



© Л. А. Мамон, С. Ф. Кливер,
А. О. Просовская, В. Р. Гинанова,
Е. В. Голубкова
Санкт-Петербургский
государственный университет

УДК 575.22.89

ИНТРОН-СОДЕРЖАЩИЙ ТРАНСКРИПТ — ЭВОЛЮЦИОННО-КОНСЕРВАТИВНАЯ ОСОБЕННОСТЬ ГЕНОВ-ОРТОЛОГОВ *NXF1* (NUCLEAR EXPORT FACTOR)

✿ Характерной особенностью генов *nxf1* у животных, принадлежащих к разным таксонам, является существование альтернативного транскрипта с гомологичным интроном, названным кассетным. Выявленные особенности кассетных интронов сохраняются в пределах определенной таксономической группы животных. Наличие эволюционно консервированных последовательностей интрона 10–11 в генах *nxf1* у позвоночных и присутствие двух протяженных последовательностей поли(А) в интроне 5–6 генов *nxf1* дрозофилид могут быть адаптивными. Обсуждается возможная функциональная значимость интрон-содержащих транскриптов генов *nxf1*.

✿ **Ключевые слова:** интрон-содержащие транскрипты; *nuclear export factor 1*; альтернативный сплайсинг; *Drosophilidae*; *Vertebrata*; интроны.

ВВЕДЕНИЕ

Существование транскриптов с невырезанным гомологичным интроном является характерной особенностью генов *nxf1* (nuclear export factor) у разных организмов: человека — *Hs nxf1* (Li et al., 2006), мыши — *Mm nxf1* (Sasaki et al., 2005), *Dm nxf1* дрозофилы (Ivankova et al., 2010). Ген *nxf1* является наиболее древним в эволюционно консервативном семействе генов, получившем синонимичное название, и отвечает за транспорт всех типов мРНК из ядра в цитоплазму (Herold et al., 2000; 2003). Интрон, который может вырезаться или сохраняться в транскриптах генов *nxf1*, мы будем называть кассетным. В генах *nxf1* позвоночных это интрон 10–11, а в генах *nxf1* дрозофилид — интрон 5–6. Эволюционно консервативным является и окружение соответствующего кассетного интрона — перед ним находится экзон 110 п. н., а после него — экзон 37 п. н. Причем кассетный интрон разделяет экзоны не в соответствии с рамкой считывания. Нами показано, что у *D.melanogaster* ген *Dm nxf1*, исходно получивший название *sbr* (small bristles), имеет альтернативный транскрипт, содержащий кассетный интрон 5–6. В головах взрослых мух методом Нозерн-блот-гибридизации транскрипта с интроном идентифицируется больше, чем полностью сплайсированного транскрипта, что предполагает значимость транскрипта с невырезанным интроном именно в тканях головы (Ivankova et al., 2010).

Пытаясь ответить на вопрос о значении транскрипта генов *nxf1* с невырезанным интроном, мы поставили перед собой задачи определить:

1. Какие организмы в генах семейства *nxf* имеют интрон, разделивший экзоны в 110 и 37 п. н., и для каких генов *nxf* известен транскрипт, содержащий кассетный интрон.
2. Какие последовательности кассетного интрона являются эволюционно консервативными и, следовательно, могут быть функционально значимыми.
3. Какие особенности могут быть свойственны белку, который соответствует транскрипту с кассетным интроном, и отличают такой белок от известного полноразмерного белка NXF1.

ИЗЛОЖЕНИЕ ОСНОВНОГО МАТЕРИАЛА

Сохранение интрона в транскрипте — один из вариантов альтернативного сплайсинга

Большинство генов высших эукариотических организмов имеет мозаичную структуру и состоит из экзонов и интронов. При созревании транскрипта в ядре интроны, как правило, вырезаются в процессе сплайсинга (Burge et al., 1999), и из ядра выходят транскрипты, не содержащие интронов. Альтернативный сплайсинг, использование альтернативных промоторов и альтернативных сайтов полиаденилирования транскриптов позволяет увеличить сложность протеома при том же числе генов, и в результате одному гену может соответствовать до нескольких тысяч разных белков (Graveley, 2001;

Поступила в редакцию 24.05.2013
Принята к публикации 07.08.2013

Maniatis, Tasic, 2002; Stamm et al., 2005). Оценка транскриптома человека различными методами показала, что транскрипты около 90 % генов претерпевают альтернативный сплайсинг (Dehay, Kennedy, 2009; Mollet et al., 2010), а нарушение сплайсинга часто становится причиной заболевания (Blencowe, 2000; Black, 2003; Faustino, Cooper, 2003; Michael et al., 2005).

Среди альтернативных транскриптов особое место занимают те, которые сохраняют интрон (Kap et al., 2002; Matlin et al., 2005; Michael et al., 2005; Galante et al., 2004). Около 40 % генов человека имеют интрон-содержащие транскрипты (Mollet et al., 2010). Если количество транскриптов, сохранивших интрон, значительное, и появление таких транскриптов специфично, т.е. зависит от типа клеток или стимулируется какими-то воздействиями, можно предположить функциональную значимость транскриптов с интроном (Galante et al., 2004; Michael et al., 2005). Появление транскриптов, содержащих интрон, наблюдается при различных заболеваниях человека, в том числе раковых, являясь своеобразным биоиндикатором болезни (Michael et al., 2005). Известны примеры функциональной значимости особых белков, соответствующих интрон-содержащим транскриптам (Forrest et al., 2004; Michael et al., 2005). Например, у крысы гену *Id3*, вовлеченному в контроль клеточного цикла, соответствуют два транскрипта, один из которых (*Id3a*) содержит интрон (Forrest et al., 2004). Транскрипт, содержащий интрон, в норме не образуется, а появляется при повреждении сосуда. Интрон-содержащему транскрипту соответствует особый белок, который функционирует как ограничитель пролиферации, осуществляя регуляцию ответа на сосудистые повреждения по механизму «обратной петли» (Forrest et al., 2004).

Сохранение интрона может быть основным вариантом альтернативного сплайсинга, как это описано для гена *tgif2* мыши (Melhuish, Wotton, 2006). Этот ген у мыши и человека кодирует репрессор транскрипции, содержащий гомеодомен — TGIF (Thymine Guanine Interacting Factor). У мыши только в 25–50 % случаев во всех тканях вырезается интрон, располагающийся в кодирующей части гена — внутри экзона 2. Вырезание интрона не изменяет рамку считывания, поэтому такому транскрипту соответствует белок на 39 аминокислот более короткий, чем тот, который соответствует транскрипту с сохраненным интроном. Оба белковых продукта у мыши являются функционально активными. Интересно, что у человека для ортогологичного гена *tgif2* вариант транскрипта с сохранением интрона является единственным (Melhuish, Wotton, 2006).

В большинстве случаев в интроне, сохраненном в транскрипте, присутствует преждевременный стоп-кодон, что приводит к прерыванию трансляции и появлению укороченного белка (Galante et al., 2004). Удаление интронов в результате сплайсинга предотвращает появление укороченных или измененных белков, часто вред-

ных для клетки (Nott et al., 2003). Существует механизм, называемый NMD — nonsense mediated mRNA decay, препятствующий выходу из ядра транскриптов, содержащих преждевременный стоп-кодон (Gonzalez et al., 2000; Lareau et al., 2004; Reznik, Lykke-Andersen, 2010). Такой контроль качества транскриптов подразумевает необходимость их трансляции в ядре, что является предметом дискуссии (David et al., 2012).

