

На правах рукописи

Соболева Евгения Сергеевна

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТОЧЕК
РАЗРЫВОВ ФИКСИРОВАННЫХ И ПОЛИМОРФНЫХ
ИНВЕРСИЙ В X ХРОМОСОМЕ МАЛЯРИЙНОГО КОМАРА
ANOPHELES MESSEAE**

1.5.7 Генетика

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Новосибирск - 2026

Работа выполнена на кафедре генетики и клеточной биологии Биологического института и в лаборатории эволюционной цитогенетики Научно-исследовательского института биологии и биофизики ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск

**Научный
руководитель:**

Артемов Глеб Николаевич
Доцент кафедры генетики и клеточной биологии
НИ ТГУ, г. Томск

**Официальные
оппоненты:**

Колесникова Татьяна Дмитриевна
д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории
молекулярной цитогенетики, ИМКБ СО РАН,
г. Новосибирск
Галкина Светлана Анатольевна
к.б.н., доцент кафедры генетики и биотехнологии
ФГБОУ ВО Санкт-Петербургского
государственного университета,
г. Санкт-Петербург

**Ведущая
организация:**

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет» (НГУ),
г. Новосибирск

Защита диссертации состоится _____ 2026 г. на утреннем заседании диссертационного совета 24.1.239.01, на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН» в конференц-зале Института по адресу: 630090, г. Новосибирск, проспект ак. Лаврентьева, 10; т. (383)363-49-06, факс (383) 333-12-78, e-mail: dissov@bionet.nsc.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН и на сайте Института <http://www.icgbio.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Хромосомные перестройки, в частности инверсии, играют важную роль в эволюции, участвуя в видообразовании, формировании адаптаций и генетической изменчивости. Инверсии способствуют накоплению благоприятных комбинаций аллелей за счёт ограничения кроссинговера и способствуют образованию, под действием естественного отбора, коадаптированных блоков аллелей. Хромосомные инверсии широко распространены у малярийных комаров рода *Anopheles*, являющихся переносчиками ряда опасных заболеваний, в том числе малярии.

Особенностью четырех из одиннадцати близкородственных видов малярийных комаров евразийской подгруппы *Maculipennis* (*Anopheles beklemishevi*, *An. sacharovi*, *An. messeae* и *An. daciae*) является видоспецифичные хромосомные перестройки в X-хромосоме (Стегний, 1991; Yurchenko et al., 2023), что отличает эту группу, например, от представителей африканского комплекса *Gambiae*, у которых таких инверсий в X-хромосоме найдено не было. Хромосомные инверсии видов подгруппы *Maculipennis*, по которым в природных популяциях наблюдают полиморфизм (далее, полиморфные инверсии), а также видоспецифичные, фиксированные в популяциях вида (далее, фиксированные инверсии) у большинства видов изучены неплохо. Однако, данные о локализации точек разрывов фиксированных перестроек в X-хромосоме молодой ветви подгруппы *An. messeae* s.l., которая представлена двумя видами-двойниками *Anopheles messeae* (Falleroni, 1926) и *An. daciae* (Linton, Nicolescu & Harbach, 2004) отсутствуют. Предложенные ранее пути эволюции X-хромосомы с опорой только на порядок дисков политенных хромосом (Стегний, 1991) требуют проверки методами молекулярной цитогенетики и геномики. Кроме того, остается непонятным место в общей схеме эволюции подгруппы, широко распространенных в природных популяциях полиморфных инверсий *X0* (2A-5B) *An. daciae* и *X2* (1B/C-4B) *An. messeae*, расположенных в X-хромосомы (Стегний, 1991; Artemov et al., 2021).

Таким образом, исследование хромосомной эволюции X-хромосомы у *An. messeae* и *An. daciae* позволит завершить реконструкцию общей картины эволюции половой хромосомы в подгруппе, продвинуться в понимании причин эволюционной пластичности X-хромосомы в подгруппе *Maculipennis*, определить ее место в системе адаптивного инверсионного полиморфизма *An. messeae* и *An. daciae*, а также в эволюции подгруппы.

Целью диссертационной работы являлось картирование районов, содержащих точки разрыва, фиксированных и полиморфных инверсий X-хромосомы для реконструкции хромосомной эволюции малярийного комара *Anopheles messeae*.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Провести картирование на сборке генома *An. atroparvus* районов, содержащих точки разрывов фиксированных перестроек и полиморфных инверсий в X-хромосоме *An. messeae*, с помощью флюоресцентной *in situ* гибридизации (FISH).
2. Провести анализ молекулярно-генетического состава районов референсной сборки генома *An. atroparvus*, гомеологичных окрестностям точек разрывов фиксированных и полиморфных инверсий *An. messeae*, методами биоинформатики.
3. Реконструировать эволюцию X-хромосомы в филогенетической ветви *An. messeae* s.l. методами биоинформатики.

