

***Zvezda* – НОВОЕ ПОДСЕМЕЙСТВО *Tc1*-ПОДОБНЫХ ТРАНСПОЗОНОВ В ГЕНОМАХ ASTEROZOA**

© 2022 г. Л. В. Пузакова¹, *, М. В. Пузаков^{1, 2}

¹Федеральный исследовательский центр Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского
Российской академии наук, Севастополь, 299011 Россия

²Севастопольский государственный университет, Севастополь, 299053 Россия

*e-mail: kyluda@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.04.2021 г.

После доработки 02.06.2021 г.

Принята к публикации 23.06.2021 г.

Мобильные генетические элементы оказывают существенное влияние на эволюцию геномов живых организмов. Эукариотические МГЭ подразделяют на два класса – ретротранспозоны и ДНК-транспозоны. *ITm*-транспозоны являются одной из широко распространенных групп ДНК-транспозонов и обнаруживаются практически у всех организмов. В настоящей работе мы исследовали распространенность, структуру и эволюцию элементов с необычно длинным для *ITm*-транспозонов каталитическим доменом DD46E. Данные элементы были обнаружены только в подтипе *Asterozoa*. Была изучена их копияность, структура, возможная функциональность транспозазы, а также филогенетические взаимоотношения с другими представителями *ITm*-транспозонов. Показано, что обнаруженная нами группа транспозонов, которую мы назвали *Zvezda*, является подсемейством *Tc1*-подобных транспозонов.

Ключевые слова: мобильные генетические элементы, ДНК-транспозоны, DD46E-домен, *Asterozoa*, *Zvezda*.

DOI: 10.31857/S001667582201009X

Мобильные генетические элементы (МГЭ) являются неотъемлемой частью геномов как эукариотических, так и прокариотических организмов. Они представляют собой фрагменты ДНК, способные к перемещениям внутри хозяйского генома. В результате транспозиций МГЭ могут увеличивать число собственных копий, а также оказывать существенное влияние на структуру и функционирование всего генетического аппарата [1]. Более поздние исследования свидетельствуют о том, что мобильные генетические элементы могут служить источником новых генов [1].

Неоднократно показано, что активность МГЭ может возрасти в ответ на воздействие физических, химических и биологических факторов окружающей среды [2–4]. Активизация МГЭ в ответ на стресс вызывает дестабилизацию генома и всевозможные мутации, которые могут стать “сырьем” для действия движущего отбора. Таким образом, МГЭ играют немаловажную роль в адаптивных и эволюционных процессах [2–4].

В основе классификации МГЭ лежат различия в их структурно-функциональных особенностях. На сегодняшний день все эукариотические МГЭ подразделяются на два класса – ретротранспозо-

ны и ДНК-транспозоны [1, 5]. Ретротранспозоны, или класс I, кодируют обратную транскриптазу и перемещаются посредством создания собственной копии и ее вставки в какой-либо участок генома. Такой тип перемещения называется “копирование–вставка” и он позволяет ретротранспозонам быстро увеличивать число копий. ДНК-транспозоны, или класс II, кодируют транспозазу. Этот тип элементов перемещается путем вырезания собственной копии и ее последующей вставки в какой-либо другой участок генома. Такой тип перемещения называется “вырезание–вставка”. Несмотря на то что механизм увеличения количества копий транспозонов не описан, все же ДНК-транспозоны способны довольно эффективно “окупируют” хозяйские геномы.

Так, например, одна из распространенных групп ДНК-транспозонов – *IS630/Tc1/mariner* (*ITm*) насчитывает в геномах до нескольких сотен и даже тысяч копий [6–8]. Представители *ITm*-транспозонов присутствуют практически во всех живых организмах [9]. Длина элементов колеблется от 1 до 3 тыс. пар нуклеотидов (тпн), но может достигать и 6000 пн. *ITm*-элементы ограниче-

ны концевыми инвертированными повторами (КИП), протяженность которых очень вариabельна и колеблется от 20 до 1900 пн. У некоторых *ITm*-транспозонов имеются еще и субконцевые инвертированные повторы (СИП), длиной от 175 до 1403 пн [10]. Неразрывная открытая рамка считывания (ОРС) кодирует фермент транспозазу, протяженность которого варьирует в среднем от 350 до 650 аминокислотных остатков (а.о.). *ITm*-транспозаза имеет ДНК-связывающийся домен (PAIRED) в N-концевой части и каталитический (DDE/D) домен в C-концевой части [11]. Домен PAIRED состоит из шести α -спиралей. Первая триада α -спиралей носит название PAI-субдомена, вторая триада – RED-субдомена. Домен PAIRED обеспечивает сайт-специфическое связывание с ДНК-мишенью и с КИП. Между PAI- и RED-субдоменами расположен GRPR-подобный мотив, функцией которого, как предполагается, является связывание PAIRED-домена с малой бороздкой ДНК дублируемого сайта встраивания TA [12]. DDE/D-домен обладает эндонуклеазной и лигирующей активностью и обеспечивает вырезание и вставку МГЭ. Также для *ITm*-транспозазы характерно наличие сигнала ядерной локализации (NLS-сигнала), который, как предполагается, обеспечивает проникновение транспозазы из цитоплазмы в ядро [13, 14].

Классификация *ITm*-транспозонов достаточно сложная, в некоторых моментах противоречивая, и в последние годы претерпела значительные дополнения и изменения [15, 16]. Обобщая последние данные, можно выделить несколько основных групп: *Tc1*-подобные элементы (*TLE/DD34-38E*), *mariner*-подобные элементы (*MLE/DD34D*), *maT/DD37D*, *Visitor/DD41D*, *Guest/DD39D*, *mosquito/DD37E*, *pogo/DDxD* и *IS630/DDxE* [8, 10, 11, 16–18]. Группу элементов *pogo/DDxD* определяют как отдельное надсемейство [16]. Оставшиеся перечисленные группы (за исключением бактериальных транспозонов *IS630/DDxE*) объединяют в надсемейство *Tc1/mariner*. Еще выделяют четыре малых семейства: *Tec/DD34E*, *HvSm/DD34E*, *L31/DD37E* и *TBE/DD34E*, которые не входят в вышеперечисленные группы [15, 19].

