

К. В. Юрченко

ГЕРМИНАТИВНЫЕ И СОМАТИЧЕСКИЕ МУТАЦИИ В ГЕНЕ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ЧЕЛОВЕКА ИМЕЮТ ПРОТИВОПОЛОЖНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ

Научный руководитель: канд. биол. наук, доц. В. В. Хрусталёв

Кафедра общей химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. Статья содержит сведения о преимущественном направлении герминативных (AT на GC) и соматических (GC на AT) мутаций в гене рецептора эпидермального фактора роста человека. Полученная информация необходима для разработки стратегии борьбы с резистентностью опухолевых клеток к таргетной терапии – ингибиторам активности рассматриваемого рецептора.

Ключевые слова: EGFR, человеческий ген, герминативные мутации, соматические мутации

Resume. The article contains information on preferable direction of herminative (AT to GC) and somatic (GC to AT) mutations in the gene coding for human epidermal growth factor receptor. Obtained data is necessary for the development of the strategy to overcome the resistance of cancer cells to target therapy – to inhibitors of the activity of the studied receptor.

Keywords: EGFR, human gene, herminative mutations, somatic mutations

Актуальность. Понимание механизмов и этиологии опухолеобразования даёт возможность вмешиваться в процесс на определённых стадиях и предотвращать развитие злокачественных новообразований. Причиной возникновения онкологического заболевания является определённая соматическая мутация в определённом гене. Мутировавшая клетка при этом получает способность к неконтролируемому делению. Конкретно в случае с геном рецептора эпидермального фактора роста онкогенные мутации чаще всего вызывают делецию в экзоне №19 (выпадает мотив LREA, остатки 746-750). В результате такой делеции тирозин-киназный (цитоплазматический) домен рецептора самоактивируется и запускает каскад реакций, в конечном итоге ведущих к неконтролируемой пролиферации клеток. Целый ряд новейших лекарственных препаратов был разработан для ингибирования тирозинкиназной активности EGFR. Часть из них являются низкомолекулярными соединениями, связывающимися непосредственно с тирозин-киназным доменом. Другие препараты являются моноклональными антителами к экстраклеточной части рецептора – они блокируют его активацию естественными лигандами. Эффективность таких препаратов заметно снижается в процессе мутагенеза опухолевых клеток. Те фрагменты белка, с которыми непосредственно взаимодействуют препараты таргетной терапии, подвергаются мутациям и перестают образовывать с ними прочные связи. Клетки, в которых происходят подобные мутации, продолжают неконтролируемо размножаться [1].

Данное исследование было проведено для анализа направленности герминативных и соматических мутаций в гене EGFR. Зная направление соматического мутагенеза можно начать дизайн новых противоопухолевых препаратов, связывающихся с наиболее устойчивыми к мутационному давлению фрагментами рецептора.

Цель: Провести анализ герминативных и соматических мутаций для человеческого гена EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor – Рецептор Эпидермального Фактора Роста), определить GC-насыщенность кодирующих участков гена и вычислить частоты использования нуклеотидов.

Материалы и методы. При помощи оригинального алгоритма VVK Protective Buffer (<http://chemres.bsmu.by>) была рассчитана GC-насыщенность в третьих положениях кодонов каждого экзона гена EGFR для человека и приматов. Нуклеотидные последовательности гена EGFR Homo Sapiens (человека), Pongo Abellii (орангутанга), Pan Troglodytes (шимпанзе), Pan Paniscus (бонобо), Gorilla Gorilla Gorilla (гориллы) были взяты из международной базы данных Ensembl. Соматические мутации человеческого гена EGFR, приводящие к развитию глиобластомы, взяты из международной базы данных COSMIC (Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer).