Научная новизна. Впервые описаны и картированы с точностью до 7,4 тысяч пар нуклеотидов фиксированные хромосомные перестройки X-хромосомы *An. messeae* и *An. daciae*, что позволило дополнить реконструкцию хромосомной эволюции в подгруппе *Maculipennis*. Впервые проведено геномное картирование на референсной сборке *An. atroparvus* районов, содержащих точки разрывов, ранее описанных полиморфных инверсий *X1* и *X2* *An. messeae* и *An. daciae*. Впервые проведена реконструкция хромосомной эволюции X-хромосомы *An. messeae* и *An. daciae*. Разработан и впервые применён метод итеративного картирования районов, содержащих точки разрыва, с помощью FISH. Данный метод позволяет изучать хромосомные перестройки в отсутствии геномных сборок исследуемых видов. Создан программный инструмент GIC (рег. № 2024689915), позволяющий проводить реконструкцию очередности событий возникновения хромосомных перестроек.

Научно-практическая ценность работы. Полученные в ходе исследования результаты вносят существенный вклад в понимание процессов видообразования у малярийных комаров. Определение районов, содержащих точки разрывов инверсий, является первым шагом к их точной локализации в геномных сборках *An. messeae* и *An. daciae*, когда они будут получены. Метод итеративного картирования может быть предложен к использованию для картирования хромосомных перестроек у других немодельных организмов. Программа GIC может применяться для анализа хромосомных перестроек в других таксономических группах.

Положения, выносимые на защиту:

1. Появление филогенетической ветви *An. messeae* s.l. подгруппы *Maculipennis* связано с возникновением инверсий в X-хромосоме.
2. Районы X-хромосомы, содержащие точки разрывов фиксированных инверсий у *An. messeae*, обогащены ДНК-транспозонами и представляют собой горячие точки разрывов у других видов малярийных комаров.

Апробация работы. Научные результаты, описываемые в данной работе, частично были представлены на 10 конференциях международного и всероссийского уровня, результаты опубликованы в трех статьях в рецензируемых научных журналах (в т.ч. Q1-Q2). Получено 1 авторское свидетельство.

Личный вклад автора. Автором работы разработан метод итеративного картирования, самостоятельно проведены эксперименты по разработке ДНК-проб и FISH, а также выполнено картирование районов, содержащих точки разрыва инверсий. Реконструкция эволюции X-хромосомы была также проведена самостоятельно и с использованием программного обеспечения, разработанного автором. Результаты анализа молекулярно-генетического состава районов, содержащих точки разрыва, были получены при содействии К. М. Кириленко (ТГУ, г. Томск).

Структура и объем работы диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения, выводов и списка использованной литературы. Общий объем составляет 146 страниц машинописного текста. Текст работы содержит 23 рисунка, 7 таблиц и 5 приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Литературный обзор

В обзоре литературы подробно описаны случаи хромосомных перестроек типа инверсий в различных группах эукариот и в их половых хромосомах. Рассмотрено значение хромосомных инверсий с точки зрения эволюции и видообразования. Одна треть обзора уделена малярийным комарам рода *Anopheles*: описана их систематика, частные случаи фиксированных и полиморфных инверсий у представителей *Anopheles* и их влияние на адаптацию к различным условиям обитания, а также молекулярные исследования регионов, содержащих точки разрывов (breakpoints region, BR) инверсий, распространенных в природных популяциях.

Материалы и методы

Для выполнения диссертационной работы **материалом** послужили личинки 4-го возраста и самки имаго малярийных комаров *Anopheles*, выловленные из природных биотопов в населенных пунктах с. Майково, с. Коларово, с. Тегульдет (Томская область) в период с 2018 по 2021 гг. В главе подробно описаны **методы**: флюоресцентная *in situ* гибридизация (FISH), видовая идентификация методом ПЦР-ПДРФ, выделение геномной ДНК, разработка праймеров, аннотация мобильных генетических элементов (МГЭ), геномное картирование, реконструкция инверсий, анализ геномной онтологии.

Основные результаты

3.1 Разработка метода итеративного картирования

В данном исследовании был разработан метод итеративного картирования районов, содержащих точки разрывов хромосомных перестроек. Метод основан на сравнительном анализе взаиморасположения маркерных последовательностей в референсной геномной сборке и на хромосомной карте исследуемого близкородственного вида, для которого геномная сборка не доступна. Маркерные гены подбираются таким образом, чтобы они располагались в окрестностях предполагаемой точки разрыва хромосомной перестройки. О локализации маркеров вне или внутри перестройки судят по изменению физического расстояния между двумя соседними маркерами: если расстояние превышает ожидаемое на референсной геномной сборке, то делают вывод о том, что маркеры находятся по разные стороны от точки разрыва. В этом случае картирование повторяют, вовлекая новые один или несколько маркеров, расположенных между фланкерами и до тех пор, пока результат не будет удовлетворять задачам исследования.

