

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОРЯДКА МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ У БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД

Е.А. Сиротинина¹, Е.В. Романова², Д.Ю. Щербаков²

¹ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет,
Иркутск, e-mail: haleo.inc@gmail.com

²ФГБУН Лимнологический институт СО РАН, Иркутск,
e-mail: ERA_85@inbox.ru; dysh007@gmail.com

Порядки организации генов в полногеномных митохондриальных картах амфипод являются одними из наиболее разнообразных среди Crustacea и Arthropoda. Особенно высокой изменчивостью отличаются генетические карты у байкальских видов, где не наблюдается полностью идентичного порядка генов даже внутри одного семейства (например, Eulimnogammaridae), и представленных, в случае отдельных семейств, новыми уникальными порядками генов, совершенно не схожими даже между собой (Romanova, 2016).

Чтобы оценить произошедшие изменения в митохондриальных геномах у этих видов и их направление пошагово, мы попарно в различных комбинациях проанализировали 13 полных митохондриальных геномов байкальских видов (включая недавно собранные и аннотированные полные митохондриальные геномы видов *G.lacustris* и *M.branickii*), а также 5 небайкальских видов амфипод, то есть всего 18 полных митохондриальных геномов. Все митохондриальные геномы были секвенированы NGS-методом на платформе Illumina 1.9, собраны и аннотированы при помощи пайплайна биоинформатических инструментов (Bernt, 2013; Bankevich, 2012). За контроль взяли генетическую карту митохондриального генома, общую для всех ракообразных (Pan-crustacean ground pattern), с которой сравнивали порядки генов каждого вида (Kilpert, 2006), отмечая различия и их значение как индивидуально для вида, так и для всех видов внутри филогрупп амфипод, выделяя общие события в признаки, вероятно, характерные для всей группы или семейства. Особый интерес представляет группа семейства Micturoididae, поскольку именно в этой группе наблюдаются наиболее обширные перестановки, и картина изменений не универсальна для входящих в нее видов.

Мы проводили расчеты методами общих интервалов, построив деревья на основе устойчивых общих интервалов при помощи программы CREx (Common Interval Rearrangement Explorer) (Bernt, 2007), что позволило сначала определить и оценить последовательность определенного набора генов в целом как общий интервал для двух имеющихся порядков генов (независимо от их реального точного порядка), обозначив в целом некоторую функциональную связь этих блоков генов и их сохранность в эволюции, а затем упростить реконструкцию (Bernt, 2007; Perseke, 2008). Преимущество данного метода – возможность пошагово оценить произошедшие изменения в порядке генов и определить направление, в котором реконструкция более вероятна, т.к. предсказанное оптимальным путем событие требует меньше затрат эволюционного времени и энергии.

Данным методом мы успешно реконструировали возможные сценарии генных перестановок. 5 возможных сценариев включали в себя такие общие механизмы их возникновения, как случайная дупликация и потеря блоков генов (TDRL), инверсная TDRL (iTDRL), единичная транспозиция, единичная инверсия кодирующей цепи и единичная инверсная транспозиция (Xia, 2016; Jühling, 2012). Оценивали количество каждого типа перестановок у выборки амфипод и назначили цену события перестановки гена (k), т. к. в одном случае могли быть затронуты только блоки rPHK генов или отдельные rPHK, а в другом – протяженные блоки генов, включая многие белок-

кодирующие гены. Установленные уровни и вес перестановок обозначили на филогенетическом дереве, построенном в MrBayes v3.1 по транслированным нуклеотидным последовательностям 13 белок-кодирующих генов мтДНК с моделью нуклеотидных замен GTR+I+T.

Результат анализа сценариев генных перестановок хорошо согласуется с филогенетическим деревом и подтверждает гипотезу о неоднократном вселении в озеро Байкал предка амфиподной фауны (Romanova, 2016), поскольку по количеству и характеру перестановок среди байкальских видов можно выделить 2 группы – более молодую группу Eulimnogammaridae-Acanthogammaridae с большим количеством ($k = 7$) простых одношаговых перестановок, в основном, в результате транспозиций отдельных тРНК, и древнюю группу Micrurapadidae с относительно небольшим количеством комплексных перестановок (от $k = 3$ до 6), геномы которых, вероятно, изменили порядок генов посредством происшедшей неоднократно дупликации и случайной потери блоков генов (2–3 события TDRL на геном) и инверсий, причем у всех видов этой группы. Возможно, что на возникновение инверсий кодирующей цепи мтДНК оказали влияние события меж- или внутримолекулярной рекомбинации.