Транскрипты, содержащие преждевременный стоп-кодон, проходят проверку качества не только в ядре, но и в цитоплазме в период трансляции, подвергаясь деградации в цитоплазматической системе NMD (Wagner, Lykke-Andersen, 2002; Wilusz et al., 2001). Механизм деградации транскриптов в цитоплазме у дрожжей, дрозофилы и позвоночных различен (Gatfield et al., 2003; Gatfield, Izaurralde, 2004). У дрозофилы мРНК, содержащая преждевременный стоп-кодон, узнается системой NMD независимо от присутствия комплекса, сохраняющего взаимодействие с мРНК в местах произошедшего сплайсинга (EJC — exon-exon junction complex), что характерно для млекопитающих (Gatfield et al., 2003). У дрозофилы транскрипт, содержащий преждевременный стоп-кодон, расщепляется эндонуклеазой вблизи стоп-кодона, и каждый из образовавшихся фрагментов транскрипта подвергается деградации. При этом 5'-фрагмент деградирует путем экзонуклеотического переваривания с участием экзосомы, а фрагмент 3' расщепляется экзонуклеазой XRN1 (Gatfield, Izaurralde, 2004). Присутствие в цитоплазме транскриптов с невырезанным интроном в ощутимых количествах предполагает их иммунность к NMD (Michael et al., 2005).

*Сохранение кассетного интрона в транскриптах генов семейства *nx* у разных организмов*

Интрон между экзонами 110 и 37 п.н. присутствует не только в генах *nx1*, но и в большинстве генов-паралогов этого семейства, имеющих интроны (табл. 1). Существование транскриптов, сохраняющих интрон, доказано для генов *Mm nx1* мыши (Sasaki et al., 2005), *Hs nx1* человека (Li et al., 2006) и *Dm nx1* дрозофилы (Ivanova et al., 2010) и можно предположить и для генов *nx1* других видов животных, поскольку в базах данных (FlyBase, Genbank, UCSC Genome) есть сведения об ESTs (express sequence tags), включающих части последовательностей кассетного интрона и смежного экзона (табл. 1). Транскрипты, включающие последовательность кассетного интрона, известны и для генов паралоогов — *Mm nx7* и *Hs nx3*.

Среди животных, для которых имеется информация о генах семейства *nx* (FlyBase, Genbank, UCSC Genome), мы выявили 3 таксономические группы разного уровня, в каждой из которых кассетный интрон генов *nx1* имеет свои характерные черты.

1. Позвоночные — с кассетным интроном 10–11 в генах *nx1*.

Таблица 1

Характеристика генов семейства *nx*f у разных животных: сведения об интроне, сохраняющемся в альтернативных транскриптах ряда генов этого семейства (в графе «Наличие транскрипта с интроном»: + есть данные о транскрипте с кассетным интроном; — — отсутствие таких сведений; ? — транскрипты не известны). Источники информации: * Ivankova et al., 2010; ** Sasaki et al., 2005; *** Li et al., 2006, FlyBase, Genbank, UCSC Genome

Видовое название	Ген семейства <i>nx</i> f	Локализация гена или другие сведения	Номер кассетного интрона	Наличие транскрипта с интроном	Размер интрона (в п.н.)
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Ce <i>nx</i>f1	5	6–7	+	106
	<i>Ce nx</i> f2	5	Нет интрона		
<i>Caenorhabditis remanei</i>	Cr <i>nx</i>f1	?	5–6(?)	?	127
<i>Caenorhabditis briggsae</i>	Cb <i>nx</i>f1	5	5–6(?)	?	145
<i>Trichinella spiralis</i>	Ts <i>nx</i>f1	?	6–7	?	185
<i>Drosophila melanogaster</i>	Dm <i>nx</i>f1	X	5–6	+ *	1602
	<i>Dm nx</i> f2	3L	Нет интрона		
	<i>Dm nx</i> f3	3L	Нет интрона		
	<i>Dm nx</i> f4	3R	Нет интронов		
<i>Danio rerio</i>	Dr <i>nx</i>f	21	10–11	+	3995
<i>Xenopus tropicalis</i>	Xt <i>nx</i>f1	?	10–11	+	2596
<i>Monodelphis domestica</i>	<i>Md nx</i> f1	5	10–11	?	1500
<i>Mus musculus</i>	Mm <i>nx</i>f1	19	10–11	+ **	1765
	<i>Mm nx</i> f2	X	11–12	—	2699
	<i>Mm nx</i> f3	X	8–9	—	1423
	Mm <i>nx</i>f7	X	11–12	+	1434
<i>Rattus norvegicus</i>	Rn <i>nx</i>f1	1	10–11	+	1762
	<i>Rn nx</i> f3	X	8–9	—	1528
	<i>Rn nx</i> f7	X	11–12	—	1424
<i>Canis lupus familiaris</i>	<i>Cl nx</i> f1	18	10–11	?	1797
<i>Loxodonta africana</i>	<i>La nx</i> f1	?	10–11	?	1810
<i>Bos taurus</i>	Bt <i>nx</i>f1	29	10–11	+	1810
	<i>Bt nx</i> f3	X	9–10	—	569
<i>Sus scrofa</i>	<i>Ss nx</i> f1	2	10–11	?	1799
<i>Callithrix jacchus</i>	<i>Cj nx</i> f1	11	10–11	?	1828
<i>Pan troglodytes</i>	<i>Pt nx</i> f1	?	10–11	+	2010
<i>Homo sapiens</i>	Hs <i>nx</i>f1	11	10–11	+ ***	1801
	<i>Hs nx</i> f2	X	12–13	—	1678
	Hs <i>nx</i>f3	X	9–10	+	1642
	<i>Hs nx</i> f4	X	9–10	—	1682
	<i>Hs nx</i> f5	X	10–11	—	1672

В интроне 10–11 позвоночных путем выравнивания последовательностей кассетных интронов нами выявлено четыре участка протяженной гомологии (рис. 1): 1) 5'-концевая последовательность; 2) фрагмент, содержащий конститутивный транспортный элемент — СТЕ (constitutive transport element), характерный для ретровирусов (Li et al., 2006); 3) третий консервативный участок; 4) 3'-концевая последовательность (Mamon et al., в печати).

2. Дрозофилиды — с кассетным интроном 5–6 в генах *nx*f1, который соответствует интрону 10–11 в генах *nx*f1 позвоночных, располагаясь между эволюционно консервативными экзонами в 110 н.п. и 37 н.п.