В настоящей работе мы изучали распространенность, структуру и эволюцию ДНК-транспозонов надсемейства *Tc1/mariner* с необычно длинным каталитическим доменом DD46E, которые были названы нами *Zvezda*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск DD46E-транспозонов

Для поиска ДНК-транспозонов с каталитическим доменом DD46E был использован tBLASTn со стандартными настройками (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). В качестве матрицы для

поиска были взяты аминокислотные последовательности транспозаз *Mariner-18_CGi_p (Repbase)* и *Zvezda-1_ARub/CABPRM03*. Полногеномные последовательности ДНК иглокожих были взяты из базы данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (табл. 1). Для того чтобы выявить полные нуклеотидные последовательности МГЭ, гомологичные транспозазе последовательности с наивысшей идентичностью к матрице были взяты из соответствующих скаффолдов вместе с фланкирующими областями протяженностью 3000 пн. Полноразмерная последовательность каждого выявленного элемента использовалась для подсчета присутствующих в геноме копий. Копии протяженностью менее 10% от длины полноразмерного МГЭ не учитывали при подсчете. Копии протяженностью от 95 до 100% от длины полноразмерного МГЭ считались полноразмерными. Копии протяженностью от 10 до 100% от длины полноразмерного МГЭ подсчитывались как общее количество копий.

Анализ последовательностей

Границы предполагаемых ОРС определяли с помощью ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) и далее уточняли визуально. Последовательность сигнала ядерной локализации (NLS) выявляли с помощью PSORT (<https://www.genscript.com>). ДНК-связывающий мотив PAIRED определяли, анализируя вторичную структуру, предсказанную с помощью PSIPRED v4.0 [20]. Мотив GRPR-типа, а также DDE/D-домен идентифицировали визуально.

Филогенетический анализ

Для филогенетического анализа были взяты аминокислотные последовательности транспозаз, относящиеся к разным группам *ITm*-транспозонов (табл. 2), и последовательности, принадлежащие транспозонам *Zvezda* (табл. 3). Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей было выполнено с помощью MUSCLE [21] с использованием стандартных настроек. Филогенетический анализ проводили с использованием пакета программ MEGA X [21].

Выявление случаев горизонтального переноса

Для выявления случаев горизонтального переноса у многоклеточных была использована аминокислотная последовательность *Zvezda-1_ARub/CABPRM03*. Для поиска использовали программу BLASTn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Поскольку никаких соответствий с транспозонами *Zvezda* найдено не было, то и дальнейший поиск в соответствии с рекомендованным алгоритмом [22] не осуществлялся.

Таблица 1. Характеристика сборок геномных последовательностей, использованных для поиска транспозонов *Zvezda*

Класс	Вид	Место получения образца	Дата получения образца	Название геномного проекта	Идентификатор сборки	Уровень сборки	N50	Покрытие генома	Размер сборки, пн
Asterozoidea	<i>Asterias rubens</i>	—	2018-02-23	SABPRM03	GCA_902459465	Хромосомы	20558067	103×	417601740
		—	2018-02-23	SABPRO01	GCA_902459445	Скаффолды	161267	103×	390768305
	<i>Pisaster ochraceus</i>	USA: California	2016-11-12	JAAF001	GCA_010994315	Хромосомы	20188303	212.8×	401943971
		USA: California	2003	AKZP01	GCA_000285935	Скаффолды	52614	15.0× 454; 70× Illumina	811028858
	<i>Acanthaster planci</i>	USA: California	2019-09	JADOBP01	GCA_015706575	Скаффолды	23093800	150.0×	608344308
		Japan: Okinawa, Motobu	2013-05-28	BDGF01	GCA_001949145	Скаффолды	1521119	46×	383860178
Ophiurozoidea	<i>Patiriella regularis</i>	Australia: Great Barrier Reef	2013-02-04	BDGH01	GCA_001949165	Скаффолды	916880	40×	383525304
		Australia: Great Barrier Reef	2013-02-04	BBNW01*	GCA_000950615	Скаффолды	1389596	50×	2584918
	—	—	CYSQ01	GCA_900067625	Скаффолды	557	23×	949333185	
	—	—	CZLG01	GCA_900067615	Скаффолды	484	13×	1184528790	
	<i>Ophiothrix spiculata</i>	USA: California	—	JXSR01	GCA_000969725	Скаффолды	72780	275.0×	2764315159

Примечание. Геномы со статистическим параметром N50 менее 10000, с геномным покрытием менее 25× и размером сборки менее 300 млн пн выделены жирным шрифтом. Звездочкой обозначена сборка, в которой не обнаружен транспозон *Zvezda*.

Таблица 2. ДНК-транспозоны IS630/Tc I/mariner, используемые в филогенетическом анализе

