

На правах рукописи



РОМАНЕНКО СВЕТЛАНА АНАТОЛЬЕВНА

**ХРОМОСОМНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОМОВ ГРЫЗУНОВ
(RODENTIA, MAMMALIA)**

03.01.07 – молекулярная генетика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Новосибирск – 2019

Работа выполнена в ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии
Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск

Научный консультант: **Графодатский Александр Сергеевич**, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом, ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск

Официальные оппоненты: **Лухтанов Владимир Александрович**, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник, ФГБУН Зоологический институт Российской академии наук, г. Санкт-Петербург
Салина Елена Артемовна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск
Литвинов Юрий Нарциссович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией, ФГБУН Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск

Ведущее учреждение: ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, г. Москва

Защита состоится: «11» декабря 2019 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 003.074.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН в конференц-зале по адресу 630090, Новосибирск, пр. академика Лаврентьева, 8/2; тел: +7-383-373-02-49; e-mail: ovant@mcb.nsc.ru С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Института www.mcb.nsc.ru
Автореферат разослан «___» _____ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук



О. В. Антоненко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Методы классической цитогенетики и современные молекулярно-цитогенетические подходы позволяют достаточно быстро и детально сравнивать полные геномы представителей самых разнообразных таксонов, внося существенный вклад в решение спорных вопросов таксономии, систематики, филогении и биогеографии. Основные успехи современной цитогенетики связаны с развитием методов флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), которая позволяет выявлять районы гомологии с разрешением до примерно 4 млн пар нуклеотидов (п.н.), тем самым давая возможность описывать большую часть значимых меж- и внутрихромосомных перестроек.

За 20 с небольшим лет, прошедших с момента разработки метода сравнительного хромосомного пэйнтинга, в исследования были вовлечены около 200 видов млекопитающих, представляющих основные отряды. Это позволило установить, что, по сути, единых тенденций преобразования кариотипов в ходе эволюции нет. Есть таксоны, для которых характерны довольно невысокие скорости преобразования геномов, когда лишь небольшое число перестроек отличает кариотипы современных видов от кариотипа предка. Есть, напротив, таксоны, в которых значительное число перестроек привело к массовой перетасовке предковых синтенных групп. Тем не менее, внутри фактически каждого такого таксона встречаются исключения, а количество перестроек и скорости их фиксации могут варьировать в разы. В целом по данным сравнительного хромосомного пэйнтинга для некоторых отрядов и для всего класса млекопитающих удалось реконструировать предковые кариотипы, состоящие из наиболее вероятных комбинаций консервативных сегментов хромосом, восстановить события, происходившие при формировании кариотипов ныне живущих видов и повлекшие перетасовку этих сегментов. При этом, с учетом того, что преимущественно из каждого отряда исследовано несколько видов, актуальным остается детальное изучение кариотипических взаимоотношений между представителями родов и семейств. Также важно подчеркнуть, что в основном выводы сделаны на основании анализа межхромосомных перестроек, так как до сих пор работы по детекции внутрихромосомных перестроек крайне немногочисленны и охватывают ограниченное число видов.

Грызуны (Rodentia) – самый крупный отряд млекопитающих, характеризующийся практически повсеместным распространением представителей, огромным разбросом значений диплоидных чисел хромосом в их кариотипах, различной морфологией хромосом, вариациями по количеству и распределению блоков гетерохроматина, наличием добавочных хромосом (В-хромосом) и сложных систем половых хромосом в кариотипах отдельных видов. Кариотипические отношения внутри отряда изучены крайне неравномерно. В целом считается, что представители подотряда Sciuromorpha (белкообразные) характеризуются достаточно консервативными кариотипами, близкими по структуре к кариотипу возможного

предка всех грызунов. Эта консервативность позволяет, в том числе, проводить сравнительные исследования внутри этого таксона с использованием пэйнтинг-проб человека. *Myomorpha* (мышеобразные) и *Hystricomorpha* (дикобразообразные), напротив, отличаются крайне высокой перестроенностью геномов. Сведения об особенностях организации и эволюции кариотипов боброобразных (*Castorimorpha*) и шипохвостообразных (*Anomalurimorpha*) крайне скудны. Для многих видов, в том числе и широко используемых в качестве лабораторных (хомячки, песчанки, морская свинка), получены данные только о структуре кариотипа и выполнено дифференциальное окрашивание хромосом, тогда как сравнительные хромосомные карты отсутствуют.

В целом в биологии в настоящее время наблюдается тенденция сдвига внимания в область изучения геномов на уровень последовательностей ДНК. В то же время разного плана цитогенетические исследования не только не теряют актуальности, но и приобретают особую значимость в сфере геномных проектов. Особенно это важно для видов, являющихся популярными лабораторными объектами (большинство – грызуны), так как отсутствие привязки последовательностей ДНК к хромосомам значительно ограничивает изучение функционирования геномов.

Степень разработанности темы исследования. К настоящему моменту из примерно 2277 видов современных грызунов в исследования по сравнительному хромосомному пэйнтингу вовлечено около 130 видов, представляющих преимущественно подсемейства *Sigmodontinae* (*Cricetidae*) и *Murinae* (*Muridae*) внутри подотряда *Myomorpha*, различные подсемейства подотрядов *Hystricomorpha* и *Sciuromorpha*. Крайне слабо в подобные исследования включены представители очень многочисленных и кариотипически разнородных подсемейств *Cricetinae* и *Arvicolinae* (*Cricetidae*). Кроме того, на хромосомах отдельных видов проведена локализация только единичных проб, т. е. полногеномные сравнительные хромосомные карты получены не были. Из-за того, что на хромосомах представителей различных подотрядов были локализованы разные наборы пэйнтинг-проб, невозможно оценить кариотипическое родство на уровне подотрядов. Кариотипические отношения внутри многих таксонов более низкого ранга тоже не разрешены. Отсутствует общепризнанная схема, отражающая филогенетические отношения на уровне подотрядов. Системы нестандартных половых хромосом и В-хромосомы, широко представленные у представителей подотряда *Myomorpha*, описаны преимущественно методами классической цитогенетики, тогда как информация о молекулярно-генетическом составе этих элементов остается неизвестной.

Цели и задачи работы. Целью настоящей работы является изучение хромосомной организации и особенностей эволюции геномов грызунов из разных таксонов с помощью современных молекулярно-цитогенетических методов. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить хромосомную организацию геномов представителей подотрядов *Castorimorpha* (боброобразные), *Hystricomorpha* (дикобразообразные),

Sciuromorpha (белкообразные) и Myomorpha (мышеобразные), определить хромосомные маркеры отдельных подотрядов грызунов и реконструировать вероятный предковый кариотип отряда Rodentia, обсудить вероятные пути хромосомных преобразований геномов в этих таксонах.

2. Описать внутрихромосомные перестройки в различных таксонах надсемейства Muroidea (подотряд Myomorpha) и на примере подсемейства Arvicolinae оценить вклад внутрихромосомных перестроек в формирование кариотипов современных видов грызунов.
3. Детально на цитогенетическом уровне описать системы нестандартных половых хромосом у различных представителей грызунов (копытного лемминга *Dicrostonyx torquatus*, китайских полевок *Lasiopodomys mandarinus*, слепушонок *Ellobius alaicus* и *E. tancrei*), проанализировать состав В-хромосом лесных и полевых мышей рода *Apodemus*.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Все основные результаты данного исследования получены впервые.

С применением молекулярно-цитогенетических методов выявлены консервативные районы хромосом, определены их границы у значительного числа видов грызунов. Полные сравнительные хромосомные карты построены для 26 видов грызунов (двух видов Hystricomorpha, 24 видов Myomorpha), внесены уточнения в карты 10 видов, геномы которых были изучены ранее. Важно, что при построении карт использованы хромосомные наборы видов с детально картированными геномами (домовая мышь, золотистый хомяк, человек), что позволяет в дальнейшем использовать эти карты в качестве первичного материала для картирования геномов исследованных видов.

Впервые выполнена локализация полного набора пэйнтинг-проб человека на хромосомах представителя подотряда дикобразообразных грызунов Hystricomorpha – морской свинки (*Cavia porcellus*). Полученные данные – первый шаг на этапе финишной сборки генома морской свинки.

Впервые подробно исследованы кариотипические отношения в подсемействах Cricetinae и Arvicolinae. Локализация проб человека на хромосомах представителей всех подотрядов грызунов позволила впервые определить кариотипические отношения между подотрядами.

По данным сравнительного хромосомного пэйнтинга реконструированы предковые кариотипы подотряда Myomorpha и отдельных семейств, подсемейств и родов внутри него, пересмотрена вероятная структура предкового кариотипа, общего для отряда грызунов в целом. Полученные результаты позволяют описывать эволюционные события, приведшие к формированию хромосомных наборов современных видов.

Впервые на обширной выборке видов изучен вклад внутрихромосомных перестроек в эволюцию геномов современных видов. Подтверждена гипотеза о том, что значимость их для эволюции очень высока, при этом огромное число внутрихромосомных перестроек фиксируется в аутосомах.

Впервые на молекулярно-цитогенетическом уровне подробно описаны системы нестандартных половых хромосом у нескольких видов слепушенок рода *Ellobius*, у китайских полевок *Lasiopodomys mandarinus*, у копытного лемминга *Dicrostonyx torquatus*. Описание механизмов эволюции половых хромосом отдельных видов важно для понимания эволюции геномов в целом и для понимания формирования генетических отклонений, связанных с половыми хромосомами, у человека.

Определено происхождение добавочных хромосом у лесных и полевых мышей рода *Apodemus*.

Методология и методы диссертационного исследования. В основе современных исследований хромосомной организации и эволюции геномов лежит представление о том, что кариотип является видоспецифичным признаком, представляющим собой совокупность как количественных (размеры хромосом и их число), так и качественных (морфология хромосом) характеристик хромосомного набора [Левитский, 1924]. Еще в рамках развития синтетической теории эволюции [Dobzhansky, 1937] были высказаны первые предположения о том, что изменения в хромосомных наборах могут приводить к видообразованию, позже были высказаны идеи об иницирующей роли хромосомных перестроек в этих процессах [Mayr, 1954; Wallace, 1953], которые получили в дальнейшем широкое развитие [Matthey, 1960; White, 1968]. Одним из важнейших в тот период стало заключение о том, что внутренняя структура хромосом и распределение гетерохроматина могут накладывать ограничения на возможность перестроек [White, 1978]. Таким образом, изучение хромосомной организации стало одной из фундаментальных основ в вопросах изучения эволюции геномов, что привело к формулированию идей о неравномерности скоростей кариотипической эволюции, развитию теории о существовании предковых кариотипов и направлениях кариотипической эволюции [Matthey, 1972].

Накопление информации об организации геномов было сопряжено с развитием и разработкой новых методов и изменением методологических подходов к анализу данных. Разработка метода FISH вывела это направление сравнительных исследований на новый уровень, позволив перейти от описания сходства хромосомных наборов по диплоидным числам, морфологии хромосом и рисунку бэндинга к анализу гомологий на уровне ДНК. Возможность сравнивать геномы на уровне ДНК изменила ландшафт всей эволюционной биологии, дав достоверную информацию о предковых формах современных организмов [Кунин, 2017]. На самых разных уровнях разработка методологии филогенетических реконструкций на основе данных по структуре хромосомных наборов [Dobigny *et al.*, 2004a; Robinson, Ruiz-Herrera, Avise, 2008] позволила решать сложные таксономические проблемы.

На этом основан принцип выбора экспериментальных и теоретических подходов к получению и анализу результатов настоящей работы. При проведении исследования использованы методы классической и молекулярной цитогенетики, молекулярной биологии, методы работы с культурами клеток. При анализе результатов, реконструкции предковых кариотипов и путей эволюции хромосомных

наборов, использованы методы кладистики [Dobigny *et al.*, 2004a; Hennig, 1966], биоинформатические методы.

Положения, выносимые на защиту. Использование методов традиционной и молекулярной цитогенетики позволяет уточнить филогенетические взаимоотношения между отдельными таксонами внутри отряда Rodentia, неразрешимые другими методами, в т.ч. молекулярными.

Эволюция хромосомных наборов грызунов сопровождалась как периодами активной фиксации меж- и внутрихромосомных перестроек, так и длительными периодами сохранения предковых форм кариотипов.

Реорганизация кариотипов некоторых групп грызунов происходила за счет множественных внутрихромосомных перестроек в отдельных консервативных сегментах.

Эволюция систем половых хромосом у полеvoчьиx включала формирование цитогенетически неразличимых изоморфных половых хромосом у одних видов и серию последовательных транслокаций аутосом на предковую для плацентарных млекопитающих X-хромосому у других видов.

Процесс формирования В-хромосом был независимым у лесных и полевых мышей рода *Apodemus*.

Степень достоверности и апробация результатов. Все результаты, полученные в ходе выполнения работы, достоверны, что подтверждается логическим обоснованием выводов и согласованностью результатов данной работы с результатами, полученными другими научными группами. Результаты исследования были представлены на 11-й Международной конференции *Rodens et Spatium* по биологии грызунов, Мышкин (2008), 20-м ежегодном собрании Немецкого общества генетики человека, Ахен, Германия (2009), 10-м Международном маммологическом конгрессе, Мендоса, Аргентина (2009), VIII Российском конгрессе «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии», Москва (2009), 19-м Международном коллоквиуме по цитогенетике и генотипированию животных, Краков, Польша (2010), Международном совещании «Териофауна России и сопредельных территорий», Москва (2011), 6-м Европейском конгрессе маммологов, Париж, Франция (2011), Международной научной конференции «Зоологические исследования за 20 лет независимости Республики Казахстан», Алматы, Казахстан (2011), Всероссийской научной конференции «Актуальные проблемы современной териологии», Новосибирск (2012), 1-м Симпозиуме «Применение и сохранение клеточных культур живой природы», Гамбург, Германия (2013), 19-й Международной хромосомной конференции, Болонья, Италия (2013), 7-м Европейском конгрессе маммологов, Стокгольм, Швеция (2015), 22-м Международном коллоквиуме по цитогенетике и геномике животных, Тулуза, Франция (2016), Международных конференциях «Хромосома 2009, 2012, 2015, 2018», Новосибирск (2009, 2012, 2015, 2018).

Публикации. По результатам работы опубликованы 23 статьи в журналах из списка ВАК и тезисы 26 докладов в материалах отечественных и зарубежных

конференций. Кроме того, 3 статьи по теме диссертации были опубликованы в спецвыпусках различных рецензируемых журналов по результатам конференций.

Вклад автора. Автором были выполнены: получение и культивирование значительной части используемых в работе первичных линий фибробластов грызунов, получение суспензий хромосом большей части животных, вовлеченных в исследование, дифференциальное окрашивание кариотипов большинства исследованных видов, создание методом микродиссекции большинства районспецифичных проб и части хромосомоспецифичных; подготовка препаратов для гибридизации *in situ*, анализ результатов локализации пэйнтинг-проб, идентификация хромосом. Автор принимал непосредственное участие в обработке и анализе полученных данных. Подготовка публикаций проводилась совместно с соавторами.

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, описания и обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, списка цитируемой литературы, содержащего 422 ссылки, и 3 приложений. Диссертация изложена на 300 страницах машинописного текста, содержит 14 таблиц и 66 рисунков.

