

$$[Y_0] = [Y_1] + 2K_Y [Y_1]^2 + K_C [X_1][Y_1], \quad (2)$$

где $[X_0]$, $[Y_0]$ — исходные молярные концентрации C_{60} и NOV; $[X_1]$, $[Y_1]$ — равновесные молярные концентрации лигандов в мономерной форме. В качестве X_0 используется массив концентраций C_{60} , а Y_0 известен как $2.3 \cdot 10^{-5} M$. Экспериментальная оптическая плотность может быть представлена в виде:

$$A = \varepsilon_m [Y_1] + 2\varepsilon_d [Y_1] + \varepsilon_c [Y_c] \quad (3)$$

где ε_m , ε_d , ε_c — молярные коэффициенты поглощения лиганда Y в мономерной (m), димерной (d) формах и в составе гетерокомплекса, l — длина оптического пути в кювете, равная 1 см. Известно, что $\varepsilon_m = 19500 M^{-1} \cdot cm^{-1}$.

Были получены значения: для константы гетероассоциации $K_C = 73600 M^{-1}$, для коэффициента экстинкции в комплексе $\varepsilon_c = 14900 M^{-1} \cdot cm^{-1}$. Полученное значение константы гетероассоциации C_{60} -NOV близко к значению C_{60} -DOX ($61900 M^{-1}$) и существенно превышает константы гетероассоциации для других систем C_{60} -лиганд, исследованных ранее.

Следовательно, можно предположить, что существует непосредственное взаимодействие молекул новатрона с молекулами C_{60} , которое снижает биологический эффект, производимый NOV на ядра клеток, что косвенно согласуется теорией интерцепторно-протекторного действия, т.е. интерцепторно-протекторный механизм взаимодействия в системах «NOV- C_{60} -ДНК» проявляется на клеточном уровне.

Таким образом, результаты экспериментального и теоретического рассмотрения подтвердили исходное ожидание, основанное на результатах физико-химического эксперимента предыдущих исследований, показавших, что фуллерен и новатрон проявляют выраженное биологическое взаимодействие при совместном введении в биосистему. Важность этого эффекта напрямую связана с усилением противоопухолевой активности NOV, что допускает потенциальную возможность использования водной смеси фуллерена и новатрона в качестве новой лекарственной формы этого препарата.

Список литературы / References:

1. Prylutska S, Grynyuk I, Matyshevska O, Prylutskyi YI, Ritter U, Scharff P. Anti-oxidant properties of C_{60} fullerenes in vitro. *Fuller nanotub Carbon nanostr.*, 2008, vol. 16, no. 5–6, pp. 698-705.
2. Prylutska S, Burlaka A, Prylutskyi YI. Comparative study of antitumor effect of pristine C_{60} fullerenes and doxorubicin. *Biotechnol.*, 2011, vol. 4, no. 6, pp. 82-87.
3. Evstigneev M.P., Buchelnikov A.S., Voronin D.P., Rubin Y.V., Belous L. F., Prylutskyi Y., Ritter U. Complexation of C_{60} Fullerene with Aromatic Drugs. *J. ChemPhysChem.*, 2013, vol. 14, pp. 568-578.
4. Evstigneev M., Lantushenko A., Evstigneev V., Mykhina Y. V., Davies D. Quantitation of the molecular mechanisms of biological synergism in a mixture of DNA-acting aromatic drugs. *Biophysical chemistry.*, 2008, vol. 132, no. 2, pp. 148-158.

ДНК-ТРАНСПОЗОНЫ IS630/TC1/MARINER У ГРЕБНЕВИКА MNEMIOPSIS LEIDYI

Пузаков М.В., Пузакова Л.В.

ФГБУН Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН

пр. Нахимова 2, г. Севастополь, 299011, РФ

e-mail: puzakov@ngs.ru

Аннотация. Суперсемейство ДНК-транспозонов *IS630/Tc1/mariner* является одним из самых широкопредставленных, как у наземных, так и водных организмов. В геноме *Mnemiopsis leidyi* нами обнаружены семь новых элементов, принадлежащих к данной группе мобильных генетических элементов. Филогенетический анализ и анализ каталитических доменов транспозаз обнаруженных элементов показал, что они представляют три семейства (*rosa*, *mariner*, *pogo*) из восьми, входящих в суперсемейство *IS630/Tc1/mariner*.

