

А.В. Бутвиловский, В.Э. Бутвиловский, А.В. Давыдов

ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ, АНАЛИЗИРУЕМЫЕ В РАМКАХ ТЕОРИИ НАПРАВЛЕННОГО МУТАЦИОННОГО ДАВЛЕНИЯ

Белорусский государственный медицинский университет

Рассмотрены показатели, наиболее часто анализируемые в рамках теории направленного мутационного давления Н. Суеоки, представлены примеры их использования для решения задач молекулярной биологии.

Ключевые слова: *направленное мутационное давление, теория Н. Суеоки, нейтральность замен нуклеотидов, ГЦ3-содержание, равновесие с мутационным давлением, селективные ограничения.*

A.V. Butvilovsky, V.E. Butvilovsky, A.V. Davidov

THE MAIN PARAMETERS ANALYZED IN THE CONTEXT OF A DIRECTIONAL MUTATION PRESSURE'S THEORY

We examined mostly often analyzed parameters related to a directional mutation pressure's theory. Examples of their usage for solving problems in the field of molecular biology are described.

Key words: *directional mutation pressure, theory of N. Sueoka, nucleotide substitution's neutrality, GC3-content, equilibrium with mutation pressure, selective constrains.*

Теория мутационного давления является одной из фундаментальных теорий молекулярной эволюции. В 60-е годы XX века Н. Суеока разработал первичный вариант теории мутационного давления, согласно которой основной причиной возникновения генных мутаций является направленное мутационное давление [10].

Мутационное давление – это фактор молекулярной эволюции, дающий материал для естественного отбора и обусловленный повышенной частотой возникновения и



фиксации замен А и Т на Г и Ц относительно частоты возникновения и фиксации замен Г и Ц на А и Т (ГЦ-давление), или наоборот (АТ-давление, рис. 1) [9].

Рисунок 1. Схема направлений мутационного давления

Общим проявлением мутационного давления является закономерное снижение или повышение уровня ГЦ-насыщенности генома (или хромосомы) в ряду поколений. Наиболее вероятными причинами возникновения мутационного давления являются ферментативное и спонтанное дезаминирование нуклеотидов и возникновение ошибок в процессе репликации и репарации ДНК.

В рамках данной теории возможно определение и анализ таких показателей как [9]:

1. направление и сила мутационного давления,
2. содержание гуанина и цитозина в третьем положении 56-ти кодонов таблицы генетического кода,
3. степень нейтральности замен нуклеотидов по первому и второму положениям кодона,
4. степень селективных ограничений, налагаемых на замены нуклеотидов по первому и второму положениям кодона,
5. точка равновесия отбора и мутационного давления,
6. отклонения от точки равновесия с мутационным давлением,
7. минимальное и максимальное (возможное) среднее содержание гуанина и цитозина в первом и втором положении кодона.

Необходимо отметить, что большинство исследований ограничивается применением только первого, третьего и четвертого из вышеназванных показателей. Однако определение остальных параметров также представляет интерес, поскольку позволяет получить биологически важную информацию.

Мутационное давление. Данный показатель обозначается μ_D и определяется по формуле:

$$m_D = \frac{u}{u + v}$$

где $u = n(A \rightarrow G) + n(T \rightarrow C) + n(T \rightarrow G) + n(A \rightarrow C)$, $v = n(G \rightarrow A) + n(C \rightarrow T) + n(G \rightarrow T) + n(C \rightarrow A)$, $n(X \rightarrow Y)$ – число замен нуклеотида X на нуклеотид Y.

Если показатель μ_D меньше 0,5, то последовательности изучаемых молекулы РНК или ДНК находятся под влиянием направленного АТ-давления. Если μ_D больше 0,5 – под влиянием направленного ГЦ-давления, а если $\mu_D = 0,5$ – в равновесии с мутационным давлением [2].

Показатель мутационного давления может рассчитываться как для всей молекулы нуклеиновой кислоты в целом, так и по отдельным положениям нуклеотида в кодоне [7].

