

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ

**Васильев Артем Викторович**  
**Выпускная квалификационная работа**

“Эволюционные особенности структуры гена  
*Nxf1* (nuclear export factor) у животных“

Научный руководитель:  
к.б.н., доцент, кафедра генетики и биотехнологии,  
Голубкова Елена Валерьевна

Рецензент:  
заведующая лабораторией, ведущий научный сотрудник,  
лаборатория эволюционной геномики и палеогеномики, ЗИН,  
к.б.н., с.н.с.,  
Абрамсон Наталья Иосифовна

Санкт-Петербург  
2025

## Оглавление

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>Введение .....</b>                         | <b>3</b>  |
| 1.1      | Цель работы.....                              | 4         |
| 1.2      | Задачи .....                                  | 4         |
| <b>2</b> | <b>Обзор литературы .....</b>                 | <b>5</b>  |
| 2.1      | Механизмы усложнения организации генома ..... | 5         |
| 2.2      | Значимость интронов .....                     | 5         |
| 2.3      | Семейство генов <i>Nxf</i> .....              | 6         |
| 2.4      | Структура и функции Nxf1 (гена и белка) ..... | 7         |
| <b>3</b> | <b>Материалы и методы .....</b>               | <b>9</b>  |
| <b>4</b> | <b>Результаты .....</b>                       | <b>11</b> |
| 4.1      | Анализ всех найденных видов .....             | 11        |
| 4.2      | Подробный анализ Actinopterygii .....         | 12        |
| <b>5</b> | <b>Обсуждение .....</b>                       | <b>19</b> |
| 5.1      | Анализ всех найденных видов .....             | 19        |
| 5.2      | Подробный анализ Actinopterygii .....         | 20        |
| <b>6</b> | <b>Выводы .....</b>                           | <b>21</b> |
| <b>7</b> | <b>Приложение .....</b>                       | <b>22</b> |
| <b>8</b> | <b>Список литературы .....</b>                | <b>29</b> |
| <b>9</b> | <b>Благодарности .....</b>                    | <b>33</b> |

## Введение

Для большинства генов высших эукариот характерна мозаичная структура, в составе которой выделяют кодирующие участки — экзоны и некодирующие — интроны. В процессе созревания транскрипта интроны, как правило, вырезаются сплайсингом, и из ядра выходят мРНК, лишённые интронных последовательностей. Однако альтернативный сплайсинг позволяет получать несколько различных зрелых мРНК из одной пре-мРНК, что значительно расширяет протеом без увеличения числа генов.

Особый интерес представляют транскрипты, сохраняющие интрон (intron retention, IR): в таких первичных транскриптах интрон, обычно несущий преждевременный стоп-кодон, остается невырезанным, образуя устойчивую вторичную структуру, которая препятствует распознаванию факторами нонсенс-опосредованного распада (nonsense mediated mRNA decay, NMD) и впоследствии обеспечивает синтез укороченного, но функционально значимого белка [1].

Однако, несмотря на наличие специфического механизма, среди различных групп, эволюционно далеких друг от друга, описаны случаи существования транскриптов с сохранённым интроном. Отдельно можно выделить модельный объект *Drosophila melanogaster* и человека, для которых известно семейство генов *Nxf* (nuclear export factor), в котором нас заинтересовал ген *Nxf1*. Данный ген кодирует белок, являющийся основным транспортером мРНК из ядра в цитоплазму.

У гена *Nxf1* (nuclear export factor 1), кодирующего основной транспортер мРНК из ядра в цитоплазму, существует так называемая “консервативная кассета”, которая включает два коротких экзона (110 и 37 нуклеотидов в каноническом варианте) и “кассетный” интрон между ними. Названия сформулированы нашей научной группой. Эта структура сохраняется также и у представителей других филогенетических групп: благодаря образованию специфической вторичной структуры или наличию в последовательности интрона специфических последовательностей, например конститутивного транспортного элемента (constitutive transport element, CTE), транскрипт, содержащий преждевременный стоп-кодон, избегает NMD и кодирует укороченную форму белка.

Анализ подобных транскриптов показал, что консервативные элементы “кассеты” *Nxf1* специфичны для разных клад организмов, а интрон-содержащие транскрипты формируют уникальные вторичные структуры, что подчеркивает эволюционную и функциональную значимость интронов.

Научная новизна работы заключается в сравнительном анализе структуры гена *Nxf1* у представителей различных филогенетических групп, данных по которым ранее не было, с целью выявления закономерностей эволюции нуклеотидной и белковой последовательности гена *Nxf1*. В бакалаврской работе было показано, что “консервативная кассета” сохраняет свойства внутри артропод, особенно внутри семейства *Drosophilidae*, однако вопрос о степени консервативности и специфике структурных элементов у более широкого круга организмов остается открытым. Помимо сравни-

тельного анализа последовательностей, важной частью исследования является построение вторичных структур интрон-содержащих транскриптов и выявление консервативных мотивов внутри интрона, способствующих его сохранению и избеганию нонсенс-опосредованного распада.

### **Цель работы**

Изучить структуру гена *Nxf1* у представителей разных филогенетических групп животных для выявления эволюционных закономерностей и особенностей “кассетной” структуры, а также проанализировать вторичные структуры интрон-содержащих транскриптов.

### **Задачи**

1. Найти нуклеотидные и аминокислотные последовательности гена *Nxf1* у различных групп животных.
2. Произвести поиск “консервативной кассеты” в нуклеотидной последовательности гена у найденных организмов.
3. Выполнить анализ структуры, сравнить полученные последовательности между собой.
4. Выявить и охарактеризовать консервативные участки “кассетного” интрона и прилегающих экзонов у видов из исследуемых таксонов.
5. Провести анализ вторичной структуры интрон-содержащих транскриптов и оценить консервативные мотивы внутри интрона, потенциально способствующие его сохранению.

## Обзор литературы

### Механизмы усложнения организации генома

Увеличение разнообразия транскриптома и протеома у эукариот во многом достигается не только за счет классического эксцизионного сплайсинга, но и за счет ряда альтернативных механизмов обработки пре-мРНК. В частности, альтернативный сплайсинг позволяет из одного транскрипта формировать несколько зрелых мРНК, отличающихся включением или исключением отдельных экзонов и участков [1, 2].

Одним из ключевых вариантов такого процесса является удержание интронов (intron retention, IR), когда интрон не удаляется и остается в составе зрелой мРНК. Часто подобное сохранение интрона приводит к появлению в получившемся транскрипте преждевременных стоп-кодонов (premature termination codons, PTC), что запускает нонсенс-опосредованный распад (nonsense mediated mRNA decay, NMD). Тем не менее в ряде случаев, последовательность интрона может включать специфические, функционально-значимые последовательности, такие как, например, конститутивный транспортный элемент (constitutive transport element, CTE). Также интроны могут оказывать влияние на формирование устойчивой вторичной структуры, препятствующей связыванию факторов NMD, что позволяет транскриптам не подвергаться деградации. Примечательно, что избегающие распада транскрипты способны даже участвовать в дальнейшем синтезе белка [3–5].

Кроме IR, альтернативный сплайсинг включает пропуск экзонов, использование альтернативных сайтов на 5'- и 3'-концах и кассетное включение/исключение блоков экзонов. В совокупности эти механизмы значительно расширяют репертуар возможных транскриптов без необходимости увеличения числа генов. Например, у многих многоклеточных организмов до 95% генов подвергаются хотя бы одному типу альтернативного сплайсинга [1]. Для разных организмов продемонстрирована консервативность наличия транскрипта с сохраненным интроном, что подчеркивает эволюционную значимость интронов [3].

Таким образом, именно через комбинирование альтернативных способов сплайсинга, особенно удержания интронов, эукариоты получают мощный инструмент транскрипционной и белковой вариативности, что способствует адаптации и усложнению биологических процессов.

### Значимость интронов

Традиционно интроны воспринимались лишь как “ненужные” вставки, но современные исследования убедительно показывают, что их функции выходят далеко за рамки простой “пустоты”. Во-первых, наличие интронных последовательностей может значительно усиливать уровень экспрессии генов. Эксперименты на клеточных системах SV40, дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* и млекопитающих демонстрируют, что удаление ключевых интронов приводит к резкому снижению эффективности транскрипции и трансляции [2, 6].

Во-вторых, интроны влияют на чувствительность мРНК к нонсенс-опосредованному распаду. Если интрон попадает в 5'- или 3'-UTR, его присутствие может менять архитектуру сплайсосомного комплекса, корректируя доступность РТС и, соответственно, баланс между сохранением транскрипта и его деградацией через NMD [4, 5].

Третья важная роль интронов заключается в транспорте мРНК из ядра в цитоплазму. Долгое время считалось, что только полностью сплайсированные транскрипты эффективно экспортируются, однако при помощи FISH было показано, что РНК с сохраненными интронами также могут накапливаться в цитоплазме и функционировать там [4, 7, 8]. Это потребовало пересмотра классических представлений об экспорте мРНК.

Кроме регуляции экспрессии и транспорта, интроны участвуют в организации хроматиновой структуры. Концевые последовательности интронов образуют участки с пониженной плотностью нуклеосом, что способствует более четкому разделению экзонов и облегчает процесс транскрипции [9].

Наконец, интроны могут выполнять таксон- и тканеспецифические функции. Так, первый интрон гена *oskar* у *Drosophila* участвует в локализации мРНК в ооците, а длинные интронные вставки могут снижать интерференцию Хилла–Робертсона, улучшая кроссинговер в определенных регионах генома [10]. Результаты GWAS показывают, что однонуклеотидные варианты (single nucleotide variants, SNV) в интронных областях часто связаны с предрасположенностью к различным метаболическим и иммунным заболеваниям человека [11].

Таким образом, интроны выполняют сложные регуляторные функции — от контроля уровня экспрессии до обеспечения оптимальной архитектуры хроматина и тканеспецифической регуляции транскриптов.

### **Семейство генов *Nxf***

Гены *Nxf* (nuclear export factor) названы по функции их наиболее известного представителя — *Nxf1*, который обеспечивает экспорт большинства мРНК из ядра в цитоплазму. Распространение этих генов наблюдается у всех эукариот группы Opisthokonta, однако их число и структурные особенности заметно различаются между таксонами. У грибов обычно присутствует единственная копия *Nxf*, тогда как в геномах растений и некоторых протистов такие гены могут отсутствовать полностью. У животных же часто встречается от двух до пяти паралогов, что свидетельствует об активных дупликационных процессах в эволюции этого семейства [3].

Важнейшим элементом всех генов *Nxf* является “кассетный” интрон, расположенный между двумя небольшими экзонами (110 и 37 нуклеотидов в каноническом варианте). При альтернативном сплайсинге этот интрон может сохраняться в зрелой мРНК, неся внутри себя преждевременный стоп-кодон, возникающий за счет особенностей размеров упомянутых ранее экзонов. Сохранению интрона может спо-

способствовать наличие определенных транспортных последовательностей, как у млекопитающих, или формирование устойчивой вторичной структуры. В итоге такие транскрипты избегают NMD и могут кодировать укороченные, но функционально активные белки [3, 12].

По основным характеристикам гена *Nxf1* семейство можно разделить на 3 группы:

- **Позвоночные.** У гена *Nxf1* интрон располагается между 10-м и 11-м экзонами. Вставка содержит несколько консервативных мотивов, включая фрагмент, похожий на СТЕ, необходимый для экспорта частично сплайсированных РНК.
- **Дрозофилиды.** У представителей данного семейства кассетный интрон локализуется между 5-м и 6-м экзонами. В нем отсутствуют длинные гомологичные вставки, но присутствуют два тракта, обогащенные аденином (А) и формирующие прочную вторичную структуру, которая предположительно защищает транскрипт от деградации в ядре [3].
- **Нематоды.** У нематод интрон тоже располагается между 5-м и 6-м экзонами, но он гораздо короче и богат тиминном (Т). Консервативные гомологи в таком интроне практически отсутствуют.