В кассетных интронах 5–6 генов *nx*f1 дрозофилид отсутствуют участки протяженной гомологии, характерные для кассетных интронов генов *nx*f1 позвоночных. В то же время у кассетных интронов 5–6 генов

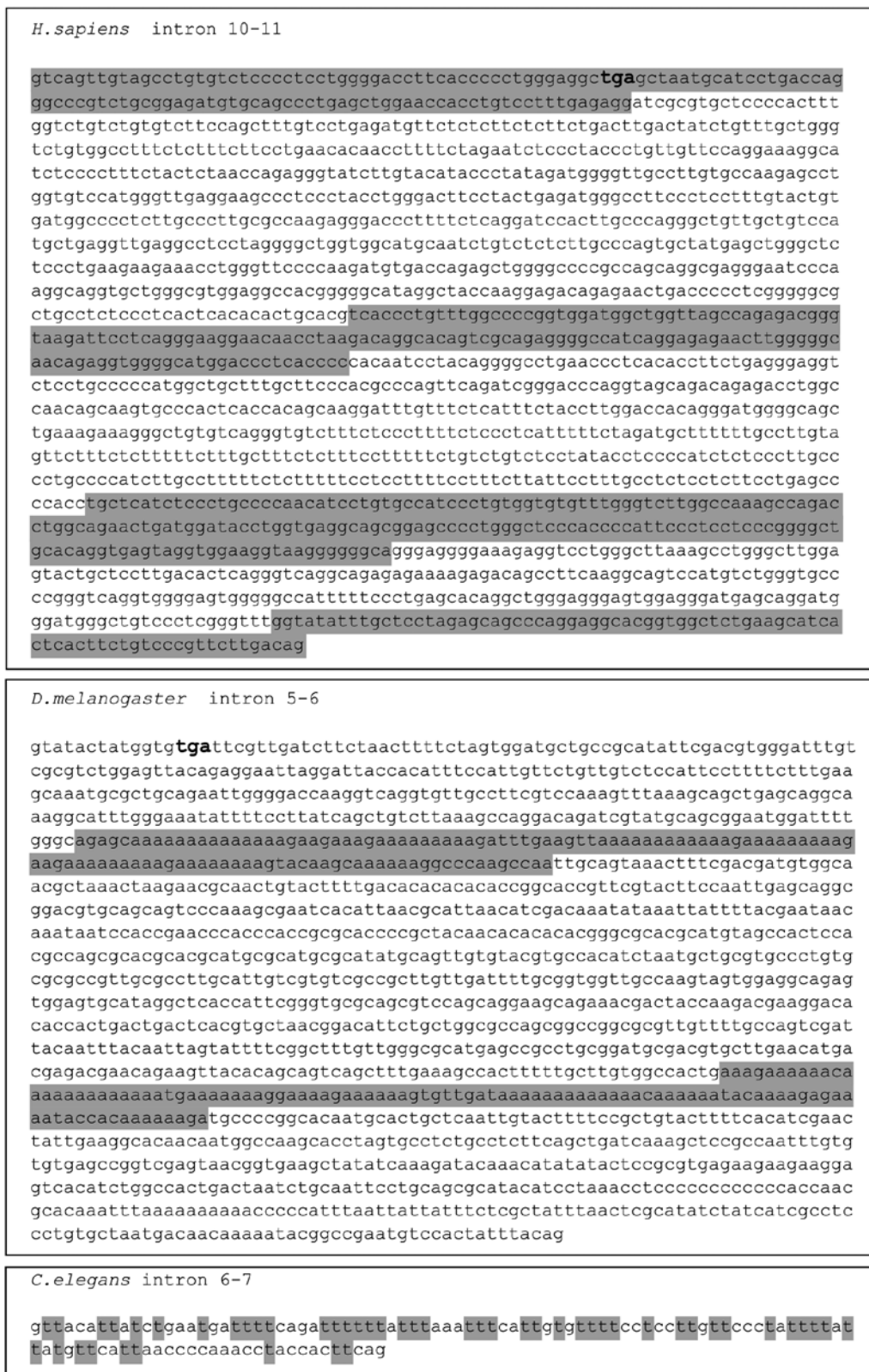


Рис. 1. Характерные последовательности кассетного интрона генов *nxfl* разных организмов. Примечание: серым цветом выделены: эволюционно консервативные последовательности в интроне 10-11 генов *nxfl* позвоночных (*Homo sapiens*) — 5'-конец интрона, СТЕ последовательность, третья консервативная последовательность, 3'-конец интрона; у *D. melanogaster* — две поли(А) последовательности; у *C. elegans* показано обогащение тиминем. Жирным шрифтом отмечены стоп-кодоны в интроне

Таблица 2

Содержание нуклеотида Т (тимина) в кассетных интронах генов *nxfl* у разных видов животных (FlyBase, Genbank, UCSC Genome)

Вид	Размер интрона (н.)	Содержание нуклеотида Т	
		число	%
<i>Caenorhabditis briggsae</i>	145	69	47,6
<i>Trichinella spiralis</i>	185	82	44,3
<i>Caenorhabditis remanei</i>	127	56	44,1
<i>Caenorhabditis elegans</i>	106	50	47,2
<i>Ciona intestinalis</i>	261	97	37,1
<i>Drosophila melanogaster</i>	1602	358	22,3
<i>Homo sapiens</i>	1801	465	25,8

nxfl разных видов дрозофилы есть общие черты — это наличие двух протяженных последовательностей поли (А) (рис. 1).

В генах-паралогах *nxfl* у *D.melanogaster* интрон, соответствующий кассетному, отсутствует. В гене *Dm nxf2*, имеющем интрон-экзонную структуру, экзон 147 н. не разделен интроном, ген *Dm nxf4* интронов не содержит, а ген *Dm nxf3* не имеет интронов в белок-кодирующей части (FlyBase, 2013).

3. Нематоды (*Caenorhabditis* и *Trichinella spiralis*) — с интроном 5–6 или 6–7 в генах *nxfl*.

Размер кассетного интрона у этой группы животных на порядок меньше по сравнению с размером соответствующего интрона в генах *nxfl* у позвоночных и дрозофилид (табл. 1). В настоящий момент только для гена *Ce nxfl* известен альтернативный транскрипт, сохраняющий последовательность кассетного интрона 6–7, а для остальных

нематод, в том числе паразитической *Trichinella spiralis*, данные отсутствуют (табл. 1). Выравнивание последовательностей соответствующих интронов генов *nxfl* нематод участков протяженной гомологии не обнаруживает. Однако между кассетными интронами генов *nxfl* у нематод есть сходство, отличающее эту группу от других проанализированных нами таксономических групп животных — это повышенное содержание тимина (Т), что не свойственно кассетным интронам генов *nxfl* других организмов, например дрозофилы (*D. melanogaster*) или человека (*H. sapiens*) (табл. 2).

Существование эволюционно консервативных последовательностей или характерных черт в кассетных интронах *nxfl* в пределах одной таксономической группы можно рассматривать как функционально значимые особенности интрона, причем такие особенности могли возникнуть независимо в разных таксонах. Важно понять, нужны ли они для появления специфической формы белка, соответствующей интрон-содержащему транскрипту, или эволюционно консервативные последовательности кассетного интрона имеют самостоятельные функции. Тогда какие?

Важной особенностью кассетного интрона в генах *nxfl* позвоночных и дрозофилид является способность образовывать сложную вторичную структуру (Golubkova et al., 2012). Эта особенность может быть адаптивной и для интрон-содержащего транскрипта. Сравнивая вторичные структуры альтернативных транскриптов генов *nxfl* дрозофилы и человека (рис. 2 и 3), можно отметить, что присутствие интрона в транскрипте локально меняет его вторичную структуру, что само по себе не удивительно. Важно то, что характер вторичной структуры транскрипта может быть существенным для его пост-транскрипционной судьбы (Kozak, 2005; Wan et al., 2011).

