

Эволюционные дистанции и скорость эволюции нуклеотидных последовательностей мРНК алкогольдегидрогеназы класса IV мыши и человека

Установлены эволюционные расстояния и скорости молекулярной эволюции нуклеотидных последовательностей мРНК алкогольдегидрогеназы класса IV мыши и человека.

Ключевые слова: алкогольдегидрогеназа, молекулярная эволюция, эволюционное расстояние, скорость молекулярной эволюции.

A.V. Butvilovsky

Evolutional distances and molecular evolution's speed of nucleotide sequences mrna encoding human and murine alcohol dehydrogenase class IV

Evolutional distances and molecular evolution 's speed of nucleotide sequences mRNA encoding human and murine alcohol dehydrogenase class IV were established.

Keywords: alcoholdehydrogenase, molecular evolution, evolutionary distance, molecular evolution 's speed

Алкогольдегидрогеназа (АДГ) – это цинк-содержащий фермент, участвующий в метаболизме этанола, ретинола, 3 β -гидроксистероидов, β -гидрокси жирных кислот и 4-гидроксиноненала [12]. В настоящее время известно семь различных субъединиц алкогольдегидрогеназ, объединенных в пять классов [3, 4].

Структура АДГ IV-го класса млекопитающих определена с помощью пептидного анализа белка, выделенного из желудка крысы. Полученные данные свидетельствуют о том, что этот фермент следует отнести к отдельному классу алкогольдегидрогеназ. Энзим нового класса по гомологии нуклеотидных и аминокислотных последовательностей ближе к первому классу (классической печеночной АДГ, \approx 68% сходства), чем к остальным классам (второму, третьему и пятому; \approx 60% сходства). Этот факт позволяет предположить, что АДГ четвертого класса возникла путем дупликации гена-предшественника АДГ первого класса.

Алкогольдегидрогеназа класса IV значительно отличается от остальных АДГ энзиматическими свойствами. Активность данного фермента (значения K_m и k_{cat}) в отношении этанола выше, чем у классического печеночного фермента. Эти значения коррелируют с замещениями в активном сайте, которые влияют на связывание субстрата и кофермента [7].

В отличие от алкогольдегидрогеназ других классов, содержащихся преимущественно в печени, АДГ IV-го класса в основном локализуется в эпителиальной ткани. Высокое содержание последней наблюдается в слизистой оболочке желудка, меньшее – в тимусе, коже, яичнике, очень низкое – в печени, тонком кишечнике и матке [7, 12].

Целью исследования: определение эволюционных дистанций и скоростей эволюции нуклеотидных последовательностей мРНК алкогольдегидрогеназы класса IV мыши и человека.

Материал и методы. Проанализированы нуклеотидные последовательности мРНК алкогольдегидрогеназы класса IV грызунов (*Mus musculus*) [13] и приматов (*Homo sapiens*) [2]. Для выравнивания нуклеотидных последовательностей использовалась программа CLUSTAL W [11]. Эволюционные дистанции и соотношение транзиции /

трансверсии рассчитаны по методам Джукса-Кантора [5], Кимура [6], Таджима-Ней [8], Тамура [9], Тамура-Ней [10]. Скорость эволюционных замен оснований на сайт в год вычисляли по формуле:

$k_{\text{нукл.}} = K/2T$, где T – число лет, прошедших после эволюционной дивергенции двух цепей от общей для них предковой цепи: множитель 2 в знаменателе соответствует двум ветвям подразумеваемого филогенетического дерева [1].