Эти различия отражают долгую эволюцию семейства *Nxf*: от сравнительно простой короткой вставки у нематод до сложных СТЕ-подобных мотивов у позвоночных, подчеркивая ключевую роль кассетного интрона в посттранскрипционной регуляции [3, 12].

### Структура и функции Nxf1 (гена и белка)

Первоначально ген *Nxf1* (известный как ТАР у человека) был охарактеризован как кофактор белка Tip герпеса saimiri, отвечающий за экспорт несплайсированных и частично сплайсированных ретровирусных мРНК путем распознавания СТЕ-структуры в их последовательностях [13]. У дрозофил этот ген также называют *sbr*.

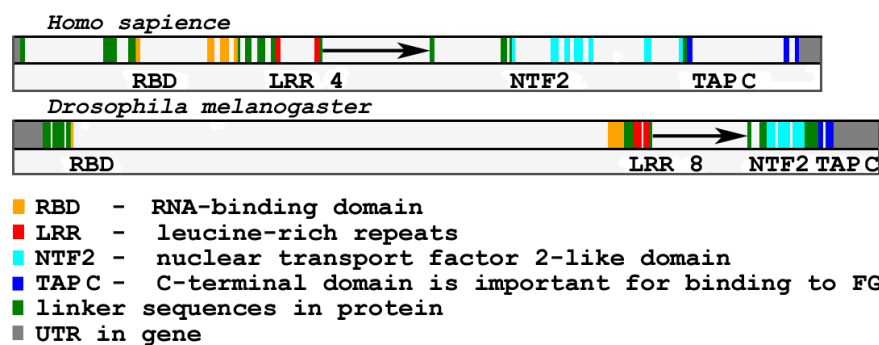


Рис. 1: Интрон-экзонная структура для генов *Hs Nxf1* и *Dm Nxf1*. Стрелки обозначают “кассетный” интрон. Цвета экзонов отображают белковые домены [3].

Белок Nxf1 включает несколько функциональных доменов (рис. 1): RBD (домен связывания РНК), четыре лейцин-обогащенных повтора (LRR), NTF2-подобный домен, UBA-подобный домен и сигналы ядерной локализации в нетранслируемой области до экзонов. В совокупности эти домены обеспечивают узнавание мРНК и взаимодействие с компонентами ядерного порового комплекса, делая *Nxf1* основным экспортером мРНК [3, 14].

Кассетный интрон, встроенный между сегментами RBD+LRR и NTF2L+UBA, выступает в роли “переключателя”. При его сохранении происходит синтез укороченных вариаций белка, обладающих специфической активностью [3, 14].

Кроме классического транспорта мРНК, у *Drosophila melanogaster* sbr выполняет органо- и тканеспецифические функции. В сперматогенных клетках ген продуцирует укороченную форму sbr, необходимую для нормального сперматогенеза: без нее наблюдается резкое снижение фертильности [15]. В центральной нервной системе sbr участвует в формировании границ между областями мозгового вещества зрительной системы, локализуясь в специфических нейронах и глиальных клетках и регулируя их ядерно-цитоплазматические комплексы [16].

Аналогичные эволюционно значимые особенности кассетного интрона отмечены у Chiroptera (Летучие мыши). Сравнительный анализ продемонстрировал значимость кассетного интрона в эволюции гена *Nxf1* у данной группы организмов [17].

Также в моей бакалаврской работе было показано, что структура “консервативной кассеты” является специфической для таксонов более низкого ранга у всех взятых в анализ артропод (89 видов), а интрон-содержащие транскрипты проанализированных дрозофилид (37 видов) формируют специфические вторичные структуры, имеющие А-обогащенные участки.

Таким образом, Nxf1 представляет собой пример многофункционального белка, чья доменная организация и альтернативные формы позволяют выполнять как основную задачу — экспорт мРНК, так и специализированные функции в разных тканях у разных таксонов.



## Материалы и методы

В качестве отправной точки был произведен поиск гена *Nxf1* внутри веб-сервиса NCBI [18]. Полученные данные были сохранены в текстовом формате и загружены в виде tsv-таблицы с помощью пакета pandas v2.2.3 [19] для языка программирования Python v3.12.6 [20]. Всего был найден 651 организм, содержащий анализируемый ген, большинство из которых относятся к Deuterostomia (Вторичноротые) - 436 видов. Таким образом, в качестве материалов выступали нуклеотидные и белковые последовательности гена *Nxf1* из открытых баз данных NCBI [18].

Большинство этапов последующего анализа реализовано в виде отдельных скриптов, разработанных в рамках данной работы, если не указано другое. Для логического разделения на блоки был использован Jupyter Notebook v1.1.1 [21].

По данным из полученной таблицы в разведывательных целях было построено филогенетическое дерево по найденным видам для оценки количества видов в таксонах более низкого ранга. Для глубокого анализа было принято решение сфокусироваться на организмах, относящихся к группе Protostomia (Первичноротые), Cnidaria (Стрекающие), а также на всех группах из Deuterostomia за исключением Mammalia (Млекопитающие).

Для найденных организмов с помощью пакета NCBI E-utilities из BioPython v1.85 [22] и NCBI Datasets Command-Line Interface (CLI) v18.0.2 [23] были загружены нуклеотидные последовательности гена, кодирующих участков и мРНК, а также аминокислотные последовательности белка в формате FASTA и аннотации для гена в GenBank-формате, необходимые для получения нуклеотидных последовательностей экзонов и поиска “консервативной кассеты”. Затем были получены и проанализированы интересующие нас участки экзон-интрон-экзонной структуры и созданы файлы со всеми экзонами и “кассетным” интроном для всех организмов, у которых получилось найти “кассету”. Данные файлы будут необходимы для последующего анализа.

Учитывая очень маленькие выборки во многих анализируемых группах (например, Cnidaria - 4 вида, Spiralia - 9 видов), было принято решение по увеличению их количества. Для этой цели, учитывая разнообразия полученных генов даже внутри одной таксономической группы, самым эффективным вариантом оказалось использование PSI-BLAST [24]. В качестве запроса (Query), или референса, использовались белковые последовательности тех организмов, у которых была найдена “кассета”. Для проведения PSI-BLAST были выбраны настройки по-умолчанию за исключением параметра Organism: поиск проводился внутри таксономической группы, к которой принадлежал референс, также референс был исключен из поиска.

Парсинг результатов BLAST также осуществлялся с помощью пакета BioPython [22] и специально разработанных скриптов. Он включал в себя фильтрацию данных по параметрам процента покрытия (Query Coverage, QC), длине и сходству (Per. Ident) найденных последовательностей (Subject), а также загрузку нуклеотидных и белковых последовательностей, однако реализация отличалась из-за особенностей баз

данных NCBI [18]. Получение “кассеты” было произведено по тому же принципу, но, опять же, с отличиями. Благодаря данному шагу удалось увеличить выборки суммарно на 117 видов. К сожалению, для некоторых таксономических групп увеличение выборки оказалось невозможным в связи с отсутствием у некоторых организмов интересующего нас участка.

Множественные выравнивания осуществлялись с помощью алгоритма MAFFT [25], 10 итераций, остальные настройки по-умолчанию, в программе Unipro UGENE v52.0 [26].

Анализ видов из *Deuterostomia* изначально шел более благоприятно за счет большого сходства последовательностей, в том числе интронных, и большего количества видов в группах. Для них также были загружены все необходимые файлы и произведен поиск и анализ “консервативной кассеты”. Мы решили сосредоточить свое внимание на организмах из *Actinopterygii* (Лучеперые рыбы), 72 вида, так как данных по ним ранее получено не было. Учитывая большую степень сходства интронных последовательностей, с помощью пакета инструментов MEME Suite v5.5.8 [27] локально был произведен поиск консервативных мотивов внутри “кассетного” интрона. Найденные мотивы, у которых E-value < 0.05 также локально были проанализированы с помощью Tomtom [28] из того же пакета. Для описанного шага была взята база данных JASPAR2024 CORE (NON-REDUNDANT) DNA.

С помощью инструмента RNAfold v2.7.0 из пакета ViennaRNA [29] были построены вторичные структуры РНК для нуклеотидных последовательностей в двух вариантах (MFE и Centroid), содержащих экзоны и “кассетный” интрон, т.к. мы предполагаем, что избегание интроном сплайсинга может быть опосредовано образованной им специфической вторичной структурой. Учитывая данное предположение, разумным шагом также являлся анализ “силы сайтов сплайсинга”, проведенный с помощью MaxEntScan [30]. Также с помощью скриптов цветом были выделены интронные последовательности внутри вторичной структуры и найденный мотив у *Actinopterygii*, который предположительно является CTE (Constitutive Transport Element).

Для *Actinopterygii* также был проведен филогенетический анализ, включающий построение и визуализацию деревьев. Для данной цели использовались самые популярные и проверенные временем инструменты. Построение деревьев осуществлялось с помощью IQ-TREE v2.4.0 [31], визуализация - с помощью Figtree v1.4.4 [32].

Работа проводилась в виртуальном окружении Mamba v1.5.5 [33], использованные пакеты и примеры анализа в Jupyter Notebooks можно найти в GitHub [34] репозитории автора: <https://github.com/ArtemVaska/Diploma>.

Для написания ВКР была использована система верстки LaTeX v4.76 [35], таблицы генерировались в веб-сервисе TablesGenerator [36]. Большинство картинок создано с помощью веб-сервиса draw.io [37]. Все шаги анализа проводились на базе операционной системы Linux Ubuntu 22.04 [38].

## Результаты

### Анализ всех найденных видов

Были проанализированы 413 нуклеотидных и белковых последовательностей гена *Nxf1* у представителей различных филогенетических групп из клад Cnidaria (Стрекающие) и Bilateria (Двусторонне-симметричные). Организмы, относящиеся к Mammalia, в анализ не были взяты в связи с уже имеющимися для них данными.

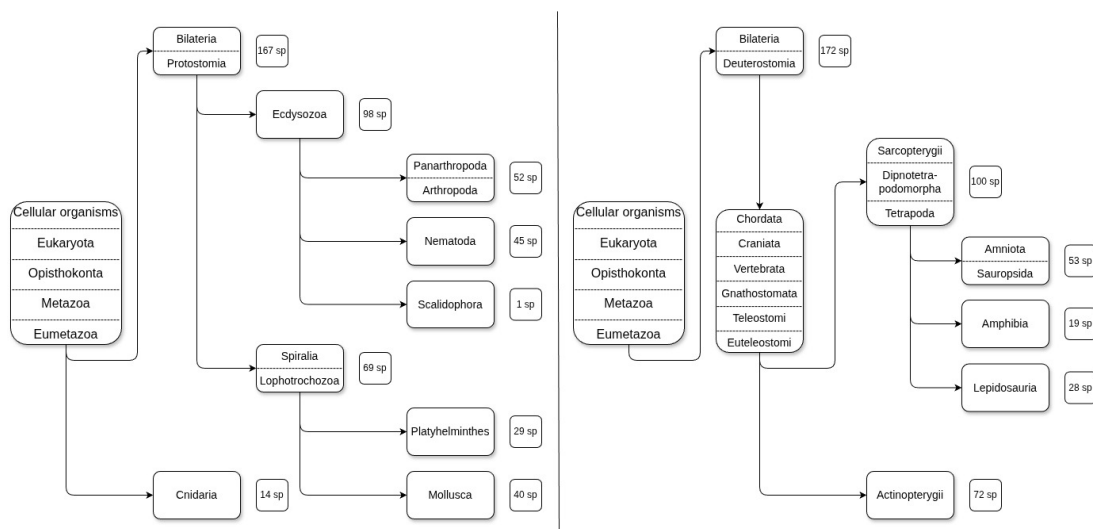
Для таксономических групп более низкого ранга с небольшим количеством видов в них с помощью PSI-BLAST были увеличены выборки, где это оказалось возможным, результат продемонстрирован на таблице 1.

