

СТРУКТУРА И РАЗНООБРАЗИЕ ДНК-ТРАНСПОЗОНОВ *Tc1/mariner*
В ГЕНОМЕ УШАСТОЙ МЕДУЗЫ *Aurelia aurita*© 2023 г. Ю. Н. Улупова¹, Л. В. Пузакова¹, М. В. Пузаков¹, *¹Федеральный исследовательский центр “Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского” Российской академии наук, Севастополь, 299011 Россия

*e-mail: puzakov@ngs.ru

Поступила в редакцию 30.03.2022 г.

После доработки 08.08.2022 г.

Принята к публикации 30.08.2022 г.

Мобильные генетические элементы – ДНК-транспозоны и ретротранспозоны – это последовательности ДНК, способные к перемещениям внутри генома. Предполагается, что они играют одну из ключевых ролей в адаптивных и эволюционных процессах. Одной из наиболее изученных групп ДНК-транспозонов является инфракласс *ITm* и, в частности, суперсемейство *Tc1/mariner*. В настоящей работе мы рассмотрели представленность, структуру и эволюцию ДНК-транспозонов *Tc1/mariner* ушастой медузы *Aurelia aurita*. Было установлено, что преобладающая доля элементов *Tc1/mariner* медузы представлена семейством *TLE*. Выявлено новое подсемейство элементов *TLE*, названное *Aurum*. Кроме того, в семействе *Visitor* обнаружены две группы элементов *VS-aura* и *VS-beplau*, которые, вероятно, также являются отдельными подсемействами. Анализ структуры и разнообразия элементов *Tc1/mariner* показал, что в настоящий момент транспозоны *Tc1/mariner* в геноме медузы находятся на стадии деградации и элиминации. Практически все элементы делетированы или имеют структурные изменения и соответственно не имеют потенциально функциональных копий.

Ключевые слова: *Aurelia aurita*, мобильные генетические элементы, *Tc1/mariner*, транспозаза, ДНК-транспозоны.

DOI: 10.31857/S0016675823020133, EDN: KYLGLQ

Мобильные генетические элементы (МГЭ) – это последовательности ДНК, способные к самостоятельным перемещениям внутри генома. Впервые мобильные генетические элементы были описаны в 1940-х гг. Барбарой Макклиток [1]. В настоящее время известно, что они встречаются практически во всех организмах и суммарно составляют большой процент генома у высших эукариот [2, 3]. Известно, что последовательности МГЭ могут быть основой для возникновения новых генов или регуляторных последовательностей [4]. Кроме того, МГЭ являются высокомутабильными структурами геномов организмов, а также вносят существенный вклад в спонтанный мутагенез, формируя хромосомные перестройки (делеции, инверсии, дубликации), тем самым вызывая как вредные, так и полезные мутации для организма и популяции в целом. Предполагается, что они играют одну из ключевых ролей в адаптивных и эволюционных процессах [5].

МГЭ эукариот можно разделить на два класса – ретротранспозоны и ДНК-транспозоны [4, 6]. Ретротранспозоны – элементы I класса, кодируют обратную транскриптазу и для своего перемещения используют в качестве посредника молекулу

РНК. Такой механизм называется “копирование–вставка”. С помощью этого механизма ретротранспозонам удается быстро увеличивать число копий. ДНК-транспозоны – элементы II класса, кодируют транспозазу и перемещаются по геному без копирования путем вырезания собственной копии и ее последующей вставки в какой-либо другой участок генома. Такой механизм называется “вырезание–вставка” [4, 6].

Одной из наиболее изученных групп ДНК-транспозонов является *ITm*-элементы. На данный момент элементы *ITm* обнаружены у большинства живых организмов [7, 8]. В геномах можно обнаружить несколько сотен и даже тысяч копий этой группы [9–11]. Протяженность *ITm*-элементов составляет от 1 до 3 тыс. пар нуклеотидов. Транспозоны *ITm* имеют концевые инвертированные повторы (КИП), длина которых составляет от 20 до 1900 пн [12, 13]. У некоторых транспозонов есть и субконцевые инвертированные повторы (СИП), длиной от 175 до 1403 пн [13]. В центральной части транспозона находится, как правило, единая открытая рамка считывания (ОРС), кодирующая фермент транспозазу, длина которого варьирует от 350 до 650 а.о. Для транспозазы элементов *ITm*

свойственно наличие ДНК-связывающего домена (PAIRED) и каталитического домена (DDE/D). ДНК-связывающий домен находится в N-концевой части транспозазы и состоит из шести α -спиралей. Первые три α -спирали получили название PAI-субдомен, вторые три α -спирали – RED-субдомен. Между этими доменами находится GRPR-подобный мотив, который обеспечивает связывание PAIRED с ДНК-мишенью [14]. Каталитический домен находится на C-концевой части транспозазы. DDE/D-домен обладает эндонуклеазной и лигирующей активностью, обеспечивая вырезание и вставку МГЭ. Также транспозаза *ITm* может включать NLS-мотив (сигнал ядерной локализации). NLS-мотив предположительно обеспечивает транспорт транспозазы из цитоплазмы в ядро [15, 16].

