

УДК 578.828:[594+597]

10.7124/visnyk.utgis.18.1-2.1353

ЭНДОГЕННЫЕ РЕТРОЭЛЕМЕНТЫ РЫБ И МОЛЛЮСКОВ

Л. П. БУЧАЦКИЙ

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
 Украина, 01601, г. Киев, Владимирская, 64
 Институт рыбного хозяйства НААН
 Украина, 03164, г. Киев-164, ул. Обуховская, 135
 e-mail: iridolpb@gmail.com

Цель. Анализ научных литературных источников, посвященных изучению ретроэлементов рыб и моллюсков. **Результаты.** Показано, что эндогенные ретроэлементы широко распространены как среди рыб, так и среди моллюсков. Эндогенные ретровирусы рыб, как и экзогенные, также широко распространены, но их общее количество в геномах рыб значительно меньше, по сравнению с другими позвоночными животными. Ретроэлемент моллюсков *Steamer*, наличие которого связывают с развитием опухолей у моллюсков, способен передаваться между этими беспозвоночными горизонтально. Кроме того, он способен переходить в организмы других типов водных животных, включая позвоночных, морских ежей и кораллов. **Выводы.** Изучение ретроэлементов рыб и моллюсков, как наиболее древних организмов, позволяет более полно проследить этапы эволюции водных животных. Показано, что ретроэлементы рыб и моллюсков играют важную роль в возникновении антивирусной защиты позвоночных. Невысокая стоимость моллюсков и хорошо разработанные методы их культивирования выдвигают этих беспозвоночных на передовые позиции в качестве модельных систем при изучении молекулярных механизмов опухолевых процессов у позвоночных животных и людей.

Ключевые слова: ретроэлементы, рыбы, моллюски, опухоли.

Вступление. Ретроэлементы образуются в результате обратной транскрипции своей РНК и последующей интеграции кДНК-копии в геном хозяина. Они играют большую роль в изменчивости и эволюции геномов путём взаимодействий с окружающими их последовательностями и близлежащими генами (Кунах, 2013). Они могут предоставлять новые промоторы, энхансеры и сайты терминации транскрипции, служить мишенями рекомбинации. Внедрения ретроэлементов в определенные сайты генома могут наносить организму существенный вред и приводить к развитию различных заболеваний, снижению плодовитости.

Кроме того, ретроэлементы могут также приводить к появлению новых фенотипических признаков, являющихся предметом естественного отбора, и, таким образом, способствовать эволюционным процессам. Для изучения роли ретроэлементов в эволюционном процессе в последнее время много внимания уделяют рыбам и моллюскам, как наиболее древним представителям животного мира. Эти водные животные, наряду с насекомыми, являются одними из наиболее многочисленных видов в царстве животных. Известно 27 977 видов рыб и около 200 тысяч видов моллюсков (Ferreira et al., 2011).

Помимо транспозонов (*TIR*, *Helitron*, *Maverick*), у рыб обнаружено большое количество ретроэлементов Класса 1 (*LTR*, *DIRS*, *PLE*, *LINE*, *SINE* и др.). Наиболее распространенными у рыб являются non-LTR ретороэлементы группы *Rex*, *LINE* и *SINE*. Для многих из них установлена точная локализация на хромосомах рыб.

1. Ретроэлементы группы *Rex*. Первый ретроэлемент рыб *Rex3* был выявлен в Y хромосоме меченосцев *Xiphophorus maculatus*, пораженных меланомой (Volf et al., 1999). Спонтанные меланомы у меченосцев определенных гибридных генотипов обусловлены наличием доминантного генетического локуса под названием *Tu* (Schartl, 1995). У диких родительских рыб опухоли отсутствуют благодаря наличию опухолямодифицирующего фактора *R*, который осуществляет репрессию *Tu*.

В результате гибридизации у некоторых гибридов хромосома, содержащая фактор R, элиминируется и возникают опухоли. Было установлено, что в локусе *Tu* расположен онкоген *Xmrk*, кодирующий рецептор тирозинкиназы (Wittbrodt et al. 1989).

Rex3 является автономным ретротранспозоном, близким по структуре к семейству RTE. В гаплоидном геноме рыб меченосцев имеется около тысячи копий Rex3, причем часть из них произошла недавно (Volf et al., 2001). Существенными особенностями Rex3 являются: (1) наличие эндонуклеазы и обратной транскриптазы, (2) усечение на 5'-конце у большинства копий, (3) наличие на 3'-конце хвостов, состоящих из тандемных повторов последовательности GATG, и (4) наличие коротких переменной длины дубликатов последовательностей сайтов-мишеней.

Ретроэлемент Rex3 выявлен у 64 видов костистых рыб, причем у почти 40 % видов рыб он расположен в гетерохроматиновом участке, а у 60 % видов он диспергирован по всему геному. В отличие от вышеуказанных рыб, у сомообразных рыб ретроэлементы расположены, в основном, в эухроматиновых участках хромосом.

У рыб семейства *Cichlidae* наиболее часто ретроэлемент Rex3 располагается в первой паре

хромосом, и по этой причине служит маркером этой пары. Первая пара хромосом у этих рыб является половой. У рыб *Chionodraco hamatus* ретроэлемент Rex3 расположен в околоцентромерном участке длинного плеча хромосомы Y и, по-видимому, может влиять на процессы молекулярной дифференциации половых хромосом. Отсутствие ретроэлементов у асексуальных организмов (пиявководные коловратки *Bdelloid rotifers*) усиливает это предположение (Arkhipova, Meselson, 2000).

У рыбы фугу наряду с ретроэлементом Rex3 одновременно может присутствовать и другой ретроэлемент под названием Zebulon (Bouneau et al., 2003). Кроме того, ретроэлементы группы Rex в районе гетерохроматинового участка часто ассоциированы с минисателлитами.

У рыб меченосцев также были описаны ретроэлементы Rex1 и Rex6 (Volf et al., 2004). Rex1 затем был выявлен у 71 вида костистых рыб (Garduucci et al., 2018). Помимо транскриптазы, он кодирует апурин/апиримидиновую эндонуклеазу, которая часто удаляется в результате неполной обратной транскрипции. Эта эндонуклеаза может находиться как перед транскриптазой, так и вслед за ней (рис. 1.)