**Таблица 1: Результат увеличения выборки с помощью PSI-BLAST.**

| Филогенетическая группа | Таксон высокого ранга | Видов до PSI-BLAST | Видов добавлено | Итого видов |
|-------------------------|-----------------------|--------------------|-----------------|-------------|
| Bilateria→Protostomia   | Ecdysozoa             | 56                 | 42              | 98          |
|                         | Spiralia              | 6                  | 63              | 69          |
| Cnidaria                | Anthozoa              | 2                  | 12              | 14          |

В итоге для 353 видов удалось найти “консервативную кассету” и продолжить дальнейший анализ.

На рисунке 2 отображено распределение исследованных видов по таксонам высокого ранга.



**Рис. 2: Количество видов, взятых в анализ, для разных таксономических групп.**

Для всех видов, имеющих “консервативную кассету”, были построены вторичные структуры для интрон-содержащего транскрипта с выделением цветом “кассетного” интрона (предоставляется по запросу).

## Подробный анализ Actinopterygii

Для таксономической группы Actinopterygii проводился более углубленный анализ, так как на текущий момент данных по гену *Nxf1* для них не было. Были взяты все найденные нуклеотидные последовательности гена у представителя данной филогенетической группы - 72 вида.

На таблице 2 показана характеристика “консервативной кассеты” исследуемой группы. Результаты по другим группам можно найти в приложении, таблицы 3–8.

**Таблица 2: Сводная таблица с характеристикой кассетного интрона для таксономической группы Actinopterygii. Сортировка по возрастанию количества нуклеотидов до стоп-кодона в “кассетном” интроне.**

| Название организма                   | Кол-во нуклеотидов до стоп-кодона в интроне | Длина 1-го экзона в кассете | Длина кассетного интрона | Длина 2-го экзона в кассете |
|--------------------------------------|---|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| <i>Chanos chanos</i>                 | 1   | 110                         | 3568                     | 37                          |
| <i>Danio rerio</i>                   | 1   | 110                         | 3580                     | 37                          |
| <i>Denticeps clupeoides</i>          | 7   | 110                         | 2629                     | 37                          |
| <i>Labrus bergylta</i>               | 10  | 110                         | 2684                     | 37                          |
| <i>Cottoperca gobio</i>              | 16  | 110                         | 2388                     | 37                          |
| <i>Xiphophorus couchianus</i>        | 22  | 110                         | 2227                     | 37                          |
| <i>Larimichthys crocea</i>           | 22  | 110                         | 2340                     | 37                          |
| <i>Lates calcarifer</i>              | 22  | 110                         | 2434                     | 37                          |
| <i>Notothenia coriiceps</i>          | 22  | 110                         | 2886                     | 37                          |
| <i>Betta splendens</i>               | 22  | 110                         | 2274                     | 37                          |
| <i>Poecilia reticulata</i>           | 22  | 110                         | 2262                     | 37                          |
| <i>Takifugu rubripes</i>             | 22  | 110                         | 2114                     | 37                          |
| <i>Salarias fasciatus</i>            | 22  | 110                         | 3855                     | 37                          |
| <i>Poecilia mexicana</i>             | 22  | 110                         | 2247                     | 37                          |
| <i>Stegastes partitus</i>            | 22  | 110                         | 2900                     | 37                          |
| <i>Clupea harengus</i>               | 22  | 110                         | 3219                     | 37                          |
| <i>Archocentrus centrarchus</i>      | 22  | 110                         | 2644                     | 37                          |
| <i>Esox lucius</i>                   | 22  | 110                         | 2848                     | 37                          |
| <i>Monopterus albus</i>              | 22  | 110                         | 2353                     | 37                          |
| <i>Echeneis naucrates</i>            | 22  | 110                         | 2314                     | 37                          |
| <i>Paralichthys olivaceus</i>        | 22  | 110                         | 3148                     | 37                          |
| <i>Maylandia zebra</i>               | 22  | 110                         | 2565                     | 37                          |
| <i>Parambassis ranga</i>             | 22  | 110                         | 2484                     | 37                          |
| <i>Sander lucioperca</i>             | 22  | 110                         | 2494                     | 37                          |
| <i>Xiphophorus maculatus</i>         | 22  | 110                         | 2231                     | 37                          |
| <i>Nothobranchius furzeri</i>        | 22  | 110                         | 2290                     | 37                          |
| <i>Anabas testudineus</i>            | 22  | 110                         | 2352                     | 37                          |
| <i>Acanthochromis polyacanthus</i>   | 22  | 110                         | 2797                     | 37                          |
| <i>Anarrhichthys ocellatus</i>       | 22  | 110                         | 2355                     | 37                          |
| <i>Boleophthalmus pectinirostris</i> | 22  | 110                         | 1702                     | 37                          |
| <i>Sparus aurata</i>                 | 22  | 110                         | 2361                     | 37                          |
| <i>Oryzias melastigma</i>            | 22  | 110                         | 2212                     | 37                          |
| <i>Seriola dumerili</i>              | 22  | 110                         | 2494                     | 37                          |
| <i>Poecilia formosa</i>              | 22  | 110                         | 2259                     | 37                          |
| <i>Oreochromis niloticus</i>         | 22  | 110                         | 2580                     | 37                          |
| <i>Kryptolebias marmoratus</i>       | 22  | 110                         | 2556                     | 37                          |
| <i>Xiphophorus hellerii</i>          | 22  | 110                         | 2240                     | 37                          |
| <i>Poecilia latipinna</i>            | 22  | 110                         | 2261                     | 37                          |
| <i>Pundamilia nyererei</i>           | 22  | 110                         | 2527                     | 37                          |

|                                     |     |     |      |    |
|-------------------------------------|-----|-----|------|----|
| <i>Hippocampus comes</i>            | 22  | 110 | 2622 | 37 |
| <i>Oreochromis aureus</i>           | 22  | 110 | 2579 | 37 |
| <i>Amphiprion ocellaris</i>         | 22  | 110 | 2752 | 37 |
| <i>Seriola lalandi dorsalis</i>     | 22  | 110 | 2481 | 37 |
| <i>Austrofundulus limnaeus</i>      | 22  | 110 | 2541 | 37 |
| <i>Puntigrus tetrazona</i>          | 25  | 110 | 2440 | 37 |
| <i>Fundulus heteroclitus</i>        | 25  | 110 | 2476 | 37 |
| <i>Cyprinodon variegatus</i>        | 28  | 110 | 2533 | 37 |
| <i>Haplochromis burtoni</i>         | 31  | 110 | 2535 | 37 |
| <i>Astatotilapia calliptera</i>     | 31  | 110 | 2571 | 37 |
| <i>Gouania willdenowi</i>           | 37  | 110 | 2616 | 37 |
| <i>Oryzias latipes</i>              | 40  | 110 | 2331 | 37 |
| <i>Sphaeramia orbicularis</i>       | 43  | 110 | 2376 | 37 |
| <i>Pygocentrus nattereri</i>        | 46  | 110 | 2649 | 37 |
| <i>Astyanax mexicanus</i>           | 46  | 110 | 2791 | 37 |
| <i>Colossoma macropomum</i>         | 46  | 110 | 2644 | 37 |
| <i>Ictalurus punctatus</i>          | 46  | 110 | 3166 | 37 |
| <i>Tachysurus fulvidraco</i>        | 46  | 110 | 3493 | 37 |
| <i>Pangasianodon hypophthalmus</i>  | 46  | 110 | 3348 | 37 |
| <i>Erpetoichthys calabaricus</i>    | 55  | 110 | 3662 | 37 |
| <i>Perca flavescens</i>             | 58  | 110 | 2378 | 37 |
| <i>Mastacembelus armatus</i>        | 64  | 110 | 2371 | 37 |
| <i>Salmo salar</i>                  | 67  | 110 | 3553 | 37 |
| <i>Gadus morhua</i>                 | 67  | 110 | 3151 | 37 |
| <i>Etheostoma spectabile</i>        | 97  | 110 | 2457 | 37 |
| <i>Scleropages formosus</i>         | 112 | 110 | 3412 | 37 |
| <i>Myripristis murdjan</i>          | 112 | 110 | 2492 | 37 |
| <i>Paramormyrops kingsleyae</i>     | 121 | 110 | 2929 | 37 |
| <i>Carassius auratus</i>            | 148 | 110 | 3854 | 37 |
| <i>Sinocyclocheilus grahami</i>     | 148 | 110 | 3330 | 37 |
| <i>Sinocyclocheilus rhinoceros</i>  | 154 | 110 | 3449 | 37 |
| <i>Sinocyclocheilus anshuiensis</i> | 154 | 110 | 4202 | 37 |
| <i>Electrophorus electricus</i>     | 283 | 110 | 2874 | 37 |

На рисунках 3 и 4 показано распределение длин части “кассетного” интрона до стоп-кодона и длин “кассетного” интрона, соответственно.

