

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования

«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ЗООЛОГИИ И ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ

Направление подготовки 06.04.01 Биология

Магистерская программа «Биоресурсы и биоразнообразие»

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА МАГИСТРА

Шайхутдинова Нурислама Маратовича

**ПОПУЛЯЦИОННАЯ ГЕНОМИКА СПЯЩЕЙ ХИРОНОМИДЫ  
(POLYPEDILUM VANDERPLANKI)**

**Работа завершена:**

«30» мая 2019 г.  (Н.М. Шайхутдинов)

**Работа допущена к защите:**

Научные руководители:

профессор Сколковского института науки и технологии, доктор биологических наук

«3» июня 2019 г.  (Г.А. Базыкин)

зав. OpenLab “Экстремальная биология”, кандидат биологических наук

«3» июня 2019 г.  (О.А. Гусев)

Заведующий кафедрой:

кандидат биологических наук, доцент

«03» авг 2019 г.  (Р. М. Сабилов)

Казань – 2019

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	6
1. Ангидробиоз, как пример адаптаций организма к экстремальным условиям...6	
1.1 Биология спящей хирономид.....8	
1.2 Молекулярные механизмы развития ангидробиоза у спящей хирономиды..12	
1.3 Особенности генома <i>P. vanderplanki</i> .....20	
2. Популяционная геномика, как новое перспективное поле эволюционной биологии.....25	
2.1 Эра популяционной геномики.....26	
2.2 Pool-seq в популяционной геномике.....28	
2.3 Pool-seq в популяционной геномике.....30	
3. Генные дупликации и их значение в адаптации к разным условиям обитания организмов .....	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....35	
1. Материалы.....35	
1.1 Образцы .....	35
1.2 Набор данных .....	36
2. Методы .....	37
2.1 Процесс получения геномных данных.....37	
2.2 Анализ NGS данных .....	38
2.2.1 Обработка сырых данных .....	39
2.2.2 Картирования обработанных данных .....	39
2.2.3 Определение вариантов.....40	
2.3 Методы популяционной геномики и филогенетики .....	40
2.3.1 Филогенетический анализ.....40	
2.3.2 Определение внутри- и межпопуляционного разнообразия ( $\pi$ ) .....	41
2.3.3 Выявление популяционной структуры популяций .....	41
2.3.4 Микроэволюционный анализ .....	41
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....	42
1. Анализ NGS данных.....42	
2. Популяционно генетический анализ нигерийских и малавийских популяций .....	47
3. Микроэволюционный анализ генов, связанных с ангидробиозом .....	60
ВЫВОДЫ.....66	
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	67

Ключевые слова: *Polypedilum vanderplanki*, *Polypedilum pembai*, популяция, ангидробиоз, ARId, NGS, нуклеотидное разнообразие, популяционная дивергенция, популяционная структура, очищающий отбор, selective sweep.

Экстремофилы - экологическая группа организмов, которая активно исследуется различными исследовательскими группами по всему миру. Изучение экстремофилов методами популяционной геномики и эволюционного анализа позволяет нам лучше понять эволюционную адаптацию к экстремальным условиям окружающей среды.

Личинки спящей хирономиды (*Polypedilum vanderplanki*) из Нигерии являются уникальным примером выживания в дегидратированном состоянии (ангидробиоз) и возвращения к активному метаболизму после регидратации. На данный момент комар является самым сложно-организованным и самым большим ангидробиотическим организмом среди животного мира. В сравнительном геномном анализе *Polypedilum vanderplanki* и родственного вида *P. nubifer* чувствительного к высыханию было обнаружено, что в геноме *P. vanderplanki* имеются кластеры, образуемые паралогами, кодирующие специфичные для высушивания белки. Эти кластеры генов участвуют в дезактивации окислительного стресса, репарации белков, а также действуют, как молекулярные щиты от активных форм кислорода. Недавно был обнаружен еще один ангидробиотический вид комара-звонца (*P. pembai*) из Малави, который демонстрирует такую же способность к выживанию в высушенном состоянии, что и нигерийский комар, однако имеющий отличающийся экотоп.

