

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ГЕНОМНЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ЭВОЛЮЦИИ И АДАПТАЦИИ ПТИЦ

Романов М.Н.,<sup>1,2</sup> Гриффин Д.К.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

<sup>2</sup>Университет Кента, Кентербери, Великобритания  
E-mail: m.romanov@kent.ac.uk

## Аннотация

В обзоре обобщены сведения о возможностях молекулярно-генетических и геномных подходов для выяснения основных моментов в эволюционной истории птиц (класс *Aves*), адаптированных к самым разнообразным условиям обитания.

Ключевые слова: птицы, *Aves*, молекулярно-генетические подходы, геномные методы, эволюция, адаптация

## Введение

В течение последнего столетия было накоплено огромное количество информации о кариологии, генетике, физиологии, биохимии и эволюции курицы [10] и различных видов птиц. Реализация проекта по изучению генома курицы [9,11,30] позволила наработать геномные ресурсы, которые можно использовать в сравнительных аспектах и для выяснения фундаментальных эволюционных процессов среди птиц в целом [1,21,34]. Сельскохозяйственные и другие виды птиц являются важными компонентами в экологии болезней и передаче зоонозов, не говоря уже об их экономическом значении.

Ныне живущие птицы принадлежат к классу *Aves* – большой и разнообразной группе позвоночных, насчитывающей более 10000 видов, организованных примерно в 2000 родов, 200 семейств и 29 отрядов [35,36], которые демонстрируют поразительную адаптацию к полету, миграции и выживанию в различных условиях обитания на суше и на воде. Они населяют все континенты и далекие океанические острова, включая суровые

климатические зоны Арктики и Антарктиды, высокие горы и жаркие пустыни. Виды птиц подразделяются на две большие группы (или инфраклассы): Palaeognathae (бескилевые и тинаму-образные) и Neognathae (новонебные), различия между которыми основаны на особенностях морфологии небного образования и подтверждены на молекулярном уровне с помощью ДНК-ДНК гибридизации и нуклеотидного секвенирования [38].

### Эволюция птиц

Эволюционно птицы представляют собой монофилетическую группу гомойотермных (теплокровных) животных, имеющих отдаленного общего предка с людьми. Расхождение между синнапсидами (млекопитающими и их вымершими предками), с одной стороны, и анапсидами (черепахами) и диапсидами (другими рептилиями и птицами), с другой, произошел около 310–350 млн лет назад (рис. 1).

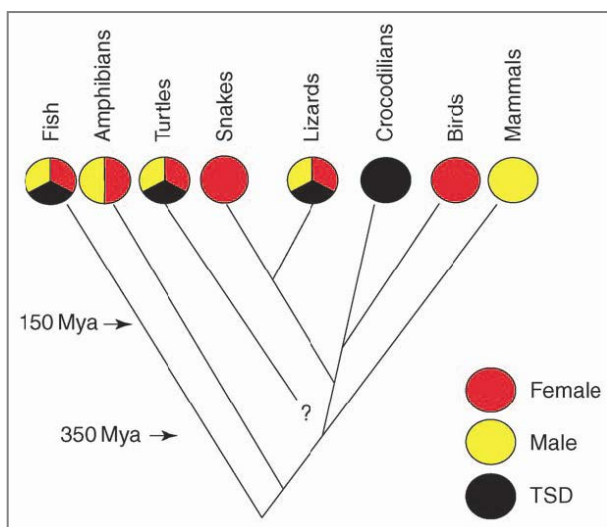


Рис. 1. Филогения позвоночных и способы детерминации пола у разных таксонов [25]. «Женский» (Female) и «мужской» (Male) представляют собой генетическую детерминацию пола с женской и мужской гетерогаметностью, соответственно. TSD соответствует температурозависимому определению пола

Считается, что птицы произошли от динозавров-теропод примерно 150 млн лет назад [16,20,27,28,35]. Самой ранней птицей считается археоптерикс из поздней юры (~150 млн лет назад) (рис. 2). Окаменелости большинства отрядов современных птиц появляются в начале кайнозоя (65–0 млн лет назад). Сравнение митохондриальной ДНК птиц с современными рептилиями позволяет предположить, что птицы наиболее тесно связаны с крокодилами, и расхождение между двумя линиями, по оценкам, произошло в 210–250 млн лет назад [22].