Ключевые слова: *Mnemiopsis leidyi*, мобильные генетические элементы, ДНК-транспозоны, *IS630/Tc1/mariner*, транспозаза.

DNA TRANSPOSONS IS630/TC1/MARINER IN THE GENOME MNEMIOPSIS LEIDYI

Puzakov M.V., Puzakova L.V.

The A.O.Kovalevsky Institute of Marine Biological Research of RAS

Nakhimova av., 2, Sevastopol, 299011, Russia

e-mail: puzakov@ngs.ru

Abstract. The superfamily of DNA transposons *IS630/Tc1/mariner* is one of the most widely represented, both terrestrial and aquatic organisms. In the genome of *Mnemiopsis leidyi*, we found new seven elements belonging to this group of transposable elements. Phylogenetic analysis and analysis of the transposase catalytic domains of the detected elements showed that they represent three families (*rosa*, *mariner*, *pogo*) of the eight included in the *IS630/Tc1/mariner* superfamily.

Key words: *Mnemiopsis leidyi*, transposable elements, DNA transposons, *IS630/Tc1/mariner*, transposase.

ДНК-транспозоны являются мобильными генетическими элементами (МГЭ) класса II. МГЭ - это последовательности ДНК с характерной структурой, способные перемещаться по геному. К настоящему времени МГЭ обнаружены во всех исследованных организмах [1,2]. Перемещения МГЭ оказывают значимое воздействие на геном, в

котором находятся – они вызывают мутации и рекомбинации, влияют на работу генов и на процессы регуляции транскрипции. Кроме того, показано, что ключевую роль в эволюции млекопитающих играли не изменения белок-кодирующих генов, а появление новых некодирующих последовательностей, названных «консервативными некодирующими элементами», выполняющих регуляторные функции и значительная часть этих последовательностей сформировалась из фрагментов МГЭ. Есть данные, что МГЭ могут активизироваться в ответ на физические, химические и биологические стрессовые воздействия [3,4]. Их транспозиции служат мощным источником нестабильности генома и изменчивости, которая используется популяцией при изменениях условий окружающей среды, и играют значительную роль в адаптации организмов и в эволюции геномов [5].

ДНК-транспозоны перемещаются с помощью механизма «вырезание-вставка» («cut-and-paste»), который осуществляется благодаря ферментам, кодируемым генами МГЭ. Класс ДНК-транспозонов разделен на три группы: TIR-транспозоны, хелитроны (Helitrons) и полинтоны (Polintons). Наиболее широко и разнообразно представленным является подкласс TIR-транспозонов, включающий 21 суперсемейство [6]. TIR-транспозоны имеют инвертированные концевые повторы (terminal inverted repeats, TIR). Их перемещения обеспечиваются ферментом транспозазой (Trn), которая при вырезании узнает инвертированные концевые повторы конкретного МГЭ, поэтому наличие концов важно для транспозиции МГЭ. Если TIR-транспозон имеет сильно поврежденные концевые повторы или же они отсутствуют вовсе, то такой элемент теряет способность к транспозициям.

Наиболее разнообразным и распространенным суперсемейством ДНК-транспозонов является *IS630/Tc1/mariner*. *Mos1* был первым обнаруженным элементом этого суперсемейства [7]. На данный момент ДНК-транспозоны *IS630/Tc1/mariner* обнаружены практически у всех исследованных эукариотических организмов. Как правило, протяженность элементов *IS630/Tc1/mariner* находится в пределах от 1 до 3 тысяч пар нуклеотидов (п.н.). Длина инвертированных концевых повторов элементов варьирует от 20 до 600 п.н. Открытая рамка считывания (ОРС) кодирует транспозазу длиной в среднем 350 аминокислотных остатков. Транспозаза элементов *IS630/Tc1/mariner* осуществляет вставку элемента в двухнуклеотидный дублируемый сайт встраивания ТА [8].

Число организмов, геномы которых полностью секвенированы, постоянно растет, однако гребневики до сих пор не изучены в отношении состава МГЭ в их геномах [9]. В данной работе мы исследовали геном *Mnemiopsis leidyi* на присутствие ДНК-транспозонов суперсемейства *IS630/Tc1/mariner*.