На данный момент *ITm*-транспозоны классифицируют как инфракласс, так как эта группа включает несколько суперсемейств: *Tc1/mariner*, *pogo*, *IS630*, *Sailor*, *Gambol* [8, 17, 18]. Суперсемейство *Tc1/mariner* включает в себя несколько семейств: *Tc1*-подобные элементы (*TLE/DD34-46E*), *mariner*-подобные элементы (*MLE/DD34D*), *Visitor* (*DD41D*), *maT* (*DD37D*), *Guest* (*DD39D*), *mosquito* (*DD37E*), *L18* (*DD37E*), *L31* (*DD37E*) [11, 13, 17, 19–21].

Здесь мы рассматриваем представленность, структуру и эволюцию ДНК-транспозонов *ITm* суперсемейства *Tc1/mariner* медузы *Aurelia aurita*. Ушастая медуза *Aurelia aurita* (также называемая обыкновенной медузой или лунной медузой) является разновидностью рода *Aurelia* (тип Cnidaria, класс Scyphozoa). Вид *A. aurita* встречается в Северном, Черном, Балтийском и Каспийском морях, северо-восточной Атлантике, Гренландии, северо-востоке США и Канаде, северо-западной части Тихого океана и Южной Америке [22, 23]. Ушастые медузы являются одним из важных компонентов многих экосистем, кроме того обладают удивительной способностью выдерживать значительные колебания температур и солености воды [24]. У медузы *A. aurita*, а также у других представителей Scyphozoa структура, эволюция и представленность элементов *Tc1/mariner* практически не изучены.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск транспозонов

Для поиска ДНК-транспозонов суперсемейства *Tc1/mariner* был использован BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). В качестве матрицы использовались аминокислотные последовательности транспозаз *Tc1/mariner*, таких семейств как *TLE* (*Passport* (CAB51371), *Mariner-5_CGi*

(Repbase), *DrTRT* [25], *IN_Machilis_hrabei* [26], *TR-Habu* [27], *IT_Cf* [28], *MLE* (*Heteropoda venatoria* (BAP05478), *Mamestra brassicae* (AAL69970), *Adineta vaga* (AAZ67099), *Girardia tigrina* (CAA50801), *Bytmar1* (CAD45367), *Bombyx mori* (ABF51498), *Tvmar1* (AAP45328)); *Visitor* (*Crmar2.5* (AAK61417)), *maT* (*Bmmar1* (U47917)), *Guest* (*Soymar1* (AF078934)), *mosquito* (*Ae-atropalpus1* (AF377999)). Полногеномные последовательности ДНК медузы *A. aurita* (GCA_004194415) были взяты из базы данных NCBI. Для того чтобы выяснить являются ли нуклеотидные последовательности МГЭ полными, мы брали гомологичные транспозазе последовательности с наивысшей идентичностью к матрице из соответствующих скаффолдов. У каждой извлеченной последовательности был совершен поиск инвертированных повторов (КИП и СИП) с помощью BLASTn [29]. Полная последовательность каждого нового обнаруженного элемента использовалась для уточнения границ и определения количества копий, присутствующих в геноме. Копии с протяженностью от 10 до 100% от длины полноразмерного МГЭ подсчитывались как общее количество копий. Копии менее 10% от длины полноразмерного МГЭ при подсчете не учитывались. Копии, которые составляли >95% от длины полноразмерного МГЭ, имели КИП и полную транспозазу (~300 а.о.), считались полноразмерными. Потенциально функциональными копиями мы считали такие элементы, у которых были интактная транспозаза (отсутствие стоп-кодонов и сдвигов ОРС), КИП, ДНК-связывающий домен (PAIRED), GRPR-мотив и каталитический домен (DDE/D).