Разные этапы работы были поддержаны грантами РФФИ, DFG и РФФИ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 "Обзор литературы" содержит информацию о систематике, филогении и кариологии отряда грызунов. Показаны проблемы и трудности, возникающие на современном этапе при установлении кариотипических и филогенетических связей между таксонами грызунов различного ранга. Приведено подробное описание типов хромосомных перестроек и их возможной роли в процессах видообразования. Детально рассмотрены особенности организации хромосомных наборов и кариотипическая эволюция в отдельных таксонах грызунов. Отмечен значимый вклад цитогенетических исследований в решение спорных вопросов таксономии и систематики. Затронуты вопросы реконструкции предковых кариотипов и оценок скоростей эволюции геномов в отряде.

Глава 2 "Материалы и методы" включает подробное описание использованных материалов и методик. Отмечено, что в работе использовались суспензии метафазных хромосом, полученных из культур первичных фибробластов или костного мозга 49 видов грызунов. Для выполнения сравнительного хромосомного пэйнтинга использовались ДНК-библиотеки сортированных хромосом 8 видов грызунов (*Castor fiber*, *Cavia porcellus* (CPOR), *Cricetulus griseus*, *Dicrostonyx torquatus* (DTOR), *Mesocricetus auratus* (MAUR), *Microtus agrestis* (MAGR), *Mus musculus* (MMU), *Tamias sibiricus* (TSIB)) и человека (HSA). Микродиссекционные ДНК-библиотеки были получены для хромосом MAUR15, 16 и 21, аутосом CPOR5, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 14, 17, 20, 21, 22, 23, 27, 29 и 30, В-хромосом и аутосомы 23 *Apodemus flavicollis*, В-хромосом *A. peninsulae*. Микродиссекционные районспецифичные библиотеки были получены для хромосом CPOR1, 2 и X, MMU3, 6, 18 и 19, хромосом 1 и 7 *A. oeconomus* (AOEC).

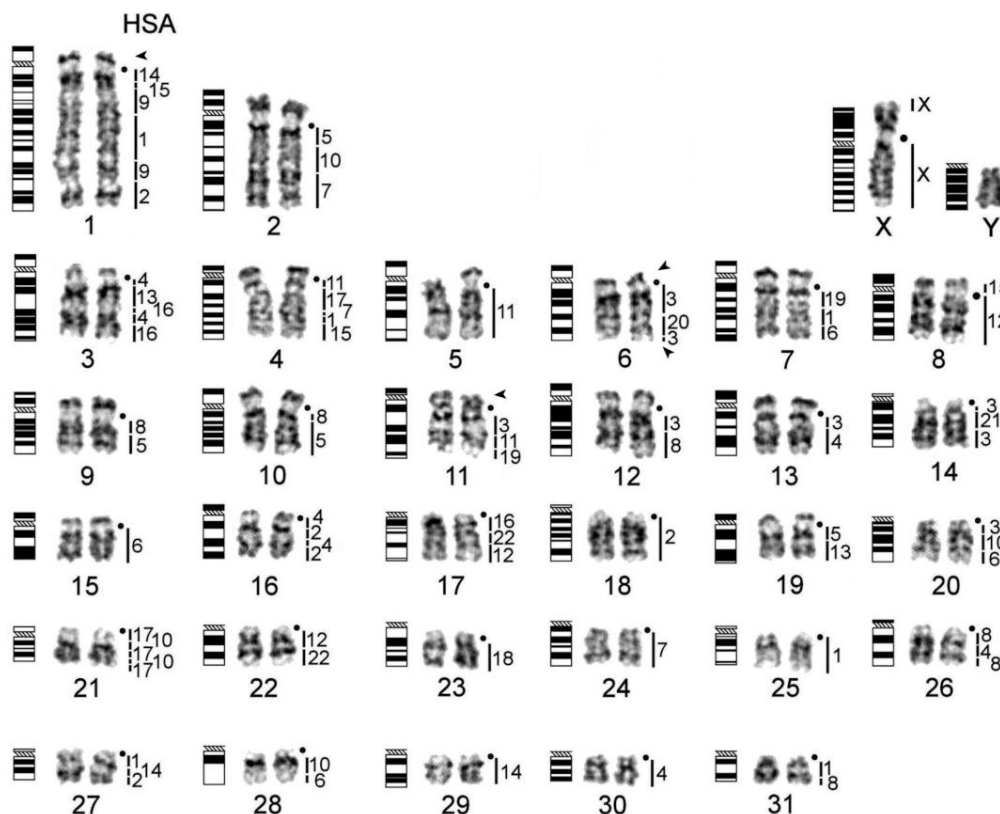
Глава 3 "Результаты".

Hystricomorpha: морская свинка (*Cavia porcellus*) и перуанская свинка (*C. tschudii*)

Однозначно идентифицирована каждая из хромосом в кариотипе *C. porcellus*, выполнена стандартизация кариотипа. По результатам реципрокного пэинтинга между хромосомами человека и *C. porcellus* получены сравнительные хромосомные карты высокого разрешения (Рис. 1). В геноме каждого вида выявлено по 78 гомологичных сегментов. Гетерохроматиновые области на хромосомах человека и *C. porcellus* не давали сигналов при гетерологичной FISH.

Рис. 1.

Идиограмма и кариотип *C. porcellus*. HSA – гомология хромосомам человека. Черные точки – положения центромер, черные треугольники – локализация кластера рибосомных генов.



Впервые выполнено дифференциальное окрашивание хромосом *C. tschudii*. Локализация проб *C. porcellus* и человека, как и детекция кластеров теломерных повторов и рибосомных генов, показала полную идентичность кариотипов двух видов свинок.

Castorimorpha: речной бобр (*Castor fiber*)

Внесены уточнения в результаты предыдущего исследования [Graphodatsky *et al.*, 2008]. Выявлены шесть дополнительных ассоциаций (HSA3/16, 5/19, 7/12, 8/4/8/19, 10/16, 12/22), подтверждены восемь ранее идентифицированных синтенных ассоциаций (HSA1/2, 2/10, 3/1/3/21, 5/17, 4/14, 8/13, 11/15/7, 18/12/22).

Sciuromorpha: азиатский бурундук (*Tamias sibiricus*)

Устранены неточности в ранее полученных данных: 1) найден дополнительный сегмент HSA12 в прителомерном районе хромосомы TSIB2 и, тем самым, показано, что хромосома TSIB2 гомологична ассоциации хромосом человека HSA12c/8/4/8/12a/22a; 2) синтенная ассоциация HSA12b/22b была выявлена не на

TSIB11, как сообщалось ранее [Li *et al.*, 2004], а на TSIB12, которая оказалась гомологична HSA7/12/22.

Myomorpha: сравнительный хромосомный пэйнтинг

По результатам реципрокного хромосомного пэйнтинга между хромосомами *M. auratus* и *M. agrestis*, а также *D. torquatus* и *M. auratus* построены детальные сравнительные карты хромосом этих видов.

Род *Allocricetulus* и *Cricetulus sokolovi*

Кариотипированы четыре особи *C. sokolovi*, исследованы кариотипические отношения между тремя таксонами рода *Allocricetulus* (*A. curtatus*, *A. e. eversmanni*, *A. e. pseudocurtatus*), а также изучен гибрид *A. e. beljaevi* x *A. e. pseudocurtatus*.

Установлено, что синтении MAUR2/7/11/3/13, 5/9/14/16/15 и 8/18 являются общими для всех исследованных животных. Апоморфные ассоциации MAUR1/6, 4/10, 5/11/14/9/19/17 и 6/12 отделяют кариотип *A. curtatus* от группы *A. eversmanni*. Ассоциация MAUR1/10 является характерной для кариотипа *A. e. pseudocurtatus*. Ассоциации MAUR5/11/10 и 14/9/19/17 присутствуют в кариотипе *A. e. eversmanni*. Кариотип *A. e. beljaevi* несет ассоциации MAUR2/7/11/3/13, 5/9/14/16/15, 5/11/10, 8/18 и 14/9/19/17, идентичные выявленным в кариотипе *A. e. eversmanni*.

В геноме *C. sokolovi* обнаружены следующие ассоциации хромосом *M. auratus*: MAUR1/7a, 2/7b/11a/3/13, 4/12, 5p/9p/14a/16/15, 5q/11b/14b/9q/19/17 и 8/18/10.

Полевочки – подсемейство Arvicolinae

В сравнительные исследования вовлечены 28 видов. Выполнен реципрокный пэйнтинг между *D. torquatus* и *M. agrestis*. Полные наборы пэйнтинг-проб *M. agrestis* и *M. auratus* и часть проб *D. torquatus* локализованы на хромосомах *A. amphibius* и *M. rutilus*. Построены сравнительные хромосомные карты.

Копытный лемминг (*Dicrostonyx torquatus*)

Получен набор сортировочных хромосомоспецифичных проб копытного лемминга. Выявлена сложная система половых хромосом, состоящая из трех частично гомологичных хромосом – самой крупной метацентрической (X1), самой большой субметацентрической (X2) и небольшой акроцентрической (Y1). Гигантский метацентрик X1 включает эволюционную старую X-часть (p-плечо). Диплоидное число хромосом в кариотипе исследованного самца составляет $2n=45$ и включает 21 пару аутосом и 3 половые хромосомы; количество В-хромосом колеблется от 8 до 14 в разных клетках.

Под *Alticola*

Полные наборы пэйнтинг-проб *M. agrestis* и часть проб *D. torquatus* локализованы на хромосомах *A. barakshin*, *A. olchonensis*, *A. strelzowi* и *A. tuvunicus*. У всех видов обнаружены ассоциации MAGR1/17 и 2/10 (две). Отмечена консервативность эухроматиновых районов хромосом. При С-окрашивании четкие блоки гетерохроматина не выявлены в кариотипе *A. strelzowi*, при этом у трех остальных видов все хромосомы несли прицентромерные блоки гетерохроматина. У *A. barakshin* p-плечо пары хромосом 1 было гетерохроматиновым. Y-хромосомы *A. tuvunicus* и *A. olchonensis* полностью гетерохроматиновые.

Слепушонки. Род *Ellobius*

Исследованы три вида (*E. alaicus*, *E. talpinus*, *E. tancrei*) и четыре гибрида *E. talpinus* х *E. tancrei*. Всего проанализированы кариотипы трех особей *E. alaicus* из одной популяции и 16 особей *E. tancrei* из 10 различных популяций.

Сравнительный анализ кариотипов *E. talpinus* и *E. tancrei* с диплоидными числами $2n=54$ показал, что фрагмент MAGR13 расположен на хромосоме 2, а фрагменты MAGR7 и MAGR17 расположены на хромосоме 5, что вносит корректировку в опубликованные ранее для *E. talpinus* данные [Romanenko *et al.*, 2007a]. Установлено, что кариотипы *E. tancrei* и *E. talpinus* идентичны, за исключением пары хромосом 7, отличающейся положением центромеры. Анализ кариотипов гибридов подтвердил эти данные.

Среди проанализированных особей *E. tancrei* обнаружены индивидуумы с $2n=30$. Акроцентрические хромосомы, вовлеченные в транслокацию, определили как хромосомы 24 и 26. У остальных хромосомных форм *E. tancrei* с помощью FISH определены негомологичные робертсоновские транслокации (Rb), неразличимые на уровне G-окрашивания.

Проанализированные особи *E. alaicus* имели $2n=48$ и идентичные кариотипы, характеризующиеся присутствием Rb(2.11), Rb(3.10) и Rb(4.9).

Роды *Alexandromys*, *Microtus*, *Terricola*

Локализация проб *D. torquatus* на хромосомах *A. oeconomus* внесла уточнения в ранее опубликованные данные [Sitnikova *et al.*, 2007]: была выявлена ассоциация MAGR11/1/17 на хромосоме 3 и инверсия MAGR1/2/8/2 на хромосоме 1 *M. oeconomus*. Полный набор хромосомоспецифичных зондов *M. agrestis* был гибридизован на метафазных хромосомах восьми представителей родов *Alexandromys*, *Microtus*, *Terricola*. Для каждого вида определены характерные ассоциации хромосом *M. agrestis*. Отмечено сходство в рисунках GTG-бэндинга для большинства участков межвидовых гомологий. Построены сравнительные карты хромосом для десяти видов полевок.

Род *Lasiopodomys*

Аутосомные пробы *M. agrestis* выявили 34 консервативных сегментов в кариотипе *L. brandtii* и 29 сегментов в кариотипе *L. gregalis*. Пробы *D. torquatus* выявили 36 и 32 гомологичных сегмента в кариотипах *L. brandtii* и *L. gregalis*, соответственно.

Проанализированы кариотипы 2 самцов и 10 самок *L. mandarinus*. Показано, что самцы имеют $2n=48$, а система их половых хромосом представлена нео-X- и нео-Y-хромосомами (Рис. 2). Кариотипы исследованных самок характеризовались $2n=47$ и наличием двух видов систем половых хромосом: в кариотипах семи самок присутствовали нео-X1-, нео-X2- и нео-X3-хромосомы, три самки несли нео-X2-, нео-X3- и нео-X4-хромосомы (Рис. 2). Нео-X-хромосома самцов и нео-X1-хромосома самок имела три больших С-положительных блока в q-плече. Нео-X2-хромосома несла блок серого гетерохроматина в интерстициальном районе q-плеча. Хромосома нео-X самцов идентична хромосоме нео-X1 самок, а нео-Y гомологична нео-X4.

Число выявленных аутомных консервативных сегментов отличалось у проанализированных особей за счет полиморфизма пары хромосом 2.

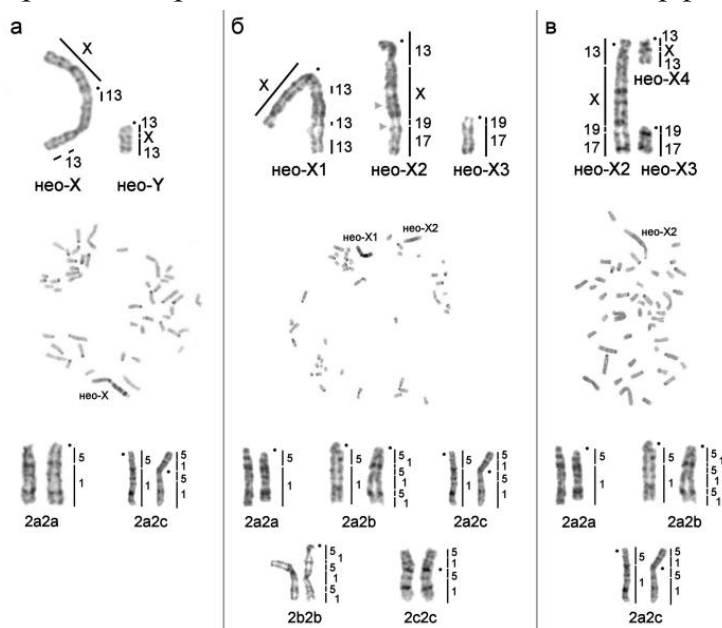


Рис. 2. Полиморфные половые хромосомы и пара аутом 2 в кариотипах *L. mandarinus*: а – самцы, б – самки одного типа, в – самки другого типа. Сверху вниз: система половых хромосом, С-окрашивание метафазных хромосом, пара аутом 2 и локализация на ней проб *M. agensis*.

Внутрихромосомные перестройки в кариотипах полевоых

С помощью микродиссекции получены наборы районспецифичных проб *A. oeconomus* для эволюционно консервативных синтенных блоков 1, 3 и 7 предкового кариотипа Arvicolinae (AAK) (гомологичны хромосомам AOEC1q, 7 и 1p, соответственно). Наборы зондов использованы для сравнения хромосом 28 видов Arvicolinae, представляющих 4 трибы и 11 родов. Обнаружено, что смещение центромер преобладает среди внутрихромосомных перестроек в AAK1 и AAK7, в то время как в AAK3 парацентрические инверсии встречаются чаще.

