

Анализ последовательности гена инсулиноподобного фактора роста I кеты: транспозоны

В. А. Гребенюк

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03143, Украина

В геноме большинства позвоночных присутствуют десятки тысяч копий Tc1-подобных транспозонов, подавляющее большинство которых находится в неэкспрессирующейся части генома. В результате анализа полной нуклеотидной последовательности гена инсулиноподобного фактора роста I (IGF-I) кеты во втором и третьем интронах были обнаружены два Tc1-подобных транспозона (Tok1 и Tok2), гомологичных элементу SALT(Tss2) семьи. Наличие транспозона в третьем интроне обеих неаллельных копий гена IGF-I кеты, сходное строение этой части гена у других лососевых и его отсутствие в генах окуня, судака, щуки и тилляпии свидетельствуют о том, что интеграция подвижных элементов произошла до тетраплоидизации общего предка лососевых, но после его выделения из общей линии костистых рыб. Интеграция Tok2 значительно увеличила размер третьего интрона гена IGF-I лососевых и, видимо, влияет на альтернативный сплайсинг четвертого экзона. Расположение транспозонов в гене IGF-I и наличие в геноме кеты некоторого количества гомологичных элементов, обрамляющих экспрессирующуюся последовательности, позволяет предположить возможность переноса экзонов или генов позвоночных в составе «кассеты» из двух транспозонов аналогично тому, как это происходит у прокариот и беспозвоночных. Подобный процесс может привести к формированию новых генов.

Введение. Транспозоны — подвижные элементы генома, перемещающиеся в отличие от ретротранспозонов посредством ДНК интермедиата [1]. Многочисленные представители этого класса подвижных элементов, давно известные и хорошо изученные у беспозвоночных [2, 3], относительно недавно обнаружены в геноме некоторых позвоночных и интенсивно изучаются в настоящее время.

Транспозоны эукариот перемещаются за счет действия фермента транспозазы, который вырезает последовательность подвижного элемента и реинтегрирует его в новое положение. Ген, кодирующий транспозазу, входит в состав транспозона и обрамлен инвертированными повторами, содержащими участки связывания с транспозазой. Расщепление цепей ДНК при вырезании транспозонов происходит сразу за внешними концами повторов. При интеграции транспозонов происходит дупликация

короткого участка (2—8 п. н.). Таким образом, транспозоны эукариот характеризуются тремя признаками: геном транспозазы, концевыми инвертированными повторами и коротким прямым повтором, их обрамляющим [4, 5].

Транспозоны позвоночных выделены из нескольких видов рыб [6—12], двух видов лягушек [13] и человека [14], но, видимо, присутствуют в геноме большинства представителей этого типа. На основании гомологии последовательности транспозазы выделяют несколько семейств транспозонов. В геноме позвоночных обнаружены представители двух таких семейств: Tc1/mariner и hAT/hobo. В свою очередь, первое из них представлено несколькими подгруппами [10], для второго известен пока один представитель [12]. Представленность различных транспозонов в геноме разных организмов колеблется от единиц до десятков тысяч копий. Представители семейства Tc1/mariner, как правило, многочисленны.

Все выделенные до сих пор Tc1-подобные эле-

менты позвоночных содержат поврежденный ген транспозазы, однако поскольку транспозаза таких элементов способна к действию *in trans* [15], неавтономные элементы (содержащие неактивный ген транспозазы) имеют возможность перемещаться до тех пор, пока в геноме есть, по крайней мере, одна функциональная копия гена транспозазы.

Материалы и методы. Поиск гомологии по базам данных выполнялся посредством программы BLAST на сайте NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov). Все остальные манипуляции с нуклеотидными и аминокислотными последовательностями осуществлены в пакете DNASTAR (Dnastar Inc., США).

Геномную ДНК выделяли из мозга рыб стандартным методом [16]. ДНК из молок кеты была выделена сотрудниками отдела биосинтеза нуклеиновых кислот во время экспедиции на Дальний Восток летом—осенью 1987 года. Геномная ДНК тилапии была любезно предоставлена д-ром М. Рейнеке (Dr. M. Reinecke, Zurich University, Швейцария).

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на приборе DNA Thermal Cycler («Perkin Elmer Cetus», США). Реакционная смесь (объем 50 мкл) содержала 200 нг ДНК, dNTP в концентрации 0,25 мМ (каждый), буфер «Synergy» («GeneCraft», Германия), по 20 пмоль каждого из праймеров и 5 U смеси термостабильных полимераз KlenTherm и Accuzyme («GeneCraft») в соотношении 20:1. Для амплификации фрагментов генов IGF-I использовали следующие праймеры:

«E3F1» (5'-GTGG(C/T)ATTGTGGA(C/T)GA (G/A)TGCTGCT-3') и

«E3F2» (5'-GAGCTGCGGCGGCT(C/T/G)GA (A/G)ATGTA(C/T)T-3') к третьему экзону и

«E4R» (5'-AGTTCCTCCCCCTG(T/A)(G/A)(T/C)T(T/G)CCTC-3') к пятому экзону. Таким образом, амплификацию осуществляли в два этапа (Nested PCR) с одним внутренним праймером. Для амплификации участков, заключенных между транспозонами, использовали праймеры:

«IPR» (5'-AG(T/C)AAA(G/A)G(G/A)TCTG (T/A)AT(A/T)CTTATG-3')

к внутренней копии инвертированного повтора и

«ITR» (5'-CTGAATACTTT(C/A)(C/T)GAA TGCAC-3')

к внешней копии инвертированного повтора.

