

Модель совместного влияния естественного отбора и мутационного давления на аминокислотный состав белков и использование кодонов в мРНК бактерий *Сообщение 3*
Белорусский государственный медицинский университет

Оригинальная модель совместного влияния естественного отбора и мутационного давления на аминокислотный состав белков была создана в результате тщательного анализа зависимостей между частотами использования каждого кодона от общей GC-насыщенности бактериальных геномов.

Ключевые слова: мутационное давление, бактериальный геном, использование кодонов, GC-содержание, аминокислотные замены, нуклеотидные замены.

С точки зрения теории нейтральности М.Кимуры [5], отрицательный отбор элиминирует из популяции те генные мутации, которые значительно ухудшают жизнеспособность особи или непосредственно приводят к её гибели до момента оставления потомства. Наиболее жестко лимитируются аминокислотные замены в активных центрах ферментов [3,6]. Генные мутации могут зафиксироваться в популяции случайным генетическим дрейфом [5], даже если они в какой-то степени снижают жизнеспособность особи. Степень вреда, наносимого данной конкретной мутацией, во многом зависит от условий внешней среды, в которой обитает особь, и от особенностей её внутренней среды (набора всех остальных генов в данном генотипе, обуславливающих способность к адаптации). Как уже было подчеркнуто в предыдущих сообщениях, теория нейтральности описывает эволюцию исключительно на молекулярном уровне, но не на фенотипическом.

Согласно теории Н. Суеоки [16,17], мутационное давление возникает из-за повышенной частоты замен аденина и тимина на гуанин и цитозин (GC давление), или наоборот (AT давление) в кодирующих участках ДНК (мРНК) соответствующих белков. В пределах значений G+C от 0,4 до 0,6 мутационное давление вызывает преимущественно синонимичные нуклеотидные замены. Это связано с тем, что в геномах с таким GC-содержанием в вырожденных сериях кодонов используются как относительно GC-бедные, так и относительно GC-богатые кодоны. При GC-давлении легко фиксируются нуклеотидные замены, происходящие в третьих положениях кодонов, что приводит к выраженному снижению частот использования относительно GC-бедных кодонов и, как правило, пропорциональному ему росту частот использования относительно GC-богатых кодонов. В результате, в кодирующих участках снижается количество сайтов, в которых GC-давление могло бы вызвать синонимичную замену. Поскольку сам процесс GC-давления при этом не прекращается, значительно возрастает частота возникновения несинонимичных

нуклеотидных замен. Какая-то часть из этих замен, происходящих по первому и второму положению кодонов, фиксируется случайным генетическим дрейфом, приводя к дальнейшему росту GC-содержания (выше 0,6). AT-давление аналогичным образом приводит к тому, что уменьшение GC-насыщенности ниже 0,4 происходит во многом за счёт фиксации несинонимичных нуклеотидных замен.

Кодон считается претерминальным [1-3] в том случае, если в результате одной нуклеотидной замены он может стать терминальным. При возникновении такой мутации в кодирующем участке ДНК (мРНК) процесс синтеза белка завершается преждевременно. Если считать, что вероятность мутаций, приводящих к образованию стоп-кодона, достаточно велика, можно предположить, что в процессе эволюции частота использования претерминальных кодонов должна снижаться. Например, ранее было показано, что оба претерминальных кодона, кодирующих лейцин (UUA и UUG), вообще не используются в нормальных генах α - и β -цепей глобинов у человека [12]. Авторы этой работы утверждали, что организмы стремятся по мере возможности не использовать претерминальные кодоны при выборе «эволюционной стратегии», направленной на изменение частоты мутаций с сильно выраженными эффектами. Данное предположение, сделанное в начале 80-х годов, было критически воспринято сторонниками теории нейтральности [5].

Материал и методы

В качестве объектов исследования были выбраны 85 совокупностей кодирующих участков (СКУ) бактериальных мРНК из электронной базы данных Codon Usage Database [13]. Данные СКУ мРНК принадлежат следующим видам бактерий:

Mycoplasma mycoides; *Fusobacterium nucleatum*; *Chlamydomonas pneumoniae*; *Borrelia burgdorferi*; *Clostridium perfringens*; *Campylobacter jejuni*; *Rickettsia conorii*; *Staphylococcus aureus*; *Wolbachia endosymbiont*; *Bacillus cereus*; *Streptococcus agalactiae*; *Parachlamydia* sp.; *Oceanobacillus iheyensis*; *Lactococcus lactis*; *Helicobacter hepaticus*; *Leptospira interrogans*; *Thermoanaerobacter tengcongensis*; *Listeria innocua*; *Enterococcus faecalis*; *Treponema denticola*; *Haemophilus ducreyi*; *Legionella pneumophila*; *Bartonella henselae*; *Pasteurella multocida*; *Pyrococcus furiosus*; *Acinetobacter* sp.; *Nostoc* sp.; *Coxiella burnetii*; *Bacteroides thetaiotaomicron*; *Bacillus halodurans*; *Bacillus subtilis*; *Lactobacillus plantarum*; *Photobacterium profundum*; *Mannheimia succiniciproducens*; *Aquifex aeolicus*; *Photobacterium luminescens*; *Vibrio parahaemolyticus*; *Thermotoga maritima*; *Shewanella oneidensis*; *Bacillus licheniformis*; *Vibrio vulnificus*; *Desulfotalea psychrophila*; *Vibrio cholerae*; *Wolinella succinogenes*; *Synechocystis* sp.; *Yersinia pestis*; *Porphyromonas gingivalis*; *Escherichia coli*; *Bdellovibrio bacteriovorus*; *Nitrosomonas europaea*; *Shigella flexneri*; *Prochlorococcus marinus*; *Erwinia carotovora*; *Neisseria meningitidis*; *Xylella fastidiosa*; *Klebsiella pneumoniae*; *Thermosynechococcus elongatus*; *Corynebacterium glutamicum*; *Rhodospirillum rubrum*; *Brucella suis*; *Pseudomonas syringae*; *Agrobacterium tumefaciens*; *Propionibacterium acnes*;