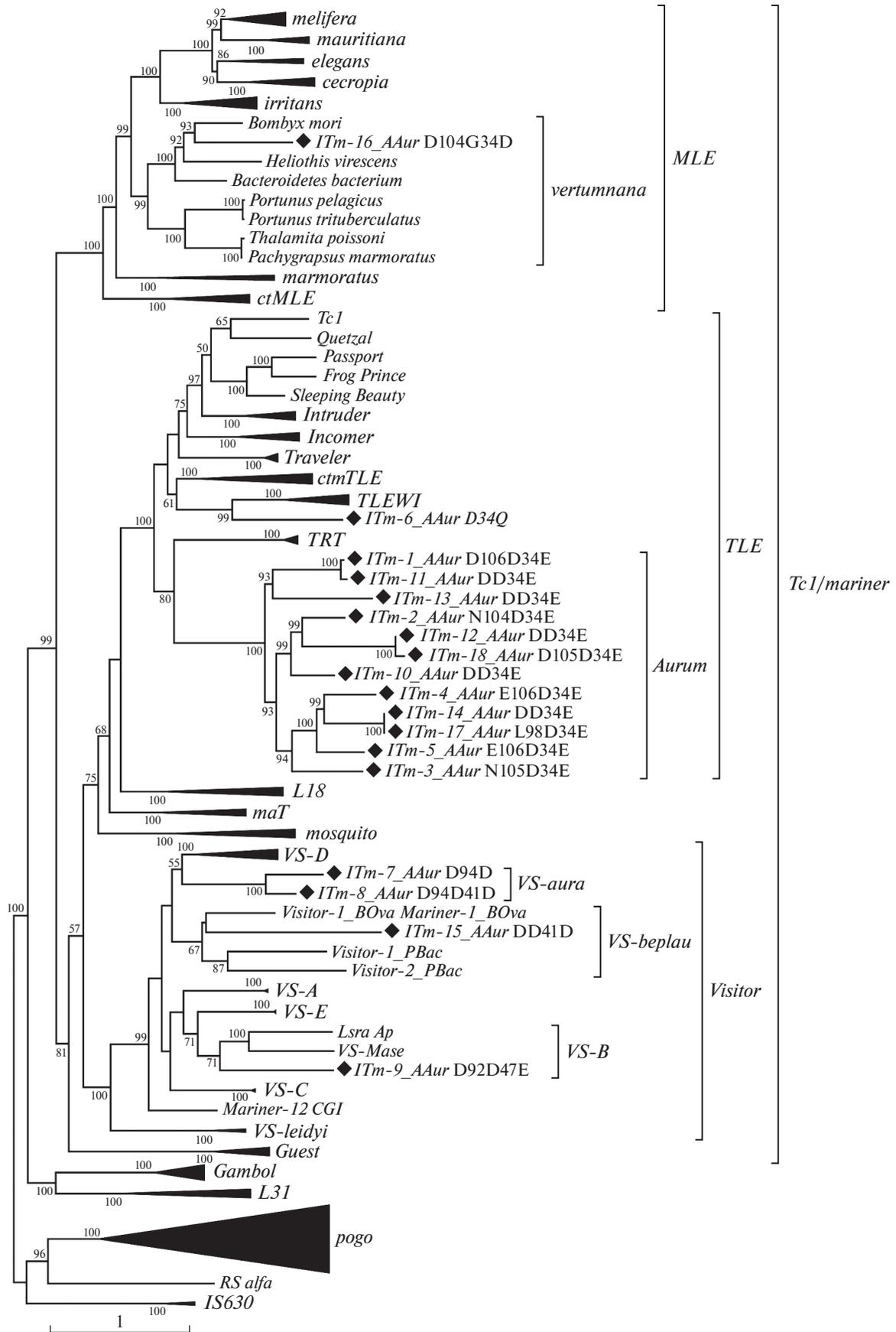
Анализ последовательностей

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 ScanProsite [30]. ДНК-связывающий мотив PAIRED определяли, используя PSIPRED v3.3 [31]. Мотив GRPR-типа, а также DDE/D-домен идентифицировали визуально.

Филогенетический анализ

Для филогенетического анализа были взяты аминокислотные последовательности транспозаз, относящиеся к различным группам суперсемейства *ITm*-транспозонов (рис. 1). Множественное выравнивание аминокислотных последова-

Рис. 1. Эволюционные взаимоотношения *ITm*-транспозонов. Черными ромбами обозначены ДНК-транспозоны *A. aurita*. Достоверность топологии оценивалась с использованием бутстреп-теста (1000 репликаций). Значения коэффициентов поддержки бутстреп-теста менее 50% не обозначены.



тельность было выполнено с помощью MUSCLE [32] с использованием стандартных настроек. Поиск наилучшей модели для филогенетического анализа и филогенетический анализ проводились с использованием MEGA7.0 [33] по методу максимального правдоподобия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проанализировав геном медузы *A. aurita*, нами было обнаружено 18 МГЭ (табл. 1). Для того чтобы соотнести к каким группам суперсемейства *Tc1/mariner* они относятся, мы провели филогенетический анализ. Для филогенетического анализа были использованы все известные семейства группы *Tc1/mariner*. В качестве внешней группы были задействованы аминокислотные последовательности элементов суперсемейств *IS630* и *pogo*. В результате филогенетического анализа было установлено, что 13 элементов (*ITm-1_AAur*, *ITm-2_AAur*, *ITm-3_AAur*, *ITm-4_AAur*, *ITm-5_AAur*, *ITm-6_AAur*, *ITm-10_AAur*, *ITm-11_AAur*, *ITm-12_AAur*, *ITm-13_AAur*, *ITm-14_AAur*, *ITm-17_AAur*, *ITm-18_AAur*) входят в семейство *TLE*, четыре элемента (*ITm-7_AAur*, *ITm-8_AAur*, *ITm-9_AAur*, *ITm-15_AAur*) относятся к семейству *Visitor* и еще один элемент (*ITm-16_AAur*) принадлежит к семейству *MLE*. МГЭ, относящиеся к семействам *maT*, *mosquito*, *Guest*, *L18*, обнаружить не удалось (рис. 1). Отсутствие у ушастой медузы элементов *L18* также было показано ранее [34].

Visitor/DD41D

На данный момент элементы *Visitor/DD41D* классифицируют как отдельное семейство [11, 13]. Это семейство было разделено на шесть подсемейств (*VS-A*, *VS-B*, *VS-C*, *VS-D*, *VS-E*, *Leidy*) [35]. В настоящем исследовании в геноме медузы мы обнаружили 4 МГЭ, относящихся к группе *Visitor* (табл. 1). Элементы *ITm-15_AAur*, *Visitor-1_PBac*, *Visitor-2_PBac*, *Visitor-1_BOva* сформировали группу с достаточно высоким значением бутстрепа (67%), названную нами *VS-beplau*. Элементы *ITm-7_AAur*, *ITm-8_AAur* сформировали группу (бутстреп 100%), которую мы назвали *VS-aura*. Можно предположить, что элементы *ITm-7_AAur*, *ITm-8_AAur* являются частью группы *VS-D* с низким значением бутстрепа (55%). Элемент *ITm-9_AAur* вошел в группу *VS-B* (рис. 1).

