

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧИСЛА КОПИЙ КОРОТКИХ РЕТРОПОЗОНОВ ID И B1 В ГЕНОМАХ ГРЫЗУНОВ

© 2007 г. Н. А. Вениаминова, К. П. Гоголевский, Н. С. Васецкий, Д. А. Крамеров\*

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва 119991

Поступила в редакцию 25.04.2007 г.

Принята к печати 22.05.2007 г.

*Ключевые слова:* SINE, ретропозон, ДНК дот-гибридизация, грызуны, Rodentia, геномика, эволюция.

COMPARATIVE ANALYSIS OF COPY NUMBER OF ID AND B1 SHORT RETROPOSONS IN RODENT GENOMES, by N. A. Veniaminova, K. P. Gogolevsky, N. S. Vassetzky, D. A. Kramerov\* (Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia, \*e-mail: kramerov@eimb.ru).

*Key words:* SINE, retroposon, DNA dot hybridization, Rodentia, genomics, evolution.

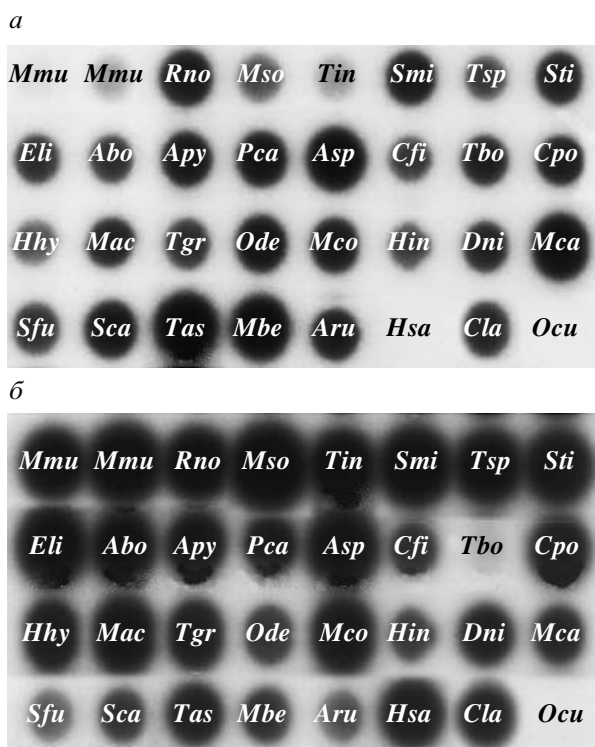
Мобильные генетические элементы, известные как короткие ретропозоны, или SINE (Short Interspersed Elements), представляют собой рассеянные по геномам эукариот повторяющиеся последовательности длиной от 80 до 400 п.н., амплификация которых происходит с помощью обратной транскрипции [1]. В геномах млекопитающих одного вида обычно имеется 2–4 семейства коротких ретропозонов, каждое из которых содержит от десятков до сотен тысяч копий. Их нуклеотидные последовательности, как правило, обладают 65–90%-ным сходством. SINE транскрибируются РНК-полимеразой III благодаря наличию в их 5'-концевой части промотора РНК-полимеразы III второго типа, состоящего из двух боксов (А и В), которые разделены последовательностью длиной 30–40 п.н. Короткие ретропозоны относятся к неавтономным мобильным элементам, поскольку не кодируют собственных ферментов и используют для своего размножения обратную транскриптазу, закодированную в одном из видов длинных ретропозонов, или LINE (Long Interspersed Elements). Большинство SINE млекопитающих размножается с помощью длинного ретропозона L1. Наиболее распространены семейства SINE, ведущие происхождение от молекул тРНК, поскольку их нуклеотидные последовательности обладают сходством с тем или иным видом тРНК. Два семейства коротких ретропозонов – B1 грызунов и Alu приматов [2–5] ведут происхождение от цитоплазматической 7SL РНК [6, 7], входящей в состав рибонуклеопротеидных частиц SRP (Signal Recognition Particles). SRP участвуют в узнавании сигнальных пептидов секретируемых и мембранных белков.