Bifidobacterium longum; *Gloeobacter violaceus*; *Mezorhizobium loti*; *Sinorhizobium meliloti*; *Desulfovibrio vulgaris*; *Methylococcus capsulatus*; *Bradyrhizobium japonicum*; *Xanthomonas axonopodis*; *Rhodopseudomonas palustris*; *Chromobacterium violaceum*; *Halobacterium* sp.; *Deinococcus radiodurans*; *Ralstonia solanacearum*; *Caulobacter crescentus*; *Burkholderia pseudomallei*; *Leifsonia xyli*; *Bordetella bronchiseptica*; *Symbiobacterium thermophilum*; *Thermus thermophilus*; *Mycobacterium avium*; *Nocardia farcinica*; *Streptomyces coelicolor*.

Общее число нуклеотидных последовательностей в 85 СКУ составило 273 590, общее число кодонов в них составило 85 366 443.

По общей частоте содержания гуанина и цитозина (G+C) 85 СКУ мРНК распределились следующим образом: 38 из них имеют показатель G+C > 50%, а у 47 GC-содержание < 50%, диапазон вариации G+C – от 0,24 до 0,72. Каждый вид бактерий представлен не менее чем одной тысячей кодирующих участков.

Расчёты коэффициентов корреляции (R), достоверности аппроксимации (R^2), наклона (N), частот использования каждой аминокислоты и каждого кодона, а также разницы между средними арифметическими двух выборочных совокупностей производились с помощью оригинальной программы VVK 3.2.

Результаты и обсуждение

В первом сообщении нашей статьи были сформулированы следующие положения модели сочетанного влияния естественного отбора и мутационного давления на аминокислотный состав бактериальных белков.

I. Аминокислотные замены в белках происходят в результате преимущественно одношаговых несинонимичных нуклеотидных замен в триплетных кодирующих их участках ДНК. Нуклеотидные замены вызываются мутационным давлением определенного направления, наибольший вклад в создание которого вносит повышенная частота возникновения соответствующих транзиций [1,4].

II. Отрицательный отбор препятствует фиксации аминокислотных замен в том случае, если замены приводят к гибели отдельной особи до момента оставления ею потомства, то есть, если замены являются радикальными (вредными). Аминокислотные замены в белках могут фиксироваться в популяции случайным генетическим дрейфом в том случае, если они являются нейтральными (или почти нейтральными) по отношению к отрицательному отбору [5].

III. Для каждой аминокислоты количество и характер возможных замен, происходящих под воздействием мутационного давления определенного направления, детерминируется главным образом GC-насыщенностью кодирующих её триплетов.

IV. При наличии сильного мутационного давления вероятность возникновения несинонимичных нуклеотидных замен определенного направления значительно возрастает, что приводит к повышению

вероятности возникновения и, как следствие, фиксации или элиминации соответствующих аминокислотных замен.

V. О степени консервативности или радикальности аминокислотных замен, происходящих в результате точечных мутаций в кодонах под воздействием мутационного давления, можно судить исключительно по изменению частот использования этих кодонов при сильном мутационном давлении. Снижение частоты использования данного кодона по мере увеличения мутационного давления говорит о том, что произошедшие в таком кодоне нуклеотидные замены были фиксированы в популяции. В случае роста частоты использования данного кодона по мере усиления мутационного давления, следует считать, что все возможные несинонимичные замены, которые могли произойти в таком кодоне, фиксированы не были.

Общая частота использования претерминальных кодонов (ПТК) находится в обратной зависимости от насыщенности SKU мРНК (а значит и геномов) бактерий гуанином и цитозином (коэффициент корреляции $= -0,97$).

Чёткая обратная зависимость между GC-насыщенностью и содержанием ПТК [8-10] может свидетельствовать о гораздо большей степени влияния на содержание ПТК преимущественного направления нуклеотидных замен, чем естественного отбора.

Одним из объяснений такой обратной зависимости может служить следующее. За счет того, что среди претерминальных кодонов преобладают относительно GC-бедные кодоны, общая частота использования ПТК закономерно возрастает при AT-давлении и снижается при GC-давлении.

Большой интерес вызывает тот факт, что только четыре из всех восемнадцати претерминальных триплетов могут образовывать стоп-кодона в результате транзиций (табл.1). Получается, что использование остальных четырнадцати претерминальных триплетов опасно в гораздо меньшей степени.