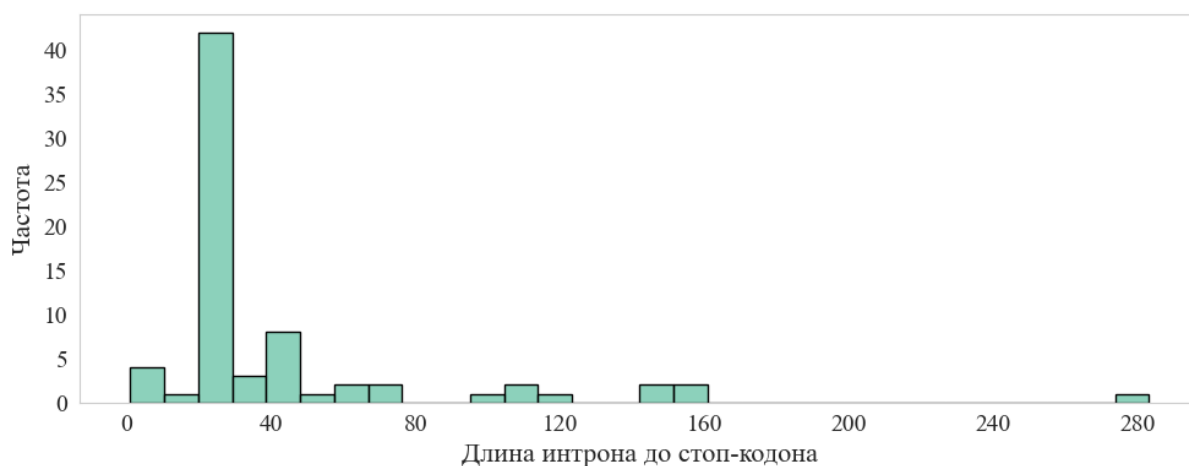
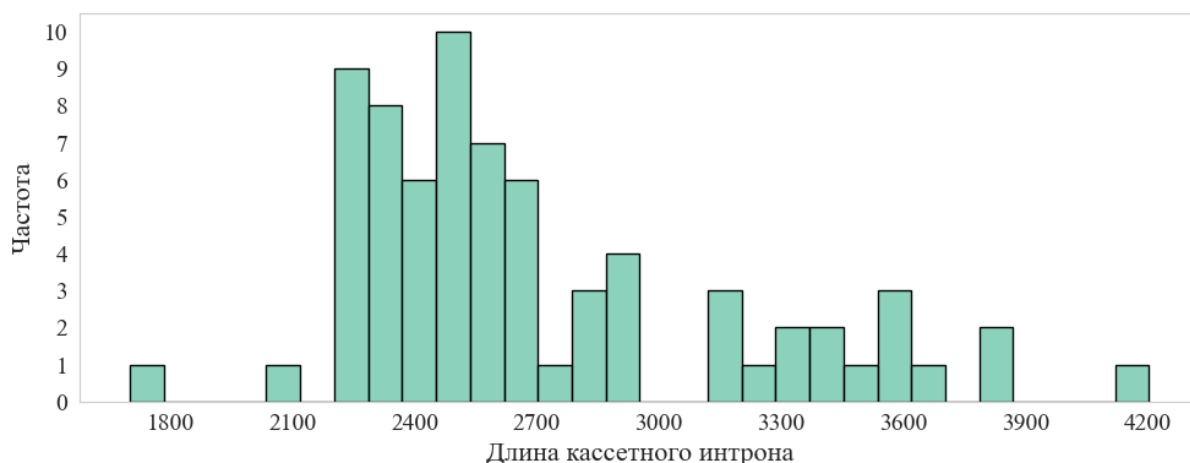
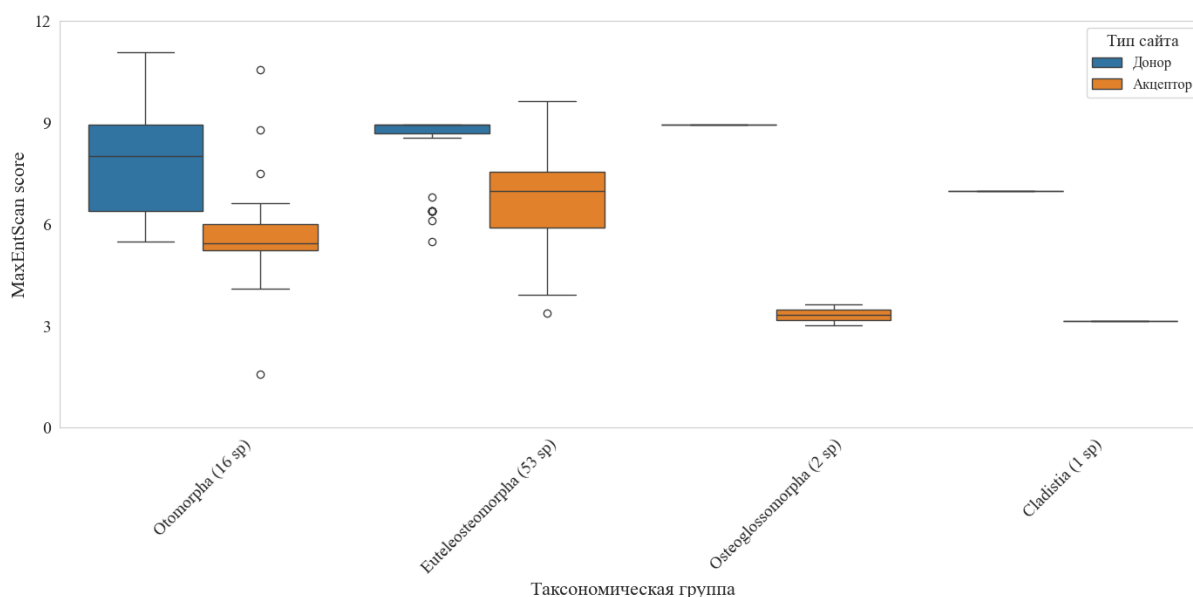


Рис. 3: Распределение длин части кассетного интрона до стоп-кодона у таксономической группы Actinopterygii



**Рис. 4: Распределение длин кассетного интрона у таксономической группы Actinopterygii**

На картинке 5 представлены результаты оценки “силы сайтов сплайсинга” - “ящички с усами”, отображающие распределение MaxEntScan score для таксонов более низкого ранга внутри группы Actinopterygii. Разбиение на подгруппы основано на их удаленности друг от друга. Порядок групп на графике не несет смысловой нагрузки.



**Рис. 5: Результаты проведения MaxEntScan для Actinopterygii.**

Рисунок 6 демонстрирует результаты, полученные с помощью MEME Suite.

Найденные мотивы присутствуют не у всех видов, взятых в анализ изначально, их количество отображено в столбце Sites. Нас заинтересовал 2-й найденный мотив, так как его начало очень похоже на предложенную авторами статьи 2001 года [39] консенсусную последовательность для СТЕ из рисунка 7.

К сожалению, использование Tomtom для поиска найденных консервативных мотивов из “кассетного” интрона в базе данных мотивов не дало статистически значи-

мых результатов.

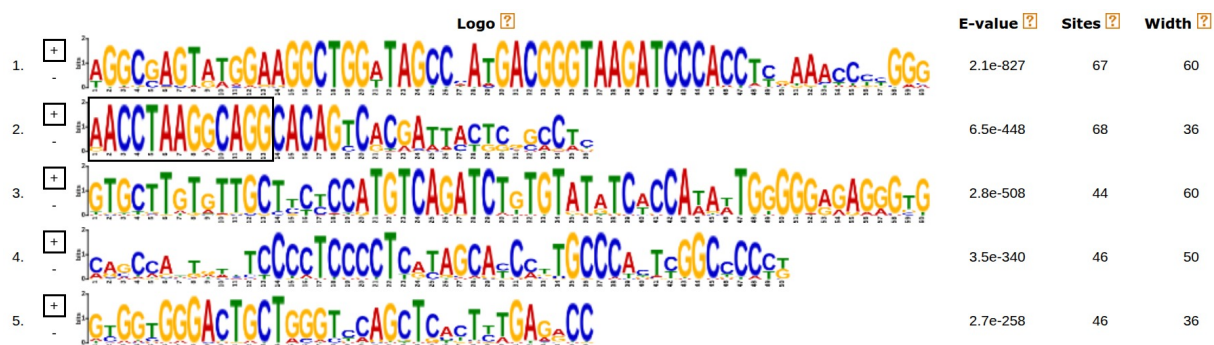


Рис. 6: Результат поиска мотивов внутри кассетного интрона с помощью MEME Suite для таксономической группы Actinopterygii.

Черным прямоугольником выделен участок, похожий на консенсусную последовательность СТЕ (рис. 7) из статьи 2001 года [39].

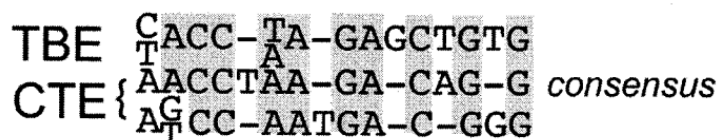


Рис. 7: Консенсусный конститутивный транспортный элемент [39].

Репрезентация вторичной структуры интрон-содержащего транскрипта с выделенным кассетным интроном и найденным мотивом показана на рисунке 8. Вид для демонстрации был выбран случайно.

Учитывая тот факт, что мотив с интересующим нас участком, был найден у 68 видов, именно для них был проведен последующий анализ.

Рисунок 9 отображает результаты множественного выравнивания, а на рисунке 10 представлено филогенетическое дерево, построенное по результатам этого выравнивания.

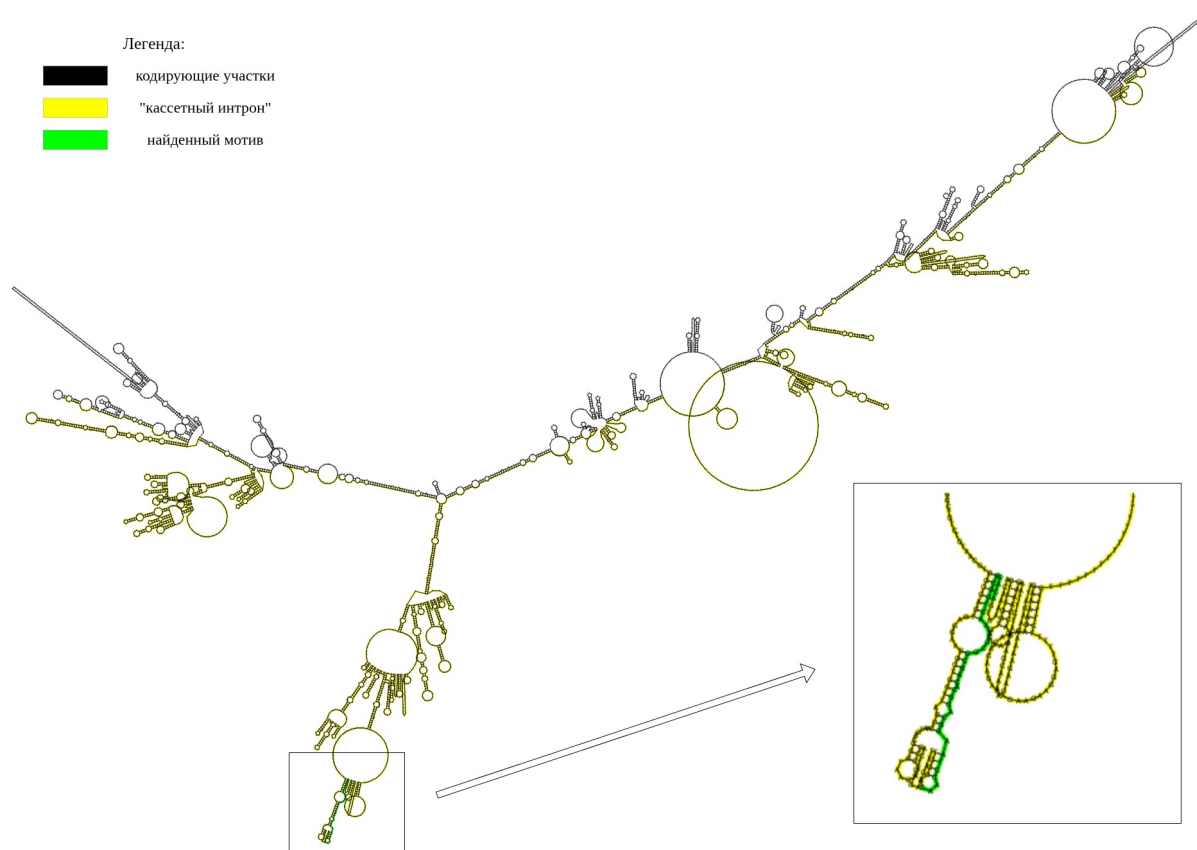


Рис. 8: Вторичная структура РНК-транскрипта для *Chanos chanos* из Otomorpha, содержащая кассетный интрон.





Рис. 9: Результаты множественного выравнивания для Actinopterygii.

