

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ *TLEWI* ВИДА *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793)<sup>1</sup>

© 2024 г. М. В. Пузаков<sup>1</sup> \*, Л. В. Пузакова<sup>1</sup>, Ю. Н. Улупова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей  
им. А.О. Ковалевского» Российской академии наук, Севастополь, 299011 Россия

\*e-mail: [puzakov.mikh@yandex.ru](mailto:puzakov.mikh@yandex.ru)

Поступила в редакцию 29.03.2024 г.

После доработки 17.06.2024 г.

Принята к публикации 25.06.2024 г.

Мобильные генетические элементы (МГЭ) обнаруживаются в геномах практически всех эукариот. Они имеют характерное строение, обеспечивающее их транспозиционную активность, в результате которой МГЭ могут вносить изменения в структуру и функционирование генома. В ходе коэволюции с геномом последовательности МГЭ могут быть одомашнены. Под «молекулярным одомашниванием» подразумевают кооптацию последовательности МГЭ, в результате которой она начинает выполнять полезную функцию в геноме хозяина. У двусторчатых моллюсков были выявлены ДНК-транспозоны подсемейства *TLEWI*, которые обладают признаками одомашнивания, а также сплайсосомными интронами, что делает их похожими на гены эукариот. Для проверки гипотезы одомашнивания в данной работе был проведен внутривидовой анализ присутствия *TLEWI*-транспозонов у тихоокеанской устрицы (*Crassostrea gigas*) и их транскрипционной активности в различных тканях, в ходе онтогенеза и при воздействии внутренних и внешних факторов. В результате была выявлена внутривидовая гетерогенность по наличию потенциально функциональных копий и экспрессии генов транспозазы. Так, для двух элементов выявлена зависимость транскрипционной активности от стадий онтогенеза, а также от температуры. В связи с этим предполагается, что функциональные (возможно, одомашненные) аллели сохранились в отдельных популяциях тихоокеанской устрицы. Накопление дополнительных данных позволит обнаружить популяции, которые сохраняют активные гены транспозазы *TLEWI*, а также определить, были ли эти гены одомашнены геномом.

**Ключевые слова:** мобильные генетические элементы, ДНК-транспозоны, *TLEWI*, тихоокеанская устрица, *Crassostrea gigas*, молекулярное одомашнивание, генетическое разнообразие.

**DOI:** 10.31857/S0016675824110026 **EDN:** WBQMJM

За последние десятилетия были прочитаны последовательности геномной ДНК нескольких десятков тысяч видов эукариот. Мобильные генетические элементы (МГЭ) были обнаружены в каждом секвенированном геноме. МГЭ – последовательности ДНК, имеющие характерную структуру, которая может включать прямые или инвертированные повторы, кодирующие и регуляторные последовательности. Структурные особенности МГЭ позволяют им перемещаться из локуса в локус в пределах одного и того же генома (клетки) [1, 2]. В зависимости от механизма транспозиции МГЭ эукариот делят на классы – ретротранспозоны и

ДНК-транспозоны, каждый класс подразделяется на подклассы, надсемейства, семейства и т.д. [2, 3]. Некоторые МГЭ (например, эндогенные ретровирусы) имеют в своей структуре последовательности, позволяющие перемещаться из клетки в клетку [2]. Кроме того, известны случаи горизонтального переноса МГЭ между организмами [4].

Способность МГЭ к перемещениям определяет ряд их биологических функций. Так, МГЭ являются одним из основных факторов эволюции, поскольку служат постоянным источником изменчивости. Они могут вызывать как небольшие нуклеотидные изменения (короткие инсерции), так и протяженные хромосомные перестройки [1, 2]. Инсерции МГЭ подвергаются естественному отбору: мутации, влекущие снижение приспособленности

<sup>1</sup>Дополнительные материалы размещены в электронном виде по doi статьи.

хозяина, будут исчезать из популяции, в то время как нейтральные могут сохраняться, а полезные мутации даже закрепляться [5–7]. Также на МГЭ влияют и другие эволюционные процессы, например, генетический дрейф, в результате которого доля инсерционных мутаций может снижаться вплоть до полного исчезновения или возрастать и закрепляться в популяции. Параллельно с вовлеченностью в эволюционные процессы, связанные с хозяином, МГЭ амплифицируются и эволюционируют также внутри генома хозяина. Существует конкуренция между МГЭ — элементы, способные производить много копий, имеют больше шансов колонизировать геном и популяцию, чем те, активность которых снижена. В результате взаимодействия МГЭ и генома возникли сложные механизмы регуляции активности элементов [8]. Кроме того, известно явление молекулярного одомашнивания, в результате которого компоненты МГЭ могут стать функциональной единицей генома [8, 9].

МГЭ, прошедшие молекулярное одомашнивание, как правило, теряют вспомогательные структуры (прямые и инвертированные повторы). Кооптированные гены присутствуют в геноме в виде единственной копии (фрагмента). Ортологи таких генов могут быть обнаружены у нескольких видов [10]. На данный момент описано достаточно много генов, которые являются производными МГЭ, хотя функции многих из них остаются неясны [11]. Например, гены *Rag1* и *Rag2* (потомки ДНК-транспозонов), являются ключевыми компонентами специфического иммунитета и катализируют рекомбинацию V(D)J [12, 13]. Ген *SETMAR* приматов кодирует химерный белок (каталитический домен заимствован у транспозазы МГЭ *mariner*), участвующий в механизмах репарации ДНК, включая негомологическое соединение концов и восстановление двухцепочечных разрывов [14]. Также известна конвергентная кооптация *pogo*-подобных транспозаз, в результате которой организмы получили специфические центромера-связывающие факторы [15].

К-транспозоны подсемейства *TLEWI* (входящие в группу *IS630/Tc1/mariner*) были выявлены у двустворчатых моллюсков [16]. Эти МГЭ имели одиночные полноразмерные копии, утратили концевые инвертированные повторы (КИП) и содержали сплайсосомные интроны в кодирующей транспозазу последовательности. Для некоторых *TLEWI*-транспозонов были выявлены транскрибируемые последовательности РНК, в которых интронные области были удалены. Это может указывать на возможную функциональность гена. С учетом особенностей представителей *TLEWI* было высказано предположение относительно возможного их одомашнивания геномами моллюсков [16].

В настоящем исследовании мы предприняли попытку выяснить, являются ли гены

*TLEWI*-транспозаз одомашненными. В ходе работы мы провели сравнение представителей *TLEWI*-транспозонов в пяти сборках геномной ДНК разных особей тихоокеанской устрицы *Crassostrea (Magallana) gigas* (Thunberg, 1793). Также мы провели анализ дифференциальной экспрессии генов *TLEWI* с целью установить возможную зависимость от стадий развития, типа тканей и внешних воздействий.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Поиск и анализ последовательностей *TLEWI*-транспозонов

Поиск ДНК-транспозонов подсемейства *TLEWI* осуществлялся с помощью BLAST [17]. В качестве шаблона использовались кодирующие транспозазу последовательности элементов *TLEWI-1\_CGi*, *TLEWI-2\_CGi*, *TLEWI-3\_CGi*, *TLEWI-4\_CGi*, *TLEWI-5\_CGi*, которые были описаны ранее [16]. Сборки нуклеотидных последовательностей геномной ДНК устрицы *C. gigas* были взяты в коллекциях NCBI WGS (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Для удобства они были обозначены CGi(I), CGi(II), CGi(III), CGi(IV) и CGi(V) (табл. 1). Для определения границ полноразмерных (репрезентативных) элементов гомологии с наилучшим сходством к шаблону извлекались вместе с фланкирующими последовательность участками протяженностью 3000 п. н. КИП выявляли с помощью BLASTn [17]. Границы открытой рамки считывания (ОРС) и экзонов определялись визуально, исходя из наибольшей гомологии с шаблоном и наличием специфичных сайтов сплайсинга GT/AG. Количество копий *TLEWI*-транспозонов определяли подсчетом выявленных в геномных сборках гомологов репрезентативной копии с использованием BLASTn [17]. При подсчете копий учитывались последовательности длиной не менее 300 п. н. Копии, соразмерные репрезентативным элементам и содержащие соответствующее шаблону число экзонов, считали полноразмерными.