Таблица 1

Замены нуклеотидов, приводящие к возникновению терминальных кодонов из претерминальных

АК	Кодоны	Положение	Замены	Результат
Leu	UUA	II	U - A	UAA
		II	U - G	UGA
	UUG	II	U - A	UAG
Ser	UCA	II	C - A	UAA
		II	C - G	UGA
	UCG	II	C - A	UAG
Tyr	UAU	III	U - A	UAA
		III	U - G	UAG
	UAC	III	C - A	UAA
		III	C - G	UAG
Gln	CAA	I	C - U	UAA
	CAG	I	C - U	UAG
Lys	AAA	I	A - U	UAA
	AAG	I	A - U	UAG
Glu	GAA	I	G - U	UAA
	GAG	I	G - U	UAG
Cys	UGU	III	U - A	UGA
	UGC	III	C - A	UGA
Trp	UGG	II	G - A	UAG
		III	G - A	UGA
Arg	AGA	I	A - U	UGA
	CGA	I	C - U	UGA
Gly	GGA	I	G - U	UGA

*- темным цветом отмечены транзиции

Все пять транзиций, которые могут приводить к образованию стоп-кодонов, возможны исключительно при сильном АТ-давлении.

Совместное влияние мутационного давления и естественного отбора на частоты использования кодонов в СКУ бактериальных мРНК (часть 3)

Аминокислота Тир кодируется двумя триплетами: UAC и UAU. Зависимость частоты использования триплет UAU от G+C можно охарактеризовать, как обратную прямую (рис.1a). Триплет UAC при сильном GC-давлении может превращаться в UGC (Cys) или в CAC (His) (табл. 2). В целом на фиксацию этих нуклеотидных замещений воздействует умеренный отрицательный отбор (табл. 2 и табл. 3).

Таблица 2

Влияние мутационного давления на частоты использования кодонов (часть 3)

AK	Показатели для частот использования относительно GC-богатых кодонов				Средние значения частот использования кодонов в группах бактерий с G+C				Показатели для частот использования относительно GC-бедных кодонов			
	N	R^2	N	R^2					N	R^2	N	R^2
	G+C < 0,6		G+C > 0,6		> 0,6	0,45 - 0,55	< 0,4		G+C < 0,4		G+C > 0,4	
Tyr	-	-	-	-	-	16,29	29,52	-	-91,74	0,75	-63,92	0,74
UAU	-	-	-	-	-	13,65	-	-	-	-	-	-
UAC	24,18	0,17	55,01	0,19	16,91	-	-	-	-	-	-	-
Cys	-	-	-	-	-	4,97	6,31	-	-6,86	0,03	-20,63	0,72
UGU	-	-	-	-	-	5,28	-	-	-	-	-	-
UGC	17,76	0,59	17,13	0,10	7,36	-	-	-	-	-	-	-
His	-	-	-	-	-	11,74	13,57	-	30,32	0,14	-32,74	0,53
CAU	-	-	-	-	-	10,22	-	-	-	-	-	-
CAC	31,64	0,7	64,01	0,45	15,19	-	-	-	-	-	-	-
Gln	-	-	-	-	-	21,05	28,23	-	39,3	0,04	-88,91	0,62
CAA	-	-	-	-	-	21,91	-	-	-	-	-	-
CAG	87,84	0,77	7,59	0,003	27,77	-	-	-	-	-	-	-
Trp	-	-	-	-	-	13,16	8,37	-	54,44	0,76	-	-
UGG	-	-	2,96	0,006	13,89	-	-	-	-	-	-	-
Arg 4	-	-	-	-	-	14,55	9,10	-	79,81	0,36	-34,73	0,3
CGU	-	-	-	-	-	17,57	-	-	-	-	-	-
CGC	97,55	0,8	78,67	0,11	38,22	-	-	-	46,2	0,53	9,32	0,1
CGA	-	-	-	-	-	5,57	4,16	-	-	-	-	-
CGG	59,25	0,34	136,54	0,25	27,1	18,04	-	-	-	-	-	-
Arg 2	-	-	-	-	-	5,67	14,38	-	-120,33	0,51	-31,47	0,32
AGA	-	-	-	-	-	3,84	-	-	-	-	-	-
AGG	-0,69	0,0002	3,39	0,0012	3,8	-	-	-	-	-	-	-

Таблица 3

Степень влияния отрицательного отбора на фиксацию несинонимичных нуклеотидных замещений, возникающих под воздействием сильного мутационного давления (часть 3)

GC-давление		AT-давление	
Tyr	↗↘ Cys, His	Cys	↗ Tyr
Cys, Gln	↗ Arg4	Arg4	→ Cys, His
His	↗↘ Arg4	Arg4	→ Gln, Term
Trp	↗ Arg4	His	↗ Tyr
Arg2	→ Arg4	Gln	↗ Term
		Trp	→ Term (Sec?)