Семейство	Элемент	Источник	Семейство	Элемент	Источник
Guest DD39D	<i>Soymar1</i>	AF078934	<i>Visitor</i> DD41D	<i>Crmar2.5</i>	AAK61417
	<i>Br-oleracea</i>	XP013589454		<i>Apismar4.1</i>	ABLF02014333
	<i>Ca-sativa</i>	XP010462775		<i>Mariner-12_CGi</i>	Repbase
	<i>Phyllostachys edulis</i>	ADP24264		<i>Lsra_Ap</i>	[11]
	<i>Pisum sativum</i>	AAx51974		<i>rosa_Ae</i>	[11]
<i>maT</i> DD37D	<i>Bnmar1</i>	U47917	<i>Mosquito</i> DD37E	<i>Ae-atropalpus1</i>	AF377999
	<i>Bnmar6</i>	AF461149		<i>An-gambiae1</i>	AF378002
	<i>Cemar6</i>	LK928390		<i>PrDD37E1</i>	DQ138288
	<i>CbmaT4</i>	AC084524			
<i>Traveler</i> DD35E	<i>TR-Habu</i>	[27]	<i>L18</i> DD37E	<i>Mariner-18_CGi</i>	Repbase
	<i>TR-Xetr</i>	[27]		<i>L18-NVec</i>	NW_001834331
	<i>TR-Tajfu</i>	[27]		<i>L18-APar</i>	JXUT01105677
	<i>TR-Onmy</i>	[27]		<i>L18-HMag</i>	EQ256867
	<i>TR-Xihe</i>	[27]		<i>L18-AOce</i>	NXFZ01003443
<i>Intruder</i> DD38E	<i>IT_Cf</i>	[29]	<i>Incomer</i> DD36E	<i>In-MHra</i>	[28]
	<i>IT_Sl</i>	[29]		<i>In-Sale</i>	[28]
	<i>IT_Sp</i>	[29]		<i>In-MLuc</i>	[28]
	<i>IT_Rm</i>	[29]		<i>In-CVar</i>	[28]
	<i>IT_At</i>	[29]		<i>In-RMar</i>	[28]
<i>TcI</i> DD34E	<i>TcI</i>	X01005	<i>TRT</i> DD37E	<i>DrTRT</i>	[30]
	<i>Passport</i>	CAB5137		<i>CmpTRT</i>	[30]
	<i>Quetzal</i>	AA02109		<i>TfTRT</i>	[30]
	<i>Frog_Prince</i>	AAP49009		<i>SsTRT</i>	[30]
	<i>Sleeping_Beauty</i>	AFR53956		<i>HbTRT</i>	[30]
<i>cmTLE</i> DD34E	<i>Mariner-5_CGi</i>	Repbase	<i>TLEW1</i> DD36E	<i>TLEW1-1_CGi</i>	[26]
	<i>Mariner-23_CGi</i>	Repbase		<i>TLEW1-2_CGi</i>	[26]
	<i>Mariner-8_CGi</i>	Repbase		<i>TLEW1-2_MPh</i>	[26]
	<i>Mariner-14_CGi</i>	Repbase		<i>TLEW1-4_MYe</i>	[26]
<i>MLE</i> DD34D	<i>Dnmar1</i>	AAA28678	<i>IS630</i> DDxE	<i>RS(alpha)</i>	X02581
	<i>Hsmar1</i>	AAC52010		<i>IS630Ss</i>	X05955
	<i>Famar1</i>	AAO12863		<i>IS630Se</i>	NP_073225
	<i>Bytmar1</i>	CAD45367			
	<i>Tymar1</i>	AAP45328			

Таблица 3. ДНК-транспозоны *Zvezda* у *Asterozoa*

Вид	Название транспозона	Длина элемента, пн	Длина КИП	Длина СИП	Транспозаза, а.о.	Общее число копий	Число полноразмерных копий	Число потенциально функциональных копий
<i>Patiria miniata</i>	<i>Zvezda-1_PMin/AKZP01</i>	3742	12/12	н/о	340	59	1	1
	<i>Zvezda-1_PMin/JADOBP01</i>	757	н/о	н/о	248	12	0	0
<i>Pisaster ochraceus</i>	<i>Zvezda-1_POch</i>	3977	17/17	н/о	339	18	1	0
<i>Acanthaster planci</i>	<i>Zvezda-1_APla/BDGF01</i>	1056	н/о	н/о	334	32	0	0
	<i>Zvezda-1_APla/BDGH01</i>	1785	38/38	н/о	355	32	1	0
<i>Patiriella regularis</i>	<i>Zvezda-1_PReg</i>	1811	26/26	52/52	353	15	1	1
<i>Asterias rubens</i>	<i>Zvezda-1_ARub/CABPRM03</i>	1777	31/31	46/46	327	3	1	1
	<i>Zvezda-1_ARub/CABPRO01</i>	1772	31/31	46/46	289	3	2	0
<i>Ophioneis fasciata</i>	<i>Zvezda-1_OFas</i>	1086	н/о	н/о	361	2	0	0
<i>Ophiothrix spiculata</i>	<i>Zvezda-1.1_OSpi</i>	1542	н/о	156/–	366	493	1	0
	<i>Zvezda-1.2_OSpi</i>	3445	36/36	156/159	358			

Примечание. н/о – не обнаружены; пн – пары нуклеотидов; а.о. – аминокислотные остатки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Распространенность транспозона
Zvezda у Metazoa*

При исследовании разнообразия *ITm*-транспозонов у *Asterias rubens* нами был обнаружен МГЭ с необычно длинным каталитическим доменом — DD46E. Для того чтобы выяснить, единственный ли это мутантный вариант или представитель уникальной эволюционной группы *ITm*-транспозонов, мы изучили распространенность данного МГЭ. *ITm*-транспозоны с DD46E-доменом (названные нами *Zvezda*) обнаружались у семи организмов (т.е. у всех, имеющих в NCBI полногеномные последовательности ДНК), принадлежащих к двум классам — морским звездам (*Asteroidea*) и офиурам (*Ophiuroidea*) (табл. 3). Эти два таксона объединены в подтип *Asterozoa*, который отделился от остальных иглокожих примерно 541 млн лет назад (по разным оценкам 458–625 млн лет назад, <http://www.timetree.org/>) [23]. При исследовании всех *Metazoa* на предмет гомологии к DD46E-транспозону *A. rubens* ни у кого, кроме *Asterozoa*, подобный транспозон обнаружен не был. Для объяснения данного феномена можно предложить две версии — либо ДНК-транспозон *Zvezda* возник непосредственно в геноме предка *Asterozoa*, либо встроился в геном предка *Asterozoa* в результате горизонтального переноса от неизвестного нам организма, который на сегодняшний день либо потерял его в процессе эволюции, либо вымер, либо его полная геномная последовательность ДНК еще не определена. Так или иначе, но ДНК-транспозон *Zvezda* не получил распространения по древу жизни и присутствует лишь в узкой филогенетической группе, внутри которой распространился, по всей видимости, в результате дивергенции видов. Отсутствие ДНК-транспозона *Zvezda* у каких-либо групп организмов, кроме *Asterozoa*, свидетельствует об отсутствии случаев горизонтального переноса.

