

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2022.12.36-39>

Характеристика спектра миссенс-замен в митохондриальных генах субъединиц НАДН дегидрогеназы для гаплогрупп мтДНК, распространенных в Северной Евразии

Голубенко М.В., Зарубин А.А., Бабушкина Н.П., Тарасенко Н.В., Салахов Р.Р., Назаренко М.С.

Научно-исследовательский институт медицинской генетики,
Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук
634050, Россия, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, д. 10

На основе анализа последовательностей митохондриальной ДНК (мтДНК), депонированных в базах данных, исследован спектр аминокислотной изменчивости субъединиц комплекса I дыхательной цепи, кодируемых мтДНК, в зависимости от принадлежности к различным гаплогруппам мтДНК. Установлено, что около 20% аминокислот являются полиморфными в исследованном наборе последовательностей, и для 30% полиморфных аминокислот зарегистрировано более одного мутационного события (гомоплазия). Выявлено действие отрицательного отбора для некоторых генов комплекса I в гаплогруппах мтДНК, распространенных преимущественно в северных широтах. Показано, что индекс консервативности аминокислотных замен в генах комплекса I ниже, чем в других генах мтДНК, а для гена ND1 – выше, чем для других генов комплекса I. Для замен в «северных» гаплогруппах мтДНК по сравнению с распространенными в южных широтах выявлены более высокие средние значения показателя MutPred, отражающего величину эффекта замены аминокислоты на структуру и функцию белка и показателя mtDNA selection score.

Ключевые слова: митохондриальная ДНК, популяционный полиморфизм, НАДН дегидрогеназа, аминокислотная изменчивость.

Для цитирования: Голубенко М.В., Зарубин А.А., Бабушкина Н.П., Тарасенко Н.В., Салахов Р.Р., Назаренко М.С. Характеристика спектра миссенс-замен в митохондриальных генах субъединиц НАДН дегидрогеназы для гаплогрупп мтДНК, распространенных в Северной Евразии. *Медицинская генетика* 2022; 21(12): 36-39.

Автор для корреспонденции: Голубенко М.В.; e-mail: maria-golubenko@medgenetics.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский центр Российской академии наук).

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Дата представления рукописи: 20.11.2022

Spectrum and characteristics of missense substitutions in the genes for NADH dehydrogenase subunits in the mtDNA haplogroups prevailing in Northern Eurasia

Golubenko M.V., Zarubin A.A., Babushkina N.P., Tarasenko N.V., Salakhov R.R., Nazarenko M.S.

Research Institute of Medical Genetics,
Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences 10, Naberejnaya Ushaiki, Tomsk, 634050, Russian Federation

Based on the analysis of mitochondrial DNA sequences deposited in databases, the spectrum of amino acid variability of the mtDNA-encoded subunits of the respiratory chain complex I was studied depending on mtDNA haplogroup affiliations. It was found that about 20% of amino acids were polymorphic in the studied dataset, and for 30% of polymorphic amino acids more than one mutational event (homoplasmy) was registered. The effect of negative selection was revealed for some complex I genes in mtDNA haplogroups, distributed mainly in Northern Eurasia. It has been shown that the conservation index for amino acid substitutions in complex I genes is lower than in other mtDNA genes, and for the ND1 gene this index is higher than for other complex I genes. For the MutPred index and the mtDNA selection score, which reflect the effect of amino acid substitution on the structure and function of the protein, higher average values were registered in the "Northern" mtDNA haplogroups, comparing to the "Southern" haplogroups.

Keywords: mitochondrial DNA, population polymorphism, NADH dehydrogenase, amino acid polymorphism.

For citation: Golubenko M.V., Zarubin A.A., Babushkina N.P., Tarasenko N.V., Salakhov R.R., Nazarenko M.S. Spectrum and characteristics of missense substitutions in the genes for NADH dehydrogenase subunits in the mtDNA haplogroups prevailing in Northern Eurasia. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2022; 21(12): 36-39 (In Russ.)