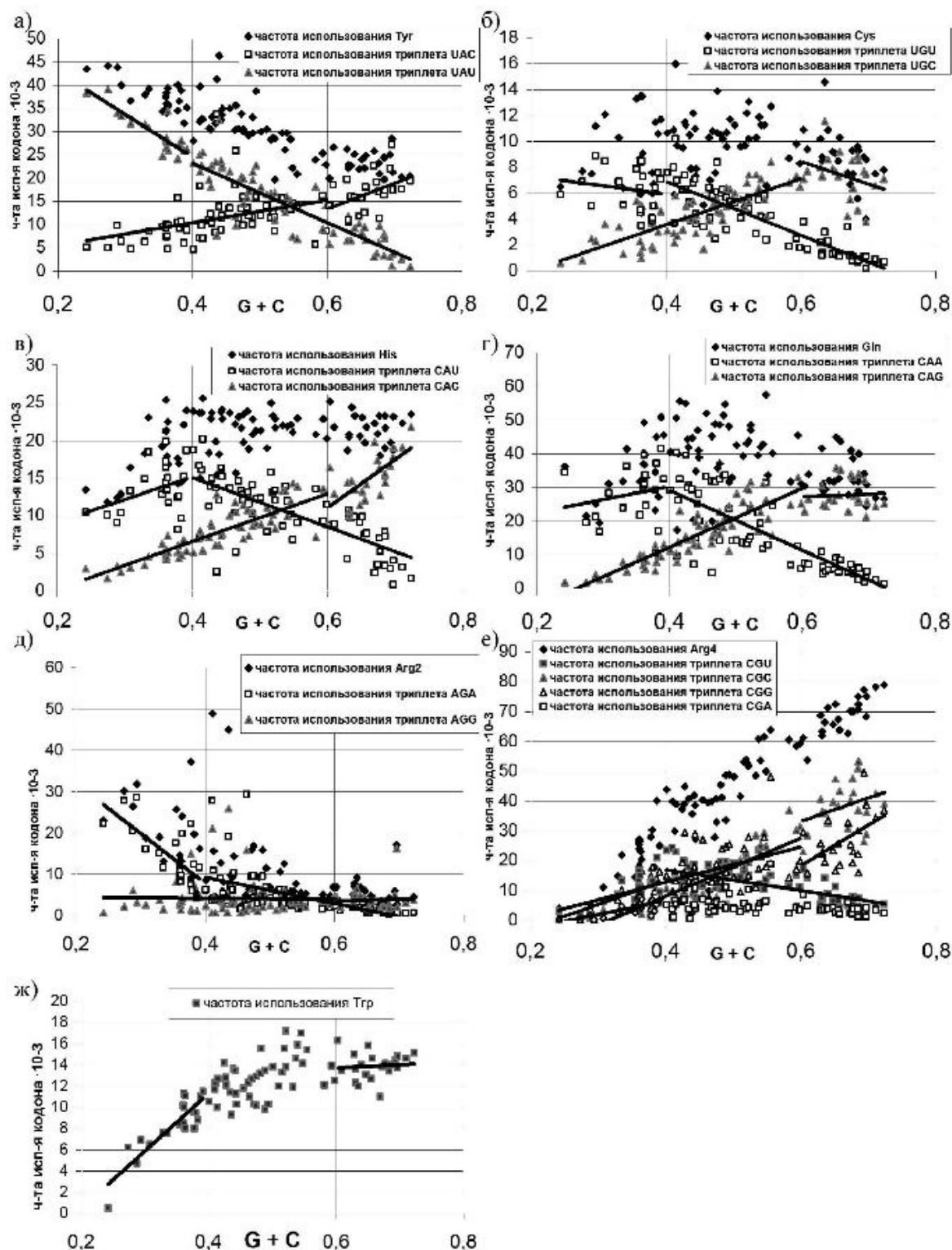


Рис. 1. Зависимость частот использования аминокислот и кодирующих их триплетов от GC-насыщенности SKU мРНК (Часть 3)

Аминокислота Cys кодируется триплетами UGU и UGC. При сильном GC-давлении триплет UGC может превращаться в триплет CGC (Arg4). На фиксацию этого нуклеотидного замещения воздействует малый отрицательный отбор (рис.1б). При сильном AT-давлении триплет UGU

может превращаться в UAU (Tyr). Такая замена также может быть зафиксирована случайным генетическим дрейфом у большинства микроорганизмов.

Аминокислота His кодируется двукратно вырожденной серией кодонов: CAU и CAC. При сильном АТ-давлении на замены CAU на UAU (Tyr) распространяется малое влияние отрицательного отбора (рис.1в). При $G+C > 0,6$ для кодона CAC показатель $R^2 = 0,447$, при этом показатель N в два раза больше, чем для того же кодона при $G+C < 0,6$. Это позволяет говорить о том, что жесткий отрицательный отбор препятствует закреплению аминокислотных замещений His на Arg, поскольку при GC-давлении кодон CAC может превратиться только в CGC (Arg4).

Аминокислота Gln кодируется двумя триплетами: CAA и CAG (рис.3г). На фиксацию нуклеотидной замены CAG на CGG (Arg4) под воздействием GC-давления распространяется малое влияние отрицательного отбора.

При $G+C < 0,4$ для кодона CAA показатель $R^2 = 0,039$ при $N = 39,3$. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что нуклеотидные замены CAA на UAA могут быть фиксированы у большинства микроорганизмов. Этот факт представляет огромный интерес, поскольку кодон UAA является терминальным. Исходя из нашей модели, мутации, приводящие к преждевременному обрыву процесса трансляции [2,3], могут фиксироваться в популяции случайным генетическим дрейфом. Если наш подход к определению степени воздействия отрицательного отбора на фиксацию несинонимичной нуклеотидной замены в популяции микроорганизмов является верным, можно говорить о влиянии АТ-давления [17] не только на аминокислотный состав бактериальных белков, но и на структуру бактериального генома (изменение длинны спейсерных участков).