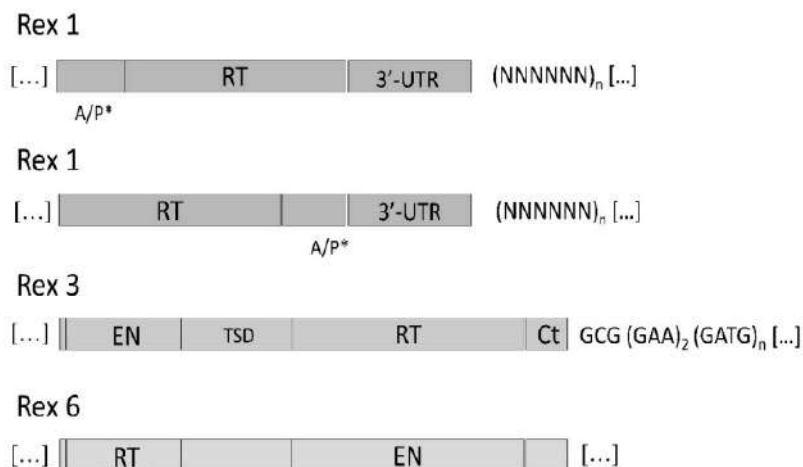


Рис. 1. Структура ретроэлементов группы Rex. Обозначения: A/P — участок, кодирующий апурин/апиримидиновую эндонуклеазу; RT — участок, кодирующий обратную транскриптазу; EN — участок, кодирующий эндонуклеазу; TSD — сайт дубликации; Ct — участок, кодирующий С-коцевой домен Rex 3, за которым следуют повторы GCG (GAA)₂ (GATG)_n, где n = 8–17 раз (Volf et al., 1999).

Rexb является членом семейства R4, специализирующегося на вставке в гены рРНК своего хозяина. Он кодирует обратную транскриптазу и рестриктазоподобную эндонуклеазу (RLE). Этот ретроэлемент к настоящему времени был выявлен у 27 видов костистых рыб (Shao et al., 2019), он неоднократно подвергался вспышкам ретротранспозиции, приводящим к большому количеству копий в геноме многочисленных рыб. Ретроэлементы, подобные Rexb, были выявлены и в геномах рептилий, но в геноме человека они отсутствуют, что свидетельствует об их возможной элиминации в процессе длительной эволюции.

2. Ретроэлемент LINE-1(L1). Ретроэлемент L1 (long interspersed nuclear element, LINE) является наиболее древним среди других ретроэлементов (Eickbush, Malik, 2002). Тем не менее, ретроэлементы L1 рыб продолжают быть активными, так как большинство из них вставлены недавно. В отличие от человека и мышей, у которых существует лишь одно семейство L1, представленное тысячами копий, у рыб насчитывается больше 30 представителей этого семейства, однако количество копий этого ретроэлемента у рыб значительно меньше (около 100). По-видимому, появление ретроэлемента L1 у рыб предшествовало появлению L1 у млекопитающих и у *Xenopus* (Furano et al., 2004).

У медаки (*Oryzias latipes*) выявленный ретроэлемент группы LINE был назван Gamera (Koga et al., 2002). Он выявлен у 9 видов медак рода *Oryzias*, причем у различных видов рыб размер этого ретроэлемента был различным.

Количество копий на диплоидный геном не превышало 40.

3. Ретроэлементы PLE. По многим свойствам ретроэлементы PLE оказались близкими к суперсемейству Penelope, выявленному у мух *Drosophila virilis*, поэтому были названы Пенелопа-подобными элементами (Penelope-like elements, PLE). Такие ретроэлементы под названием Посейдон и Нептун были выявлены немецкими исследователями у рыбы фугу (*Fugu rubripes*), у медаки (*Oryzias latipes*), а также у рыбы под названием «зеленая куропатка» (*Tetraodon nigroviridis*) (Volf et al., 2001). Эти ретротранспозоны представляют собой необычный класс ретротранспозонов, отличающихся как от LTR-содержащих, так и от не содержащих LTR ретроэлементов (Evgen'ev, Arkhipova, 2005). Они были впервые обнаружены в геноме *Drosophila virilis* как элементы, играющие основную роль в процессе гибридного дисгенеза данного вида мух (гибридный дисгенез — это явление, наблюдающееся при скрещивании самок, не несущих Penelope, с самцами, геном которых содержит несколько копий активного ретроэлемента, и проявляется в повышенном уровне инсерций мобильных элементов и стерильности потомства F1). PLE имеют идентичные прямые длинные концевые повторы и относятся к LTR-ретротранспозонам. Такие ретроэлементы были выявлены у цихлид, креветок, морских ежей, лягушек (Evgen'ev, Arkhipova, 2005). Выявленному у рыбы *Takifugu rubripes* подобному LTR- ретротранспозону английские исследователи дали название Xena (Nogare et al., 2002).

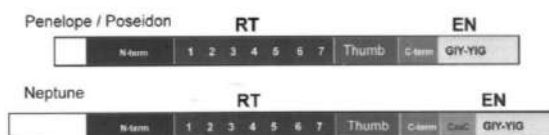


Рис. 2. Структура открытых рамок считывания ретроэлементов Penelope-Poseidon-PLE. Участок RT состоит из семи высоко консервативных последовательностей, за которыми следует участок thumb (выпячивание) и С-концевой домен. У ретроэлементов Penelope-Poseidon вслед за С-концом располагается домен GY-YIG EN, а у ретроэлемента Neptune между RT и EN находится домен типа «цинковые пальцы» («Zn-finger»), обеспечивающий РНКсвязывающую активность (Martin, Bushman, 2001).

