена вазопрессина. В поколении F_2 произошло ожидаемое расщепление по двум парам признаков — *не-агути/альбино* и *диабет/норма*. В случае диабета

Таблица 1. Расщепление потомков F₂ по фенотипическим классам

Фенотип	<i>не-агути/норма</i>	<i>не-агути/диабет</i>	<i>альбино/норма</i>	<i>альбино/диабет</i>
Теоретическое расщепление	74.25	24.75	24.75	8.25
Опытное расщепление	76	23	26	7
χ^2	0.41		$p > 0.05$	

суточное потребление воды превышало 30% от веса тела, норма характеризовалась на порядок более низким уровнем потребления воды. Всего было получено 132 гибридных особи, из них 30 крыс с диабетом и 33 крысы с фенотипом *альбино*. Распределение гибридов по фенотипическим классам и сравнение с теоретически ожидаемым представлено в табл. 1, $\chi^2 = 0.416$ и соответствует условиям недостоверности различий между теоретическим и опытным распределением. В дальнейших скрещиваниях участвовали самки всех выщепившихся фенотипов и самцы исключительно гомозиготного генотипа *di/di* с целью закрепления мутантного генотипа. В результате, в следующем поколении было получено и исследовано 35 пометов у самок фенотипа *не-агути/норма*, 13 пометов у самок *не-агути/диабет*, 14 пометов у самок *альбино/норма* и пять пометов у самок *альбино/диабет*, выборка общей численностью 438 крысят. В данном исследовании у крыс различного фенотипа сравнивались размеры пометов на

момент отъятия крысят от вскармливания молоком в возрасте одного месяца. Количественные данные по среднесуточному потреблению воды и средним размерам пометов представлены на рис. 1. В дополнение к ожидаемым достоверным различиям между диабетом и нормой по потреблению воды у самок обнаружены такие же достоверные различия по размерам пометов. Если самки с нормальным уровнем потребления воды вскармливали в среднем восемь крысят, то у самок с несладким диабетом этот показатель равен трем. Коэффициент корреляции между количеством потребляемой воды и количеством крысят в потомстве составляет 0.996.

Таким образом, существует высокий уровень конкордантности между признаками несладкого диабета и наличием ограниченного количества потомков у крыс. При сравнении крыс *альбино* и нормально окрашенных крыс такой конкордантности не обнаружено. Результат можно интерпретировать как пониженную жизнеспособность

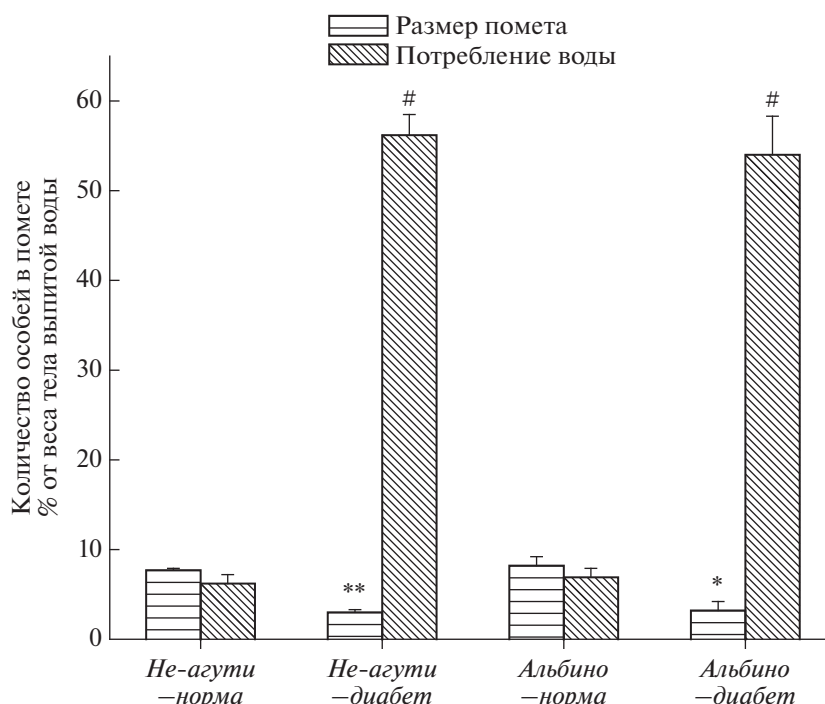


Рис. 1. Размер пометов на момент прекращения вскармливания молоком и среднесуточное потребление воды у различных фенотипических классов самок. Достоверность отличия от фенотипического класса *не-агути-норма*: по размеру помета: * – $p < 0.01$, ** – $p < 0.001$; по уровню потребления воды: # – $p < 0.001$.