Результаты и их обсуждение. Экзоны гена EGFR отличаются значительными вариациями уровня GC-насыщенности третьих положений кодонов. В частности, в экзоне №15 уровень 3GC = 33%, а в следующем экзоне №16 3GC = 91,45%. Такие резкие колебания GC-насыщенности в третьих положениях кодонов на протяжении кодирующего участка гена сохраняются и у приматов (Рисунок 1). Частоты использования нуклеотидов в третьих положениях кодонов являются ретроспективными показателями. Многие миллионы лет могут уйти на фиксацию мутаций, которые приводят к возникновению сдвигов в значении 3GC. С другой стороны, рост и снижение частоты использования гуанина и цитозина в отдельных участках гена могут происходить и в данный момент времени: в человеческой популяции.

В двадцать одном экзоне гена EGFR, демонстрирующих уровень 3GC выше 50%, на данный момент времени зафиксированы 1594 герминативные точечные мутации. Среди них 55,97% составили транзиции, а 41,03% - трансверсии. Среди транзиций преобладали замены тимина на цитозин (19,01% от всех точечных мутаций) и аденина на гуанин (19,13%). Обратные им замены фиксировали достоверно реже (9,03% замен цитозина на тимин; 11,79% замен гуанина на аденин). Достоверные различия между частотами разнонаправленных трансверсий отсутствуют.

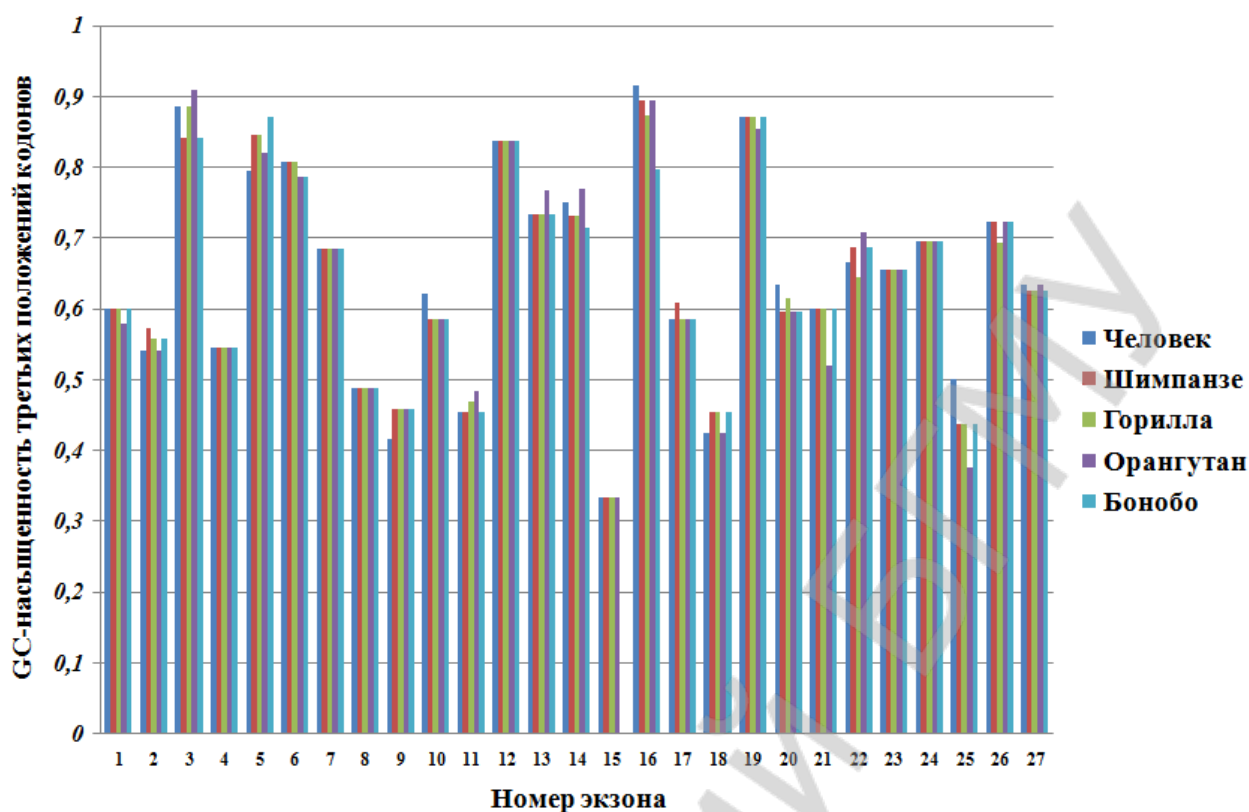


Рисунок 1 – Насыщенность третьих положений кодонов гуанином и цитозином для экзонов гена EGFR приматов

