

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ЛОКУСА ГЕНА *MAOA* У АГРЕССИВНЫХ ЖИВОТНЫХ НЕКАНОНИЧЕСКОЙ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ МОДЕЛИ *Neogale vison*¹

© 2023 г. А. Д. Манахов^{1, 2, 3, *}, Н. А. Дудко^{1, 3}, Ф. Е. Гусев^{1, 3},
Т. В. Андреева^{1, 2, 3}, О. В. Трапезов^{4, 5}, Е. И. Рогаев^{3, 6, **}

¹Центр генетики и наук о жизни, “Научно-технологический университет “Сириус”,
Краснодарский край, пгт. Сириус, 354340 Россия

²Центр генетики и генетических технологий, Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова, Москва, 119234 Россия

³Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

⁴Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090 Россия

⁵Новосибирский государственный университет, Новосибирск, 630039 Россия

⁶Медицинская школа Чан Массачусетского университета, департамент психиатрии, Шрусбери, 01545 США
*e-mail: manakhov@rogaevlab.ru

**e-mail: rogaev@vigg.ru

Поступила в редакцию 09.12.2022 г.

После доработки 26.12.2022 г.

Принята к публикации 19.01.2023 г.

Роль гена *MAOA* в процессах регуляции агрессивного поведения у человека и животных широко известна. В рамках данного исследования мы впервые провели анализ генетической вариабельности гена *MAOA* и его промоторной области у представителей неканонической поведенческой модели — американской норки (*Neogale vison*). Проведенный анализ не выявил значимых генетических изменений животных из линии, характеризующейся агрессивным поведением, что позволяет предположить наличие генетических и/или эпигенетических вариаций в других системах, связанных с регуляцией агрессии, у данной модели.

Ключевые слова: американская норка, *Neogale vison*, агрессивное поведение, *MAOA*.

DOI: 10.31857/S0016675823060097, **EDN:** SSRBNW

Ген *MAOA* — один из важнейших и наиболее изученных генов, вовлеченных в процессы, лежащие в основе агрессивного поведения у человека и животных, за что в литературе данный ген часто называют “геном война” или “геном убийцы”. Данный ген кодирует фермент моноаминоксидазу А — белок, который связывается с мембранами митохондрий и катализирует окислительное дезаминирование моноаминовых нейротрансмиттеров, в том числе серотонина, норадреналина и дофамина, выполняющих важнейшую роль в регуляции эмоционального и социального поведения [1]. Преимущественно моноаминоксидаза А обнаруживается в катехоламинергических нейронах головного мозга [2].

Впервые участие гена *MAOA* в регуляции агрессивного и антисоциального поведения у человека было показано при исследовании родословной крупной голландской семьи, мужчины из которой имели склонность к насилию и вспышками агрессии, которые проявлялись в попытках убийств, изнасилования и поджогах (синдром Бруннера). У представителей этой родословной была выявлена нонсенс-замена в гене *MAOA* (с.886 C>T, p.Gln296*), а пациенты с мутацией характеризовались значительным снижением уровня метаболитов серотонина и катехоламинов [3, 4]. Проведенное нокаутирование гена *MAOA* у мышей приводит к схожим поведенческим и биохимическим изменениям [5]. Более поздние исследования выявили и другие мутации в гене *MAOA* у человека (например, p.Arg45Trp и p.Cys266Phe), которые также приводят к снижению активности фермента, нарушению когнитивного развития и поведенческим изменениям, характерным для рас-

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0016675823060097 для авторизованных пользователей.