Существует и другое объяснение фиксации пониженной частоты триплет CAA у микроорганизмов с сильным АТ-давлением. У некоторых представителей протозоа (*Tetrahymena* и *Paramecium*), обладающих геномом с GC-содержанием в пределах 0,25 – 0,3, а также у *Acetabularia* spp. кодоны UAA и UAG не являются терминальными. Более того, эти триплеты кодируют Gln [14]. Возможно, такое же отклонение от универсального генетического кода существует и у GC-бедных бактерий. В таком случае, замена CAA на UAA является синонимичной и может легко фиксироваться в популяции, что и было нами продемонстрировано.

Еще более интересной является картина использования кодона UGG в зависимости от GC-насыщенности SKU бактериальных мРНК (рис.1ж). Как известно, триплет UGG является единственным триплетом, кодирующим триптофан. На фиксацию замен кодона UGG на CGG (Arg4) под воздействием GC-давления распространяется малое влияние отрицательного отбора.

Сильное АТ-давление может вызвать в триплете UGG две замены: UGG на UAG и UGG на UGA [1]. Триплеты UAG и UGA являются терминальными [2,3]. При $G+C < 0,4$ для кодона UGG $N = 54$, а $R^2 = 0,764$. Исходя из нашей модели, отрицательный отбор практически не препятствует фиксации у GC-

бедных микроорганизмов мутаций, приводящих к образованию стоп-кодонов. Еще раз хочется уточнить, что речь идёт не о фиксации какой-то конкретной мутации, приводящей к обрыву полипептидной цепи, а о фиксации подобных мутаций в целом в популяциях микроорганизмов. Сильное АТ-давление распространяется на весь бактериальный геном и повышает вероятность замен G на A в том числе и в сайтах кодона UGG. При возникновении такой мутации в участке ДНК, кодирующем активный центр жизненно необходимого фермента, носитель этой мутации погибает – и частота использования кодона UGG в целом в популяции остается на точно таком же уровне. По мере воздействия АТ-давления на бактериальный геном, происходят и нейтральные нуклеотидные замены в сайтах кодона UGG [4,7]. Это теоретически возможно, если: 1) обрыв полипептидной цепи не приводит к потере или значительному ухудшению функции бактериального белка; 2) белки, цепь которых укорачивается, не играют важной роли в жизнедеятельности организма. В таких случаях нуклеотидные замены в кодоне UGG получают шанс на закрепление их в популяции случайным генетическим дрейфом.

Тем не менее, известно, что у микоплазм и в некоторых штаммах *E.coli* триплет UGA кодирует триптофан [14]. Кроме того, у широкого ряда организмов кодон UGA может кодировать аминокислоту селеноцистеин (Sec), которая не включена в универсальный генетический код [11]. Следует отметить, что только отдельные специфические ферменты содержат селеноцистеин в своем составе. К тому же, у *Euplotes* триплет UGA кодирует цистеин [14].

Кодон UAG (терминальный в универсальном генетическом коде) может кодировать у отдельных организмов, в частности, у архей, еще одну редкую аминокислоту – пирролизин [15]. В митохондриальных геномах некоторых водорослей кодон UAG может кодировать лейцин, притом, что кодон UCA у них является терминальным [14].

Нельзя исключить возможность того, что в некоторых изученных нами SKU бактериальных мРНК с низким GC-содержанием, терминальные кодоны кодируют какие-либо аминокислоты.

Совместное влияние мутационного давления и естественного отбора на частоты использования кодонов (часть 4)

Аминокислота Asn кодируется триплетами: AAU и AAC (рис.2а). Исходя из значений N и R^2 для AAC при $G+C>0,6$ (табл. 4-5), в целом замены AAC на AGC (Ser2) и GAC (Asp) могут быть легко фиксированы в популяции микроорганизмов (см. табл.5).

Таблица 4

Влияние мутационного давления на частоты использования кодонов (часть 4) Рис. 2. Зависимость частот использования аминокислот и кодирующих их триплетов от GC-насыщенности SKU мРНК (часть 4)

АК	Показатели для частот использования относительно GC-богатых кодонов				Средние значения частот использования кодонов в группах бактерий с G+C				Показатели для частот использования относительно GC-бедных кодонов			
	N	R ²	N	R ²					N	R ²	N	R ²
	G+C < 0,6		G+C > 0,6		> 0,6	0,45 - 0,55	< 0,4		G+C < 0,4		G+C > 0,4	
Asn	-	-	-	-	-	19,14	42,59	-244,53	0,88	-87,22	0,84	
AAU	-	-	-	-	-	18,99	-	-	-	-	-	-
AAC	32,67	0,36	23,57	0,13	18,93	-	-	-	-	-	-	-
Lys	-	-	-	-	-	31,40	64,15	-282,71	0,79	-155,57	0,87	
AAA	-	-	-	-	-	18,56	-	-	-	-	-	-
AAG	10,69	0,012	-55,01	0,09	23,81	-	-	-	-	-	-	-
Ser2	-	-	-	-	-	10,21	15,45	54,31	0,43	41,31	0,74	
AGU	-	-	-	-	-	14,31	-	-	-	-	-	-
AGC	38,88	0,56	6,39	0,003	16,00	-	-	-	-	-	-	-
Asp	-	-	-	-	-	32,35	41,09	-96,49	0,57	-93,30	0,77	
GAU	-	-	-	-	-	19,26	-	-	-	-	-	-
GAC	64,95	0,62	123,95	0,16	42,59	-	-	-	-	-	-	-
Glu	-	-	-	-	-	37,73	54,44	48,10	0,08	114,20	0,77	
GAA	-	-	-	-	-	24,20	-	-	-	-	-	-
GAG	45,71	0,20	171,23	0,24	37,73	-	-	-	-	-	-	-
Gly	-	-	-	-	-	21,74	21,18	23,14	0,04	-60,06	0,57	
GGU	-	-	-	-	-	25,50	-	-	-	-	-	-
GGC	119,85	0,78	117,17	0,15	54,45	-	-	-	-	-	-	-
GGA	-	-	-	-	-	12,91	22,42	59,70	0,11	49,04	0,39	
GGG	21,68	0,27	103,38	0,14	15,61	11,56	-	-	-	-	-	-