3.2 Определение районов, содержащих точки разрыва фиксированных инверсий в X-хромосоме *Anopheles messeae*

Локализацию BR с помощью итеративного картирования проводили, опираясь на локализацию трех генетических маркеров, картированных ранее (Artemov et al., 2018; Yurchenko et al., 2023). В результате физического картирования последовательностей 34 ДНК-маркеров было «пройдено» около 4 млн п. н. и впервые локализованы четыре BR фиксированных хромосомных перестроек в X-хромосоме *An. messeae*. Размер BR составил от 7,4 до 12,1 тыс. п. н., при общей длине геномной сборки X-хромосомы *An. atroparvus* (AatrE3) в 17,5 млн п. н.. Положение BRI и BRII на дистальном конце X-хромосомы *An. messeae* соответствует подрайонам соответственно 1B и 1C, тогда как BRIII и BRIV – соответственно 4A и 4B (рисунок 1).

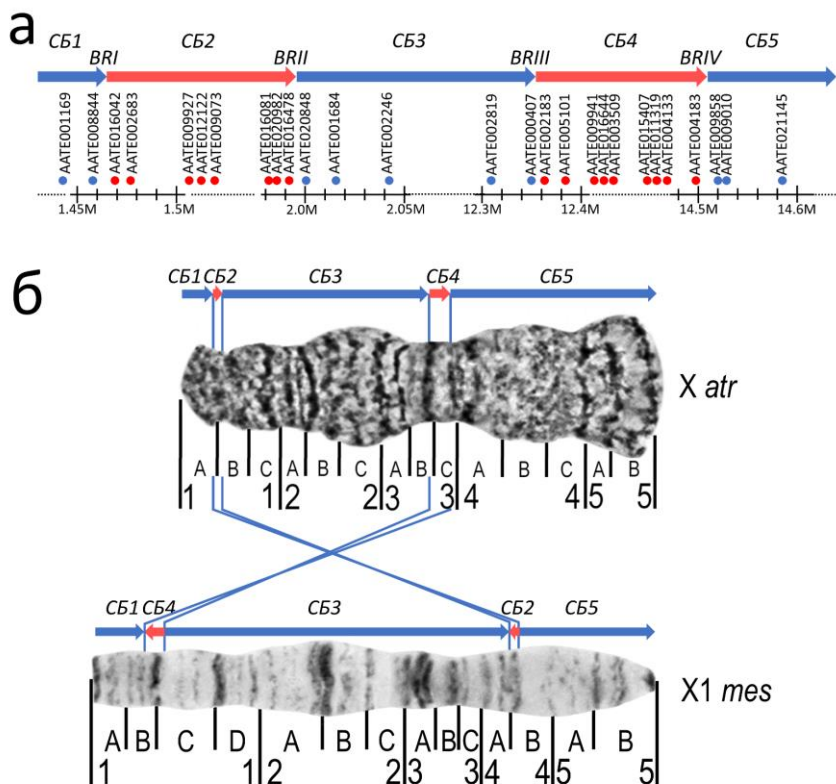


Рисунок 1 – Геномная (а) и физические (б) карты генов *Anopheles atroparvus*, использованных в качестве ДНК-маркеров для локализации районов, содержащих точки разрывов фиксированных хромосомных перестроек в X-хромосоме *An. messeae*. Точки синего цвета обозначают гены, расположенные в коллинеарных синтенных блоках (СБ, стрелки синего цвета), тогда как точки красного цвета – в инвертированных синтенных блоках (стрелки красного цвета); X *atr* – цитогенетическая карта X хромосомы трофоцитов яичников *An. atroparvus*; X1 *mes* – цитогенетическая карта X1 инверсионного варианта X-хромосомы клеток слюнных желез *An. messeae*.

Результаты двухцветного FISH подтверждают, что гены, фланкирующие BR и находящиеся рядом на геномной карте *An. atroparvus*, расположены на расстоянии, превышающем половину длины хромосомы *An. messeae* (рисунок 2).

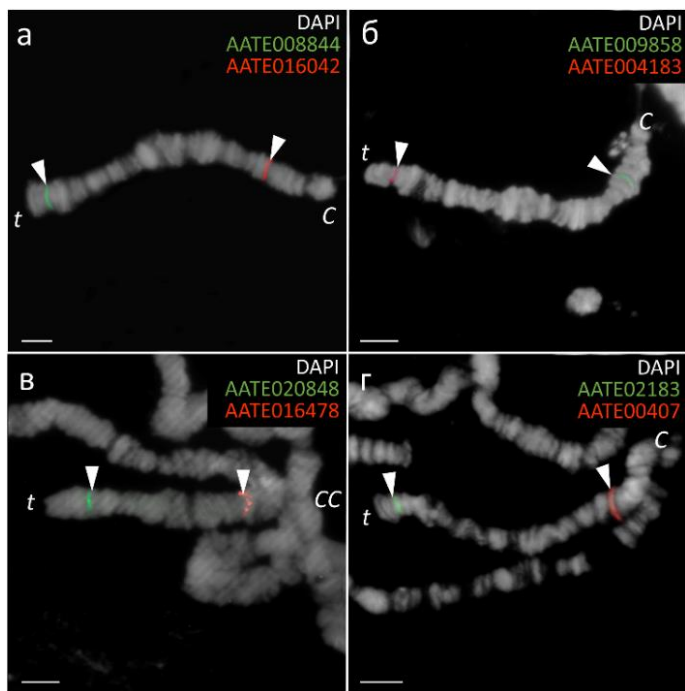


Рисунок 2 – FISH ДНК-проб нуклеотидных последовательностей генов *An. atroparvus*, фланкирующих BR фиксированных перестроек на политенных X-хромосомах *An. messeae*. (а) Маркерные гены BRI; (б) Маркерные гены BRIV; (в) Маркерные гены BRII; (г) Маркерные гены BRIII. C – центромерный конец, t – теломерный конец, CC – хромоцентр. Масштабная линейка – 10 мкм.