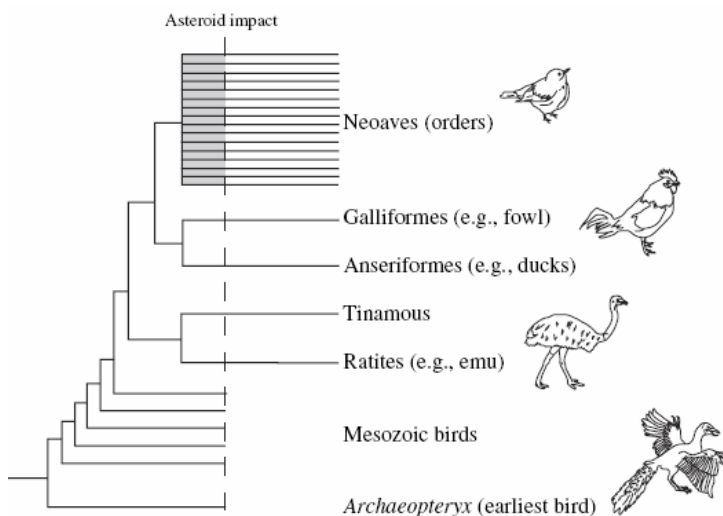


Рис. 2. **Филогения и время расхождения птиц [35].** Заштрихованная область в кладе новонебных птиц Neoaves соответствует периоду, когда, судя по данным молекулярных часов, разошлись большинство эволюционных линий, соответствующих отрядам и более высоким таксонам. Ветви мезозойских птиц и археоптерикса показаны произвольно оканчивающимися на границе мелового и палеогенового периодов, хотя ископаемых данных мало и некоторые линии могли исчезнуть раньше

### **Эволюция генома: нарушения синтении, репозиция центромер и повторяющиеся элементы**

Эукариоты и их геномы, по-видимому, эволюционируют за счет микро- и макроперестроек [4,14,37]. Микроперестройки

включают инверсии пары генов, вставки и делеции одного гена, а макроперестройки представляют собой большие хромосомные перестройки, которые очень важны для эволюции структурирования генома и адаптируемости. Кроме того, согласно результатам секвенирования нескольких эукариот, мобильные элементы и эндогенные ретровирусы оказались источником генетических инноваций и выполняют регуляторные функции у многих организмов [3]. Сравнительный анализ последовательностей у млекопитающих показывает, что макроперестройки локализуются в районах теломер и центромер [13].

Недавние исследования, описывающие динамику эволюции генома млекопитающих, указывают на повторное использование геномных областей для независимых эволюционных разрывов в различных эволюционных ветвях [26], а также на наличие разрывов, более склонных к перестройкам [6].

Репозиция центромер (РЦ) – это относительно недавно обнаруженный биологический феномен, который может быть широко распространен у эукариот [5]. Он включает появление новой центромеры вдоль хромосомы и инактивацию старой. После завершения РЦ первичная перетяжка и центромерная функция локализуются в новом положении, в то время как порядок физических маркеров на хромосоме остается неизменным. Эти события глубоко влияют на архитектуру хромосомы, как это было показано в исследованиях с использованием локус-специфичных ВАС/РАС-клонов у приматов [6,7,24,39], лошадиных [5], птиц [2,17,32,33] и других организмов. Эти находки предполагают, что у некоторых видов феномен РЦ мог играть важную роль в формировании кариотипа с потенциальными последствиями для динамики популяции и видообразования.