Corresponding author: Golubenko M.V.; e-mail: maria-golubenko@medgenetics.ru

Funding. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 20.11.2022

Введение

Митохондриальная ДНК человека характеризуется высокой изменчивостью в популяциях разной географической локализации. Существует гипотеза, что географическая дифференциация полиморфизма мтДНК частично может быть обусловлена действием отбора, в том числе связанного с особенностями климата [1]. Кроме того, характеристика спектра аминокислотных замен в популяциях важна для определения класса патогенности вариантов, выявляемых у пациентов с митохондриальными заболеваниями. Целью исследования было изучение закономерностей аминокислотной изменчивости субъединиц НАДН-дегидрогеназы (комплекса I дыхательной цепи), кодируемых мтДНК, в пределах различных гаплогрупп мтДНК, распространенных у коренного населения Северной Евразии.

Материалы и методы

Для сравнительного анализа аминокислотной изменчивости субъединиц первого комплекса дыхательной цепи в зависимости от полиморфизма мтДНК были выбраны гаплогруппы мтДНК, распространенные преимущественно в северных широтах Евразии (A2, C4a, C4b, D4, D5a, Z) или в высокогорных популяциях Тибета (гаплогруппа M9a1) [2]. Для сравнения были проанализированы несколько гаплогрупп, экспансия которых происходила в области экватора и тропического пояса: L3b (Африка), E и Q (подгруппы макрогаплогруппы M, распространенные в Юго-Восточной Азии). Кроме того, в анализ были включены гаплогруппа H6 (подгруппа самой распространенной в европейских популяциях гаплогруппы H) и гаплогруппа W, для которой характерно широкое географическое распространение (Ближний Восток, Европа, Сибирь, Кавказ), но с низкой частотой, обычно не превышающей 5% в популяции.

Набор последовательностей мтДНК был сформирован из базы последовательностей GenBank [3].

Для выбранных гаплогрупп был проведен расчет отношения числа синонимичных к несинонимичным заменам в различных ветвях филогении мтДНК с помощью программы mtPhyl [4]. Данный показатель рассчитывается как в «веточках» отдельной гаплогруппы, так и среди уникальных замен в индивидуальных гаплогруппах. Отношение этих значений служит критерием для выявления действия отбора – т.н. индекс нейтральности (NI) [5].

Программа mtPhyl также генерирует список всех выявленных аминокислотных замен, как во «внутренних», так и в «терминальных» ветвях филогении, а также показателя индекса консервативности для всех этих замен. Мы провели сравнение индекса консервативности, а также значений показателей MutPred и mtDNA selection score, оценивающих степень функциональности/патогенности варианта [6, 7], в различных гаплогруппах мтДНК с помощью однофакторного дисперсионного анализа (расчеты проводили в программе Statistica 8.0).

Результаты и обсуждение

Субъединицы НАДН-дегидрогеназы, кодируемые мтДНК, образуют 4 протонных канала, сформированных α -спиральными трансмембранными доменами этих белков. Характеристика аминокислотной изменчивости, выявленной в исследованных генах, в зависимости от локализации замены в α -спиральных доменах либо вне их приведена в таблице. Как видно из приведенных данных, трансмембранные домены, образованные α -спиральными структурами, занимают чуть больше половины длины белковых субъединиц. Соотношение числа наблюдаемых в нашей выборке миссенс-замен в « α -спиральных» и «свободных» участках белков в целом соответствует этой пропорции. В общей сложности 449 (около 20%) аминокислотных позиций оказались полиморфными, при этом для 30% из них были зарегистрированы параллельные (повторные) мутации в разных гаплогруппах, т.е. гомоплазия. Помимо этого, в 41 аминокислотной позиции было идентифицировано по 2 различных аминокислотных замены, а в двух позициях – по 3 (ND3 Ser34: замены на триптофан, тирозин, аланин; ND5 Asn109: замены на серин, лизин, аспарагиновую кислоту). Результаты теста нейтральности по Элсон, проведенного в программе MtPhyl, указывают на статистически значимое действие отрицательного отбора (превышение доли приватных аминокислотных замен над долей гаплогрупп-ассоциированных аминокислотных замен), рассчитанное для мтДНК в целом (не для отдельных генов). Этот эффект был зарегистрирован во всех гаплогруппах, кроме C4a и M9a. Кроме того, для отдельных генов НАДН-дегидрогеназы было выявлено действие отрицательного отбора в гаплогруппах W, A2 и D4: для гена ND5 в гаплогруппе W ($p=0,05$; NI=2,8), для гена ND6 в гаплогруппе A2 ($p=0,034$; NI=11), для гена ND1 в гаплогруппе D4 ($p=0,042$, NI=2,07).