Маркеры, фланкирующие BR фиксированных инверсий у *An. messeae*, были локализованы также на стандартном X1 варианте X-хромосомы *An. daciae* для того, чтобы ответить на вопрос произошли ли обнаруженные хромосомные перестройки до разделения видов-двойников *An. messeae* и *An. daciae*. Маркеры BR фиксированных перестроек совпадают у инверсионного варианта X1 и *An. messeae*, и *An. daciae*, который, очевидно, является предковым для обоих видов. Кроме того, те же маркеры были локализованы на X-хромосоме ближайшего родственного вида для *An. messeae* и *An. daciae* – *An. maculipennis* и подтвердили данные (Yurchenko et al., 2023) об отсутствии крупных хромосомных перестроек в X-хромосоме *An. maculipennis* и *An. atroparvus*. Таким образом было определено, что фиксированные перестройки характерные для *An. messeae* и *An. daciae* возникли после дивергенции с видом *An. maculipennis*.

3.3 Геномное картирование районов, содержащих точки разрыва полиморфных инверсий X1 и X2 *Anopheles messeae* s.l.

Для геномного картирования BR полиморфных инверсий X0 и X2 дополнительно локализовали 20 и 2 ДНК-маркеров, соответственно. Дистальный BR инверсии X2 имел размер 26,6 тыс. п. н., а проксимальный BR – 14,8 тыс. п. н. Было установлено, что границы проксимального BR полиморфной инверсии X2 совпадают с границами BRIV фиксированной перестройки, тогда как дистальный BR этой инверсии оказался локализован между BRI и BRII фиксированных перестроек. Размер проксимального BR инверсии X0 составил 8,5 тыс. п. н., а дистального – лишь 171,5 тыс. п. н., что связано с низкой плотностью генов *An. atroparvus* в прицентромерном районе.

3.4 Реконструкция эволюции X-хромосомы *An. messeae* и *An. daciae*

Обнаруженные в ходе итеративного картирования четыре BR фиксированных перестроек образуют пять синтенных блоков (СБ) в X-хромосоме *An. messeae* и *An. atroparvus* (СБ1-5 на рисунке 1) размером от 0,5 млн. п. н. до 10,3 млн. п. н. Однако с учетом BR, полиморфных инверсий X0 и X2, общее число СБ X-хромосомы будет равным восьми (рисунок 3).

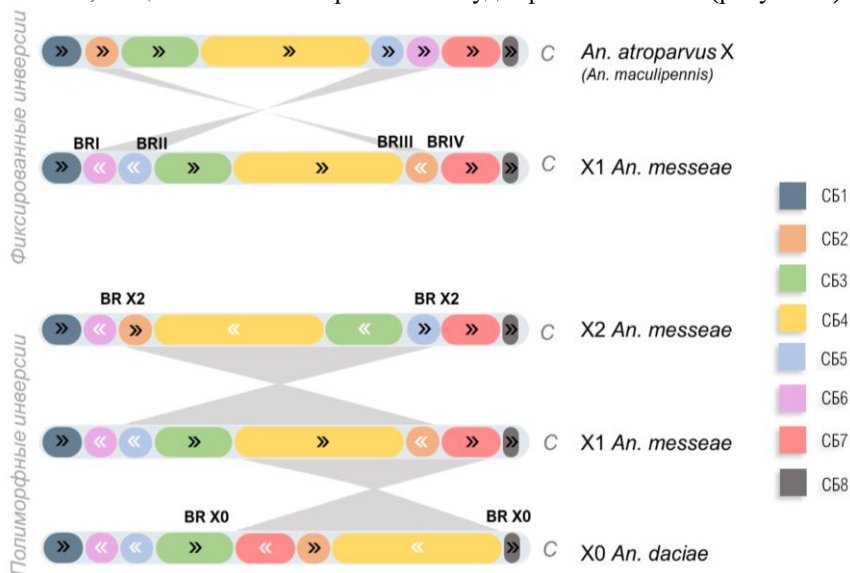


Рисунок 3 – Взаиморасположение и ориентация синтенных блоков (СБ), образованных районами, содержащими точки разрыва хромосомных перестроек (BR) возникавшими после разделения *An. messeae* и *An. daciae* с общим предковым видом *An. maculipennis*

Для того чтобы реконструировать последовательность событий эволюции X-хромосомы, приводящую к появлению современных инверсионных вариантов X1, X0 и X2 *An. messeae* s.l. был разработан биоинформатический инструмент GIC (Genome Inversions Calculator).