Хотя РЦ считается важным явлением в хромосомной эволюции млекопитающих, имеется сравнительно мало информации об организации центромер и РЦ у птиц. Последовательности ДНК в центромерных областях в основном неизвестны и поэтому представлены пробелами в текущей сборке последовательностей хромосом курицы. К небольшому числу четко определенных центромероспецифичных повторяющихся единиц у птиц относятся: тандемный повтор CNM из 41–42 п.н. курицы, в ос-

новном локализованный в наборе микрохромосом, включая половую W-хромосому [23]; частично инвертированный повтор (PIR), встречающийся на куриной хромосоме 8 [41] и некоторые другие. В пределах черновой последовательности генома курицы одиночные повторы CNM, имеющие 95% идентичности, были идентифицированы только на хромосомах 23 и 28, и их центромеры были соответственно отнесены к позициям CNM. Кроме того, 53 CNM-повтора были идентифицированы на невыровненных контигах [31]. Как правило, эти последовательности не консервативны между видами в пределах одного и того же отряда или даже семейства и не могут использоваться для межвидовой ДНК-гибридизации и локализации центромер, что указывает на динамическую роль семейств повторов. Так называемые альфойдные высокоповторяющиеся последовательности ДНК в геноме человека связаны с заметным неравновесием по сцеплению, что указывает на то, что изменения в организации центромерных областей привели к «выметаниям отбором» [40].

FISH-картирование ВАС-клонов для хромосомы 4 курицы (GGA4) на метафазах красной куропатки выявило, что порядок локусов был одинаковым у обоих видов, но при этом при дивергенции возникла нецентромера [17]. Сходное образование нецентромер на хромосоме 4 японского перепела было обнаружено с помощью ВАС-FISH-картирования на стадии ламповых щеток у хромосом курицы и перепела [15]. Центромеры хромосом 4 курицы и перепела, по-видимому, сформировались независимо после центрического слияния предковой хромосомы 4 и микрохромосомы. Используя иммуноокрашивание антителами против субъединиц когезина, Krasikova et al. [19] показали, что обогащенные когезином структуры, аналогичные так называемым центромерным белковым телам, являются характеристикой хромосом типа ламповых щеток у курообразных. Их центромерное расположение было подтверждено FISH-экспериментами с помощью определенных ДНК-зондов, включая ВАС-клоны. Было обнаружено, что разрыв, который, как предполагалось, является центромерным в текущей сборке последовательности хромосомы 3 курицы (GGA3), соответствует нецентромерному кластеру повтора CNM на *q*-плече GGA3; са-

му же центромеру предлагается поместить в другой позиции. Так, по крайней мере, у курообразных центромеры на GGA3 и GGA4, по-видимому, образуются *de novo* во время эволюции кариотипа у птиц.

FISH-гибридизация BAC-зондов, таким образом, позволяет идентифицировать организационные и структурные изменения в геномах птиц, которые могут указать путь для дальнейших исследований по полногеномному секвенированию. Сравнительные подходы в изучении последовательностей геномов птиц, рептилий и других классов позвоночных способствуют широкому продвижению знаний о сравнительных аспектах организации птичьего генома и выяснению того, каким образом геномные изменения влияют на эволюционную диверсификацию и адаптивную радиацию птиц. Изучение гомологов хромосом 3 и 4 курицы является примером того, какую информацию можно получить об этих процессах.

Полученные свидетельства подтверждают важную роль повторяющихся элементов, например, ретропозонов, в динамических аспектах хромосомной эволюции, включая события как микро-, так и макроперестроек. Crombach, Hogeweg [8] протестировали эволюционную модель, в которой геномы с ретропозонами и механизмом разрывов и восстановления подвергаются изменяющейся внешней среде. Было показано, что перестройки, опосредованные ретропозонами, могут быть полезным мутационным оператором для краткосрочной адаптации к новой среде. Но простая способность переупорядочивать хромосомы не означает преимущества перед геномами, в которых происходят только вставки и делеции одного гена. Вместо этого требуется структурирование генома, поскольку гены, которые необходимо амплифицировать (или удалить) в новой среде, часто кластеризуются, что обеспечивает быструю адаптацию к среде на основе перестроек. Crombach, Hogeweg [8] показали, что геномы, содержащие ретропозоны, начиная со случайного порядка генов, в конечном итоге станут организованными, что обеспечивает (быструю) адаптацию к окружающей среде на основе перестроек. Другими словами, эта модель может служить доказательством

принципа, что геномы могут структурировать сами себя, чтобы увеличить положительный эффект хромосомных перестроек.