Таблица 1. Описание образцов и результатов секвенирования геномов американской норки

№	Образец	Коэффициент поведения	Окраска	% картирования	% дубликатов	Глубина покрытия	Ссылка
Агрессивные							
1	mink_0-541	–2	с.т.к.	98.62	13.73	19.50	Данная работа
2	mink_0-543	–2	То же	97.17	30.58	13.28	То же
3	mink_3-453	–2	«	99.25	2.56	8.40	«
4	mink_3-473	–2	«	98.50	2.37	8.12	«
5	mink_0-529	–2	«	97.77	15.09	7.66	«
6	mink_3-193	–2	«	99.45	2.42	6.43	«
7	mink_1-371	–3	«	98.21	40.77	6.34	«
8	mink_3-457	–2	«	98.72	2.96	5.96	«
9	mink_3-191	–2	«	99.45	2.72	5.91	«
10	mink_8-67	–2	«	98.98	2.76	5.60	«
11	mink_3-227	–2	«	99.16	13.15	5.36	«
Неселектированные							
12	mink_7-317	Нет данных	<i>a/a m/m p/p</i>	99.60	7.40	37.21	[14]
13	mink_4-523	«	<i>Sh/+ p/p</i>	99.70	8.87	21.52	[15]
14	mink_3-261	«	с.т.к.	99.06	3.14	8.14	[13]
15	mink_3-265	«	с.т.к.	99.33	1.53	7.65	«
16	mink_7-331	«	<i>m/m</i>	99.49	0.30	7.30	[14]
17	mink_3-247	«	с.т.к.	99.23	1.85	6.24	[13]
18	mink_0-329	«	<i>p/p</i>	99.22	2.32	4.82	«
19	mink_9-431	«	<i>p/p</i>	99.04	3.48	4.64	«

Примечание. Статистика рассчитана для данных секвенирования, картированных относительно референсного генома американской норки (GCF_020171115.1), с.т.к. — стандартная, темно-коричневая окраска; все приведенные образцы — от особей мужского пола.

стройств аутистического спектра [6, 7], нокаутные мыши по аналогии характеризуются основными нарушениями, наблюдаемыми при расстройствах аутистического спектра [8].

Связь между генетическими вариантами в *MAOA* и агрессивным поведением была выявлена и у других животных. Так, у быков породы Лидийский боевой бык (*toro de lidia*), специально выведенных для участия в испанской корриде и характеризующихся высоким уровнем агрессии, в промоторной области гена *MAOA*, в предлагаемом сайте связывания транскрипционного фактора Sp1, было выявлено снижение экспансии нуклеотида С (g.105,462,494delsinsC) по сравнению с домашними породами крупного рогатого скота [9]. У свиней также была показана ассоциация четырех сцепленных однонуклеотидных полиморфизмов в гене *MAOA*, один из которых локализован в промоторной области, с агрессивным поведением [10].

Изменения в уровнях моноаминовых нейротрансмиттеров в головном мозге были обнаружены и у сформированных в ходе искусственного отбора агрессивных и ручных линий лис (*Vulpes*

vulpes), американской норки (*Neogale vison*) и крыс (*Rattus norvegicus*), полученных в Институте цитологии и генетики РАН (ИЦиГ СО РАН) [11].

В рамках данного исследования мы впервые провели изучение генетической вариативности локуса гена *MAOA* у американской норки с агрессивным поведением. В работе были использованы биологические образцы, полученные от самцов американской норки стандартной темно-коричневой окраски, которые содержались на экспериментальной звероферме ИЦиГ СО РАН и подверглись отбору на агрессивное поведение, все исследуемые особи были охарактеризованы по оборонительной реакции на человека [12].

Для 11 агрессивных норок были получены данные полногеномного секвенирования на платформе Illumina HiSeq 2000/2500, в качестве группы сравнения использовались геномы восьми норок, не подвергавшихся отбору по поведению, полученные нами ранее (табл. 1) [13–15]. Полученные данные геномного секвенирования с помощью программы BWA mem [16] были картированы относительно референсного генома самки американской норки (GCF_020171115.1). Генетические вари-