Поскольку известно, что вариант X0 является специфичным для *An. daciae*, а X2 – для *An. messeae*, можно предположить, что полиморфные инверсии возникли независимо друг от друга и для реконструкции хромосомной эволюции было запущено два отдельных сценария в программе. GIC показал, что оба сценария имеют общие начальные этапы, связанные с образованием двух вложенных одна в другую фиксированных инверсий, приводящих к появлению инверсионного варианта X1 (рисунок 4).

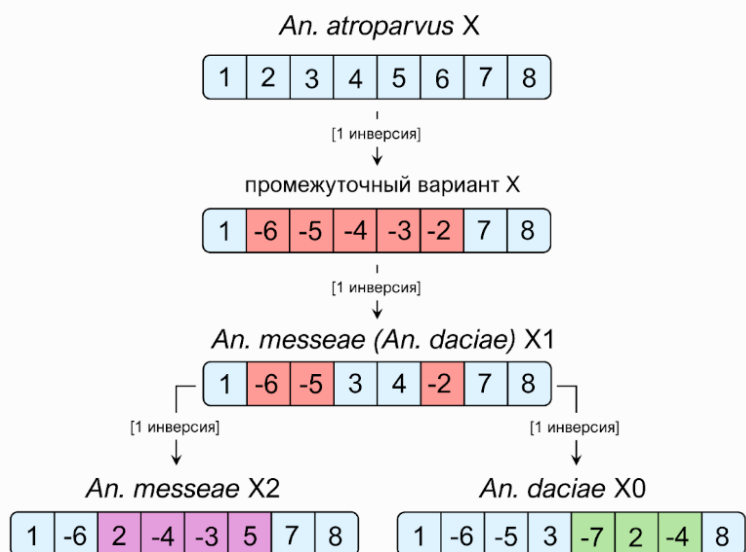


Рисунок 4 – Эволюция изменения порядка генов в X-хромосоме *An. messeae* s.l. по результатам анализа GIC. Красным цветом обозначены синтенные блоки, затронутые фиксированными инверсиями, пурпурным и зеленым цветами – полиморфные инверсии X2 *An. messeae* и X0 *An. daciae* соответственно.

Большая по размеру инверсия (13 млн. п. н.) ограничена BRI и BRIV и включает СБ2, СБ3, СБ4, СБ5 и СБ6, тогда как меньшая инверсия (10 млн. п. н.) ограничена BRII и BRIII и включает СБ3 и СБ4. Обе полиморфные инверсии возникают на основе инверсионного варианта X1.

3.5 Анализ частоты разрывов в районах гомеологичных BR у других представителей *Anopheles*

Хромосомные сборки геномов некоторых видов *Anopheles* и результаты физического картирования маркеров BR X-хромосомы *An. messeae* у двух представителей подгруппы *Maculipennis* – *An. sacharovi* и *An. beklemishevi*, были использованы для ответа на вопрос насколько активно, обнаруженные у *An. messeae* BR фиксированных инверсий, вовлекались в хромосомную эволюцию рода *Anopheles* (рисунок 5).