Размер генома у эукариот опосредуется в первую очередь умножением и ослаблением копий ретроэлементов в течение эволюции. Профиль повторов в геномах у основных клад амниот может дать представление о молекулярных процессах, которые модулировали почти 380-кратный диапазон размеров генома, наблюдаемый у современных позвоночных [18]. Эффективные подходы к секвенированию и выявлению основных семейств повторов в филогенетически разнообразных таксонах птиц позволяют охарактеризовать содержание и организацию повторов в околоцентромерных областях, а также оценить, являются ли центромерные области динамическими и обеспечивающими вклад некодирующей ДНК в сохранение синтении. Желательно значительно расширить понимание роли РЦ у птиц путем использования культур клеток и идентификации информативных последовательностей гибридизационных зондов [12,29].

### Список литературы

1. Романов М.Н. и др. Современные молекулярно-генетические и геномные технологии в области изучения биологии птиц. 2. Фундаментальные исследования. Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных, 2020, с. 34–44.
2. Сазанов А.А., Романов М.Н. и др. Локализация на хромосомах протяженных геномных клонов домашней курицы в целях сравнительного картирования. Материалы III съезда ВОГиС., 2004, 2: 271.
3. Biemont C., Vieira C. Genetics: junk DNA as an evolutionary force. *Nature*, 2006, 443: 521–524.
4. Britten R.J. et al. Majority of divergence between closely related DNA samples is due to indels. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100: 4661–4665.
5. Carbone L. et al. Evolutionary movement of centromeres in horse, donkey, and zebra. *Genomics*, 2006a, 87: 777–782.
6. Carbone L. et al. A high-resolution map of synteny disruptions in gib-bon and human genomes. *PLoS Genet*, 2006b, 2: e223.

7. Cardone M.F. et al. Independent centromere formation in a capricious, gene-free domain of chromosome 13q21 in Old World monkeys and pigs. *Genome Biol*, 2006, 7: R91.
8. Crombach A., Hogeweg P. Chromosome rearrangements and the evolution of genome structuring and adaptability. *Mol Biol Evol*, 2007, 24: 1130–1139.
9. Dodgson J.B., Romanov M.N. The chicken genome: from maps to sequence. 8th International Symposium on Avian Endocrinology, 2004a, T26.
10. Dodgson J.B., Romanov M.N. Use of chicken models for the analysis of human disease. *Curr Protoc Hum Genet*, 2004b, 40: 15.5.1–15.5.11.
11. Dodgson J.B., Romanov M.N. et al. Integration of genetic and physical maps of the chicken genome. *Advances in Genome Biology and Technology, in cooperation with Automation in Mapping and DNA Sequencing*, 2003, p. 25.
12. Dodgson J.B., Romanov M.N. et al. Integration of chicken linkage and physical maps and sequence alignment using overgo hybridization. *International Plant and Animal Genome XII Conference*, 2004, p. 59.
13. Eichler E.E., Sankoff D. Structural dynamics of eukaryotic chromosome evolution. *Science*, 2003, 301: 793–797.
14. Fischer G. et al. Evolution of gene order in the genomes of two related yeast species. *Genome Res*, 2001, 11: 2009–2019.
15. Galkina S. et al. FISH on avian lampbrush chromosomes produces higher resolution gene mapping. *Genetica*, 2006, 128: 241–251.
16. Griffin D.K., O'Connor R., Romanov M.N. et al. Jurassic spark: Mapping the genomes of birds and other dinosaurs. *Comp Cytogenet*, 2018, 12: 322–323.
17. Kasai F. et al. Chromosome homology between chicken (*Gallus gallus domesticus*) and the red-legged partridge (*Alectoris rufa*); evidence of the occurrence of a neocentromere during evolution. *Cytogenet Genome Res*, 2003, 102: 326–330.
18. Kazazian H.H. Jr. Mobile elements: Drivers of genome evolution. *Science*, 2004, 303: 1626–1632.
19. Krasikova A. et al. On the positions of centromeres in chicken lampbrush chromosomes. *Chromosome Res*, 2006, 14: 777–789.
20. Kumar S., Hedges S.B. A molecular timescale for vertebrate evolution. *Nature*, 1998, 392: 917–920.
21. Martell H., O'Connor R., Damas J., Mandawala A., Fowler K., Joseph S., Farré M., Romanov M.N. et al. Assembling and comparing avian genomes by molecular cytogenetics. 2nd Bioinformatics Student Symposium, 2015, B21.