Биологическое значение мутационного давления связано с тем, что оно определяет стратегию кодирования белка в мРНК или ДНК и его аминокислотный состав. Так, в ходе изучения этих показателей для алкогольдегидрогеназ класса 3 хордовых установлено, что динамика стратегии их кодирования в мРНК заключается в уменьшении величины μ_D и изменении направления мутационного давления (с ГЦ на АУ), что приводит к снижению ГЦ-насыщенности, содержания гуанина и цитозина в третьем положении нуклеотида в кодоне, увеличению содержания претерминальных кодонов, уменьшению значений RSCU для синонимичных ГЦЗ-кодонов, увеличению содержания аминокислот группы FYMINK и уменьшению содержания аминокислот группы GARP [5].

С мутационным давлением наиболее связан такой показатель как содержание гуанина и цитозина в третьем положении кодона. Бутвиловским А.В. и соавт. [1] установлено, что значения показателей мутационного давления в мРНК, кодирующих алкогольдегидрогеназы класса 3 хордовых животных, связаны с ГЦЗ-содержанием ($r = 0,97 \pm 0,093$, $p < 0,001$). Это подтверждает утверждение Н. Суеоки о том, что ГЦЗ-содержание может рассматриваться как показатель эквивалентный мутационному давлению [9]. Тогда следует ожидать, что значениям μ_D , равным 0 и 1, будет соответствовать содержание гуанина и цитозина в третьем положении нуклеотида в кодоне 0% и 100%, соответственно. Однако предпринятая попытка экстраполяции тренда не привела к соблюдению данного условия, что было объяснено авторами малым количеством точек, используемых для построения тренда [1].

Содержание гуанина и цитозина в третьем положении 56-ти кодонов таблицы генетического кода. Для более корректного отражения взаимосвязи между мутационным давлением и ГЦЗ-содержанием Н. Суеока считает целесообразным вычислять содержание гуанина и цитозина только в 56 из 64 кодонов таблицы генетического кода [9]. Стопкодоны и трехкратно вырожденные серии кодонов (кодирующие изолейцин в стандартной таблице генкода) рекомендуется исключать при вычислении ГЦ-содержания в третьем положении кодона, а единичные кодоны (кодирующие метионин и триптофан) – при вычислении ГЦ-содержания во всех положениях кодона.

Степень нейтральности замен и степень селективных ограничений, налагаемых на замены нуклеотидов по первому и второму положениям кодона. Определение этих взаимосвязанных показателей основано на том, что большинство замен нуклеотидов в третьем положении кодона являются синонимичными, и, следовательно, се-

лективно нейтральными. Замены во втором и большинство замен в первом положении кодона являются несинонимичными, и, следовательно, подверженными действию селективных ограничений.

Для определения степени нейтральности замен строится график зависимости содержания Г и Ц в третьем положении кодона от среднего содержания Г и Ц в первом и втором положениях изучаемых РНК (или ДНК) ряда животных (рис. 2).