Недавно нами показано, что B1-элементы широко распространены среди грызунов, образующих самый большой и разнообразный отряд млекопитающих, который включает более 30 семейств [8, 9]. О распространении ID-элемента – другого SINE грызунов – известно намного меньше [10]. Этот элемент достаточно хорошо изучен в геномах крыс, мышей и морской свинки [11]. ID ведет свое происхождение от аланиновой тРНК<sup>CGC</sup>. Одна из копий ID стала геном малой не-транслируемой РНК BC1. Эта специфическая для грызунов РНК [12] участвует в регуляции трансляции мРНК в нейронах [13]. В свою очередь РНК BC1 стала непосредственным эволюционным предшественником одного из подсемейств ID-элемента, тогда как другие подсемейства возникли уже из него [11]. ID-элемент имеет длину около 100 п.н., состоит из тРНК-родственного района и А-богатого хвоста и относится к так называемым простым SINE [14].

В настоящей работе мы изучили распространение ID среди грызунов из 21 семейства и показали, что эта повторяющаяся последовательность ДНК свойственна всем исследованным грызунам. Проведена сравнительная оценка числа копий ID- и B1-элементов в геномах разных грызунов. Обнаружены димерные SINE, состоящие из этих двух элементов.

На рис. 1 представлены результаты дот-гибридизации геномных ДНК грызунов 29 видов с ID- и B1-элементами домашней мыши *Mus musculus*, меченными <sup>32</sup>P. Видно, что ДНК всех исследованных видов грызунов дают гибридационный сигнал, хотя его интенсивность довольно сильно варьирует. С помощью фосфоримиджера “Cyclus” определяли радиоактивность в каждом пятне и,