Для МГЭ семейства *Visitor* общая длина транспозонов составляет примерно 1300–4400 пн. Длина КИП варьирует от 15 до 1900 пн [11, 13, 36]. У *ITm-8_AAur* КИП обнаружить не удалось, следовательно элемент не способен к перемещению, однако ОРС транспозазы *ITm-8_AAur* не имеет повреждений. Это может свидетельствовать о том, что транспозаза сохраняет свою ферментативную активность. У элемента *ITm-15_AAur* общий раз-

мер транспозона был типичен для этого семейства (1847 пн), а также были обнаружены КИП типичного размера (87 пн). Однако транспозаза элемента оказалась делетированной (107 а.о.). Элементы *ITm-7_AAur*, *ITm-9_AAur* представляют собой укороченные последовательности транспозазы без КИП (табл. 1).

У элементов *ITm-7_AAur*, *ITm-8_AAur* общее число копий составило от 23 до 29. Элемент *ITm-9_AAur* присутствует в виде единственной копии. *ITm-15_AAur* был представлен 129 копиями. При этом у четырех обнаруженных МГЭ полноразмерных копий не выявлено (табл. 1).

Как известно, потенциальную активность *mariner*-подобных транспозаз можно оценить по наличию ДНК-связывающего домена PAIRED, GRPR-мотива в головной части белка и каталитического домена (DDE/D) в хвостовой части. Также у некоторых *mariner*-подобных транспозаз определяется NLS – последовательность сигнала ядерной локализации.

Анализ транспозаз обнаруженных нами элементов показал, что PAI-субдомен присутствует только в транспозазах элементов *ITm-7_AAur* и *ITm-8_AAur* – у транспозазы элемента *ITm-7_AAur* в наличии только одна альфа-спираль, а у транспозазы элемента *ITm-8_AAur* две спирали вместо трех. Вторые три альфа-спирали RED-субдомена обнаружались у транспозазы элемента *ITm-8_AAur*, но третья альфа-спираль очень укорочена, что скорее всего свидетельствует о ее нефункциональности.

GRPR-мотив найден в транспозазах элементов *ITm-7_AAur* и *ITm-8_AAur*. Он расположен типично, в головной части белка, между PAI и RED субдоменами. NLS у элементов данного семейства не найден.

Каталитическому домену для сохранения своей ферментативной активности необходимо наличие всех трех маркерных аминокислотных остатков (двух аспаргатов (D) и третьего глутамата (E) или аспартата – DDE/D-домен), поэтому данная область обладает наибольшей консервативностью по сравнению с другими частями транспозазы [37] (рис. 1). В большинстве случаев для семейства *Visitor* характерен каталитический домен DD40-41D [38]. *ITm-8_AAur* имеет классический домен, свойственный транспозонам этой группы. У *ITm-15_AAur* сохранилась только вторая часть каталитической триады D41D. У двух других элементов – *ITm-7_AAur* и *ITm-9_AAur* в домене имелись видимые отличия, а именно у элемента *ITm-7_AAur* третий D (аспаргат) в каталитической триаде отсутствовал, а у элемента *ITm-9_AAur* он был заменен на E (глутамат), также количество аминокислотных остатков между аспаргатом и глутаматом составило 47 вместо типичных 40–41 (рис. 2). Данные изменения в консервативном домене вероят-

Таблица 1. ДНК-транспозоны суперсемейства *Tc1/mariner* в геноме медузы *A. aurita*

Элемент	Семейство/ подсемейство	Длина, пн	КИП, пн	СИП, пн	ТП, а.о.	Общее число копий	Число ПР	Число ПФ	Каталитический домен*
<i>ITm-1_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	4322	90/90	–	359	9	1	1	D106D34E, DNDPSQ
<i>ITm-2_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	2152	26/26	–	358	31	5	2	N104D34E, DGDPSQ
<i>ITm-3_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	4614	229/230	–	370	415	1	0	N105D34E, DGDPSQ
<i>ITm-4_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	963	–	–	320	8	0	0	E106D34E, DGDPSQ
<i>ITm-5_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	960	–	–	319	9	0	0	E106D34E, DGDPSQ
<i>ITm-6_AAur</i>	<i>TLE</i>	267	–	–	89	1	0	0	?D34Q, DNNPKH
<i>ITm-7_AAur</i>	<i>Visitor/VS-aura</i>	813	–	–	270	23	0	0	D94D?, DGGSAH
<i>ITm-8_AAur</i>	<i>Visitor/VS-aura</i>	1044	–	–	347	29	0	0	D94D41D, DGAPAH
<i>ITm-9_AAur</i>	<i>Visitor/VS-B</i>	699	–	–	232	1	0	0	D92D47E, DGAPPH
<i>ITm-10_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	381	–	–	127	6	0	0	D92D47E, DGDPSQ
<i>ITm-11_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	249	–	–	89	5	0	0	?D34E, DNDPSQ
<i>ITm-12_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	249	–	–	84	8	0	0	?D34E, DGDPSQ
<i>ITm-13_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	348	–	–	116	5	0	0	?D34E, DKDPSQ
<i>ITm-14_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	321	–	–	106	6	0	0	?D34E, DGCPRQ
<i>ITm-15_AAur</i>	<i>Visitor/VS-beplau</i>	1847	87/87	–	107	129	0	0	?D41D, DDAPVH
<i>ITm-16_AAur</i>	<i>MLE/vertumnana</i>	1325	50/52	–	347	49	22	0	D104G34D, GHASAH
<i>ITm-17_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	3770	34/35	40/41	303	28	3	0	L98D34E, DGCPRQ
<i>ITm-18_AAur</i>	<i>TLE/Aurum</i>	732	–	–	244	5	0	0	D105D34E, DGDPSQ