PLE содержат одну открытую рамку считывания, кодирующую обратную транскриптазу и эндонуклеазу, которые отличаются от соответствующих белков LTR-содержащих и non-LTR ретроэлементов. Эндонуклеаза PLE относится к семейству URI, которое также включает GY-YIG

эндонуклеазу интронов группы I и бактериальный белок UvrC, который участвует в эксцизионной репарации. Обратная транскриптаза этих ретротранспозонов напоминает RT-домен теломеразы. Оба кодируемых PLE белка являются функционально активными, однако механизм их переме-

щения в геноме пока остается невыясненным (Nogare et al., 2002). Домен GIY — YIG EN, присутствовавший только в ранних Penelope-подобных ретротранспозонах (протисты, растения, грибы), в процессе эволюции элиминировал и к настоящему времени канонические PLE встречается только у позвоночных животных.

4. Ретроэлемент SINE. SINE (short interspersed nuclear element) — это тип относительно небольшого неавтономного ретротранспозона, который для перемещения с одного места для интеграции в другом месте генома организма использует ферментативные механизмы автономных ретроэлементов LINE. 5'-участок SINE-элементов происходит от гена tPHK хозяина, средняя часть — неизвестного происхождения, а 3'-конец — от такого-же участка ретроэлемента LINE (Ogiwara et al., 1999; 2002). 5'-участок SINE содержит две консервативные последовательности, которые служат в качестве промоторов транскрипции с помощью РНК-полимеразы III (Deragon, Zhang, 2006). Новые SINE-элементы были недавно выделены из анчоусных рыб *Coilia nasus*, у которых есть два экотипа — мигрирующий и резидентный, отличающиеся между собой по нерестовому и миграционному поведению (Liu et al., 2020). SINE обладает двумя структурами, которые напоминают ген tPHK и хвост ретротранспозона LINE. При сравнительном изучении транскриптомов обонятельной ткани этих рыб было установлено, что интактные копии транскрипта SINE обнаруживаются только в мигрирующей рыбе на начальной стадии ретротранспозиции. Количество копий ДНК SINE было выше в резидентном типе, чем в миграционном, в то время как частота внедрения SINE была выше в миграционном типе, чем в резидентном. Кроме того, вставки SINE могут приводить к появлению новых повторов коротких фрагментов ДНК, представляющих собой дубликацию сайта интеграции. SINE в резидентном типе подверглись вырезанию через механизм, в котором предсказанные сайты разрезания образованы мутациями, в результате чего образовывались пробелы (gaps), которые затем заполняются микросателлитами. Поэтому активность SINE и неполное удаление приводит к экотипическому разнообразию популяций *S. nasus*. Вставка SINE может привести к генетическим вариантам и регулировать экспрессию генов, позволяя организмам рыб приобретать новые адаптационные способности. Таким образом, экологические

различия в поведении рыб могут быть объяснены наличием ретроэлементов SINE.

5. Эндогенные ретровирусы. Эндогенные вирусные элементы (EVE) представляют собой фрагменты вирусных геномов (или целые геномы), которые интегрированы в геном зародышевой линии их хозяев и наследуются по вертикали согласно законам Менделя в течение нескольких поколений хозяев. Эндогенные вирусные элементы выявлены среди различных групп вирусов (Belyi et al., 2010), однако наибольший интерес представляют эндогенные ретровирусы. Большая часть известных к настоящему времени EVE рыб — это ретровирусы. Эти вирусы кодируют белки, участвующие в интеграции вирусного генома в хромосомы хозяина (интегрированный вирус называется провирусом), что необходимо для завершения цикла репликации ретровируса. Помимо интеграции в соматические геномы хозяина, ретровирусы периодически в процессе эволюции колонизируют геномы зародышевой линии хозяина, порождая десятки тысяч новых эндогенных ретроэлементов, которые сейчас составляют значительную долю геномов позвоночных. Происходит так называемая «доместификация» вируса.

Как правило, полноразмерный эндогенный ретровирус имеет длину 3.5–10 тысяч пар оснований и содержит гомологи основных ретровирусных генов gag, pol, иногда prt и env, которые фланкированы длинными концевыми повторами на 5'- и 3'-концах (Aiewsakun, Katzourakis, 2015). LTR содержат набор регуляторных последовательностей, состоящих из участка U3 (3'-уникальный район), R (повторяющийся участок) и U5 (5'-уникальный район). В участке U3 расположено большинство регуляторных элементов — промотор, энхансер и рецепторы транскрипционных факторов. В участке U5 расположены сигналы негативного регулирования, в R области расположен сигнал полиаденилирования (Chalopin et al., 2015). Все провирусы фланкированы в геноме короткими прямыми повторами (обычно 3–6 пар оснований), представляющими собой дубликацию сайта интеграции.

Рыбы, как и другие позвоночные животные, инфицируются экзогенными ретровирусами (Буцацкий, Галахин, 2009). Семейство Retroviridae разделяется на два подсемейства (Orthoretrovirinae и Spumaretrovirinae) и семь родов: Alpharetrovirus, Betaretrovirus, Gamaretrovirus, Deltaretrovirus, Epsilon-retrovirus,

Lentivirus, и Spumavirus. Поскольку ЭРВ не всегда по своим характеристикам можно отнести к какому-либо из этих родов, было решено разделить их на три класса (I-III). Класс I включает ЭРВ, близкие к Гамма- и Эпсилонретровирусам; класс II — к Ленти-, Альфа-, Бета- и Дельтаретровирусам; класс III — к Спума (пенящим) ретровирусам (Gifford et al., 2005; Hayward et al., 2015). Эндогенных ретровирусов рыб обычно относят к Эпсилон-подобным (класс I) и Спумавирусам (класс III).

Китайскими исследователями (Xu et al., 2018) было установлено, что эндогенные ретровирусы содержатся в геномах 66 видов костистых рыб, у 3 видов акул, у 2 видов миног, у 4 видов амфибий и у 16 видов рептилий. Выявленные эндогенные ретровирусы они предлагают разделять не на три класса, как было указано выше, а на 5 элементов, которые используются в традиционной китайской медицине и в китайской философии У-син. В её основе лежит пятичленная структура, определяющая основные параметры мироздания — это огонь, вода, дерево, металл и земля. Наибольшее количество ЭРВ ими было отнесено в раздел «дерево» (Эпсилон-подобные ретровирусы, в раздел «земля» (Спумавирусы). В раздел «огонь» отнесены эндогенные ретровирусы, подобные ретровирусу из рыбы-змееголова (SnRV-like retroviruses). На основе филогенетического анализа ими были установлены возможные пути горизонтальной передачи ЭРВ из «водных» организмов к наземным, и наоборот.