Таблица 5

Степень влияния отрицательного отбора на фиксацию несинонимичных нуклеотидных замещений, возникающих под воздействием сильного мутационного давления (часть 4)

GC-давление			AT-давление		
Asn	→	Ser2, Asp	Ser2	→	Asn
Lys	→	Arg2, Glu	Arg2	→	Lys
Ser2	→	Gly	Asp	→	Asn
Asp	→	Gly	Glu	→	Lys
Glu	→	Gly	Gly	→	Ser2, Asp
Arg2	?	Gly	Gly	→	Glu, Arg2

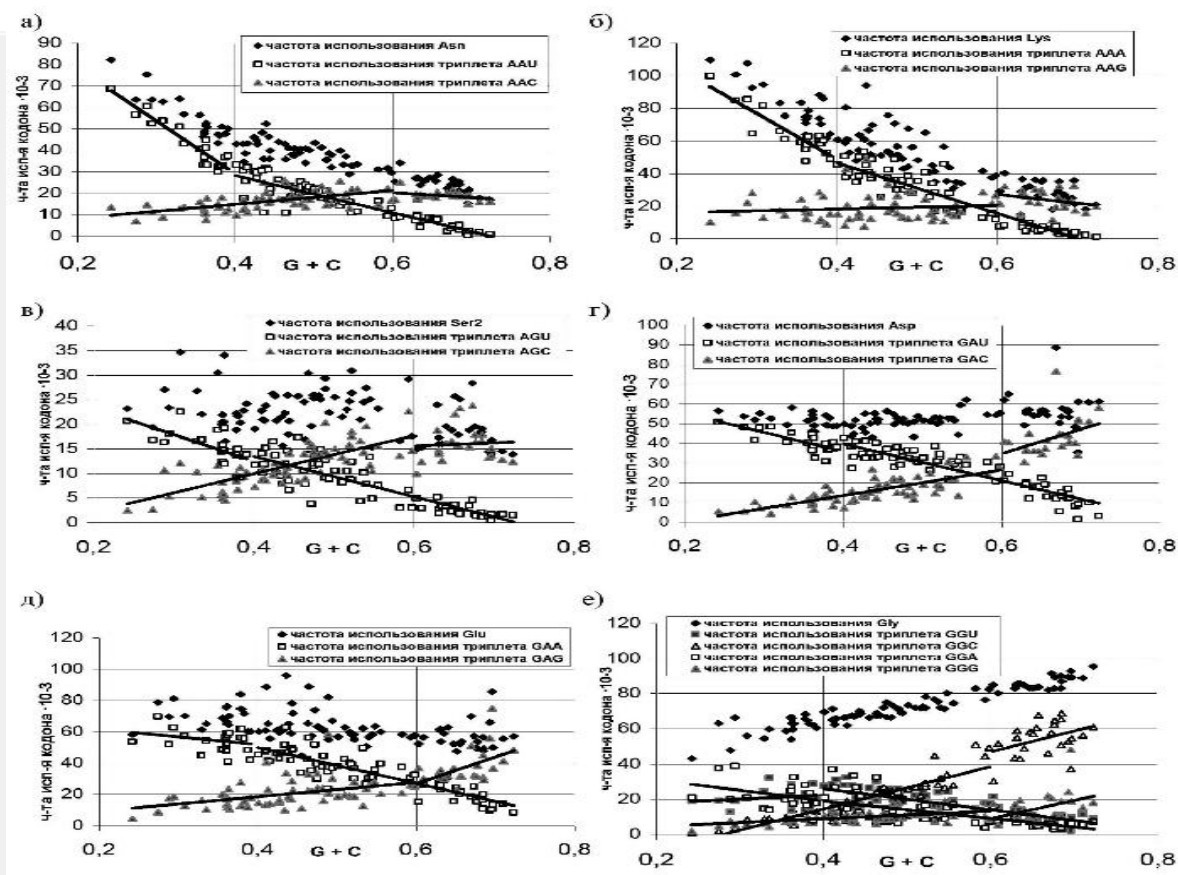


Рис. 2. Зависимость частот использования аминокислот и кодирующих их триплетов от GC-насыщенности SKU мРНК (Часть 4)

Аминокислота Lys тоже кодируется двумя триплетами: AAA и AAG (рис.2б). Триплет AAA, как и AAU (Asn), демонстрирует зависимость от G+C близкую к обратной линейной. Значения N и R² для кодона AAG при G+C>0,6 дают основания предполагать, что нуклеотидные замены AAG на AGG (Arg2) и GAG (Glu) могут быть легко фиксированы в популяциях микроорганизмов.

Дуплет серина включает кодоны AGU и AGC. Фиксация замен AGU на AAU (Asn) при АТ-давлении, судя по соответствующим показателям, жестко лимитируется отрицательным отбором (рис.2в). При GC-давлении фиксация замен AGC на GGC (Gly) подвержена малому влиянию отрицательного отбора.