Примечание. пн – пары нуклеотидов, а.о. – аминокислотные основания, КИП – концевые инвертированные повторы, СИП – субконцевые инвертированные повторы, ТП – транспозаза, ПР – полноразмерные копии, ПФ – потенциально-функциональные копии, * – указан паттерн DDE/D-домена, включающий маркерные аминокислотные основания и протяженность между ними в а.о., а также консервативную область из шести а.о. в районе второго маркерного аминокислотного основания, “?” – неидентифицированный элемент каталитического домена.



Рис. 2. Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей транспозаз *A. aurita*. Серым выделены шесть α -спиралей, формирующих PAIRED-домен; жирным курсивом обозначен гипотетический сигнал ядерной локализации (NLS); выделен жирным и подчеркнутым GRPR-подобный мотив; черным показаны маркерные локусы каталитического домена.

но могут негативно повлиять на ферментативные свойства транспозазы.

Обобщая результаты анализа доменной структуры элементов *Visitor* ушастой медузы, мы пред-

полагаем, что семейство *Visitor* представлено в геноме только нефункциональными копиями, поскольку каждый элемент имеет какое-либо видимое повреждение.

MLE/DD34D

MLE является хорошо изученным семейством группы *Tc1/mariner* [17]. Это семейство считается одной из основных групп ДНК-транспозонов и широко представлено во всех организмах. Транспозоны *MLE* особенно часто встречаются у высших животных, где они способны к горизонтальному переносу между видами [39]. Протяженность транспозонов *MLE* составляет около 1300 пн. Размеры КИП варьируют от 20 до 40 пн и транспозаза состоит из 340 а.о. [40]. В результате филогенетического анализа было установлено, что один из обнаруженных нами элементов (*ITm-16_AAur*) относится к этому семейству (рис. 1). Общая длина транспозона и самой транспозазы, а также КИП была типична для семейства *MLE*. ОПС элемента *ITm-16_AAur* содержит множество стоп-кодонов.

Семейство *MLE* имеет характерный каталитический домен DD34D [40]. У *ITm-16_AAur* каталитический домен претерпел изменения: в каталитической триаде второй D (аспартат) был заменен на (G) глицин (рис. 2).

ДНК-связывающий мотив у транспозазы элемента *ITm-16_AAur* также оказался неполноценен: из трех альфа-спиралей в PAI-субдоме присутствуют только две. GRPR-мотив и NLS не обнаружены.

В результате анализа, проведенного с помощью программы BLASTn, было обнаружено 49 копий элемента *ITm-16_AAur*. При этом количество полноразмерных копий составило 22 (табл. 1). Однако анализ доменной структуры транспозазы показал, что все обнаруженные элементы в настоящее время являются нефункциональными.

TLE/DD34–38E

Семейство *TLE* – также одно из самых распространенных семейств группы *Tc1/mariner*. Первый представитель семейства *TLE*, транспозон *Tc1*, имеющий активную транспозазу, был обнаружен в геноме нематоды *Caenorhabditis elegans* [41, 42]. Транспозоны этой группы также широко распространены в геномах позвоночных, включая телостных рыб [43]. Семейство *TLE* включает элементы протяженностью 1200–2000 пн [25–28, 35, 43, 44]. Для транспозонов *TLE* характерен домен DD34E [45]. Тем не менее за последние годы были обнаружены элементы *TLE* с нехарактерным доменом для этого семейства. Таким образом это семейство разделилось на несколько подсемейств: *TRT/DD37E* [25], *Incomer/DD36E* [26], *Intruder/DD38E* [28], *TLEWI/DD36E* [44], *Traveler/DD35E* [27] и *ctmTLE/DD34E* [35].

В геноме *A. aurita* мы обнаружили 13 элементов, относящихся к группе *TLE* (табл. 1). В результате филогенетического анализа 12 элементов сформировали отдельную группу *Aurum* с вы-

соким значением бутстрепа (100%) (рис. 1). На филогенетическом дереве видно, что элементы группы *Aurum* близко расположены к подсемейству *TRT*. Таким образом можно предположить, что отделившаяся группа *Aurum* представляет новое подсемейство *TLE*. Здесь же следует отметить, что элемент *ITm-6_AAur* не вошел в эту группу, а также ни в одно известное подсемейство *TLE*. Однако на основании проведенного филогенетического анализа можно сказать, что он также относится к семейству *TLE* (рис. 1).

Анализ числа копий транспозонов, относящихся к семейству *TLE*, показал, что у десяти элементов (*ITm-1_AAur*, *ITm-4_AAur*, *ITm-5_AAur*, *ITm-6_AAur*, *ITm-10_AAur*, *ITm-11_AAur*, *ITm-12_AAur*, *ITm-13_AAur*, *ITm-14_AAur*, *ITm-18_AAur*) низкое количество копий – от 1 до 9. Два элемента (*ITm-17_AAur*, *ITm-2_AAur*) имеют от 28 до 31 копии. И только один элемент (*ITm-3_AAur*) имеет очень высокое (415) число копий (табл. 1). Из 13 МГЭ этой группы полноразмерные копии обнаружены только у четырех элементов (*ITm-1_AAur*, *ITm-2_AAur*, *ITm-3_AAur*, *ITm-17_AAur*). У транспозонов *ITm-1_AAur*, *ITm-3_AAur* полноразмерные копии присутствовали в единственном числе. У *ITm-2_AAur* и *ITm-17_AAur* обнаружено пять и три полноразмерных копий соответственно.