Результаты и обсуждение. Для расчета эволюционных расстояний вышеназванными методами необходимо предварительно получить некоторые вспомогательные показатели молекулярной эволюции нуклеотидных последовательностях мРНК АДГ класса IV мыши и человека. Первую группу таких показателей составляют частоты трансверсий и транзиций, а также их соотношение. Последовательности мРНК алкогольдегидрогеназы класса IV мыши и человека сравнивались по 1125 нуклеотидным сайтам, соответствующим 375 кодонам (374 аминокислотным сайтам и 1 терминальному кодону). В 106 сайтах? этих двух последовательностей обнаруживаются различия по типу транзиции, а в 56 – по типу трансверсии: $P = 0,0924$; $Q = 0,0497$ и $P/Q = 1,86$ (табл. 1). Однако гораздо интереснее проанализировать эти параметры для каждого положения нуклеотида в кодоне. Для первого положения, по которому, как и по двум другим, сравнивалось 375 сайтов, получены следующие значения: $P_1 = 0,0347$, $Q_1 = 0,0320$ и $P/Q_1 = 1,08$ (индекс 1 указывает, что значения относятся к первому положению кодонов). Для второго положения имеем $P_2 = 0,0267$, $Q_2 = 0,0187$, что $P/Q_2 = 1,43$. И, наконец, для третьего положения $P_3 = 0,2160$, $Q_3 = 0,0987$, теперь $P/Q_3 = 2,19$, что превышает значения P/Q_1 и P/Q_2 . Исходя из этих данных, получаем соотношения $P_3 > P_1 > P_2$, $Q_3 > Q_1 > Q_2$, $P/Q_3 > P/Q_2 > P/Q_1$, из которых видно, что наибольшие частоты транзиций и трансверсий характерны для третьего положения кодонов, меньшие – для первого и наименьшие – для второго. Соотношение транзиций и трансверсий максимально в третьем положении нуклеотида в кодоне, а минимально – в первом.

Таблица 1.

Частоты транзиций и трансверсий, соотношение транзиций и трансверсий в нуклеотидных последовательностях мРНК алкогольдегидрогеназы класса IV мыши и человека

Положение нуклеотида/показатель	I-II-III	I	II	III
Частота транзиций (P)	0,0924	0,0347	0,0267	0,2160
Частота трансверсий (Q)	0,0497	0,0320	0,0187	0,0987
Соотношение наблюдаемых транзиций и трансверсий (P/Q)	1,86	1,08	1,43	2,19

Ко второй группе показателей, необходимых для определения эволюционных дистанций, относится количество ненаправленных замещений нуклеотидов в нуклеотидных последовательностях исследуемых мРНК (табл. 2). Из приведенных данных видно, что наиболее часто происходят замещения А?G (54 случая и Т?С (50 случаев). При этом большая их часть имеет место в третьем положении нуклеотида в кодоне (39 и 42 случая, соответственно).

Таблица 2.

Ненаправленные замещения нуклеотидов в нуклеотидных последовательностях мРНК алкогольдегидрогеназы класса IV мыши и человека

Положение нуклеотида	ТТ	ТС	ТА	ТГ	СС	СА	СГ	АА	АГ	ГГ	Общее
I+II+III	241	50	13	13	209	18	12	255	54	260	1125
I	57	4	2	2	50	4	4	112	9	131	375
II	111	4	1	2	85	3	1	90	6	72	375
III	73	42	10	9	74	11	7	53	39	57	375

Третья группа вспомогательных показателей представлена процентным содержанием гуанина, цитозина, тимина и аденина в сравниваемых последовательностях мРНК (табл.3, 4).

Таблица 3.

Процентное содержание гуанина и цитозина в нуклеотидных последовательностях мРНК алкогольдегидрогеназы класса IV мыши и человека

Положение нуклеотида	I+II+III		I		II		III	
	Г	Ц	Г	Ц	Г	Ц	Г	Ц
мышь	27,6	23,1	37,3	14,9	20,5	24,3	25,1	30,1
человек	25,6	21,2	36,5	14,9	20,3	23,3	20,0	25,3
среднее	26,6	22,1	36,9	14,9	20,4	23,7	22,5	27,7

Таблица 4.