Сравнение перечисленных групп животных по особенностям кассетного интрона генов *nxfl* позволяет заключить, что более консервативным является наличие транскрипта, содержащего кассетный интрон, а не нуклеотидные последовательности самого интрона. Адаптивные свойства последовательностей интрона могут формироваться разными путями в различных таксоно-

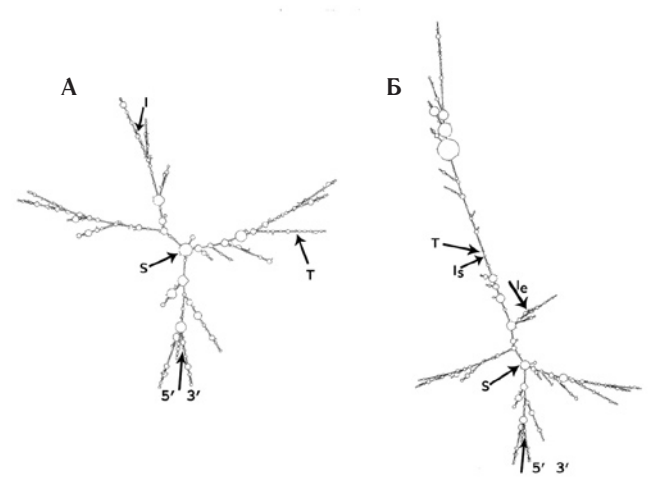


Рис. 2. Вторичная структура универсального (А) и содержащего кассетный интрон 5–6 (Б) транскриптов гена *Dm nxfl* (*sbr*) *Drosophila melanogaster*. Примечание: стрелками указаны 5' и 3' - начало и конец транскрипта соответственно; S и T — положение иницирующего и терминирующего кодона соответственно; I — граница 5-го и 6-го экзонов; Is и Ie — начало и конец кассетного интрона, соответственно

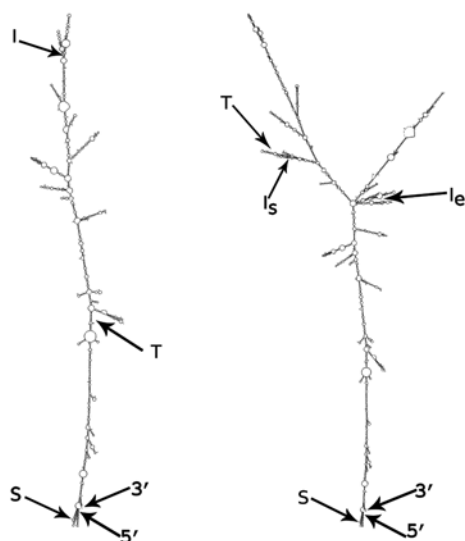


Рис. 3. Вторичная структура универсального (А) и содержащего касетный интрон 10–11 (Б) транскриптов гена *Hs nxfl* *Homo sapiens*. Примечание: обозначения те же, что и на рисунке 2

мических группах организмов. Если предположить функциональную значимость транскрипта, сохраняющего интрон, то консервативные последовательности касетного интрона могут обеспечивать защиту транскрипта от NMD или благоприятствовать ядерному экспорту интрон-содержащего транскрипта. Таким свойством обладает последовательность СТЕ, найденная в интронах 10–11 генов *nxfl* у позвоночных (Li et al., 2006). Возможно, в интроне 5–6 в генах *nxfl* у дрозофил аналогичную функцию берут на себя протяженные последовательности поли (А). Для *D. melanogaster* показано, что последовательность поли (А), располагающаяся после стоп-кодона, повышает иммунность транскрипта к NMD в зависимости от расстояния между ними (Behm-Ansmant et al., 2007). Если расстояние между стоп-кодом и пос-

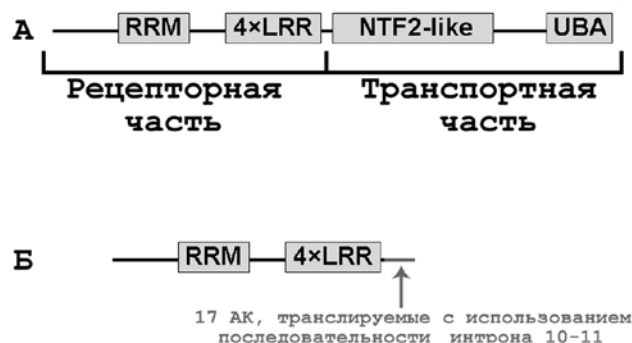


Рис. 4. Доменная организация белков NXF1 *Homo sapiens*. Примечание: RRM — RNA recognition motif; LLR — leucine-rich repeats; домен NTF2-like (nuclear transport factor 2-like); домен UBA — UBA-like (ubiquitin-associated-like). А) полноразмерный белок; Б) укороченный белок, синтезируемый на основе транскрипта, содержащего касетный интрон

ледовательностью поли (А) не превышает 397 н., это позволяет транскрипту избежать NMD (Behm-Ansmant et al., 2007; Hansen et al., 2009). Важно отметить, что в транскрипте гена *Dm nxfl*, содержащем касетный интрон, преждевременный стоп-кодон в интроне находится на расстоянии 289 н. от первой последовательности поли (А) в этом интроне. У пяти видов дрозофилы, геном которых секвенирован, между преждевременным стоп-кодом в интроне 5–6 и первой протяженной последовательностью поли (А) расстояние больше 397 н., но не превышает 425 н. Отсутствие экспериментальных данных не дает оснований для однозначного ответа на вопрос о том, насколько первая последовательность поли (А) в интроне 5–6 гена *nxfl* дрозофил защищает транскрипт с интроном от деградации в цитоплазме.

Белок, соответствующий интрон-содержащему транскрипту, не может обеспечивать транспорт различных мРНК из ядра в цитоплазму, поскольку в нем нет доменов NTF2-like и UBA (рис. 4), обеспечивающих связь с нуклеопоринами, но может выполнять специализированные функции. Учитывая то, что у *D. melanogaster* транскрипт с интроном является мажорным в тканях головы взрослых насекомых, функции соответствующего белка могут быть важны для мозга и сенсорных органов.

Интроны в генах эукариотических организмов

Касетный интрон условно разделяет ген *nxfl* на две функциональные половины — рецепторную, отвечающую за взаимодействие с РНК, и транспортную, позволяющую, взаимодействуя с другими белками, обеспечивать транспорт комплекса макромолекул через ядерные поры (рис. 4 А). Существование транскрипта с невырезанным интроном при определенных условиях может стать источником редуцированных белков, за счет наличия стоп-кодона в интроне. Известно, что в эволюции появление интронов позволило в значительной степени увеличить сложность протеома при незначительном увеличении числа генов (Nilsen, Graveley, 2010).

Исходя из представлений о происхождении генов в результате перетасовки функциональных элементов генома (Gilbert, 1978), интроны могли появиться в результате сохранения фланговых последовательностей. Этой точки зрения придерживаются сторонники теории раннего происхождения интронов («intron early»), предполагающие, что интроны возникли у общего предка про- и эукариотических организмов (Darnell, Doolittle, 1986; Gilbert, 1986).