Эндогенные ретровирусы рыб, как и экзогенные, также широко распространены, но их общее количество в геномах рыб значительно меньше, по сравнению с другими позвоночными животными. Так, количество ЭРВ в геномах позвоночных животных, в зависимости от вида, колеблется в пределах 0,01–1 %, а у костистых рыб эта цифра составляет всего 0,033 % у рыбы фугу и 0,76 % у рыбы данио. У миноги, латимерии и акулы количество ЭРВ в геномах ещё ниже — около 0,007 %. Количество вставок ЭРВ при этом у костистых рыб весьма высокое — от 1800 у рыбы фугу до 30 000 у данио (Naville, Volf, 2016).

У одного из наиболее древних видов рыб, африканской латимерии (*Latimeria chalumnae*) было выявлено три вида ЭРВ — Эпсилон-подобный, Спума-подобный и ретроэлемент, схожий с ретровирусом рыбы-змееголова (SnRV-like retroviruses) (Hayward et al., 2015). Спума-подобный ретроэлемент африканской латимерии

кроме *gag*, *pol*, и *env* содержит две дополнительные рамки считывания, которые находятся в той же позиции, где обычно расположены дополнительные гены Спумавирусов позвоночных животных. По расчетам, этот ЭРВ внедрился в геном латимерий свыше 19 миллионов лет назад (Han and Worobey, 2012a; Han, 2015).

Наиболее изученным является Эпсилон-подобный эндогенный ретровирус полосатого данио (ZFERV). Э тот вирус был выявлен в одной из лабораторий США при изучении генов, ответственных за развитие лимфоцитов у *Danio rerio* (Shen, Steiner, 2004). Анализ последовательностей тимусных кДНК выявил провирус размером 11,2 кб, который содержал рамки считывания, типичные для простых ретровирусов. Филогенетическим анализом было установлено, что ZFERV ближе к ретровирусу лейкемии мышей, нежели к изученным до настоящего времени ретровирусам рыб. Позже было установлено, однако, что по многим свойствам он все-таки ближе к экзогенному ретровирусу саркомы плавательного пузыря атлантического лосося (SSSV) (Rovnak, Quackenbush, 2010).

Опытами по гибридизации *in situ* было показано, что тимус является основным местом экспрессии ZFERV как у личинок, так и у взрослых особей. Транскрипты ZFERV были выявлены и в других тканях — в мозгу, почках, сердце. Кроме того, провирус был выявлен также в сперме. Одна из гипотез объясняет наличие транскриптов ZFERV в других тканях возможностью эндогенного ретровируса данио генерировать экзогенный вирус, как это происходит с ретровирусами млекопитающих.

Известно, что 10 % генома человека состоит из эндогенной ретровирусной ДНК, поэтому многие исследователи полагают, что изучение рисков, связанных с активацией эндогенных ретровирусов, будет удобно изучать на модели ретровируса полосатого данио.

Как уже упоминалось, большое количество ЭРВ оказались родственными пенящим ретровирусам (подсемейство Spumaretrovirinae). Впервые эндогенные пеняще-подобные ретровирусы рыб (ЭППРР) были выявлены у рыбы данио (Llorens et al. 2009) и у трески (Schartl, M., et al. 2013). В университете штата Аризона (США) в 2015г была защищена кандидатская диссертация, посвященная ЭППРР (Ruboyanes, 2015). Пеняще-подобные ретровирусы были выявлены у 23 видов костистых рыб (Ruboyanes, Worobey, 2016). Размеры геномов

этих эндогенных ретровирусов оказались намного больше по сравнению с известными ретровирусами благодаря необычно длинным их gag-подобным генам и наличию многочисленных дополнительных генов.

Выявление подобных эндогенных ретровирусов у латимерии (Han, Worobey, 2012) позволило установить возраст ЭППРР. Исследователи пришли к заключению, что их возраст превышает 450 млн лет, т.е. они являются самыми древними представителями ретровирусов. ЭППРР могли возникнуть в эпоху раннего палеозоя вместе с первыми позвоночными животными, если не раньше их. Эта предполагаемая дата происхождения эндогенных ретровирусов совпадает с возникновением адаптивного иммунитета, и может свидетельствовать о том, что ретровирусы играют важную роль в возникновении антивирусной защиты позвоночных. Для установления возраста эндогенных ретровирусов применяли формулу $t = d / 2\mu$, где t — время, d — дивергенция (Kimura K80), а μ — частота мутаций. Частота мутаций хозяев была получена из нескольких источников (Fraser et al., 2015).

Ценные сведения были получены при изучении мест внедрения гена *env* в хромосому рыб. Интактные открытые рамки считывания ретровирусной оболочки были выявлены среди транскриптов РНК в эмбриональных тканях рыб спустя 3 дня после оплодотворения (Henzy et

al., 2016). Среди большого количества исследованных рыб, такие ORF были выявлены только среди клада рыб под названием *Percomorpha*. Это большой клад костистых рыб, в которую входят тунец, морские коньки, бычки, цихлиды, камбала, губан, окунь, рыба-ангел и рыба-пуф. По этой причине все эти ORF были названы «percomORF». Оказалось, что все «percomORF» находились внутри одного из 18 интронов, расположенных между экзонами, кодирующими высококонсервативный среди позвоночных животных ген ауксиллин — подобного белка. У всех 20 исследуемых рыб (табл. 1) этот участок находился в одном и том-же месте хромосомы (так называемая синтения), что свидетельствует об их происхождении от одного предка. Исходя из общепризнанного факта, что рыбы клада *Percomorpha* отделились от остальных 109–140 млн лет тому назад (Near et al. 2012), можно утверждать, что такой-же возраст имеют и «percomORF» (Henzy et al., 2016).