\* Эл. почта: kramerov@eimb.ru



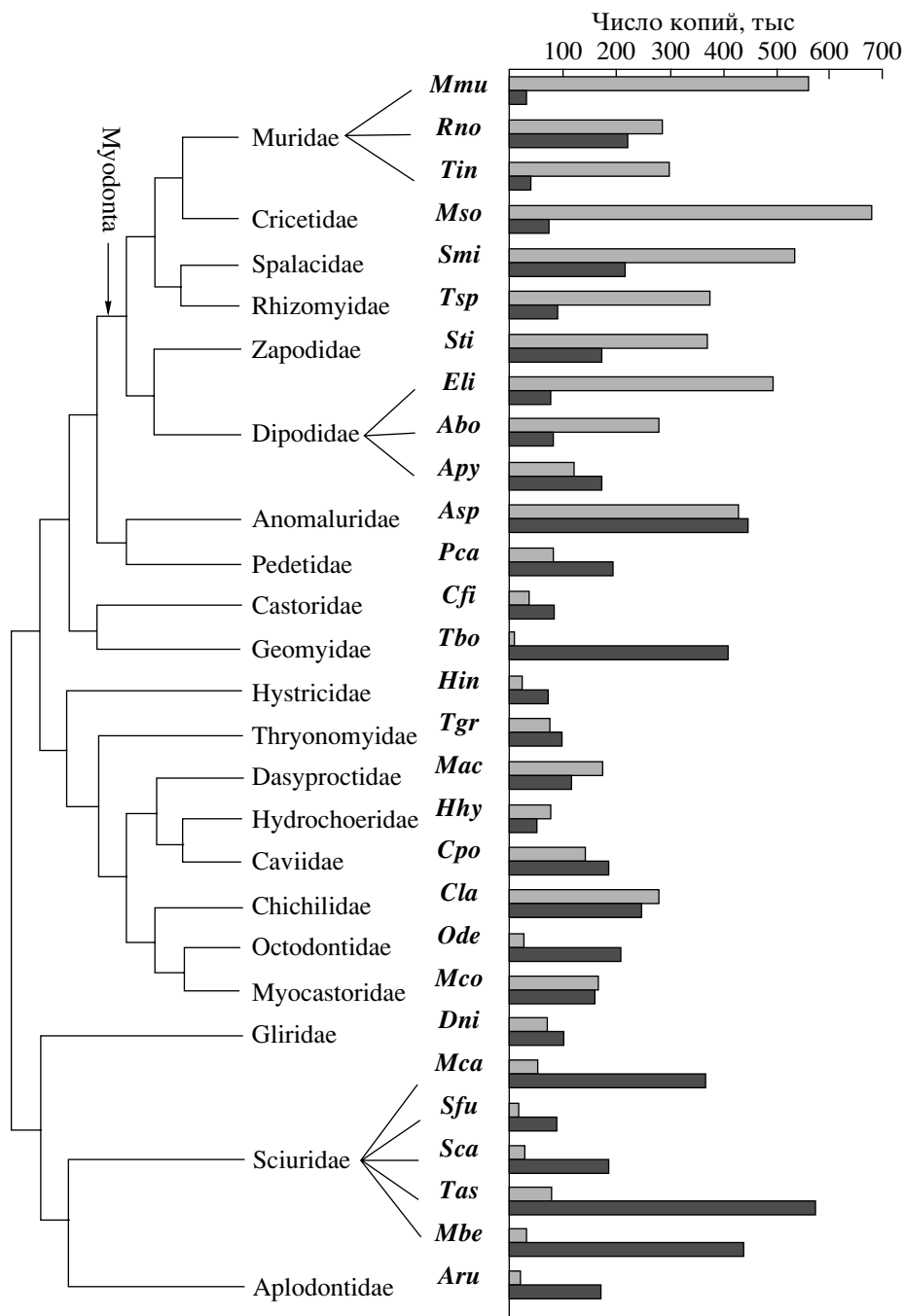
**Рис. 1.** Дот-гибридизация геномных ДНК разных видов грызунов с использованием в качестве зонда ID-элемента (а) и B1-элемента (б) мыши. ДНК на фильтр нанесены в следующем порядке: Murinae: **Mmu**, *Mus musculus* (домовая мышь); **Rno**, *Rattus norvegicus* (серая крыса). Cricetidae: **Mso**, *Microtus socialis* (общественная полевка). Gerbillinae: **Tin**, *Tatera indica* (индийская гололапая песчанка). Spalacidae: **Smi**, *Spalax microphthalmus* (обыкновенный слепыш). Rhizomyidae: **Tsp**, *Tachyoryctes splendens* (африканская бамбуковая крыса). Zapodidae: **Sti**, *Sicista tianshanica* (мышовка тянь-шанская). Dipodidae: **Eli**, *Eremodipus lichtensteini* (тушканчик Лихтенштейна); **Abo**, *Allactodipus bobrinskii* (тушканчик Бобринского); **Apy**, *Alactagulus pygmaeus* (земляной зайчик). Pedetidae: **Pca**, *Pedetes capensis* (капский долгоног). Anomaluridae: **Asp**, *Anomalurus* sp. (шипохвост). Castoridae: **Cfi**, *Castor fiber* (обыкновенный бобр). Geomyidae: **Tbo**, *Thomomys bottae* (гофер Ботта). Caviidae: **Cpo**, *Cavia porcellus* (морская свинка). Hydrochoeridae: **Hhy**, *Hydrochoerus hydrochaeris* (водосвинка). Dasyproctidae: **Mac**, *Myoprocta acouchy* (акуши). Thryonomiidae: **Tgr**, *Thryonomys gregorianus* (малая тростниковая крыса). Octodontidae: **Ode**, *Octodon degus* (дегу). Muocastoridae: **Mco**, *Muocastor coypus* (нутрия). Hystricidae: **Hin**, *Hystrix indica* (индийский дикобраз). Gliridae: **Dni**, *Dryomys nitedula* (лесная соня). Sciuridae: **Mca**, *Marmota caudata* (длиннохвостый сурок); **Sfu**, *Spermophilus fulvus* (желтый суслик); **Sca**, *Sciurus carolinensis* (серая белка); **Tas**, *Tamias asiaticus* (азиатский бурундук); **Mbe**, *Menetes berdmorei* (белка Бердмора). Aplodontidae: **Aru**, *Aplodontia rufa* (горный бобр). Primates: **Hsa**, *Homo sapiens* (человек). Chinchillidae: **Cla**, *Chinchilla laniger* (шиншилла). Lagomorpha: **Ocu**, *Oryctolagus cuniculus* (кролик). Первые два «пятна» содержат ДНК *M. musculus* (250 и 500 нг соответственно); ДНК остальных видов нанесены на фильтр в количестве 500 нг (исключение составляет ДНК шиншиллы – 150 нг). Гибридизация ДНК человека обусловлена SINE Alu. Гибридизацию и отмывку фильтров проводили в мягких условиях (60° и 42°С соответственно) для детекции как мало, так и сильно дивергировавших копий SINE.