Длина полноразмерных транспозонов группы *Aurum* варьировала от 2152 до 4614 пн, тогда как характерная длина транспозонов для семейства *TLE* составляет 1200–2000 пн. Увеличение длины могло произойти из-за вставок в некодирующую последовательность. Длина полноразмерных транспозаз варьировала от 303–370 а.о., что является типичным для транспозаз этого семейства. Также у найденных нами полноразмерных МГЭ были обнаружены КИП, длина которых колебалась от 26 до 230 пн, что также характерно для семейства *TLE*. У *ITm-17_AAur* были обнаружены СИП, длина которых составила 40/41 пн. Однако у остальных полноразмерных транспозонов СИП обнаружены не были. У других элементов (*ITm-4_AAur*, *ITm-5_AAur*, *ITm-6_AAur*, *ITm-10_AAur*, *ITm-11_AAur*, *ITm-12_AAur*, *ITm-13_AAur*, *ITm-14_AAur*, *ITm-18_AAur*) длина транспозона оказалась значительно ниже, чем у *TLE*, и составила от 249 до 963 пн. Длина транспозазы варьировала от 84 до 320 а.о. КИП обнаружены не были (табл. 1).

Необходимо добавить, что при сравнении обнаруженных консервативных доменов с характерным паттерном для семейства *TLE* (*DD34E*) нами были выявлены некоторые различия. Два элемента (*ITm-1_AAur*, *ITm-18_AAur*) имели классический домен DD34E. У других десяти элементов были отличия в каталитической триаде, а именно у элементов *ITm-2_AAur*, *ITm-3_AAur* первый аспартат (D) заменился на аспарагин (N), у

ITm-4_AAur, *ITm-5_AAur* первый аспаргат (D) – на глутамат (E), а у *ITm-17_AAur* первый аспаргат (D) – на лейцин (L). У элементов *ITm-11_AAur*, *ITm-12_AAur*, *ITm-13_AAur*, *ITm-14_AAur* первый аспаргат (D) отсутствовал, зато вторая часть каталитической триады была сохранена D34E. Также следует отметить, что у элемента *ITm-10_AAur* в каталитическом домене DD47E наблюдались различия в протяженности между вторым аспаргатом (D) и третьим глутаматом (E) (рис. 2). Однако на филогенетическом дереве видно, что этот транспозон все же относится к семейству *TLE* (рис. 1). При сравнении каталитического домена у транспозона *ITm-6_AAur* с классическим доменом семейства *TLE* (DD34E) были выявлены отличия, а именно в каталитической триаде первый аспаргат (D) отсутствовал, а глутамат (E) был замещен на глутамин (Q) (рис. 2). В результате филогенетического анализа выявлено, что транспозон *ITm-6_AAur* относится к семейству *TLE*.

Анализ транспозаз обнаруженных нами элементов показал, что первые три альфа-спирали PAI-субдомена присутствуют только в транспозазах элементов *ITm-1_AAur*, *ITm-2_AAur* и *ITm-3_AAur*, у транспозаз остальных элементов они укорочены или отсутствуют. Вторые три альфа-спирали RED-субдомена обнаружались у транспозаз элементов *ITm-1_AAur*, *ITm-2_AAur*, *ITm-4_AAur*, *ITm-5_AAur* и *ITm-17_AAur* (рис. 2). Однако у элементов *ITm-1_AAur* и *ITm-5_AAur* альфа-спирали фрагментированы, что может свидетельствовать о их нефункциональности.

GRPR-мотив присутствует в транспозазах элементов *ITm-1_AAur*, *ITm-2_AAur*, *ITm-3_AAur*, *ITm-4_AAur*, *ITm-5_AAur* и *ITm-17_AAur*.

NLS у элементов *ITm-4_AAur* и *ITm-17_AAur* локализован в двух различных районах транспозазы. В транспозазах элементов *ITm-1_AAur* и *ITm-5_AAur* найдено по одной последовательности NLS, однако только у элемента *ITm-1_AAur* NLS расположен типично, между ДНК-связывающим и каталитическим доменами. Таким образом, потенциально функциональным условно можно считать только элемент *ITm-1_AAur*, поскольку он имеет черты функционального элемента (неповрежденную ОРС, КИП, GRPR-мотив, классический каталитический домен DD34E и NLS), однако из-за фрагментации одной альфа-спирали в ДНК-связывающем мотиве он может быть нефункционален, хотя насколько это сказывается на его активности не известно. Элемент *ITm-2_AAur*, вероятнее всего, также нефункционален, так как наличие мутации первого аминокислотного остатка в каталитическом домене, который является наиболее консервативной областью, может нарушать работу транспозазы.

Преобладающая доля элементов *Tc1/mariner* медузы представлена элементами семейства *TLE*.