В геномах многоклеточных часто встречаются гены, происхождение которых можно объяснить путем перетасовки экзонов (Patthy, 1999). Наличие интронов способствует альтернативному сплайсингу и транс-сплайсингу, внутригенной рекомбинации, дальнейшим перетасовкам функциональных центров при образовании новых генов (de Souza, 1996; Fedorova, Fedorov, 2003).

Интроны составляют около 95 % длины первичного транскрипта белок-кодирующих генов млекопитающих. Объясняя причину распространения некодирующих белок последовательностей в пределах генов, кодирующих белки в геномах высших эукариот, Мэттик (Mattick, 1994) первым начал разрабатывать концепцию о функциональной значимости интронов. Проникнув в геном эукариот, интроны могли завоевать новое генетическое пространство благодаря адаптивным функциям, которые они привнесли в хозяйский геном. Весьма вероятно, что интроны, как и другие белок-некодирующие последовательности, являются носителями генетической информации, необходимой для взаимосвязанной и согласованной регуляции экспрессии разных генов (Mattick, 1994, 2001; Mattick, Gagen, 2001; Mattick, 2010).

Интроны как последовательности, не кодирующие белок, могли служить полигоном для встраивания мобильных генетических элементов, представляя собой мобильную составляющую генома. Этой концепции придерживаются сторонники «позднего происхождения интронов» («intron late»), связывающие появление сплайсосомных интронов, удаляемых сплайсингом из пре-мРНК, с возникновением эукариот (Cavalier-Smith, 1991; Mattick, 1994).

Существует мнение, что в основе происхождения интронов лежит и тот и другой механизм, а распространение интронов у высших эукариот вызвано тем, что вместе с интронами в геном пришли сигнальные последовательности, участвующие в регуляции генной экспрессии (обзор Fedorova, Fedorov, 2003).

Интроны, как правило, не попадают в зрелый транскрипт, они служат регуляторами транскрипции, а, будучи вырезанными, часто являются источником некодирующих РНК, также участвующих в регуляции экспрессии генов (Mattick, 1994; 2009; Mattick, Gagen, 2001). Сохраняясь в транскрипте, интроны при наличии соответствующих маркерных последовательностей, могут участвовать в пост-транскрипционной регуляции экспрессии гена, влияя на транспорт транскрипта из ядра в цитоплазму, обеспечивая его стабильность и местоположение, а также эффективность трансляции.

*Особенности кассетного интрона в генах *nxfl**

Если последовательности, которые содержит интрон, имеют адаптивное значение, они, как правило, эволюционно консервативны. Поиск участков протяженной гомологии в пределах кассетных интронов разных групп животных показал, что такие последовательности существуют как в кассетных интронах генов *nxfl* позвоночных, так и в кассетных интронах генов *nxfl* дрозофилид. Эти последовательности не обнаруживают структурного сходства, но позволяют проследить определенные функциональные аналогии.

Характерной особенностью кассетного интрона 10–11 в генах *nxfl* позвоночных является присутствие протяженных гомологичных последовательностей,

одна из которых содержит СТЕ (constitutive transport element). Известно, что последовательность СТЕ непосредственно взаимодействует с фактором ядерного экспорта мРНК — Tap (Hs NXF1) (Grüter et al., 1998; Braun et al., 1999; Bachi et al., 2000). Поскольку в норме происходит ограничение ядерного экспорта и экспрессии мРНК, содержащих интроны (Coyle et al., 2003), необходимо, чтобы интрон-содержащие транскрипты преодолевали систему проверки качества в ядре. Этому способствует последовательность СТЕ, позволяющая транскриптам, содержащим интроны, беспрепятственно выходить из ядра, используя транспортную систему NXF1 (Guzik et al., 2001).

Если учесть, что NXF1 обеспечивает ядерно-цитоплазматический транспорт мРНК, содержащих поли (A) (Herold et al., 2003), тогда присутствие последовательностей поли (A) в составе интрона 5–6 в гене *nxfl* у дрозофилид может благоприятствовать экспорту из ядра транскрипта, сохранившего подобный интрон. Другая возможность — это приобретение интроном последовательностей, которые бы позволяли воспринимать стоп-кодон, расположенный в начале интрона, как канонический, а не преждевременный. Последовательность поли (A) создает позиционную информацию, необходимую для того, чтобы различить канонический и преждевременный стоп-кодона у дрозофилы (Gatfield et al., 2003). Высокое содержание транскрипта гена *Dm nxfl* с интроном 5–6 в головах взрослых особей дрозофилы свидетельствует о том, что такие транскрипты иммунны к NMD (Ivankova et al., 2010).

Таким образом, и в кассетном интроне 10–11 у позвоночных и в кассетном интроне 5–6 у дрозофилид существуют последовательности, которые могут объяснить присутствие интрон-содержащего транскрипта гена *nxfl* в количестве, сравнимом с содержанием универсального транскрипта и даже превышающем его, например у *D. melanogaster* (Herold et al., 2001; Sasaki et al., 2005; Ivankova et al., 2010). Важно понять функциональную значимость таких транскриптов. Существуют ли они потому, что соответствующая им редуцированная форма белка NXF1 выполняет какие-то важные специализированные функции, отличные от функций полноразмерного белка.

*Особенности белка, который соответствует транскрипту, содержащему кассетный интрон гена *nxfl* у разных организмов*

В настоящий момент существование редуцированного белка, соответствующего транскрипту гена *nxfl*, содержащего кассетный интрон, показано только для человека (Li et al., 2006).

Белок, который является результатом трансляции транскрипта, сохранившего интрон, лишен доменов NTF2-like и UBA-like (рис. 4 Б). Функции белка, соответствующего интрон-содержащему транскрипту у че-

ловека, остаются неисследованными. У человека укороченный белок NXF1 на С-конце содержит семнадцать аминокислот, транслируемых с использованием последовательности интрона 10–11 до первого стоп-кодона в этом интроне (Li et al., 2006). Эволюционный консерватизм этой С-концевой последовательности свидетельствует в пользу предположения о функциональной значимости редуцированной формы белка, соответствующей интрон-содержащему транскрипту гена *nxf1* позвоночных.

Можно предположить, что и у *D. melanogaster* существует укороченный белок, соответствующий интрон-содержащему транскрипту гена *Dm nxf1*. Поскольку транскрипт с интроном в головах взрослых особей дрозофилы является мажорным и в количественном отношении превосходит полностью сплайсированный транскрипт, мы назвали транскрипт, содержащий кассетный интрон, нейроспецифичным (Ivanova et al., 2010). Интрон-содержащий транскрипт не выявлен методом Нозерн-блот-гибридизации в семенниках *D. melanogaster*. Наши исследования направлены на то, чтобы выяснить, есть ли у дрозофилы специфичные альтернативные формы белка Dm NXF1, соответствующие альтернативным транскриптам гена *Dm nxf1*, и какие функции они выполняют.