Аспарагиновая кислота кодируется двумя триплетами: GAU и GAC (рис.2г). Нуклеотидная замена GAU на AAU (Asn), вызываемая АТ-давлением, фиксируется весьма редко, что может быть вызвано влиянием жесткого отрицательного отбора. Фиксации нуклеотидной замены GAC на GGC (Gly), вызываемой GC-давлением, отрицательный отбор препятствует не у всех микроорганизмов (R² = 0,164).

Глутаминовая кислота кодируется двукратно вырожденной серией: GAA и GAG (рис.2д). Как ни странно, судя по нашим данным, на фиксацию

нуклеотидных замен GAA на AAA (Lys) отрицательный отбор оказывает относительно малое влияние. Эти замещения могут происходить при АТ-давлении и приводить к замене отрицательно заряженной глутаминовой кислоты на положительно заряженный лизин. На фиксацию замен GAG на GGG (Gly) отрицательный отбор оказывает умеренное влияние. Такие замещения могут происходить при сильном GC-давлении.

Аминокислота Gly кодируется четырьмя триплетами: GGU, GGC, GGA, GGG (рис.2е). В точке равновесия отмечается повышенная частота использования GGC по сравнению с GGG и GGA. При GC-давлении частота использования GGC также значительно выше частоты использования GGG. Этот факт склоняет нас к выводу о том, что очень низкая частота использования кодона AGG (Arg2) вызвана скорее синонимичными заменами последнего на CGG, чем превращением его в GGG. Малое влияние оказывает отрицательный отбор на фиксацию несинонимичных нуклеотидных замен в кодонах GGA и GGU при $G+C < 0,4$. Таковыми заменами могут быть следующие: GGA на AGA (Arg2) и GAA (Glu); GGU на AGU (Ser2) и GAU (Asp).

Аминокислота Arg кодируется шестикратно вырожденной серией кодонов: CGA, CGG, CGU, CGC, AGA, AGG (рис.1д – 1е). Особенностью этой серии является то, что кодоны дуплета могут превратиться в кодоны квартета после замены А на С по первому положению. О повышенной частоте возникновения таких трансверсий было сказано ранее. Действительно, в точке равновесия среди кодонов серии Arg4 повышена частота использования CGG и CGC.

Кодон CGA используется очень редко при всех значениях $G+C$, а при $G+C < 0,4$ средняя частота его использования находится на уровне $4 \cdot 10^{-3}$. Этот кодон может стать терминальным при замене CGA на UGA. Вторая замена в триплете CGA, возможная при АТ-давлении, может привести к образованию кодона CAA (Gln). В целом, фиксация обоих этих замещений не ограничивается отрицательным отбором. Кодон CGU, судя по значениям R^2 и N , также свободно может превращаться в UGU (Cys) и CAU (His) при сильном АТ-давлении.

В точке равновесия и при GC-давлении частоты использования кодонов серии Arg2 (AGA и AGG) находятся на весьма низком уровне. Если исходить из того, что замены AGA на CGA и AGG на CGG нейтральны, можно предположить, что такие замены должны легко фиксироваться у бактерий. Этим можно объяснить повышенную частоту использования CGG в точке равновесия. Повышенная частота возникновения [17] и свободная фиксация замещений А на С могли бы привести к высокой частоте использования CGG и низкой частоте использования CGA в серии Arg4. Вполне возможно, что фиксация трансверсий С на А у организмов с $G+C < 0,4$ приводит к снижению частоты использования триплета CGA и повышению частоты использования триплета AGA.

При $G+C < 0,4$ частота использования кодона AGA относительно велика, значения N и R^2 дают основания предполагать наличие жесткого отрицательного отбора относительно фиксации несинонимичных

нуклеотидных замен AGA на AAA (Lys). Значения показателей N и R^2 для кодона AGG при $G+C>0,6$ свидетельствуют о наличии малого влияния отрицательного отбора на фиксацию замещений, приводящих к фиксации пониженной частоты AGG. Можно предполагать, что триплет AGG при GC-давлении превращается в GGG (Gly), но, судя по низкой частоте использования триплета GGG, фиксируются скорее синонимичные замены AGG на CGG.

Вклад процесса окисления дезоксигуанитрифосфата в создание мутационного давления был подтвержден при изучении серии кодонов аргинина. Нейтральность замен А на С по первому положению кодонов серии Arg2 обусловлена структурой самого генетического кода.

Нами было отмечено существование значительных ограничений на фиксацию аминокислотных замен гистидина на аргинин при сильном GC-давлении. Несмотря на то, что обе эти аминокислоты имеют положительный заряд радикала, замены His на Arg очень редко фиксируются в популяциях микроорганизмов с $G+C>0,6$. Также отмечено (см. сообщения 1 и 2) умеренное влияние отрицательного отбора на фиксацию аминокислотных замен: 1) лейцина на пролин, 2) валина на аланин, 3) аспарагиновой и глутаминовой кислот на глицин. Что касается замен тирозина на цистеин и гистидин, какое именно из этих двух замещений фиксируется реже, точно определить невозможно. Можно лишь, исходя из весьма низкой частоты использования цистеина в целом, предположить, что замены Tug на Cys фиксируются довольно редко. Большая же часть аминокислотных замен при сильном GC-давлении имеет высокую вероятность фиксации.