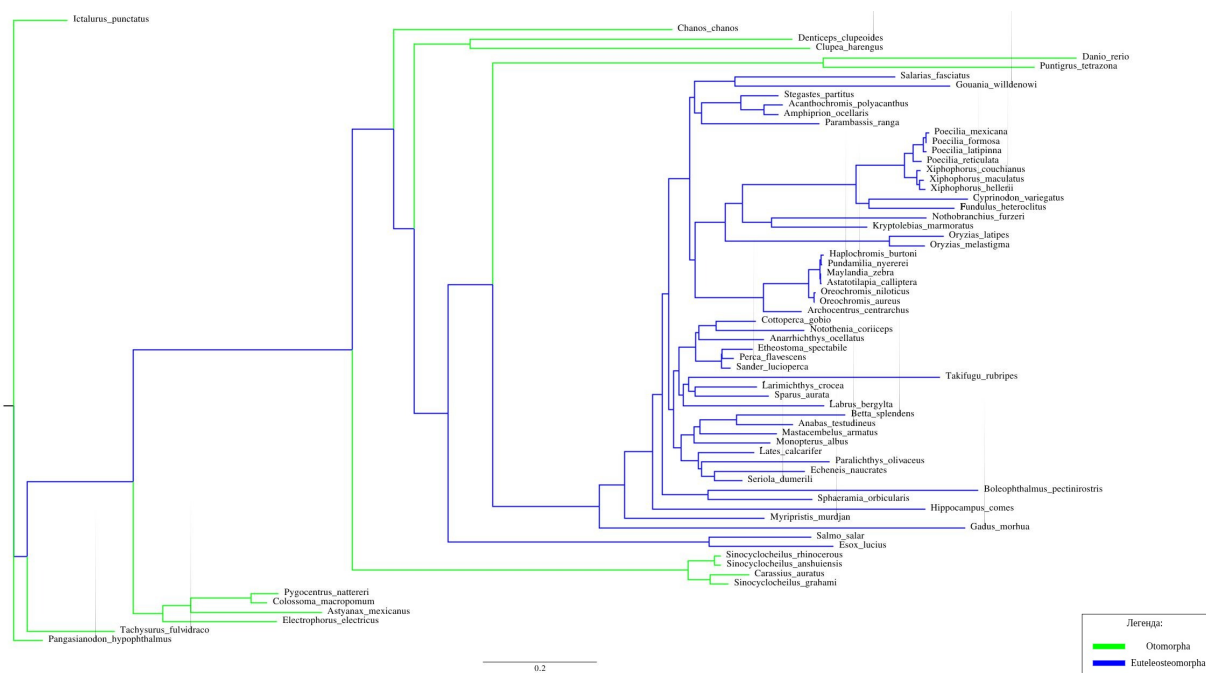
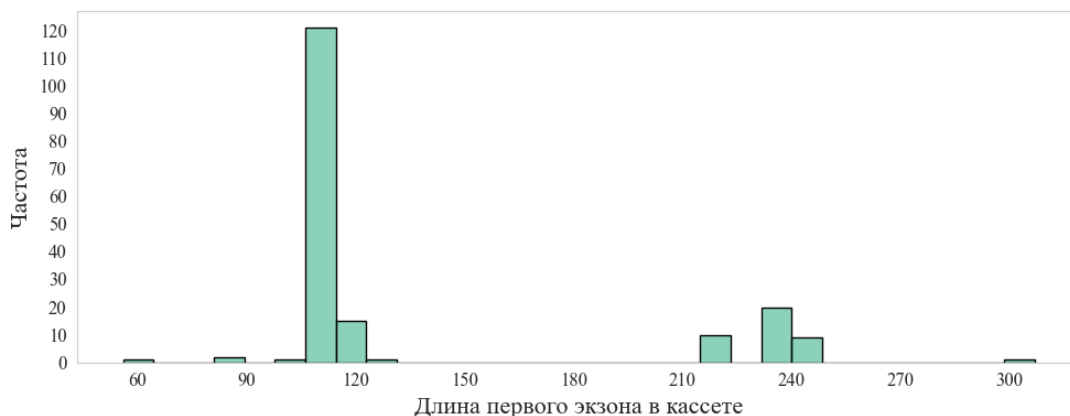


Рис. 10: Филогенетическое дерево для таксономической группы Actinopterygii.

## Обсуждение

### Анализ всех найденных видов

У всех проанализированных видов размер второго экзона из “консервативной кассеты” равен 37 нуклеотидам, в то время как размер первого экзона варьирует в различных группах. На рисунке 11 показано распределение длины первого экзона из “кассеты” для Protostomia.



**Рис. 11: Распределение длины первого экзона из “консервативной кассеты” для Protostomia.**

Для Ecdysozoa и Cnidaria первый экзон как правило размером 110 нуклеотидов, но встречаются и исключения. У Spiralia размер этого экзона гораздо больше и чаще всего составляет 239 нуклеотидов. По данному отличию и встречающимся уникальным вариантам размера экзона требуется углубленное исследование.

У Deuterostomia размер первого экзона в абсолютном большинстве случаев (171 из 172 исследованных видов) составляет 110 нуклеотидов, что также характерно и для млекопитающих.

Длина участка внутри интрона до стоп-кодона, как и длина самого интрона, варьирует в более широких пределах в разных группах. Тем не менее внутри отдельных групп, например Lepidosauria (таблица 8 в приложении), наблюдается высокая степень консервативности обоих параметров.

Также встречаются виды, у которых происходит частичная или даже полная трансляция “кассетного” интрона, потому что в нем не встречается преждевременный стоп-кодон. Например, таким видом является давно известный *Caenorhabditis elegans*, у которого преждевременный стоп-кодон встречается в одном из экзонов после “кассетного” интрона. В данном исследовании были найдены еще 2 вида, у которых интрон полностью считывается: Aves - *Vidua chalybeata*, Paraneoptera - *Rhopalosiphum maidis*. Упомянутые виды также требуют тщательного изучения.

## Подробный анализ *Actinopterygii*

Данная группа организмов была исследована более подробно по перечисленным ранее причинам. Внутри группы размеры первого и второго экзона из “консервативной кассеты” для всех исследованных видов составляют 110 и 37 нуклеотидов, соответственно. Длина участка внутри интрона до стоп-кодона у большинства видов составляет 22 нуклеотида (39 из 72 исследованных в работе). Размер “кассетного” интрона варьирует от 1702 до 4202 нуклеотидов (в среднем 2705).

Анализ “сайтов силы сплайсинга” 5 говорит о том, что практически у всех видов данный интрон успешно вырезается сплайсосомой. Учитывая большую выборку видов, взятую для анализа, было принято решение ориентироваться на эмпирическую интерпретацию результатов, которая выглядит следующим образом:

- 0–3: слабый сайт сплайсинга
- 3–6: умеренный сайт сплайсинга
- >6: сильный сайт сплайсинга

Так как у большинства видов значение MaxEntScan score больше или около 6, был сделан вывод, высказанный выше. Соответственно, невырезание сплайсосомой как минимум у данной группы не является причиной альтернативного сплайсинга с сохранением “кассетного” интрона.

В связи с этим и было принято решение о поиске консервативных мотивов внутри “кассетного” интрона. Несмотря на то, что на рисунке 6 представлено 5 найденных мотивов, их количество может быть больше, потому что данное значение мотивов было ограничением запуска MEME Suite. Учитывая высокую степень сходства начала 2-го найденного мотива с консенсусной последовательностью СТЕ из рисунка 7, можно предположить сохранение интрона благодаря этой и возможно другим структурам внутри интрон-содержащего транскрипта (рисунок 8).

Проведенное множественное выравнивание на рисунке 9 говорит о высокой степени консервативности как кодирующих участков (левый и правый крайние части диаграммы под выравниванием), так и некоторых участков внутри интрона (центр диаграммы под выравниванием). Филогенетическое древо (рисунок 10), построенное по результатам выравнивания, несмотря на наличие “кассетного” интрона в последовательности, использованной для его построения, успешно разделяет виды на таксоны более высокого ранга - *Otomorpha* и *Euteleosteomorpha*.

Остальные группы, не включенные в подробный анализ, требуют его проведения.

## Выводы

По результатам проведенной работы были сформулированы следующие выводы:

1. Внутри одной таксономической группы существуют преобладающие значения для характеристик “консервативной кассеты”:
  - длина первого и второго экзона;
  - длина “кассетного” интрона;
  - длина участка внутри “кассетного” интрона до стоп-кодона.
2. Внутри “кассетного” интрона существуют участки, которые образуют особые структуры при формировании вторичной структуры интрон-содержащего транскрипта, и за счет их наличия возможно сохранение такого транскрипта и последующая трансляция укороченной формы белка.

## Приложение

**Таблица 3: Сводная таблица с характеристикой кассетного интрона для таксономической группы Ecdysozoa. Сортировка по возрастанию количества нуклеотидов до стоп-кодона в кассетной интроне.**

| Название организма                | Кол-во нуклеотидов до стоп-кодона в интроне | Длина 1-го экзона в кассете | Длина кассетного интрона | Длина 2-го экзона в кассете |
|-----------------------------------|---|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| <i>Trichinella spiralis</i>       | 1   | 83                          | 417                      | 37                          |
| <i>Priapulus caudatus</i>         | 1   | 110                         | 2114                     | 37                          |
| <i>Galendromus occidentalis</i>   | 1   | 110                         | 1491                     | 37                          |
| <i>Ixodes scapularis</i>          | 1   | 110                         | 3567                     | 37                          |
| <i>Limulus polyphemus</i>         | 1   | 110                         | 915                      | 37                          |
| <i>Parasteatoda tepidariorum</i>  | 1   | 110                         | 1725                     | 37                          |
| <i>Cryptotermes secundus</i>      | 1   | 110                         | 4335                     | 37                          |
| <i>Maniola hyperantus</i>         | 1   | 110                         | 920                      | 37                          |
| <i>Cimex lectularius</i>          | 1   | 110                         | 4437                     | 37                          |
| <i>Vespa mandarinia</i>           | 1   | 113                         | 379                      | 37                          |
| <i>Zerene cesonia</i>             | 1   | 110                         | 1162                     | 37                          |
| <i>Pararge aegeria</i>            | 1   | 110                         | 2657                     | 37                          |
| <i>Myzus persicae</i>             | 1   | 107                         | 772                      | 37                          |
| <i>Halyomorpha halys</i>          | 1   | 110                         | 7270                     | 37                          |
| <i>Diuraphis noxia</i>            | 1   | 107                         | 742                      | 37                          |
| <i>Sipha flava</i>                | 1   | 107                         | 58                       | 37                          |
| <i>Manduca sexta</i>              | 1   | 110                         | 1796                     | 37                          |
| <i>Apis laboriosa</i>             | 1   | 113                         | 1254                     | 37                          |
| <i>Orussus abietinus</i>          | 1   | 113                         | 74                       | 37                          |
| <i>Danarus plexippus</i>          | 1   | 110                         | 1009                     | 37                          |
| <i>Colletes gigas</i>             | 1   | 113                         | 379                      | 37                          |
| <i>Ostrinia furnacalis</i>        | 1   | 110                         | 1946                     | 37                          |
| <i>Vespa crabro</i>               | 1   | 113                         | 381                      | 37                          |
| <i>Venturia canescens</i>         | 1   | 113                         | 621                      | 37                          |
| <i>Papilio polytes</i>            | 1   | 110                         | 1674                     | 37                          |
| <i>Vespa velutina</i>             | 1   | 113                         | 377                      | 37                          |
| <i>Cephus cinctus</i>             | 1   | 113                         | 75                       | 37                          |
| <i>Bombus pyrosoma</i>            | 1   | 113                         | 244                      | 37                          |
| <i>Papilio xuthus</i>             | 1   | 110                         | 999                      | 37                          |
| <i>Vanessa tameamea</i>           | 1   | 110                         | 2352                     | 37                          |
| <i>Megalopta genalis</i>          | 1   | 113                         | 373                      | 37                          |
| <i>Vespula pennsylvanica</i>      | 1   | 113                         | 363                      | 37                          |
| <i>Leptopilina heterotoma</i>     | 1   | 113                         | 921                      | 37                          |
| <i>Acromyrmex echinator</i>       | 1   | 113                         | 438                      | 37                          |
| <i>Aphidius gifuensis</i>         | 1   | 113                         | 240                      | 37                          |
| <i>Polistes fuscatus</i>          | 1   | 113                         | 400                      | 37                          |
| <i>Dirofilaria immitis</i>        | 7   | 98                          | 248                      | 37                          |
| <i>Odontomachus brunneus</i>      | 10  | 113                         | 498                      | 37                          |
| <i>Diploscapter pachys</i>        | 10  | 110                         | 662                      | 37                          |
| <i>Bactrocera dorsalis</i>        | 13  | 110                         | 1808                     | 37                          |
| <i>Drosophila melanogaster</i>    | 13  | 110                         | 1602                     | 37                          |
| <i>Ceratitis capitata</i>         | 19  | 110                         | 2023                     | 37                          |
| <i>Pediculus humanus corporis</i> | 19  | 110                         | 631                      | 37                          |
| <i>Aphelenchoides avenae</i>      | 19  | 110                         | 441                      | 37                          |
| <i>Litomosoides sigmodontis</i>   | 19  | 110                         | 242                      | 37                          |
| <i>Acanthocheilonema viteae</i>   | 19  | 110                         | 225                      | 37                          |
| <i>Aethina tumida</i>             | 19  | 110                         | 1729                     | 37                          |