Амплификацию проводили по схеме «Touch down». Каждый из циклов включал этап денатурации при температуре 94 °С в течение 30 с, отжига — в течение 1 мин при различной температуре и застройки цепей в течение 3 мин при 70 °С в первых десяти циклах с увеличением времени на 5 с в каждом последующем цикле. Температуру

отжига снижали на 2 °С через каждые пять циклов в первых 20 циклах и не изменяли в последних 15 циклах. Таким образом, при амплификации фрагментов генов IGF-I температура отжига изменялась от 64 °С до 58 °С. Для амплификации участков между транспозонами использовали те же условия либо застройку цепей проводили при температуре 65 °С.

После электрофореза в агарозном геле продукты ПЦР переносили на нейлоновые фильтры (Hybond N, «Amersham», Англия) по методу капиллярного переноса и фиксировали при помощи облучения ультрафиолетом. Гибридизацию проводили в роторном устройстве «Autoblot» («Bellco Glass inc.», США) при 42 °С в смеси следующего состава: 40 %-й формамид, 5 × SSPE, 10 %-й декстрансульфат, 2,5 × раствор Денхардта, 0,1 % SDS, 100 мкг/мл ДНК крупного рогатого скота. После гибридизации в течение ночи фильтры отмывали в 2 × SSC, 1 × SSC, 0,5 × SSC при комнатной температуре и в 0,25 × SSC при 50 °С. Все растворы содержали 0,1 % SDS. Время одной промывки — 20 мин.

Для приготовления ДНК зондов использовали набор «Rediprime» («Amersham») и [α -³²P]dCTP; для приготовления кДНК зонда из 5 мкг суммарной РНК мозга молодой семги — обратную транскриптазу MLV, [α -³²P]dCTP («Amersham») и олиго-dT₍₁₅₎. Реакцию проводили в соответствии с рекомендациями производителя («Amersham»).

Для определения нуклеотидной последовательности амплифицированный фрагмент гена IGF-I окуня был клонирован в составе вектора *pGEMT(pGEM5Zf)* («Promega», США) по A/T концам. Нуклеотидную последовательность определяли при помощи набора «Sequenase v.2.0 DNA sequencing kit» («USB», США) и [α -³⁵S]dATP («Amersham»).

Результаты и обсуждение. Анализ нуклеотидной последовательности. В результате тетраплоидизации генома общего предка лососевых рыб большая часть генов существующих ныне представителей этого отряда дуплицирована [17, 18]. В том числе и ген IGF-1 кеты (*Oncorhynchus keta*) [19], определение полной нуклеотидной последовательности одной из копий которого (IGF-I.1) [20] недавно завершено в нашей лаборатории (GB AF063216).

С помощью построения матрицы гомологии в последовательности гена IGF-1.1 наряду с другими повторяющимися элементами (результаты готовятся к публикации) были обнаружены два протяженных гомологичных участка, расположенных во втором и третьем интронах (рис. 1). Поиск гомологии

к этим участкам в базах данных (GB, EMBL) выявил ряд Tc1-подобных транспозонов, среди которых наиболее гомологичным оказался элемент SALT(Tss2) [7, 8] из генома семги (*S. salar*). Дальнейший анализ показал, что оба элемента, названных Tok1 и Tok2 (Transposon *Oncorhynchus Keta*), содержат все элементы, характерные для Tc1-подобных транспозонов рыб (рис. 2), и относятся к подгруппе Tss2/Tdr2 [10] (рис. 3). Нуклеотидные последовательности генов транспозазы Tok1 и Tok2 приблизительно равнодивергентны (11 %) друг другу и элементу SALT(Tss2) семги. Вследствие многочисленных мутаций гены транспозазы Tok1 и Tok2, как и всех остальных известных Tc1-подобных транспозонов позвоночных, неактивны.

Как и элементы SALT(Tss2), транспозоны кеты Tok1 и Tok2 содержат комплексные концевые структуры, состоящие из двух (внешнего и внутреннего) коротких инвертированных повторов, разделенных низкогомологичным участком. Этот участок в 5'-концевой структуре содержит TATA-подобную последовательность, а в 3'-концевой — сайт полиаденилирования. Инвертированные повторы имеют частичную гомологию друг к другу в прямой ориентации. В отличие от элементов Tss1/Tdr1 [8] концевые структуры Tok1/2 не имеют внутренних прямых повторов. Интересно, что 5'-концевая структура элемента Tok1 нарушена в результате интеграции еще одного подвижного элемента. Вставка в этом районе содержит фрагмент размером около 1000 п. н., на 90 % гомоло-