Процентное содержание аденина и тимина в нуклеотидных последовательностях мРНК алкогольдегидрогеназы класса IV мыши и человека

Положение нуклеотида	I+II+III		I		II		III	
	А	Т	А	Т	А	Т	А	Т
мышь	25,0	24,3	30,9	16,8	24,8	30,4	19,2	25,6
человек	27,9	25,3	32,8	15,7	25,9	30,7	25,1	29,6
среднее	26,4	24,8	31,9	16,3	25,3	30,5	22,1	27,6

В нуклеотидной последовательности мРНК АДГ класса IV мыши преобладает гуанин (27,6%), в то время как в последовательности АДГ класса IV человека наибольшее содержание характерно для аденина (27,9%).

В таблице 5 представлены эволюционные расстояния и расчетное соотношение транзиций и трансверсий исходя из гомогенной и стационарной (ГСК), гетерогенной и стационарной (ГетСК) картины замещений в нуклеотидных последовательностях мРНК АДГ класса IV мыши и человека.. Нами рассчитаны средние значения эволюционных расстояний, основываясь на двух равновероятных картинах

замещения. Процент различий между эволюционными расстояниями исходя из ГСК и ГетСК колеблется в пределах 0-2,37%. Это означает, что картина замещений в изучаемых нуклеотидных последовательностях гомогенна и стационарна.

Среднее значение эволюционного расстояния для данных последовательностей составляет $K = 0,160 \pm 0,001$. Для первого положения получено следующее значение: $K_1 = 0,070 \pm 0,000$, для второго - $K_2 = 0,047 \pm 0,000$ и для третьего положения $K_3 = 0,432 \pm 0,007$, что значительно превышает значения K_1 и K_2 . Исходя из этих данных, получаем соотношение $K_3 > K_1 > K_2$, из которого видно, что наибольшее эволюционное расстояние характерно для третьего положения кодонов, меньшее – для первого и наименьшее – для второго.

Таблица 5.

Эволюционные дистанции и расчетное соотношение транзиций и трансверсий в нуклеотидных последовательностях мРНК алкогольдегидрогеназы класса IV мыши и человека, рассчитанные различными методами

Модель замещения	I+II+III		I		II		III	
	K±SE	R±SE	K±SE	R±SE	K±SE	R±SE	K±SE	R±SE
Джукс-Кантор	0,158± 0,012	-	0,070± 0,014	-	0,047± 0,011	-	0,408± 0,040	-
Кимура	0,160± 0,013	2,050± 0,400	0,070± 0,014	1,115± 0,464	0,047± 0,011	1,464± 1,097	0,433± 0,048	2,941± 0,653
Таджима-Ней	0,161± 0,014	-	0,070± 0,015	-	0,047± 0,012	-	0,443± 0,051	-
Таджима-Ней*	0,158± 0,013	-	0,070± 0,013	-	0,047± 0,011	-	0,407± 0,042	-
Тamura	0,160± 0,012	2,050± 0,385	0,070± 0,014	1,115± 0,591	0,047± 0,011	1,465± 1,078	0,443± 0,049	2,941± 0,673
Тamura*	0,160± 0,012	2,047± 0,389	0,070± 0,014	1,115± 0,601	0,047± 0,011	1,464± 1,318	0,429± 0,048	2,901± 0,636
Тamura-Ней	0,160± 0,012	2,051± 0,391	0,070± 0,013	1,108± 0,516	0,047± 0,011	1,469± 1,004	0,435± 0,049	2,954± 0,694
Тamura-Ней*	0,160± 0,012	2,047± 0,369	0,070± 0,014	1,108± 0,600	0,047± 0,011	1,469± 1,087	0,430± 0,047	2,910± 0,681
Среднее СГК	0,160± 0,001	2,050± 0,0004	0,070± 0,000	1,113± 0,003	0,047± 0,000	1,466± 0,002	0,432± 0,007	2,945± 0,005
Среднее СГетСК	0,159± 0,001	2,047± 0,000	0,070± 0,000	1,112± 0,005	0,047± 0,000	1,467± 0,004	0,422± 0,009	2,906± 0,006
Процент различий между СГСК и СГетСК	0,63%	0,15%	0,00%	0,09%	0,00%	0,07%	2,37%	1,34%