Анализ числа копий ДНК-транспозона *Zvezda* у *Asterozoa* показал значительную неоднородность среди изученных организмов (табл. 3). У двух видов число копий крайне низкое (2–3 копии). Четыре вида имели от 15 до 60 копий. И только один вид — *Ophiothrix spiculata* — имеет большое число копий — 493, при этом подавляющая часть этих копий сохранила КИП при делегированной центральной части. Согласно модели жизненного цикла, увеличение числа копий происходит на стадии амплификации в жизненном цикле МГЭ [24]. Однако мы не обнаружили в геноме *O. spiculata* ни одной потенциально функциональной копии элемента *Zvezda*, следовательно в настоящее время данный транспозон не может находиться на стадии амплификации. Очевидно, транспозон *Zvezda* был активен у предка *Astero-*

зоа, поэтому все *Asterozoa* в настоящий момент имеют малое число копий, большинство из которых повреждены и нефункциональны вследствие постепенной деградации. Вероятно, *O. spiculata* имеет на сегодняшний день так много копий по причине еще одного всплеска активности, произошедшего позже. Причиной второй волны активности мог быть рестарт жизненного цикла — одна из копий могла вновь стать активной вследствие случайных мутаций и вызвать “взрыв” перемещений. Также нельзя исключить и возможность кросс-индукции. Транспозаза какого-либо активного МГЭ, проникшего в геном *O. spiculata*, могла воздействовать и на копии элемента *Zvezda*, индуцируя их активность. Явление кросс-мобилизации уже было описано ранее [25]. Было обнаружено, что *hobo*-транспозаза способна взаимодействовать с терминальными последовательностями не только элемента *hobo*, но и *Hermes*. Хотя у *ITm*-транспозонов явление кросс-мобилизации не известно, такую возможность нельзя исключить, тем более что КИП, необходимые для перемещения, присутствуют практически во всех копиях.

*Zvezda — новое подсемейство
Tc1-подобных транспозонов*

Для того чтобы определить эволюционные отношения элементов *Zvezda/DD46E* и *ITm*-транспозонов мы провели филогенетический анализ, в который были включены 11 транспозаз *Zvezda/DD46E* (с сохранившимся DDE-доменом) и 45 МГЭ, представляющих различные группы *ITm*-транспозонов (табл. 2). В результате было установлено, что элементы *Zvezda/DD46E* формируют отдельную ветвь, которая располагается в одной кладе с *Tc1*-подобными элементами (рис. 1). Таким образом, элементы *Zvezda/DD46E* являются новым подсемейством *Tc1*-подобных элементов.

На филогенетическом дереве видно, что транспозоны *Zvezda* объединяются в одну монофилетическую группу с высокой бутстрэп-поддержкой. В последние годы семейство *Tc1*-подобных элементов хорошо изучено и в нем найден ряд семейств, которые имеют домен, отличающийся от классического домена DD34E. Это, например, *TLEWI/DD36E*, *Traveler/DD35E*, *Incomer/DD36E*, *Intruder/DD38E*, *TRT/DD37E* [26–30]. Все они имеют не столь существенные отличия в размере домена от классического DD34E, в то время как у ДНК-транспозона *Zvezda* протяженность последовательности между вторым D и E составляет 46 а.о. (DD46E). Филогенетический анализ, в который были включены все известные на данный момент *Tc1*-подобные элементы, подтвердил принадлежность транспозонов *Zvezda* к отдельному подсемейству (рис. 2).

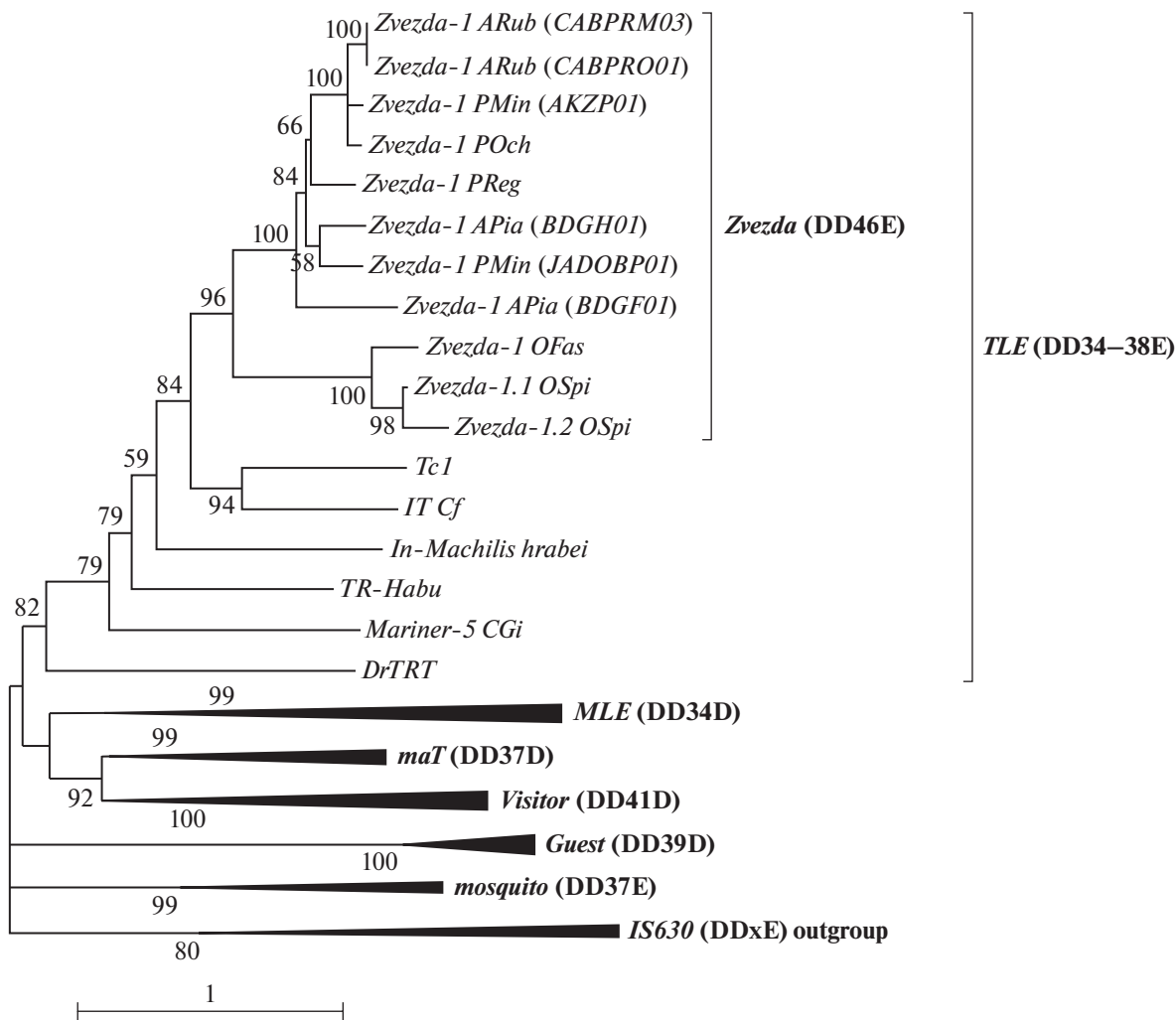


Рис. 1. Эволюционные взаимоотношения транспозонов *Zvezda* и ДНК-транспозонов *ITm*. Филогенетический анализ выполнен в программе MEGA X с помощью метода максимального правдоподобия. Используемая модель WAG + G + I + F. Бутстрэп 1000.