В анализ были взяты последовательности геномной ДНК *M. leidyi*, полученные в результате полногеномного секвенирования и размещенные в базе данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Анализ проводился с помощью программы SENSOR [10], которая позволяет сравнивать исследуемые нуклеотидные последовательности с последовательностями известных МГЭ, размещенными в базе данных RepBase [11].

Мы исследовали порядка 15% последовательностей геномной ДНК *M. leidyi*. Нами были обнаружены семь элементов *IS630/Tc1/mariner*, которые были именованы в соответствии с номенклатурой RepBase (см. табл. 1).

Таблица 1 – ДНК-транспозоны *IS630/Tc1/mariner M. leidyi*

Элемент	Длина, п.н.	TIR, п.н.	Trn, п.н.	DDE/DDD- домен
<i>Mariner-1_MLe</i>	930	46/40	213	H/o
<i>Mariner-2_MLe</i>	1323	TIR1: 31/31 TIR2: 15/15 TIR: 105/105	350	DD41D
<i>Mariner-3_MLe</i>	1322	TIR1: 30/30 TIR2: 19/19 TIR: 109/109	310	DD41D
<i>Mariner-4_MLe</i>	1314	27/27	315*	DD34D
<i>Mariner-5_MLe</i>	4836	31/31	-**	DD35D
<i>Mariner-N1_MLe</i>	940	26/26	H/o	DD41D
<i>Mariner-N2_MLe</i>	914	30/30	H/o	H/o

* - есть стоп-кодены и сдвиг рамки считывания, ** - не возможно определить четкие границы кодирующей последовательности, H/o — не определено.

Пять ДНК-транспозонов были отнесены к потенциально автономным (согласно номенклатуре RepBase), поскольку их ОРС сохранились полностью или в значительной мере. Два элемента (*Mariner-N1_MLe* и *Mariner-N2_MLe*) были идентифицированы как неавтономные. Протяженность элементов *Mariner-2_MLe*, *Mariner-3_MLe* и *Mariner-4_MLe*, а так же длина кодируемых ими транспозаз соответствовали значениям, характерным для суперсемейства *IS630/Tc1/mariner*. Размеры *Mariner-5_MLe* были значительно больше средних, что, возможно, связано со вставками фрагментов ДНК в его последовательность. Вероятно, по этой же причине оказалось невозможным определить точные границы кодирующей транспозазу области (см. табл. 1). Длины элементов *Mariner-1_MLe*, *Mariner-N1_MLe* и *Mariner-N2_MLe* были короче классических, что, по всей видимости, является следствием делеций.

Необычное явление было обнаружено у *Mariner-2_MLe* и *Mariner-3_MLe*. Наряду с обычными инвертированными концевыми повторами (TIR1) у них есть дополнительная пара инвертированных повторов (TIR2) (см. табл. 1). Причем их расположение явно не случайно, поскольку оба TIR вместе с промежутком между ними образуют сложные инвертированные концевые повторы фиксированной длины.

Для того, чтобы определить к какому семейству относятся найденные нами ДНК-транспозоны, мы провели анализ их DDE/D-доменов. Классификация ДНК-транспозонов основана на различиях в каталитическом домене транспозазы, который отвечает за разрезание цепей ДНК и лигирование в процессе инсерции. Этот домен имеет три характерных (маркерных) аминокислотных остатка: два аспартата (D) и, в качестве третьего, либо глутамат (E), либо аспаргат, в связи с чем он называется DDE/D-домен. На основании различий в DDE/D-доменах, суперсемейство *IS630/Tc1/mariner* подразделяется на восемь групп: *Tc1* (DD34E), *mariner* (DD34D), *pogo* (DD30-35D), *maT* (DD37D), *mosquito* (DD37E), *plants* (DD39D), *rosa* (DD41D) и *IS630* (DD33-35E) [12-15].

