

АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН В ГЕНАХ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ЧЕЛОВЕКА

© 2004 г. Б. А. Малярчук

Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук,
Магадан 685000; Факс: (413-22)3-44-63

e-mail: malyar@ibpn.kolyma.ru

Поступила в редакцию 04.02.2004 г.

С целью исследования характера распределения нуклеотидных замен в митохондриальной ДНК (мтДНК) человека реконструированы мутационные спектры митохондриальных генов. Процедура реконструкции спектров основана на результатах анализа распределения мутаций в 47 монофилических кластерах мтДНК, к которым принадлежат проанализированные 794 последовательности, кодирующие гены тРНК, рРНК и белков митохондриального генома. Показано, что одной из особенностей мутационных спектров митохондриальных генов является гомоплазия мутаций (среднее число мутаций на переменную нуклеотидную позицию варьирует в генах в диапазоне от 1.09 до 1.43). Установлено, что максимальное мутационное давление в генах мтДНК испытывают гуаниновые основания, хотя их содержание в L-цепях мтДНК минимально. В сторону параллельных G → A транзиций максимално смещен мутационный спектр генов рРНК, затем белков и тРНК. Несмотря на достоверные, в среднем, различия по содержанию и вариабельности G-нуклеотидов между генами двух сегментов мтДНК, расположенных между OriH и OriL, результаты анализа не позволяют заключить, что нестабильность G-нуклеотидов, наблюдаемая в L-спектрах генов мтДНК, обусловлена механизмом асинхронной репликации мтДНК и процессом дезаминирования цитозинового основания в участках H-цепи, находящихся в процессе репликации в одноцепочечном состоянии.

Митохондриальная геномика человека развивается с 80-х годов XX в. и к настоящему времени располагает большим массивом популяционных данных об изменчивости полных нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК (мтДНК) [1–5]. Митохондриальный геном человека имеет размер 16569 пар нуклеотидов (пн) и включает в свой состав гены, кодирующие две рРНК, 22 тРНК и 13 субъединиц белков дыхательной цепи, а основные функциональные элементы, необходимые для регуляции экспрессии мтДНК, сосредоточены в главной некодирующей области длиной 1122 пн [6]. Вслед за ростом числа публикаций об изменчивости полногеномных последовательностей в популяциях человека, растет число работ, исследующих причины высокого уровня изменчивости мтДНК и его функциональные последствия [7–9].

К настоящему времени показано, что наиболее консервативными участками мтДНК являются гены тРНК и рРНК, а наиболее полиморфными – гипервариабельные сегменты 1 и 2 (ГВС1 и 2), расположенные в главной некодирующей области [3, 9]. Установлено, что частота параллельных мутаций (гомоплазии) в главной некодирующей области в 31 раз выше, чем в генах мтДНК [3]. Существование гомоплазии мутаций в генах мтДНК свидетельствует о неравномерности му-

тационных скоростей в нуклеотидных позициях, причины которой остаются все еще невыясненными [4]. Гипервариабельные позиции составляют всего 6% от общего числа полиморфных позиций в мтДНК, в кодирующей области они “рассеяны” достаточно равномерно и обнаружены в различных генах: *ND1*, *ATPase6*, *COIII*, *ND3*, *ND4*, *ND5*, *CytB* и тРНК(*Ser*) [9]. Отдельные исследования посвящены анализу распределения синонимичных и несинонимичных мутаций и их роли в эволюции митохондриальных белков [7, 8]. Таким образом, к настоящему времени уже получена некоторая исходная информация, необходимая для исследования одной из основных проблем митохондриальной генетики – механизмов генерирования мутаций и причин высокой скорости эволюции мтДНК. Целью настоящей работы является реконструкция мутационных спектров генов мтДНК и анализ распределения нуклеотидных замен, что необходимо для дальнейших исследований мутационных процессов в митохондриальном геноме человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В анализе использованы 794 нуклеотидные последовательности мтДНК человека между позициями 577–16023 (длиной 15445 пн), полученные из следующих источников: 560 последовательно-