Альтернативные транскрипты гена Dm nxf1 как источник появления специализированных функций этого гена

Ген *Dm nxf1* у дрозофилы отличается от ортологических генов позвоночных, включая человека, большим разнообразием органо-специфичных транскриптов (Ivanova et al., 2010). Поскольку известны мутанты гена *Dm nxf1* (*sbr*) с доминантными аллеле-специфичными нарушениями мужской фертильности, поведения и двигательной активности (FlyBase, 2013), можно предположить, что в основе полифункциональности гена *Dm nxf1* (*sbr*) лежит полиморфизм его продуктов. Кроме нейроспецифичного транскрипта, как показано нами, гену *Dm nxf1* (*sbr*) соответствуют и семенниково-специфичные транскрипты (Ivanova et al., 2010). Весьма вероятно, что у человека и других млекопитающих специализация генов семейства *nxf* происходила за счет появления генов паралогов, экспрессирующихся только или преимущественно в семенниках или мозге (Herold et al., 2000; Sasaki et al., 2005). Так, экспрессия гена *Hs nxf5*, принадлежащего к эволюционно консервативному семейству генов *nxf*, наблюдается преимущественно в мозге, а мутации этого гена приводят у человека к расстройству ментальной сферы (Jun et al., 2001; Frints et al., 2003; Grillo et al., 2010). Специализация продуктов генов за счет существования альтернативных вариантов сплайсинга, в том числе и интрон-содержащих транскриптов, альтернативных сайтов полиаденилирования и альтернативных промоторов, изменяющих не только кодирующую, но и некодирующую часть транскриптов.

Это позволяет расширить функциональные возможности гена, как за счет разнообразия белковых продуктов, так и за счет некодирующих последовательностей, часто маркирующих характер дифференциации или состояния организма.

Некодирующие белок последовательности в транскрипте играют существенную роль в биогенезе мРНК, регулируя их транспорт, время жизни, возможность сохранения транскрипта в нетранслируемом состоянии в течение продолжительного периода и разрешение трансляции при получении определенного сигнала, неслучайное накопление транскрипта в определенном месте клетки (Martin, Ephrussi, 2009; Pesole et al., 2001). Все эти свойства транскрипта важны особенно тогда, когда существует временный запрет транскрипции, например, на определенных этапах гаметогенеза, нейрогенеза или эмбриогенеза (Bashirullah et al., 1998; Lipshitz, Smibert, 2000; Besse, Ephrussi, 2008; Meignin, Davis, 2010). В этих случаях приоритетной становится регуляция экспрессии генов на уровне трансляции. Присутствие в транскриптах маркерных последовательностей и особенности вторичной структуры транскрипта обеспечивают взаимодействие с белками, делающими трансляцию временно недоступной. Полученные нами ранее данные свидетельствуют о возможной регуляции экспрессии гена *Dm nxf1* на уровне трансляции в раннем эмбриогенезе *D. melanogaster* в отсутствие транскрипции (Ivanova et al., 2010; Golubkova, Mamon, 2010), что свидетельствует о существовании специализированных функций этого гена, не связанных с транспортом различных мРНК из ядра в цитоплазму.

Существование альтернативных транскриптов гена *Dm nxf1*, специфичных для семенников и голов взрослых особей *D. melanogaster*, согласуется с тем, что именно для клеток нервной системы и семенников характерно наибольшее разнообразие транскриптов (Boutz et al., 2007; Dehay, Kennedy, 2009; Grosso et al., 2008). Нейроны, имеющие длинные отростки, используют механизм локализованной трансляции долгоживущих мРНК в ответ на поступающие сигналы в процессе формирования синаптических контактов (Huang et al., 2003; Krichevsky, Kosik, 2001; Kosik, Krichevsky, 2002; Richter, Lorenz, 2002). Рост нервных клеток также обеспечивается локальной трансляцией мРНК в аксонах и ростовых конусах (Jung, Holt, 2011). В то же время и спермиогенез — процесс формирования зрелого сперматозоида из округлых сперматид — длящийся несколько дней и включающий такие процессы, как удлинение сперматид, изменение структуры хроматина, формирование аксономы, акросомы, морфогенез митохондриальных производных, осуществляется благодаря регуляции экспрессии генов на уровне трансляции (White-Cooper, 2010). Учитывая эволюционный консерватизм семейства генов *nxf* и принимая во внимание доминантный характер проявления мутантных аллелей гена *Dm nxf1*, изучение функции гена *Dm nxf1* (*sbr*) в нервной системе и семенниках

у *D. melanogaster* позволяет использовать преимущества модельного объекта в изучении механизмов генетического контроля нейробиологических нарушений и мужской стерильности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Характерной особенностью генов *nxfl* у животных, принадлежащих к разным таксонам, является образование альтернативного транскрипта с интроном, названным касетным. В пределах касетных интронов генов *nxfl* представителей разных таксономических групп (позвоночные, нематоды и дрозиды) выявлены особенности, включая эволюционно консервативные последовательности, характерные для каждой из названных групп. Эволюционный консерватизм последовательностей касетного интрона позволяет предположить их адаптивное значение, а относительно высокое содержание транскриптов, сохранивших интрон, среди альтернативных транскриптов генов *nxfl* предполагает их функциональную значимость. Возможно, последовательности интрона позволяют регулировать сохранение, локализацию в клетке и трансляцию интрон-содержащего транскрипта, который может быть источником особой формы белка NXF1, выполняющей специализированные функции.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты 09-04-00697 и 12-04-00934); Программы Роснаука (НШ-6455.2010.4 и НШ-5345.2012.4); Федеральной Целевой Программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (02.740.11.0698).

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES (TRANSLITERATED)]