Таким образом, «percomORF» являются наиболее древними интактными генами вирусов, они намного старше синцитина-Car1, который внедрился в зародышевую линию плотоядных животных 60–85 Млн лет тому назад (Cornelis et al., 2012). По-видимому, ген *env* когда-то у рыб, имеющих плаценту, выполнял роль синцитинов, обеспечивающих слияние сперматозоида с яйцеклеткой.

Таблица 1. Наличие percomORF в эмбриональной ткани рыб.

Латинское название рыб	Российское название	Отряд
<i>Cyprinodon nevadensis</i>	Невадский карпозубик	Карпозубообразные
<i>Cyprinodon variegatus</i>	Изменчивый карпозубик	Карпозубообразные
<i>Fundulus heteroclitus</i>	Обыкновенный фундулюс	Карпозубообразные
<i>Nothobranchius furzeri</i>	Нотобранх Фурцера	Карпозубообразные
<i>Poecilia formosa</i>	Амазонская моллинезия	Карпозубообразные
<i>Poecilia reticulata</i>	Гуппи	Карпозубообразные
<i>Xiphophorus maculatus</i>	Пецилия пятнистая	Карпозубообразные
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Обыкновенный лаврак	Окунеобразные
<i>Larimichthys crocea</i>	Большой желтый горбыль	Окунеобразные
<i>Boleophthalmus pectinirostris</i>	Илистый прыгун	Окунеобразные
<i>Periophthalmodon schlosseri</i>	Голубой илистый прыгун	Окунеобразные
<i>Periophthalmus magnuspinnatus</i>	Корейский илистый прыгун	Окунеобразные
<i>Scartelaos histophorus</i>	Ходячий бычок	Окунеобразные
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Трехиглая колюшка	Колюшкообразные
<i>Lates calcarifer</i>	Латес	Окунеобразные
<i>Sebastes nigrocinctus</i>	Тигровый окунь	Окунеобразные
<i>Sebastes rubrivinctus</i>	Прямополосый себастодес	Окунеобразные
<i>Thunnus orientalis</i>	Тихоокеанский голубой тунец	Окунеобразные
<i>Takifugu rubripes</i>	Бурый фугу	Иглобрюхообразные
<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Пятнистый зеленый тетраодон	Иглобрюхообразные

6. Ретроэлемент Steamer. В последние годы были описаны многочисленные случаи выявления опухолей у двустворчатых моллюсков (мидии, мии, устрицы) (Metzger et al., 2016; Aguilera et al., 2017). Впервые неопластическое заболевание моллюсков было обнаружено в США у двух видов устриц *Crassostrea gigas* и *C. virginica* (Farley, 1969; 1976). Гипотетическая концепция сугубо вирусной этиологии неоплазм моллюсков не нашла экспериментального подтверждения, поскольку посредством электронной микроскопии вирус-возбудитель обнаружить не удалось (Metzger et al., 2015).

Неоднократно описанное наличие у особей, пораженных лейкемией, повышенного количества обратной транскриптазы (Hous et al., 1998) свидетельствовало о наличии у них ретроэлементов. В 2014 г. ученые Колумбийского университета путем углубленного секвенирования РНК гемолимфы песчаной мии (*Mya arenaria*) идентифицировали транскрипты нового ретроэлемента, названного Steamer: его экспрессия четко коррелировала с наличием у моллюсков неоплазий (Arriagada et al., 2014). В отличие от генома здоровых особей, который обычно содержит 2–10 эндогенных ретротранспозонов, количество копий Steamer в геномах опухолевых клеток моллюсков колеблется от 150 до 300.

Steamer относится к линии ретротранспозонов *Mag* из семейства элементов *gypsy/Ty3*. В структуре представителей данного семейства присутствуют LTR-последовательности (long terminal repeats). После обратной транскрипции они интегрируются в геном посредством механизма, характерного для ретровирусов. ДНК ретроэлемента Steamer обладает длинными концевыми повторами и кодирует один большой белок, сходный с ретровирусными белками Gag-Pol млекопитающих (Arriagada et al., 2014; Metzger et al., 2016; Newton, Lewbart, 2017).

7. Горизонтальная передача ретроэлемента Steamer. Дальнейшее изучение геномов двустворчатых моллюсков позволило определить целый ряд Steamer-подобных элементов. Параллельно были найдены доказательства многочисленных частых межвидовых переносов таких ретроэлементов и даже перехода этих транспозонов в организмы других типов водных животных, включая позвоночных, морских ежей и кораллов (Metzger et al., 2018).

С помощью методов однонуклеотидного полиморфизма митохондриальной ДНК (SNPs)

и метода микросателлитов с использованием флуоресцентных зондов было установлено, что генотипы опухолевых клеток не совпадают с генотипами животного-хозяина. Более того, они оказались идентичными у моллюсков, выловленных в различных, далеко расположенных друг от друга акваториях США и Канады (Walker et al., 2009; Metzger et al., 2015; Paynter et al., 2017). Анализ последовательности небольшого числа сайтов интеграции Steamer показал, что неопластическая ДНК содержит новые сайты интеграции, которых нет в ДНК здоровых моллюсков. Кроме того, эти новые копии часто обнаруживали идентичную локализацию у различных видов, пораженных лейкезом. Результаты данных исследований свидетельствуют о том, что рак распространяется среди этих животных в морской среде как клональная трансмиссивная клетка, полученная от некоей первичной особи-хозяина.

К настоящему времени механизмы горизонтальной передачи опухолей моллюсков неизвестны. Поскольку двустворчатые способны ежедневно пропускать до нескольких литров морской воды, существует высокая вероятность их инфицирования небольшими дозами злокачественных клеток, находящихся в воде. Ранее было установлено, что гемоциты инфицированных моллюсков могут сохраняться в морской воде около 6 часов (Sunila, Farley, 1989; Galimany, Sunila 2008). Такие источники инфекции появляются во внешней среде при травмах, во время размножения или после гибели большого животного.