Таблица 1. Нуклеотидные различия между референтной кембриджской последовательностью (rCRS) и предковой последовательностью мтДНК человека

Варианты мтДНК	Нуклеотидные отличия от последовательности rCRS
L(x L1b/c, L2, L3, M, N)	1048T 2758A 2885C 4312T 6185C 7146G 8468T 10589A 11914A 12007A 13105G
L(x L2, L3, M, N)	825A 8655T 10688A 10810C 13506T 15301G
L(x L3, M, N)	3594T 4104G 7256T 13650T
N	8701G 9540C 10398G 10873C 15301A
R	12705T
HV + preHV	11719A
HV	14766T
H	2706G 7028T
H2	1438G 4769G
rCRS-полиморфизм	750G 8860G 15326G

стей мтДНК из базы данных MitoKor (www.mitokor.com/science/560mtdnasrevision.php) [4], 42 последовательности мтДНК из базы данных GenBank (AF382013.1–AF381981.1) [2] и 192 последовательности из работы [3]. В качестве референтной последовательности мтДНК использована последовательность rCRS ([10]; GenBank NC 001807), доступная также в базе данных MITOMAP (www.mitomap.org). Локализацию генов и коротких межгенных некодирующих участков определяли по базе данных MITOMAP. Для анализа распределения мутаций в последовательностях мтДНК и определения нуклеотидного состава использовали программы пакета MEGA version 2.1 [11].

Мутационные спектры генов мтДНК реконструировали относительно L-цепей предковых последовательностей, выявленных ранее с помощью филогенетического анализа данных об изменчивости митохондриальных геномов [2–4]. Порядок появления и характер нуклеотидных замен учитывали, исходя из структуры филогенетического дерева (медианной сети) мтДНК человека, представленного (исходя из данных работ [2–4]) кластерами (группами и подгруппами) мтДНК, которые распространены в популяциях Африки (L1a/d, L1b, L1c, L1e, L2a, L2b, L3b, L3d, L3e), Западной Евразии (H, HV, pre-V, J1, J2, K, U2, U3, U4, U5a, U5b, U6, U7, U8, U*, X, I1, I2, W1, W2, W*, T*, T1, T2, N1b) и Восточной Евразии (A, B1, B2, C, Z, D*, D5, E, G2, M*, M9a, M1, R*). В соответствии с классификацией группы мтДНК обозначаются латинским однобуквенным кодом

(за исключением HV), а подгруппы в пределах групп – цифровым дополнением к буквенному наименованию группы [12]. Звездочкой отмечают типы мтДНК, которые принадлежат к определенной группе, но пока не могут быть отнесены ни к одной из ее известных подгрупп. Например, $T = T^* + T1 + T2$ или $T^* = T(x T1, T2)$, где “x” – знак исключения. Статистическую значимость различий между частотами мутаций в мутационных спектрах генов мтДНК определяли с помощью t-теста (пакет STATISTICA/w 5.0).

Смещение в распределении частот нуклеотидов в участках мтДНК (B) определяли по формуле [13]:

$$B = |(G + T) - (A + C)| / (A + C + G + T).$$

В отсутствие мутационной асимметрии ($A + C = G + T$) ожидаются значения B близкие к нулю [13].

В сравнительном анализе использовали мутационные спектры ГВС1 и 2 главной некодирующей области мтДНК человека, реконструированные нами ранее с помощью филогенетического анализа популяционных данных об изменчивости кодирующих и некодирующих районов митохондриального генома [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследованиях изменчивости мтДНК человека мутации принято регистрировать относительно референтной последовательности, в качестве которой используется кембриджская последовательность мтДНК (rCRS) – первый митохондриальный геном, нуклеотидная последовательность которого была опубликована в 1981 году [6] (а также ревизия этой последовательности мтДНК человека: [10]). Поскольку rCRS занимает в филогенетическом дереве мтДНК краевое положение (так как относится к одной из подгрупп (H2) большой европейской группы H) [3], то мутационные спектры генов мтДНК целесообразнее реконструировать относительно предковых последовательностей, занимающих наиболее древние узлы в филогенетическом дереве мтДНК. В соответствии с данными филогенетического анализа наиболее древним является узел, разделяющий корневой тип мтДНК африканских подгрупп L1a/d и корневой тип, от которого ведет начало подавляющее большинство групп мтДНК человека [4]. В табл. 1 этот узел обозначен как L(x L1b/c, L2, L3, M, N). Данные табл. 1 показывают, что референтная последовательность rCRS отличается от предковой мутациями в 36 позициях, что составляет всего 0.2% от 15445 проанализированных нуклеотидов. Таким образом, при проведении реконструкции мутационных спектров генов мтДНК относительно rCRS, а не предковой последовательности, ошибка будет небольшой. Тем не менее, в насто-

