

Кариотип хохлатого оленя (*Elaphodus cephalophus*): описание и сравнительная геномика

Иванова Е.^{1,2*}, Янг Ф.³, Фергюсон-Смит М.⁴, Ларкин Д.⁵, Графодатский А.¹,
Проскурякова А.¹

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

² Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Школа медицины и наук о жизни, Шандонский технологический университет, Цзыбо, Китай

⁴ Кембриджский ресурсный центр сравнительной геномики, Кембриджский университет,
Кембридж, Великобритания

⁵ Королевский ветеринарный колледж, Лондон, Великобритания

* ekater1na.s.ivanova@yandex.ru

Ключевые слова: *Camelus dromedarius*; *Bos taurus*; сравнительный хромосомный пэинтинг; бактериальные искусственные хромосомы (BAC); конститутивный гетерохроматин; рибосомные гены; теломера

Мотивация и цель: Хохлатый олень (*Elaphodus cephalophus*) входит в состав семейства оленевых (Cervidae) и является единственным представителем рода *Elaphodus*. Филогенетическое положение вида до сих пор остается предметом дискуссий, однако, согласно последним исследованиям, род *Elaphodus* является сестринским родом для *Muntiacus* и относится к одной монофилетической группе с мунтжаками (Muntiacini) [1]. Триба Muntiacini – одна из интереснейших с точки зрения цитогенетики за счет многочисленных слияний хромосом в кариотипах этих видов. Несмотря на пристальное внимание исследователей к мунтжакам, наличие большого количества цитогенетических и геномных исследований, хохлатый олень – вид, признанный находящимся под угрозой исчезновения, мало изучен относительно других представителей своей трибы. Для хохлатого оленя не получена качественная сборка генома, нет подробной хромосомной карты, на основе которой можно было бы оценить внутривидовые перестройки и провести сравнение с другими видами оленей. Таким образом, целью нашей работы стало получение как можно более полных данных об организации кариотипа хохлатого оленя.

Методы и алгоритмы: Клеточные культуры фибробластов для получения суспензий метафазных хромосом [2] были предоставлены Кембриджским ресурсным центром. Описание кариотипа было осуществлено с применением рутинной окраски хромосом Гимзой и различных методов бэндинга цитогенетики (GTG, CBG, CDAG) [3–5]. Для сравнения кариотипа хохлатого оленя с кариотипами других видов жвачных были локализованы зонды, содержащие BAC-клоны коровы (*Bos taurus*) (CHORI-240) [6] и сортированные хромосомы верблюда (*Camelus dromedarius*) [7], методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) [8].

Результаты: Анализ кариотипа хохлатого оленя ($2n = 48$) выявил наличие нео-X и нео-Y хромосом. Такой вариант кариотипа уже был ранее описан [9]. Были локализованы 75 BAC-клонов, соответствующих 29 аутосомам коровы и 29 BAC-клонов с X-хромосомы коровы на хромосомах хохлатого оленя. В ранее

опубликованной работе [10] было выявлено наличие горячих точек эволюции в кариотипе черного мунтжака (*Muntiacus crinifrons*) на хромосомах, гомологичных 3, 22, 10, 33, 24, 30 хромосомам верблюда: 3/22/3/22, 33/10, 24/30. Для проверки наличия перестроек в этих горячих точках у хохлатого оленя выборочно были локализованы зонды, содержащие вышеперечисленные сортированные хромосомы верблюда. Наличие двух из трех инверсий (3/22/3/22/3/22 и 24/30/24) в кариотипе хохлатого оленя подтвердилось как с помощью пэйнтинг-проб верблюда, так и данными локализации ВАС-клонов. CDAG окрашивание хромосом хохлатого оленя выявило накопление гетерохроматина с образованием крупных блоков на X- и Y-хромосомах.

Согласно полученным данным, кариотип хохлатого оленя образовался за счет тандемных слияний, ауtosомных транслокаций на половые хромосомы, инверсий и экспансии гетерохроматина. Локализация ВАС-клонов с X-хромосомы коровы показала, что X-хромосома хохлатого оленя обладает схожим порядком консервативных блоков с другими представителями настоящих оленей (*Cervinae*), у общего предка которых произошли одна инверсия и изменение положения центромеры. Как и у других представителей трибы мунтжаков [11], у хохлатого оленя произошла транслокация X-хромосомы на аутоcому с образованием нео-X-хромосомы.

Выводы: В результате работы была получена первая сравнительная хромосомная карта хохлатого оленя с ВАС-клонами коровы. Порядок ВАС-клонов показал, что кариотип хохлатого оленя образовался за счет тандемных слияний. С помощью FISH был показан разрыв предкового элемента, соответствующего хромосоме 7 коровы, и слияние с р-плечом хромосомы 7 хохлатого оленя. Также показана инверсия на хромосоме 3 хохлатого оленя фрагмента, соответствующего хромосоме 24 коровы. В ходе эволюции X-хромосомы у хохлатого оленя произошли аутоcомная транслокация и накопление крупного блока гетерохроматина, однако X-хромосома сохраняет порядок консервативных сегментов, характерный для настоящих оленей.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ (19-14-00034) и грантом программы фундаментальных научных исследований FWGZ-2021-0015 (122011800125-7).