Поскольку грызуны и приматы дивергировали около 80 млн. лет назад ($T = 8 \cdot 10^7$), то скорость эволюции этих последовательностей будет равна $k_{\text{нукл.}} = K/2T = 1,00 \cdot 10^{-9}$ замен на нуклеотидный сайт в год. Эта величина показывает общую скорость нуклеотидных замен в расчете на сайт, однако гораздо интереснее оценить скорость эволюции для каждого из трех положений кодонов. Для первого положения $k_{1\text{нукл.}} = 0,44 \cdot 10^{-9}$, $k_{2\text{нукл.}} = 0,29 \cdot 10^{-9}$, $k_{3\text{нукл.}} = 2,70 \cdot 10^{-9}$ замен на нуклеотидный

сайт в год. Исходя из этих данных, получаем соотношение $k_3 > k_1 > k_2$, которое подтверждает закономерность для эволюционных дистанций (наибольшая скорость мутационных замен характерна для третьего положения кодонов, меньшая – для первого и наименьшая – для второго).

Анализ приведенных данных по нуклеотидным последовательностям алкогольдегидрогеназ класса IV мыши и человека позволяет сделать следующие выводы:

1. Наибольшие частоты транзиций и трансверсий характерны для третьего положения кодонов, меньшие – для первого и наименьшие – для второго;
2. Частота встречаемости транзиций больше таковой трансверсий;
3. Картина замещений нуклеотидов в данных последовательностях является гомогенной и стационарной;
4. Наибольшие эволюционное расстояние и скорость мутационных замен характерны для третьего положения кодонов, меньшие – для первого и наименьшие – для второго.

Литература

1. Кимура М. Молекулярная эволюция: теория нейтральности. – М., 1985.
2. Farres J., Moreno A., Crosas B., Peralba J.M., Allali-Hassani A., Hjelmqvist L., Jornvall H., Pares X. // *Eur. J. Biochem.* – 1994. – Vol. 224(2). – P. 549-557.
3. Hurley T.D., Bosron W.F., Stone C.L. // *J. Mol. Biol.* – 1994. – Vol. 239(3). – P. 415-429.
4. Jornvall H., Hempel J., Bahr-Lindstrom H., Hoog J.O., Vallee B.L. // *Alcohol Alcohol.* – 1987. – Suppl.1. – P. 13-23.
5. Jukes T.H., Cantor C.R. Evolution of protein molecules // In H.N.Munro, ed., *Mammalian protein Metabolism.* – 1969. – P.21–132. Academic Press, New York.
6. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rate et base substitudions through comparative studies of nucleotide sequences // *J.Mol.Evol.* – 1980. – Vol.16. – P.111-120.
7. Pares X., Cederlund E., Moreno A., Hjielmqvist L., Farres J., Jornvall H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1994. – Vol.91. – P.1893-1897.
8. Tajima F., Nei M. Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences // *Mol.Biol.Evol.* . – 1984. – Vol.1. – P.269–285.
9. Tamura K. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition trausversion and G + C – content biases // *Mol.Biol.Evol.* – 1992. – Vol.9. – P.678-687.
10. Tamura K., Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in human and chimpanzees // *Mol.Biol/Evol.* – 1993. – Vol.10. – P.512-526.
11. Tompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. // *Nucl. Acids Res.* – 1994. – Vol.22. – P.4673–4680.
12. Xie P., Parsons S.H, Speckhard D.C., Bosron W.F., Hurley T.D. // *J. Biol. Chem.. USA.* – 1997. – Vol.272, No. 30. – P.18558-18563.
13. Zgombic-Knight M., Ang H.L., Foglio M.H., Duester G. // *J. Biol. Chem.. USA.* – 1995. – Vol.270, No. 18. – P.10868-10877.