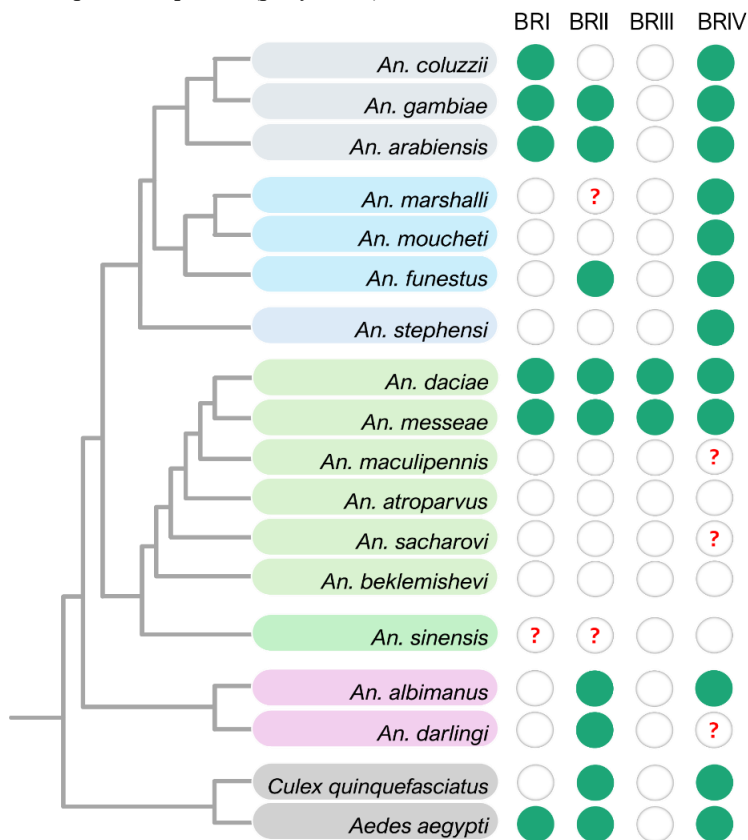


Рисунок 5 – Разрывы в BR фиксированных перестроек X-хромосомы *An. messeae* s.l. у некоторых представителей *Anopheles*. BRI, BRII, BRIII и BRIV – районы, содержащие точки разрывов фиксированных инверсий у *An. messeae* s.l.. Зеленым цветом обозначено наличие разрыва в соответствующем BR, белым цветом – отсутствие разрывов, ? – отсутствие данных. Данные о филогенетических отношениях заимствованы из Harbach R. E., 2013

Разрыв в BRIV наблюдается у 12 из 18 исследованных видов, в том числе у представителей внешней группы, что говорит о независимом появлении этого разрыва в линии *An. messeae* s.l. после того, как порядок соответствующий *An. atroparvus* был установлен. Подобным образом разрыв в BRII происходит неоднократно в подгруппе *Maculipennis* и в подроде *Cellia*. Разрыв в BRI, очевидно, появляется у *An. messeae* s.l. впервые среди представителей подгруппы *Maculipennis*, и этот разрыв является характерным для в африканского комплекса видов *Gambiae*.

Разрыв в BRIII в доступной выборке исследованных видов является уникальным, что указывает на относительно редкое его участие в структурных перестройках.

Таким образом, по крайней мере, три из четырех BR неоднократно участвовали в хромосомных перестройках, сопровождающих эволюцию рода *Anopheles*.

3.6 Молекулярно-генетический состав окрестностей точек разрывов фиксированных инверсий

Обогащение BR повторами, в частности МГЭ, у представителей рода *Anopheles* может являться предпосылкой для возникновения хромосомных перестроек. Необходимо оценить действительно ли BR и их окрестностях характеризуются повышенной плотностью МГЭ свойственной районам генома, содержащим горячие точки разрывов. Поскольку полногеномной сборки *An. messeae* не существует, анализ МГЭ в окрестности BR фиксированных инверсий был проведён с использованием референсной сборки генома *An. atroparvus* (AatrE3). Проанализирована окрестность BR размером около 100 тыс. п. н. и включающая сам BR и районы размером по 50 тыс. п. н. перед и после BR. Изучаемый отрезок был разделен на интервалы (бины), соответствующие размеру BR, для каждого из которых определялась плотность МГЭ.

Анализ показал, что в X-хромосоме *An. atroparvus* плотность МГЭ I класса (ретроэлементов) была значительно ниже по сравнению с МГЭ II класса (ДНК-транспозонами). Ретроэлементы были выявлены только вблизи BRI, тогда как ДНК-транспозоны в BRI отсутствовали и концентрировались преимущественно в BRII (11 эл./бин, $p = 2,7 \times 10^{-7}$), BRIII (11 эл./бин, $p = 2,3 \times 10^{-5}$) и BRIV (7 эл./бин, $p = 5,2 \times 10^{-3}$). BRI содержал кроме того простые повторы (в т. ч. (AC)₂₅ и (TATTTA)₈), с покрытием 7,4 %. BRII характеризовался содержанием CACTA-TIR, hAT, Harbinger, Helitron и др. с общим покрытием 18,6 %. BRIII содержал как простые повторы (например, (TGC)₃₀), так и разнообразные МГЭ (в основном CACTA-TIR и Harbinger). Наибольшее покрытие районов точек разрывов повторами (23,9 %) наблюдалось в BRIV, где присутствовали элементы CACTA-TIR, Mutator, а также 6 неклассифицированных МГЭ.

3.7 Функциональная характеристика генов с использованием генной онтологии

Две вложенные инверсии в X-хромосоме сопровождающие эволюции ветви *An. messeae s.l.*, связаны с изменением положения и ориентации только двух сравнительно небольших по размеру синтенных блоков СБ2 и СБ4 (рисунок 1). Возможно, что изменение линейной организации генов СБ2 и СБ4 на определенном этапе эволюции линии могло привести к изменению их экспрессии или накоплению новых аллелей. Анализ обогащения генов СБ2 и СБ4 терминами генной онтологии (GO-термины), позволит предположить функциональные последствия сложной перестройки в X-хромосоме. Обогащение GO-терминами оценивали по точному критерию Фишера, с последующей коррекцией p-value методами Бенджамини–Хохбергу и Бонферрони.

Среди выявленных 13 значимых ($p < 0,05$; $FDR < 0,05$) из 58 терминов биологических процессов можно отметить связанные с иммунными процессами: «антибактериальный гуморальный ответ», «противомикробный гуморальный ответ», «иммунный ответ», «ответ на биотический стимул» и др. Кратное обогащение (fold enrichment, FE) по отдельным терминам достигало более 50, а отношение шансов – более 150, что свидетельствует о высокой функциональной специфичности. Кроме того, были выявлены гены, ассоциированные с нейрофизиологическими процессами: «регуляция транспорта нейромедиаторов», «синаптическая пластичность», «брачное поведение», а также термины, связанные с метаболизмом нуклеотидов.