Внутрихромосомные перестройки в кариотипах видов Muroidea

Для всех фрагментов хромосом мыши 3, 6, 18 и 19 с помощью многоцветного бэндинга установлены участки гомологии хромосом в кариотипах следующих видов: *R. norvegicus* (RNOR), *Apodemus peninsulae* (APEN), *M. auratus*, *C. griseus* (CGRI), *Tscherskia triton* (TTRI), *A. oeconomus*, *M. rossiaemeridionalis* (MROS), *D. torquatus* и *E. talpinus* (ETAL). Полученные данные частично подтвердили результаты предыдущих исследований по сравнительному хромосомному пэйнтингу и секвенированию, но выявили и некоторые отличия.

При определении областей гомологии между MMU3 и соответствующими хромосомами других грызунов установлено, что порядок сегментов сохраняется у изученных видов Murinae, Cricetinae и Arvicolinae, но точка разрыва у *A. oeconomus* находится в участке MMU3qE1, а у *M. auratus* – в участке MMU3qD.

Определен консервативный порядок сегментов в пределах областей, гомологичных MMU6, у изученных видов Murinae. У трех изученных видов Cricetinae синтенный блок MMU6 разделен на две области, при этом у китайского хомячка наблюдался обратный порядок расположения сегментов. У видов Arvicolinae в MMU6qC1 найден разрыв. У *A. oeconomus* выявлена инверсия в районе с участием сегмента MMU6qA2-6qB1 и консервативное распределение сегментов в области,

гомологичной MMU6qC1-6qter. У *E. talpinus* выявлен недетектированный ранее разрыв в районе 6qB1. Предположено, что на ETAL1 возникла эволюционно новая центромера (ЭНЦ).

Уточнено, что позиция центромеры на метацентрической хромосоме RNOR18 соответствует MMU18qD. Установлено, что сегменты на APEN16 имеют обратный порядок, что указывает на ранее нераспознанную активацию ЭНЦ. В кариотипе золотистого хомяка районы, гомологичные MMU18, подверглись дополнительным эволюционным разрывам. Выявлен новый регион, гомологичный MMU18, на MAUR7q и обратный порядок сегментов на MAUR11q.

В дополнение к сегменту, расположенному на CGRI2q [Romanenko *et al.*, 2006; Yang, O'Brien, Ferguson-Smith, 2000], область, гомологичная MMU18qA1, выявлена на CGRI3pprox. Порядок сегментов на CGRI2q идентичен MMU18qA2-qdist. MMU18 гомологична области TTRI2q. Дополнительный сигнал, соответствующий MMU18 prox, выявлен на TTRI1.

Подтверждено, что MMU18 гомологична AOEC4p [Sitnikova *et al.*, 2007], причем порядок расположения сегментов в MMU18qdist соответствует AOEC4pdist. Дополнительно, обнаружен крошечный блок MMU18qA1 на AOEC9qprox [Sitnikova *et al.*, 2007]. Дистальная часть MMU18 гомологична DTOR12 с консервативным распределением сегментов и гомологична MROS18 с обратным расположением сегментов. Подтверждено, что MMU18 гомологична ETAL16 [Romanenko *et al.*, 2007a], а порядок сегментов сохранен. Обнаружен дополнительный регион, гомологичный MMU18qA2-18qB, в проксимальном участке ETAL2q.

Показано, что для областей, гомологичных MMU19, характерно консервативное распределение зондов у следующих видов: APEN1, MAUR2, CGRI3, TTRI8q, AOEC5q, MROS8q, DTOR3q и ETAL10qdist. MMU19 гомологична области RNOR1q43-qter, как ранее было обнаружено с помощью окрашивания хромосом и секвенирования [Helou *et al.*, 2001; Stanyon *et al.*, 1999; The Ensembl genome assembly for rat (*Rattus norvegicus*): RGSC3.4].

Состав В-хромосом лесных и полевых мышей рода *Apodemus*

При гибридизации В-специфических зондов *A. flavicollis* на метафазных хромосомах особей с одной или более чем одной В-хромосомой выявлялось одинаковое сродство проб к В-хромосомам, прицентромерным районам половых хромосом и субтеломерной области четырех небольших аутосом даже в случае использования проб или препаратов, полученных для особей *A. flavicollis* из географически различных популяций.

При гибридизации проб на метафазах самцов без В-хромосом яркие сигналы наблюдались в прицентромерных районах половых хромосом и более слабые в остальной части Y-хромосомы. Во всех случаях сигнал гибридизации также присутствовал в субтеломерной области четырех небольших хромосом из А-набора.

При секвенировании ДНК-библиотек *A. flavicollis* на платформе Illumina MiSeq единственный популяционно-специфичный район (гомологичен MMU9, 72 млн п.н.) был идентифицирован у особи из России. Установлено, что В-хромосомы *A. flavicollis*

несут гены, связанные с формированием микротрубочек и кодированием белков клеточного цикла: *Cenpe*, *Dync1i2*, *Mns1* и *Mapre1*. Другие менее значимые категории включали в себя нуклеотидсвязывающие, мембранные и металлсвязывающие белки.

По сравнению с аутосомами в В-хромосомах накапливается больше замен. В генах наблюдается повышенная доля несинонимичных мутаций. Самые большие скопления повторов в AFLA23 в основном представлены семействами B2 (SINE) и L1 (LINE). В В-хромосомах также наблюдались сателлитные повторы (включая MurSatRep1) вместе с рассеянными ERRL (MaLR) и ERVK (LTR). В некоторых случаях транспозоны были расположены тандемно.

В кариотипе *A. peninsulae* были выявлены и изучены два морфотипа В-хромосом – макро- и точечные или микрохромосомы. Специфичность библиотек В-хромосом подтверждена результатами FISH [Karamysheva *et al.*, 2002; Rubtsov *et al.*, 2004]. Области с представителями семейств Cntnap5 и Vmn2r присутствовали как на точечных, так и на макро-В-хромосомах, а Nlrp9 – только на макро-В-хромосомах. При функциональном анализе высокие оценки обогащения получены для нуклеотидсвязывающих, ламинин- и EGF-подобных доменов, цитоскелета и ионсвязывающих белков. Низкое соотношение несинонимичных и синонимичных замен наблюдалось в точечных В-хромосомах (0,95) по сравнению с макро-В-хромосомами (2,50) и В-хромосомами *A. flavicollis* (1,68-1,71). Варианты сдвига рамки считывания в гене *Kif23* наблюдались у обоих типов В-хромосом.

Обнаружено, что оба морфотипа В-хромосом *A. peninsulae* обогащены LINE элементами L1. Точечные В-хромосомы обогащены смесью основных центромерных повторов [Matsubara *et al.*, 2008], а макро-В-хромосомы обеднены ею. Минорный центромерный повтор APE_EcoRI_1 обнаружен в очень низком количестве копий только в точечных В-хромосомах. Сателлитные повторы, в том числе MurSatRep1, LTR ERVK и ERVL (MaLR), а также семейства генов (NLR, Vmn2r), обнаружены среди мелких кластеров.

Глава 4 "Обсуждение".

Корректировка сравнительных хромосомных карт бобра и бурундука

Полученные данные подтвердили наличие десяти ранее выявленных сегментных ассоциаций хромосом человека в кариотипе бурундука [Li *et al.*, 2004] и позволили обнаружить две дополнительные сегментные ассоциации, гомологичные HSA7/12/22 и HSA12/8/4/8/12/22. Обнаружен третий сегмент, гомологичный HSA12c в прителомерном районе хромосомы TSIB2. Поскольку кариотипы Sciuridae очень консервативны, наиболее вероятен вариант, при котором перицентрическая инверсия могла привести к разделению предковой синтении HSA12/22 в кариотипе бурундука и сформировать дополнительный, третий сегмент HSA12.

Филогенетическая позиция семейства Castoridae долго оставалась спорной. Использование многонаправленного хромосомного пэйнтинга в данной работе подтвердило сильную перестроенность кариотипа речного бобра по сравнению с беличьими [Graphodatsky *et al.*, 2008] и позволило обнаружить в его кариотипе

только четыре синтенные ассоциации (HSA12/22 (два фрагмента), HSA8/4/8 и HSA3/21 (с инверсией)), характерные для всех бореозутерий [Froenicke *et al.*, 2006].

Первые сравнительные хромосомные карты между представителями *Hystricomorpha* и человеком

Геном морской свинки отсеквенирован в 2008 году, но до сих пор не собран до уровня хромосом, также отсутствуют данные, позволяющие связать кариотип морской свинки с кариотипом человека.

В ходе работы созданы наборы сортировочных хромосомоспецифичных проб морской свинки и получены карты гомологии хромосом этого вида и хромосом человека. Выполнена локализация проб морской свинки и человека на хромосомах еще одного представителя того же рода из подотряда *Hystricomorpha* – перуанской свинки. Здесь важно подчеркнуть, что последние данные молекулярных исследований показывают, что вид *C. porcellus* берет начало от популяций *C. tschudii* [Spotorno *et al.*, 2004; Dunnun, Salazar-Bravo, 2010], а наши данные показывают идентичность кариотипов этих видов.

При реципрокном сравнительном хромосомном пэйнтинге в геномах морской и перуанской свинок выявлены только пять ассоциаций хромосом человека, характерных и для предполагаемых предков плацентарных/грызунов [Graphodatsky *et al.*, 2008]: HSA3/21, 8/4/8, 12/22 (дважды) и 14/15. Наиболее вероятным объяснением полученных результатов является то, что 1) другие ассоциации были потеряны в эволюционной линии, ведущей к свинкам, из-за высокой скорости преобразования их хромосом, или 2) размер сохраненных предковых ассоциаций у свинок был ниже разрешения методов, используемых в нашем исследовании. Сборка генома свинки до уровня хромосом позволила бы провести полногеномный сравнительный анализ предковых ассоциаций. При этом данные реципрокного пэйнтинга однозначно указывают на то, что ассоциация HSA4/8/4 в кариотипах свинок образована другими сегментами хромосом человека 4 и 8, по сравнению с кариотипами других грызунов.

Кариотипические отношения между таксонами хомячьих (*Cricetinae*)

Род *Allocricetulus*

Начиная с первого исследования [Matthey, 1960], два вида рода *Allocricetulus* (*A. curtatus* и *A. eversmanni*) часто оказывались в центре внимания сравнительной цитогенетики. Данные рутинного окрашивания указывали на то, что кариотипы *A. curtatus* ($2n=20$) и представителей группы *A. eversmanni* ($2n=26$) должны отличаться из-за перестроек хромосом. При этом было предположено, что хромосомные различия более сложны, чем простые события слияния/разделения. Сравнение результатов настоящей работы с ранее полученными данными для других хомячьих позволило определить элементы, которые могли присутствовать в кариотипе предка *Allocricetulus* (AAlK), и предположить ход кариотипической эволюции в таксоне.

Элементы, гомологичные MAUR2/7/11a/3/13, 5a/9a/14a/16/15, 8/18, 20, 21 и X, присутствуют в кариотипах всех четырех таксонов *Allocricetulus* и могут рассматриваться как входящие в AAlK в виде отдельных хромосом. Из сравнений некоторых консервативных аутосомных сегментов *Allocricetulus* и хомячков внешней

группы можно предположить, что большинство хромосом AAIK были акроцентрическими [Romanenko *et al.*, 2007b]. Формирование кариотипов современных *Allocricetulus* из AAIK происходило за счет робертсоновских слияний.

Рассмотрение предкового состояния MAUR1 и MAUR10 заслуживает отдельного внимания. Ассоциация MAUR1/10 была выявлена у *A. e. pseudocurtatus* и в кариотипах некоторых близких видов из внешней группы – *Cricetulus barabensis*, *C. longicaudatus*, *C. migratorius* и *Cricetus cricetus*. Однако она отсутствует у *C. griseus*, *C. pseudogriseus* и *C. sokolovi*, а также в кариотипах более отдаленных родов – *Calomyscus*, *Peromyscus* и *Phodopus* [Romanenko *et al.*, 2007b]. Поэтому данные сравнительного хромосомного пэйнтинга не дают четких доказательств в поддержку или опровержение гипотезы о том, что MAUR1/10 был предковой для рода *Allocricetulus*.

Другая загадка – происхождение хромосомы 4 *A. e. eversmanni* (MAUR14b/9b/19/17). Вероятно, что ее возникновение из AAIK требует двух перестроек: слияние MAUR5b/11b/14b и MAUR9b/19/17, за которым следует реципрокная транслокация MAUR5b/11b/14b/9b/19/17 и MAUR10.

Синтения MAUR2/7/11a/3/13, содержащая всю хромосому MAUR7, является характерной для рода *Allocricetulus*. Аналогичная ассоциация в кариотипе *C. sokolovi* содержит лишь небольшую часть MAUR7, что указывает на независимое происхождение синтении MAUR2/7/11a/3/13 в кариотипах *C. sokolovi* и *Allocricetulus*.

Отдельным вопросом является таксономический статус видов и подвидов в *Allocricetulus*. Сравнительный хромосомный пэйнтинг не выявляет различий между *A. e. beljaevi* и *A. e. eversmanni*, тогда как цитогенетические данные дают сильную поддержку делению рода *Allocricetulus* на 2 таксона – *A. curtatus* и группу *A. eversmanni*. Статус подвида цитогенетически подтверждается для *A. e. pseudocurtatus* по сравнению с *A. e. beljaevi/A. e. eversmanni*.

В целом результаты сравнительного хромосомного пэйнтинга четырех таксонов *Allocricetulus* показывают первоочередную роль робертсоновских слияний в эволюции кариотипа группы *Allocricetulus*, но предлагают двусмысленный сценарий эволюции группы.

Кариотипическая эволюция в подсемействе Cricetinae

До настоящего исследования *C. sokolovi* и *A. curtatus* были включены в сравнительные исследования только по данным G-бэндинга [Romanenko *et al.*, 2007b]. Было показано, что *C. sokolovi* является сестринским видом для рода *Allocricetulus*, тогда как другие полосатые хомячки ближе к *Cricetus cricetus* и *C. longicaudatus*. Объединение *Allocricetulus*+*C. sokolovi* поддерживалось двумя предполагаемыми синапоморфиями: наличием уникальной ассоциации MAUR2/7/11/3/13 и разрывом MAUR6. Последующий анализ данных хромосомного пэйнтинга показал, что ассоциация MAUR2/7/11/3/13 не идентична в этих двух линиях, и что кариотип *C. sokolovi* включает в себя один элемент, гомологичный MAUR6, но не содержит ассоциаций MAUR1/18/8, 10/20. Разрыв MAUR7 и наличие ассоциаций MAUR1/7a и 8/18/10 – уникальные особенности *C. sokolovi* среди

Cricetinae. Полученные данные заставили внести существенные уточнения в сравнительную карту хромосом видов из родов *Cricetus*, *Cricetulus* и *Allocricetulus* (Рис. 3, [Romanenko *et al.*, 2007b]).

Рис. 3. Сравнительная карта хромосом представителей родов *Cricetus*, *Cricetulus* и *Allocricetulus*.

В работе мы опирались на филогению Cricetinae, предложенную ресурсом TimeTree [TimeTree: the timescale of life] (Рис. 4). Несмотря на то, что в соответствии с ранее полученными данными [Neumann *et al.*, 2006] род *Phodopus* представляет собой наиболее раннее ответвление в таксоне, это не находит отражения в современных филогенетических построениях. Порядок ответвления родов внутри Cricetinae по молекулярным данным остается неразрешенным.