1. Bachi A., Braun I.C., Rodrigues J.P. et al., 2000. The C-terminal domain of TAP interacts with the nuclear pore complex and promotes export of specific CTE-bearing RNA substrates // RNA. Vol. 6. P. 136–158.
2. Bashirullah A., Cooperstock R.L., Lipshitz H.D., 1998. RNA localization in development // Annu. Rev. Biochem. Vol. 67. P. 335–394.
3. Behm-Ansmant I., Gatfield D., Rehwinkel J. et al., 2007. A conserved role for cytoplasmic poly (A)-binding protein 1 (PABPC1) in nonsense-mediated mRNA // EMBO J. Vol. 26. P. 1–11.
4. Besse F., Ephrussi A., 2008. Translational control of localized mRNAs: restricting protein synthesis in space and time // Nature Rev. Vol. 9. P. 971–980.
5. Black D.L., Grabowski P.J., 2003. Alternative pre-mRNA splicing and neuronal function. // Prog. Mol. Subcell Biol. Vol. 31. P. 187–216.
6. Blencowe B.J., 2000. Exonic splicing enhancers: mechanism of action, diversity and role in human disease // Trends Biochem. Sci. Vol. 25. P. 106–110.
7. Boutz P.L., Stoilov P., Li Q. et al., 2007. A post-transcriptional regulatory switch in polypyrimidine tract-binding proteins reprograms alternative splicing in developing neurons // Genes Develop. Vol. 21. P. 1636–1652.
8. Braun I.C., Rohrbach E., Schmitt C., Izaurralde E., 1999. TAP binds to the constitutive transport element (CNE) through a novel RNA binding motif that is sufficient to promote CTE-dependent RNA export from the nucleus // EMBO J. Vol. 18. P. 1953–1965.
9. Burge C.B., Tuschl T., Sharp P.A., 1999. Splicing of precursors of mRNAs by the spliceosomes. The RNA World / Eds. Gesteland R.F. et al. Cold Spring Harbor Lab. Press. Cold Spring Harbor, NY. P. 525–560.
10. Cavalier-Smith T., 1991. Intron phylogeny: a new hypothesis // Trends Genet. Vol. 7. P. 145–148.
11. Coyle J.H., Guzik B.W., Bor Y.-C. et al., 2003. Sam68 enhances the cytoplasmic utilization of intron-containing RNA and is functionally regulated by the nuclear kinase SIK/BRK // Mol. Cell Biol. Vol. 23. P. 92–103.
12. Darnell J.E., Doolittle W.F., 1986. Speculations on the early course of evolution // Proc. natl. acad. sci. USA. Vol. 83. P. 1271–1275.
13. David A., Dolan B.P., Hickman H.D. et al., 2012. Nuclear translation visualized by ribosome-bound nascent chain puromycylation // J. Cell. Biol. Vol. 197. P. 45–57.
14. Dehay C., Kennedy H., 2009. Transcriptional regulation and alternative splicing make for better brains // Neuron. Vol. 62. P. 455–457.
15. De Souza S.J., Long M., Schoenbach L. et al., 1996. Intron positions correlate with module boundaries in ancient proteins // Proc. natl. acad. sci. USA. Vol. 93. P. 14632–14636.
16. Faustino N.A., Cooper T.A., 2003. Pre-mRNA splicing and human disease // Genes Dev. Vol. 17. P. 419–437.
17. Fedorova L., Fedorov A., 2003. Introns in gene evolution // Genetica. Vol. 118. P. 123–131.
18. Forrest S.T., Barrington K.G., Perlegas D., 2004. Intron retention generates a novel Id3 isoform that inhibits vascular lesion formation // J. Biol. Chem. Vol. 279. P. 32897–32903.
19. Frints S.G., Jun L., Fryns J.P. et al., 2003. Inv (X) (p21.1; q22.1) in a man with mental retardation, short stature, general muscle wasting, and facial dysmorphism: clinical study and mutation analysis of the NXF5 gene // Amer J Med Genet. Part A. Vol. 119. P. 367–374.
20. Galante P.A., Sakabe N.J., Kirschbaum-Slager N., de Souza S.J., 2004. Detection and evaluation of intron retention events in the human transcriptome // RNA. Vol. 10. P. 757–765.
21. Gatfield D., Unterholzner L., Ciccarelli F.D. et al., 2003. Nonsense-mediated mRNA decay in Drosophila: at the intersection of the yeast and mammalian pathways // EMBO J. Vol. 22. P. 3960–3970.
22. Gatfield D., Izaurralde E., 2004. Nonsense-mediated messenger RNA decay is initiated by endonu-

- cleolytic cleavage in *Drosophila* // Nature. Vol. 429. P. 575–578.
23. Gilbert W., 1986. Origin of life: The RNA world // Nature. Vol. 319. P. 618.
 24. Gilbert W., 1978. Why genes in pieces? // Nature Vol. 271. P. 501.
 25. Gonzalez C.I., Ruiz-Echevarria M.J., Vasudevan S. et al., 2000. The yeast hnRNP-like protein Hrp1 / Nab4 marks a transcript for nonsense-mediated mRNA decay // Mol. Cell. Vol. 5. P. 489–499.
 26. Golubkova E. V., Mamon L. A., 2010. The Role of Dm NXF1 in Controlling Early Embryonic Mitoses in *Drosophila melanogaster* // Cell Division: Theory, Variants, and Degradation/Eds. Y. N. Golitsin and M. C. Krylov, Nova Science Publishers, Inc. P. 127–132.
 27. Golubkova E., Mamon L., Nikulina A. et al., 2012. The evolutionarily conserved family of nuclear export factor (NXF) in *Drosophila melanogaster* // *Drosophila Melanogaster: Life Cycle, Genetics and Development* / Ed. M. Spindler-Barth. Nova Science Publishers, Inc. P. 63–82.
 28. Graveley B.R., 2001. Alternative splicing: increasing diversity in the proteomic world // Trends Genet. Vol. 17. P. 100–107.
 29. Grillo L., Reitano S., Belfiore G. et al., 2010. Familial 1.1 Mb deletion in chromosome Xq22.1 associated with mental retardation and behavioural disorders in female patients // Europ. J. Med. Genet. Vol. 53. P. 113–116.
 30. Grosso A.R., Gomes A.Q., Barbosa-Morais N.L. et al., 2008. Tissue-specific splicing factor gene expression signatures // Nucleic Acids Res. Vol. 36. P. 4823–4832.
 31. Grüter P., Tabemero C., von Kobbe C. et al., 1998. TAP, human homolog of Mex67p, mediates CTE-dependent RNA export from the nucleus // Mol. Cell. Vol. 1. P. 649–659.
 32. Guzik B. W., Levesque L., Prasad S. et al., 2001. NTF1 (p15) is a crucial cellular cofactor in TAP-dependent export of intron-containing RNA in mammalian cells // Mol. Cell. Biol. Vol. 21. P. 2545–2554.
 33. Hansen K.D., Lareau L.F., Blanchette M. et al., 2009. Genome-wide identification of alternative splice forms down-regulated by nonsense-mediated mRNA decay in *Drosophila* // PLoS Genetics. Vol. 5. e1000525.
 34. Herold A., Klymenko T., Izaurralde E., 2001. NXF1/p15 heterodimers are essential for mRNA nuclear export in *Drosophila* // RNA. Vol. 7. P. 1768–1780.
 35. Herold A., Suyama M., Rodrigues J.P. et al., 2000. TAP (NXF1) Belongs to a Multigene Family of Putative RNA Export Factors with a Conserved Modular Architecture // Mol. Cell Biol. Vol. 20. P. 8996–9008.
 36. Herold A., Teixeira L., Izaurralde E., 2003. Genome-wide analysis of nuclear mRNA export pathways in *Drosophila* // EMBO J. Vol. 22. P. 2472–2483.
 37. Huang Y.-S., Carson J.H., Barbarese E., Richter J.D., 2003. Facilitation of dendritic mRNA transport by CPEB // Gene & Development. Vol. 17. P. 638–653.
 38. Ivankova N., Tretyakova I., Lyozin G. et al., 2010. Alternative transcripts expressed by *small bristles*, the *Drosophila melanogaster* *nxfl* gene // Gene. Vol. 458. P. 11–19.
 39. Jun L., Frints S., Duhamel H. et al., 2001. NXF5, a novel member of the nuclear RNA export factor family, is lost in a male patient with a syndromic form of mental retardation // Curr. Biol. Vol. 11. P. 1381–1391.
 40. Kan Z., States D., Gish W., 2002. Selecting for functional alternative splices in ESTs // Genome Res. Vol. 12. P. 1837–1845.
 41. Kosik K.S., Krichevsky A.M., 2002. The message and the messenger: delivering RNA in neurons // Sci. STKE. Vol. 126. P. 1–4.
 42. Kozak M., 2005. Regulation of translation via mRNA structure in prokaryotes and eukaryotes // Gene. Vol. 361. P. 13–37.
 43. Krichevsky A.M., Kosik K.S., 2001. Neuronal RNA granules: a link between RNA localization and stimulation-dependent translation // Neuron. Vol. 32. P. 683–696.
 44. Lareau L.F., Green R.E., Bhatnagar R.S., Brenner S.E., 2004. The evolving roles of alternative splicing // Curr. Opin. Struct. Biol. Vol. 14. P. 273–282.
 45. Li Y., Bor Y.-C., Misawa Y. et al., 2006. An intron with a constitutive transport element is retained in a *Tap* messenger RNA // Nature. Vol. 443. P. 234–237.
 46. Lipshitz H.D., Smibert C.A., 2000. Mechanisms of RNA localization and translational regulation // Curr. Opin. Genet. Devel. Vol. 10. P. 476–488.
 47. Melhuish T.A., Wotton D., 2006. The *Tgif2* gene contains a retained intron within the coding sequence. BMC Mol. Biol. Vol. 7:2.
 48. Maniatis T., Tasic B., 2002. Alternative pre-mRNA splicing and proteome expansion in metazoans // Nature. Vol. 418. P. 236–243.
 49. Martin K.C., Ephrussi A., 2009. mRNA localization: gene expression in the spatial dimension // Cell. Vol. 136. P. 719–730.
 50. Matlin A.J., Clark F., Smith C.W., 2005. Understanding alternative splicing: towards a cellular code // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. Vol. 6. P. 386–398.
 51. Mattick J.S., 1994. Introns: evolution and function // Curr. Opin. Genet. Dev. Vol. 4. P. 823–831.
 52. Mattick J.S., 2001. Non-coding RNAs: the architects of eukaryotic complexity // EMBO reports. Vol. 21. P. 986–991.
 53. Mattick J.S., Gagen M.J., 2001. The evolution of controlled multitasked gene networks: the role of introns and other noncoding RNAs in development of complex organisms // Mol. Biol. Evol. Vol. 18. P. 1611–1630.
 54. Mattick J.S., 2010. RNA as the substrate for epigenome-environment interactions // Bioessays. Vol. 32. P. 548–552.
 55. Meignin C., Davis I., 2010. Transmitting the message: intracellular mRNA localization // Curr. Opin. Cell Biol. Vol. 22. P. 112–119.