Горизонтальная передача опухолей от одного животного другому долгое время считалась крайне редким явлением. До 2006 года было известно всего два случая успешной горизонтальной передачи опухоли у позвоночных животных: венерическая опухоль собак (CTVT), передающаяся во время полового контакта (Murgia, 2006; Murchison, 2008), а также лицевая опухоль тасманского дьявола (DFTD), которая передается через укусы (Pearse, Swift, 2006). У позвоночных животных, как правило, опухоли не контагиозны и не передаются друг другу горизонтально, вследствие существования на поверхности их клеток специфических полиморфных белков, в частности — главного комплекса гистосовместимости. Инородные опухоли быстро определяются иммунной системой хозяина и отторгаются организмом.

Выводы

Изучение ретрозлементов рыб и моллюсков, как наиболее древних организмов, позволяет более полно проследить их роль в эволюции водных животных. Показано, что ретрозлементы рыб и моллюсков играют важную роль в возникновении антивирусной защиты позвоночных. Существование механизма горизонтальной передачи опухолей у моллюсков представляет значительный практический интерес с точки зрения сравнительной онкологии. Невысокая стоимость моллюсков и хорошо разработанные методы их культивирования выдвигают этих беспозвоночных на передовые позиции в качестве модельных систем при изучении молекулярных механизмов опухолевых процессов у позвоночных животных и людей.

Список литературы:

1. *Aguilera F.* Neoplasia in Mollusks: What Does it Tell us about Cancer in Humans? A Review. *Journal of Genetic Disorders*. 2017. Vol. 1, N 1. P. 1–7.
2. *Aiewsakun P., Katzourakis A.* Endogenous viruses: Connecting recent and ancient viral evolution. *Virology*. 2015. Vol. 479, P. 26–37. doi: 10.1016/j.virol.2015.02.011.
3. *Arkhipova I. R., Meselson M.* Diverse DNA transposons in rotifers of the class *Bdelloidea*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2005. Vol. 102, P. 11781–11786.
4. *Arriagada G., Metzger M. J., Muttray A. F.* Activation of transcription and retrotransposition of a novel retroelement, Steamer, in neoplastic hemocytes of the mollusk *Mya arenaria*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014. Vol. 111, P. 14175–14180.
5. *Belyi V. A., Levine A. J., Skalka A-M.* Unexpected Inheritance: Multiple Integrations of Ancient Bornavirus and Ebolavirus/Marburgvirus Sequences in Vertebrate Genomes. *PLoS Pathog*. 2010. 6(7):e1001030. doi:10.1371/journal.ppat.1001030
6. *Bouneau L., Fischer C., Ozouf-Costaz C., Froschauer A., Jaillon O., Coutanceau J., Körtling C., Weissenbach J., Bernot A., Volff J-N.* An Active Non-LTR Retrotransposon With Tandem Structure in the Compact Genome of the Pufferfish *Tetraodon nigroviridis*. *Genome Research*. 2003. Vol. 13, P. 1686–1695.
7. *Buchatsky L. P., Galakhin K. A.* Tumors of fish in reservoirs of Ukraine. Kiev, DIA, 2009. 144 p. [in Russian] / *Бучацкий Л. П., Галахин К. А.* Опухоли рыб водоемов Украины. Киев, ДИА, 2009. 144 с.
8. *Carducci F, Barucca M, Canapa A, Biscotti M.* Rex Retroelements and Teleost Genomes: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. vol. 19, P. 3653–3660. doi:10.3390/ijms19113653.
9. *Chalopin D., Naville M., Plard F., Galiana D., Volff J. N.* Comparative analysis of transposable elements highlights mobilome diversity and evolution in vertebrates. *Genome Biol. Evol.* 2015. V. 7, P. 567–580. doi: 10.1093/gbe/evv005.
10. *Cornelis G, Heidmann O, Bernard-Stoecklin S, Reynaud K, Ve´ron G, Mulot B, Dupressoir A, Heidmann T.* Ancestral capture of syncytin-Car1, a fusogenic endogenous retroviral envelope gene involved in placentation and conserved in Carnivora. *Proc Natl. Acad Sci U S A*. 2012. Vol.109, P.E432–E441.
11. *Deragon J-M, Zhang X.* Short interspersed elements (SINEs) in plants: origin, classification, and use as phylogenetic markers. *Systematic biology*. 2006. Vol. 55, P. 949–956.
12. *Eickbush T. H., Malik H. S.* Origins and Evolution of Retrotransposons. T. H. Eickbushand, H.S Malik. *Mobile DNA II*. — ASM Press. 2002. P. 1111–1144.
13. *Evgen'ev M. V., Arkhipova I. R.* Penelope-like elements — a new class of retroelements: distribution, function and possible evolutionary significance. *Cytogenet Genome Res*. 2005. Vol. 110, P. 510–521. doi: 10.1159/000084984.
14. *Farley C. A.* Probable neoplastic disease of the hemopoietic system in oysters, *Crassostrea virginica* and *Crassostrea gigas*. *Natl Cancer Inst Monogr*. 1969. Vol. 31, P. 541–555.
15. *Farley C. A.* Proliferative disorders in bivalve mollusks. *Mar Fish Rev*. 1976. P. 30–33.
16. *Ferreira D. C., Porto-Foresti F., Oliveira C., Foresti F.* Transposable elements as a potential source for understanding the fish genome. *Mobile Genetic Elements*. 2011. Vol. 1, P. 112–117.
17. *Fraser B. A., Künstner A., Reznick D. N., Dreyer C., Weigel D.* Population Genomics of Natural and Experimental Populations of Guppies (*Poecilia reticulata*). *Molecular Ecology*. 2015. Vol. 24, P. 389–408.
18. *Furano A. V., Duvernell D. D., Boissinot S.* L1 (LINE-1) retrotransposon diversity differs dramatically between mammals and fish. *TRENDS in Genetics*. 2004. Vol.20, No. 1, P. 9–14.
19. *Galimany E., Sunila I.* Several cases of disseminated neoplasia in mussels *Mytilus edulis* (L.) in western Long Island Sound. *J. Shellfish Res*. 2008. Vol. 27, P. 1201–1207.
20. *Gifford R., Kabat P., Martin J., Lynch C., Tristem M.* Evolution and distribution of class II-related endogenous retroviruses. *J. Virol*. 2005. Vol. 79, P. 6478–6486. doi: 10.1128/JVI.79.10.6478-6486.2005
21. *Han G.-Z.* Extensive retroviral diversity in shark. *Retrovirology*. 2015. Vol.12, P. 34–39. doi: 10.1186/s12977-015-0158-4.
22. *Han G.-Z., Worobey M.* An endogenous foamy-like viral element in the coelacanth genome. *PLoS Pathog*. 2012. 8:e1002790. doi: 10.1371/journal.ppat.1002790.