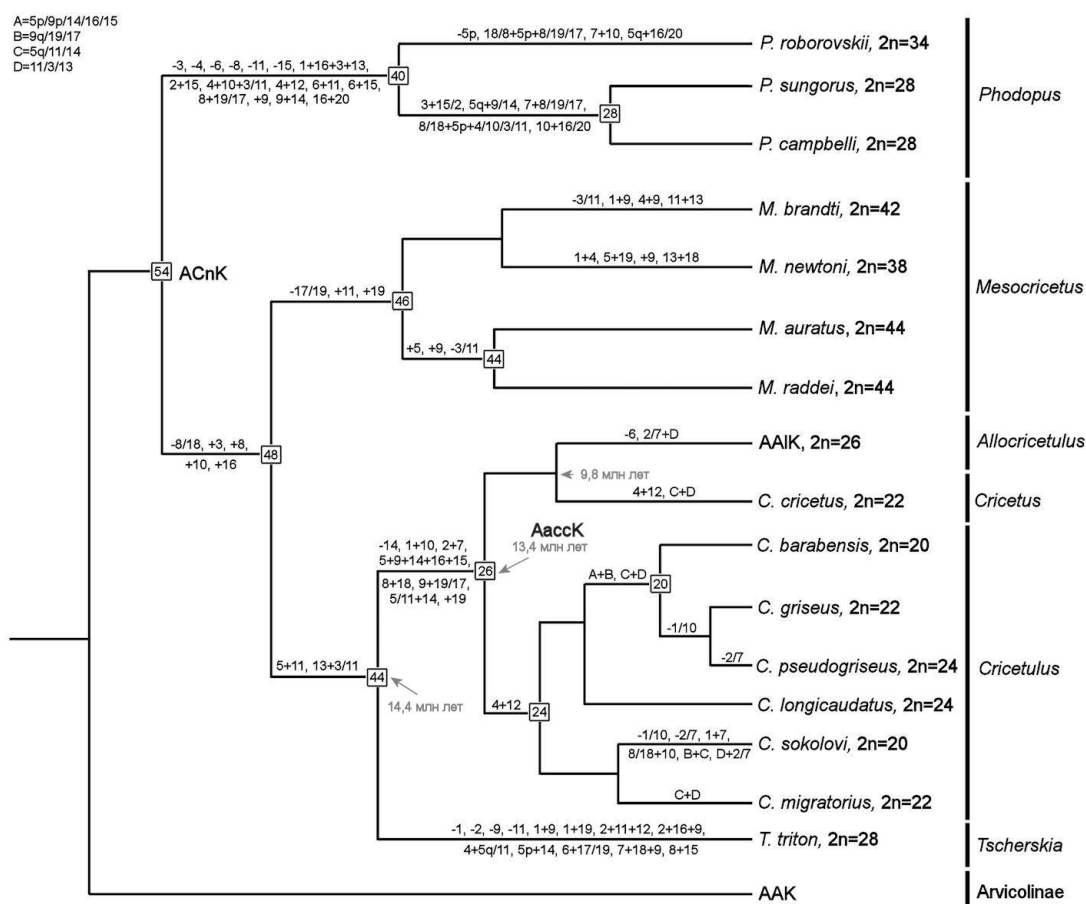


Рис. 4. Кариотипическая эволюция в подсемействе Cricetinae. Значения диплоидных чисел хромосом для отдельных узлов дерева приведены в квадратах. Перестройки представлены в элементах, гомологичных хромосомам *M. auratus*. «-» – разрыв, «+» – слияние. См. текст.

Род *Mesocricetus* несомненно монофилетичен. Кариотип предка всего рода имел, по-видимому, $2n=46$. При этом в ветви, идущей к *M. auratus* и *M. raddei*, произошли слияния предковых элементов MAUR5 и 9, а также разрыв предковой ассоциации MAUR3/11. Согласно филогенетическим построениям виды *M. brandti* и *M. newtoni* объединяются в единую кладу. Такое объединение не находит подтверждения на цитогенетическом уровне. Разрыв предковой ассоциации MAUR3/11 стоит рассматривать как независимое событие, произошедшее у разных видов внутри рода *Mesocricetus*.

По данным молекулярных исследований род *Allocricetulus* филогенетически наиболее близок роду *Cricetus*, а *C. sokolovi* формирует единую кладу с *Cricetulus migratorius*. Цитогенетических обоснований для такого объединения нет. В целом данные сравнительных цитогенетических исследований не дают подтверждения выделению многих ветвей внутри группы, объединяющей роды *Allocricetulus*, *Cricetulus* и *Cricetus*.

По-видимому, слияние MAUR4+12 может рассматриваться, как маркерное для рода *Cricetulus*, а слияния MAUR5p/9p/14/16/15+9q/19/17 и MAUR 5q/11/14+11/3/13, как объединяющие для видов *C. barabensis*, *C. griseus* и *C. pseudogriseus*. Виды *C.*

griseus и *C. pseudogriseus* могут быть объединены разрывом ассоциации MAUR1/10. В целом можно предположить, что предковый кариотип группы, объединяющей роды *Allocricetulus*, *Cricetulus* и *Cricetus* (АассК), имел $2n=26$, а предковый кариотип АассК+*Tscherskia triton* имел $2n=44$. Тем не менее, уже на этом уровне возникает вопрос о точном количестве элементов, гомологичных, например, MAUR14 и 19. В кариотипе *T. triton* произошли разрывы предковых элементов MAUR1, 2, 9, 11 и, в общей сложности, 12 слияний. АассК сформировался за счет разрыва предкового элемента MAUR14, слияния двух предковых элементов MAUR19 в один и целого ряда других слияний.

Необходимо отметить, что в целом для эволюции кариотипов хомячьих из родов *Allocricetulus*, *Cricetulus* и *Cricetus* характерно присутствие множества конвергентных событий. Например, хотя слияние MAUR5q/11/14+9q/19/17 было обнаружено по результатам FISH в кариотипах *C. sokolovi* и *Allocricetulus curtatus*, подобная синтения не была обнаружена у других видов *Allocricetulus*, *Cricetus* и других видов *Cricetulus*. Аналогично и со слиянием MAUR5q/11/14+11/3/13, выявленном в разных ветвях древа.

Реконструкция предкового кариотипа подсемейства Cricetinae (АСнК) ранее не была проведена. При попытке определить вероятный состав АСнК мы опирались на данные молекулярных исследований, согласно которым подсемейство Arvicolinae является сестринским к группе Cricetinae. Не вызывает сомнений присутствие в кариотипе предка Cricetinae синтений MAUR3/11, 8/18 и 17/19. Выявить на данном этапе другие синтении не представляется возможным. В любом случае цитогенетические данные подтверждают базальную позицию рода *Phodopus* внутри Cricetinae и формирование предкового кариотипа рода *Phodopus* за счет множественных разрывов и слияний. У *Mesocricetus* произошел разрыв MAUR17/19 и слияние предковых элементов MAUR11 и 19. Всего 2 слияния, MAUR13+3/11 и 5+11, произошли при формировании кариотипа предка, объединяющего АассК+*T. triton*.

Сравнительные цитогенетические данные, полученные для палеарктических хомячьих, подчеркивают, что периоды довольно медленной эволюции хромосом (или даже застоя), характерной для некоторых ветвей дерева Cricetinae, чередовались с периодами быстрой кариотипической эволюции в других линиях. Быстрая эволюция кариотипа характерна для *Tscherskia triton* [Romanenko *et al.*, 2007b], рода *Allocricetulus* и *C. sokolovi*. Более того, данные по *C. sokolovi* указывают, что даже в пределах компактного рода, такого как *Cricetulus*, изменение скоростей эволюции кариотипа могло быть существенным. Подобная же картина наблюдается у полеvoчьиx из родов *Ellobius* [Romanenko *et al.*, 2007a], *Microtus* (подрод *Alexandromys*) и *Lasiopodomys* (см. ниже). Следовательно, хромосомная дивергенция могла способствовать возникновению эффективных репродуктивных барьеров между различными таксонами хомячьих.

Кариотипическая эволюция в подсемействе Arvicolinae

Arvicolinae, полеvoчьи, являются уникальным подсемейством с наиболее сложной филогенетической историей среди всех грызунов [Abramson *et al.*, 2009a;

Galewski *et al.*, 2006; Jaarola *et al.*, 2004; Martínková, Moravec, 2012]. Подсемейство монофилетическое, включает 30-32 родов, сгруппированных в 10-11 триб [Павлинов, Лисовский, 2018].

Охарактеризованы кариотипы почти всех видов. Диплоидные хромосомные числа варьируют от 17 до 64, но в подсемействе описаны множественные случаи внутривидового хромосомного полиморфизма [Lemskaya *et al.*, 2015; Meyer *et al.*, 1996]. Высказано предположение, что значительные кариотипические вариации являются результатом катастрофической эволюции, сопровождающейся как меж-, так и внутривидовыми перестройками.

Кариотип *D. torquatus*

Отличительной чертой рода копытных леммингов, *Dicrostonyx*, является широкая кариотипическая изменчивость, особенно по сравнению с их ближайшими родственниками – настоящими леммингами (род *Lemmus*) [Орлов, Булатова, 1983; Чернявский, Козловский, 1980; Gileva, 1983]. Было предположено, что изменение диплоидного числа хромосом в роде *Dicrostonyx* обусловлено в основном центрическими слияниями А-хромосом [Gileva, 1983], а исключительно вариации количества В-хромосом приводят к высоким числам хромосом у *D. torquatus*, где 44 А-хромосомы считались регулярными элементами кариотипа вида ($2n=44+Bs$), а кариотипы с 0 до 42 В-хромосомами были зарегистрированы в различных популяциях [Орлов, Булатова, 1983; Gileva, 2004].

FISH с зондами *M. agrestis* позволил установить, что две маленькие пары хромосом в кариотипе копытного лемминга, которые имеют тот же размер, что и В-хромосомы, гомологичны MAGR24 и, следовательно, относятся к стандартному А-набору. Нечетное число хромосом в А-наборе ($2n=45$) объясняется сложной системой половых хромосом, выявленной в кариотипе особи.

В исследованиях по мейотическому спариванию истинная Y-хромосома в кариотипе *D. torquatus* не была идентифицирована [Gileva, 1980; Gileva, Chebotar, 1979], она также не визуализировалась методом хромосомного пэинтинга в наших экспериментах. Это позволило поместить *D. torquatus* в короткий список атипичных видов млекопитающих, у которых отсутствует истинная Y-хромосома. Учитывая явное отсутствие истинной Y-хромосомы, система половых хромосом *D. torquatus* может быть обозначена как X1X2Y1. Три половые хромосомы могут быть интерпретированы как результат двойного транслокационного события, приведшего к формированию трех монобрахиальных гомологов.

Сложная система половых хромосом у *L. mandarinus* и внутриаутосомный полиморфизм

Грызуны демонстрируют самый широкий спектр систем половых хромосом, отличных от XX/XY, и механизмов хромосомного определения пола. Многие виды с необычными системами половых хромосом относятся к подсемейству Arvicolinae, а китайская полевка, наравне с копытным леммингом, является одним из них.

Полиморфизм половых хромосом *L. mandarinus* ранее был описан только на основании анализа G- и C-бэндинга. Было предположено, что он вызван

перемещением аутосом на X-хромосому [Ковальская, Орлов, 1974; Liu, Yan, Zhu, 2010; Wang *et al.*, 2003; Zhu *et al.*, 2003]. Методом сравнительного хромосомного пэйнтинга установлено, что нео-половые хромосомы у *L. mandarinus* возникли в результате по меньшей мере двух независимых транслокаций аутосом на половые хромосомы. Среди исследованных нами особей обнаружилось два типа половых хромосом у самок и один тип у самцов. Это открытие согласуется с теорией, предложенной на основе наблюдения необычного синапса в мейозе у китайской полевки [Borodin *et al.*, 2012].

Образование нео-X, нео-X1 и нео-X2 сопровождалось накоплением гетерохроматина. По-видимому, предковая X-хромосома или предковый аутосомный сегмент несли гетерохроматиновый блок, который препятствовал распространению инактивации на аутосомную часть после транслокации [Wang *et al.*, 2014]. Сама же перестройка произошла сравнительно недавно, поскольку область слияния сохранила интерстициальные теломерные сайты.

Ранее на основании рутинного окрашивания хромосом и сравнения рисунка G-бэндинга, было показано, что морфология пар аутосом 1 и 2 в кариотипе *L. mandarinus* может быть различной. Предполагалось, что подобный аутосомный полиморфизм является подвидо-видоспецифичным и возник в результате инверсии [Kovalskaya, Smorkatcheva, 2011; Wang *et al.*, 2003]. Среди 12 изученных особей полиморфизм наблюдался только по паре хромосом 2, причем результаты сравнительного хромосомного пэйнтинга позволили нам описать три типа этой аутосомы. Несомненно, что дальнейшие исследования молекулярного состава пары хромосом 2 необходимы, чтобы ответить на вопросы о причинах столь высокой частоты внутривидовых перестроек в этом сегменте кариотипа *L. mandarinus*.

Высокий консерватизм кариотипов в роде *Alticola*

Род скальных полевок *Alticola* объединяет 12 видов [Carleton, Musser, 2005]. Ранее кариотипированы на основании C- и G-окрашивания 7 видов: *Alticola lemmingus* [Bykova, Vasilyeva, Gileva, 1978], *A. semicanus* (два подвида), *A. barakshin*, *A. argentatus*, *A. strelzowi* (2 подвида) [Hielscher *et al.*, 1992]. Отмечена схожесть рисунка G-бэндинга хромосом, но оговорено, что наличие большого числа акроцентриков, имеющих лишь один G-позитивный бэнд, создает сложность при сопоставлении кариотипов [Hielscher *et al.*, 1992]. Данные сравнительного хромосомного пэйнтинга убедительно показывают, что, по крайней мере, между видами *A. barakshin*, *A. olchonensis*, *A. strelzowi* и *A. tuvinicus* нет выявляемых межхромосомных перестроек. Все кариотипические различия между ними вызваны различным накоплением и распределением блоков гетерохроматина.

Эволюция хромосом в роде *Ellobius*

Изучение хромосомных наборов слепушонок позволило обосновать существование трех видов двойников: *E. talpinus*, *E. tancrei*, *E. alaicus*, при этом для *E. talpinus* s. str. ($2n=FN=54$) до сих пор неизвестна какая-либо хромосомная изменчивость, а для других видов этой группы описана широкая хромосомная

изменчивость робертсоновского типа: *E. tancrei* $2n=31-54$, $FN=56$; *E. alaicus* $2n=50-52$, $FN=56$ [Lyapunova *et al.*, 1984].

Метод сравнительного хромосомного пэйнтинга не выявил каких-либо различий в распределении синтенных групп в кариотипах двух исследованных близкородственных видов *E. talpinus* и *E. tancrei* ($2n=54$), кроме положения центромеры на паре хромосом 7. Причины изменения положения этой центромеры установить не удалось. На большую вероятность центромерного сдвига, а не инверсии указывает отсутствие видимых гетерохроматиновых блоков, являющееся одной из специфических черт, проявляющихся при возникновении неоцентромер [Alonso *et al.*, 2010]. Кроме того, данные многоцветного бэндинга показывают, что в кариотипе *E. talpinus* присутствует минимум одна эволюционно новая центромера (на хромосоме ETAL1).

Хотя предыдущие исследования *E. talpinus* указывают на функциональные различия для пары XX-хромосом у самцов и самок, которые также могут встречаться у *E. tancrei* и *E. alaicus* [Kolomiets, Matveevsky, Bakloushinskaya, 2010], на цитогенетическом уровне половые хромосомы самцов и самок этих трех видов являются изоморфными.