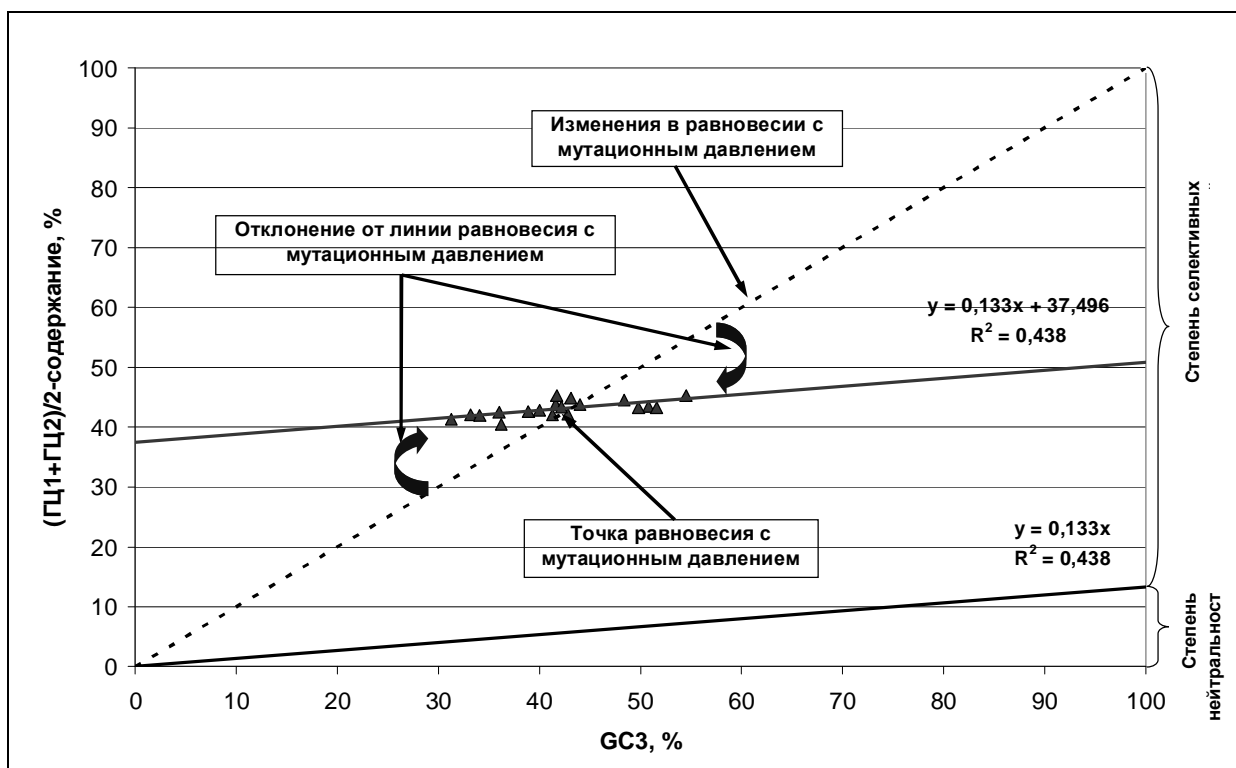


Рисунок 2. Зависимость между $(ГЦ1+ГЦ2)/2$ -содержанием и $ГЦ3$ -насыщенностью мРНК, кодирующих цитохром *b* хордовых

Наклон линии тренда на рис. 2 равен 0,133. Этот показатель характеризует степень нейтральности замен нуклеотидов, возможных в первом и втором положениях кодона изучаемых мРНК, т.е. 13,3% из них являются нейтральными, а на остальную часть замен (86,7%) накладываются селективные ограничения. В настоящее время степень нейтральности замен определена для мРНК, кодирующих большое количество белков (табл. 1).

Значение этого показателя легко рассмотреть на примере инсулина и его предшественников. Так, нейтральность замен нуклеотидов в мРНК, кодирующей препроинсулин, равна 29,2%; участку мРНК, соответствующему проинсулину (от препроинсулина отщепляется сигнальный пептид) – 22,9%; а участку мРНК, соответствующему функционально активному инсулину (от проинсулина отщепляется С-пептид) – лишь 4,2% [8].

Таблица 1

Степень нейтральности замен в мРНК, кодирующих ряд белков хордовых

Белок	Нейтральность ₁₂ , %	Степень селективных ограничений ₁₂ , %
креатинкиназа	3,3	96,7
инсулин	4,2	95,8
рецептор инсулина	4,2	95,8
аденилатциклаза 9	5,8	94,2
алкогольдегидрогеназа 3	6,3	93,7
аквапорин	7,5	92,5
алкогольдегидрогеназа 1	9,7	90,3
цитохром b	13,3	86,7
проинсулин	22,9	77,1
препроинсулин	29,2	70,8
гормон роста 1	35,4	64,6

Интересным направлением дальнейшего использования этих показателей является их сопоставление с темпами эволюционных изменений изучаемых ДНК, мРНК и белков. Первая попытка такого сопоставления как количественная интеграция теорий М. Кимуры [6] и Н. Суеоки предпринята на примере алкогольдегидрогеназ (табл. 2) [3]. В результате этого исследования установлено, что для мРНК, кодирующих полисубстратные ферменты (алкогольдегидрогеназа класса 1) хордовых животных, характерна бóльшая нейтральность замен по первому и второму положениям кодона (и, соответственно, меньшие селективные ограничения) по сравнению с мРНК, кодирующими моносубстратные ферменты (алкогольдегидрогеназа класса 3). На основании полученных данных выдвинуто предположение о существовании прямой связи между темпами эволюционных изменений последовательностей генетических макромолекул и нейтральности замен нуклеотидов в соответствующих мРНК.