23. Hayward A., Cornwallis C. K., Jern P. Pan-vertebrate comparative genomics unmasks retrovirus macroevolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2015. Vol. 112, P. 464–469. doi: 10.1073/pnas.1414980112.
24. Henzy J. E., Gifford R. J., Kenaley C. P., Johnson W. E. An Intact Retroviral Gene Conserved in Spiny-Rayed Fishes for over 100 My. *Mol. Biol. Evol.* 2016. Vol. 34(3), P. 634–639. doi:10.1093/molbev/msw262.
25. Hous M. L., Kim, C. H., Reno P. W. Soft shell clams *Mya arenaria* with disseminated neoplasia demonstrate reverse transcriptase activity. *Dis. — quat. Organ.* 1998. Vol. 34, P. 187–192.
26. Katzourakis A., Gifford R. J., Tristem M., Gilbert M. T., Pybus O. G. Macroevolution of complex retroviruses. *Science.* 2009. Vol. 325(5947), P. 1512–1518.
27. Koga A, Sakaizumi M, Hori H. Transposable Elements in Medaka Fish. *Zoolog Sci.* 2002. Vol. 19, P. 1–6.
28. Kunakh V. A. Mobile genetic elements and plant genome plasticity. Kyiv, Logos, 2013. 300p. [in Ukrainian] / Кунах В. А. Мобільні генетичні елементи і пластичність геному рослин. Київ, Логос, 2013. 300 с.
29. Liu D., Yang J., Tang W., Zhang X., Royster C. M., Zhang M. SINE Retrotransposon variation drives Ecotypic disparity in natural populations of *Coilia nasus*. *Mobile DNA.* 2020. Vol. 11, P. 1–14. doi.org/10.1186/s13100-019-0198-8.
30. Llorens C. Network Dynamics of Eukaryotic LTR Retroelements beyond Phylogenetic Trees. *Biology Direct.* 2009. Vol. 4, P. 41–46.
31. Martin S. L., Bushman F. D. Nucleic acid chaperone activity of the ORF1 protein from the mouse LINE-1 retrotransposon. *Mol Cell Biol.* 2001. Vol. 21, P. 467–475.
32. Metzger M., Paynter A., Siddall M., Goff S. Horizontal transfer of retrotransposons between bivalves and other aquatic species of multiple phyla. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018. Vol.115, N 18, P. 4227–4235.
33. Metzger M., Reinisch C., Sherry J. Horizontal transmission of clonal cancer cells causes leukemia in soft-shell clams. *Cell.* 2015. Vol.161, P. 255–263.
34. Metzger M., Villaiba A., Carballal M. Widespread transmission of independent cancer lineages within multiple bivalve species. *Nature.* 2016. Vol. 534(7609), P. 705–709.
35. Murchison E. P. Clonally transmissible cancers in dogs and Tasmanian devils. *Oncogene.* 2008. Vol. 27, P. 19–30.
36. Murgia C., Pritchard J.K., Kim S.Y. et al. Clonal origin and evolution of a transmissible cancer. *Cell.* 2006. Vol. 126, P. 477–487.
37. Naville M., Volff J.-N. Endogenous Retroviruses in Fish Genomes: From Relics of Past Infections to Evolutionary Innovations? *Frontiers of Microbiology.* 2016. vol. 7, P. 1197–1206. doi: 10.3389/fmicb.2016.01197.
38. Near T. J., Eytan R. I., Dornburg A., Kuhn K. L., Moore J. A., Davis M. P., Wainwright P. C., Friedman M., Smith W. L. Resolution of rayfined fish phylogeny and timing of diversification. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012. Vol. 109, P. 13698–13703.
39. Newton A. L., Lewbart G. A. Invertebrate oncology: Diseases, diagnostics and treatment. *Vet Clin North Am Exot Anim.* 2017. Pract 20, P. 1–19.
40. Nogare D. E., Clark M. S., Elgar G., Frame I. G., Poulter R. T. Xena, a Full-Length Basal Retroelement from Tetraodontid Fish. *Mol. Biol. Evol.* 2002. Vol. 19(3), P. 247–255.
41. Ogiwara I., Miya M., Ohshima K., Okada N. Retropositional parasitism of SINEs on LINEs: Identification of SINEs and LINEs in elasmobranchs. *Mol Biol Evol.* 1999. Vol. 16, P. 1238–1250.
42. Ogiwara I., Miya M., Ohshima K., Okada N. V-SINEs: a new superfamily of vertebrate SINEs that are widespread in vertebrate genomes and retain a strongly conserved segment within each repetitive unit. *Genome Res.* 2002. Vol. 12, P. 316–321.
43. Paynter A., Metzger J., Sessa J. Evidence of horizontal transmission of the cancer-associated Steamer retrotransposon among ecological cohort bivalve species. *Dis Aquat Org.* 2017. Vol. 124, P. 165–168.
44. Pearse A. M., Swift K. Allograft theory: transmission of devil facial tumour disease. *Nature.* 2006. Vol. 439, P. 549–556.
45. Rovnak J., Quackenbush S. L. Walleye Dermal Sarcoma Virus: Molecular Biology and Oncogenesis. *Viruses.* 2010. Vol. 2, P. 1984–1999.
46. *Ruboyianes R.* Foamy-like Endogenous Retroviruses Are Abundant and Extensive In Teleosts. A thesis on master of science. The University of Arizona. 2015. 52 pp.
47. *Ruboyianes R., Worobey M.* Foamy-like endogenous retroviruses are extensive and abundant in teleosts. *Virus Evolution.* 2016. Vol. 2(2), vew 032. doi: 10.1093/ve/vew032.
48. Schartl M. Platyfish and swordtails: a genetic system for the analysis of molecular mechanisms in tumor formation. *Trends Genet.* 1995. Vol. 11, P. 185–189.
49. Schartl M., Walter R. B., Shen Y., Garcia T., Catchen J., Amores A., The Genome of the Platyfish, *Xiphophorus maculatus*, Provides Insights into Evolutionary Adaptation and Several Complex Traits. *Nature Genetics.* 2013. Vol. 45, P. 567–572.
50. Shao F., Han M., Peng Z. Evolution and diversity of transposable elements in fish genomes. *Nature Scientific Reports.* 2019. Vol. 9, P. 15399–15406. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51888-1>.
51. Shen C.-H., Steiner L. A. Genome Structure and Thymic Expression of an Endogenous Retrovirus in Zebrafish. *J. Virol.* 2004. Vol. 78, P. 899–911.