Все проанализированные формы *E. alaicus* имели неописанное ранее для этого вида $2n=48$. Принадлежность изученных особей именно к виду *E. alaicus*, а не *E. tancrei*, подтверждена результатами анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента митохондриального гена *cyt b* [Саидов и др., 2018]. То, что все изученные особи *E. alaicus* отловлены за пределами ареала, приписываемого данному виду, заставляет пересмотреть границы обитания вида. Кариотипы особей характеризовались присутствием трех робертсоновских слияний (Rb(2.11), Rb(3.10) и Rb(4.9)), пара хромосом 7 была представлена парой субметацентриков. Здесь важно подчеркнуть, что ранее было установлено, что для кариотипа *E. alaicus* характерно присутствие типичного крупного метацентрика [Воронцов, Раджабли, 1967; Ляпунова, Воронцов, 1978]. Новые данные описывают этот метацентрик как Rb(2.11).

Восточная слепушонка, *E. tancrei*, на основной части ареала имеет $2n=54$. Многочисленные работы показывают существование неполного робертсоновского веера у слепушонок из Сурхобской долины (Памиро-Алай) (обзор [Lyapunova *et al.*, 2010]). Данные по анализу популяции за 25 лет показывают, что активная гибридизация между различными хромосомными формами до сих пор сохраняется в центральной части популяции. Описание формы с $2n=30$ (появление Rb(24.26)) показывает существование полного робертсоновского веера у этого вида, а также сдвигает границу зоны хромосомного полиморфизма на восток, ближе к *E. alaicus*.

По результатам картирования зоны робертсоновского веера *E. tancrei* на основании сравнения G-окрашенных хромосом было выделено более 10 областей обитания разнхромосомных форм, разграниченных естественными природными барьерами [Lyapunova *et al.*, 2010]. В рамках настоящей работы методами молекулярной цитогенетики были описаны все типы Rb, характерные для особей из

различных ареалов. Описана сложная хромосомная изменчивость в этом регионе, где даже особи с идентичными диплоидными числами хромосом несут независимые Rb.

Обнаружение у восьми восточных слепушонок слияния Rb(2.11), причем у животных, обитающих в разных популяциях, на разных берегах реки Сурхоб, поднимает вопрос о возможном независимом, конвергентном возникновении этой перестройки у *E. tancrei* и сестринского вида *E. alaicus*. Также любопытен тот факт, что у всех особей *E. tancrei*, несущих Rb(2.11), всегда обнаруживалось и слияние Rb(3.18), тогда как у *E. alaicus* в различных сочетаниях встречались слияния Rb(1.3), Rb(4.9), Rb(3.10), нехарактерные для *E. tancrei*. Независимость происхождения, по-видимому, характерна и для слияния Rb(17.25), встретившегося в кариотипах особей *E. tancrei* из трех популяций, значительно удаленных друг от друга и разобщенных мощными географическими барьерами. Часть выявленных слияний были характерны для определенных популяций и не встречались в других точках.

Можно заключить, что группы популяций *E. tancrei* формировались независимо друг от друга, и хотя гибридизация играла важную роль в их истории, ее распространение было ограничено географическими барьерами, способствовавшими закреплению перестроек в хромосомных наборах.

В целом, все три представителя подрода *Ellobius* являются классическими сестринскими видами: они практически неразличимы фенотипически, но существенно отличаются генетически. Можно считать, что возникновение этих видов представляет собой пример значительного эволюционного последствия изменения положения центромера, имевшего место в течение 1 млн лет, прошедшего с момента расхождения *E. tancrei* + *E. alaicus* и *E. talpinus*.

Предковый кариотип подтрибы Microtina

Все представители современного таксона Microtina, имеющего статус подтрибы, ранее относились к единому роду *Microtus*. На основании сравнения морфологии хромосом и рисунка GTG-бэндинга был реконструирован предковый кариотип трибы Microtina (в нынешнем понимании) (AMiK) [Matthey, 1973]. Было предположено, что AMiK имел $2n = 56$, и все хромосомы были акроцентрическими из-за широкого распространения подобного кариотипа у представителей таксона.

В настоящей работе для определения, имеет ли хромосома или хромосомный сегмент предковое состояние, в качестве внешней группы был выбран род *Ellobius*, относимый к другой трибе полевоочных. Согласно принципам реконструкции предковых кариотипов, ассоциации MAGR1/17 и MAGR2/8 следует рассматривать в качестве предковых для всех изученных видов Microtina. По-видимому, хромосомы, гомологичные хромосомам *M. agrestis* MAGR2, 4-7, 10-16, 18-24, были сохранены в AMiK, а хромосомы, гомологичные хромосомам MAGR1, 8, 9 и 17, присутствовали в AMiK в виде двух элементов. Предковое состояние MAGR3 трудно определить однозначно, но картина FISH-локализации MAGR3 на хромосомах таких видов Arvicolinae, как *D. torquatus*, *Arvicola amphibious* и *Myodes rutilus*, являющихся базальными для трибы Microtina [Mazurok *et al.*, 2001; Galewski *et al.*, 2006; Jaarola *et al.*, 2004], указывает на более вероятное представление MAGR3 в AMiK как единого

сегмента. Кроме того, в кариотипе *Lasiopodomys gregalis* и других *Lasiopodomys* (об этом ниже) MAGR3 также сохранилась в виде единого сегмента, а этот род занимает базальное положение внутри трибы Microtina [Mazurok *et al.*, 2001; Galewski *et al.*, 2006; Jaarola *et al.*, 2004]. На основании этого видится более вероятным, что MAGR3 была представлена в АМiК в виде одного сегмента.

Анализ данных сравнительного хромосомного пэйнтинга указывает на то, что АМiК, по-видимому, имел $2n=54$ и состоял из акроцентрических элементов.

Кариотипическая эволюция в роде *Lasiopodomys*

Статус всего таксона *Lasiopodomys*, его видовой состав и, в частности, разделение рода на подроды *Stenocranius* (*L. gregalis* и *L. raddei*) и *Lasiopodomys* (*L. mandarinus* и *L. brandtii*) остаются неясными [Abramson, Kostygov, 2010; Abramson *et al.*, 2009b; Petrova *et al.*, 2016].

Наличие MAGR1bc/17b (ассоциация, общая почти для всех Arvicolinae и содержащая фрагмент MAGR1b/17b, который также был обнаружен у некоторых видов Cricetinae) и MAGR2/8a (общая для всех Arvicolinae) в кариотипах трех изученных видов *Lasiopodomys* может рассматриваться как синапоморфная черта подсемейства Arvicolinae. Ассоциации MAGR12/18, 17a/19 и 22/24 ранее не были обнаружены в кариотипах других грызунов и могут быть определяющими маркерами рода *Lasiopodomys*.

Ассоциации MAGR2a/8a/19b, 8b/21, 9b/23, 11/13b, 12b/18 и 17a/19a, обнаруженные в кариотипах *L. mandarinus* и *L. brandtii*, могут быть характерными для подрода *Lasiopodomys*. Хотя некоторые из этих ассоциаций, по-видимому, имеют общее происхождение с другими видами Arvicolinae и Cricetinae, использование проб копытного лемминга оказалось эффективным для определения статуса этих, казалось бы, общих ассоциаций. Так, несмотря на то, что MAGR12/18 и MAGR17a/19 являются ключевыми синапоморфными ассоциациями для всего рода *Lasiopodomys*, разрывы MAGR12 и MAGR19, приводящие к образованию MAGR12a, MAGR12b/18 и MAGR17a/19a, MAGR19b (входит в состав MAGR2a/8a/19b), соответственно, характерны только для подрода *Lasiopodomys*.

Кариотип *L. mandarinus* характеризуется высокой фрагментацией по сравнению с кариотипами его сестринских видов. Отсутствие ассоциации MAGR22/24 (= DTOR17/20/21) в кариотипе *L. mandarinus*, вероятно, было вторичным событием из-за разрыва хромосом. Однако мы не можем исключить возможность того, что наличие ассоциации MAGR22/24 в кариотипах *L. brandtii* и *L. gregalis* являлось результатом конвергентной эволюции, а *L. mandarinus* сохранил предковое состояние. Таким образом, происхождение ассоциации MAGR22/24 не было однозначно определено.

Обнаруженные здесь общие хромосомные ассоциации подтверждают эволюционную близость *L. mandarinus* и *L. brandtii* и их изоляцию от *L. gregalis*, обеспечивая цитогенетические доказательства для таксономического разделения подродов на основе анализа последовательностей ДНК [Abramson, Kostygov, 2010; Abramson *et al.*, 2009b]. Более того, цитогенетические исследования выявляют

возможные хромосомные синтении (MAGR12/18, 17a/19 и 22/24), которые поддерживают отдельную позицию рода внутри Arvicolinae (Рис. 5).

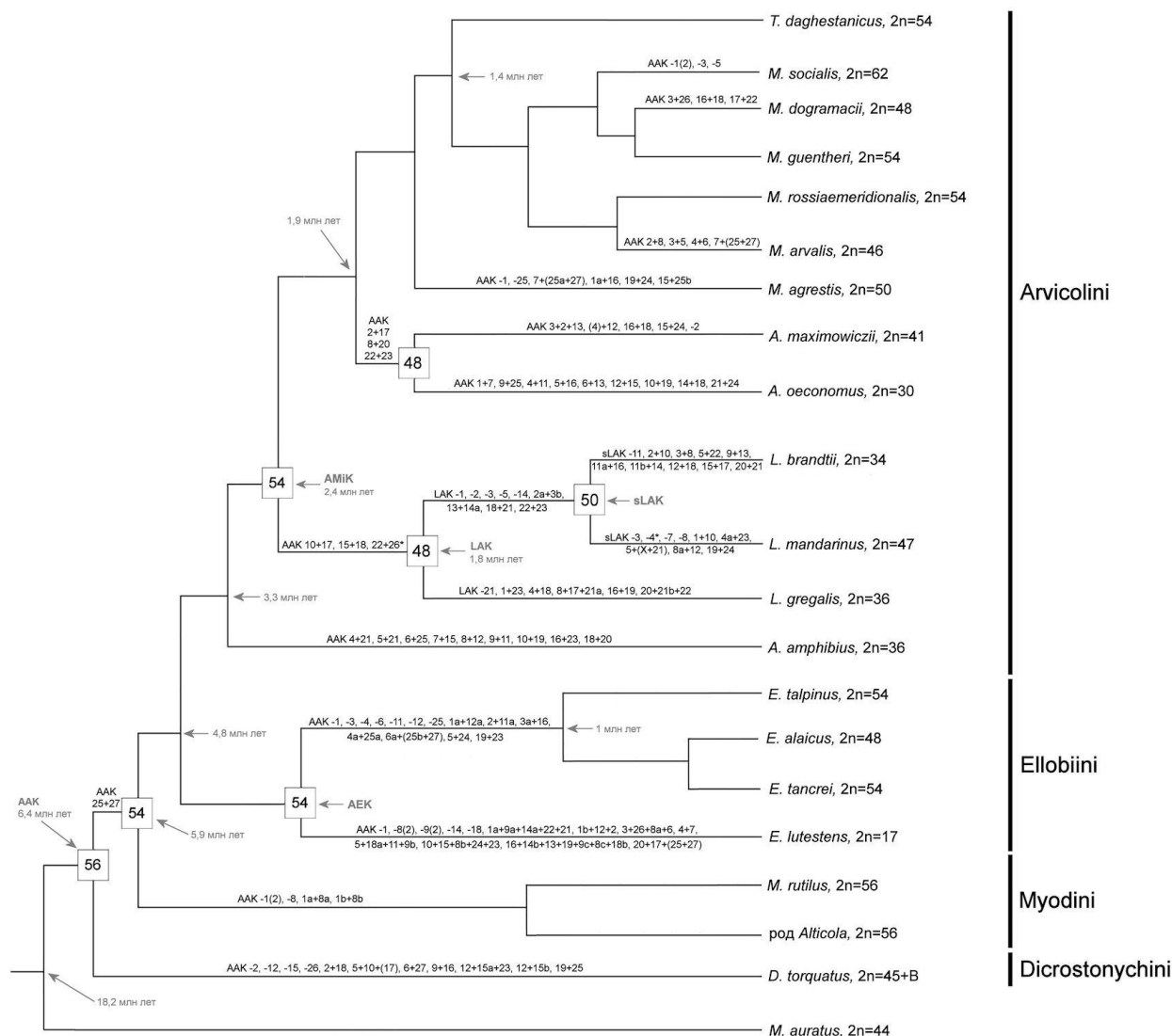


Рис. 5. Кариотипическая эволюция в подсемействе Arvicolinae. Топология древа соответствует молекулярной филогении полеvoчьих, полученной ранее [Abramson *et al.*, 2009a]. Нумерация хромосом приведена в AAK, LAK и sLAK (см. текст). "+" – слияние, "-" – разрыв.

Реконструкция предкового кариотипа и предполагаемый ход кариотипической эволюции в подсемействе Arvicolinae

Систематические связи между видами Arvicolinae остаются в значительной степени противоречивыми. Филогенетические деревья, основанные на анализе митохондриальных последовательностей, показывают другой порядок ветвления по сравнению с деревьями, построенными с использованием ядерных последовательностей или комбинаций митохондриальных и ядерных последовательностей [Abramson *et al.*, 2009b; Galewski *et al.*, 2006]. В настоящее время цитогенетические данные по изучению широкого списка видов полеvoчьих

позволяют реконструировать предполагаемый предковый кариотип Arvicolinae (ААК) и предковые кариотипы для таксонов ниже уровня подсемейства. Для описания путей кариотипической эволюции в таксоне мы соотнесли выявленные перестройки с молекулярной филогенией полеvoчьих, полученной ранее [Abramson *et al.*, 2009a] (Рис. 5).

Структура ААК сходна с АМiК, в котором произошло слияние хромосом 25+27, и, следовательно, с предковым кариотипом рода *Ellobius* (АЕК). Для ААК характерно диплоидное число хромосом $2n=56$ и три сегмента, гомологичных MAGR1. Кариотип, сходный по структуре с АМiК возник после отделения *D. torquatus*. Формирование АЕК сопровождалось одной инверсией, при этом отсутствуют межхромосомные перестройки, различающие кариотипы *E. talpinus*, *E. alaicus* и *E. tancrei*. Три цитогенетических маркера поддерживают обособленное положение *Lasiopodomys* в трибе Arvicolini (слияния ААК10+17, 15+18 и 22+26) и приводят к формированию предкового кариотипа рода *Lasiopodomys*, LAK (Рис. 5). Далее серия разрывов и слияний дает начало предковому кариотипу подрода *Lasiopodomys* (sLAK).

Среди других представителей подтрибы Microtina только для подрода *Alexandromys* (*A. maximowiczii* и *A. oeconomus*) выявлены характерные слияния предковых хромосом. Дальнейшая эволюция кариотипов *Alexandromys* отмечена пятью слияниями и одним разделением для *M. maximowiczii* и девятью слиянием предковых хромосомных элементов для *A. oeconomus*. Никаких перестроек, специфических для *M. rossiaemeridionalis*, *M. guentheri* и *T. daghestanicus*, обнаружено не было. Кариотипы других изученных видов характеризовались небольшим количеством межхромосомных перестроек (Рис. 5).

В целом, эволюция кариотипов Arvicolinae указывает на сохранение некоторых крупных консервативных сегментов и множественные внутрихромосомные перестройки в некоторых консервативных сегментах, включая инверсии и появление ЭНЦ. Отсутствуют специфические межхромосомные перестройки, которые явно поддерживали бы структуру ветвления на молекулярном дереве. Выявлены случаи конвергенции.