Таблица 2. Распределение частот варьируемых нуклеотидов и нуклеотидных замен в генах и некодирующих межгенных участках мтДНК человека

Участки мтДНК	Локализация	Длина	Число варьируемых позиций (частота, %)	Число мутаций/число мутаций на варьируемую позицию
12S	648–1601	954	56 (5.87)	80/1.43
16S	1671–3229	1559	76 (4.87)	103/1.36
ND1	3307–4262	956	102 (10.67)	127/1.25
ND2	4470–5511	1042	110 (10.56)	145/1.32
COI	5904–7445	1542	134 (8.69)	179/1.36
COII	7586–8269	684	62 (9.06)	71/1.15
ATPase8	8366–8572	207	35 (16.91)	38/1.09
ATPase6	8527–9207	681	91 (13.36)	104/1.14
COIII	9207–9990	783	82 (10.47)	104/1.27
ND3	10059–10404	346	38 (10.98)	50/1.32
ND4L	10470–10766	297	21 (7.07)	30/1.43
ND4	10760–12137	1378	131 (9.51)	162/1.24
ND5	12337–14148	1812	200 (11.04)	244/1.22
ND6	14149–14673	525	70 (13.33)	96/1.37
CytB	14747–15887	1141	153 (13.41)	209/1.37
22 гена tRNA	Различная	1509	93 (6.16)	107/1.15
некодирующие участки	Различная	168	19 (11.31)	25/1.32
GBC1	16093–16365	273	202 (73.99)	2212/10.95
GBC2	72–297	226	92 (40.71)	500/5.43

ящей работе мутационные спектры генов мтДНК реконструированы относительно предковой последовательности мтДНК (табл. 1), выявленной с помощью анализа медианных сетей, представленных в работах [2–4].

В табл. 2 показаны данные о распределении частот варьируемых нуклеотидов в генах и межгенных участках мтДНК. Для реконструкции мутационных спектров применялся филогенетический подход, позволяющий различать параллельные мутации, случившиеся независимо в различных кластерах мтДНК в процессе эволюции [14], поэтому в табл. 2 приводятся данные о частотах мутаций с учетом их гомоплазии. Как видно, все проанализированные участки мтДНК характеризуются широким интервалом частот варьируемых нуклеотидов (от 4.9 до 16.9%). Наиболее консервативными являются гены рибосомальных и транспортных РНК. Из белок-кодирующих генов наиболее консервативны гены цитохром-с-оксидазы (субъединицы I и II) и NADH-дегидрогеназы (субъединицы 4 и 4L). Наиболее варьируемыми являются гены *ATPase6*, *ATPase8*, *ND6* и *CytB*. Анализ изменчивости коротких некодирующих межгенных участков показал, что по варируемости нуклеотидов они, в среднем, характеризуются частотой, сходной с таковой в

умеренно-варируемых генах мтДНК (11.3%), однако в митохондриальном геноме имеются отдельные межгенные участки, показывающие повышенную изменчивость – это участки 5577–5586 и 8270–8294, в которых наблюдается, соответственно, 30 и 40% варьируемых нуклеотидных позиций. Эти показатели близки к значениям, выявленным в гиперварируемых сегментах главной некодирующей области (более 40% в GBC2 и более 70% в GBC1) [14]. Однако мутационные спектры GBC1 и 2 характеризуется крайне высокими (>5 мутаций) значениями мутационного давления (т.е. числа независимых мутаций в расчете на каждую варьируемую позицию); в то время как в спектрах мутаций, наблюдаемых в генах и коротких межгенных участках мтДНК, значение этого показателя не превышает двух (табл. 2). Интересно, что максимальные значения мутационного давления (1.43) наблюдаются в наиболее консервативных генах мтДНК (*12S* рРНК и *ND4L*).