Согласно рисунку 3, СБ2 участвует в обеих полиморфных инверсиях, тогда как СБ5 (входящий в состав СБ4 на рисунке 1) задействован только в инверсии Х0. При сравнении функционального обогащения между этими участками обнаружены существенные различия: в пределах СБ2 выявлено обогащение по 75 терминам, из которых 18 демонстрируют наиболее высокие значения (>140) и сохраняют статистическую значимость после коррекции по Бенджамини–Хохбергу. Для СБ5, напротив, несмотря на наличие терминов с номинально значимыми p-value ($<0,05$), ни один из них не остаётся значимым после поправки на множественное тестирование.

Обсуждение

4.1. Реконструкция эволюции X-хромосомы в филогенетической ветви *Anopheles messeae s.l.*

Сравнительный анализ порядка дисков политенных хромосом, описание фиксированных хромосомных перестроек и реконструкция филогенетических отношений видов подгруппы *Maculipennis* на основе данных сравнительной цитогенетики, инверсионного полимофизма и географического распространения приведены в монографии В. Н. Стегния

(1991). В. Н. Стегнием было отмечено, что межвидовое сравнение по X-хромосоме значительно затруднено поскольку для нее характерны более сложные перестройки. Предложенная им схема эволюции X-хромосомы предполагала, что предковый порядок генов соответствует инверсионному варианту X0 *An. messeae* s.l., который возникает путем транслокации района 2b-3b, гомологичного *An. maculipennis*, в проксимальную область левого плеча. В настоящей работе было убедительно продемонстрировано, что исходным для всей линии *An. messeae* s.l. вариантом является X1, на основе которого возникают варианты X0 и X2, что подтверждает высказанное ранее предположение (Новиков, Кабанова, 1979).

4.2 Повторное использование точки разрыва инверсии

Особый интерес представляет участок X-хромосомы протяжённостью около 2 млн п. н., в пределах которого локализованы сразу три точки разрыва инверсий: BRIII, BRIV, и точка разрыва полиморфной инверсии X2. Примечательно, что регион разрыва, содержащий BRIV у *An. atroparvus* используется повторно не только у близкородственного *An. messeae*, но и у других видов *Anopheles*. Подобная концентрация разрывов в ограниченном геномном регионе может свидетельствовать о существовании районов с повышенной частотой разрывов (так называемые «горячие точки»).

Найденное совпадение BR инверсии X2 и фиксированной инверсии позволяет предположить, что инверсия X2 могла играть адаптивную роль, «возвратив» некоторые районы X-хромосомы к анцестральному положению. Расширение ареала *An. messeae* s.l. происходило в контексте плейстоценовых климатических флуктуаций, вероятно, сопровождавшихся сменой миграционных маршрутов. Современные кариотипические данные популяций верхнего Приобья указывают на связь между распространением вариантов X-хромосомы и экологическими зонами. Так, частота общего кариотипа X11 у *An. messeae* и *An. daciae* снижается с севера на юг, а гомозиготы по X22 приурочены к узкой зоне средней тайги Западной Сибири. Южнее их постепенно вытесняет полиморфный вариант X00. Так как нельзя исключать возможный вклад полиморфных инверсий в адаптацию к тем или иным экологическим зонам, то для дальнейшего изучения этой связи можно опираться на результаты картирования, полученные в данной работе.

4.3 Роль мобильных генетических элементов в формировании фиксированных инверсий у *An. messeae* s.l.

В настоящем исследовании обнаружено обогащение ДНК-транспозонами (MITE, SACTA, Helitron) в трёх из четырёх точек разрывов на референсном геноме *An. atroparvus*, тогда как ретротранспозоны не выявлены вовсе, что отличается от данных, полученных на *An. gambiae* и *An. stephensi*, где в точках разрывов доминируют LTR-элементы.

BR1 не содержал МГЭ, но был насыщен простыми повторами, что может быть связано с альтернативными механизмами перестроек, не связанными с транспозонами. В свою очередь, BRII и BRIII демонстрировали сходный состав МГЭ, что могло привести к возникновению фиксированной инверсии путем неаллельной гомологичной рекомбинации. BRIV, несмотря на участие в фиксированной и полиморфной инверсиях, имел низкую плотность транспозонов, что может свидетельствовать о повторном использовании разрывов с участием МГЭ (breakpoint reuse). Гетерогенный состав точек разрывов в пределах одной хромосомы косвенно может указывать на то, что в ходе эволюции инверсии формировались не единым механизмом, а с помощью разнообразных механизмов.