Структурные особенности ДНК-транспозона Zvezda

У большинства видов полноразмерные копии элемента *Zvezda* были обнаружены в единственном числе (табл. 3). Полноразмерными мы считали копии, обладающие обоими КИП и неповрежденной транспозазой. У *A. rubens* в геномной сборке CABPRO01 было обнаружено два полноразмерных элемента. У *Ophionereis fasciata* и *Ophiothrix spiculata* полноразмерных копий не было обнаружено.

В среднем длина полноразмерных элементов *Zvezda* колеблется от 1700 до 1800 пн (табл. 3), что характерно для *Tc1*-подобных элементов. Однако есть случаи, выбивающиеся из общей тенденции. У *O. spiculata* длина элемента – 3445 пн, у *Patiria miniate* (AKZP01) – 3742 пн, у *Pisaster ochraceus* – 3977 пн. В последних двух случаях КИП находятся далеко от гена транспозазы, вследствие этого

общая длина элемента сильно увеличена. У *O. spiculata* внутри гена транспозазы присутствуют вставки, увеличивающие длину элемента, а также один из КИП находится значительно дальше от гена транспозазы, чем обычно (табл. 3).

КИП были найдены у шести видов Asterozoa, СИП – у трех видов (табл. 3). Длина КИП колебалась от 26 до 38 пн. У *Patiria miniate* (AKZP01) и *Pisaster ochraceus* КИП были нетипично короткие, 12/12 и 17/17 пн соответственно. При этом они отстояли от гена транспозазы довольно далеко, в связи с чем общая длина элемента у этих видов превышает среднюю. СИП имели длину 46/46, 52/52, а в случае *O. spiculata* СИП были необычно длинными – 156/159 пн. Оба исследованных вида офиур имеют длинные СИП. У некоторых видов морских звезд также есть СИП, но значительно короче. Возможно, морские звезды потеряли СИП в процессе эволюции.

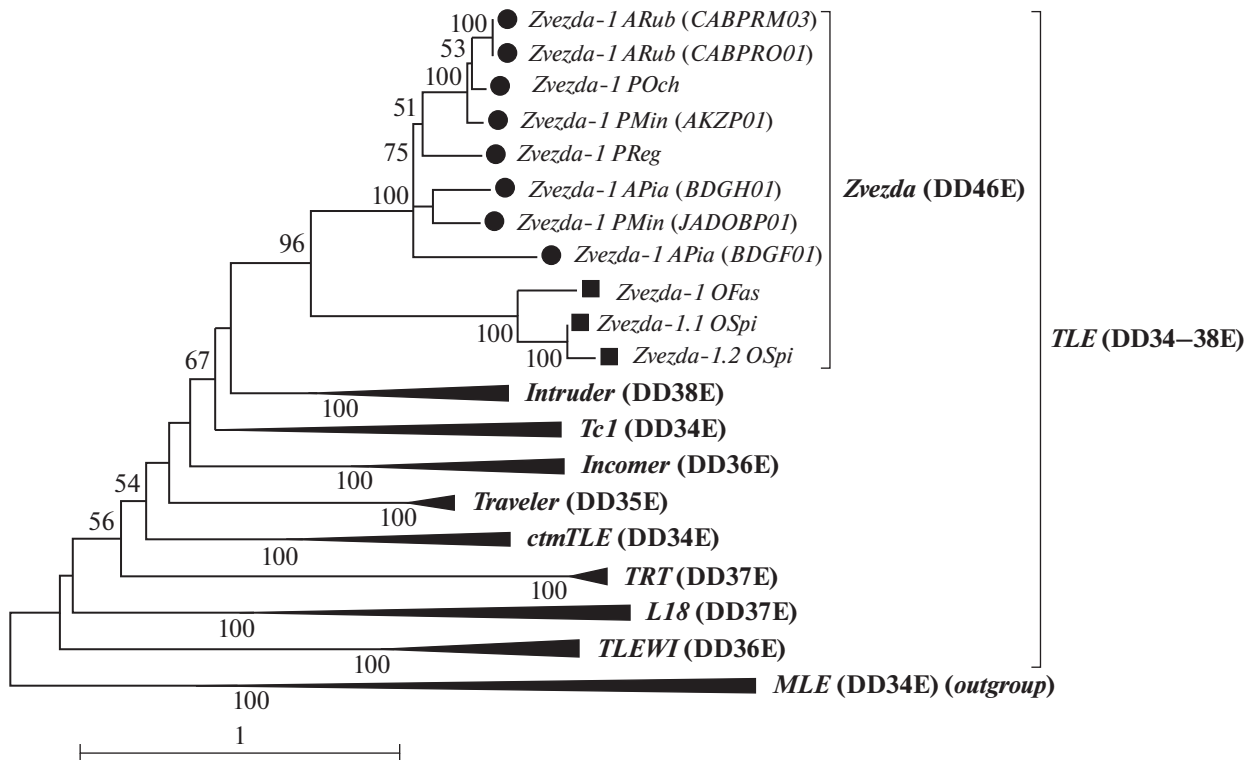


Рис. 2. Эволюционные взаимоотношения транспозонов *Zvezda* и *Tc1*-подобных транспозонов. Транспозоны морских звезд отмечены черным кругом, транспозоны офиур — черным квадратом. Филогенетический анализ выполнен в программе MEGA X с помощью метода максимального правдоподобия. Используемая модель LG + G + I. Бутстрэп 1000.

Длина полноразмерных транспозаз оказалась обычная для этого семейства транспозонов, а именно от 327 до 366 а.о. (табл. 3). Неповрежденные транспозазы имеются у четырех видов. У трех видов транспозазы имеют повреждения — стоп-кодны и делеции.