В табл. 3 приводятся данные о распределении нуклеотидных замен в мутационных спектрах генов мтДНК. Анализ показал, что соотношение транзиций к трансверсиям составляет 19.3 : 1 в генах рРНК, 15 : 1 – в белковых генах и в среднем 14.3 : 1 – в генах тРНК. Сходное значение соотношения транзиций к трансверсиям наблюдается и в

Таблица 3. Спектры нуклеотидных замен в генах митохондриального генома человека

Мутации	<i>n</i>	<i>m</i>	<i>m - n</i>	<i>m/n</i>
белок-кодирующие гены (G11.3%, T25.3%, C33%, A30.4%)				
C → T	295	315	20	1.07
T → C	298	401	103	1.35
G → A	203	343	140	1.69
A → G	345	412	67	1.19
C → A	26	27	1	1.04
A → C	7	7	0	1.0
A → T	16	16	0	1.0
T → A	8	9	1	1.13
T → G	10	10	0	1.0
G → T	3	3	0	1.0
C → G	19	19	0	1.0
G → C	7	7	0	1.0
гены рРНК (G18.2%, T21.8%, C26%, A34%)				
C → T	27	30	3	1.11
T → C	44	51	7	1.16
G → A	23	62	39	2.7
A → G	30	31	1	1.03
C → A	2	2	0	1.0
A → C	1	1	0	1.0
A → T	2	2	0	1.0
T → A	1	1	0	1.0
T → G	1	1	0	1.0
G → T	1	1	0	1.0
C → G	0	0	0	0
G → C	1	1	0	1.0
гены тРНК (G14.5%, T26.9%, C23.4%, A35.2%)				
C → T	12	12	0	1.0
T → C	29	32	3	1.1
G → A	13	17	4	1.31
A → G	32	39	7	1.22
C → A	2	2	0	1.0
A → C	0	0	0	0
A → T	3	3	0	1.0
T → A	0	0	0	0
T → G	1	1	0	1.0
G → T	0	0	0	0
C → G	1	1	0	1.0
G → C	0	0	0	0

Примечание. *n* – количество полиморфных позиций; *m* – количество мутаций; *m/n* – мутационное давление, показывающее среднее число мутаций на полиморфную позицию. Нуклеотидный состав показан в скобках.

ГВС1 главной некодирующей области (13.4 : 1) [14]. Особенностью мутационных спектров некодирующих гипервариабельных сегментов мтДНК является существенное преобладание пиримидиновых транзиций над пуриновыми – 3.3 : 1 в ГВС1 и 1.7 : 1 в ГВС2 [14]. Однако в спектрах генов мтДНК наблюдается совершенно другая картина – примерно равное их соотношение (в среднем 0.9:1). Анализ показал, что степень вариабельности нуклеотидных позиций определенного типа (A, G, T или C) достоверно ($p = 0.04$) коррелирует с нуклеотидным составом только в генах тРНК; для белковых генов коэффициент корреляции составил: $r = 0.8$ ($p = 0.2$), для генов рРНК $r = 0.4$ ($p = 0.6$). В генах, кодирующих белки, вариабельных С-нуклеотидов наблюдается достоверно меньше, а вариабельных G-нуклеотидов достоверно больше, чем могло бы быть, исходя из нуклеотидного состава ($p < 0.0002$ в обоих случаях). В генах рРНК наблюдается увеличение вариабельности в Т-позициях и снижение в А-позициях ($p = 0.0006$ и 0.029 соответственно). Сопоставление нуклеотидного состава и мутационных спектров в белковых генах показало, что частота мутаций во всех типах нуклеотидов, кроме Т, не соответствует ($p < 0.03$) их содержанию. В генах рРНК нуклеотидный состав и мутационные спектры не соответствовали для всех типов нуклеотидов ($p < 0.02$), особенно для G-нуклеотидов (содержание последних в генах рРНК составляет в среднем 18.2%, их доля среди вариабельных позиций – 25%, а доля мутаций, приходящихся на G-основания в мутационном спектре, составляет уже 35%). В генах тРНК, однако, лишь в С-позициях наблюдалось меньше мутаций ($p = 0.03$), чем могло бы быть, исходя из нуклеотидного состава.