|   |      |     |      |    |
|---|------|-----|------|----|
| <i>Lepeophtheirus salmonis</i>          | 22   | 110 | 1555 | 37 |
| <i>Anoplophora glabripennis</i>         | 22   | 110 | 3664 | 37 |
| <i>Varroa jacobsoni</i>                 | 22   | 110 | 3077 | 37 |
| <i>Varroa destructor</i>                | 22   | 110 | 3077 | 37 |
| <i>Thelazia callipaeda</i>              | 25   | 110 | 209  | 37 |
| <i>Bursaphelenchus xylophilus</i>       | 25   | 110 | 638  | 37 |
| <i>Acyrtosiphon pisum</i>               | 28   | 107 | 68   | 37 |
| <i>Anisakis simplex</i>                 | 30   | 219 | 665  | 37 |
| <i>Tetranychus urticae</i>              | 31   | 122 | 648  | 37 |
| <i>Homarus americanus</i>               | 31   | 110 | 9821 | 37 |
| <i>Bursaphelenchus okinawaensis</i>     | 37   | 110 | 593  | 37 |
| <i>Globodera pallida</i>                | 43   | 113 | 47   | 37 |
| <i>Amphibalanus amphitrite</i>          | 73   | 110 | 369  | 37 |
| <i>Cotesia glomerata</i>                | 73   | 116 | 236  | 37 |
| <i>Caenorhabditis angaria</i>           | 79   | 110 | 96   | 37 |
| <i>Onchocerca ochengi</i>               | 88   | 110 | 243  | 37 |
| <i>Brugia pahangi</i>                   | 91   | 110 | 232  | 37 |
| <i>Ditylenchus destructor</i>           | 97   | 307 | 1167 | 37 |
| <i>Mesorhabditis belari</i>             | 97   | 110 | 147  | 37 |
| <i>Melanaphis sacchari</i>              | 97   | 107 | 71   | 37 |
| <i>Enterobius vermicularis</i>          | 100  | 110 | 195  | 37 |
| <i>Pristionchus mayeri</i>              | 103  | 110 | 131  | 37 |
| <i>Cercopithifilaria johnstoni</i>      | 103  | 110 | 238  | 37 |
| <i>Steinernema carpocapsae</i>          | 106  | 110 | 131  | 37 |
| <i>Wuchereria bancrofti</i>             | 106  | 125 | 242  | 37 |
| <i>Parelaphostrongylus tenuis</i>       | 112  | 110 | 228  | 37 |
| <i>Toxocara canis</i>                   | 115  | 110 | 1062 | 37 |
| <i>Necator americanus</i>               | 136  | 110 | 243  | 37 |
| <i>Brugia malayi</i>                    | 139  | 110 | 243  | 37 |
| <i>Caenorhabditis auriculariae</i>      | 145  | 110 | 156  | 37 |
| <i>Auanema sp. JU1783</i>               | 145  | 110 | 80   | 37 |
| <i>Pristionchus entomophagus</i>        | 151  | 110 | 154  | 37 |
| <i>Steinernema hermaphroditum</i>       | 157  | 110 | 131  | 37 |
| <i>Caenorhabditis brenneri</i>          | 175  | 110 | 130  | 37 |
| <i>Angiostrongylus cantonensis</i>      | 181  | 110 | 213  | 37 |
| <i>Dictyocaulus viviparus</i>           | 190  | 110 | 832  | 37 |
| <i>Caenorhabditis elegans</i>           | 193  | 110 | 106  | 37 |
| <i>Cooperia oncophora</i>               | 205  | 110 | 215  | 37 |
| <i>Caenorhabditis sp. 36 PRJEB53466</i> | 205  | 110 | 133  | 37 |
| <i>Caenorhabditis nigoni</i>            | 214  | 110 | 142  | 37 |
| <i>Pristionchus pacificus</i>           | 214  | 110 | 251  | 37 |
| <i>Trichostrongylus colubriformis</i>   | 214  | 110 | 224  | 37 |
| <i>Caenorhabditis briggsae</i>          | 217  | 110 | 145  | 37 |
| <i>Cylicocyclus nassatus</i>            | 229  | 110 | 239  | 37 |
| <i>Haemonchus contortus</i>             | 304  | 110 | 220  | 37 |
| <i>Caenorhabditis bovis</i>             | 316  | 110 | 235  | 37 |
| <i>Nippostrongylus brasiliensis</i>     | 316  | 110 | 235  | 37 |
| <i>Dracunculus medinensis</i>           | 334  | 110 | 122  | 37 |
| <i>Mesorhabditis spiculigera</i>        | 376  | 110 | 173  | 37 |
| <i>Pollicipes pollicipes</i>            | 436  | 110 | 367  | 37 |
| <i>Rhopalosiphum maidis</i>             | 1345 | 107 | 69   | 37 |

Таблица 4: Сводная таблица с характеристикой кассетного интрона для таксономической группы Spiralia. Сортировка по возрастанию количества нуклеотидов до стоп-кодона в “кассетном” интроне.

| Название организма               | Кол-во нуклеотидов до стоп-кодона в интроне | Длина 1-го экзона в кассете | Длина кассетного интрона | Длина 2-го экзона в кассете |
|----------------------------------|---|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| <i>Schistosoma haematobium</i>   | 1   | 239                         | 652                      | 37                          |
| <i>Magallana gigas</i>           | 1   | 110                         | 1537                     | 37                          |
| <i>Mya arenaria</i>              | 1   | 110                         | 1727                     | 37                          |
| <i>Crassostrea virginica</i>     | 1   | 110                         | 1613                     | 37                          |
| <i>Aplysia californica</i>       | 1   | 221                         | 4146                     | 37                          |
| <i>Gigantopelta aegis</i>        | 1   | 110                         | 1869                     | 37                          |
| <i>Mercenaria mercenaria</i>     | 1   | 110                         | 1690                     | 37                          |
| <i>Dreissena polymorpha</i>      | 1   | 110                         | 2207                     | 37                          |
| <i>Ruditapes philippinarum</i>   | 1   | 110                         | 1646                     | 37                          |
| <i>Mactra antiquata</i>          | 1   | 110                         | 2319                     | 37                          |
| <i>Mytilus coruscus</i>          | 1   | 110                         | 1234                     | 37                          |
| <i>Potamilus streckersoni</i>    | 1   | 110                         | 4567                     | 37                          |
| <i>Saccostrea echinata</i>       | 1   | 110                         | 1556                     | 37                          |
| <i>Mytilus edulis</i>            | 1   | 110                         | 1360                     | 37                          |
| <i>Mytilus trossulus</i>         | 1   | 110                         | 1357                     | 37                          |
| <i>Pecten maximus</i>            | 1   | 110                         | 5000                     | 37                          |
| <i>Ostrea edulis</i>             | 1   | 110                         | 1643                     | 37                          |
| <i>Mizuhopecten yessoensis</i>   | 1   | 110                         | 4836                     | 37                          |
| <i>Saccostrea cucullata</i>      | 1   | 110                         | 1706                     | 37                          |
| <i>Ylistrum balloti</i>          | 1   | 110                         | 4649                     | 37                          |
| <i>Argopecten irradians</i>      | 1   | 110                         | 5057                     | 37                          |
| <i>Magallana angulata</i>        | 1   | 110                         | 1534                     | 37                          |
| <i>Mytilus californianus</i>     | 1   | 110                         | 1248                     | 37                          |
| <i>Pinctada imbricata</i>        | 1   | 110                         | 4144                     | 37                          |
| <i>Haliotis asinina</i>          | 1   | 110                         | 2375                     | 37                          |
| <i>Sinanodonta woodiana</i>      | 1   | 110                         | 4580                     | 37                          |
| <i>Haliotis cracherodii</i>      | 1   | 110                         | 2506                     | 37                          |
| <i>Haliotis rufescens</i>        | 1   | 110                         | 2505                     | 37                          |
| <i>Patella caerulea</i>          | 1   | 110                         | 1362                     | 37                          |
| <i>Patella vulgata</i>           | 1   | 110                         | 1384                     | 37                          |
| <i>Lymnaea stagnalis</i>         | 1   | 221                         | 2705                     | 37                          |
| <i>Batillaria attramentaria</i>  | 1   | 110                         | 8614                     | 37                          |
| <i>Schistosoma turkestanicum</i> | 1   | 239                         | 905                      | 37                          |
| <i>Paragonimus westermani</i>    | 1   | 239                         | 13971                    | 37                          |
| <i>Pomacea canaliculata</i>      | 1   | 56                          | 255                      | 37                          |
| <i>Bradybaena similaris</i>      | 1   | 221                         | 3811                     | 37                          |
| <i>Elysia crispata</i>           | 1   | 221                         | 8063                     | 37                          |
| <i>Elysia chlorotica</i>         | 1   | 221                         | 7182                     | 37                          |
| <i>Bulinus truncatus</i>         | 1   | 221                         | 1873                     | 37                          |
| <i>Biomphalaria pfeifferi</i>    | 1   | 221                         | 1885                     | 37                          |
| <i>Biomphalaria glabrata</i>     | 1   | 221                         | 1889                     | 37                          |
| <i>Schistosoma guineensis</i>    | 1   | 239                         | 652                      | 37                          |
| <i>Schistosoma curassoni</i>     | 1   | 239                         | 652                      | 37                          |
| <i>Schistosoma bovis</i>         | 1   | 239                         | 652                      | 37                          |
| <i>Schistosoma margrebowiei</i>  | 1   | 239                         | 650                      | 37                          |
| <i>Schistosoma intercalatum</i>  | 1   | 239                         | 652                      | 37                          |
| <i>Schistosoma rodhaini</i>      | 1   | 239                         | 671                      | 37                          |
| <i>Schistosoma japonicum</i>     | 1   | 239                         | 847                      | 37                          |
| <i>Clonorchis sinensis</i>       | 1   | 242                         | 6006                     | 37                          |
| <i>Hydatigera taeniaeformis</i>  | 1   | 242                         | 375                      | 37                          |



|                                  |    |     |       |    |
|----------------------------------|----|-----|-------|----|
| <i>Taenia crassiceps</i>         | 1  | 242 | 278   | 37 |
| <i>Taenia asiatica</i>           | 1  | 242 | 480   | 37 |
| <i>Heterobilharzia americana</i> | 1  | 239 | 2163  | 37 |
| <i>Trichobilharzia szidati</i>   | 1  | 239 | 1336  | 37 |
| <i>Trichobilharzia regenti</i>   | 1  | 239 | 996   | 37 |
| <i>Opisthorchis felineus</i>     | 1  | 242 | 14603 | 37 |
| <i>Rodentolepis nana</i>         | 1  | 242 | 222   | 37 |
| <i>Calicophoron daubneyi</i>     | 1  | 239 | 4214  | 37 |
| <i>Taenia solium</i>             | 1  | 242 | 480   | 37 |
| <i>Echinococcus granulosus</i>   | 1  | 242 | 521   | 37 |
| <i>Fasciola hepatica</i>         | 1  | 239 | 2631  | 37 |
| <i>Fasciola gigantica</i>        | 1  | 239 | 2581  | 37 |
| <i>Schistosoma mattheei</i>      | 1  | 239 | 649   | 37 |
| <i>Fasciolopsis buskii</i>       | 1  | 239 | 1303  | 37 |
| <i>Dicrocoelium dendriticum</i>  | 1  | 239 | 2612  | 37 |
| <i>Paragonimus heterotremus</i>  | 1  | 239 | 18219 | 37 |
| <i>Hymenolepis diminuta</i>      | 1  | 242 | 224   | 37 |
| <i>Solemya velum</i>             | 4  | 110 | 2071  | 37 |
| <i>Littorina saxatilis</i>       | 19 | 218 | 6746  | 37 |