Анализ филогении исследуемых гаплогрупп мтДНК выявил, что при образовании некоторых из них произошли мутации, приведшие к аминокислотным заменам в генах НАДН дегидрогеназы. При этом большинство таких аминокислотных замен локализовано в гене ND2, а замены V8I и A331T произошли при образовании гаплогрупп дважды (таблица). В генах ND4L и ND5 таких замен не зарегистрировано, несмотря на то, что субъединица ND5 является самой большой кодируемой мтДНК.

Индекс консервативности аминокислот для замен в генах комплекса I дыхательной цепи составил $44,4\% \pm 1,2\%$ и был значительно ниже ($p < 10^{-6}$), чем для

замен в митохондриальных генах, кодирующих субъединицы комплексов III ($54,5\% \pm 2,1\%$), IV ($62,5\% \pm 1,9\%$) и V ($59,1\% \pm 1,7\%$). Показатели MutPred и mtDNA selection score не показали таких различий.

При сравнении этих показателей, рассчитанных для генов комплекса I, между «северными» и «южными» гаплогруппами индексы консервативности значительно не различались, а MutPred и mtDNA selection score в «северных» гаплогруппах были выше, чем в южных ($p=0,045$ и $p=0,022$ соответственно). Эта тенденция сохранялась для показателя mtDNA selection score при рассмотрении только «приватных» замен ($p=0,029$). При рассмотрении отдельных генов ген ND1 имел бо-

Характеристика аминокислотной изменчивости в генах комплекса I дыхательной цепи в проанализированных гаплогруппах мтДНК

Characteristics of amino acid variability of the mtDNA-encoded subunits of the respiratory chain complex I in the analyzed mtDNA haplogroups

Ген	ND1	ND2	ND3	ND4	ND4L	ND5	ND6	Сумма
Длина белка (L)	318	347	116	460	98	603	174	2116
Число α -спиральных доменов в белке	8	10	3	11	3	15	6	56
Число аминокислот в α -спиральных доменах n (% от длины белка)	168 (52,8)	209 (60,2)	63 (54,3)	232 (50,4)	63 (64,3)	316 (52,4)	126 (72,4)	1177 (55,6)
Число различных миссенс-замен n_{ms} :								
в α -спиральных доменах –	56	53	10	29	5	61	33	247
вне α -спиралей –	38	23	10	32	4	81	14	202
всего –	94	76	20	61	9	142	47	449
Число полиморфных позиций* n_p –	81	71	17	58	9	125	42	403
$n_p / L \cdot 100$ [%]	25,5	20,5	14,7	14,7	9,2	20,7	24,1	19,0
Число позиций с гомоплазией								
в α -спиральных доменах –	24	13	6	8	0	10	12	73
вне α -спиралей –	15	5	2	11	1	30	2	66
всего –	39	18	8	19	1	40	14	139
Замены аминокислот, характерные для гаплогрупп:								
1) «северные» A (A2)	-	T119A	-	-	-	-	-	1
D (D4+D5a)	-	L237M	T114A*	-	-	-	-	2
M8-C4 (C4a+C4b)	-	-	T114A	A404T	-	-	N119S	3
M8-C5 (C5a)	-	-	T114A	-	-	-	N119S	2
M8-Z	-	-	T114A	-	-	-	-	1
2) «южные»								
M-E	-	V8I	T114A	-	-	-	-	2
M-Q	-	A331T	T114A	-	-	-	-	2
L3b	-	-	T114A, N10D	-	-	-	-	2
3) «другие»								
W	T67A	V193I , A331T	-	-	-	-	-	3
M9a1	Y30H	V8I	T114A	-	-	-	-	3
H6	-	-	-	-	-	-	-	0

Примечание: при расчете числа полиморфных аминокислотных позиций две или три различных замены одной аминокислоты учитывались как одна позиция. Аланин 114 в ND3 является «предковой» аминокислотой, замена указана в отношении к референсной последовательности мтДНК, которая отличается от предковой. Жирным шрифтом выделены аминокислотные замены в трансмембранных доменах.