### Филогенетический анализ

В филогенетический анализ были включены аминокислотные последовательности всех описанных элементов *TLEWI* тихоокеанской устрицы (табл. 2), а также представителей семейств *Tc1* и *Mosquito*. Множественное выравнивание было выполнено с помощью MAFFT с применением метода G-INS-I [18]. Филогенетическое дерево было создано с использованием метода максимального правдоподобия в программе IQ-TREE [19] со сверхбыстрым бутстреп-анализом (UFBoot) — 1000 повторов [20], а модель VT+F+I+G4 была выбрана с помощью ModelFinder [21].

**Таблица 1.** Геномные сборки тихоокеанской устрицы *C. gigas*, использованные в анализе

№ п/п	Идентификатор	Дата публикации	Линия	Уровень сборки / геномный охват	Размер генома / количество компонентов	Scaffold N50
CGi(I)	GCA_902806645	19.02.2020	F23_Roslin	Chromosome / 70.0x	647,9 млн п. н. / 236	1,6 млн п. н.
CGi(II)	GCA_011032805	27.02.2020	QD	Chromosome / 196.0x	586,9 млн п. н. / 10	61,0 млн п. н.
CGi(III)	GCA_025765685	20.10.2022	CH1-GI (China: Qingdao)	Chromosome / 70.0x	606,4 млн п. н. / 88	60,5 млн п. н.
CGi(IV)	GCA_005518195	16.12.2019	BHY1A (China: The Bohai Sea)	Contig / 85.6x	587,5 млн п. н. / 3676	581,9 т. п. н.
CGi(V)	GCA_000297895	08.08.2019	05x7-T-G4-1.051#20	Scaffold / 196.0x	564,8 млн п. н. / 7655	286,9 т. п. н.

*Анализ транскрипционной активности*

Оценка дифференциальной экспрессии генов, кодирующих транспозазу, была выполнена с помощью совместного использования программ Kallisto (v0.46.1) и Sleuth (v0.30.0) [22]. Реализованный в Kallisto метод псевдовывравнивания архивов коротких нуклеотидных последовательностей (SRA) и полноразмерных транскриптов позволяет подсчитывать количество содержания РНК конкретного гена в образце, которое выражается в величине **TPM** (транскриптов на миллион п. н.). Далее с помощью Sleuth на основе предварительных количественных оценок, полученных с помощью Kallisto, создается нормализованная на уровне генов матрица TPM. В качестве референсных транскриптов использовался набор полноразмерных транскрибированных последовательностей устрицы GIUV000000000.1 из GenBank. В качестве материала для исследования были использованы SRA транскриптомов, размещенных в свободном доступе в коллекциях NCBI. Полный список проектов, в рамках которых проводилось секвенирование транскриптомных последовательностей, представлен в дополнительных материалах (Доп. мат. 1).

Из полученных результатов извлекались данные дифференциальной экспрессии генов пяти элементов *TLEWI*. Кроме того, в качестве контроля транскрипционной активности в образцах в анализ были взяты гены домашнего хозяйства *mdh1* (кодирует цитоплазматическую малатдегидрогеназу), *hprt1* (кодирует фермент гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазу), *tubb* (кодирует цитоскелетный белок тубулин) и *gfi2e1* (кодирует субъединицу общего фактора транскрипции ПЕ).

Данные визуализировались в виде тепловых карт. SRA группировали в зависимости от факторов воздействия на образцы, стадий онтогенеза устрицы и типа тканей. По интенсивности окрашивания ячеек проводился сравнительный анализ уровня транскрипционной активности. Были введены семь визуально различимых категорий: отсутствие (нет), очень слабый (о/сл), слабый (сл), средне-слабый (ср/сл), средний (ср), средне-сильный (ср/сил) и сильный (сил). Для описания динамики экспрессии были введены следующие категории: с зависимостью от условий (СЗ — экспрессия гена присутствует практически во всех точках и наблюдается очевидная тенденция изменения уровня активности), постоянная без зависимости от условий (ПБЗ — экспрессия гена присутствует практически во всех точках, но нет очевидного изменения уровня активности) и мозаичная (М — экспрессия гена проявляется случайным образом).

**РЕЗУЛЬТАТЫ***Представленность транспозонов TLEWI в геноме пяти особей тихоокеанской устрицы*

Для выявления ДНК-транспозонов *TLEWI* в сборках геномных последовательностей *Crassostrea gigas* в качестве образца были использованы кодирующие последовательности *TLEWI-1\_CGi*, *TLEWI-2\_CGi*, *TLEWI-3\_CGi*, *TLEWI-4\_CGi*, *TLEWI-5\_CGi*. Было изучено пять сборок, которые на момент исследования были представлены в базе NCBI (см. табл. 1). Характеристики полноразмерных или наиболее протяженных копий транспозонов *TLEWI*, полученные в результате исследования,

**Таблица 2.** Полноразмерные и репрезентативные копии транспозонов *TLEWI*, описанные у тихоокеанской устрицы *C. gigas*

Транспозон	Копия	Длина, пн	КИП, пн	Транспозаза, а. о.	Паттерн каталитического домена	Количество копий*
<i>TLEWI-1_CGi</i>	<i>TLEWI-1.1_GGi(I)</i>	3790	—	347	D87G36E	12(2)
	TLEWI-1.2_CGi(I)	3178	—	351	D87D36E	
	<i>TLEWI-1.1_CGi(II)</i>	3097	30	351	D87G36E	7(3)
	TLEWI-1.2_CGi(II)	2751	30	347	D87D35E	
	<i>TLEWI-1.3_CGi(II)</i>	2716	30	347	D87D35E	
	<i>TLEWI-1.1_CGi(III)</i>	2719	30	347	D87D35E	5(2)
	<i>TLEWI-1.2_CGi(III)</i>	3086	30	347	D87D36E	
	<i>TLEWI-1.1_CGi(IV)</i>	3014	—	355	D94D36E	6(2)
	<i>TLEWI-1.2_CGi(IV)</i>	7120	—	391	D87D36E	
	<i>TLEWI-1.1_CGi(V)</i>	2720	—	356	D87D36E	9(2)
	<i>TLEWI-1.2_CGi(V)</i>	2312	—	356	D87D36E	
<i>TLEWI-2_CGi</i>	<i>TLEWI-2.1_CGi(I)</i>	2534	—	353	D87D36E	1(1)
	<i>TLEWI-2.1_CGi(II)</i>	1575	—	353	D87D36E	4(3)
	<i>TLEWI-2.2_CGi(II)</i>	1580	—	353	D87D36E	
	<i>TLEWI-2.3_CGi(II)</i>	1580	—	353	D87D36E	
	<i>TLEWI-2.1_CGi(III)</i>	1580	—	353	D87D36E	2(1)
	<i>TLEWI-2.1_CGi(IV)</i>	2540	—	351	D85D35E	2(1)
	<i>TLEWI-2.1_CGi(V)</i>	1579	—	352	D87D36E	1(1)
<i>TLEWI-3_CGi</i>	<i>TLEWI-3.1_CGi(I)</i>	4047	—	343	D89N36E	3(1)
	<i>TLEWI-3.1_CGi(II)</i>	20759	—	378	D89D36E	2(1)
	<i>TLEWI-3.1_CGi(III)</i>	2476	25	343	D89D36E	2(1)
	<i>TLEWI-3.1_CGi(IV)</i>	1610	25	232	D?	1(0)
	<i>TLEWI-3.1_CGi(V)</i>	6947	—	416	D89D36E	3(1)
<i>TLEWI-4_CGi</i>	<i>TLEWI-4.1_CGi(I)</i>	1825	—	275	?D36E	1(0)
	<i>TLEWI-4.1_CGi(II)</i>	1518	—	272	D87D?	1(0)
	<i>TLEWI-4.1_CGi(III)</i>	6148	—	278	S117D36E	4(0)
	<i>TLEWI-4.1_CGi(VI)</i>	1730	—	338	D87D36E	3(1)
	<i>TLEWI-4.1_CGi(V)</i>	1521	—	274	D87D?	2(0)
<i>TLEWI-5_CGi</i>	<i>TLEWI-5.1_CGi(IV)</i>	1454	—	251	D??	1(0)
	<i>TLEWI-5.1_CGi(V)</i>	2006	—	351	D87D36E	1(1)