56. Michael I.P., Kurlender L., Memari N. et al., 2005. Intron retention: a common splicing event within the human kallikrein gene family // *Clinical Chemistry*. Vol. 51. P. 506–515.
57. Mollet I.G., Ben-Dov C., Felicio-Silva D. et al., 2010. Unconstrained mining of transcript data reveals increased alternative splicing complexity in the human transcriptome // *Nucl. Acid Res.* Vol. 38. P. 1–15.
58. Nilsen T.W., Graveley B.R., 2010. Expansion of the eukaryotic proteome by alternative splicing // *Nature*. Vol. 463. P. 457–463.
59. Nott A., Meislin S.H., Moore M.J., 2003. A quantitative analysis of intron effects on mammalian gene expression // *RNA*. Vol. 9. P. 607–617.
60. Patthy L., 1999. Genome evolution and the evolution of exon-shuffling — a review // *Gene*. Vol. 238. P. 103–114.
61. Pesole G., Mignone F., Gissi C. et al., 2001. Structural and functional features of eukaryotic mRNA untranslated regions // *Gene*. Vol. 276. P. 73–81.
62. Reznik B., Lykke-Andersen J., 2010. Regulated and quality-control mRNA turnover pathways in eukaryotes // *Biochem. Soc. Transact.* Vol. 38. P. 1506–1510.
63. Richter J.D., Lorenz L.J., 2002. Selective translation of mRNAs at synapses // *Curr. Opin. Neurobiol.* Vol. 12. P. 300–304.
64. Sasaki M., Takeda E., Takano K., 2005. Molecular cloning and functional characterization of mouse *Nxf* family gene products // *Genomics*. Vol. 85. P. 641–653.
65. Stamm S., Ben-Ari S., Rafalska I. et al., 2005. Function of alternative splicing // *Gene*. Vol. 344. P. 1–20.
66. Wagner E., Lykke-Andersen J., 2002. mRNA surveillance: the perfect persist // *J. Cell Sci.* Vol. 115. P. 3033–3038.
67. Wan Y., Kertesz M., Spitale R.C. et al., 2011. Understanding the transcriptome through RNA structure // *Natural Rev. Genetics*. Vol. 12. P. 641–655.
68. White-Cooper H., 2010. Molecular mechanisms of gene regulation during *Drosophila* spermatogenesis // *Reproduction*. Vol. 139. P. 11–21.
69. Wilusz C.J., Wilusz J., 2004. Bringing the role of mRNA decay in the control of gene expression into focus // *Trends Genet.* Vol. 20. P. 491–497.

THE INTRON-CONTAINING TRANSCRIPT: AN EVOLUTIONARILY CONSERVED CHARACTERISTIC OF GENES ORTHOLOGOUS TO *NXF1* (NUCLEAR EXPORT FACTOR 1)

Mamon L.A., Kliver S.F., Prosovskaya A.O., Gnanova V.R., Golubkova Ye. V.

✳ **SUMMARY:** *Background.* The function of *nxf1* (Nuclear eXport Factor 1) gene is the nuclear-cytoplasmic transport of most mRNAs. A characteristic feature of *nxf1* genes in animals belonging to different taxonomic groups is the existence of an alternative transcript with a homologous intron called a cassette intron. *Materials and methods.* The following databases were used: Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>); Flybase (<http://flybase.org/>); UCSC Genome (<http://genome.ucsc.edu>). To build the secondary structures of nucleotide sequences we used the UNAFold v3.8 suite (<http://mfold.rna.albany.edu/>). *Results.* The existence of evolutionarily conserved sequences of intron 10–11 in *nxf1* genes in vertebrates, and the presence of two poly(A) sequences of intron 5–6 in *nxf1* genes of *Drosophilidae*, may be adaptive. The *nxf1* cassette introns form characteristic secondary structures. *Conclusion.* The paper discusses the possible functional significance of the intron-retaining transcripts of *nxf1* genes.

✳ **KEY WORDS:** intron-containing transcripts; nuclear export factor 1; alternative splicing; *Drosophilidae*; Vertebrata; introns.

✳ Информация об авторах

Мамон Людмила Андреевна — д. б. н., профессор. Кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: mamon@lm2010.spb.edu.

Кливер Сергей Федорович — студент (б/с). Кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: mahajrod@gmail.com.

Просовская Анна Олеговна — аспирант, м. н. с. (б/с). Кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: anna.o.nikulina@gmail.com.

Гинанова Виктория Ринатовна — студент (б/с). Кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: alianta-altera@mail.ru.

Голубкова Елена Валерьевна — к. б. н., с. н. с. Кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: elena_golubkova@mail.ru.

Mamon Lyudmila Andreevna — Doctor of Biological Sciences, Professor. Department of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9. Russia. E-mail: mamon@lm2010.spb.edu.

Kliver Sergey Fyedorovich — student. Department of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9. Russia. E-mail: mahajrod@gmail.com.

Prosovskaya Anna Olegovna — PhD student. Department of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9. Russia. E-mail: anna.o.nikulina@gmail.com.

Ginanova Victoria Rinatovna — student. Department of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9. Russia. E-mail: alianta-altera@mail.ru.

Golubkova Yelena Valeryevna — PhD. Department of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9. Russia. E-mail: elena_golubkova@mail.ru.