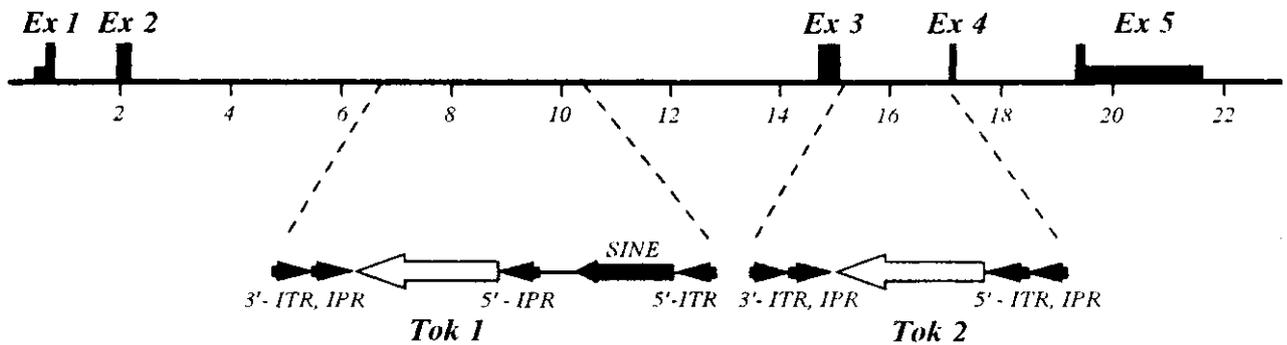


Рис. 1. Схема гена инсулиноподобного фактора роста 1 кеты. Экзоны (Ex1—Ex5) обозначены черными прямоугольниками, интроны — тонкой линией. Масштаб (тыс. п. н.) приведен под схемой гена. Гены транспозазы транспозонов Tok1 и Tok2 обозначены крупными белыми стрелками, ретротранспозонподобный элемент SINE — темной стрелкой. Инвертированные внешние (ITR) и внутренние (IPR) повторы транспозонов обозначены черными стрелками

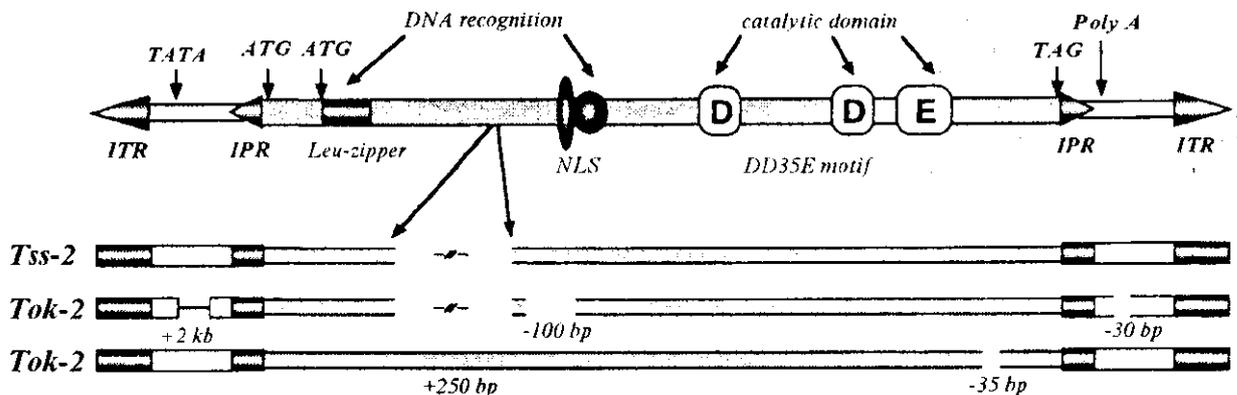


Рис. 2. Общая схема Tc1-подобного транспозона позвоночных [8] и схема транспозонов SALT(Tss2), Tok1 и Tok2. ITR — инвертированный внешний повтор; IPR — инвертированный внутренний повтор. Указан размер наиболее крупных вставок/делений

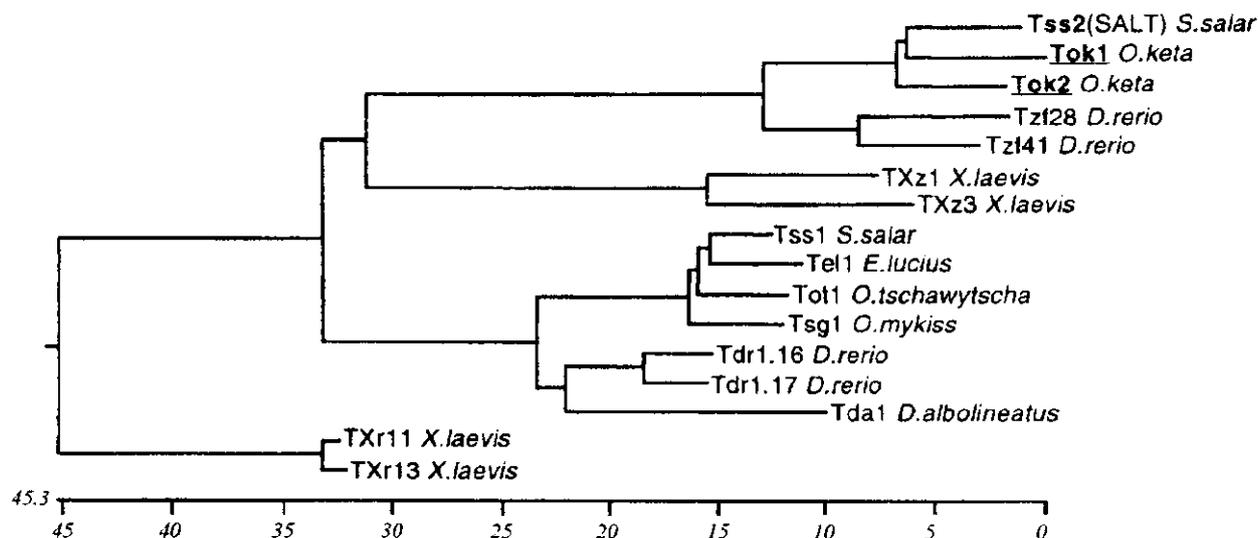


Рис. 3. Филогенетические отношения нуклеотидных последовательностей генов транспозазы Tc1-подобных транспозонов рыб и амфибий. Процент дивергенции между отдельными последовательностями может быть определен с помощью шкалы как суммарная длина соединяющихся горизонтальных ветвей. Вертикальные линии служат исключительно для удобства представления. Названия нуклеотидных последовательностей, определенных в этой работе, подчеркнуты