Примечание. Полужирным курсивом выделены элементы, имеющие потенциально-функциональный ген транспозазы;  
\* — в скобках указано количество полноразмерных копий.

были объединены в табл. 2. Для обозначения принадлежности копии к конкретной сборке после названия элемента в скобках указывали номер сборки. Для обозначения описываемой копии внутри сборки после номера элемента через точку добавляли номер копии. Например, обозначение *TLEWI-1.2\_CGi(IV)* означает «вторая копия элемента *TLEWI-1\_CGi* в полногеномной сборке *CGi(IV)*».

В пяти исследованных сборках устрицы было выявлено от 5 до 12 копий транспозона *TLEWI-1\_CGi*, среди которых было 11 полноразмерных (см. табл. 2). В сборках *CGi(I)*, *CGi(III)*, *CGi(IV)*, *CGi(V)* обнаружено по две полноразмерных копии, тогда как в *CGi(II)* найдено три. Выявленные элементы имели длину от 2716 до 3790 п. н., кроме элемента *TLEWI-1.2\_CGi(IV)*, длина которого составила 7120 п. н. Длина *TLEWI-1\_CGi*, описанного ранее [16], была 3749 п. н. Размер транспозазы у большинства копий варьировал от 347 до 355 а. о. Исключение составил *TLEWI-1.2\_CGi(IV)*, у которого длина транспозазы была несколько больше (391 а. о.). Увеличение протяженности *TLEWI-1.2\_CGi(IV)* явилось результатом вставки и в один из интронов, и в кодирующую последовательность. У большинства копий *TLEWI-1\_CGi* были выявлены сдвиги в открытой рамке считывания (OPC). В OPC копий *TLEWI-1.2\_CGi(II)*, *TLEWI-1.3\_CGi(II)*, *TLEWI-1.1\_CGi(III)* в четвертом экзоне наблюдается нарушение последовательности, в результате которого в области второго маркерного остатка (аспартат, D) каталитического домена был потерян серин (DNDSKH). Копии *TLEWI-1.1\_CGi(I)* и *TLEWI-1.2\_CGi(III)* имеют визуально неповрежденную OPC и могут быть функциональными. У копий *TLEWI-1.1\_CGi(II)*, *TLEWI-1.2\_CGi(II)*, *TLEWI-1.3\_CGi(II)*, *TLEWI-1.1\_CGi(III)*, *TLEWI-1.2\_CGi(III)* был обнаружен один концевой инвертированный повтор, что было показано и для *TLEWI-1\_CGi*, описанного ранее [16].

В результате поиска транспозона *TLEWI-2\_CGi* было выявлено семь полноразмерных копий. В сборках *CGi(I)*, *CGi(III)*, *CGi(IV)*, *CGi(V)* было обнаружено по одной такой копии, в *CGi(II)* — три копии. Длина последовательностей варьировала от 1575 до 2540 п. н. при референсном значении — 2160 п. н. [16]. Ни у одной из копий КИП обнаружены не были. Длина транспозазы была от 351 до 353 а. о. У трех копий (*TLEWI-2.1\_CGi(I)*, *TLEWI-2.1\_CGi(IV)*, *TLEWI-2.1\_CGi(V)*) кодирующая последовательность имела повреждения (стоп-кодона, сдвиги и разрывы). У остальных копий транспозазы визуально интактная и, возможно, функциональная. (см. табл. 2). Копия *TLEWI-2.1\_CGi(IV)* имела сдвиг рамки считывания, в результате которого количество аминокислотных остатков между вторым маркерным остатком (аспартат, D) и третьим (глутамат, E) составило 35. Общее количество копий

транспозона *TLEWI-2\_CGi* в пяти сборках варьировало от 1 до 4.

В четырех сборках было выявлено по одной полноразмерной копии транспозона *TLEWI-3\_CGi*. Не имела полноразмерного варианта только сборка *CGi(IV)*. Полноразмерные копии имели существенные различия по протяженности. *TLEWI-3.1\_CGi(III)* (2476 п. н.) была значительно короче референсной последовательности *TLEWI-3\_CGi*, описанной ранее (5498 п. н.) [16]. Копия *TLEWI-3.1\_CGi(I)* имела длину 4047 п. н. У *TLEWI-3.1\_CGi(II)* и *TLEWI-3.1\_CGi(V)* длина транспозона была увеличена вследствие вставок в некодирующие части (интроны) и составила 6947 и 20759 п. н. соответственно. Размеры транспозаз составили 232–416 а. о. Только две копии (*TLEWI-3.1\_CGi(II)*, *TLEWI-3.1\_CGi(III)*) имели визуально неповрежденную транспозазу, что предполагает сохранение функциональности. У *TLEWI-3.1\_CGi(III)* и *TLEWI-3.1\_CGi(IV)* было выявлено по одному концевому инвертированному повтору. Классический каталитический домен был сохранен у трех копий — *TLEWI-3.1\_CGi(II)*, *TLEWI-3.1\_CGi(III)*, *TLEWI-3.1\_CGi(V)*. У двух других — *TLEWI-3.1\_CGi(I)* и *TLEWI-3.1\_CGi(IV)*, имелись видимые отличия, а именно — у *TLEWI-3.1\_CGi(I)* второй аспартат (D) был замещен на аспарагин (N), а у *TLEWI-3.1\_CGi(IV)* сохранился только первый аспартат (D), при этом области второго и третьего маркерных оснований были утрачены. Общее количество копий транспозона *TLEWI-3\_CGi* варьировало от 1 до 3 (см. табл. 2).

При поиске копий транспозона *TLEWI-4\_CGi* единственная полноразмерная копия была обнаружена в сборке *CGi(IV)* (см. табл. 2). Длина *TLEWI-4\_CGi* по данным предыдущего исследования [16] составляла 2849 пн. Однако, у копии *TLEWI-4.1\_CGi(IV)* протяженность была всего 1730 п. н. вследствие укороченных интронов. Длина транспозазы составляла 338 а. о. Копии в других сборках имели существенные делеции. Ни одна из копий не имела КИП. Несмотря на то, что копия *TLEWI-4.1\_CGi(IV)* полноразмерная, она имеет разрывы кодирующей последовательности и внутренние стоп-кодона и, по всей видимости, не функциональна. В целом в сборках элемент *TLEWI-4\_CGi* был представлен в количестве от 1 до 4 копий (см. табл. 2).