Анализ генетической структуры *P. vanderplanki* показал сильную генетическую дивергенцию между различными популяциями спящей хирономиды, что связано с низким потоком генов ввиду географической подразделенности популяций. Наблюдаемая высокая генетическая дивергенция в популяциях нигерийских комаров и между *P. vanderplanki* и *P. pembai* может быть связана с высокой частотой мутаций из-за обширного повреждения ДНК, вызванного активными формами кислорода, которые в больших количествах образуются в процессе высыхания.

Анализ соотношений частот несинонимичных и синонимичных полиморфизмов ( $\pi N/\pi S$ ) в генах связанных с ангидробиозом в анализируемых нигерийских популяциях показал, что большинство ангидробиотических генов находятся под сильным очищающим отбором. При сравнении соотношений несинонимичных и синонимичных замен ( $dN/dS$ ) нигерийских и малавийских ортологов, участвующих в высыхании, специфичные для ангидробиоза паралоги показали ослабление отрицательного отбора, что можно объяснить либо продолжающимся отбором, либо сбалансированным отбором.

Выпускная квалификационная работа изложена на 75 страницах, состоит из введения, 3 глав, основных выводов, списка литературы (126 источников литературы), содержит 21 рисунок и 14 таблиц.

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Личинки спящей хирономиды (*Polypedilum vanderplanki*) из Нигерии являются уникальным примером выживания в высушенном состоянии и возвращения к активной жизни после регидратации. На данный момент личинка спящей хирономиды является самым сложно организованным и самым крупным ангидробиотическим организмом среди всех известных организмов.

При сравнительном геномном анализе устойчивых к высыханию спящей хирономиды (*Polypedilum vanderplanki*) и близкого вида, чувствительного к высыханию (*P. nubifer*) было обнаружено, что геном *P. vanderplanki* содержит несколько паралогов, кодирующих специфичные для высушивания мРНК, которые организованы в кластеры с короткими межгенными участками. Гены, которые образуют эти кластеры участвуют в дезактивации окислительного стресса, репарации белков и действуют как молекулярный щит от активных форм кислорода (АФК) во время высыхания личинки. Изучение ангидробиотического комара, который также относится к экологической группе экстремофилов, методами популяционной геномики и эволюционного анализа позволяет нам лучше понять эволюционную адаптацию экстремофилов к экстремальным условиям окружающей среды.

**Цели и задачи исследования.** Целью нашей работы является проведение популяционно-генетического анализа полногеномных данных нескольких географических популяций ангидробиотического комара из Нигерии и провести эволюционный анализ генов комара, непосредственно участвующих в развитии ангидробиоза, а также провести популяционный анализ другого ангидробиотического комара из Малави и провести сравнительный популяционно-генетический анализ между двумя предположительно видами комаров.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1) Измерение генетического разнообразия северных и южных популяций *P. vanderplanki* и оценка популяционной структуры анализируемых популяций.

2) Измерение генетического разнообразия популяций малавийского комара *P. pembai*.

3) Определение наличия отбора и модальности ангидробиотических генов в геноме *P. vanderplanki* и в геноме *P. pembai*.

4) Определение зон селективного преимущества, связанного с ангидробиозом.

## ВЫВОДЫ

1. Популяции спящих хирономид (*P. vanderplanki*) структурированы, то есть северный и южный кластеры популяций нигерийского комара дифференцированы.
2. Полногеномное сканирование всего генома нигерийских популяций *P. vanderplanki* подтвердило наличие большой парацентрической инверсии, которая имеет пониженный уровень популяционной дивергенции, но имеет повышенный уровень нуклеотидной изменчивости.
3. Гены, связанные с ангидробиозом и гены, имеющие высокую экспрессию находятся под очищающим отбором.
4. *P. pembai* и *P. vanderplanki* по данным популяционно-генетического анализа являются разными видами, с разным количеством паралогов, связанных с ангидробиозом.
5. Было обнаружено наличие участка в геноме с селективным преимуществом связанный с ангидробиозом в районе PrPIMT4 в ARId *P. pembai*.