Таблица 2

Скорость эволюции алкогольдегидрогеназ классов 1 и 3 хордовых и кодирующих их мРНК, а также степень нейтральности замен в них

Класс АДГ	Скорость эволюции белка, По	Скорость эволюции мРНК, $\times 10^{-9}$ замен на сайт в год	Нейтральность замен по первому и второму положениям кодона
1	0,55	0,60	9,7%
3	0,25	0,40	6,3%

В результате последующих исследований данные показатели изучены еще для 17 белков, выделенных у животных, и установлено, что доля нейтральных замен по первому и второму положениям нуклеотида в кодонах мРНК, кодирующих креатинкиназу составила 3,3%, алкогольдегидрогеназы классов 1 и 3 – 9,7% и 6,3%, соответственно, препроинсулин – 29,2%, проинсулин – 22,9%, инсулин – 4,2%, С-пептид – 42,5%, сигнальный пептид – 31,7%, рецептор инсулина – 10,0%, каталитический и L2-домены рецептора инсулина – 6,6% и 3,3%, соответственно, инсулин-подобные факторы роста 1 и 2 – 7,9% и 25,0%, соответственно, препроинсулин-подобный фактор роста 1 – 14,0%, аденилатциклазу 9 – 5,8%, аквапорин 1 – 7,5%, интерлейкин $\beta 1$ – 29,2%, гормон роста – 35,4% и релаксин 3 – 49,2%. Величина коэффициента нейтральности выше для мРНК, соответствующих белкам с меньшими ограничениями на изменения структуры и функции [4]. Барковским Е.В. и соавт. [8] установлено, что между степенью нейтральности замен нуклеотидов изученных мРНК и темпами эволюционных изменений данных мРНК и кодируемых ими белков существуют достоверные сильные прямые корреляционные связи ($r=0,90\pm 0,106$, $p<0,001$ и $r=0,80\pm 0,145$, $p<0,001$).

Точка равновесия отбора и мутационного давления (equilibrium point, E_p). Вычисление этого показателя основано на том, что большинство замен в третьем положении кодона являются нейтральными и лишь часть трансверсий приводят к изменению кодируемой аминокислоты. Роль чаще происходящих транзиций, напротив, заключается в приведении ГЦЗ-содержания к равновесию с мутационным давлением [9].

Определение точки равновесия проводится с помощью графика, построенного на рис. 2, путем решения уравнения равновесия с мутационным давлением ($y=x$) и уравнения регрессионного анализа, полученного в ходе анализа изучаемых последовательностей (в данном примере – $y=0,133x+37,496$):

$$y = 0,133y + 37,496$$

$$y - 0,133y = 37,496$$

$$0,867y = 37,496$$

$$y = 43,25$$

Таким образом, при среднем содержании гуанина и цитозина в мРНК, кодирующих цитохром *b* хордовых, равном 43,25% их эволюционные изменения будут происходить в равновесии с мутационным давлением.

Перспективным направлением научных исследований является разработка метода вычисления степени нейтральности замен в третьем положении кодона, что позволит более точно вычислять равновесие между отбором и мутационным давлением.

Отклонения от точки равновесия с мутационным давлением. Данный показатель (α) вычисляется на основании графика, построенного на рис. 2, по формуле:

$$\alpha = 45^\circ - 100a,$$

где a – это коэффициент наклона линейного тренда, определяемый по уравнению регрессионного анализа. То есть для мРНК, кодирующих цитохром b хордовых, $\alpha = 45^\circ - 100 \times 0,133 = 31,7^\circ$.