Внутрихромосомные перестройки в эволюции кариотипов полеvoчьих

Для проверки оценки вклада внутрихромосомных перестроек в эволюцию кариотипов, была определена степень представленности внутрихромосомных перестроек в эволюционно консервативных синтенных блоках 1, 3 и 7 предкового кариотипа Arvicolinae (ААК). Эти синтении присутствуют как отдельные хромосомы у большинства изученных видов полевок и некоторых других полеvoчьих [Lemskaya *et al.*, 2010; Romanenko *et al.*, 2007a].

Как и в случае межхромосомных перестроек, внутрихромосомные были нанесены на филогенетическое древо. Это позволило установить, что центромерные репозиции преобладают в областях, гомологичных ААК1 и ААК7 (5 центромерных сдвигов против 3-4 пара- или перичентрических инверсий). Однако в области ААК3 более распространены парацентрические инверсии (6 парацентрических инверсий

против одного зарегистрированного центрального сдвига). Структура хромосом современных видов была сформирована за счет одной или двух внутривхромосомных перестроек в хромосомах предка полевоцих. В отличие от межхромосомных перестроек, среди внутривхромосомных оказались перестройки, специфичные для целых родов или триб. Во всех ветвях, кроме *Ellobius*, было больше внутри-, чем межхромосомных перестроек. Можно предположить, что у *Arvicolinae* и, возможно, у других грызунов, млекопитающих или даже позвоночных внутривхромосомные перестройки были ключевыми перестройками в эволюции.

Высокая частота внутривхромосомных перестроек подтверждается и результатами работы по локализации районспецифичных зондов, полученных для некоторых хромосом мыши, на отдельных видах грызунов, когда возникновение ЭНЦ было показано на хромосомах 11 *A. oeconomus*, 10 *D. torquatus* и 13 *E. talpinus*. Это указывает на то, что появление ЭНЦ не редкость у *Arvicolinae*.

Очевидно, что процесс фиксации внутривхромосомных перестроек недооценен и остается незамеченным за крупномасштабными перегруппировками, такими как разрывы, слияния или крупные инверсии, которые были обнаружены и описаны в течение нескольких десятилетий сравнительных исследований с использованием хромосомспецифичных зондов. Другие вопросы, касающиеся перестроек внутри консервативных эволюционных сегментов, например, такие как, случайным ли образом изменения внутри синтенных блоков распределены по всему геному, остаются открытыми.

Предполагаемый предковый кариотип отряда Rodentia и обзор кариотипической эволюции в таксоне

Структура кариотипа предка грызунов (RAK) была предложена ранее [Graphodatsky *et al.*, 2008]. Считалось, что RAK имеет $2n=50$, несет три фрагмента, гомологичных HSA3, и ассоциации HSA3/21, 4/8p, 7/16, 12/22, 14/15, 16/19, характерные для плацентарных [Ferguson-Smith, Trifonov, 2007]. Статус нескольких ассоциаций, например, HSA1q/10p, 3/19 и 9/11, оставался спорным.

Ассоциация HSA3/19 обнаружена у всех хищных, одного вида насекомоядных, а также у всех изученных видов *Sciuridae* и *Anomaluroomorpha*. При этом она отсутствует у сонь рода *Eliomys* (*Gliridae*, *Rodentia*) [Sannier *et al.*, 2011], речного бобра, морской свинки и мышеобразных грызунов, т. е. вопрос о ее присутствии в RAK до сих пор остается открытым. Аналогичная ситуация наблюдается и с ассоциациями HSA1q/10p и 9/11. Изначально они рассматривались как предковые для *Gliridae*, хотя и не были выявлены в кариотипе долгонога, а позже – в кариотипах садовых сонь [Sannier *et al.*, 2011], речного бобра и морской свинки. При этом обе эти ассоциации присутствуют в кариотипе кролика, пищухи, мыши, крысы и всех белкообразных [Романенко *et al.*, 2010; Korstanje *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2006a; Nilsson *et al.*, 2001; Richard *et al.*, 2003; Robinson, Yang, Harrison, 2002; Stanyon *et al.*, 2003]. Такая картина может быть результатом конвергенции признака у отдельных зайцеобразных, беличьих и мышеобразных или отражать утрату предкового признака в определенных ветвях древа.

Вопрос о числе фрагментов, гомологичных HSA3, может быть решен более определенно: совокупность данных по сравнению кариотипов грызунов и зайцеобразных с хромосомами человека, полученных в этой работе и другими коллективами [Korstanje *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2006a; Richard *et al.*, 2003; Robinson, Yang, Harrison, 2002; Stanyon *et al.*, 2003], все же указывает на то, что, вероятнее, что один сегмент входил в состав ассоциации HSA3a/21, а второй сегмент соответствовал остальной части хромосомы HSA3b. Следовательно, диплоидное число хромосом в RAK должно быть сокращено с 50 до 48 хромосом.

В целом интеграция полученных результатов с ранее опубликованными данными позволяет предположить, что предковый кариотип Glires (GAK) состоял из 50 хромосом и содержал следующие синтенные ассоциации хромосом человека: HSA1, 1/10, 2, 2, 3, 3/21, 4, 4/8, 5, 6, 7, 7/16, 8, 9/11, 10, 12a/22a, 12b/22b, 13, 14/15, 16/19, 17, 18, 19, 20 и X. При этом формирование RAK [Graphodatsky *et al.*, 2008] из GAK сопровождалось двумя событиями: инверсией в ассоциации HSA4a/8p (получение HSA8p/4a/8p) и слиянием HSA3b+19p. RAK был размещен у основания дерева, чтобы проследить его реорганизацию во время эволюции грызунов (Рис. 6).

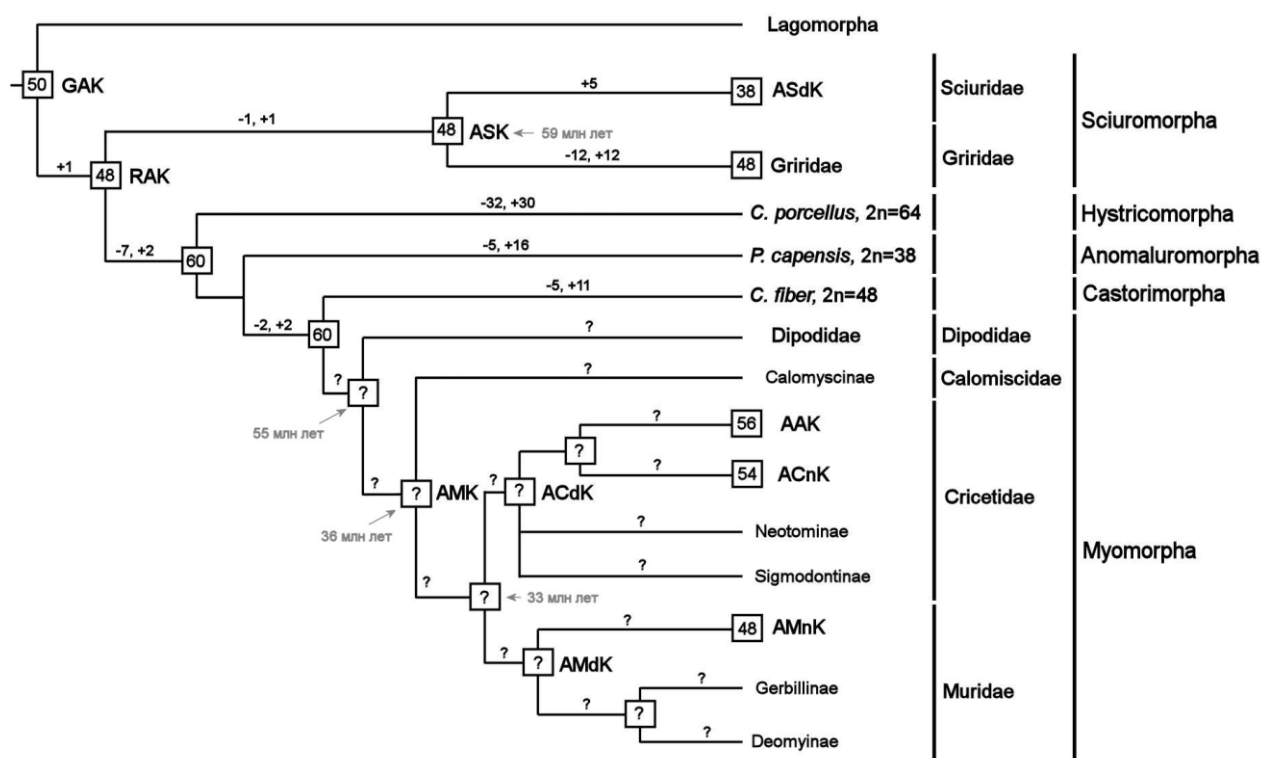


Рис. 6. Кариотипическая эволюция в отряде Rodentia. Датировки для отдельных узлов указаны по данным ресурса TimeTree [TimeTree: the timescale of life]. Значения диплоидных чисел хромосом для отдельных узлов дерева приведены в квадратах. «-» – разрыв, «+» – слияние. На древе отмечено только количество перестроек в каждой ветви относительно хромосом *H. sapiens*. См. текст.

Большинство молекулярных филогений рассматривают Sciuromorpha в качестве базальной клады в пределах Rodentia [Blanga-Kanfi *et al.*, 2009; Churakov *et al.*, 2010; Murphy *et al.*, 2001; Steppan, Adkins, Anderson, 2004]. Разрыв фрагмента

HSA3b и слияние HSA8/4/8+12/22 являются перестройками, отличающими предковый кариотип Sciuromorpha (ASK, $2n=48$) от RAK. К формированию вероятного кариотипа предка семейства Sciuridae (ASdK) с $2n=38$ привело 5 дополнительных слияний: HSA1+8, 2+17, 7+22/12, 10+13, 14/15+20 [Beklemisheva *et al.*, 2011]. Формирование кариотипа сонь рода *Eliomys* из ASK сопровождалось 12 разрывами, 12 слияниями и минимум 1 инверсией [Sannier *et al.*, 2011].

Подотряды Anomaluromorpha, Hystricomorpha, Myomorpha и Castorimorpha образуют единую кладу, основанную на присутствии ассоциации HSA1/7, утрате синтении HSA7/16 и разрывах HSA1, 4, 5, 6, 11 и 15 в кариотипах всех изученных представителей. Отсутствие в базах данных информации по сборкам геномов до уровня хромосом для представителей всех подотрядов, кроме пары видов мышеобразных, не позволяет проверить идентичность точек разрывов в этих сегментах. Также существует вероятность того, что ассоциация HSA10/16 может быть предковой для этой клады. Ассоциация HSA8/19, несмотря на то, что она была обнаружена у *C. fiber* и *P. capensis*, включала различные негомологичные фрагменты HSA8, поэтому не может считаться предковой для группы. Таким образом, можно предположить, что предковый кариотип подотрядов Anomaluromorpha, Hystricomorpha, Myomorpha и Castorimorpha имел $2n=60$ (или $2n=62$, если ассоциация HSA1/10 сходна у Myomorpha и Sciuromorpha) и содержал элементы, гомологичные HSA1, 1/7, 1/10, 2, 2, 3, 3/19, 3/21, 4, 4, 4/8, 5, 5, 6, 6, 7, 8, 9/11, 10/16, 11, 12/22 (две), 13, 14/15, 15, 16/19, 17, 18, 20, X и Y.

Ряд перестроек указывает на близкие эволюционные отношения подотрядов Myomorpha и Castorimorpha: слияния HSA5+17 (отсутствует у *Mus* и *Rattus* по результатам сравнения последовательностей ДНК, но присутствует у *Sicista* по результатам FISH) и HSA11+15, разрыв HSA14/15 [Graphodatsky *et al.*, 2008]. Возможно, что и разрыв HSA12, приведший к образованию трех фрагментов, гомологичных HSA12, в кариотипах бобра и мышовки [Graphodatsky *et al.*, 2008], является характеристикой, объединяющей эти таксоны. Если опираться на данные молекулярных филогений, согласно которым Hystricomorpha находится в базальной позиции по отношению к кладе Anomaluromorpha + Myomorpha + Castorimorpha [Blanga-Kanfi *et al.*, 2009; Churakov *et al.*, 2010; Ferguson-Smith, Trifonov, 2007; Horn *et al.*, 2011], то разрыв HSA12 на три фрагмента следует рассматривать как конвергентное событие, которое имело место независимо у Hystricomorpha, Myomorpha и Castorimorpha.

Морская свинка демонстрирует пример «катастрофической» реорганизации кариотипа: минимум 30 слияний, 32 разрыва и множественные инверсии отличают ее кариотип от кариотипа предка подотрядов Anomaluromorpha, Hystricomorpha, Myomorpha и Castorimorpha. При формировании кариотипа долгонога имели место 5 разрывов и 16 слияний. Формирование кариотипа современного бобра от узла древа, объединяющего Castorimorpha и Myomorpha, сопровождалось меньшим количеством перестроек: оно включало разрывы HSA1/7, 1/10, 3/19, 9/11, 16/19 и 11 слияний.

В пределах *Myomorpha* кариотип только одного вида (*Sicista betulina*) был исследован с использованием хромосомоспецифичных зондов человека [Graphodatsky *et al.*, 2008]. Этот вид относится к *Dipodoidea*, надсемейству, представляющему базальную ветвь внутри *Myomorpha* [Jansa, Weksler, 2004; Steppan, Adkins, Anderson, 2004]. Два других вида (*M. musculus* и *R. norvegicus*) сравнивали с человеком с использованием кардинально отличных подходов, т. е. на основе полных данных секвенирования генома. Поскольку разрешение методов значительно различается, это исключает воссоздание структуры предкового кариотипа для *Myomorpha*, основываясь исключительно на гомологии хромосомам человека. Также не представляется пока возможным установить, есть ли какие-либо общие синтении, поддерживающие выделение подотряда *Myomorpha* на эволюционном древе.

Хотя кариотипы многих видов мышеобразных изучены с помощью набора сортировочных проб мыши, основные затруднения при анализе кариотипической эволюции в подотряде *Myomorpha* возникают по причине использования различных наборов пэйнтинг-проб для изучения разных таксонов. Так, по совокупности всех данных невозможно сейчас определить, есть ли общие перестройки хромосом, характерные для ветви *Deomyinae*+*Gerbillinae*, поскольку для изучения песчанковых не использовались пробы мыши. Невозможность проведения полномасштабного сравнения кариотипов представителей этих подсемейств, а также практически полное отсутствие данных сравнительного реципрокного пэйнтинга, приводит к проблемам при реконструкции предковых кариотипов таксонов уровня семейства и подсемейства.

Предковый кариотип подсемейства *Murinae* (ancestral *Murinae* karyotype, AMnK) был реконструирован ранее [Badenhorst, Dobigny, Robinson, 2012], но в расчет не были взяты данные по *Micromys minutus* [Nakamura *et al.*, 2007], что, по-видимому, и привело к явному искажению результатов и схожести полученного кариотипа с кариотипом предка трибы *Rattini* [Badenhorst *et al.*, 2011]. В соответствие с современными представлениями *M. minutus* также входит в трибу *Rattini* [Aghova *et al.*, 2018; Lecompte *et al.*, 2008]. На основании этого кажется более вероятным, что предковый кариотип трибы имел $2n=56$ и состоял из следующих элементов: MMU1, 1, 2, 2/13, 3, 4, 5, 5, 5/6, 5/11, 7/19, 8, 8, 9, 10, 10/17, 10/17, 11/17/16, 12/17, 13, 13/15, 14, 14, 15, 16, 17/1/17, 18, X. В таком случае формирование кариотипа предка *Rattini* с $2n=46$ (по [Badenhorst *et al.*, 2011]) требовало разрывов предковых элементов MMU5, 17 и 18 и слияний 1+4, 2/13+18, 5+12/17, 5+18, 8+14, 10+17, 10/17+13, 10/17+15. В кариотипе же *M. minutus* произошли разрывы MMU2, 4, 6, 9 (два), 13, 16, разрывы ассоциаций 5/11 и 17/(11/16), слияния 6+13 и 1/17+13+12/17.