Особенностью митохондриального генома является асимметрия нуклеотидного состава цепей ДНК [6]. Как показало настоящее исследование, значения смещения в распределении частот нуклеотидов (В) изменяются в различных участках генома в широком диапазоне и составляют в среднем 26.8% в белок-кодирующих генах, 20% в генах рРНК и 17.2% в генах тРНК. Самое низкое значение смещения В наблюдается в ГВС2 главной некодирующей области (14%), наиболее высокое – в ГВС1 (39.4%), хотя в белковых генах наблюдаются как высокие (более 40% в генах *ATP8*, *ND6*), так и низкие значения В (14–18% в генах *COI*, *COIII* и *ND3*). Следует отметить, что смещение нуклеотидного состава в генах ядерного генома выражено в значительно меньшей степени (В = 4.3% для 13870 генов [15]). В мтДНК человека смещение нуклеотидного состава обусловлено главным образом низкой частотой гуаниновых оснований (табл. 3). Однако наиболее выраженное мутационное давление испытывают, тем не менее, именно остатки гуанина (m/n равно 1.7 и

2.7 соответственно в генах, кодирующих белки и рРНК).

Появление асимметрии цепей ДНК может быть связано с процессами транскрипции и репликации [15–17]. Репликация мтДНК является асинхронной и транскрипционно-зависимой, поскольку она инициируется синтезом короткого участка РНК в D-области (главной некодирующей области), который служит праймером в последующем синтезе дочерней Н-цепи мтДНК [18]. Асинхронность репликации мтДНК проявляется в том, что родительская Н-цепь остается продолжительное время в одноцепочечном состоянии, в связи с чем предполагается, что она может быть подвержена воздействию мутаций в большей степени, чем L-цепь [19, 20]. Одним из вероятных механизмов генерирования мутаций (в том числе и в мтДНК) является дезаминирование цитозина, которое приводит к транзициям С:G → Т:А [21]. Таким образом, предполагается, что вероятность появления мутаций С → Т более высока в участке Н-цепи, остающемся в процессе репликации мтДНК одноцепочечным [19]. Этот участок включает гипервариабельные сегменты и все гены мтДНК за исключением расположенных между OriH и OriL (между позициями 577 и 5721) генов *12S* и *16S* рРНК, *ND1*, *ND2* и нескольких тРНК. В мутационных спектрах, реконструированных относительно L-цепи, мутации С → Т, произошедшие на Н-цепи, регистрируются как G → А. Таким образом, если исходное предположение верно, то ожидается, что гены *12S* и *16S* рРНК, *ND1* и *ND2* должны (по L-цепи), во-первых, содержать больше остатков гуанина и, во-вторых, характеризоваться меньшей вариабельностью G-нуклеотидов в сравнении с другими генами мтДНК.

В табл. 4 показано распределение содержания гуанина в генах и гипервариабельных сегментах мтДНК и интенсивность мутаций G → А. Анализ показал, что сравниваемые участки митохондриального генома различаются по распространенности остатков гуанина: в среднем в первом участке, включающем гены *12S* и *16S* рРНК, *ND1* и *ND2*, G-нуклеотиды распространены чаще, чем во втором участке (14.4% против 11.4%, $p = 0$). Частота вариабельных гуаниновых оснований в среднем ниже в первом участке (9.9% против 19.0%, $p = 0$). Однако, частоты вариабельных G-нуклеотидов варьируют от гена к гену по длине мтДНК; минимальная их частота обнаружена в гене *16S* рРНК (3%), но в целом диапазон значений частот в генах рРНК, *ND1* и *ND2* (3–15.2%) перекрывается с таковым для остальных генов мтДНК (9.6–38.5%). Максимальные значения частот вариабельных G-нуклеотидов, действительно, наблюдаются в некоторых генах мтДНК, Н-цепь которых остается одноцепочечной в процессе репликации. Это гены *ATPase6* и *ATPase8*