У пяти элементов *IS630/Tc1/mariner M. leidy* формула каталитического домена была хорошо узнаваема (см. табл. 1). Нами был проведен сравнительный анализ DDE/D-доменов, в который кроме изучаемых элементов были взяты последовательности DDE/D-доменов 25 известных ДНК-транспозонов *IS630/Tc1/mariner*: *Dmmar1* (X78906), *Hsmar1* (U52077), *Famar1* (AY155492), *Ccmar1* (U40493), *Cpmar1* (U11650), *Impala* (AF282722), *Tc1* (X01005), *Bari-1* (X67681), *pogoR11* (S20478), *Tigger1* (U49973), *Fot1* (Q00832), *Tan1* (U58946), *Flipper* (U74294); *Bmmar1* (U47917), *Bmmar6* (AF461149), *Cemar6* (LK928390), *Ae-atropalpus1* (AF377999), *An-gambiae1* (AF378002), *Soymar1* (AF078934), *Br-oleracea* (XP013589454), *Ca-sativa* (XP010462775), *Crmar2.5* (AAK61417), *RS(alfa)* (X02581), *IS630Ss* (X05955), *IS630Se* (NP 073225). Было установлено, что ДНК-транспозоны *Mariner-2_MLe*, *Mariner-3_MLe* и *Mariner-N1_MLe* являются представителями семейства *rosa* (DD41D). Тогда как элементы *Mariner-4_MLe* и *Mariner-5_MLe* относятся к семействам *mariner* (DD34D) и *pogo* (DD30-35D), соответственно.

<i>Impala</i>	FLQSGDIFMHDNASVHTARIVKALLEEL-----GVDLM---TWPPYSPD-LNPIE-NLWALMKAIE	DD34E
<i>Tc1</i>	NVGRGFVQQDNDPKHTSLHVRSWFQRR-----HVHLL---DWPSQSPD-LNPIE-HLWEEELERRL	
<i>Bari-1</i>	FPTTEWILQQDNAPCHKGRIPTKFLNDL-----NLAVL---FWPPQSPD-LNPIE-NVWAFIKNQR	
<i>pogoR11</i>	KQNRKILLFIDNATSHTTVKDFENI-----KLCFM----PPNATALLQPLDQGGIIHSFKLE	DD30-35D
<i>Tigger1</i>	KISFKILLLLIDNAPGH-PRALMEMYKEI-----NVVFM----PANTTSILQPMQGVISTFKSY-	
<i>Fot1</i>	DPADARLLIVDGHGSHATEQFMAKCYLN-----NVYLL---FLPAHCSHVLQPLDLGCFSSLKAA-	
<i>Tan1</i>	SVGKYSLLVLDGHGSHLTPEFDQSCAEN-----EVIPI---CMPAHSSHLQPLDVGCFSVLKRT-	
<i>Flipper</i>	RPKEARLLVLDGHGSHETTQFMLECFKN-----NIHLL---FLPHTSHVLQPPDLSIFSPKKE-	
<i>Mariner-5_MLe</i>	KTKKPVVVIMDGFSGHISLSVLEEARKN-----EIIIV---KLPPNSTHYLQALDVAVFGPMKKI-	
<i>Dmmar1</i>	KRQHKVIFLHDNAPSHTARAVRDTLETI-----NWEVL---PHAAYSPD-LAPSDYHLFASMGHA-	DD34D
<i>Hsmar1</i>	VNRKGPILLHDNARPHVAQPTLQKLNEL-----GYEVL---PHPPYSPD-LSPTDYHFFKHLDNF-	
<i>Famar1</i>	TNRKGVVFFHDNARPHSLVTRQKLEL-----GWDVL---PHPPYSPD-LAPSDYFLFRSLQNS-	
<i>Ccmar1</i>	ANRKGVLPHYDNARPHVAKPTLAKLKEM-----NWEIM---PHSPYSPD-IAPSDYHLFRSLQNN-	
<i>Cpmar1</i>	MKCKKVLFFHQDNAPCHKSLRTMAKIHLEL-----GFELL---PHPPYSPD-LAPSDFFLFLSCLKRM-	
<i>Mariner-4_MLe</i>	LSLRNSHLQMDNARPHSATITQDYLTRN-----GVSVV---HQAPYSPD-LSLLDRYVFAIKQD-	
<i>Bmmar1</i>	FNNQEWSFQQDSAPGHKARSTQSWLETN-----VSDFIRAEDWPPSSPD-LNPLDYDLWSVLEST-	DD37D
<i>Bmmar6</i>	FNNRHVWFQQDSAPAHRAKSTQDWLAAR-----EIDFIRHEDWPPSSPD-LNPLDYKIWHLEEK-	
<i>Cemar6</i>	FKKTKTTFQQDGAPAHKHNQAWCESN-----FPDFIAFNQWPPSSPD-LNPMDSVWVSVLEAK-	
<i>Ae-atropalpus1</i>	AHDRPVMLWPDLASCHYSKTVIEWYATN-----GVSVIPKDLNPPNCPQ-FRPIE-KYWAITKRRL	DD37E
<i>An-gambiae1</i>	SHDHPVMFWPDLASCHYSKVVREWYAEK-----GVLFVPKNLNPPNCPQ-FRPIE-KYWAIMKRRL	
<i>Soymar1</i>	ELGSTIFIQQDNARTHINPDDPEFVQAATQDGF--DIRLM---CQPPNSPD-FNVLDLGFFSAIQSL-	DD39D
<i>Br-oleracea</i>	DFGKTIIFIQQDNAKTHVTVNDEEFQVAALQHGL--DIQLM---CQPPNSPD-LNIFDLGYFRAIQAL-	
<i>Ca-sativa</i>	DFEKTIFIQQDNARTHVDPRDEDFRAASSHHGF--DIRLM---CQPPNSPD-LNILDGFFNAIQTL-	
<i>Crmar2.5</i>	MDVDDMWFQDGDGATCHTANETMALLRNKFNGRVISRNGDV---NWPPRSCD-LTPLDFFLWGYLKEK-	DD41D
<i>Mariner-2_MLe</i>	RKLRSSWFQDQGASSHTAIKSRQLIMEHFLGRAVGKYPPL---SWPPYSPD-LTPADFWLWPKVSI-	
<i>Mariner-3_MLe</i>	RNFKSAWFMQDQGALSHTALRSRNLKQHFGERAVGKFLPV---SWPPYSPD-LTPVDLWLPWTLKRI-	
<i>Mariner-N1_MLe</i>	KKFGSAVIMQDQATPHTALTRELLKQTFGNRVIGKHFPAK---EWPPQSPD-LTPADYLLWLPQKLN-	
<i>RS (alfa)</i>	FPNRKLVHILDNLNTH--KKNEDWLKAH-----PNVQFH---FTPTSAPW-LNQVEVW-FSILQGSQ	DD33-35E
<i>IS630Ss</i>	RRAKTITLIVDNYIIHKSRETQSWLKEN-----PKFRVI---YQPVYSPW-VNHVE-RLWQALHDTI	
<i>IS630Se</i>	RRAKTITLVADNYIIHKSRRKVERWLEEN-----PKFRLL---FLPMYSPW-LNPIE-RLWLSLHETI	