гичный повторяющемуся элементу «SINE» семги (GB L77085) и, по-видимому, являющийся ретротранспозоном, содержащим ген обратной транскриптазы. Такая ситуация выгодна, по крайней мере, для одного из подвижных элементов и может привести к образованию элемента нового типа (результаты готовятся к публикации).

Определение структуры 3'-концевой части генов IGF-I рыб. Анализ последовательности гена IGF-I.1 кеты показал, что транспозон Tok2 занимает около 1780 п. н. из приблизительно 2,1 тыс. п. н. последовательности третьего интрона. Присутствие этого элемента во второй копии гена (IGF-I.2) и сходный размер его у двух других видов лососей (*O. kisutch* — 1950 и 2150 п. н., *O. tshawytscha* — 1950 и 2250 п. н. [21]) позволили предположить, что такая структура характерна для всех представителей этого семейства.

Поскольку к началу работ других сведений о строении генов IGF-I рыб не было, возник вопрос о наличии и размере третьего интрона в гене общего предка костистых рыб. Для его выяснения был выполнен следующий эксперимент. На основании сравнения доступных в Генбанке (на 01.05.98) последовательностей кДНК IGF-I рыб были синтезированы вырожденные праймеры к участкам, соответствующим третьему и пятому экзонам гена

кеты. ПЦР с этими праймерами на ДНК из молок кеты (гаплоидный геном) приводит к амплификации фрагментов размером 4,4 и 4,6 тыс. п. н., включающих часть экзона 3, интрон 3, экзон 4, интрон 4 и начало экзона 5 (рис. 4). Таким образом удалось получить соответствующие фрагменты генов IGF-I окуня (*P. fluviatilis*) — размер 1,5 тыс. п. н., судака (*S. lucioperca*) — 2,2 тыс. п. н., щуки (*E. lucius*) — 2,0 тыс. п. н. и тилапии (*O. mossambicus*) — 3,0 тыс. п. н. Для подтверждения специфичности амплификации продукты ПЦР гибридизовали с кДНК IGF-I кижуча, а для выяснения присутствия Tc1-подобных элементов — с ДНК транспозона Tok1 (из второго интрона гена IGF-I.1 кеты). Показано, что Tc1-подобные транспозоны отсутствуют в генах всех перечисленных рыб. По результатам частичного секвенирования установлено, что ген окуня имеет ту же экзон-интронную организацию, что и ген кеты, однако третий интрон значительно меньшего размера. Полученные результаты хорошо согласуются с опубликованными летом—осенью 1998 г. данными по строению генов IGF-I тилапии [22] и ложного палтуса (*P. olivaceus*) [23].

Таким образом, размер третьего интрона гена IGF-I лососевых рыб значительно увеличен в результате интеграции Tc1-подобного транспозона,

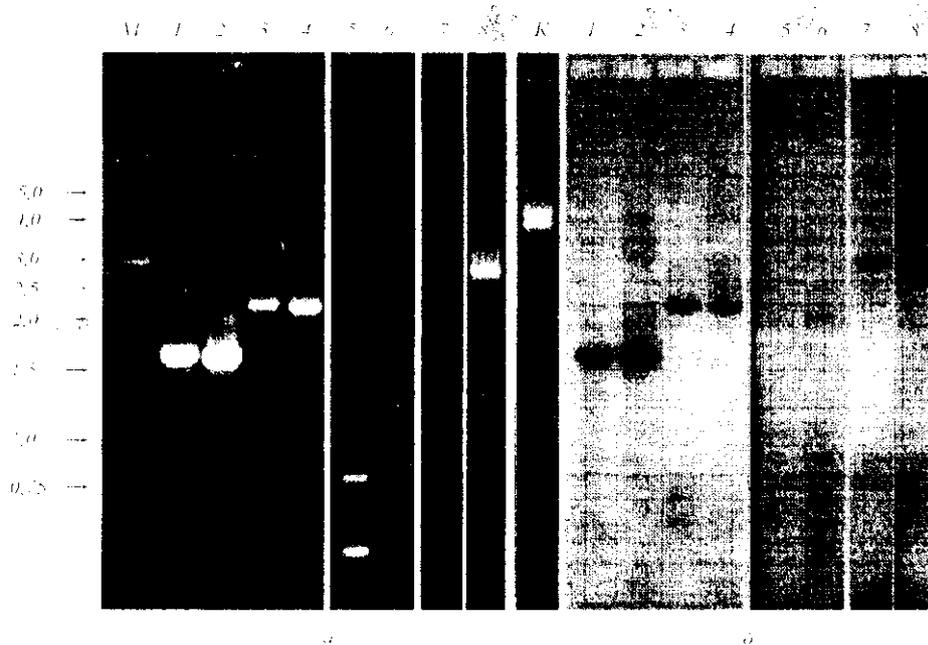


Рис. 4. Гель-электрофорез Southern-гипридризаии по Сухареву с кДНК IGF-1 клонина соо про-дуктов амплификаии фрагмен-тов генов IGF-1 различных рыб. Нечетные дорожки — первый этап амплификаии, четные — второй этап. Дорожки 1 и 2 — окунь, 3 и 4 — судак, 5 и 6 — щука, 7 и 8 — плотва, К — контрольная реакция первого этапа на ДНК из моля кетта, М — стандарт молекулярной массы, размер фрагментов ДНК в п.е. и в указан слева.

