

Хрусталёв В.В.¹, Хрусталёва Т.А.², Стожаров А.Н.¹, Ткачёв С.В.¹
Мутационное давление в гене Adenomatous polyposis coli в опухолевых клетках

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Ген, кодирующий белок APC (Adenomatous polyposis coli) человека, часто вовлекается в процесс развития злокачественных новообразований. В результате нонсенс мутации в этом гене соответствующий белок перестаёт связывать бета-катенин, что приводит к запуску неконтролируемой пролиферации клетки без поступления внешнего сигнала (без связывания Wnt с рецептором). Другой механизм потери C-концевого бета-катенин связывающего домена – альтернативный сплайсинг. Направление мутационного давления в гене (относительно консенсусной последовательности) можно определить по записям о зафиксированных нуклеотидных заменах из баз данных Ensembl и COSMIC. Об отрицательном отборе мутаций (стабилизирующем отборе) свидетельствует достоверное превышение частотой синонимичных замен частоты миссенс замен. В случае положительного (расщепляющего) отбора, наоборот, частота миссенс мутаций достоверно превышает частоту мутаций синонимичных.

Цель: работы заключается в сравнении частот возникновения герминативных и соматических нуклеотидных замен в опухолевых клетках в гене APC.

Материалы и методы. В качестве материала использована консенсусная нуклеотидная последовательность гена, кодирующего белок APC человека из базы данных Ensembl (ENST00000257430.9). Из той же базы данных получены сведения об изменчивости этого гена: записи об однонуклеотидном полиморфизме (SNP) составили 3919 мутантных сайтов в экзонах и 24054 мутантных сайтов в интронах. Информация об однонуклеотидных мутациях в том же гене, но исключи-

тельно в опухолевых клетках, получена из базы данных COSMIC (2018 мутантных сайтов в экзонах). В консенсусной последовательности рассчитано количество синонимичных, миссенс и нонсенс сайтов для каждого типа нуклеотидных замен. Частоты замен определены путём деления количества сайтов с соответствующим типом мутации на количество сайтов, в которых эта замена будет синонимичной, миссенс и нонсенс мутацией. Частоты замен сравнивали друг с другом с помощью t-теста для относительных величин.

Результаты. В гене APC частота замен по направлению GC на AT достоверно превышает частоту замен обратного направления, как во время герминативного мутагенеза, так и во время соматического мутагенеза в опухолевых клетках. Нельзя не отметить, что абсолютное количество сайтов с транзициями А на G в этом гене превышает количество сайтов с транзициями G на A. Однако для остатка гуанина шанс подвергнуться мутации выше, чем для остатка аденина. Во время герминативного мутагенеза в гене APC лимитируются как транзиции T на C, так и трансверсии T на G. Остальные типы миссенс замен фиксируются с такой же частотой, как синонимичные. Интересно отметить, что десять из двенадцати типов нуклеотидных замен в интронах гена APC подвергаются отрицательному отбору. Такие результаты указывают на наличие в интронах гена APC большого количества функциональных регуляторных элементов.

Во время соматического мутагенеза в опухолевых клетках ген APC подвержен положительному отбору: шесть из двенадцати типов миссенс мутаций фиксируются в малигнизированных клетках чаще, чем синонимичные, а остальные шесть типов – с такой же частотой. Помимо этого, все типы нонсенс мутаций в гене APC опережают по частоте своей фиксации не только синонимичные, но и миссенс мутации. Действительно, потеря функционального APC приводит к невозможности связать бета-катенин, а, следовательно, к постоянному получению клеткой сигнала к пролиферации.

Выводы. Ген, кодирующий белок APC, подвержен мутационному AT-давлению. Только некоторые типы мутаций в его экзонах подвергаются отрицательному отбору во время герминативного мутагенеза, в отличие от мутаций в интронах. Во время соматического мутагенеза в опухолевых клетках положительному отбору подвергаются не столько миссенс, сколько нонсенс мутации. Последние могут быть не только исходной причиной развития опухоли, но и возникать в процессе онкогенеза – как дополнительный механизм озлокачествления.