В шести экзонах гена EGFR с уровнем 3GC ниже 50% зафиксирована 241 нуклеотидная мутация. Как ни странно, направление транзиций в GC-бедных экзонах не отличается от такового в GC-богатых. Транзиции Т на С составили 21,99%, а мутации С на Т – 7,47%. Транзиции А на G составили 17,01%, а обратные им транзиции G на А – 9,13%. В отличие от GC-богатых экзонов, в экзонах с низким 3GC трансверсии Т на G происходят достоверно чаще (6,22%), чем трансверсии G на Т (1,66%). Соотношение транзиций и трансверсий в GC-бедных экзонах (55,6% и 44,4%) ближе к 1:1, чем в GC-богатых.

После анализа герминативных мутаций в интронах было установлено, что общее направление герминативных мутаций как в интронах, так и в экзонах совпадает. Ген дрейфует в сторону повышения GC-контента, в основном, за счёт транзиций.

Соматические мутации, обнаруженные в злокачественных новообразованиях ЦНС, имеют противоположное направление относительно герминативных. Процент транзиций С на Т составил 23,71%, процент транзиций G на А – 26,80%. Соматические транзиции обратного направления крайне редки: 0 и 3,1%, соответственно. Велик и процент трансверсий G на Т (12,37%), который достоверно превышает процент обратных замен (2,06%). Иными словами, соматические мутации ведут к снижению GC-насыщенности гена. Это согласуется с общими представлениями о причинах соматического мутагенеза. Окисление гуанина ведёт к образованию 8-оксогуанина, комплементарного аденину [2]. Дезаминирование цитозина приводит к образованию урацила, комплементарного аденину [2]. Дезаминирование гуанина приводит к образованию ксантина, который может образовывать водородные связи с

тимином [3]. Причина таких мутаций – окислительный стресс на фоне сбоя в системе репарации повреждений азотистых оснований в ДНК.

Вывод. Несмотря на вариации в GC-насыщенности на протяжении кодирующего участка гена EGFR, для всех его экзонов и интронов характерно одно и то же преимущественное направление герминативных мутаций: GC-давление, возникающее за счёт транзиций Т на С и А на G.

Основное направление соматического мутагенеза – транзиции по направлению GC на AT и трансверсии G на T. Зная основное направление мутаций в опухолевых клетках можно выбрать те фрагменты гена EGFR, которые в наибольшей степени защищены от несинонимичных мутаций этого направления, и сфокусировать «удар» противоопухолевых препаратов на кодируемые ими устойчивые фрагменты белка EGFR.

K. V. Yurchenko

HERMINATIVE AND SOMATIC MUTATIONS IN HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR GENE HAVE OPPOSITE DIRECTIONS

Tutor: PhD, associate professor V. V. Khrustalev

Department of General Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Литература

1. Morgensztern, D. EGFR Mutations in Non-Small-Cell Lung Cancer: Find, Divide, and Conquer / D. Morgensztern, K. Politi, R. S. Herbst. // JAMA Oncology. – 2015. – Vol.1. – P. 146-148.
2. Gros, L. Enzymology of the repair of free radicals-induced DNA damage / L. Gros, M. K. Saparbaev, J. Laval // Oncogene. – 2002. – Vol. 21. – P. 8905–8925.
3. Wuenschell, G. E. Stability, miscoding potential, and repair of 2'-deoxyxanthosine in DNA: implications for nitric oxide-induced mutagenesis / G. E. Wuenschell, T. R. O'Connor, J. Termini // Biochemistry – 2003. – Vol. 42. – P. 3608-3616.