происшедшей у общего предка лососевых после его выделения из общей линии костистых рыб, но до тетраплоидизации его генома.

В результате альтернативного использования двух донорных сайтов сплайсинга в третьем экзоне и альтернативного включения четвертого экзона ген IGF-1 рыб может продуцировать четыре транскрипта, различающихся в этой части. Однако все четыре вида транскриптов обнаружены только у лососевых [21, 24, 25]. У других рыб четвертый экзон всегда включен в состав транскриптов [23, 26–30]. По-видимому, таким образом проявляется влияние последовательности транспозона в третьем интроне гена IGF-1 лососевых.

ПЦР между транспозонами. Tc1-подобные транспозоны объединяет гомология транспозазы, однако, как и для большинства других белков, при сравнении последовательностей разных семейств обнаруживаются высоко- и низкогомологичные домены. Наиболее консервативным участком транспозазы является каталитический домен, расположенный ближе к С-концевой части полипептида (рис. 2). Наиболее различающейся частью известных Tc1-подобных транспозонов являются их концевые структуры, которые могут состоять из одного или двух инвертированных повторов различной

длины. Иногда в концевой структуре присутствуют и прямые повторы.

Используя один праймер к концевому инвертированному повтору, можно специфически амплифицировать участки, заключенные между транспозонами определенного вида. Результаты такой амплификации (рис. 5) показывают, что в геноме кеты значительная часть транспозонов семейства SALT/Tss2/Tok образует кластеры. Это хорошо согласуется с опубликованными результатами подобного эксперимента, выполненного с праймером к консервативной части гена транспозазы [7]. Однако в отличие от цитируемой работы у других рыб обнаружены последовательности, гомологичные внешней, но не внутренней копии инвертированного повтора SALT/Tss2/Tok. Это свидетельствует о том, что в геноме циприноидных и перкоидных рыб распространены транспозоны типа Tdr2(Tzf) [10, 13], содержащие один длинный инвертированный повтор, конец которого гомологичен внешнему инвертированному повтору SALT/Tss2/Tok [13].

Как видно из рис. 6, результаты амплификации в разных условиях мало различаются на геле, но результаты их гибридизации с кДНК различаются существенно; это свидетельствует о том, что в геноме кеты присутствует значительное количество

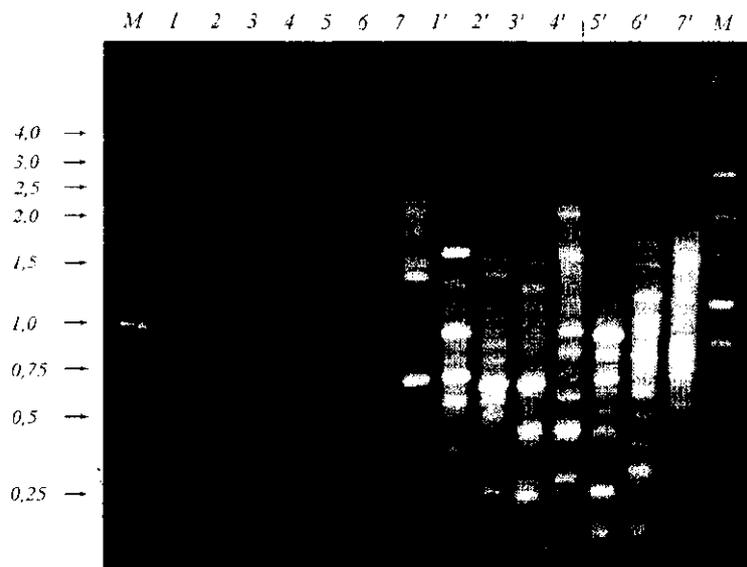


Рис. 5. Гель-электрофорез продуктов амплификации с праймерами к концевым повторам транспозонов SALT/Tss2/Tok на ДНК различных рыб. Дорожки 1—7: амплификация с праймером к инвертированому внутреннему повтору (IPR), 1'—7': амплификация с праймером к инвертированому внешнему повтору (ITR); 1 и 1' — окунь, 2 и 2' — судак, 3 и 3' — карп, 4 и 4' — сом, 5 и 5' — щука, 6 и 6' — тилапия, 7 и 7' — кета. M — стандарт молекулярной массы, размер фрагментов ДНК в тыс. п. н. указан слева

ство транспозонов с гомологичными концевыми повторами, причем некоторые из них находятся в непосредственной близости либо внутри экспрессирующихся генов. Таким образом, показано, что некоторые Tc1-подобные транспозоны обрамляют экспрессирующиеся последовательности в геноме кеты.