В пяти исследованных сборках устрицы было выявлено только две копии транспозона *TLEWI-5\_CGi* (в сборках *CGi(IV)* и *CGi(V)*), среди которых лишь один полноразмерный вариант (*TLEWI-5\_CGi(V)*) (см. табл. 2). В сборках *CGi(I)*, *CGi(II)*, *CGi(III)* копий *TLEWI-5\_CGi* не выявлено. Протяженность *TLEWI-5\_CGi(V)* составляла 2006 п. н. Ни у одной копии КИП не были обнаружены. Транспозаза *TLEWI-5.1\_CGi(V)* (длина 351 а. о.) не имела явных повреждений и, по-видимому, может

быть функциональной. В каталитическом домене *TLEWI-5.1\_CGi(IV)* был утерян фрагмент, содержащий второй (D) и третий (E) маркерный остаток.

Таким образом, мы наблюдаем очевидную вариативность по количеству и качеству копий транспозонов *TLEWI* у пяти особей устрицы. Несмотря на то, что многие копии имеют делеции и нарушения кодирующей последовательности, сохраняются и визуально неповрежденные варианты. Четыре элемента, как минимум в одной из сборок, сохранили потенциально-функциональный ген транспозазы. Исключением является *TLEWI-4\_CGi*, для которого не было выявлено ни одной потенциально-функциональной копии. На выявленные различия в представленности транспозонов *TLEWI* у разных особей устрицы, несомненно, влияет качество секвенирования и сборки геномной ДНК. В результате неполного секвенирования и недостаточно качественной сборки можно получить ложноотрицательные результаты. Однако каждая из пяти сборок имеет удовлетворительные характеристики. Также и полученные в ходе исследования результаты (наличие элементов, количество копий) не дают оснований предполагать, что какая-то из сборок имеет более низкое качество.

#### *Эволюционное разнообразие транспозонов TLEWI тихоокеанской устрицы*

В филогенетический анализ были включены аминокислотные последовательности, кодируемые ОРС всех копий, приведенных в табл. 2. В качестве внешней группы были взяты транспозазы элементов семейства *Tc1* и *Mosquito* (рис. 1). Все копии элементов *TLEWI* сформировали единую кладу с бутстреп-поддержкой 100%. Транспозоны внутри клады с высокой достоверностью (от 75 до 100%) расположились в том же порядке, как и в предыдущем исследовании [16]. Согласно полученной эволюционной модели, *TLEWI-5\_CGi* является более рано дивергировавшим вариантом. Затем отщепляется *TLEWI-3\_CGi*, после него – *TLEWI-1\_CGi*, и наибольшее сходство продемонстрировали *TLEWI-2\_CGi* и *TLEWI-4\_CGi* (см. рис. 1). Копии транспозона *TLEWI-1\_CGi* сформировали два кластера, в каждом из которых присутствуют копии из всех пяти исследованных особей, что может свидетельствовать о формировании двух независимых линий транспозонов, эволюция которых началась до обособления вида *C. gigas*.

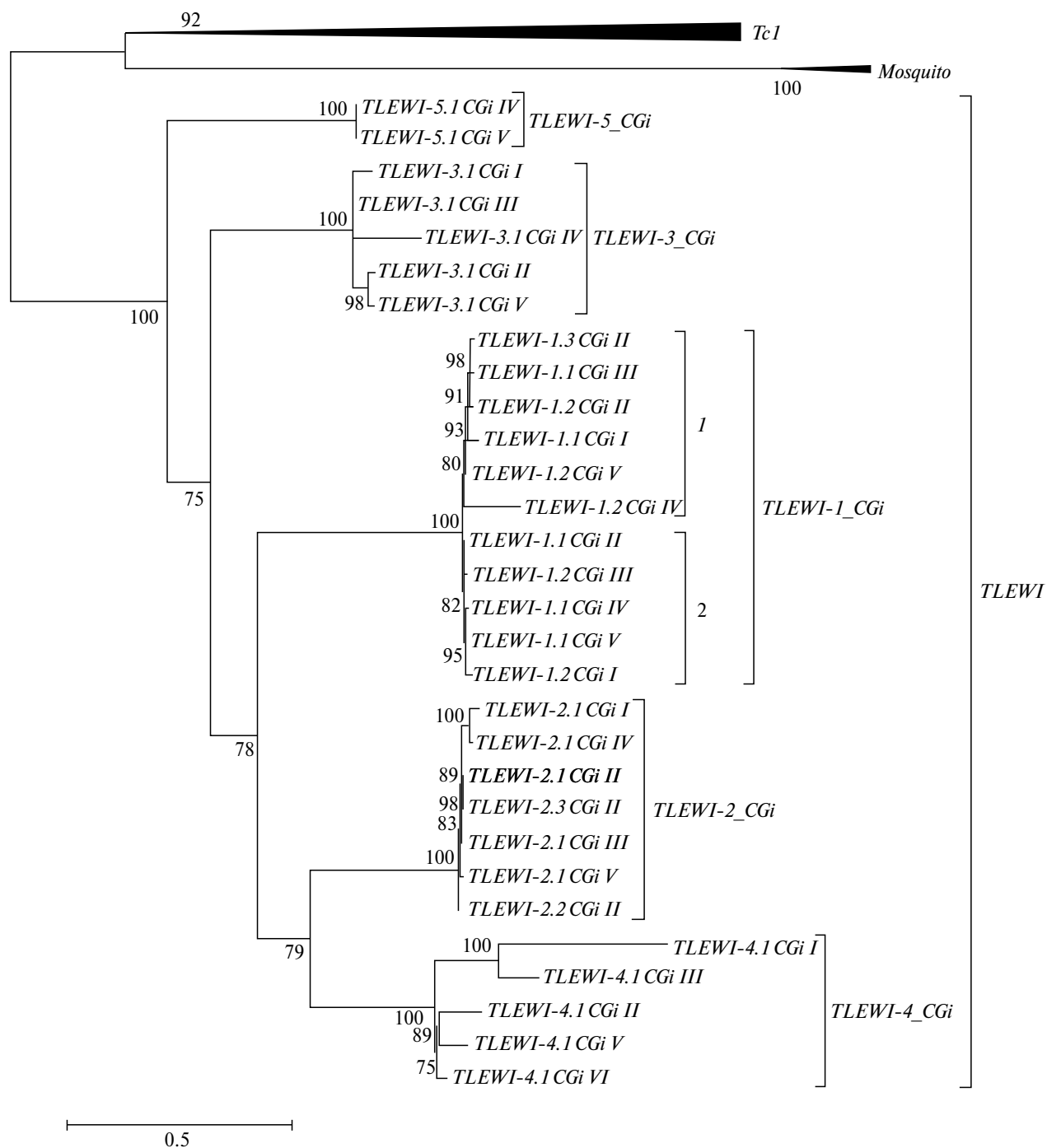
#### *Транскрипционная активность гена транспозазы элементов TLEWI*

Оценка дифференциальной экспрессии гена транспозазы элементов *TLEWI* была проведена с использованием SRA – транскриптомов, полученных из различных тканей устрицы, из особей на разных стадиях развития и из особей, подвергнутых

воздействию различных факторов, извлеченных из коллекций NCBI (табл. 3, Доп. мат. 1). В анализ транскрипционной активности был взят ген транспозазы всех пяти транспозонов *TLEWI*. В предыдущем исследовании были найдены потенциально-функциональные копии гена транспозазы и его полноразмерные транскрипты только для элементов *TLEWI-1\_CGi*, *TLEWI-2\_CGi* и *TLEWI-3\_CGi* [16]. В настоящем исследовании в одной из сборок мы обнаружили копию *TLEWI-5\_CGi* без очевидных нарушений, поэтому взяли ген этого элемента в анализ.