Рисунок 1 – Множественное выравнивание (MUSCLE [16]) фрагментов транспозазы, включающих второй и третий маркерные аминокислотные остатки DDE/D-домена (выделены серым)

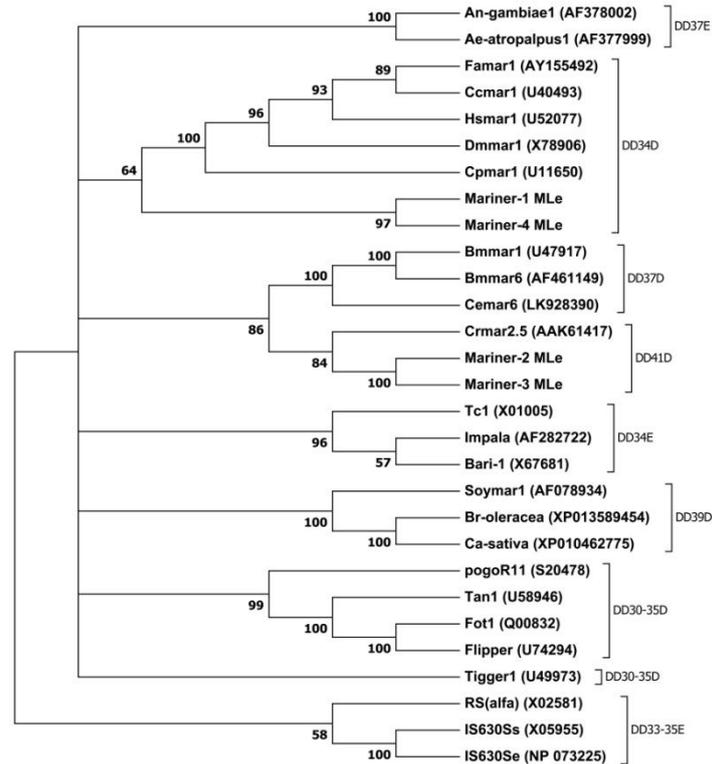


Рисунок 2 – Эволюционные взаимоотношения ДНК-транспозонов *IS630/Tc1/mariner*. Филогенетический анализ выполнен с помощью метода ближайших соседей (Neighbor-Joining method, bootstrap 1000) [17] в программе MEGA6 [18]