Транспозоны в геноме позвоночных. Открытие подвижных элементов радикально изменило взгляд на геном как на статичную сущность, переходящую практически неизменной из одного поколения в другое. Наиболее явное влияние транспозонов на геном сводится к нарушению экспрессии генов вследствие их интеграции в экзон либо в регуляторные участки. Для некоторых линий *C. elegans* и *D. melanogaster* это влияние весьма велико [31, 32]. Однако, несмотря на открытие транспозонов у многих видов позвоночных и постоянный рост числа генов с известной структурой, описано лишь несколько случаев интеграции транспозонов в состав генов позвоночных.

Так, единственным на сегодняшний день примером нарушения функции гена вследствие интеграции транспозона в экзон является мутация гена тирозиназы медаки (*O. latipes*), ведущая к альбинотическому фенотипу [12]. Интересно, что в потомстве особей, гомозиготных по этому признаку, с небольшой частотой наблюдается восстановление

нормальной окраски тела из-за перемещения транспозона в новое положение. По-видимому, это также единственный пример активной транспозиции для позвоночных. Известны два случая интеграции транспозонов в 5'-фланкирующие области генов позвоночных: ген карбамилфосфатсинтазы *R. catesbeiana* [13] и ген эпендимиона *S. salar* [7], причем есть сведения о нарушении регуляции последнего [33]. В литературе встречается несколько больше примеров интеграции транспозонов в интроны генов [6, 10, 13, 14]. Влияние подвижных элементов в этом случае выражено не так явно, как в первых двух, однако нарушения сплайсинга вполне могут иметь место.

Все эти факты, несомненно, подтверждают существование отбора, направленного против мутаций в функционально важных генах, однако есть свидетельства преимущественной локализации транспозонов в определенных участках хромосом, то есть существования горячих точек транспозиции [34].

Гомологичные подвижные элементы бактерий могут перемещать участки хромосомы, заключенные между ними, формируя так называемые «сложные бактериальные транспозоны»; сходным образом элементы FВ дрожжи, кооперируясь, переносят весьма протяженные сегменты ДНК [35]. Поскольку транспозаза Tc1-подобных эле-

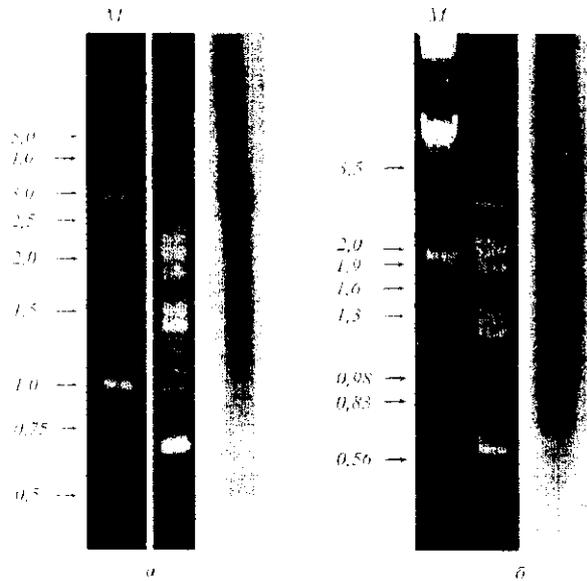


Рис. 6. Гель-електрофорез і блот-гібридизація по Саузерну с суммарной кДНК мозга молотки семги продуктів ампліфікації с праймером к інвертированому внешнему повтору (ITR) транспозонов SAIT/Tss2/Tok на ДНК из молотки кеты: а — застройка цепи при температуре 70 °С; б — то же при 65 °С. М — стандарт молекулярной массы, размер фрагментов ДНК в тыс. п. н. указан слева

ментов специфически распознает концевые структуры транспозонов и способна к действию *in trans*, транспозиция может быть подвержена любая последовательность, заключенная между ними [15]. Таким образом, при условии достаточно близкого расположения транспозонов процесс переноса, сходный с таковым у прокариот и беспозвоночных, вполне вероятен и для позвоночных, особенно в случае повреждения внутренних копий концевых структур транспозонов.

Третий экзон гена IGF-1 кеты, кодирующий большую часть зрелого гормона и заключенный между гомологичными элементами Tok1 и Tok2, является весьма вероятным объектом для такой транспозиции. Наличие в геноме лососевых значительного количества подобных транспозонов, организованных в кластеры, делает этот фрагмент гена IGF-1 также и вероятным объектом гомологичной рекомбинации. Оба этих процесса могут привести к возникновению новых генов в случае перемещения экзона в подходящее окружение.

ДНК-транспозиция сама по себе нерепликативна, но может привести к дупликации, если элемент перемещается из реплицирующейся в нереплицирующуюся часть генома [36] или если при репарации участка, из которого удален подвижный элемент, использовалась как матрица сестринская хроматида или гомологичная хромосома, где этот элемент присутствует [37]. Те же механизмы могут срабатывать при транспозиции участка, включающего два транспозона и фрагмент между ними. Таким образом, перенос экзона может быть осуществлен и без нарушения гена. Однако для вида, имеющего четыре функциональные копии гена, потеря одной из них вряд ли детально, но может быть выгодна при условии приобретения нового полезного свойства (гена).