В этой группе обнаружено новое подсемейство, названное *Aurum*. В семействе *Visitor* обнаружены две группы элементов *VS-aura* и *VS-beplau*, которые, возможно, являются новыми подсемействами. Анализ элементов *Tc1/mariner* в геноме медузы показал, что в настоящий момент изучаемые транспозоны находятся на стадии деградации и элиминации. Практически все элементы делетированы или имеют структурные изменения и соответственно не имеют потенциально функциональных копий. Элемент *ITm-3_AAur* был, по всей видимости, очень активен в прошлом (415 копий), возможно из-за особенностей его структуры или по другим причинам, однако на момент исследования этот элемент так же, как и другие, находится на завершающей стадии жизненного цикла.

Работа проведена в рамках Государственного задания ФГБУН ИМБИ “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. McClintock B. Chromosome organization and genetic expression // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 1951. V. 16. P. 13–47. <https://doi.org/10.1101/sqb.1951.016.01.004>
2. Guo B., Zou M., Gan X., He S. Genome size evolution in pufferfish: an insight from BAC clone-based *Diodon holocanthus* genome sequencing // BMC Genomics. 2010. V. 11. P. 396. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-396>
3. Feschotte C., Pritham E.J. DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes // Annu. Rev. Genet. 2007. V. 41. P. 331–368. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.40.110405.090448>
4. Bourque G., Burns K.H., Gehring M. et al. Ten things you should know about transposable elements // Genome Biology. 2018. V. 19. № 1. P. 199. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1577-z>
5. Piacentini L., Fanti L., Specchia V. et al. Transposons, environmental changes, and heritable induced phenotypic variability // Chromosoma. 2014. V. 123. № 4. P. 345–354. <https://doi.org/10.1007/s00412-014-0464-y>
6. Kojima K.K. Structural and sequence diversity of eukaryotic transposable elements // Genes Genet. Syst. 2020. V. 94. P. 233–252. Epub. 2018. Nov. 9. <https://doi.org/10.1266/ggs.18-00024>
7. 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>
8. Gao B., Wang Y., Diaby M. et al. 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>
 9. 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. № 12. P. 3262–3278.
<https://doi.org/10.1093/gbe/evy220>
 10. 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. № 5. P. 485–495.
<https://doi.org/10.1007/s13258-018-0648-6>
 11. 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. № 7. P. 1060–1073.
<https://doi.org/10.1093/gbe/evaa135>
 12. Claudianos C., Brownlie J., Russell R. et al. *maT* – a clade of transposons intermediate between *mariner* and *Tc1* // Mol. Biol. Evol. 2002. V. 19. № 12. P. 2101–2109.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004035>
 13. Zhang H.H., Shen Y.H., Xiong X.M. et al. Identification and evolutionary history of the DD41D transposons in insects // Genes Genomics. 2016. V. 38. P. 109–117.
<https://doi.org/10.1007/s13258-015-0356-4>
 14. Ivics Z., Izsvák Z. *Sleeping Beauty* transposition // Microbiol. Spectrum. 2015. V. 3. № 2. MDNA3-0042-2-14.
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0042-2014>
 15. 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. № 4. P. 501–510.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80436-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80436-5)
 16. Plasterk R.H., Izsvák Z., Ivics Z. Resident aliens: the *Tc1/mariner* superfamily of transposable elements // Trends in Genet. 1999. V. 15. № 8. P. 326–332.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(99\)01777-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(99)01777-1)
 17. Tellier M., Bouuaert C.C., Chalmers R. *Mariner* and the *ITm* superfamily of transposons // Microbiol. Spectrum. 2015. V. 3. № 2. MDNA3-0033-2014.
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0033-2014>
 18. Shi S., Puzakov M., Guan Z. et al. Prokaryotic and eukaryotic horizontal transfer of *Sailor* (DD82E), a new superfamily of *IS630-Tc1-mariner* DNA transposons // Biology (Basel). 2021. V. 10. № 10. P. 1005.
<https://doi.org/10.3390/biology10101005>
 19. 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. P. 107143.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107143>
 20. 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. № 3. P. 1103–1115.
<https://doi.org/10.1093/genetics/159.3.1103>
 21. 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. № 8. P. 566–580.
<https://doi.org/10.1007/s00239-018-9868-2>
 22. Lawley J.W., Gamero-Mora E., Maronna M.M. et al. The importance of molecular characters when morphological variability hinders diagnosability: Systematics of the moon jellyfish genus *Aurelia* (Cnidaria: Scyphozoa) // PeerJ. 2021. V. 9. e11954.
<https://doi.org/10.7717/peerj.11954>
 23. Dawson M.N., Sen Gupta A., England M.H. Coupled biophysical global ocean model and molecular genetic analyses identify multiple introductions of cryptogenic species // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2005. V. 102. P. 11968–11973.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0503811102>
 24. Луннова Н.Е. Динамика численности и биомассы популяций черноморского макрозоопланктона // Бюл. науки и практики. 2020. Т. 6. № 5. С. 74–82.
<https://doi.org/10.33619/2414-2948/54/09>
 25. 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. № 9. P. 2994–3005.
<https://doi.org/10.1093/gbe/evw213>
 26. 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.
<https://doi.org/10.1186/s13100-019-0188-x>
 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. № 3. P. 66–76.
<https://doi.org/10.1093/gbe/evaa034>
 28. 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. № 1. P. 32.
<https://doi.org/10.1186/s13100-020-00227-7>
 29. Zhang Z., Schwartz S., Wagner L.W. et al. A greedy algorithm for aligning DNA sequences // J. Computational Biol. 2000. V. 7. № 1–2. P. 203–214.
<https://doi.org/10.1089/10665270050081478>
 30. De Castro E., Sigrist C.J., Gattiker A. et al. ScanProsite: Detection of PROSITE signature matches and ProRule-associated functional and structural residues in proteins // Nucl. Acids Res. 2006. V. 34. P. W362–W365.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkl124>
 31. Buchan D.W., Minneci F., Nugent T.C. et al. Scalable web services for the PSIPRED Protein Analysis Workbench // Nucl. Acids Res. 2013. V. 41 (W1). P. W349–W357.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkt381>
 32. Edgar R.C. MUSCLE: A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity // Nucl. Acids Res. 2004. V. 32. P. 1792–1797.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
 33. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets // Mol. Biol. Evol. 2016. V. 33. № 7. P. 1870–1874.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>