основываясь на значениях числа копий ID в геноме *Rattus norvegicus* (225.000) и B1 в геноме *M. musculus* (564.000) [15, 16], оценивали число копий ID и B1 в геномах других грызунов. Большинство семейств грызунов в этом опыте представлено одним видом, однако Muridae (мыши, крысы и песчанки), Dipodidae (тушканчики) и Sciuridae (белки) представлены несколькими видами.

На рис. 2 показана гистограмма числа копий ID и B1 в геномах представителей разных семейств грызунов. Число копий варьирует от 8 тыс. (**Tbo**, гофер Ботта, Geomyidae) до 650 тыс. (**Mso**, общественная полевка, Cricetidae) для B1 и от 25 тыс. (**Mmu**, домовая мышь, Muridae) до 500 тыс. (**Tas**, азиатский бурундук, Sciuridae) для ID. Как правило, у грызунов группы Myodonta (Muridae, Cricetidae, Spalacidae, Rhizomyidae, Zapodidae и Dipodidae) B1 превосходит ID по числу копий, в то время как в группе Gliridae-Sciuridae-Aplodontidae наблюдается обратная картина. Это указывает на значительные различия в ретропозиционной активности B1 и ID в ходе эволюции грызунов различных семейств.

Скрининг геномных клонок ряда грызунов ID-зондом *M. musculus* и последующее секвенирование гибридирующихся клонов показали, что нуклеотидные последовательности ID действительно имеются в ДНК всех исследованных грызунов. Следует отметить, что у многих грызунов, помимо обычных одиночных ID-элементов, в этих опытах обнаружены SINE, состоящие из двух частей (мономеров). В одних из них ID был первым (левым), а B1 – вторым (правым) мономером, в других расположение мономеров было противоположным. Последовательность ID в димерных SINE иногда содержит специфические делеции или, напротив, – небольшие дополнительные участки. Некоторые семейства таких димерных SINE были описаны нами ранее, а именно, элементы MEN – у белки *Menetes berdmorei* [17], B1-dID – у сонь (Gliridae) и белок (Sciuridae) [18, 19], IDL-Geo – у гоферов (Geomyidae) и мешотчатых прыгунов (Heteromyidae) [20]. Последний из этих SINE содержит в качестве правого мономера не B1, а последовательность неизвестного происхождения – Geo. Видимо, наличие IDL-Geo в сочетании с малым числом копий B1 обуславливает уникально высокое соотношение (50 : 1) между последовательностями ID и B1 в геноме гофера Ботта (рис. 2, **Tbo**). Обнаруженные в ходе данного исследования димерные SINE в геномах грызунов семейств Pedetidae, Anomaluridae, Castoridae, Thryonomiidae, Muocastoridae и некоторых других будут подробно описаны в дальнейшем.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что, во-первых, ID и B1 характерны для всего отряда грызунов; во-вторых, масштабы ретропозиции этих элементов в геномах разных видов



**Рис. 2.** Гистограмма, показывающая число копий последовательностей ID (черные столбики) и B1 (серые столбики) в геномах грызунов по данным дот-гибридизации. Названия видов даны трехбуквенным кодом (см. рис. 1). Древо, показывающее родственные связи между исследованными семействами грызунов, получено суммированием данных ряда молекулярно-филогенетических работ [9, 18, 21–25].

существенно отличаются; и, в-третьих, объединение этих элементов с образованием новых SINE является распространенным механизмом их эволюции.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (05-04-49553; 07-04-00462).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kramerov D., Vassetzky N. 2005. Short retroposons in eukaryotic genomes. *Int. Rev. Cytol.* **247**, 165–221.
2. Kramerov D.A., Grigoryan A.A., Ryskov A.P. et al. 1979. Long double-stranded sequences (dsRNA-B) of nuclear pre-mRNA consist of a few highly abundant classes of sequences: evidence from DNA cloning experiments. *Nucleic Acids Res.* **6**, 697–713.