Гибридизация продуктов амплификации между транспозонами с суммарной кДНК указывает на то, что обрамление экзона IGF-1 транспозонами не является уникальным случаем, но крайней мере для кеты. Наличие различных подвижных элементов с гомологичными концевыми повторами увеличивает вероятность перемещения каждого из них в случае активации одного из генов транспозазы.

Существование и роль подобных процессов переноса экспрессирующихся последовательностей в эволюции позвоночных и, в частности, костистых рыб нуждаются в экспериментальном подтверждении.

В. О. Гребенюк

Аналіз послідовності гена інсуліноподібного фактора росту 1 кети транспозони

Резюме

У геномах більшості хребетних присутні десятки тисяч копій *Tc1*-подібних транспозонів, переважна частина яких знаходиться у ділянці геному, що не експресується. В результаті аналізу повної нуклеотидної послідовності гена інсуліноподібного фактора росту 1 (*IGF-1*) кети у другому та третьому інтронах було знайдено два *Tc1*-подібних транспозони (*Tok1* та *Tok2*), гомологічній елементу *SAIT* (*Tss2*) сьомця. Наявність транспозона в третьому інтроні обох послідовних копій гена *IGF-1* кети, подібна будова цієї частини гена інсуліноподібного фактора росту 1 його відсутність у генах окуня, судака, щуки та тількій свідчать про те, що інтеграція рухомих елементів відбулася до початку тетраплоїдизації загальної предка лососевих, але після його виокремлення із загальної лінії костистих рыб. Інтеграція *Tok2* значно збільшила розмір третього інтрона гена *IGF-1* лососевих та, ймовірно, сприяє на альтернативний сплайсинг четвертого екзона. Розташування транспозонів у гені *IGF-1* і наявність у геномі кети великої кількості гомологічних елементів, утворюючих послідовності, що експресуються, дозволяють припустити можливість переносу екзонів або генів хребетних у складі «касет» двох транспозонів подібно до того, як це відбувається у прокариот та безхребетних. Такий процес може призводити до формування нових генів.

V. A. Grebenjuk

The analysis of chum salmon insulin-like growth factor I gene sequence: transposones