Согласно принципам кладистики общий кариотип триб *Arvicanthini*+*Otomyini*+*Millardini*+*Apodemini*+*Murini* был схож с общим кариотипом триб *Apodemini*+*Murini* и имел $2n=48$: MMU1, 2, 2/13, 3, 4, 5, 5/6, 5/11, 7/19, 8, 8, 9, 10, 10/17, 10/17, 11/17/16, 12/17, 13/15, 14, 15, 16, 17/1/17, 18, X. Формирование кариотипа предка рода *Mus* [Veyrunes *et al.*, 2006b] произошло в ходе разрывов ассоциаций 10/17, 11/17/16, 12/17, 17/1/17 и слияний фрагментов MMU10, 16, 17 (три),

формирования ассоциации 1+4. Таким образом, в отличие от Бадерхорст с соавт. [Badenhorst *et al.*, 2011] мы рассматриваем наличие ассоциации MMU1/4, как конвергентный признак, возникший независимо у представителей рода *Mus* и отдельных представителей трибы Rattini. При формировании кариотипа предка трибы Apodimini произошел разрыв ассоциации MMU2/13 и слияние двух фрагментов MMU2. В дальнейшем кариотип рода *Apodemus* [Matsubara *et al.*, 2004] возник в результате разрыва MMU18 и возникновения ассоциации MMU13+18, общий предок рода *Tokudaia* [Murata *et al.*, 2012] – в результате слияния фрагментов MMU17 и разрыва ассоциации MMU17/(11/16).

Кариотип общего предка триб Arvicanthini+Otomyini+Millardini сформировался за счет слияния двух фрагментов MMU17 и разрывов фрагментов MMU1, 9 и ассоциаций MMU5/6 и MMU17/(11/16), имел $2n=54$ и содержал MMU1, 1, 2, 2/13, 3, 4, 5, 5, 5/11, 6, 7/19, 8, 8, 9, 10, 10/17, 10/17, 11/16, 12/17, 13/15, 14, 15, 16, 17/1/17, 18, X. В кариотипе *Millarda meltada* [Nakamura *et al.*, 2007] произошли слияния MMU1, 1+13, 2, 9+(17/1/17/1)+14, 15, разрывы MMU16 (два) и ассоциаций 2/13 и 10/17. Ситуация с общим предком триб Arvicanthini+Otomyini не совсем ясна. Кариотипы двух видов, относимых к этим трибам, несут ассоциацию MMU10/17/19. Из-за отсутствия данных реципрокного пэйнтинга невозможно установить, сформирована ли она одинаковыми предковыми элементами или нет. В любом случае, формирование современных кариотипов представителей этих триб требовало более 20 слияний и разрывов.

Представляется вероятным, что AMnK, как предполагалось [Badenhorst, Dobigny, Robinson, 2012], имел $2n=48$, однако, содержал иные фрагменты и ассоциации хромосом мыши: MMU1, 2, 2/13, 3, 4, 5, 5/6, 5/11, 7/19, 8, 8, 9, 10, 10/17, 10/17, 11/17/16, 12/17, 13/15, 14, 15, 16, 17/1/17, 18, X. Кариотип предка трибы Rattini возник за счет разрывов предковых элементов MMU1, 5, 13 и 14. Реконструировать предковый кариотип всего семейства Muridae (AMdK) не представляется возможным, хотя очень вероятно, что он имел в своем составе ассоциации MMU2/13, 5/11, 11/16 (или 11/17/16), 7/17, 10/17, 12/17, 13/15 и 17/1/17. Анализ всех данных, накопленных по Muridae, поднимает вопрос о точности определения количества элементов, гомологичных MMU17, в кариотипе каждого изученного вида. Вероятно, что ассоциация MMU11/16, обнаруженная у многих мышиных, представляет собой все же ассоциацию MMU11/17/16. Непонятно, идентичны ли ассоциации MMU10/17 в кариотипах разных видов. Для поиска ответов на эти вопросы необходимы или данные реципрокного хромосомного пэйнтинга, или исследования кариотипов видов с помощью более точных инструментов.

Еще более сложна и запутана ситуация с представителями семейства Cricetidae. Хотя результаты реципрокных пэйнтингов между парами мышь/золотистый хомяк и золотистый хомяк/темная полевка ([Romanenko *et al.*, 2006; Sitnikova *et al.*, 2007] и данные настоящего исследования) позволяют выявить отдельные синапоморфии в кариотипах предков Arvicolinae и Cricetinae, невозможность сопоставления с кариотипами представителей внешней группы из-за использования других наборов

проб (в случае Sigmodontinae) или отсутствия данных реципрокного пэйнтинга (в случае Neotominae) практически исключает на данном этапе возможность реконструкции предковых кариотипов выше уровня подсемейства внутри Cricetidae. Можно лишь предположить наличие 12 аутосомных элементов. Вопрос о наличии или отсутствии других ассоциаций, а также о количестве фрагментов, входящих в состав предкового кариотипа, на данном этапе не может быть разрешен.

Внутрихромосомные перестройки в эволюции кариотипов Muroidea

Эволюция консервативных сегментов

Анализ перестроек в синтении MMU3 у муroidных грызунов показал, что предковое состояние сохранилось у *Mus* и *Apodemus*. У крыс, китайского хомячка и длиннохвостого хомячка этот регион остался нетронутым и был слит с разными блоками. Разрыв же этой синтении произошел в линии Arvicolinae до расхождения родов *Microtus*, *Ellobius* и *Dicrostonyx*. Независимое разделение произошло у золотистого хомяка (Cricetinae).

Анализ RNOR4prox показывает, что синтения MMU5q/6 консервативна: эта ассоциация присутствует даже в кариотипе человека (HSA7) [The rat genome browser at UCSC: Baylor 3.4/rn4]. Таким образом, MMU6 представляет собой часть предковой формы хромосомы MMU5qprox/6 грызунов. В течение последних 6,5 млн лет у *M. musculus* произошло разделение MMU5+MMU6 и сформировалась новая центромера на MMU6. Эта гипотеза подтверждается тем фактом, что другие изученные виды *Mus* имеют предковую форму [Veyrunes *et al.*, 2006b]. Основываясь на этих данных, мы предполагаем, что на MAUR9q prox и TTRI1qprox может быть расположен небольшой блок, гомологичный MMU5prox. В этом случае одинаковые точки разрывов (MMU6qB2) на MAUR6q/9q, CGRI1q/8 и TTRI1prox/8dist позволяют предположить, что разрыв предковой хромосомы MMU5q/6 произошел у общего предка Cricetinae. Сходство точек разрыва в AOEC, MROS, DTOR и ETAL (MMU6qC1) позволяет предположить, что разделение произошло у общего предка Arvicolinae. Вероятно, что синтения MMU5q/6 (не найденная до сих пор у большинства видов хомяковых) будет обнаружена на соответствующих хромосомах, гомологичных MMU6qprox, если будет применен качественный зонд MMU5q.

Данные FISH четко указывают на то, что предковый кариотип Muroidea имел два синтенных сегмента MMU18: MMU18qA1 и MMU18qA2-E4. Используя доступные электронные базы данных [UCSC Genome Browser], мы пришли к выводу, что точка разрыва на MMU18qA1 соответствует точкам слияния HSA10/HSA18 и RNOR17/RNOR18 и отображается на MMU18: позиция 9550 тыс. п.н.. Если эта гипотеза подтвердится, то будет поддержано предковое состояние MMU18 в *Mus*, как это было предложено ранее [Veyrunes *et al.*, 2006b]. Тем не менее, необходимы дальнейшие исследования дополнительных видов *Mus*, чтобы установить, имеется ли эта транслокация только у *M. musculus* или она присутствует у других видов.

MMU19 является частью исконного элемента MMU7/19 (синтенная область, гомологичная HSA11p, расположена частично на MMU7q дистально и частично проксимально на MMU19q согласно www.ensembl.org). Ассоциация MMU7/19

рассматривается как предковая сигнатура рода *Mus* [Veyrunes *et al.*, 2006b] и даже как предковая для *Muroidea* [Romanenko *et al.*, 2006]. Разрыв MMU7/19, по-видимому, произошел в течение последних 6,5 млн лет после расхождения *M. musculus* и *Mus platythrix* [Veyrunes *et al.*, 2006b]. Район MMU19 остался консервативным во всех изученных здесь видах.

Эволюционные новые центромеры

Появление ЭНЦ довольно типично для быстро развивающихся кариотипов. Например, многие ЭНЦ были описаны у непарнокопытных, приматов, парнокопытных [Carbone *et al.*, 2006; Rocchi *et al.*, 2012; Trifonov, Musilova, Kulemsina, 2012]. Данные многоцветного бэндинга убедительно свидетельствуют о том, что формирование ЭНЦ происходило на MAUR17 (MMU3qD); на предковой хромосоме полевочьих, гомологичной MMU3qF1-3qter, которая дала начало MROS16, DTOR10, AOEC11, ETAL13; на MMU6qA1; на MAUR6 (MMU6qB3); на CGRI8 (MMU6qF); на ETAL1 (6qB); на MMU18A1; на RNOR17 (MMU18C); на APEN16 (MMU18E4); на MROS18 (MMU18E4) и на MMU19qprox. Однако было бы желательно подтвердить гипотезу о ЭНЦ с помощью BAC-FISH.

Эволюция и происхождение В-хромосом у *Apodemus*

В род *Apodemus* включают 20 видов, среди них 30% несут В-хромосомы [Картавцева, 2002; Vujošević *et al.*, 2007]. Популяционные исследования показывают, что у *A. flavicollis* В-хромосомы оказывают некоторое влияние на фенотип, а присутствие В-хромосом обеспечивает больший эволюционный потенциал для их носителей [Adnađević *et al.*, 2014; Vujošević, 2000; Zima, Piálek, Macholán, 2003].

По данным цитогенетических экспериментов в популяциях *A. peninsulae* из Западной Сибири В-хромосомы произошли преимущественно из аутосом, но в популяциях на Дальнем Востоке они возникли в основном из половых хромосом [Рубцов и др., 2009]. Результаты FISH однозначно указывают на гомологию последовательности В-хромосом *A. flavicollis* прицентромерной области половых хромосом, более низкую гомологию остальной части Y-хромосомы, но сильную гомологию субтеломерным областям двух пар маленьких аутосом.

У *A. flavicollis*, как показало исследование мейоза у самцов, концы X- и Y-хромосом являются псевдоаутосомными районами (PAR), которые участвуют в мейотической рекомбинации [Safronova, Cherepanova, 2007]. Расположение PAR рядом с центромерами у *A. sylvaticus* [Stitou *et al.*, 2000] и *A. flavicollis* [Rovatsos *et al.*, 2008] и тот факт, что двухцепочечные разрывы чаще встречаются в PAR, чем в остальной части генома [Baudat, Imai, De Massy, 2013; Flaquer, Fischer, Wienker, 2009; Raudsepp *et al.*, 2012], делают эту область половых хромосом хорошим кандидатом для формирования В-хромосом. Более того, X-хромосомная область *A. flavicollis*, охватывающая ген *Kdm6*, расположена рядом с псевдоаутосомной областью предка плацентарных [Raudsepp, Chowdhary, 2015], что также указывает на потенциальную функциональную связь между сверхчисленными и половыми хромосомами.

Слабый гибридизационный сигнал на Y-хромосоме ниже прицентромерной области может быть объяснен гетерохроматиновой природой всей Y-хромосомы

[Banaei-Moghaddam *et al.*, 2015; Rovatsos *et al.*, 2008]. То, что в нашем случае В-хромосомоспецифичный зонд не гибридизовался с прицентромерной областью аутосом, указывает на отличие прицентромерной последовательности ДНК В-хромосомы от аутосомной. Согласно результатам G- и DAPI-окрашивания, субтеломерные области на четырех небольших аутосомах, соответствующие В-специфическому сигналу, являются гетерохроматиновыми. Наличие таких аутосомных сигналов может указывать на смешанное происхождение В-хромосом или, что более вероятно, на транслокацию или транспозицию повторяющихся последовательностей из этих аутосомных областей в В-хромосомы.

В мейотических делениях В-хромосомы *A. flavicollis* образуют между собой биваленты, хотя и не осуществляют мейотическую рекомбинацию с остальной частью генома [Banaszek, Jadwiszczak, 2006; Vujosevic, Radosavljevic, Zivkovic, 1989]. Потеря способности к рекомбинации с предковой хромосомой вместе с давлением отбора на В-хромосомы способствует дальнейшему распространению и накоплению мобильных элементов в В-хромосомах [Houben *et al.*, 2014; Martis *et al.*, 2012]. Возможная рекомбинация между В-хромосомами показывает, что, помимо общего происхождения, добавочные хромосомы *A. flavicollis* имеют сходный путь эволюции. Хотя только один цитологический тип В-хромосом был обнаружен у *A. flavicollis*, на молекулярном уровне наблюдаются небольшие структурные различия между В-хромосомами из разных популяций.

Эволюционный путь формирования В-хромосом у видов *Apodemus* включал рекомбинационный отрыв от основного генома и отсутствие селективного давления. В результате протеинкодирующие гены накопили миссенс и нонсенс мутации и стали псевдогенами. У обоих видов происходило накопление повторяющейся ДНК, в основном сателлитов и эндогенных ретрозлементов. Различное накопление центромерных повторов в В-хромосомах с различной морфологией у *A. peninsulae* согласуется с данными цитогенетики [Matsubara *et al.*, 2008; Rubtsov *et al.*, 2004]. Тот факт, что у этого вида меньшие по размеру точечные В-хромосомы не имеют областей, дополнительных к тем, которые присутствуют на более крупных макро-В-хромосомах, делает сценарий деградации и потери последовательностей, как одного из путей эволюции В-хромосом, более правдоподобным [Utsunomia *et al.*, 2016].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отряд Rodentia – самый многочисленный и кариотипически разнообразный таксон в классе млекопитающих. Огромное многообразие представителей и высокие скорости преобразования геномов создают значительные трудности при изучении кариотипов грызунов и реконструкции сценария кариотипической эволюции в отряде. Основные достижения последних десятилетий в быстром и качественном анализе кариотипов широкого набора видов связаны с развитием сравнительной молекулярной цитогенетики.

Впервые выполненная локализация проб человека на хромосомах представителей подотряда Hystricomorpha позволила включить этот подотряд в

общий анализ кариотипических отношений между грызунами. В совокупности с внесением уточнений в сравнительные хромосомные карты бобра и бурундука (подотряды *Castorimorpha* и *Sciuromorpha*) это дало новое понимание структуры предкового кариотипа отряда. Хотя филогенетические деревья, построенные для грызунов на основании сравнения последовательностей ДНК, очень противоречивы, цитогенетические данные поддерживают базальную позицию подотряда *Sciuromorpha* внутри *Rodentia*. Четких цитогенетических маркеров для определения позиций других подотрядов пока не выявлено, что может быть связано с включением единичных представителей подотрядов *Anomaluromorpha*, *Castorimorpha*, *Hystricomorpha* и *Myomorpha* в исследования по сравнительному хромосомному пэйнтингу с использованием хромосомоспецифичных проб человека.