Karyotype of tufted deer (*Elaphodus cephalophus*): description and comparative genomics

Ivanova E.^{1,2*}, Yang F.³, Ferguson-Smith M.⁴, Larkin D.⁵, Graphodatsky A.¹, Proskuryakova A.¹

¹ Institute of Molecular and Cellular Biology, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

³ School of Medicine and Life Sciences, Shandong University of Technology, Zibo, China

⁴ Cambridge Resource Centre for Comparative Genomics, University of Cambridge, Cambridge, UK

⁵ Royal Veterinary College, London, UK

* ekater1na.s.ivanova@yandex.ru

Motivation and Aim: Tufted deer (*Elaphodus cephalophus*) is a part of the deer family (*Cervidae*) and is the only member of genus *Elaphodus*. The phylogenetic position of the species is still a matter of debate, however, according to recent studies, the genus

Elaphodus is considered to be a sister genus to *Muntiacus*, and belongs to the same monophyletic group with muntjacs (Muntiacini) [1]. The tribe Muntiacini is one of the most interesting for cytogenetics due to numerous chromosome fusions in the karyotypes of these species. Despite the close attention of researchers to muntjacs and a large number of cytogenetic and genomic studies, the tufted deer, a species recognized as endangered, has been studied relatively superficially to other representatives of its tribe. A high-quality genome assembly has not been obtained for the tufted deer; there is no detailed chromosomal map on the basis of which intrachromosomal rearrangements could be assessed and comparisons made with other deer species. Thus, the goal of our work was to obtain the most complete data possible on the organization of tufted deer karyotype.

Methods and Algorithms: Fibroblast cell cultures to obtain suspensions of metaphase chromosomes [2] were provided by the Cambridge Resource Centre. Karyotype description was carried out using routine chromosome staining and various banding cytogenetics methods (GTG, CBG, CDAG) [3–5]. To compare the karyotype of the tufted deer with the karyotypes of other ruminant species, probes containing cattle BAC clones of (*Bos taurus*) (CHORI-240) [6] and sorted chromosomes of dromedary (*Camelus dromedarius*) [7] were localized using fluorescent *in situ* hybridization method (FISH) [8].

Results: Analysis of the karyotype of a tufted deer ($2n = 48$) revealed the presence of neo-X and neo-Y chromosomes. This variant of karyotype has already been described previously [9]. 75 BAC clones corresponding to 29 cattle autosomes and 29 BAC clones from the cattle X chromosome were localized on the tufted deer chromosomes. Previously published work [10] revealed the presence of evolutionary breakpoint regions in the black muntjac (*Muntiacus crinifrons*) karyotype on chromosomes homologous to dromedary chromosomes 3, 22, 10, 33, 24, 30: 3/22/3/22, 33/10, 24/30. To test for the presence of the rearrangements at these hotspots in tufted deer, probes containing the sorted camel chromosomes were selectively localized. The presence of two of three inversions (3/22/3/22/3/22 and 24/30/24) in the tufted deer karyotype was confirmed both by chromosome painting and by BAC clones localization. CDAG staining of tufted deer chromosomes revealed accumulation of heterochromatin with the formation of large blocks on the X and Y chromosomes.

According to obtained data, the karyotype of the tufted deer was formed due to tandem fusions, autosomal translocations to sex chromosomes, inversions and expansion of heterochromatin. Localization of cattle X chromosomal BAC clones showed that the X chromosome of the tufted deer has a similar order of conserved blocks with other representatives of Cervinae, in whose common ancestor there was one inversion and the centromere reposition. Like other representatives of the muntjac tribe [11], the tufted deer underwent a translocation of the X chromosome onto an autosome with the formation of a neo-X chromosome.

Conclusions: As a result, the first comparative chromosome map of a tufted deer with cattle BAC clones was obtained. The order of the cattle BAC clones showed that the tufted deer karyotype was formed by tandem fusions. FISH showed a break in the ancestral element corresponding to cattle chromosome 7 and a fusion with the p-arm of tufted deer chromosome 7. An inversion was also shown on the chromosome 3 of tufted deer of a fragment corresponding to the cattle chromosome 24. During the evolution of the X chromosome in tufted deer, an autosomal translocation and accumulation of a large

block of heterochromatin occurred, but the X chromosome retains the order of conservative segments characteristic of Cervinae subfamily.

Funding: The study was supported by the research grant No. 19-14-00034 from the Russian Science Foundation, the research grant FWGZ-2021-0015 (122011800125-7) from the Ministry of Science and Higher Education (Russia) via the Institute of Molecular and Cellular Biology.

Список литературы/References

1. Jiang L. et al. Sequencing and Characterization of the Complete Mitochondrial Genome of Tufted Deer, *Elaphodus cephalophus* (Artiodactyla: Cervidae) and its Phylogenetic Position within the Family Cervidae. *Pak J Zool.* 2023;55(5):2019
2. Romanenko S.A. et al. Segmental paleotetraploidy revealed in sterlet (*Acipenser ruthenus*) genome by chromosome painting. *Mol Cytogenet.* 2015;8(1):90
3. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet.* 1971;298(7731):971-972
4. Sumner A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res.* 1972;75(1):304-306
5. Lemskaya N.A. et al. A combined banding method that allows the reliable identification of chromosomes as well as differentiation of AT- and GC-rich heterochromatin. *Chromosom. Res.* 2018; 12 (26):307-315
6. <https://bacpacresources.org>
7. Balmus G. et al. Cross-species chromosome painting among camel, cattle, pig and human: further insights into the putative Cetartiodactyla ancestral karyotype. *Chromosome Res.* 2007;15:499-514
8. Liehr T. Fluorescence in situ hybridization (FISH). Springer, 2017
9. Shi L., Yang F., Kumamoto A. The chromosomes of tufted deer (*Elaphodus cephalophus*). *Cytogenet Genome Res.* 1991;56(3-4):189-192
10. Proskuryakova A.A. et al. Comparative studies of karyotypes in the Cervidae family. *Cytogenet Genome Res.* 2022;162(6):312-322
11. Proskuryakova A.A. et al. Comparative studies of X chromosomes in Cervidae family. *Sci Rep.* 2023;13(1):11992