**Таблица 5: Сводная таблица с характеристикой кассетного интрона для таксономической группы Cnidaria. Сортировка по возрастанию количества нуклеотидов до стоп-кодона в “кассетном” интроне.**

| Название организма             | Кол-во нуклеотидов до стоп-кодона в интроне | Длина 1-го экзона в кассете | Длина кассетного интрона | Длина 2-го экзона в кассете |
|--------------------------------|---|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| <i>Actinia tenebrosa</i>       | 10  | 116                         | 173                      | 37                          |
| <i>Dendronephthya gigantea</i> | 10  | 116                         | 328                      | 37                          |
| <i>Nematostella vectensis</i>  | 25  | 116                         | 991                      | 37                          |
| <i>Montipora foliosa</i>       | 31  | 116                         | 907                      | 37                          |
| <i>Pocillopora verrucosa</i>   | 34  | 116                         | 390                      | 37                          |
| <i>Acropora digitifera</i>     | 40  | 116                         | 670                      | 37                          |
| <i>Acropora millepora</i>      | 40  | 116                         | 682                      | 37                          |
| <i>Acropora muricata</i>       | 40  | 116                         | 679                      | 37                          |
| <i>Pocillopora damicornis</i>  | 46  | 116                         | 392                      | 37                          |
| <i>Pocillopora meandrina</i>   | 46  | 116                         | 392                      | 37                          |
| <i>Porites lutea</i>           | 61  | 116                         | 711                      | 37                          |
| <i>Porites evermanni</i>       | 61  | 116                         | 711                      | 37                          |
| <i>Exaiptasia diaphana</i>     | 76  | 86                          | 227                      | 37                          |
| <i>Xenia sp. Carnegie-2017</i> | 103   | 116                         | 116                      | 37                          |

**Таблица 6: Сводная таблица с характеристикой кассетного интрона для таксономической группы Sauropsida. Сортировка по возрастанию количества нуклеотидов до стоп-кодона в “кассетном” интроне.**

| Название организма         | Кол-во нуклеотидов до стоп-кодона в интроне | Длина 1-го экзона в кассете | Длина кассетного интрона | Длина 2-го экзона в кассете |
|----------------------------|---|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| <i>Molothrus aeneus</i>    | 1   | 110                         | 745                      | 37                          |
| <i>Taeniopygia guttata</i> | 1   | 110                         | 443                      | 37                          |
| <i>Lonchura striata</i>    | 1   | 110                         | 629                      | 37                          |
| <i>Gallus gallus</i>       | 7   | 110                         | 1616                     | 37                          |

|                                     |      |     |      |    |
|-------------------------------------|------|-----|------|----|
| <i>Cygnus atratus</i>               | 25   | 110 | 1257 | 37 |
| <i>Haliaeetus leucocephalus</i>     | 25   | 110 | 1375 | 37 |
| <i>Phalacrocorax carbo</i>          | 25   | 110 | 1345 | 37 |
| <i>Grus americana</i>               | 25   | 110 | 1659 | 37 |
| <i>Haliaeetus albicilla</i>         | 25   | 110 | 1378 | 37 |
| <i>Oxyura jamaicensis</i>           | 25   | 110 | 1246 | 37 |
| <i>Anser cygnoides</i>              | 25   | 110 | 1279 | 37 |
| <i>Ciconia boyciana</i>             | 25   | 107 | 1459 | 37 |
| <i>Anas acuta</i>                   | 25   | 110 | 1346 | 37 |
| <i>Astur gentilis</i>               | 25   | 110 | 1393 | 37 |
| <i>Aquila chrysaetos chrysaetos</i> | 25   | 110 | 1375 | 37 |
| <i>Aythya fuligula</i>              | 25   | 110 | 1227 | 37 |
| <i>Struthio camelus</i>             | 64   | 110 | 1405 | 37 |
| <i>Chelonia mydas</i>               | 79   | 110 | 1674 | 37 |
| <i>Dermochelys coriacea</i>         | 79   | 110 | 1661 | 37 |
| <i>Caretta caretta</i>              | 79   | 110 | 1656 | 37 |
| <i>Ammospiza caudacuta</i>          | 82   | 110 | 3942 | 37 |
| <i>Aphelocoma coerulescens</i>      | 85   | 110 | 3626 | 37 |
| <i>Gopherus flavomarginatus</i>     | 142  | 110 | 1655 | 37 |
| <i>Chelonoidis abingdonii</i>       | 142  | 110 | 1645 | 37 |
| <i>Malaclemys terrapin pileata</i>  | 142  | 110 | 1652 | 37 |
| <i>Mauremys mutica</i>              | 142  | 110 | 1662 | 37 |
| <i>Mauremys reevesii</i>            | 142  | 110 | 1661 | 37 |
| <i>Trachemys scripta elegans</i>    | 142  | 110 | 1661 | 37 |
| <i>Chrysemys picta bellii</i>       | 142  | 110 | 1662 | 37 |
| <i>Emys orbicularis</i>             | 142  | 110 | 1650 | 37 |
| <i>Alligator sinensis</i>           | 148  | 110 | 1497 | 37 |
| <i>Alligator mississippiensis</i>   | 148  | 110 | 1618 | 37 |
| <i>Caloenas nicobarica</i>          | 184  | 110 | 1245 | 37 |
| <i>Rissa tridactyla</i>             | 205  | 110 | 1388 | 37 |
| <i>Terrapene triunguis</i>          | 211  | 110 | 1662 | 37 |
| <i>Emydura macquarii macquarii</i>  | 223  | 110 | 1647 | 37 |
| <i>Catharus ustulatus</i>           | 241  | 110 | 3252 | 37 |
| <i>Gopherus evgoodei</i>            | 301  | 110 | 1639 | 37 |
| <i>Strigops habroptila</i>          | 457  | 110 | 1317 | 37 |
| <i>Neopsephotus bourkii</i>         | 502  | 110 | 1245 | 37 |
| <i>Melopsittacus undulatus</i>      | 517  | 110 | 1257 | 37 |
| <i>Apteryx rowi</i>                 | 541  | 110 | 1359 | 37 |
| <i>Apteryx mantelli</i>             | 541  | 110 | 1359 | 37 |
| <i>Dromaius novaehollandiae</i>     | 553  | 110 | 1365 | 37 |
| <i>Chroicocephalus ridibundus</i>   | 562  | 110 | 1373 | 37 |
| <i>Pezoporus wallicus</i>           | 568  | 110 | 1328 | 37 |
| <i>Pezoporus flaviventris</i>       | 568  | 110 | 1328 | 37 |
| <i>Rhea pennata</i>                 | 568  | 110 | 1348 | 37 |
| <i>Pezoporus occidentalis</i>       | 568  | 110 | 1319 | 37 |
| <i>Pelodiscus sinensis</i>          | 640  | 110 | 1643 | 37 |
| <i>Phaenicophaeus curvirostris</i>  | 892  | 110 | 2155 | 37 |
| <i>Camarhynchus parvulus</i>        | 1360 | 110 | 2456 | 37 |
| <i>Vidua chalybeata</i>             | 1519 | 110 | 678  | 37 |

**Таблица 7: Сводная таблица с характеристикой кассетного интрона для таксономической группы Amphibia. Сортировка по возрастанию количества нуклеотидов до стоп-кодона в “кассетном” интроне.**

| Название организма      | Кол-во нуклеотидов до стоп-кодона в интроне | Длина 1-го экзона в кассете | Длина кассетного интрона | Длина 2-го экзона в кассете |
|-------------------------|---|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| Ambystoma mexicanum     | 1   | 110                         | 10340                    | 37                          |
| Pelobates fuscus        | 1   | 110                         | 2424                     | 37                          |
| Bufo bufo               | 7   | 110                         | 3002                     | 37                          |
| Bufo gargarizans        | 7   | 110                         | 2879                     | 37                          |
| Hyperolius riggenbachi  | 10  | 110                         | 3902                     | 37                          |
| Rana temporaria         | 10  | 110                         | 3036                     | 37                          |
| Pseudophryne corroboree | 19  | 110                         | 3561                     | 37                          |
| Spea bombifrons         | 25  | 110                         | 2840                     | 37                          |
| Engystomops pustulosus  | 25  | 110                         | 2004                     | 37                          |
| Nanorana parkeri        | 25  | 110                         | 3038                     | 37                          |
| Hyla sarda              | 25  | 110                         | 3029                     | 37                          |
| Pyxicephalus adspersus  | 25  | 110                         | 2917                     | 37                          |
| Ranitomeya imitator     | 37  | 110                         | 2650                     | 37                          |
| Xenopus tropicalis      | 46  | 110                         | 2596                     | 37                          |
| Xenopus laevis          | 52  | 110                         | 3791                     | 37                          |
| Geotrypetes seraphini   | 55  | 110                         | 3065                     | 37                          |
| Rhinatrema bivittatum   | 103   | 110                         | 4053                     | 37                          |
| Pleurodeles waltl       | 151   | 110                         | 3245                     | 37                          |
| Microcaecilia unicolor  | 187   | 110                         | 2784                     | 37                          |

**Таблица 8: Сводная таблица с характеристикой кассетного интрона для таксономической группы Lepidosauria. Сортировка по возрастанию количества нуклеотидов до стоп-кодона в “кассетном” интроне.**

| Название организма                   | Кол-во нуклеотидов до стоп-кодона в интроне | Длина 1-го экзона в кассете | Длина кассетного интрона | Длина 2-го экзона в кассете |
|--------------------------------------|---|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| <i>Python bivittatus</i>             | 1   | 110                         | 2374                     | 37                          |
| <i>Notechis scutatus</i>             | 1   | 110                         | 2507                     | 37                          |
| <i>Pseudonaja textilis</i>           | 1   | 110                         | 2519                     | 37                          |
| <i>Anolis sagrei</i>                 | 1   | 110                         | 4667                     | 37                          |
| <i>Pituophis catenifer annectens</i> | 1   | 110                         | 2420                     | 37                          |
| <i>Lacerta agilis</i>                | 1   | 110                         | 2499                     | 37                          |
| <i>Candoia aspera</i>                | 1   | 110                         | 2293                     | 37                          |
| <i>Sphaerodactylus townsendi</i>     | 1   | 110                         | 2825                     | 37                          |
| <i>Thamnophis elegans</i>            | 1   | 110                         | 2426                     | 37                          |
| <i>Ahaetulla prasina</i>             | 1   | 110                         | 2432                     | 37                          |
| <i>Gekko japonicus</i>               | 1   | 110                         | 2924                     | 37                          |
| <i>Crotalus tigris</i>               | 1   | 110                         | 3091                     | 37                          |
| <i>Pogona vitticeps</i>              | 1   | 110                         | 2746                     | 37                          |
| <i>Podarcis raffonei</i>             | 1   | 110                         | 2495                     | 37                          |
| <i>Protobothrops mucrosquamatus</i>  | 1   | 110                         | 3264                     | 37                          |
| <i>Varanus komodoensis</i>           | 1   | 110                         | 2658                     | 37                          |
| <i>Pantherophis guttatus</i>         | 1   | 110                         | 2411                     | 37                          |
| <i>Elgaria multicarinata webbiai</i> | 1   | 110                         | 2800                     | 37                          |
| <i>Rhineura floridana</i>            | 1   | 110                         | 2581                     | 37                          |
| <i>Podarcis muralis</i>              | 1   | 110                         | 2506                     | 37                          |
| <i>Heteronotia binoei</i>            | 1   | 110                         | 3002                     | 37                          |

|                               |   |     |      |    |
|-------------------------------|---|-----|------|----|
| <i>Anolis carolinensis</i>    | 1 | 110 | 4026 | 37 |
| <i>Erythrolamprus reginae</i> | 1 | 110 | 2638 | 37 |
| <i>Sceloporus undulatus</i>   | 1 | 110 | 2380 | 37 |
| <i>Eublepharis macularius</i> | 1 | 110 | 2577 | 37 |
| <i>Euleptes europaea</i>      | 1 | 110 | 2901 | 37 |
| <i>Hemicordylus capensis</i>  | 1 | 110 | 2830 | 37 |
| <i>Zootoca vivipara</i>       | 1 | 110 | 2516 | 37 |