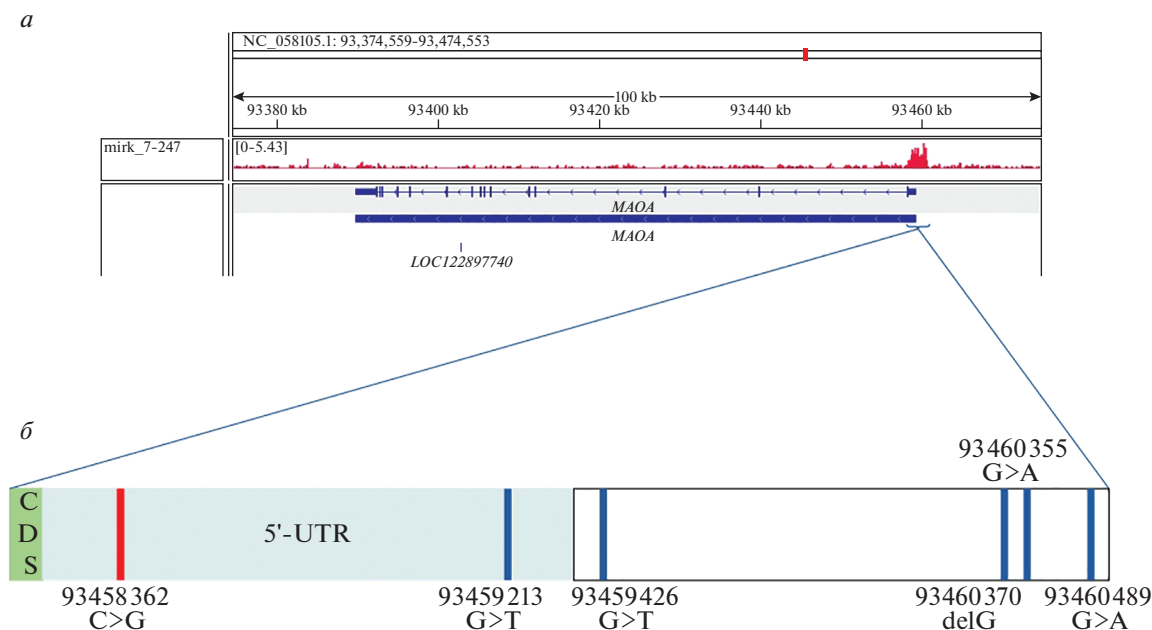


Рис. 1. Генетическая вариабельность промоторной области гена *MAOA*. *a* – профиль секвенирования хроматина, иммунопреципитированного с антителами к H3K4me3, из фронтальной коры головного мозга агрессивной норки; *б* – генетические варианты, обнаруженные в промоторной области гена *MAOA*; красным цветом отмечен вариант, встречающийся только в группе агрессивных норок (частота аллеля, характерного для агрессивных животных – 0.222); синим цветом отмечены варианты, встречающиеся в обеих группах норок.

анты в области гена *MAOA* были выявлены с помощью функции HaploTypeCaller (*-sample-ploidy 1*) из пакета программ GATK v4 [17] и анализировались в программе PLINK [18].

Для одного образца фронтальной коры головного мозга агрессивной норки были получены данные секвенирования хроматина, иммунопреципитированного с антителами к H3K4me3. Полученные данные с помощью программы BWA mem были картированы относительно референсного генома американской норки и нормализованы на общее число прочтений с помощью программы DeepTools [19]. Определение локусов обогащения проводили с помощью программ MACS2 [20] и BEDTools [21].

Ген *MAOA* американской норки, как и у других млекопитающих, локализован на X-хромосоме и, согласно аннотации генома, имеет координаты (NC_058105.1:93,389,771-93,459,335). Основываясь на сравнительном анализе канонической, самой протяженной по белковому продукту, изоформы транскрипта *MAOA* человека (ENST00000338702, Ensembl v105), мы несколько скорректировали координаты кодирующей области первого экзона гена *MAOA* норки (исходные координаты – NC_058105.1:93,458,122-93,459,335; обновленные координаты – NC_058105.1:93,458,122-93,458,194). По результатам секвенирования хроматина, иммунопреципитированного с антителами к H3K4me3 у норки с агрессивным поведением, были опреде-

лены предполагаемые координаты промоторного региона гена *MAOA* – NC_058105.1:93,458,194-93,460,530 (рис. 1а, б).