Подобные механизмы изменения порядка генов и отдельные схожие перестановки блоков обнаружены у более ранних ветвей небайкальских амфипод, что подтверждает древний возраст группы Micrurapadidae и ее близость к общему небайкальскому предку, с той особенностью, что Micrurapadidae демонстрируют, вероятно, гораздо большую скорость накопления и фиксации изменений в генетической организации при их меньшем количестве и сопоставимой сложности механизмов образования ($k = 7-8$ у небайкальских амфипод и $k = 3-5$ у Micrurapadidae). Установили, что для вида *L.vortex* внутри группы Micrurapadidae сложность и количество перестановок - наименьшее из всех исследованных амфипод. Генетическая карта *L.vortex* представляет собой, вероятно, наиболее близкое к предковому состоянию организации генома с $k=3$ простого типа (необходимо всего 2 транзиции тРНК и 1 обратная транзиция тРНК для превращения его генетической карты в карту базального предка), что может указывать на возможное неизменное состояние предка этой группы, другие потомки которого лишь в ходе эволюции в озере Байкал претерпели обширные и относительно быстрые перестановки генов. Также это может говорить в пользу оценки возраста вида *L.vortex* как значительно более молодого относительно других видов семейства Micrurapadidae. Факт наличия среди этого древнего семейства амфипод вида с генетической картой, настолько близкой к “оригиналу” и лишенной присущих его близким родственникам серьезных изменений является важной подсказкой, фокусируя внимание на этой группе и открывая возможности для поиска объяснения причин и механизмов, задействованных в столь беспрецедентно быстрых изменениях.

При аннотации событий перестановок на дереве MrBayes наиболее мобильные гены тРНК вынесли к общим узлам дерева в точках, где произошли данные смещения в генетических картах, что позволило отметить последовательность и иерархию их перемещений в геномах в ходе эволюции. Данную аннотацию проводили вручную, визуалью сравнивая все схемы митохондриальных геномов амфипод между собой и предковым порядком генов (Pancrustacean ground pattern), учитывая данные анализа филогенетического дерева. Также мы отметили узлы и ветви дерева, в которых произошли ряд дупликаций и переназначений (ремолдинга) отдельных тРНК. Так, у группы Acanthogammaridae-Eulimnogammaridae в настоящий момент времени наблюдается текущий процесс дупликаций и ремолдинга для гена trnL1. У вида *G.cabanisii* внутри этой клады единично дублированный ген trnL1-2 еще не прошел процесс ремолдинга в, вероятно, ген trnP2, как это произошло у находящегося в этой же кладе вида *E.vittatus*, что делает копию trnL1 у *G.cabanisii* «горячей точкой» данной перестановки, поскольку в остальных геномах этот ген уже подвергся модификации. Также, в группе Gammaroidea-Eulimnogammaridae происходит аналогичный процесс для гена trnH (произошла его

единичная дупликация и ремолдинг в ген *trnD2*), и при этом наблюдается случайная потеря оригинальной *trnD1* и ее вставка в локус вблизи области контрольного региона, что показывает наличие более сложных механизмов у группы *Acanthogammaridae*.

Все возникшие единичные копии, как и TDRL-блоки генов, в основном, находятся в геномах вблизи контрольных регионов, также являющихся «горячей точкой» для возникновения перестановок. Анализируя небольшие имеющиеся некодирующие участки, а также данные области, выявили наличие тандемных повторов, микросателлитных повторов и ряд псевдогенов тРНК и частей белок-кодирующих генов, в отдельных случаях могущих являться остатками от удаленных ранее из генома копий блоков генов в результате TDRL (что характерно для других таксонов ракообразных (Kilpert, 2006) и также других таксонов организмов, в т. ч. позвоночных).

Вероятным представляется наличие в окружающей среде озера Байкал особых условий, влияющих на скорость и характер возникновения генных перестановок у амфипод, хотя в настоящий момент неизвестно, каким образом и в какой степени данная группа организмов может отвечать на воздействие подобных факторов (Газиев, 2010).

Литература

Газиев А.И., Шайхаев Г.О. Ядерно-митохондриальные псевдогены // Молекулярная биология. – 2010. – Т. 44 (3). – С. 405–417.

Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A. SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing // Journal of Computational Biology. – 2012.

Bernt M., Donath A., Jühling F., Externbrink F. MITOS: Improved de novo Metazoan Mitochondrial Genome Annotation // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2013. – V. 69 (2). – P. 313–319.

Bernt M., Merkle D., Ramsch K., Fritzschn G. CREx: Inferring Genomic Rearrangements Based on Common Intervals // Bioinformatics. – 2007. – V. 23 (21). – P. 2957–2958.

Jühling F., Pütz J., Bernt M., Donath A. Improved systematic tRNA gene annotation allows new insights into the evolution of mitochondrial tRNA structures and into the mechanisms of mitochondrial genome rearrangements // Nucleic Acids Res. – 2012. – V. 40 (7). – P. 2833–2845.

Kilpert F., Podsiadlowski L. The complete mitochondrial genome of the common sea slater, *Ligia oceanica* (Crustacea, Isopoda) bears a novel gene order and unusual control region features // BMC Genomics. – 2006. – V. 7. – P. 241.

Perseke M., Fritzschn G., Ramsch K., Bernt M. Evolution of Mitochondrial Gene Orders in Echinoderms // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2008. – V. 47 (2). – P. 855–864.

Romanova E.V., Aleoshin V.V., Kamaltynov R.M., Mikhailov K.V. Evolution of mitochondrial genomes in Baikalian amphipods // BMC Genomics. – 2016. – V. 17 (14). – P. 1016.

Xia Y., Zheng Y., Murphy R.W., Zeng X. Intraspecific rearrangement of mitochondrial genome suggests the prevalence of the tandem duplication-random loss (TDLR) mechanism in *Quasipaa boulengeri* // BMC Genomics. – 2016. – V. 17. – P. 965.