## Список литературы

1. Organ-specific transcripts as a source of gene multifunctionality: lessons learned from the *Drosophila melanogaster* *srb* (*Dm nxf1*) gene / L. Mamon [и др.] // *Biol. Commun.* — 2019. — Т. 64, № 2. — С. 146–157.
2. *Juneau K., Nislow C., Davis R. W.* Introns regulate RNA and protein abundance in yeast // *Genetics.* — 2006. — Vol. 174, no. 1. — P. 511–518. — DOI: [10.1534/genetics.106.058560](https://doi.org/10.1534/genetics.106.058560). — URL: <https://doi.org/10.1534/genetics.106.058560>.
3. *Mamon L. A., Kliver S. F., Golubkova E. V.* Evolutionarily conserved features of the retained intron in alternative transcripts of the *nxf1* (nuclear export factor) genes in different organisms // *Open J. Genet.* — 2013. — Т. 03, № 03. — С. 159–170.
4. *Jo B.-S., Choi S. S.* Introns: The Functional Benefits of Introns in Genomes // *Genomics & Informatics.* — 2015. — Vol. 13, no. 4. — P. 112. — DOI: [10.5808/gi.2015.13.4.112](https://doi.org/10.5808/gi.2015.13.4.112). — URL: <https://doi.org/10.5808/gi.2015.13.4.112>.
5. Alternative splicing and nonsense-mediated decay modulate expression of important regulatory genes in *Arabidopsis* / M. Kalyna [et al.] // *Nucleic Acids Research.* — 2012. — Vol. 40, no. 6. — P. 2454–2469. — DOI: [10.1093/nar/gkr932](https://doi.org/10.1093/nar/gkr932). — URL: <https://doi.org/10.1093/nar/gkr932>.
6. Splicing as a requirement for biogenesis of functional 16S mRNA of simian virus 40 / P. Gruss [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* — 1979. — Vol. 76, no. 9. — P. 4317–4321. — DOI: [10.1073/pnas.76.9.4317](https://doi.org/10.1073/pnas.76.9.4317). — URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.76.9.4317>.
7. *Valencia P., Dias A. P., Reed R.* Splicing promotes rapid and efficient mRNA export in mammalian cells // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* — 2008. — Vol. 105, no. 9. — P. 3386–3391. — DOI: [10.1073/pnas.0800250105](https://doi.org/10.1073/pnas.0800250105). — URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.0800250105>.
8. *Roy S. W., Gilbert W.* The evolution of spliceosomal introns: Patterns, puzzles and progress // *Nature Reviews Genetics.* — 2006. — Vol. 7, no. 3. — P. 211–221. — DOI: [10.1038/nrg1807](https://doi.org/10.1038/nrg1807). — URL: <https://doi.org/10.1038/nrg1807>.
9. *Schwartz S., Meshorer E., Ast G.* Chromatin organization marks exon-intron structure // *Nature Structural and Molecular Biology.* — 2009. — Vol. 16, no. 9. — P. 990–995. — DOI: [10.1038/nsmb.1659](https://doi.org/10.1038/nsmb.1659). — URL: <https://doi.org/10.1038/nsmb.1659>.
10. *Comeron J. M., Williford A., Kliman R. M.* The Hill-Robertson effect: Evolutionary consequences of weak selection and linkage in finite populations // *Heredity.* — 2008. — Vol. 100, no. 1. — P. 19–31. — DOI: [10.1038/sj.hdy.6801059](https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6801059). — URL: <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6801059>.

11. The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations / D. Welter [et al.] // *Nucleic Acids Research*. — 2014. — Vol. 42, no. D1. — P. 1001–1006. — DOI: [10.1093/nar/gkt1229](https://doi.org/10.1093/nar/gkt1229).
12. *Golubkova E., Shidlovskii Y., Schedl P.* The evolutionarily conserved family of nuclear export factor (NXF) in *Drosophila melanogaster* // *Drosophila Melanogaster: Life Cycle, Genetics and Development*. — 2012. — P. 63–82. — Published December 2015.
13. Retroviral Constitutive Transport Element Evolved from Cellular TAP(NXF1)-Binding Sequences / A. S. Zolotukhin [et al.] // *Journal of Virology*. — 2001. — Vol. 75, no. 12. — P. 5567–5575. — DOI: [10.1128/jvi.75.12.5567-5575.2001](https://doi.org/10.1128/jvi.75.12.5567-5575.2001).
14. *Herold A., Klymenko T., Izaurralde E.* TAP (NXF1) Belongs to a Multigene Family of Putative RNA Export Factors with a Conserved Modular Architecture // *Molecular and Cellular Biology*. — 2000. — Vol. 20, no. 23. — P. 8996–9008. — DOI: [10.1128/mcb.20.23.8996-9008.2000](https://doi.org/10.1128/mcb.20.23.8996-9008.2000).
15. Testis-specific products of the *Drosophila melanogaster* *sbr* gene, encoding nuclear export factor 1, are necessary for male fertility / V. Ginanova [и др.] // *Gene*. — 2016. — Февр. — Т. 577, № 2. — С. 153–160.
16. The RNA-binding protein SBR (dm NXF1) is required for the constitution of medulla boundaries in *Drosophila melanogaster* optic lobes / L. Mamon [и др.] // *Cells*. — 2021. — Май. — Т. 10, № 5. — С. 1144.
17. *Bondaruk D. D., Golubkova E. V., Mamon L. A.* Contribution of the intron retained in the *Nxf1* gene transcript to the phylogeny of the order *Chiroptera* // *Ekol. Genet.* — 2022. — Сент. — Т. 20, № 2. — С. 73–88.
18. Database resources of the National Center for Biotechnology Information / E. W. Sayers, E. E. Bolton, J. R. Brister, [et al.] // *Nucleic Acids Research*. — 2022. — Vol. 50, no. D1. — P. D20–D26. — DOI: [10.1093/nar/gkab1112](https://doi.org/10.1093/nar/gkab1112). — URL: <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1112>.
19. *McKinney W.* Data Structures for Statistical Computing in Python. — 2010.
20. *Python Software Foundation.* Python, Version 3.12. — 2023. — <https://www.python.org/downloads/release/python-3120/>.
21. Jupyter Notebooks – a publishing format for reproducible computational workflows / T. Kluyver [et al.]. — 2016. — DOI: [10.3233/978-1-61499-649-1-87](https://doi.org/10.3233/978-1-61499-649-1-87). — URL: <https://doi.org/10.3233/978-1-61499-649-1-87>.
22. Biopython: Freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics / P. J. A. Cock [et al.] // *Bioinformatics*. — 2009. — Vol. 25, no. 11. — P. 1422–1423. — DOI: [10.1093/bioinformatics/btp163](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp163). — URL: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp163>.

23. Exploring and retrieving sequence and metadata for species across the tree of life with NCBI Datasets / N. A. O’Leary [et al.] // Scientific Data. — 2024. — Vol. 11, no. 1. — P. 732. — DOI: [10.1038/s41597-024-03571-y](https://doi.org/10.1038/s41597-024-03571-y). — URL: <https://doi.org/10.1038/s41597-024-03571-y>.
24. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs / S. F. Altschul [et al.] // Nucleic Acids Research. — 1997. — Vol. 25, no. 17. — P. 3389–3402. — DOI: [10.1093/nar/25.17.3389](https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389). — URL: <https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389>.
25. *Katoh K., Standley D. M.* MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability // Molecular Biology and Evolution. — 2013. — Vol. 30, no. 4. — P. 772–780. — DOI: [10.1093/molbev/mst010](https://doi.org/10.1093/molbev/mst010). — URL: <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>.
26. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit / K. Okonechnikov [et al.] // Bioinformatics. — 2012. — Vol. 28, no. 8. — P. 1166–1167. — DOI: [10.1093/bioinformatics/bts091](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091). — URL: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>.
27. The MEME Suite / T. L. Bailey [et al.] // Nucleic Acids Research. — 2015. — Vol. 43, W1. — W39–W49. — DOI: [10.1093/nar/gkv416](https://doi.org/10.1093/nar/gkv416). — URL: <https://doi.org/10.1093/nar/gkv416>.
28. Quantifying similarity between motifs / S. Gupta [et al.] // Genome Biology. — 2007. — Vol. 8, no. 2. — R24. — DOI: [10.1186/gb-2007-8-2-r24](https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-2-r24). — URL: <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-2-r24>.
29. ViennaRNA Package 2.0 / R. Lorenz [et al.] // Algorithms for Molecular Biology. — 2011. — Vol. 6, no. 1. — P. 26. — DOI: [10.1186/1748-7188-6-26](https://doi.org/10.1186/1748-7188-6-26). — URL: <https://doi.org/10.1186/1748-7188-6-26>.
30. *Yeo G., Burge C. B.* Maximum entropy modeling of short sequence motifs with applications to RNA splicing signals // Bioinformatics. — 2004. — Vol. 20, no. 3. — P. 327–335. — DOI: [10.1093/bioinformatics/btg005](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg005). — URL: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg005>.
31. IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era / B. Q. Minh [et al.] // Molecular Biology and Evolution. — 2020. — Vol. 37, no. 5. — P. 1530–1534. — DOI: [10.1093/molbev/msaa015](https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015). — URL: <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015>.
32. *Rambaut A.* FigTree v1.4.4. — 2018. — Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
33. *QuantStack, contributors mamba.* Mamba: The Fast Cross-Platform Package Manager. — 2024. — <https://github.com/mamba-org/mamba>.
34. *GitHub, Inc.* GitHub. — 2008. — URL: <https://github.com>.

35. *Lamport L.* LaTeX: A Document Preparation System. — 2nd ed. — Reading, Massachusetts : Addison-Wesley, 1994.
36. *TablesGenerator.com.* Tables Generator – LaTeX Tables Editor. — 2025. — URL: <https://www.tablesgenerator.com>.
37. *diagrams.net.* draw.io - Online Diagram Software. — 2025. — URL: <https://www.diagrams.net/>.
38. *Canonical Ltd.* Ubuntu 22.04 LTS (Jammy Jellyfish). — 2022. — <https://releases.ubuntu.com/22.04/>.
39. Replication of Human Herpesvirus 6A and 6B Is Associated with Distinct Nuclear Domains / F. Tajima [et al.] // Journal of Virology. — 2001. — Vol. 75, no. 12. — P. 5567–5575. — DOI: [10.1128/JVI.75.12.5567-5575.2001](https://doi.org/10.1128/JVI.75.12.5567-5575.2001). — URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.75.12.5567-5575.2001>.



## Благодарности

Я хотел бы поблагодарить моего научного руководителя, Голубкову Елену Валерьевну, и моего куратора, Бондарука Дмитрия Денисовича, за постоянную поддержку и помощь в обсуждении результатов работы.

Отдельно я хотел бы поблагодарить Абрамсон Наталью Иосифовну за повторное рецензирование работы моего авторства.

Также хочу выразить благодарность преподавателям программы “Биоинформатика” и кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ, и коллективу преподавателей и ассистентов Института Биоинформатики за полученные знания в процессе обучения, с помощью которых стало возможным осуществление данной работы.