Чтобы лучше понять, являются ли транспозазы потенциально функциональными, мы изучили такие их особенности, как PAIRED-домен, АТ-крюк, каталитический домен DDE/D и NLS (рис. 3). Во всех транспозазах был обнаружен PAIRED-домен. Однако у МГЭ *Zvezda-1_APla/BDGF01* и *Zvezda-1_POch* первая альфа-спираль PAI-субдомена отсутствует. Также у *Zvezda-1_APla/BDGF01* третья альфа-спираль RED-домена отсутствует. *ARub/CABPRO01* и *Zvezda-1_PMin/JADOBP01* вообще не имеют PAI-субдомена.

Последовательность NLS не была обнаружена нами ни в одной из транспозаз *Zvezda*, что вполне закономерно, учитывая работы коллег, в которых показана редкая встречаемость NLS в *ITm*-транспозонах.

АТ-крюк обнаружен у всех исследованных видов, за исключением *Zvezda-1_PMin/JADOBP01*. Он расположен на своем месте, между PAI- и RED-субдоменами.

Каталитический домен DD46E был обнаружен во всех транспозазах, но в аминокислотной последовательности транспозазы элемента *Zvezda-1_APla/BDGF01* первый аспарат DDE/D-домена был замещен на аспарагин (N); кроме того, промежуток между вторым D (аспарат) и E (глутамат) составляет 47 аминокислотных остатков, а не 46, как во всех остальных транспозазах. Кроме того, данный транспозон имеет стоп-кодны и сдвиги рамки считывания. Так же у *Zvezda-1_PMin/JADOBP01* каталитический домен был изменен (DD42E). Однако в других сборках этих же видов у мобильных элементов *Zvezda-1_APla/BDGH01* и *Zvezda-1_PMin/AKZP01* присутствует классический DD46E-домен.

Подытоживая результаты проведенного анализа, потенциально функциональными можно назвать только три элемента — *Zvezda-1_PMin/AKZP01*, *Zvezda-1_PReg* и *Zvezda-1_ARub/CABPRM03* (рис. 3). Сравнивая полученные данные с имеющимися данными по другим *ITm*-транспозонам, можно сделать вывод, что только незначительное их количество имеют функциональную транспозазу и обладают транспозиционной активностью [31–34]. Этот факт связывают с тем, что пик активности *ITm*-транспозонов был в далеком прошлом, а следовательно “жизненный цикл” элементов проходит свою завершающую стадию [24]. По

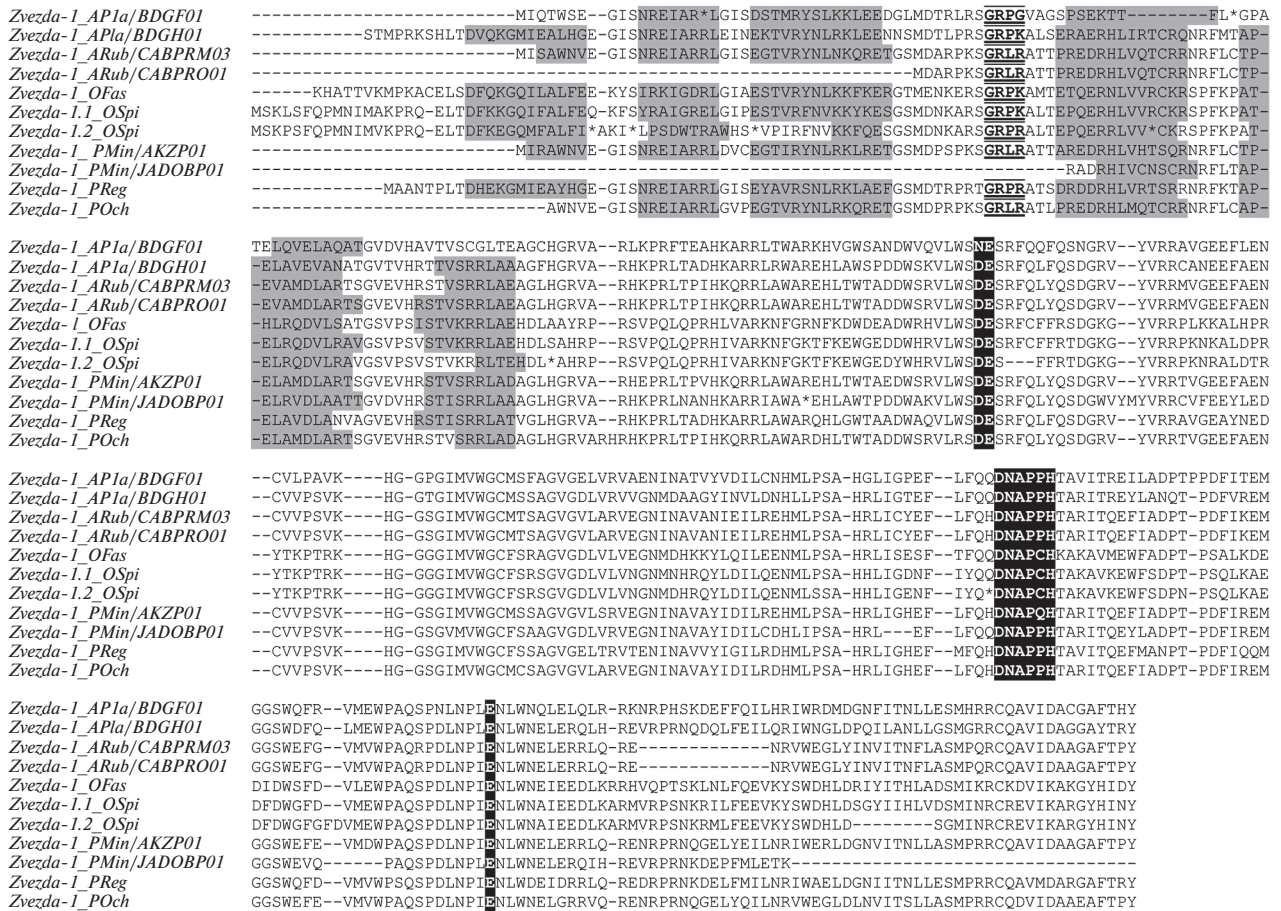


Рис. 3. Множественное выравнивание транспозаз элемента *Zvezda*. Серым цветом выделен PAIRED-домен, состоящий из шести α -спиралей, жирным шрифтом с подчеркиванием выделен GRPR-подобный мотив, белым шрифтом на черном фоне – DDE-домен.