Несмотря на то, что не было обнаружено неповрежденных последовательностей *TLEWI-4\_CGi*, ген транспозазы *TLEWI-4\_CGi* также был включен в анализ, поскольку мы допустили, что у особей, материал которых был использован в анализе транскриптомов, может присутствовать потенциально-функциональный вариант. В качестве контроля качества образцов были взяты гены *gtf2e1* (кодирует субъединицу общего фактора транскрипции ПЕ), *mdh1* (кодирует фермент энергетического обмена цитоплазматическую малатдегидрогеназу), *hprt1* (кодирует фермент пуринового обмена гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазу) и *tubb* (кодирует цитоскелетный белок тубулин). В результате анализа данных не было выявлено транскрипции контрольных генов в группах PRJNA154615.1 и PRJNA154615.2 (см. табл. 3), хотя в некоторых тканях наблюдалась активность генов транспозонов. В гонадах выявлена транскрипция гена транспозазы *TLEWI-1\_CGi*, *TLEWI-3\_CGi* и *TLEWI-4\_CGi*. В пищеварительной железе отмечается активность *TLEWI-2\_CGi*, *TLEWI-3\_CGi* и *TLEWI-4\_CGi*, в мантии – *TLEWI-2\_CGi* и *TLEWI-4\_CGi*, а в мышце – *TLEWI-1\_CGi* (см. табл. 3).

В ходе исследования была выявлена зависимость уровня транскрипционной активности гена транспозазы *TLEWI-1\_CGi* от стадий онтогенеза устрицы (см. табл. 3, рис. 2). Выявлена динамика экспрессии от средне-слабого уровня на стадии яйца с повышением до среднего уровня (со стадии двухклеточного эмбриона до поздней умбо-1) и последующим ослаблением до полного выключения на стадии педивелигер 2. Единичный случай отсутствия транскрипции на стадии ранней морулы мы рассматриваем как артефакт. Также наблюдается зависимость экспрессии в жабрах от температуры: при 5°C слабый уровень, к 15°C нарастает до среднего, затем снижается, и при 25 °C транскрипция уже не выявляется (см. табл. 3, рис. 3). Кроме того, выявлена транскрипционная активность различной интенсивности (без очевидной зависимости) при изменении условий содержания (изменение солености воды и сочетанное воздействие голода и обезвоживания), а также при механическом воздействии (повреждение раковины). В остальных случаях экспрессия мозаичная.



**Рис. 1.** Филогенетическое разнообразие транспозонов *TLEWI* тихоокеанской устрицы. Бутстреп-значения менее 50% на дендрограмме не указаны. В анализе использовались 38 аминокислотных последовательностей, протяженность выравнивания 493 а. о.

Ген транспозазы элемента *TLEWI-2\_CGi* также продемонстрировал зависимость уровня транскрипции от температуры (см. табл. 3, рис. 3). Наблюдается повышение от средне-слабого (5°C) к среднему уровню (10 и 15°C) и последующее снижение к средне-слабому и слабому при 20 и 25°C

соответственно. Кроме того, выявлена динамика экспрессии при изменении солености воды (см. табл. 3, рис. 4). При 5‰ уровень транскрипции слабый. После повышения содержания соли до 10‰ происходит повышения уровня транскрипции до среднего. При дальнейшем повышении

**Таблица 3.** Транскрипционная активность генов транспозазы элементов *TLEWI* в различных тканях в ходе онтогенеза и при воздействии стрессирующих факторов

Условия	Элементы				
	<i>TLEWI-1_CGi</i>	<i>TLEWI-2_CGi</i>	<i>TLEWI-3_CGi</i>	<i>TLEWI-4_CGi</i>	<i>TLEWI-5_CGi</i>
Воздух и голод, жабры PRJNA146329.7	М (сл–ср)	М (оч/сл–ср)	М (сл–ср)	Нет (одно исключение–сл)	М (оч/сл–ср)
Воздух и голод, мышцы PRJNA146329.7	ПБЗ (оч/сл–ср/сил)		ЗУ (ср–ср/сл–оч/сл)	М (оч/сл–сл)	
Соленость, жабры PRJNA146329.8	М (сл–ср/сил)	ЗУ (оч/сл–ср–выкл)	М (ср/сл–ср)	М (оч/сл–ср/сл)	М (оч/сл–сил)
Соленость, жабры PRJNA167099	ПБЗ (ср–ср/сил)	М (сл)	Нет	Нет	М (сл)
Температура, жабры PRJNA146329.9	ЗУ (сл–ср–выкл)	ЗУ (сл–ср–сл)	М (ср/сл–ср/сил)	ПБЗ (оч/сл–ср/сл)	Нет (1 исключение –сл)
Температура, мантия PRJNA316154	ПБЗ (сл–ср/сил)	М (ср/сл–ср)	М (оч/сл–ср/сл)	М (оч/сл–ср/сл)	Нет
Температура, жабры PRJNA407831	М (оч/сл– ср/сл)	ПБЗ (оч/сл–ср/сл) для BYQJ и LTX М (оч/сл–ср/сл) для BYQX и LTJ	ПБЗ (слср/сил)	М (оч/слср/сл)	М (оч/слср/сил)
Температура + инфекция, целый организм PRJNA593309.1, PRJNA593309.2	М (оч/сл–ср)	М (оч/сл–ср/сл)	М (оч/сл–ср/сл)	Нет (одно исключение – оч/сл)	Нет (одно исключение – оч/сл)
Температура + инфекция, целый организм PRJNA593309.3					М (оч/сл–ср)
рН + температура, целый организм PRJNA298285.1	М (сл–ср/сл)	М (оч/сл–ср/сл)	ПБЗ (сл–ср)	Нет	М (оч/сл–ср/сл)
рН + температура, целый организм PRJNA298285.2 – PRJNA298285.4				М (оч/сл–сл)	
рН, целый организм PRJNA735889.1 – PRJNA735889.5	М (оч/сл–ср/сил)	М (оч/сл–ср)	М (оч/сл–ср/сил)	М оч/сл–ср/сл)	М (оч/сл–ср/сил)



Таблица 3. Окончание

Условия	Элементы				
	<i>TLEWI-1_CGi</i>	<i>TLEWI-2_CGi</i>	<i>TLEWI-3_CGi</i>	<i>TLEWI-4_CGi</i>	<i>TLEWI-5_CGi</i>
Стадии, целый организм PRJNA146329.10	<b>ЗУ (ср/ сл—ср—выкл)</b>	<b>М (оч/сл—ср/сл)</b>	<b>М (оч/сл—ср)</b>	<b>ЗУ (оч/сл—ср/ сл—выкл)</b>	<b>М (оч/сл—сл)</b>
Стадии* PRJNA154615.1	М (ср—сил)	М (оч/сл—ср)	М (ср/сл)	Нет	Нет
Гемолимфа* PRJNA154615.2	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет
Жабры* PRJNA154615.2	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет
Губные щупы* PRJNA154615.2	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет
Мантия* PRJNA154615.2	Нет	ср/сл	Нет	сл	Нет
Приводящая мышца* PRJNA154615.2	ср/сил	Нет	Нет	сл	Нет
Пищеварительная железа* PRJNA154615.2	Нет	ср	ср/сил	Нет	Нет
Гонады (женские)* PRJNA154615.2	ср	Нет	сил	сил	Нет
Остатки* PRJNA154615.2	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет

Примечание. \* — отсутствовала экспрессия контрольных генов. М — мозаичная; ПБЗ — постоянная без зависимости; ЗУ — зависимая от условий, в скобках указаны диапазоны уровня транскрипционной активности. Уровни транскрипции: очень слабый (оч/сл), слабый (сл), средне-слабый (ср/сл), средний (ср), средне-сильный (ср/сил) и сильная (сил).