Кроме того, нами был проведен филогенетический анализ, в который были взяты четыре элемента *M. leidy*, с идентифицированными последовательностями транспозаз, и 25 известных ДНК-транспозонов (см. рис. 2). В результате этого анализа было установлено, что элемент *Mariner-1_MLe* относится к семейству mariner (DD34D).

Таким образом установлено, что обнаруженные элементы *IS630/Tc1/mariner M. leidy* представлены только тремя семействами *rosa* (DD41D), *mariner* (DD34D) и *pogo* (DD30-35D). Однако возможно, что после аннотирования всего генома будут обнаружены ДНК-транспозоны и других семейств.

Список литературы / References:

1. Нефедова Л.Н., Ким А.И. Молекулярная филогения и систематика ретротранспозонов и ретровирусов. *Мол. Биол.*, 2009, т. 43, с. 807-817. [Nefedova L.N., Kim A.I. Molecular phylogeny and systematics of drosophila retrotransposons and retroviruses. *Moleculyarnaya biologia*, 2009, vol. 43, pp. 807-817 (In Russ.)]
2. Biemont C. A brief history of the status of transposable elements: from junk DNA to major players in evolution. *Genetics*, 2010, vol. 186, pp. 1085-1093, doi:10.1534/genetics.110.124180.
3. Захаренко Л.П., Коваленко Л.В., Перепелкина М.П., Захаров И.К. Влияние γ -радиации на индукцию транспозиций *hobo*-элемента у *Drosophila melanogaster*. *Генетика*, 2006, т. 42, № 6, с. 763-767. [Zakharenko L.P., Kovalenko L.V., Zakharov I.K., Perpelkina M.P. The effect of γ -radiation on induction of the hobo element transposition in *Drosophila melanogaster*. *Genetica*, 2006, vol. 42, iss. 6, pp. 763-767 (In Russ.)]
4. Юрченко Н.Н., Коваленко Л.В., Захаров И.К. Мобильные генетические элементы: нестабильность генов и геномов. *Вавиловский журн. генетики и селекции*, 2011, т. 15, вып. 2, с. 261-270. [Yurchenko N.N., Kovalenko L.V., Zakharov I.K. Transposable elements: instability of genes and genomes. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii*, 2011, vol. 15, iss. 2, pp. 261-270 (In Russ.)]
5. Piacentini L., Fanti L., Specchia V. *et al.* Transposons, environmental changes, and heritable induced phenotypic variability. *Chromosoma*, 2014, vol. 123, pp. 345-354.
6. Kapitonov V.V., Jurka J. A universal classification of eukaryotic transposable elements implemented in Repbase. *Nat. Rev. Genet.*, 2008, vol. 9, iss. 5, pp. 411-412, doi: 10.1038/nrg2165-c1.
7. Jacobson J.W., Medhora M.M., Hartl D.L. Molecular structure of a somatically unstable transposable element in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, vol. 83, pp. 8684-8688.
8. Feschotte C., Pritham E.J. DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes. *Annu. Rev. Genet.*, 2007, vol. 41, pp. 331-368.
9. Пузаков М.В., Пузакова Л.В., Захаров И.К. Разнообразие и распространение мобильных генетических элементов в геномах морских беспозвоночных. *Вавиловский журн. генетики и селекции*, 2017, т. 21, вып. 2, с. 269-283, doi:10.18699/VJ16.16-o. [Puzakov M.V., Puzakova L.V., Zakharov I.K. Diversity and distribution of mobile genetic elements in marine invertebrates genomes. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii*, 2017, vol. 21, iss. 2, pp. 269-283,

doi:10.18699/VJ16.16-o (In Russ.)]