При сильном AT-давлении отрицательный отбор (см. сообщения 1 и 2) препятствует фиксации замещений 1) серина на лейцин и аспарагин, 2) аргинина на лизин, 3) аспарагиновой кислоты на аспарагин. Так же жестко лимитируются замены кодонов валина и треонина на кодон AUA изолейцина. Как ни странно, отрицательный отбор оказывает весьма малое влияние на фиксацию замен кодонов валина и треонина на другой кодон изолейцина – AUU. Все остальные аминокислотные замены, возможные при сильном AT-давлении, имеют высокую вероятность фиксации.

Достоинством нашей оригинальной модели является то, что она рассматривает только наиболее вероятные аминокислотные замены, происходящие в результате транзиций, повышенная частота возникновения и фиксации которых и является основой мутационного давления. Впервые в нашей модели признаются неравнозначными замены, происходящие при противоположных направлениях мутационного давления.

Выводы

1. Обратная зависимость между общим GC-содержанием и ПТК является результатом того, что большинство претерминальных триплетов являются относительно GC-бедными. Под воздействием мутационного давления частота их использования изменяется так же, как и частоты использования всех остальных кодонов.

2. Генетический код устойчив к мутациям, приводящим к образованию стоп-кодонов, поскольку большая часть подобных нуклеотидных замещений является трансверсиями.

3. Отрицательный отбор не лимитирует частоты использования ПТК.

4. Нуклеотидные замены, приводящие к образованию стоп-кодонов из UGG, CAG и CGA, могут фиксироваться у GC-бедных микроорганизмов.

Литература

1. Барковский, Е.В. Мембраносвязанные аденилатциклазы: монография / Е.В. Барковский, О.В. Ачинович; под общ. ред. Е.В. Барковского. – Минск: БГМУ, 2005. 134 с.

2. Барковский, Е.В., Хрусталева, В.В. Сравнительная характеристика мРНК аденилатциклаз актиномицетов//Белорусский мед. журнал. – 2004. – №3. – С.27-30.

3. Барковский, Е.В., Хрусталева, В.В. Сравнительная характеристика матричных РНК и аминокислотных последовательностей аденилатциклаз цианобактерий//Белорусский мед. журнал. – 2005. – №1. – С.23-27.

4. Бутвиловский, А.В., Хрусталева, В.В. Транзиции и трансверсии в нуклеотидных последовательностях мРНК алкогольдегидрогеназ классов I, II, III и IV мыши и человека//Молодежная наука и современность. – Курск, 2005. – часть I. – С.53-54.

5. Кимура, М. Молекулярная эволюция: теория нейтральности / М. Кимура. М., 1985. 398 с.

6. Хрусталева, В.В. Эволюционные взаимоотношения и Сатегии кодирования аденилатциклаз актиномицетов и цианобактерий//Студенты БГМУ – медицинской науке и здравоохранению Беларуси. – 2005. – С.53-54

7. Хрусталева, В.В. Влияние мутационного давления на состав бактериальных белков// Актуальные проблемы современной медицины 2005. – 2005. – С. 359-362.

8. Хрусталева, В.В., Барковский, Е.В. Частота использования претерминальных кодонов в матричных РНК бактериальных аденилатциклаз// Здравоохранение. – 2006. – №2. – С. 17-20.

9. Хрусталева, В.В., Бутвиловский, А.В. Влияние мутационного давления на использование претерминальных кодонов в мРНК алкогольдегидрогеназ III класса хордовых животных//Молодежная наука и современность. – Курск, 2005. – часть I. – С.81-82

10. Хрусталева, В.В., Бутвиловский, А.В. Влияние мутационного давления на Сатегию кодирования алкогольдегидрогеназ класса III в мРНК хордовых животных//Известия национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – Минск, 2005. – №5, ч.2. – С. 149-151

11. Fu, L.H., Wang, X., Eya, I. Y. et al. A Selenoprotein in the Plant Kingdom // Biol. Chem. – 2002.-Vol. 277, Issue 29. – P. 25983-25991

12. Modiano, G., Baffistuzzi, G., Motulsky, A.G. Nonrandom patterns of codon usage and of nucleotide substitutions in human a- and b-globin genes: an evolutionary strategy reducing the rate of mutations with drastic effects?//Proc.Natl.Acad.Sci.USA. – 1981. – Vol.78. – P.1110-1114.

13. Nakamura, Y., Gojobori, T. and Ikemura, T. Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases: status for the year 2000.// Nucl. Acids Res. – 2000. – 28, 292.
14. Osawa, S., Jukes T.H., Watanabe K., Muto A. Recent evidence for evolution of the genetic code//Microbiol Rev. – 1992. – Vol.56(1). – P. 229 – 264.
15. Soares, J.A., Zhang, L., Pitsch, R.L. et al. The residue mass of L-pyrrolysine in three distinct methylamine methyltransferases//J Biol. Chem. – 2005. – Aug 11; [Epub ahead of print]
16. Sueoka, N. Directional mutation pressure and neutral molecular evolution//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1988. – Vol.85. – P.2653-2657.
17. Sueoka, N. Wide intra-genomic G+C heterogeneity in human and chicken is mainly due to strand-symmetric directional mutation pressures: dGTP-oxidation and symmetric cytosine-deamination hypotheses//Gene. – 2002. – Vol.300. – P.141-154.