этой причине у большинства *ITm*-транспозонов последовательности, кодирующие транспозазу, нарушены делециями, стоп-кодонами и сдвигами ОРС. Наличие одиночных полноразмерных/потенциально функциональных копий элемента *Zvezda* при наличии делетированных копий в геномах морских звезд и офиур может свидетельствовать о древности его происхождения.

Внутривидовое разнообразие

Были исследованы семь видов подтипа *Asterozoa*, полногеномные последовательности которых на момент исследования были представлены в NCBI (табл. 3). У всех семи видов был обнаружен мобильный элемент с каталитическим доменом DD46E. У *Acanthaster planci* имелось три сборки, одна из которых (GCA_000950615.1) не имела сходства с матрицей, в качестве которой мы использовали аминокислотную последовательность элемента *Mariner-18 CGi*, обнаруженного у *Crasostrea gigas* [19]. У *Asterias rubens* и *Patiria miniata* имелось по две сборки.

Имея в доступе по две сборки видов *Acanthaster planci*, *Patiria miniata* и *Asterias rubens*, мы получили интересную возможность провести небольшое сравнение внутривидового разнообразия, хоть и на столь малом количестве особей. Мы сравнивали общее число транспозонов и их структуру.

Так, у *Asterias rubens* в двух разных сборках оказались удивительно сходные результаты – общее число транспозонов в сборке CABPRM03 и сборке CABPRO01 оказалось 3, полноразмерных копий 1 и 2 соответственно, терминальные и субтерминальные повторы оказались в обеих сборках абсолютно идентичными по длине и составили 31 и 46 пн соответственно; общая длина элементов отличалась несущественно – 1777 и 1772 пн, соответственно. Поскольку дата получения обоих образцов указана одна и та же, по всей видимости образцы были взяты в одном и том же месте, из одной популяции (табл. 1). Вероятно, данная популяция довольно гомогенна по количеству и структурным особенностям элемента *Zvezda*, что свидетельствует о том, что в данный момент этот транспозон не активен. Это подтверждается и ма-

лым количеством копий транспозона *Zvezda* в геноме *Asterias rubens*.

У *Acanthaster planci* в обеих сборках оказалось по 32 копии транспозона *Zvezda*. Образцы были взяты из разных регионов — *A. planci* (BDGF01) собран в Японии, а *A. planci* (BDGH01) в Австралии в одном и том же году. Равное число копий можно считать как совпадением, так и признаком однородности популяций. Сравнить строение транспозона *Zvezda* у *A. planci* оказалось невозможным, так как в одной из сборок (BDGF01) не было полноразмерных копий транспозона *Zvezda* (табл. 3). В базе данных присутствует и третья сборка *A. planci*, но результат поиска транспозона *Zvezda* в программе BLAST отрицательный, по всей видимости из-за частичной представленности генома (табл. 1).

Сходная ситуация и у *Patiria miniata*, также представленной двумя сборками, — в одной из двухборок ОРС транспозона *Zvezda* также отсутствовали полноразмерные копии, следовательно структуру транспозонов сравнить нам не удалось. Количество копий *Zvezda* в этих двух геномах *P. miniata* — 59 и 12 (табл. 3). Образцы были взяты с промежутком в 16 лет, местом сбора указана Калифорния. Разное число копий в геномах образцов *P. miniata* может быть связано с внутривидовой полиморфизмом, а также и с тем, что сборка генома *Patiria miniata*/JADOBP01 неполная, поскольку общий размер сборки *Patiria miniata*/JADOBP01 на 25% меньше, чем у *Patiria miniata*/AKZP01.

Изучение МГЭ *Zvezda* проведено в рамках Государственного задания ФИЦ ИнБЮМ “Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом”, номер гос. регистрации 121041400077-1.

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. Bourque G., Burns K.H., Gehring M. et al. Ten things you should know about transposable elements // *Genome Biol.* 2018. V. 19. P. 199. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1577-z>
2. Юрченко Н.Н., Коваленко Л.В., Захаров И.К. Мобильные генетические элементы: нестабильность генов и геномов // Вавилов. журн. генетики и селекции. 2011. Т. 15. № 2. С. 261–270.
3. Piacentini L., Fanti L., Specchia V. et al. Transposons, environmental changes, and heritable induced phenotypic variability // *Chromosoma.* 2014. V. 123. P. 345–354.
4. Auvinet J., Graça P., Belkadi L. et al. Mobilization of retrotransposons as a cause of chromosomal diversification and rapid speciation: The case for the Antarctic teleost genus *Trematomus* // *BMC Genom.* 2018. V. 19. P. 339.
5. Kojima K.K. Structural and sequence diversity of eukaryotic transposable elements // *Genes Genet Syst.* 2020. V. 94. P. 233–252. Epub 2018 Nov 9. PMID: 30416149. <https://doi.org/10.1266/ggs.18-00024>
6. Lee C.C., Wang J. Rapid expansion of a highly germline-expressed *Mariner* element acquired by horizontal transfer in the fire ant genome // *Genome Biol. Evol.* 2018. V. 10. P. 3262–3278. <https://doi.org/10.1093/gbe/evy220>
7. Xie L.-Q., Wang P.-L., Jiang S.-H. et al. Genome-wide identification and evolution of *TC1/Mariner* in the silkworm (*Bombyx mori*) genome // *Genes Genomics.* 2018. V. 40. P. 485–495. <https://doi.org/10.1007/s13258-018-0648-6>
8. Shen D., Gao B., Miskey C. et al. Multiple invasions of *Visitor*, a DD41D family of *Tc1/mariner* transposons, throughout the evolution of vertebrates // *Genome Biol. Evol.* 2020. V. 12. P. 1060–1073. <https://doi.org/10.1093/gbe/evaa135>
9. Yuan Y.W., Wessler S.R. The catalytic domain of all eukaryotic cut-and-paste transposase superfamilies // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. P. 7884–7889. <https://doi.org/10.1073/pnas.1104208108>
10. Zhang H.H., Shen Y.H., Xiong X.M. et al. Identification and evolutionary history of the DD41D transposons in insects // *Genes Genom.* 2016. V. 38. P. 109–117. <https://doi.org/10.1007/s13258-015-0356-4>
11. Tellier M., Claeys Bouuaert C., Chalmers R. *Mariner* and the *ITm* superfamily of transposons // *Microbiol. Spectrum.* 2015. V. 3. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0033-2014>
12. Ivics Z., Izsvák Z. *Sleeping beauty* transposition // *Microbiol. Spectrum.* 2015. V. 3. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0042-2014>
13. Ivics Z., Hackett P.B., Plasterk R.H., Izsvák Z. Molecular reconstruction of *Sleeping Beauty*, a *Tc1*-like transposon from fish, and its transposition in human cells // *Cell.* 1997. V. 91. P. 501–510.
14. Plasterk R.H., Izsvák Z., Ivics Z. Resident aliens the *Tc1/mariner* superfamily of transposable elements // *Trends in Genetics.* 1999. V. 15. P. 527–538.
15. Dupeyron M., Baril T., Bass C., Hayward A. Phylogenetic analysis of the *Tc1/mariner* superfamily reveals the unexplored diversity of *pogo*-like elements // *Mobile DNA.* 2020. V. 11. P. 21. <https://doi.org/10.1186/s13100-020-00212-0>
16. Gao B., Wang Y., Diaby M. Evolution of *pogo*, a separate superfamily of *IS630-Tc1-mariner* transposons, revealing recurrent domestication events in vertebrates // *Mobile DNA.* 2020. V. 11. P. 25. <https://doi.org/10.1186/s13100-020-00220-0>
17. Shao H., Tu Z. Expanding the diversity of the *IS630-Tc1-mariner* superfamily: discovery of a unique DD37E transposon and reclassification of the DD37D and