52. Sunila I., Farley C. A. Environmental limits for survival of sarcoma-cells from the soft-shell clam *Mya arenaria*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 1989. Vol. 7, P. 111–115.
53. Volf J. N., Lehrach H., Reinhardt R., Chourrout D. Retroelement dynamics and a novel type of chordate retrovirus-like element in the miniature genome of the tunicate *Oikopleura dioica*. *Mol. Biol. Evol.* 2004. Vol. 21, P. 2022–2033.
54. Volf J. N., Körting C., Sweeney K., Scharl M. The nonLTR retrotransposon Rex3 from the fish *Xiphophorus* is widespread among teleosts. *Mol Biol Evol.* 1999. Vol. 16, P. 1427–1438. <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026055>.
55. Volf J. N., Körting C., Meyer A., Scharl M. Evolution and discontinuous distribution of Rex3 retrotransposons in fish. *Mol Biol Evol.* 2001. Vol. 18, P. 427–431. <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003819>.
56. Volf J. N., Körting C., Scharl M. Multiple lineages of the non-LTR retrotransposon Rex1 with varying success in invading fish genomes. *Mol Biol Evol.* 2000. Vol. 17, P. 1673–1684. <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026266>.
57. Walker C., Bottger A., Mulkern J. Mass culture and characterization of tumor cells from a naturally occurring invertebrate cancer model: Application for human and animal disease and environmental health. *Biol Bull.* 2009. Vol. 216, P. 23–39.
58. Wittbrodt J., Adam D., Malitschek B., Mäueler W., Raulf F., Telling A., Robertson S., Scharl M. Novel putative receptor kinase encoded by the melanoma-inducing Tu locus in *Xiphophorus*. *Nature*. 1989. Vol. 341, P. 415–421.
59. Xu X., Zhao H., Gong Z., Han G.-Z. Endogenous retroviruses of non-avian/ mammalian vertebrates illuminate diversity and deep history of retroviruses. *PLoS Pathog.* 2018. Vol.14(6): e1007072. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007072>.

Стаття надійшла до редакції 16.08.2020.
Прийнята до друку 14.09.2020

ENDOGENOUS RETROELEMENTS OF FISH AND MOLLUSCS

L. P. Buchatskyi

Kyiv National University named by Taras Shevchenko
Ukraine, 01601, Kyiv-33, Volodymyrska str., 64
Institute of Fisheries NAAS of Ukraine
Ukraine, 03164, Kyiv-164, Obukhivska str., 135, 2

Goal. Analysis of scientific literature sources devoted to the study of retroelements of fish and mollusks. **Results.** It is shown that endogenous

retroelements are widespread both among fish and mollusks. Endogenous retroviruses of fish, like exogenous ones, are also widespread, but their total number in the genomes of fish is much less than in other vertebrates. The Steamer retroelement, the presence of which is associated with the development of tumors in molluscs, can be transmitted horizontally between these invertebrates. In addition, it is able to pass into organisms of other types of aquatic animals, including vertebrates, sea urchins and corals. **Conclusions.** The study of the retroelements of fish and molluscs, as the most ancient organisms, makes it possible to more fully trace the stages of evolution of aquatic animals. It was shown that retroelements of fish and molluscs play an important role in the development of antiviral defense in vertebrates. The low cost of mollusks and well-developed methods of their cultivation put these invertebrates at the forefront as model systems for studying the molecular mechanisms of tumor processes in vertebrates and humans.

Keywords: retroelements, fish, molluscs, tumors.

ЕНДОГЕННІ РЕТРОЕЛЕМЕНТИ РИБ І МОЛЮСКІВ

Л. П. Бучацький

Київський національний
університет імені Тараса Шевченка
Україна, 01601, м. Київ, Володимирська, 64
Інститут рибного господарства НААН
Україна, 03164, м. Київ-164, ул. Обухівська, 135
e-mail: iridolpb@gmail.com

Мета. Аналіз наукових літературних джерел, присвячених вивченню ретроелементів риб і молюсків. **Результати.** Показано, що ендогенні ретроелементи широко поширені як серед риб, так і серед молюсків. Ендогенні ретровіруси риб, як і екзогенні, також широко поширені, але їх загальна кількість в геномах риб значно менше, в порівнянні з іншими хребетними тваринами. Ретроелемент молюсків Steamer, наявність якого пов'язують з розвитком пухлин у молюсків, здатний передаватися між цими безхребетними горизонтально. Крім того, він здатний переходити в організми інших типів водних тварин, включаючи хребетних, морських їжаків і коралів. **Висновки.** Вивчення ретроелементів риб і молюсків, як найбільш древніх організмів, дозволяє більш повно простежувати етапи еволюції водних тварин. Показано, що ретроелементи риб і молюсків грають важливу роль у виникненні антивірусного захисту хребетних тварин.

Ключові слова: ретроелементи, риби, молюски, пухлини.