В отличие от *An. gambiae*, где точки разрыва инверсий часто ассоциированы с ретротранспозонами, в геноме *An. atroparvus* в этих регионах преобладают ДНК-транспозоны. Поскольку ДНК-транспозоны обычно перемещаются на короткие расстояния и формируют локальные кластеры МГЭ, их активность может способствовать локальной нестабильности генома. Однако значительные размеры инверсий у *An. atroparvus* (10-13 млн п. н.) и отсутствие ретротранспозонов в точках разрывов не позволяют объяснить их происхождение исключительно локальной транспозицией ДНК-элементов и требуют дополнительного изучения.

4.4. Связь хромосомных перестроек с обогащением GO-терминами

Несмотря на большой размер вложенных фиксированных инверсий в X-хромосоме, различия в порядке и ориентации генов между *An. atroparvus* и X1 *An. messeae* s.l. ограничиваются двумя небольшими синтенными блоками СБ2 и СБ4 (рисунок 1), охватывающими около 15 % длины X-хромосомы и содержащими 181 ген (около 10 % от общего числа генов X-хромосомы).

В отличие от *An. gambiae*, где на X-хромосоме выявлены гены, вовлечённые в предкопуляционную изоляцию и обонятельную сигнализацию, найденные у *An. messeae s.l.* кандидатные гены не совпадают с ранее описанными у других видов. Тем не менее, полученные результаты поддерживают гипотезу о возможной роли X-сцепленных инверсий в формировании репродуктивной изоляции, аналогично тому, как это было описано для рода *Drosophila* (Schwander et. al, 2014).

Поскольку в данной работе анализ экспрессии генов, связанных с перестройкой X-хромосомы не проводился, дальнейшие исследования могут быть направлены на проверку функциональной значимости выявленных инверсий с помощью анализа дифференциальной экспрессии между *An. messeae s.l.* и *An. maculipennis*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По итогам полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Итеративное картирование районов, содержащих точки разрывов хромосомных перестроек на геномной карте *An. atroparvus*, показало, что эволюцию X-хромосомы *An. messeae s.l.* после дивергенции с *An. maculipennis* сопровождали две вложенные одна в другую парацентрические инверсии.

2. Исходным для филогенетической ветви *An. messeae s.l.* является инверсионный вариант X1, тогда как полиморфные инверсионные варианты X0 и X2 возникли независимо в ветвях *An. daciae* и *An. messeae*, соответственно.

3. Районы гомеологичные, содержащим точки разрыва фиксированных инверсий *An. messeae s.l.*, в геноме *An. atroparvus* обогащены ДНК-транспозонами, что могло способствовать возникновению хромосомных перестроек в геноме предкового вида.

4. Районы X-хромосомы *An. atroparvus*, которые изменили свою локализацию и ориентацию в результате фиксированных хромосомных перестроек у *An. messeae s.l.* обогащены генами, связанными с иммунным ответом, нейрорегуляцией и половым поведением, что могло способствовать репродуктивной изоляции и адаптации к специфическим условиям обитания.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Статьи в рецензируемых научных журналах:

1. **Soboleva E. S.** The Species-Specific Inversion Polymorphism of the X Chromosome in *Anopheles messeae* and *Anopheles daciae* Is Based on the Common Ancestral Variant X1 / E.S. Soboleva, M.V. Sharakhova, I.V. Sharakhov, G.N. Artemov // *Genes*. – 2026. – Vol. 17, is. 1. – Article number 5. – 12 p. – URL: <https://www.mdpi.com/2073-4425/17/1/5> (access date: 20.12.2025). – DOI: <https://doi.org/10.3390/genes17010005> – 1.03 / 0.26 а.л. (Web of Science).

2. **Soboleva E. S.** Two Nested Inversions in the X Chromosome Differentiate the Dominant Malaria Vectors in Europe, *Anopheles atroparvus* and *Anopheles messeae* / E. S. Soboleva, K. M. Kirilenko, V. S. Fedorova, A. A. Kokhanenko, G. N. Artemov, I. V. Sharakhov // *Insects*. – 2024. – Vol. 15, is. 5. – Article number 312. – 19 p. – URL: <https://www.mdpi.com/2075-4450/15/5/312> (access date: 13.05.2025). – DOI: 10.3390/insects15050312. – 1.48 / 0.24 а.л. (Web of Science).

3. **Soboleva E. S.** Physical Mapping of Two Nested Fixed Inversions in the X Chromosome of the Malaria Mosquito *Anopheles messeae* / E. S. Soboleva, K. M. Kirilenko, V. S. Fedorova, A. A. Kokhanenko, G. N. Artemov, I. V. Sharakhov // *Comparative Genomics : Proceedings of the 20th International Conference, RECOMB-CG 2023. Istanbul, Turkey, April 14–15, 2023*. – 2023. – P. 84–99. – DOI: 10.1007/978-3-031-36911-7_6. – (Lecture Notes in Computer Science. – Vol. 13883). – 1.05 / 0.17 а.л.

Авторское свидетельство

4. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2024689915 Genome Inversions Calculator / **Соболева Е. С.** (RU); правообладатель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (RU). – Заявка № 2024688591; дата поступления – 27.11.2024; дата государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ – 11.12.2024; Бюл. № 1