Наиболее сложна и запутана ситуация с анализом данных цитогенетических исследований в подотряде *Myomorpha*. Несмотря на то, что из этого таксона в сравнительные исследования вовлечено рекордное число видов (более половины всех млекопитающих!), даже реконструкция предковых кариотипов уровня подсемейства уже вызывает множество вопросов. Немногочисленность выполненных исследований по реципрокному пэйнтингу и различность наборов пэйнтинг-проб, использованных для анализа, не позволяют дать однозначные ответы на вопросы об общности эволюционного происхождения многих выявленных синтетий, об идентичности или отличии точек разрывов предковых элементов. При этом кариотипические отношения внутри родов разрешаются в большинстве случаев достаточно хорошо, что уже позволяет вносить коррективы в таксономию отдельных видов и родов.

Скорости эволюции хромосомных наборов в отряде неравномерны в отдельных ветвях древа, что может указывать на различные механизмы, лежащие в основе процессов видообразования. Несомненно, что определенные типы хромосомных перестроек вносят вклад в процессы кладогенеза, а формирование различных филогенетических групп сопровождалось множеством событий. Важно то, что у представителей подотряда *Myomorpha*, в отличие от представителей других подотрядов, отмечено формирование необычных комплексов половых хромосом и накопление В-хромосом, что является одним из путей эволюции геномов именно мышеобразных грызунов.

На данном этапе недооценен вклад внутривхромосомных перестроек в формирование кариотипов современных видов грызунов. Даже использование хромосомоспецифичных проб позволяет выявлять множество инверсий внутри консервативных сегментов, анализ же внутривхромосомных перестроек, проведенный с помощью более точных инструментов, показывает, что консервативные блоки подверглись всевозможным типам преобразований в кариотипах различных видов грызунов. По-видимому, именно внутривхромосомные перестройки в консервативных синтетических блоках являются эволюционной основой модуляции генома грызунов. Эти перестройки могут также сопровождать и даже способствовать видообразованию и обеспечивать связь между эволюцией генома и видообразованием.

Очевидно, что будущие исследования должны быть сосредоточены на изучении геномов представителей проблемных и/или неисследованных ранее ветвей Rodentia и, особенно, подотряда Myomorpha. Они должны включать изучение основных филогенетических линий, таких как базальные мышинные и тушканчики, и быть направлены на усовершенствование методологии или более широкое применение методов, подобных многоцветному бэндингу, картированию с использованием ВАС, сборке геномов до уровня хромосом, которые позволили бы обнаруживать перестройки меньшего размера. Важно отметить, что более широкое применение реципрокного пэйнтинга также способствовало бы однозначному определению гомологичных фрагментов и, тем самым, более точной реконструкции структур предковых кариотипов таксонов. Наконец, в свете появления новых задач в области сравнительных исследований, направленных на сборку геномов до уровня хромосом, несомненно, что выбор объектов будет частично определяться подробными кариотипическими описаниями, полученными в результате молекулярно-цитогенетических исследований.

ВЫВОДЫ

1. Цитогенетические данные поддерживают базальную позицию белкообразных (Sciuromorpha) в пределах Rodentia. Предковый кариотип Sciuromorpha ($2n=48$) сформировался из предкового кариотипа грызунов ($2n=48$) за счет одного разрыва и одного слияния предковых элементов. Внутри подсемейства кариотипы беличьих (семейство Sciuridae) демонстрируют значительное сохранение консервативной организации хромосомных наборов, тогда как кариотипы сонь (семейство Gliridae) – существенную перестроенность за счет фиксации множества межхромосомных перестроек.
2. Объединение в единую кладу подотрядов Anomaluromorpha, Hystricomorpha, Myomorpha и Castorimorpha поддерживается на цитогенетическом уровне двумя слияниями и семью разрывами предковых элементов. При этом данные сравнительного хромосомного пэйнтинга обнаруживают по крайней мере три цитогенетических маркера, указывающих на возможные близкие эволюционные отношения подотрядов Myomorpha и Castorimorpha.
3. По сравнению с представителями других подотрядов грызунов и млекопитающих в целом кариотипы мышеобразных (подотряд Myomorpha) характеризуются высочайшим уровнем перестроенности относительно кариотипа предка. На данном этапе практически невозможно провести реконструкцию предковых кариотипов подотряда Myomorpha, а также таксонов уровня подсемейства или семейства внутри него.
4. На цитогенетическом уровне разрешаются отношения между отдельными родами и многими видами внутри подсемейства Cricetinae. Так, множественные хромосомные маркеры показывают базальную позицию рода *Phodopus* внутри Cricetinae и сближение рода *Mesocricetus* с кладой, объединяющей *T. triton* и роды *Allocricetulus*, *Cricetulus* и *Cricetus*. При этом данные сравнительных

цитогенетических исследований не дают основания для выделения многих ветвей внутри группы, объединяющей роды *Allocricetulus*, *Cricetulus* и *Cricetus*, полученному по данным молекулярных исследований.

5. Сравнение хромосом полеvoчьих (подсемейство Arvicolinae) не выявляет специфических перестроек, которые явно поддерживали бы структуру ветвления на молекулярном дереве. Тем не менее, определены хромосомные ассоциации, которые указывают на отдельную позицию рода *Lasiopodomys* внутри Arvicolinae и обеспечивают цитогенетические доказательства для таксономического разделения подродов. Эволюция кариотипов полеvoчьих сопровождалась сохранением некоторых крупных консервативных сегментов и множественными внутривхромосомными перестройками в отдельных консервативных сегментах. Робертсоновские транслокации являются наиболее распространенным типом межхромосомных перестроек, зафиксированных в эволюции полеvoчьих.
6. Фиксация меж- и внутривхромосомных перестроек в кариотипах современных грызунов происходила неравномерно. Единственного преобладающего типа внутривхромосомных перестроек нет, а возникновение эволюционно новых центромер – частое эволюционное событие. По-видимому, именно внутривхромосомные перестройки в консервативных синтенных блоках являются эволюционной основой модуляции генома грызунов. В целом для эволюции грызунов характерно присутствие множества конвергентных событий.
7. Возникновение сложных систем половых хромосом в кариотипах копытного лемминга *Dicrostonyx torquatus* и китайских полевок *Lasiopodomys mandarinus* произошло в результате по меньшей мере двух независимых транслокаций аутосом на половые хромосомы, при этом в кариотипах китайских полевок это событие сопровождалось значительным накоплением гетерохроматина в нео-половых хромосомах. Различные виды слепушонок (*E. alaicus*, *E. talpinus*, *E. tancrei*) обладают изоморфными половыми хромосомами (XX у обоих полов), цитогенетически неотличимыми у самцов и самок.
8. Процесс формирования В-хромосом был независимым у *A. peninsulae* и *A. flavicollis*. В-хромосомы *A. flavicollis* произошли из перицентромерной области половых хромосом и/или имеют схожее эволюционное происхождение, для них характерно обогащение генами, связанными с регуляцией клеточного цикла. У обоих видов мышей рода *Apodemus* в В-хромосомах происходит накопление повторяющейся ДНК.

СПИСОК РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Trifonov V.A., Kosyakova N., **Romanenko S.A.**, Stanyon R., Graphodatsky A.S., Liehr T. New insights into the karyotypic evolution in muroid rodents revealed by multicolor banding applying murine probes. // Chromosome Res. 2010. V. 18. P. 265–275.
2. Lemskaya N.A., **Romanenko S.A.**, Golenishchev F.N., Rubtsova N.V., Sablina O.V., Serdukova N.A., O'Brien P.C.M., Fu B., Yiğit N., Ferguson-Smith M.A., Yang F., Graphodatsky A.S. Chromosomal evolution of Arvicolinae (Cricetidae, Rodentia). III.

- Karyotype relationships of ten *Microtus* species // Chromosome Res. 2010. V. 18. P. 459–471.
3. **Романенко С.А.**, Лемская Н.А., Беклемишева В.Р., Перельман П.Л., Сердюкова Н.А., Графодатский А.С. Сравнительная цитогенетика грызунов. // Генетика. 2010. Т. 46, № 9. С. 1285–1289.
 4. Баклушинская И.Ю., **Романенко С.А.**, Графодатский А.С., Матвеевский С.Н., Ляпунова Е.А., Коломиец О.Л. Роль хромосомных перестроек в эволюции слепушонок рода *Ellobius* (Rodentia, Mammalia). // Генетика. 2010, Т. 46, № 9. С. 1290–1293.
 5. Beklemisheva V.R., **Romanenko S.A.**, Biltueva L.S., Trifonov V.A., Vorobieva N.V., Serdukova N.A., Rubtsova N.V., Brandler O.V., O'Brien P.C., Yang F., Stanyon R., Ferguson-Smith M.A., Graphodatsky A.S. Reconstruction of karyotype evolution in core Glires. I. The genome homology revealed by comparative chromosome painting // Chromosome Res. 2011. V. 19. P. 549–565.
 6. **Romanenko S.A.**, Perelman P.L., Trifonov V.A., Graphodatsky A.S. Chromosomal evolution in Rodentia // Heredity. 2012. V. 108(1). P. 4–16.
 7. Bakloushinskaya I.Yu., Matveevsky S.N., **Romanenko S.A.**, Serdukova N.A., Kolomiets O.L., Spangenberg V.E., Lyapunova E.A., Graphodatsky A.S. A comparative analysis of the mole voles sibling species *Ellobius tancrei* and *E. talpinus* (Cricetidae, Rodentia) through chromosome painting and examination of synaptonemal complex structures in hybrids // Cytogen. Genome Res. 2012. V. 136. № 3. P. 199–207.
 8. **Romanenko S.A.**, Volobouev V.T. Non-sciuriform rodent karyotypes in evolution. Cytogen. Genome Res. 2012. V. 137. № 2–4. P. 233–245.
 9. **Romanenko S.A.**, Lebedev V.S., Serdukova N.A., Feoktistova N.Yu., Surov A.V., Graphodatsky A.S. Comparative cytogenetics of hamsters of the genus *Allocricetulus* Argyropulo 1932 (Cricetidae, Rodentia) // Cytogen. Genome Res. 2013. V. 139. P. 258–266.
 10. Kosyakova N., Hamid A.B., Chaveerach A., Pinthong K., Siripiyasing P., Supiwong W., **Romanenko S.**, Trifonov V., Fan X. Generation of multicolor banding probes for chromosomes of different species // Mol. Cytogenet. 2013. V. 6. № 1. P. 6.
 11. Булатова Н.Ш., Павлова С.В., **Романенко С.А.**, Сердюкова Н.А., Голенищев Ф.Н., Малыгин В.М., Лавренченко Л.А. Молекулярно-цитогенетические маркеры криптических видов и гибридов надвидового комплекса обыкновенных полевых *Microtus arvalis* s. l // Цитология. 2013. Т. 55. № 4. С. 60–62.
 12. Картавцева И.В., Шереметьева И.Н., **Романенко С.А.**, Гладких О.Л., Рябкова А.В. Изменчивость хромосом полевки Максимовича *Microtus maximowiczii* (Rodentia, Cricetidae, Microtus) // Цитология. 2013. Т. 55. № 4. С. 53–55.
 13. Kosyakova N., Trifonov V., **Romanenko S.**, Mkrtchyan H., Graphodatsky A., Liehr T. Murinae multicolor banding // Цитология. 2013. V. 55. № 4. P. 259–260.
 14. Bakloushinskaya I.Yu., **Romanenko S.A.**, Serdukova N.A., Graphodatsky A.S., Lyapunova E.A. A new form of the mole vole *Ellobius tancrei* Blasius, 1884 (Mammalia,

- Rodentia) with the lowest chromosome number // *Comp. Cytogen.* 2013. V. 7. № 2. P. 163–169.
15. **Romanenko S.A.**, Perelman P.L., Trifonov V.A., Serdyukova N.A., Li T., Fu B., O'Brien P.C.M., Ng B.L., Nie W., Liehr T., Stanyon R., Graphodatsky A.S., Yang F. A first generation comparative chromosome map between guinea pig (*Cavia porcellus*) and humans // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 5. P. e0127937.
 16. **Romanenko S.A.**, Lemskaya N.A., Trifonov V.A., Serdyukova N.A., O'Brien P.C.M., Bulatova N.Sh., Golenishchev F.N., Ferguson-Smith M.A., Yang F., Graphodatsky A.S. Genome-wide comparative chromosome maps of *Arvicola amphibius*, *Dicrostonyx torquatus*, and *Myodes rutilus* // *Chromosome Res.* 2016. V. 24. № 2. P. 145–159.
 17. Gladkikh O.L., **Romanenko S.A.**, Lemskaya N.A., Serdyukova N.A., O'Brien P.C.M., Kovalskaya J.M., Smorkatcheva A.V., Golenishchev F.N., Perelman P.L., Trifonov V.A., Ferguson-Smith M.A., Yang F., Graphodatsky A.S. Rapid karyotype evolution in *Lasiopodomys* involved at least two autosome – sex chromosome translocations // *PLoS One*. 2016. V. 11. № 12. P. e0167653.
 18. Rajičić M., **Romanenko S.A.**, Karamysheva T.V., Blagojević J., Adnađević T., Budinski I., Bogdanov A.S., Trifonov V.A., Rubtsov N.B., Vujoslević M.. The origin of B chromosomes in yellow-necked mice (*Apodemus flavicollis*) – Break rules but keep playing the game // *PLoS One*. 2017. V. 12. № 3. P. e0172704.
 19. Poplavskaya N., **Romanenko S.**, Serdyukova N., Trifonov V., Yang F., Nie W., Wang J., Bannikova A., Surov A., Lebedev V. Karyotype evolution and phylogenetic relationships of *Cricetulus sokolovi* Orlov et Malygin 1988 (Cricetidae, Rodentia) inferred from chromosomal painting and molecular data // *Cytogen. Genome Res.* 2017. V. 152. № 2. P. 65–72.
 20. **Romanenko S.A.**, Serdyukova N.A., Perelman P.L., Pavlova S.V., Bulatova N.S., Golenishchev F.N., Stanyon R., Graphodatsky A.S. Intrachromosomal rearrangements in rodents from the perspective of comparative region-specific painting // *Genes*. 2017. V. 8. P. 215.
 21. Makunin A.I., Rajičić M., Karamysheva T.V., **Romanenko S.A.**, Druzhkova A.S., Blagojević J., Vujošević M., Rubtsov N.B., Graphodatsky A.S., Trifonov V.A. Low-pass single-chromosome sequencing of human small supernumerary marker chromosomes (sSMCs) and *Apodemus* B chromosomes // *Chromosoma*. 2018. V. 127. № 3. P. 301–311.
 22. **Romanenko S.A.**, Serdyukova N.A., Perelman P.L., Trifonov V.A., Golenishchev F.N., Bulatova N.Sh., Stanyon R., Graphodatsky A.S. Multiple intrasyntenic rearrangements and rapid speciation in voles // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. P. 14980.
 23. Bakloushinskaya I., Lyapunova E., Saidov A.S., **Romanenko S.A.**, O'Brien P.C.M., Serdyukova N.A., Ferguson-Smith M.A., Matveevsky S.N., Bogdanov A.S. Rapid chromosomal evolution in enigmatic mammal with XX in both sexes, the Alay mole vole *Ellobius alaicus* Vorontsov et al., 1969 (Mammalia, Rodentia) // *Comp. Cytogen.* 2019. V. 13. № 2. P. 147–177.