34. Пузаков М.В., Пузакова Л.В. Распространенность, разнообразие и эволюция ДНК-транспозонов *L18* (DD37E) в геномах стрекающих (Cnidaria) // Мол. биология. 2022. Т. 56. № 3. С. 1–15
<https://doi.org/10.31857/S0026898422030120>
35. Puzakov M.V., Puzakova L.V., Cheresiz S.V., Sang Y. The *IS630/Tc1/mariner* transposons in three ctenophore genomes // Mol. Phylogenet. Evol. 2021. V. 163. P. 107231.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107231>
36. Bouallègue M., Filée J., Kharrat I. et al. Diversity and evolution of *mariner*-like elements in aphid genomes // BMC Genomics. 2017. V. 18. № 1. P. 494.
<https://doi.org/10.1186/s12864-017-3856-6>
37. Benjamin B., Yves B., Corinne A.G. Assembly of the *Tc1* and *mariner* transposition initiation complexes depends on the origins of their transposase DNA binding domains // Genetica. 2007. V. 130. № 2. P. 105–120.
<https://doi.org/10.1007/s10709-006-0025-2>
38. Gomulski L.M., Torti C., Bonizzoni M. et al. A new basal subfamily of *mariner* elements in *Ceratitis rosa* and other tephritid flies // J. Mol. Evol. 2001. V. 53. № 6. P. 597–606.
<https://doi.org/10.1007/s002390010246>
39. Robertson H.M., Lampe D.J. Distribution of transposable elements in arthropods // Annual Rev. Entomol. 1995. V. 40. P. 333–357.
<https://doi.org/10.1146/annurev.en.40.010195.002001>
40. Jacobson J.W., Medhora M.M., Hartl D.L. Molecular structure of a somatically unstable transposable element in *Drosophila* // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1986. V. 83. № 22. P. 8684–8688.
<https://doi.org/10.1073/pnas.83.22.8684>
41. Emmons S.W., Yesner L. High-frequency excision of transposable element *Tc1* in the nematode *Caenorhabditis elegans* is limited to somatic cells // Cell. 1984. V. 36. № 3. P. 599–605.
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(84\)90339-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(84)90339-8)
42. Eide D., Anderson P. Transposition of *Tc1* in the nematode *Caenorhabditis elegans* // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1985. V. 82. № 6. P. 1756–1760.
<https://doi.org/10.1073/pnas.82.6.1756>
43. Guo X.M., Zhang Q.Q., Sun Y.W. et al. *Tc1*-like transposase *Thm3* of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) can mediate gene transposition in the genome of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) // G3: Genes, Genomes, Genetics. 2015. V. 5. № 12. P. 2601–2610.
<https://doi.org/10.1534/g3.115.020933>
44. 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. № 3. P. 621–633.
<https://doi.org/10.1007/s00438-020-01645-1>
45. Capy P., Vitalis R., Langin T. et al. Relationships between transposable elements based upon the integrase-transposase domains: is there a common ancestor? // J. Mol. Evol. 1996. V. 42. № 3. P. 359–368.
<https://doi.org/10.1007/BF02337546>

Structure and Diversity of *Tc1/mariner* Transposons in the Genome of the Jellyfish *Aurelia aurita*

Yu. N. Ulupova^a, L. V. Puzakova^a, and M. V. Puzakov^{a, *}

^aFederal Research Center “Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas”, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, 299011 Russia

*e-mail: puzakov@ngs.ru

Transposable elements, DNA transposons and retrotransposons are DNA sequences capable of movement within the genome. It is assumed that they play one of their key roles in adaptive and evolutionary processes. One of the most studied groups of DNA transposons is the infraclass *ITm*, and in particular the superfamily *Tc1/mariner*. In this work, we considered the representation, structure, and evolution of *Tc1/mariner* DNA transposons in the jellyfish *Aurelia aurita*. It was found that the predominant proportion of *Tc1/mariner* elements of the jellyfish is represented by the *TLE* family. A new subfamily of *TLE* elements called *Aurum* has been identified. In addition, two groups of elements *VS-aura* and *VS-beplau* were found in the *Visitor* family, which are probably also separate subfamilies. Analysis of the structure and diversity of *Tc1/mariner* elements showed that at the moment *Tc1/mariner* transposons in the jellyfish genome are at the stage of degradation and elimination. Almost all elements are deleted or have structural changes, and, accordingly, do not have potentially functional copies.

Keywords: *Aurelia aurita*, transposable elements, *Tc1/mariner*, transposase, DNA transposons.