Минимальное и максимальное (возможное) среднее содержание гуанина и цитозина в первом и втором положении кодона (A_{\min} и A_{\max}). Данные показатели также вычисляются на основании уравнения регрессионного анализа зависимости ГЦЗ-насыщенности от среднего содержания гуанина и цитозина в первом и втором положении кодона. Минимальное содержание отражает показатель b этого уравнения (37,496% в представленном примере), а максимальное вычисляется путем его решения при $x=100$:

$$y = 0,133x + 37,496$$

$$y = 0,133 \times 100 + 37,496$$

$$y = 13,3 + 37,496$$

$$y = 50,796$$

Таким образом, минимальное и максимальное возможное среднее содержание гуанина и цитозина в первом и втором положении кодона в мРНК, кодирующих цитохром b хордовых, составляет 37,496% и 50,796%, соответственно.

Анализ показателей, определенных в рамках теории Н. Суеоки, возможен в двух направлениях. Первое из них применимо к мутационному давлению и содержанию гуанина и цитозина в третьем положении 56-ти кодонов и заключается в их сопоставления с другими показателями, полученными при изучении *данных ДНК или мРНК* (общая ГЦЗ-насыщенность, ГЦЗ-содержание в отдельных положениях кодона, частота использования претерминальных и ГЦЗ-кодонов, особенности аминокислотного состава). Второе направление применимо для всех остальных показателей, анализируемых в рамках теории направленного мутационного давления, и предполагает их сопоставлении с данными, полученными для *ДНК или мРНК, кодирующих другие белки*. В целом, использование рассмотренных в данной статье показателей перспективно не только в теоретических, но и в прикладных научных исследованиях.

Литература:

1. Бутвиловский, А.В. Алкогольдегидрогеназы хордовых животных: монография / А.В. Бутвиловский, Е.В. Барковский, В.Э. Бутвиловский; под общ. ред. Е. В. Барковского. – Мн.: БГМУ, 2007. – 144 с.

2. Бутвиловский, А.В. Молекулярная эволюция: материалы к факультативному курсу: курс лекций / А.В. Бутвиловский, В.Э. Бутвиловский, Е.А.Черноус. – Минск: БГМУ, 2009. – 72 с.
3. Бутвиловский, А.В. О различиях селективных ограничений, налагаемых на моно- и полисубстратные изоферменты алкогольдегидрогеназ / А.В. Бутвиловский, Е.В. Барковский // Медицинский журнал. – Минск, 2007. – №2. – С. 23–26.
4. Взаимосвязь темпов эволюционных изменений ряда белков и нейтральности замен нуклеотидов в кодирующих их мРНК /Бутвиловский А.В. [и др.] // Сборник материалов первой Международной межвузовской конференции студентов и молодых ученых славянских государств “Молодежная наука и современность”. – Изд-во СГМА. – Смоленск, 2007. – С. 9-10.
5. Изменения в процессе эволюции мутационного давления в последовательностях мРНК, кодирующих алкогольдегидрогеназы класса 3 хордовых животных / Бутвиловский А.В. [и др.] // Медицинский журнал. – Минск, 2007. – №1. – С. 22–25.
6. Кимура, М. Молекулярная эволюция: теория нейтральности / М. Кимура. М., 1985. 398 с.
7. Основные методы молекулярной эволюции: монография / А.В. Бутвиловский [и др.]; под общ. ред. Е. В. Барковского. – Мн.: Белпринт, 2009. – 216 с.
8. Correlation of neutrality’s degree of mRNA nucleotide’s replacements with evolutionary rates of mRNAs and encoded by them proteins / Barkovsky E.V. [et al.] // Computational Phylogenetics and Molecular Systematics «CMPS 2007». Conference proceedings. – Moscow: KMK Scientific Press Ltd, 2007. – P. 13.
9. Sueoka, N. Directional mutation pressure and neutral molecular evolution / N. Sueoka // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 1988. – Vol. 85. – P. 2653-2657.
10. Sueoka, N. On the genetic basis of variation and heterogeneity of DNA base composition / N. Sueoka // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 1962. – Vol. 48. – P. 582 – 592.