В общей сложности, по сравнению с референсным геномом, в исследованной выборке норок в области гена *MAOA* и его промоторном регионе было выявлено 277 генетических вариантов, из них ни один не попал в кодирующую область гена, 271 локализованы в интронах и 6 попали в промоторную область (Приложение 1). Анализ ассоциации выявленных вариантов с поведением, проведенный с помощью точного теста Фишера в программе PLINK, не выявил ни одного статистически значимого, с учетом поправки на множественные тестирования, генетического варианта (Приложение 2).

Таким образом, полученные нами результаты демонстрируют отсутствие значимых генетических изменений как в кодирующей, так и в промоторной области гена *MAOA* у американских норок из линии, характеризующейся агрессивным поведением. Это позволяет предположить, что агрессивное поведение у этих животных обусловлено генетическими и/или эпигенетическими вариациями в других системах, связанных с регуляцией агрессии, что делает перспективным дальнейшее изучение данной модели для поиска молекулярно-генетических механизмов формирования агрессивного поведения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 19-75-30039.

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Исследования людей в качестве объекта не проводились.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kolla N.J., Bortolato M. The role of monoamine oxidase A in the neurobiology of aggressive, antisocial, and violent behavior: A tale of mice and men // *Prog. Neurobiol.* 2020. V. 194. P. 101875. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101875>
2. Nelson R.J., Trainor B.C. Neural mechanisms of aggression // *Nat. Rev. Neurosci.* 2007. V. 8. № 7. P. 536–546. <https://doi.org/10.1038/nrn2174>
3. Brunner H.G., Nelen M.R., van Zandvoort P. et al. X-linked borderline mental retardation with prominent behavioral disturbance: Phenotype, genetic localization, and evidence for disturbed monoamine metabolism // *Am. J. Hum. Genet.* 1993. V. 52. № 6. P. 1032–1039.
4. Brunner H.G., Nelen M., Breakefield X.O. et al. Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A // *Science.* 1993. V. 262. № 5133. P. 578–580. <https://doi.org/10.1126/science.8211186>
5. Cases O., Seif I., Grimsby J. et al. Aggressive behavior and altered amounts of brain serotonin and norepinephrine in mice lacking MAOA // *Science.* 1995. V. 268. № 5218. P. 1763–1766. <https://doi.org/10.1126/science.7792602>
6. Palmer E.E., Leffler M., Rogers C. et al. New insights into Brunner syndrome and potential for targeted therapy // *Clin. Genet.* 2016. V. 89. № 1. P. 120–127. <https://doi.org/10.1111/cge.12589>
7. Piton A., Poquet H., Redin C. et al. 20 ans après: A second mutation in MAOA identified by targeted high-throughput sequencing in a family with altered behavior and cognition // *Eur. J. Hum. Genet.* 2014. V. 22. № 6. P. 776–783. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.243>
8. Bortolato M., Godar S.C., Alzghoul L. et al. Monoamine oxidase A and A/B knockout mice display autistic-like features // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2013. V. 16. № 4. P. 869–888. <https://doi.org/10.1017/S1461145712000715>
9. Eusebi P.G., Sevane N., Cortés O. et al. Aggressive behavior in cattle is associated with a polymorphism in the MAOA gene promoter // *Anim. Genet.* 2020. V. 51. № 1. P. 14–21. <https://doi.org/10.1111/age.12867>
10. Chen R., Chu Q., Shen C. et al. Identification of single nucleotide polymorphisms in porcine MAOA gene associated with aggressive behavior of weaned pigs after group mixing // *Animals (Basel).* 2019. V. 9. № 11. P. 952. <https://doi.org/10.3390/ani9110952>
11. Kulikov A.V., Bazhenova E.Y., Kulikova E.A. et al. Interplay between aggression, brain monoamines and fur color mutation in the American mink // *Genes, Brain and Behavior.* 2016. V. 15. № 8. P. 733–740. <https://doi.org/10.1111/gbb.12313>
12. Трапезов О.В. Гомологические ряды изменчивости окраски меха у американской норки (*Mustela vison* Schreber, 1777) в условиях domestikации // *Вестник ВОГиС.* 2007. Т. 11. № 3/4. С. 547–560.
13. Manakhov A.D., Andreeva T.V., Trapezov O.V. et al. Genome analysis identifies the mutant genes for common industrial Silverblue and Hedlund white coat colours in American mink // *Sci. Reports.* 2019. V. 9. № 1. P. 4581. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40918-7>
14. Manakhov A.D., Mintseva M.Y., Andreev I.A. et al. Genome analysis of American minks reveals link of mutations in Ras-related protein-38 gene to Moyle brown coat phenotype // *Sci. Reports.* 2020. V. 10. № 1. P. 15876. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72239-5>
15. Manakhov A.D., Mintseva M.Y., Andreeva T.V. et al. Shadow coat colour in American mink associated with a missense mutation in the KIT gene // *Animal Genetics.* 2022. V. 53. № 4. P. 522–525. <https://doi.org/10.1111/age.13202>
16. Li H., Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform // *Bioinformatics.* 2009. V. 25. № 14. P. 1754–1760. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324>
17. McKenna A., Hanna M., Banks E. et al. The Genome Analysis Toolkit: A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data // *Genome Research.* 2010. V. 20. № 9. P. 1297–1303. <https://doi.org/10.1101/gr.107524.110>
18. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K. et al. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses // *Am. J. Hum. Genetics.* 2007. V. 81. № 3. P. 559–575. <https://doi.org/10.1086/519795>
19. Ramírez F., Ryan D.P., Grüning B. et al. DeepTools2: A next generation web server for deep-sequencing data analysis // *Nucl. Ac. Res.* 2016. V. 44. № W1. P. 160–165. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw257>
20. Zhang Y., Liu T., Meyer C.A. et al. Model-based analysis of ChIP-Seq (MACS) // *Genome Biol.* 2008. V. 9. № 9. P. R137. <https://doi.org/10.1186/gb-2008-9-9-r137>
21. Quinlan A.R., Hall I.M. BEDTools: A flexible suite of utilities for comparing genomic features // *Bioinformatics (Oxford, England).* 2010. V. 26. № 6. P. 841–842. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq033>