концентрации соли уровень снижается до средне-слабого и затем практически исчезает. В условиях высокой температуры в двух из четырех линиях устрицы в жабрах показана транскрипционная активность различной интенсивности (от очень слабой до средне-слабой), но без очевидной зависимости (см. табл. 3). В других экспериментах ген элемента *TLEWI-2\_CGi* транскрибировался мозаично.

Наблюдается зависимость экспрессии гена элемента *TLEWI-3\_CGi* при сочетанном воздействии голода и обезвоживания. До начала воздействия (контроль) и в первые сутки уровень транскрипции средний, затем начинает снижаться до средне-слабого и на 9–11-й день экспрессия практически прекращается (см. табл. 3, рис. 5). Экспрессия без очевидной зависимости от условий наблюдается при анализе ответа гена транспозазы на изменение температуры и комбинированное воздействие температуры и pH (см. табл. 3).

Ген транспозазы элемента *TLEWI-4\_CGi* так же, как и *TLEWI-1\_CGi*, показал динамику транскрипционной активности в ходе онтогенеза. От очень слабого уровня (яйцо) с постепенным повышением до средне-слабого (умбо 2 — поздняя умбо 1) и последующим понижением до полного отсутствия экспрессии (спат, ювенильная) (см. табл. 3, рис. 2). Также наблюдается постоянная экспрессия различной интенсивности в жабрах, но без очевидной зависимости (см. табл. 3, рис. 3). В остальных экспериментах транскрипционная активность мозаичная или отсутствует. У гена транспозазы элемента *TLEWI-5\_CGi* в большинстве случаев экспрессия мозаичная или отсутствует (см. табл. 3).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Термин «молекулярное одомашнивание» подразумевает кооптацию последовательности МГЭ, которая становится необходимой для функционирования генома хозяина. Некоторые исследователи

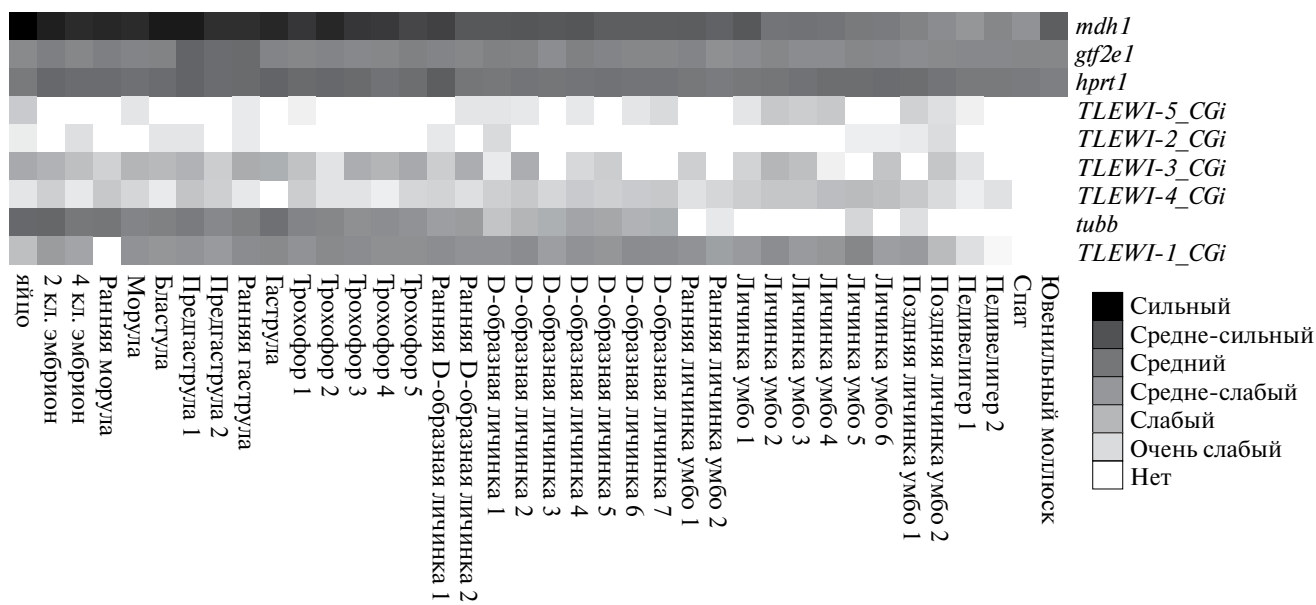


Рис. 2. Транскрипционная активность гена транспозазы элементов *TLEWI* тихоокеанской устрицы в процессе развития организма от яйца до ювенильной устрицы.

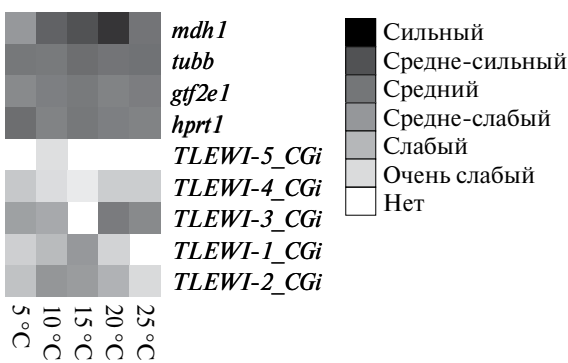


Рис. 3. Транскрипционная активность гена транспозазы элементов *TLEWI* в жабрах тихоокеанской устрицы после пребывания моллюсков в течение семи дней при различных температурных режимах.

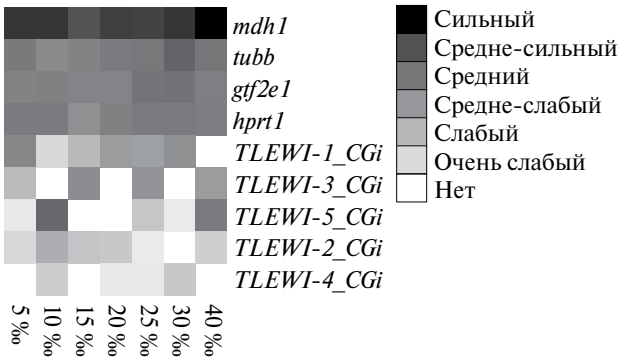
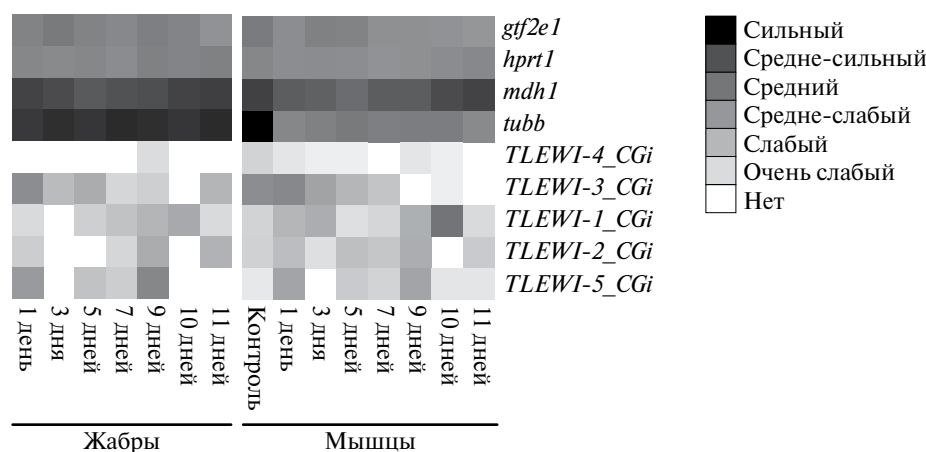


Рис. 4. Транскрипционная активность гена транспозазы элементов *TLEWI* в жабрах тихоокеанской устрицы после 12-часовой экспозиции моллюсков при различной солености.