22. Matsuda Y. et al. Highly conserved linkage homology between birds and turtles: bird and turtle chromosomes are precise counterparts of each other. *Chromosome Res*, 2005, 13: 601–615.
23. Matzke M.A. et al. A 41–42-bp tandemly repeated sequence isolated from nuclear envelopes of chicken erythrocytes is located predominantly on microchromosomes. *Chromosoma*, 1990, 99: 131–137.
24. Misceo D. et al. Evolutionary history of chromosome 20. *Mol Biol Evol*, 2005, 22: 360–366.
25. Modi W.S., Crews D. Sex chromosomes and sex determination in reptiles. *Curr Opin Genet Dev*, 2005, 15: 660–665.
26. Murphy W.J. et al. Dynamics of mammalian chromosome evolution inferred from multispecies comparative maps. *Science*, 2005, 309: 613–617.
27. O'Connor R.E., Romanov M.N. et al. Gross genome evolution in the Dinosauria. *Chromosome Res*, 2016, 24(Suppl 1): S36–S37.
28. Pereira S.L., Baker A.J. A mitogenomic timescale for birds detects variable phylogenetic rates of molecular evolution and refutes the standard molecular clock. *Mol Biol Evol*, 2006, 23: 1731–1740.
29. Romanov M.N., Dodgson J.B. Cross-species overgo hybridization and comparative physical mapping within avian genomes. *Anim Genet*, 2006, 37: 397–399.
30. Romanov M.N. et al. Alignment of the linkage map, physical map, and sequence of the chicken genome. *International Plant and Animal Genome XII Conference*, 2004, p. 233.
31. Romanov M.N. et al. Integration of the cytogenetic and physical maps of chicken chromosome 17. *Chromosome Res*, 2005, 13: 215–222.
32. Sazanov A.A., Sazanova A.L., Tzareva V.A., Kozyreva A.A., Smirnov A.F., Romanov M.N. et al. Chromosomal localization of large insert clones of the chicken genome: expanding the comparative map. *International Plant and Animal Genome XII Conference*, 2004, p. 234.
33. Sazanov A.A., Romanov M.N. et al. Libraries of large-insert genomic clones as a tool for molecular cytogenetic analysis of avian genome. *Russ J Genet*, 2005a, 41: 461–467.
34. Sazanov A.A., Sazanova A.L., Romanov M.N. et al. Molecular organization of chicken genome. *Genomics and Microarrays in Biology and Medicine*, 2005b, p. 2.
35. Schmid M. et al. Second report on chicken genes and chromosomes 2005. *Cytogenet Genome Res*, 2005, 109: 415–479.
36. Schmid M., ..., Romanov, M.N. et al. Third report on chicken genes and chromosomes 2015. *Cytogenet Genome Res*, 2015, 145: 78–179.
37. Seoighe C. et al. Prevalence of small inversions in yeast gene order evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 14433–14437.

38. Tsuda Y. et al. Comparison of the Z and W sex chromosomal architectures in elegant crested tinamou (*Eudromia elegans*) and ostrich (*Struthio camelus*) and the process of sex chromosome differentiation in palaeognathous birds. *Chromosoma*, 2007, 116: 159–173.

39. Ventura M. et al. Recurrent sites for new centromere seeding. *Genome Res*, 2004, 14: 1696–1703.

40. Williamson S.H. et al. Localizing recent adaptive evolution in the human genome. *PLoS Genet*, 2007, 3: e90.

41. Wang Z. et al. Tuatara (*Sphenodon*) genomics: BAC library construction, sequence survey, and application to the DMRT gene family. *J Hered*, 2006, 97: 541–548.

### **Molecular genetic and genomic approaches to studying evolution and adaptation in birds**

*Romanov M.N.,<sup>1,2</sup> Griffin D.K.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>K. I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>University of Kent, Canterbury, UK

#### **Abstract**

The review summarizes information on the advances in molecular genetic and genomic approaches to elucidate the main points in the evolutionary history of birds (class Aves) adapted to a wide variety of habitats.

Key words: birds, Aves, molecular genetic approaches, genomic methods, evolution, adaptation