10. Kohany O., Gentles A.J., Hankus L., Jurka J. Annotation, submission and screening of repetitive elements in Repbase: RepbaseSubmitter and Censor. *BMC Bioinformatics*, 2006, vol. 25, iss. 7, p. 474.
11. Jurka J. Repeats in genomic DNA: mining and meaning. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 1998, vol. 8, pp. 333-337.
12. Capy P., Vitalis R., Langin T. *et al.* Relationships between transposable elements based upon the integrase-transposase domains: is there a common ancestor? *J. Mol. Evol.*, 1996, vol. 42, pp. 359-368.
13. Smit A.F.A., Riggs A.D. Tiggers and other DNA transposon fossils in the human genome. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1996, vol. 93, pp. 1443-1448.
14. Shao H., Tu Z. Expanding the diversity of the *IS630-Tc1-mariner* superfamily: discovery of a unique DD37E transposon and reclassification of the DD37D and DD39D transposons. *Genetics*, 2001, vol. 159, iss. 3, pp. 1103-1115.
15. Zhang H.H., Shen Y.H., Xiong X.M. *et al.* Identification and evolutionary history of the DD41D transposons in insects. *Genes Genom.*, 2016, vol. 38, pp. 109-117, doi: 10.1007/s13258-015-0356-4.
16. Edgar R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.*, 2004, vol. 32, pp. 1792-1797.
17. Saitou N., Nei M. The Neighbor-Joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, vol. 4, pp. 406-425.
18. Tamura K., Stecher G., Peterson D. *et al.* MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, vol. 30, pp. 2725-2729.

В ГЕНОМЕ СОМА *ICTALURUS PUNCTATUS* ОБНАРУЖЕН НОВЫЙ ГЕН, КОДИРУЮЩИЙ ФЕРМЕНТ СУПЕРСЕМЕЙСТВА ЛДГ/МДГ

Пузакова Л.В., Пузаков М.В.

ФГБУН Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН

пр. Нахимова 2, г. Севастополь, 299011, РФ

e-mail: kvluda@yandex.ru

Аннотация. При *in silico* исследовании генов, кодирующих ферменты из суперсемейства ЛДГ/МДГ у различных организмов, мы обнаружили, что аминокислотная последовательность канального сома *Ictalurus punctatus*, кодируемая геном *Mdh1*, значительно отличается от продуктов генов *Mdh1* других животных. Обнаруженная последовательность имеет консервативный домен, характерный для ферментов суперсемейства ЛДГ/МДГ, однако ни с одним из ферментов этого суперсемейства существенного сходства у нее нет. Таким образом, нами обнаружен ген, кодирующий новый фермент из суперсемейства ЛДГ/МДГ, который мы обозначили как *unLdh/Mdh* (*unknown Ldh/Mdh*).

Ключевые слова: лактатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, ЛДГ, МДГ, энергетический обмен.

IN THE GENOME OF CATFISH *ICTALURUS PUNCTATUS* DISCOVERED NEW GENE ENCODING AN ENZYME LDH/MDH SUPERFAMILY

Puzakova L.V., Puzakov M.V.

The A.O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research of RAS

Nakhimova av., 2, Sevastopol, 299011, Russia

e-mail: puzakov@ngs.ru

Abstract. *In silico* studies of genes encoding enzymes from LDH/MDH superfamily in different organisms, we found that the aminoacid sequence of the channel catfish *Ictalurus punctatus*, encoded by the *Mdh1* gene, is significantly different from the products of the *Mdh1* genes other animals. The detected sequence has a conservative domain specified for the enzymes of the LDH/MDH superfamily, however, it has no significant similarity to any enzyme of this superfamily. Thus, we detected a gene encoding a new enzyme from the LDH/MDH superfamily, which we designated as *unLdh/Mdh* (*unknown Ldh/Mdh*).

Key words: malate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, LDH, MDH, metabolism.

Ферменты суперсемейства ЛДГ/МДГ участвуют в реакциях углеводного обмена (см. табл. 1). Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) катализирует заключительный шаг анаэробного гликолиза, где происходит восстановление пирувата цитозольным НАДН до лактата. С помощью этой реакции обеспечивается регенерация НАД⁺ из НАДН без участия митохондриальной дыхательной цепи при гипоксии. Лактат выводится в кровь и утилизируется, превращаясь в печени в глюкозу, или при доступности кислорода превращается в пируват, который вступает в общий путь катаболизма, окисляясь до CO₂ и воды.