Таблица 4. Распределение содержания G-нуклеотидов, вариабельных позиций (n) и мутаций G → А (m) в различных участках мтДНК

Участок мтДНК и ген	Длина, пп	Количество оснований G (%)	n (%)	m	m/n
ГВС1	273	25 (9.1)	16 (64.0)	195	12.19
ГВС2 (OriH)	226	37 (16.4)	18 (48.6)	73	4.06
12S	954	182 (19.1)	15 (8.2)	38	2.53
16S	1559	270 (17.3)	8 (3.0)	24	3.0
ND1	956	112 (11.7)	17 (15.2)	36	2.12
ND2	1042	99 (9.5)	13 (13.1)	29	2.23
OriL					
COI	1542	250 (16.2)	24 (9.6)	39	1.63
COII	684	102 (14.9)	16 (15.7)	24	1.5
ATPase8	207	13 (6.3)	5 (38.5)	6	1.2
ATPase6	681	71 (10.4)	19 (26.8)	26	1.37
COIII	783	116 (14.8)	18 (15.5)	28	1.56
ND3	346	37 (10.7)	7 (18.9)	13	1.86
ND4L	297	36 (12.1)	4 (11.1)	9	2.5
ND4	1378	136 (9.9)	13 (9.6)	26	2.0
ND5	1812	192 (10.6)	26 (13.5)	42	1.62
ND6	525	37 (7.0)	10 (27.0)	14	1.4
CytB	1141	137 (12.0)	31 (22.6)	51	1.65

Примечание. OriH и OriL разделяют гены мтДНК на два участка.

(позиции 8366–9207) и гены *ND6* и *CytB* (позиции 14149–15887), но интенсивность параллельных мутаций в G-позициях (показатель m/n в табл. 4) наиболее высока как в четырех генах первого сегмента (*12S* и *16S* рРНК, *ND1* и *ND2*; позиции 648–5511), так и в генах противоположного сегмента митохондриального генома (*ND3*, *ND4L* и *ND4*; позиции 10059–12137). В целом полученные данные не позволяют все же заключить, что повышенное мутационное давление на гуаниновые основания, наблюдаемое в L-спектрах генов мтДНК, является следствием исключительно особенностей репликации мтДНК и механизма интенсификации дезаминирования цитозиновых оснований на стадии появления одноцепочечных участков Н-цепи. Это обусловлено тем, что сравниваемые участки мтДНК достоверно различаются только по усредненным значениям частот G-нуклеотидов и произошедших в них мутаций. С другой стороны, неизвестно, каковы пропорции мутаций С → Т на Н-цепи и G → А на L-цепи в разных генах мтДНК и, соответственно, каков вклад мутаций С → Т, произошедших в Н-цепи, в наблюдаемые различия мутационных L-спектров генов первой и второй групп.