3. Krayev A.S., Kramerov D.A., Skryabin K.G. et al. 1980. The nucleotide sequence of the ubiquitous repetitive DNA sequence B1 complementary to the most abundant class of mouse fold-back RNA. *Nucleic Acids Res.* **8**, 1201–1215.
4. Deininger P.L., Jolly D.J., Rubin C.M. et al. 1981. Base sequence studies of 300 nucleotide renatured repeated human DNA clones. *J. Mol. Biol.* **151**, 17–33.
5. Haynes S.R., Toomey T.P., Leinwand L. et al. 1981. The Chinese hamster Alu-equivalent sequence: a conserved highly repetitive, interspersed deoxyribonucleic acid sequence in mammals has a structure suggestive of a transposable element. *Mol. Cell. Biol.* **1**, 573–583.
6. Ullu E., Tschudi C. 1984. Alu sequences are processed 7SL RNA genes. *Nature.* **312**, 171–172.
7. Quentin Y. 1994. Emergence of master sequences in families of retroposons derived from 7sl RNA. *Genetica.* **93**, 203–215.
8. Vassetzky N.S., Ten O.A., Kramerov D.A. 2003. B1 and related SINEs in mammalian genomes. *Gene.* **319**, 149–160.
9. Вениаминова Н.А., Васецкий Н.С., Лавренченко Л.А. и др. 2007. Реконструкция филогении отряда грызунов (Rodentia) по данным структурного анализа короткого ретропозона B1. *Генетика.* **43**, 916–929.
10. Kass D.H., Kim J., Deininger P.L. 1996. Sporadic amplification of ID elements in rodents. *J. Mol. Evol.* **42**, 7–14.
11. Kim J., Martignetti J.A., Shen M.R. et al. 1994. Rodent BC1 RNA gene as a master gene for ID element amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **91**, 3607–3611.
12. Martignetti J.A., Brosius J. 1993. Neural BC1 RNA as an evolutionary marker: guinea pig remains a rodent. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **90**, 9698–9702.
13. Wang H., Iacoangeli A., Lin D. et al. 2005. Dendritic BC1 RNA in translational control mechanisms. *J. Cell. Biol.* **171**, 811–821.
14. Borodulina O.R., Kramerov D.A. 2005. PCR-based approach to SINE isolation: simple and complex SINEs. *Gene.* **349**, 197–205.
15. Waterston R.H., Lindblad-Toh K., Birney E. et al. 2002. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature.* **420**, 520–562.
16. Gibbs R.A., Weinstock G.M., Metzker M.L. et al. 2004. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature.* **428**, 493–521.
17. Serdobova I.M., Kramerov D.A. 1998. Short retroposons of the B2 superfamily: Evolution and application for the study of rodent phylogeny. *J. Mol. Evol.* **46**, 202–214.
18. Крамеров Д.А. 1999. Доказательство филогенетической близости семейств соневых и беличьих, основанное на изучении короткого ретропозона B1-dID. *Докл. Акад. Наук.* **364**, 277–280.
19. Васецкий Н.С., Гоголевская И.К., Бородулина О.Р. и др. 1999. B1-dID – новый короткий ретропозон грызунов. *Молекуляр. биология.* **33**, 520–527. (Vasetskii N.S., Gogolevskaia I.K., Borodulina O.R., Kramerov D.A. 1999. B1-dID – a new short retroposon from rodents. *Mol. Biol. (Moscow).* **33**, 520–527.)
20. Gogolevsky K.P., Kramerov D.A. 2006. Short interspersed elements (SINEs) of the Geomyoidea superfamily rodents. *Gene.* **373**, 67–74.
21. Adkins R.M., Gelke E.L., Rowe D. et al. 2001. Molecular phylogeny and divergence time estimates for major rodent groups: evidence from multiple genes. *Mol. Biol. Evol.* **18**, 777–791.
22. Huchon D., Douzery E.J. 2001. From the Old World to the New World: a molecular chronicle of the phylogeny and biogeography of hystricognath rodents. *Mol. Phylogenet. Evol.* **20**, 238–251.
23. Huchon D., Madsen O., Sibbald M.J. et al. 2002. Rodent phylogeny and a timescale for the evolution of Glires: evidence from an extensive taxon sampling using three nuclear genes. *Mol. Biol. Evol.* **19**, 1053–1065.
24. Adkins R.M., Walton A.H., Honeycutt R.L. 2003. Higher-level systematics of rodents and divergence time estimates based on two congruent nuclear genes. *Mol. Phylogenet. Evol.* **26**, 409–420.
25. Steppan S., Adkins R., Anderson J. 2004. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes. *Syst. Biol.* **53**, 533–553.