предполагают, что молекулярное одомашнивание является итогом коэволюции МГЭ и генома [8, 9]. В результате МГЭ становится эволюционно «бессмертным», в отличие от его деградации и элиминации, которыми, как правило, обычно завершается их жизненный цикл [23, 24]. Известны случаи одомашнивания и среди транспозонов группы *IS630/Tc1/mariner* (к которым относятся *TLEWI*). Так, ген приматов *SETMAR* кодирует химерный белок, который обладает N-концевым доменом гистон-лизин-N-метилтрансферазы и C-концевым доменом морской транспозазы. Белок, кодируемый этим геном, участвует в восстановлении двухцепочечных разрывов [14]. *pogo*-подобные транспозазы у многоклеточных организмов по

меньшей мере трижды были независимо одомашнены в белки, участвующие в создании прицентромерного комплекса [15]. В связи с тем, что *TLEWI* обладают признаками одомашнивания, а также структурой, сходной с генами эукариот (наличие сплайсосомных интронов), высказывалась гипотеза, что *TLEWI* двустворчатых моллюсков были одомашнены [25]. Однако потенциально-функциональные гены были обнаружены только у двух видов, поэтому также рассматривался сценарий, в котором ген *TLEWI* был кооптирован, но затем его функция потеряла актуальность и стала необязательной (нейтральной) для хозяина. В ходе последующей эволюции функциональные аллели сохранились лишь у некоторых представителей группы



**Рис. 5.** Транскрипционная активность гена транспозазы элементов *TLEWI* в жабрах и мышцах тихоокеанской устрицы в процессе длительного пребывания без воды и пищи.

*Pteriomorpha*, тогда как нефункциональные ортологи остаются в виде псевдогенов у каждого второго представителя таксона [25].

Исследование пяти особей (сборок) тихоокеанской устрицы показало достаточно широкую вариабельность в представленности транспозонов *TLEWI* (см. табл. 2). Различия в количестве копий могут быть результатом как внутривидовой вариабельности, так и секвенирования. Тот факт, что потенциально-функциональные гены ни одного из транспозонов *TLEWI* не обнаруживаются у каждой особи, свидетельствует не в пользу гипотезы молекулярного одомашнивания. Тем не менее три транспозона имеют потенциально-функциональные гены в двух из пятиборок. Наибольшее количество таких генов выявлено в сборке CGi(III) (см. табл. 2). Транспозон *TLEWI-5\_CGi* был обнаружен только в двух сборках, что согласуется с филогенетическим анализом, согласно которому этот элемент является более древним (см. рис 1). Таким образом, представители тихоокеанской устрицы демонстрируют внутривидовую гетерогенность по количеству и качеству транспозонов *TLEWI* (см. табл. 2), что может свидетельствовать об активных эволюционных процессах.

Анализ транскрипционной активности также не дал однозначного результата. *TLEWI-5\_CGi* оказался единственным элементом, который во всех экспериментах показал случайную экспрессию (см. табл. 3). Наиболее «активным» оказался транспозон *TLEWI-1\_CGi*. Четыре из пяти транспозонов *TLEWI* в отдельных случаях демонстрировали экспрессию, зависящую от условий, а также устойчивую экспрессию без очевидной динамики. При этом в ходе анализа экспрессии в процессе онтогенеза было изучено около 40 контрольных точек, и два гена *TLEWI* продемонстрировали стадий-зависимую динамику уровня транскрипции

(см. рис 3). Мы считаем, что эти данные достаточно достоверно отображают поведение *TLEWI-1\_CGi* и *TLEWI-4\_CGi* в ходе развития устриц от яйца до взрослого организма. Также активность гена транспозазы *TLEWI* может меняться при изменении температуры и солености и в ходе регенеративных процессов. В то же время для одного и того же элемента (например, *TLEWI-1\_CGi*) наблюдается при сравнительно идентичных условиях/тканях как стабильная экспрессия, так и ее отсутствие (мозаичная).

Мы считаем, что в результатах анализа дифференциальной экспрессии столкнулись с тем же явлением, которое наблюдали при исследовании представленности элементов в пяти сборках. Очевидно, что внутривидовая гетерогенность тихоокеанских устриц является причиной противоречивых результатов и в оценке транскрипционной активности.

Известно, что индукцию транспозиционной активности МГЭ могут вызывать достаточно широкий спектр воздействий, как внутриклеточных, так и внешних. Среди них: высокие и низкие температуры, уровень pH, ультрафиолетовое излучение, магнитные поля, гамма-радиация, различные химические соединения, аутбридинг, инбридинг, инфекции, голодание и др. [26–28]. Предполагается, что активация транскрипции и транспозиции МГЭ может быть основной реакцией геномов на генетические и экологические стрессы, представляя собой, таким образом, мощный адаптивный ответ [28]. Некоторые МГЭ могут экспрессироваться на высоком уровне в эмбриональных стволовых клетках, но подавляются в ходе дифференцировки клеток [29]. Также экспрессия МГЭ неоднократно была выявлена в связи с различными патологиями, включая нейродегенеративные и возрастные заболевания, а также рак [30, 31]. В связи с этим

наличие транскрипционной активности само по себе не может быть признаком молекулярного одомашнивания. Однако характер экспрессии может позволить сделать такие предположения. Если бы во всех случаях наблюдалась мозаичная (случайная) экспрессия генов транспозаз *TLEWI*, мы бы могли утверждать, что транспозоны подсемейства *TLEWI* не были одомашнены. Однако продолжительная транскрипционная активность в ходе онтогенеза (дифференцировки клеток), на наш взгляд, может свидетельствовать об обратном. Поскольку тихоокеанская устрица является экономически значимым объектом, несомненно, что количество данных будет неуклонно расти. Анализ более широкого числа особей и прямые эксперименты позволят разрешить выявленные противоречия.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №23-26-00154, <https://rscf.ru/project/23-26-00154/>. Название проекта: «ДНК-транспозоны *IS630/Tc1/mariner* тихоокеанских устриц *Crassostrea gigas*: вклад в генетическую нестабильность и влияние на генетическое разнообразие».

Исследование одобрено Этическим комитетом Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского», (05.02.2024 г., протокол № 1).