- DD39D transposons // *Genetics*. 2001. V. 159. P. 1103–1115.
18. Wang S., Diaby M., Puzakov M. et al. Divergent evolution profiles of DD37D and DD39D families of *Tc1/mariner* transposons in eukaryotes // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2021. V. 161. A. 107143. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107143>
 19. Puzakov M.V., Puzakova L.V., Cheresiz S.V. An analysis of IS630/*Tc1/mariner* transposons in the genome of a Pacific oyster, *Crassostrea gigas* // *J. Mol. Evol.* 2018. V. 86. P. 566–580. <https://doi.org/10.1007/s00239-018-9868-2>
 20. Buchan D.W.A., Jones D.T. The PSIPRED protein analysis workbench: 20 years on // *Nucl. Acids Res.* 2019. V. 47. P. 402–407. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz297>
 21. Kumar S., Stecher G., Li M. et al. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // *Mol. Biol. Evol.* 2018. V. 35. P. 1547–1549.
 22. Filée J., Rouault J.D., Harry M., Hua-Van A. Mariner transposons are sailing in the genome of the blood sucking bug *Rhodnius prolixus* // *BMC Genomics*. 2015. V. 16. P. 1061. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2060-9>
 23. Kumar S., Stecher G., Suleski M., Hedges S.B. TimeTree: a resource for timelines, timetrees, and divergence times // *Mol. Biol. Evol.* 2017. V. 34. P. 1812–1819. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx116>
 24. Schaack S., Gilbert C., Feschotte C. Promiscuous DNA: Horizontal transfer of transposable elements and why it matters for eukaryotic evolution // *Trends Ecol. Evol.* 2010. V. 25. P. 537–546.
 25. Sundararajan P., Atkinson P.W., O'Brochta D.A. Transposable element interactions in insects: crossmobilization of *hobo* and *Hermes* // *Insect Mol. Biol.* 1999. V. 8. № 3. P. 359–368.
 26. Puzakov M.V., Puzakova L.V., Cheresiz S.V. The *Tc1*-like elements with the spliceosomal introns in mollusk genomes // *Mol. Genet. Genomics*. 2020. V. 295. P. 621–633.
 27. Zong W., Gao B., Diaby M. et al. *Traveler*, a new DD35E family of *Tc1/mariner* transposons, invaded vertebrates very recently // *Genome Biol. Evol.* 2020. V. 12. P. 66–76.
 28. Sang Y., Gao B., Diaby M. et al. *Incomer*, a DD36E family of *Tc1/mariner* transposons newly discovered in animals // *Mobile DNA*. 2019. V. 10. P. 45.
 29. Gao B., Zong W., Miskey C. et al. *Intruder* (DD38E), a recently evolved sibling family of DD34E/*Tc1* transposons in animals // *Mobile DNA*. 2020. V. 11. P. 32.
 30. Zhang H.H., Li G.Y., Xiong X.M. et al. *TRT*, a vertebrate and protozoan *Tc1*-like transposon: current activity and horizontal transfer // *Genome Biol. Evol.* 2016. V. 8. P. 2994–3005.
 31. Emmons S.W., Yesner L., Ruan K., Katzenberg D. Evidence for a transposon in *Caenorhabditis elegans* // *Cell*. 1983. V. 32. P. 55–65.
 32. Franz G., Savakis C. *Minos*, a new transposable element from *Drosophila hydei*, is a member of the *Tc1*-like family of transposons // *Nucl. Acids Res.* 1991. V. 19. P. 6646.
 33. Langin T., Capy P., Daboussi M.J. The transposable element *impala*, a fungal member of the *Tc1*-mariner superfamily // *Mol. Gen. Genet.* 1995. V. 246. P. 19–28.
 34. Clark K.J., Carlson D.F., Leaver M.J. et al. *Passport*, a native *Tc1* transposon from flatfish, is functionally active in vertebrate cells // *Nucl. Acids Res.* 2009. V. 37. P. 1239–1247.

Zvezda – A New Subfamily of *Tc1*-Like Transposons in Asterozoa Genomes

L. V. Puzakova^{a, *} and M. V. Puzakov^{a, b}

^a*Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of Russian Academy of Science, Sevastopol, 299011 Russia*

^b*Sevastopol State University, Sevastopol, 299053 Russia*

*e-mail: kvluda@yandex.ru

Mobile genetic elements have a significant impact on the evolution of the genomes of living organisms. They are divided into two classes – retrotransposons and DNA transposons. *ITm* transposons are one of the widespread groups of DNA transposons and are found in almost all organisms. In this work, we investigated the abundance, structure, and evolution of elements with the DD46E catalytic domain that is unusually long for *ITm* transposons. These elements were found only in the subtype Asterozoa. Their copy number, structure, possible functionality of transposase, as well as phylogenetic relationships with other representatives of *ITm* transposons were studied. It was shown that the group of transposons that we discovered, which we named *Zvezda*, is a subfamily of *Tc1*-like transposons.

Keywords: transposable elements, DNA transposons, DD46E domain, Asterozoa, *Zvezda*.