Summary

Most vertebrates genome contains multiple copies of Tc1-like transposones. Waste majority of them localized in non-expressed part of the genome. Two Tc1-like transposones, designated Tok1 and Tok2 are found in the same orientation in the second and third introns of chum salmon IGF-I gene. Phylogenetic analysis placed them to salmon SALT(Tss2) and zebrafish Tdr2(Tzf) cluster. The transposase ORFs contain multiple frameshifts and stop codons and have the same orientation in both transposones, but opposite to the IGF-I gene flow. Existence of Tok2 in third introns of both nonallelic salmon IGF-I genes and absence of similar transposones in IGF-I genes of other fish species (perch, zander, pike, tilapia) apparently shows that they appeared in fish IGF-I gene after the salmonid branching from common ancestor, but before the tetraploidization event. Position of mobile elements in IGF-I gene and the existence in salmon genome expressed sequences, framed by the same or homologous elements, makes possible to suspect the transposition of the exones or genes by the cassette of two transposones. Such transposition, well known in invertebrates, may also exists in vertebrates.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Berg D., Howe M. Mobile DNA.—Washington: Amer. Soc. Microbiol., 1989.—200 p.
- Brezinsky L., Humphreys T. D., Hunt J. A. Evolution of the transposable element Uhu in five species of Hawaiian *Drosophila* // *Genetica*.—1992.—86.—P. 21—35.
- Robertson H. M. The mariner transposable element is widespread in insects // *Nature*.—1993.—362.—P. 241—245.
- Mizuuchi K. Transpositional recombination: mechanistic insights from studies of mu and other elements // *Annu. Rev. Biochem.*—1992.—61.—P. 1011—1051
- Van Luenen H. G., Colloms S. D., Plasterk R. H. The mechanism of transposition of Tc3 in *C. elegans* // *Cell*.—1994.—79.—P. 293—301.
- Heierhorst J., Lederis K., Richter D. Presence of a member of the Tc1-like transposon family from nematodes and *Drosophila* within the vasotocin gene of a primitive vertebrate, the Pacific hagfish *Eptatretus stouti* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1992.—89.—P. 6798—6802.
- Goodier J. L., Davidson W. S. Tc1 transposon-like sequences are widely distributed in salmonids // *J. Mol. Biol.*—1994.—241.—P. 26—34.
- Radice A. D., Bugaj B., Fitch D. H., Emmons S. W. Widespread occurrence of Tc1 transposon family: Tc1-like transposons from teleost fish // *Mol. and Gen. Genet.*—1994.—244.—P. 606—612.
- Izsvak Z., Ivics Z., Hackett P. Characterization of a Tc1-like transposable element in zebrafish (*Danio rerio*) // *Mol. and Gen. Genet.*—1995.—247.—P. 312—322
- Ivics Z., Izsvak Z., Minter A., Hackett P. Identification of functional domains and evolution of Tc1-like transposable elements // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1996.—93.—P. 5008—5013.
- Lam W. L., Lee T. S., Gilbert W. Active transposition in zebrafish // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1996.—93.—P. 10870—10875
- Koga A., Suzuki M., Inagaki H., Bessho Y., Hori H. Transposable element in fish // *Nature*.—1996.—383.—P. 30.
- Lam W. L., Seo P., Robson K., Virk S., Gilbert W. Discovery of amphibian Tc1-like transposon families // *J. Mol. Biol.*—1996.—257.—P. 359—366.
- Oosumi T., Belknap W., Garlick B. Mariner transposons in humans // *Nature*.—1995.—387.—P. 873.
- Ivics Z., Hackett P., Plasterk R., Izsvak Z. Molecular reconstruction of Sleeping Beauty, a Tc1-like transposon from fish, and its transposition in human cells // *Cell*.—1997.—91.—P. 501—510.
- Maniatis T., Fritsch E. F., Sambrook J. Molecular cloning: A laboratory manual.—New York: Cold Spring Harbor Lab., 1982.
- Ohno S., Wolf U., Atkin N. Evolution from fish to mammals by gene duplication // *Hereditas*.—1968.—59.—P. 169—187.
- Allendorf F., Thorgaard G. Tetraploidy and the evolution of salmonid fishes. The evolutionary genetics of fishes / Ed. B. J. Turner.—New York: Plenum press, 1984.—P. 1—53.
- Kavsan V. M., Grebenjuk V. A., Koval A. P., Skorokhod A. S., Roberts C. T., JR., LeRoith D. Isolation of a second nonallelic insulin-like growth factor I gene from the salmon genome // *DNA Cell Biol.*—1994.—13.—P. 555—559.
- Kavsan V. M., Koval A. P., Grebenjuk V. A., Chan S. J., Steiner D. F., Roberts C. T., JR., LeRoith D. Structure of the chum salmon insulin-like growth factor I gene // *DNA Cell Biol.*—1993.—12.—P. 729—737.
- Wallis A., Devlin R. Duplicated insulin-like growth factor I genes in salmon display alternative splicing pathways // *Mol. Endocrinol.*—1993.—7.—P. 409—422.
- Chen J. Y., Tsal H. L., Chang C. Y., Wang J. L., Shen S. C., Wu J. L. Isolation and characterization of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) insulin-like growth factors gene and proximal promoter region // *DNA Cell Biol.*—1998.—17, N 8.—P. 359—376.
- Tanaka M., Taniguchi T., Yamamoto I., Sakaguchi K., Yoshizato H., Ohkubo T., Nakashima K. Gene and cDNA structures of flounder insulin-like growth factor-I (IGF-I): multiple mRNA species encode a single short mature IGF-I // *DNA Cell Biol.*—1998.—17, N 10.—P. 859—868.
- Shamblott M., Chen T. Age-related and tissue-specific levels of five forms of insulin-like growth factor mRNA in a teleost // *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*—1993.—2.—P. 351—361.
- Duguay S., Park L., Samadpour M., Dickhoff W. Nucleotide sequence and tissue distribution of three insulin-like growth factor I prohormones in salmon // *Mol. Endocrinol.*—1992.—6.—P. 1202—1210.
- Chen M., Lin G., Gong H., Lee C., Chang C., Chen T., Wu J. Cloning and characterization of insulin-like growth factor I cDNA from Black Seabream (*Acanthopargus schlegelii*) // *Zool. Stud.*—1998.—37, N 3.—P. 213—221.
- Duguay S., Lai-Zhang J., Steiner D., Funkenstein B., Chan S. Developmental and tissue-regulated expression of IGF-I and IGF-II mRNAs in *Sparus aurata* // *J. Mol. Endocrinol.*—1996.—16.—P. 123—132.
- Reinecke M., Schmid A., Ermatinger R., Loffing-Cueni D. Insulin-like growth factor I in the teleost *Oreochromis mossambicus*, the Tilapia: gene sequence, tissue expression, and cellular localization // *Endocrinology*.—1997.—138, N 9.—P. 3613—3619.
- Loffing-Cueni D., Schmid A., Graf H., Reinecke M. IGF-I in the bony fish *Cottus scorpius*: cDNA, expression and differential localization in brain and islets // *Mol. Cell. Endocrinol.*—1998.—141.—P. 187—194.
- Liang Y., Cheng C., Chan K. Insulin-like growth factor I Ea2 is predominantly expressed form of IGF in common carp (*Cyprinus carpio*) // *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*—1996.—5.—P. 145—152.
- Robertson H. M., Lampe D. J. Distribution of transposable

- elements in arthropods // *Annu. Rev. Entomol.*—1995.—**40**.—P. 333—357.
32. *Moerman D. G., Waterston R. H.* Mobile elements in *Caenorhabditis elegans* and other nematodes. Mobile DNA.—Washington: Amer. Soc. Microbiol.—1989.—P. 537—556.
33. *Muller-Schmid A., Rinder H., Lottspeich F., Gertzen E., Hoffjan W.* Ependymins from the cerebrospinal fluid of salmonid fish: gene structure and molecular characterization // *Gene*.—1992.—**118**.—P. 189—196.
34. *Plasterk R. H.* The Tc1/mariner transposon family // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*—1996.—**204**.—P. 125—143.
35. *Льюин Б.* Гены.—М.: Мир, 1987.—P. 458—485.
36. *Chen J., Greenblatt I. M., Dellaportu S. L.* Molecular analysis of Ac transposition and DNA replication // *Genetics*.—1992.—**130**.—P. 665—676.
37. *Engels W. R., Johnson-Schlitz D. M., Eggleston W. B., Sved J.* High-frequency P element loss in *Drosophila* is homolog dependent // *Cell*.—1990.—**62**.—P. 515—525.

УДК 577.21

Поступила в редакцию 23.03.99