Все применимые международные 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 Biology*. 2018. V. 19. № 1. P. 199. doi: 10.1186/s13059-018-1577-z
2. Kojima K.K. Structural and sequence diversity of eukaryotic transposable elements // *Genes Genet. Syst.* 2020. V. 94. P. 233–252. DOI: 10.1266/ggs.18-00024
3. Wells J.N., Feschotte C. A field guide to eukaryotic transposable elements // *Annu. Rev. Genet.* 2020. V. 23. № 54. P. 539–561. DOI: 10.1146/annurev-genet-040620-022145
4. Wallau G.L., Ortiz M.F., Loreto E.L. Horizontal transposon transfer in eukarya: Detection, bias, and perspectives // *Genome Biol. Evol.* 2012. V. 4. № 8. P. 689–699. DOI: 10.1093/gbe/evs055
5. Casacuberta E., González J. The impact of transposable elements in environmental adaptation // *Mol. Ecol.* 2013. V. 22. № 6. P. 1503–1517. DOI: 10.1111/mec.12170
6. Piacentini L., Fanti L., Specchia V. et al. Transposons, environmental changes, and heritable induced phenotypic variability // *Chromosoma*. 2014. V. 123. № 4. P. 345–354. DOI: 10.1007/s00412-014-0464-y
7. 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 Genomics*. 2018. V. 19. № 1. P. 339. DOI: 10.1186/s12864-018-4714-x
8. Jangam D., Feschotte C., Betrán E. Transposable element domestication as an adaptation to evolutionary conflicts // *Trends Genet.* 2017. V. 33. № 11. P. 817–831. DOI: 10.1016/j.tig.2017.07.011
9. Bowen N.J., Jordan I.K. Exaptation of protein coding sequences from transposable elements // *Genome Dyn.* 2007. V. 3. P. 147–162. DOI: 10.1159/000107609
10. Feschotte C., Pritham E. J. DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes // *Annu. Rev. Genet.* 2007. V. 41. P. 331–368. DOI: 10.1146/annurev.genet.40.110405.090448
11. Sinzelle L., Izsvák Z., Ivics Z. Molecular domestication of transposable elements: From detrimental parasites to useful host genes // *Cell. Mol. Life Sci.* 2009. V. 66 № 6. P. 1073–1093. DOI: 10.1007/s00018-009-8376-3
12. Kapitonov V.V., Jurka J. *RAG1* core and V(D)J recombination signal sequences were derived from *Transib* transposons // *PLoS Biol.* 2005. V. 3. № 6. DOI: 10.1371/journal.pbio.0030181
13. Panchin Y., Moroz L.L. Molluscan mobile elements similar to the vertebrate Recombination-Activating Genes // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. V. 369. № 3. P. 818–823. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.02.097
14. Kim H.S., Chen Q., Kim S.K. et al. The DDN catalytic motif is required for Metnase functions in non-homologous end joining (NHEJ) repair and replication restart // *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. № 15. P. 10930–10938. DOI: 10.1074/jbc.M113.533216
15. Mateo L., González J. Pogo-like transposases have been repeatedly domesticated into *CENP-B*-related proteins // *Genome Biol. Evol.* 2014. V. 6. № 8. P. 2008–2016. DOI: 10.1093/gbe/evu153
16. Puzakov M.V., Puzakova L.V., Cheresiz S.V. The *Tc1*-like elements with the spliceosomal introns in mollusk genomes // *Mol. Genet. and Genomics*. 2020. V. 295. № 3. P. 621–633. DOI: 10.1007/s00438-020-01645-1
17. Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs // *Nucl. Ac. Res.* 1997. V. 25. № 17. DOI: 10.1093/nar/25.17.3389
18. Yamada K.D., Tomii K., Katoh K. Application of the MAFFT sequence alignment program to large data-reexamination of the usefulness of chained guide trees // *Bioinformatics*. 2016. V. 32. № 21. P. 3246–3251. DOI: 10.1093/bioinformatics/btw412
19. Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies //

- Mol. Biol. Evol. 2015. V. 32. № 1. P. 268–274. DOI: 10.1093/molbev/msu300
20. *Hoang D.T., Chernomor O., von Haeseler A. et al.* UF-Boot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation // Mol. Biol. Evol. 2018. V. 35. № 2. P. 518–522. DOI: 10.1093/molbev/msx281
21. *Kalyaanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K.F. et al.* ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates // Nat. Methods. 2017. V. 14. № 6. P. 587–589. DOI: 10.1038/nmeth.4285
22. *Bray N.L., Pimentel H., Melsted P., Pachter L.* Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification // Nat. Biotechnol. 2016. V. 34. № 5. P. 525–527. DOI: 10.1038/nbt.3519
23. *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. № 9. P. 537–546. DOI: 10.1016/j.tree.2010.06.001
24. *Blumenstiel J.P.* Birth, school, work, death, and resurrection: The life stages and dynamics of transposable element proliferation // Genes (Basel). 2019. V. 10. № 5. P. 336. DOI: 10.3390/genes10050336
25. *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. DOI: 10.1007/s00239-018-9868-2
26. *Чересиз С.В., Юрченко Н.Н., Иванников А.В., Захаров И.К.* Мобильные элементы и стресс // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. №. 1–2. С. 217–242.
27. *Юрченко Н.Н., Коваленко Л.В., Захаров И.К.* Мобильные генетические элементы: нестабильность генов и геномов // Вавил. журн. генет. и селекции. 2011. Т. 15. №. 2. С. 261–270.
28. *Piacentini L, Fanti L, Specchia V et al.* Transposons, environmental changes, and heritable induced phenotypic variability // Chromosoma. 2014. V. 123. P. 345–354. DOI: 10.1007/s00412-014-0464-y
29. *Grow E.J., Flynn R.A., Chavez S.L. et al.* Intrinsic retroviral reactivation in human preimplantation embryos and pluripotent cells // Nature. 2015. V. 522. P. 221–225. DOI: 10.1038/nature14308
30. *Grundy E.E., Diab N., Chiappinelli K.B.* Transposable element regulation and expression in cancer // FEBS J. 2022 V. 289. P. 1160–1179. DOI: 10.1111/febs.15722
31. *Schwarz R., Koch P., Wilbrandt J., Hoffmann S.* Locus-specific expression analysis of transposable elements // Brief Bioinform. 2022. V. 23. DOI: 10.1093/bib/bbab417

## Molecular Domestication of *TLEWI* DNA Transposons: Evidence and Contradictions

M. V. Puzakov<sup>1,\*</sup>, L. V Puzakova<sup>1</sup>, Y. N. Ulupova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, 299011 Russia*

*\*e-mail: puzakov.mikh@yandex.ru*

Transposable elements (TE) are found in the genomes of almost all eukaryotes. They have a characteristic structure that ensures their transposition activity, as a result of which TE can make changes in the structure and functioning of the genome. Through coevolution with the genome, TE sequences can be domesticated. “Molecular domestication” refers to the co-optation of TE sequence, resulting in it becoming a functional part of the host genome. In bivalves, DNA transposons of the *TLEWI* subfamily have been identified, which have signs of domestication, as well as spliceosomal introns, which makes them similar to eukaryotic genes. To test the domestication hypothesis, this work carried out an intraspecific analysis of the presence of *TLEWI* transposons in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) and their transcriptional activity in various tissues, during ontogeny and under the influence of internal and external factors. As a result, intraspecific heterogeneity was revealed in the presence of potentially functional copies and expression of transposase genes. For example, for two elements, a dependence of transcriptional activity on the stages of ontogenesis, as well as on temperature, was revealed. This suggests that functional (possibly domesticated) alleles have been conserved in distinct populations of the Pacific oyster. The accumulation of additional data will allow us to discover populations that retain active *TLEWI* transposase genes and to determine whether these genes have been domesticated by genome.

**Keywords:** transposable elements, DNA transposons, *TLEWI*, Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, molecular domestication, genetic diversity.