Genetic Variability of *MAOA* Gene among Aggressive Animals from the Non-Canonical Behavioral Model *Neogale vison*

A. D. Manakhov^{a, b, c, *}, N. A. Dudko^{a, c}, F. E. Gusev^{a, c}, T. V. Andreeva^{a, b, c},
O. V. Trapezov^{d, e}, and E. I. Rogaev^{c, f, **}

^aCenter for Genetics and Life Science, “Sirius University of Science and Technology”,
Krasnodar region, pgt. Sirius, 354340 Russia

^bCenter for Genetics and Genetic Technologies, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

^cVavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

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

^eNovosibirsk State University, Novosibirsk, 630039 Russia

^fDepartment of Psychiatry, UMass Chan Medical School, Worcester, MA, 01545 USA

*e-mail: manakhov@rogaevlab.ru

**e-mail: rogaev@vigg.ru

The *MAOA* gene is widely known regulator of aggressive behavior among human and animals. Here, we analyzed the genetic variability of the *MAOA* gene and its promoter region in non-canonical behavioral model – American mink (*Neogale vison*). We didn't observe any significant genetic variations among animals with aggressive behavior, that suggests the presence of genetic and/or epigenetic variations in other systems involved in regulation of aggression in this model.

Keywords: American mink, *Neogale vison*, aggressive behavior, *MAOA*.