лее высокие значения всех трех показателей по сравнению с генами ND2, ND4 и ND5 ($p < 10^{-6}$ во всех случаях).

Сравнение значений индекса консервативности, MutPred и mtDNA selection score для гаплогрупп-ассоциированных замен и для «приватных» замен аминокислот в генах комплекса I выявило статистически более высокое значение всех трех показателей в группе «приватных» замен. Такая ситуация может быть интерпретирована как действие стабилизирующего отбора, при котором новые «приватные» замены, снижающие приспособленность, затем элиминируются из популяции [5].

Анализ отдельных замен аминокислот в зависимости от их предполагаемой функциональной значимости также выявил некоторые различия между гаплогруппами. В частности, замены Tyr304His (T4216C) и Ala147Thr (G3745A) в субъединице ND1 были ранее обозначены как имеющие адаптивный эффект в популяции высокогорных шерпов [8]. В нашем наборе последовательностей мтДНК обе эти замены, а также замена Ala147Val (C3746T), зарегистрированы только в не-«южных» гаплогруппах (A2, C4a, C5a, H6, M9a1, W, Z, D4). С другой стороны, аминокислота Cys39 в субъединице ND3 играет важную роль в активации и инактивации комплекса в условиях гипоксии и реоксигенации [9]. Она расположена в не-мембранном участке белка (аминокислоты 34-55). Почти все полиморфные аминокислоты в этом участке зарегистрированы также в не-южных гаплогруппах (G29S: A2, W, Z; S34T: D4; S34A: M9a1; S34Y: W; S45F: A2, D4, W; P46S), за исключением одной замены V49I в гаплогруппе Q.

Полученные результаты свидетельствуют о вариабельности действия отбора на различные гены мтДНК, в частности, на гены субъединиц НАДН дегидрогеназы, в зависимости от генетико-географического бэкграунда (принадлежность мтДНК к определенной гаплогруппе, географическое распространение данной гаплогруппы).

Литература/References

1. Mishmar D., Ruiz-Pesini E., Golik P., et al. Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(1):171-176.
2. Kang L., Zheng H.X., Zhang M., et al. MtDNA analysis reveals enriched pathogenic mutations in Tibetan highlanders. *Sci Rep*. 2016;6:31083.
3. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>
4. Eltsov N., Volodko N. New method and new tool for human mtDNA phylogeny reconstruction. *Europ. J. Hum. Genet.* 2009;17(suppl. 1):298.
5. Elson J.L., Turnbull D.M., Howell N. Comparative genomics and the evolution of human mitochondrial DNA: assessing the effects of selection. *Am J Hum Genet.* 2004;74(2):229-38.
6. Li B., Krishnan V.G., Mort M.E., et al. Automated inference of molecular mechanisms of disease from amino acid substitutions. *Bioinformatics*. 2009;25(21):2744-2750.
7. Pereira L., Soares P., Radivojac P., Li B., Samuels D.C. Comparing phylogeny and the predicted pathogenicity of protein variations reveals equal purifying selection across the global human mtDNA diversity. *Am J Hum Genet.* 2011;88(4):433-439. doi:10.1016/j.ajhg.2011.03.006
8. Kang L., Zheng H.X., Chen F., et al. MtDNA lineage expansions in Sherpa population suggest adaptive evolution in Tibetan highlands. *Mol Biol Evol.* 2013;30(12):2579-2587.
9. Babot M., Birch A., Labarbuta P., Galkin A. Characterisation of the active/de-active transition of mitochondrial complex I. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1837(7):1083-92.