крыс генотипа *di/di*, с высокой вероятностью, сохраняющейся при переносе мутантного гена под действие гена *альбино*. Физиологический механизм снижения фертильности не совсем очевиден. Возможно это является следствием гомологии вазопрессина и окситоцина, способных оказывать взаимные регуляторные эффекты на пролактин и уровень лактации [9, 10].

Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта ФИЦ ИЦиГ СО РАН № 0259-2021-0014.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schmale H., Richter D. Single base deletion in the vasopressin gene is the cause of *diabetes insipidus* in *Brattleboro* rats // *Nature*. 1984. V. 308. № 5961. P. 705–709. <https://doi.org/10.1038/308705a0>
2. Хегай И.И. Фенотипическое проявление мутантного гена *diabetes insipidus* у крыс и критерии генотипирования по фенотипу // *Генетика*. 2003. Т. 39. № 1. С. 70–74.
3. Хегай И.И. Взаимодействие аллелей локуса *diabetes insipidus* и гена почечного белка 120 кДа в онтогенезе крысы // *Генетика*. 2003. Т. 39. № 3. С. 397–401.
4. Katkova L.E., Baturina G.S., Solenov E.I., Ivanova L.N. Regulation of V2 receptor by vasopressin is different in *Brattleboro* rats compared with *Wistar* // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2015. V. 463. P. 247–250. <https://doi.org/10.1134/S1607672915040158>
5. Yamada J., Kuramoto T., Serikawa T. A rat genetic linkage map and comparative maps for mouse or human homologous rat genes // *Mammalian Genome*. 1994. V. 5. № 2. P. 63–83.
6. Kuramoto T., Nakanishi S., Ochiai M. et al. Origins of albino and hooded rats: Implications from molecular genetic analysis across modern laboratory rat strains // *PLoS One*. 2012. V. 7. № 8. P. e43059. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043059>
7. Kheday I.I., Localization of the vasopressin gene to rat chromosome 3 // *Mammalian Genome*. 1996. V. 7. № 11. P. 867. <https://doi.org/10.1007/s003359900300>
8. Valtin H., North W.G., Edwards B.R., Gellai M. Animal models of diabetes insipidus // *Front. Horm. Res.* 1985. V. 13. P. 105–126.
9. Uvnäs Moberg K., Prime D.K. Oxytocin effects in mothers and infants during breastfeeding // *Infant*. 2013. V. 9. № 6. P. 201–206.
10. Erickson E.N., Sue Carter C., Emeis C.L. Oxytocin, vasopressin and prolactin in new breastfeeding mothers: Relationship to clinical characteristics and infant weight loss // *J. Hum. Lact.* 2020. V. 36. № 1. P. 136–145. <https://doi.org/10.1177/0890334419838225>

Concordance of Quantitative Traits of Diabetes Insipidus and Litters Survival in Hybrids of *Brattleboro* and *WAG* Rat Lines

I. I. Kheday*

Federal Research Center, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

*e-mail: kheday@bionet.nsc.ru

Mutation *di* determining diabetes insipidus with high level of water consumption is fixed in *Brattleboro* line of rats. We studied effect of mutant *di* gene replacement into *WAG* line of rats under gene *c* (*albino*) action. Gene *di* and *albino* inherited as recessive alleles. Alternative dominant alleles *di*⁺ and *C* represent normal copies of genes. Original parent pairs were composed by females of *WAG* line with *c di*⁺/*c di*⁺ genotype and males of *Brattleboro* line with *C di*/*C di* genotype. The F₂ generation splitted into four phenotypic classes. Investigation of individual water consumption and litter sizes of F₂ females at the moment of litter weaning revealed high level of concordance with coefficient correlation – 0.996.

Keywords: vasopressin, *diabetes insipidus*, water consumption, *non-agouti*, *albino*, litter size.