Процесс транскрипции цепей мтДНК также имеет свои особенности: из белок-кодирующих генов только ген *ND6* транскрибируется с L-цепи [18]. Поэтому, исходя из гипотезы о влиянии процесса транскрипции на мутационную асимметрию цепей ДНК [17], можно ожидать, что мутационный L-спектр этого гена будет отличаться от спектров соседних генов *ND5* и *CytB* повышенной частотой транзиций G → A из-за усиленного дезаминирования цитозина в H-цепи, остающейся одноцепочечной в процессе транскрипции. Аналогично, мутационные спектры генов, транскрипция которых происходит на H-цепи, должны отличаться от спектра *ND6* повышенной частотой транзиций C → T. В итоге учитывая разную вероятность появления мутаций G → A в разных генах в связи с особенностями репликации и транскрипции мтДНК можно ожидать наиболее высокие частоты G → A в гене *ND6*, самые низкие – в генах рРНК *ND1* и *ND2* и промежуточные в остальных генах мтДНК. Однако анализ показал отсутствие достоверных различий между мутационными спектрами гена *ND6* и соседних генов ($p > 0.2$ для транзиций C → T и G → A).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что такая особенность мутационных спектров митохондриальных генов как смещение L-спектров в сторону транзиций G → A, по всей видимости, не определяется исключительно особенностями репликации и транскрипции мтДНК. Как видно из табл. 4, в некоторых генах (*12S* и *16S* рРНК, *ND4*, *ND4L*), характеризующихся относительно низкой вариабельностью G-нуклеотидов (от 3 до 11%), наблюдаются высокие значения частот параллельных мутаций (2.0–3.0 на вариабельную позицию). Наблюдаемое явление может объясняться зависимостью мутационного процесса от контекста ДНК. Ранее было показано, что контекст-зависимые механизмы генерирования нуклеотидных замен относятся к числу важнейших механизмов мутагенеза главной некодирующей мтДНК [14, 22]. Поэтому анализ контекстных свойств нуклеотидных последовательностей генов мтДНК представляется актуальным в дальнейших исследованиях механизмов возникновения мутаций в митохондриальном геноме.

Автор искренне признателен И.Б. Рогозину (ИЦиГ СО РАН), М.В. Деренко (ИБПС ДВО РАН) и И.А. Кутуеву (ИБГ УНЦ РАН) за помощь в проведении данного исследования и обсуждение его результатов. Работа выполнена при финансовой поддержке Дальневосточного отделения Российской академии наук (грант № 03-3-A-06-096).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ingman M., Kaessmann H., Paabo S., Gyllensten U.* Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans // *Nature*. 2000. V. 408. P. 708–713.
2. *Maca-Meyer N., Gonzalez A.M., Larruga J.M. et al.* Major genomic mitochondrial lineages delineate early human expansions // *BMC Genetics*. 2001. V. 2. P. 13.
3. *Finnila S., Lehtonen M.S., Majamaa K.* Phylogenetic network for European mtDNA // *Am. J. Hum. Genet.* 2001. V. 68. P. 1475–1484.
4. *Herrnstadt C., Elson J.L., Fahy E. et al.* Reduced-median-network analysis of complete mitochondrial DNA coding-region sequences for the major African, Asian and European haplogroups // *Am. J. Hum. Genet.* 2002. V. 70. P. 1152–1171.
5. *Hedges S.B.* A start for population genomics // *Nature*. 2000. V. 408. P. 652–653.
6. *Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G. et al.* Sequence and organization of the human mitochondrial genome // *Nature*. 1981. V. 290. P. 457–465.
7. *Mishmar D., Ruiz-Pesini E., Golik P. et al.* Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. V. 100. P. 171–176.
8. *Moilanen J.S., Majamaa K.* Phylogenetic network and physicochemical properties of nonsynonymous mutations in the protein-coding genes of human mitochondrial DNA // *Mol. Biol. Evol.* 2003. V. 20. P. 1195–1210.
9. *Meyer S., von Haeseler A.* Identifying site-specific substitution rates // *Mol. Biol. Evol.* 2003. V. 20. P. 182–189.
10. *Andrews R.M., Kubacka I., Chinnery P.F. et al.* Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA // *Nat. Genet.* 1999. V. 23. P. 147.
11. *Kumar S., Tamura K., Jakobsen I.B., Nei M.* MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software. Tempe: Arizona State University Press, 2000. 130 p.
12. *Macaulay V., Richards M., Hickey E. et al.* The emerging tree of West Eurasian mtDNAs: a synthesis of control-region sequences and RFLPs // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. V. 64. P. 232–249.
13. *Sueoka N.* Intrastrand parity rules of DNA base composition and usage biases of synonymous codons // *J. Mol. Evol.* 1995. V. 40. P. 318–325.
14. *Malyarchuk B.A., Rogozin I.B., Berikov V.B., Derenko M.V.* Analysis of phylogenetically reconstructed mutational spectra in human mitochondrial DNA control region // *Hum. Genet.* 2002. V. 111. P. 46–53.
15. *Majewski J.* Dependence of mutational asymmetry on gene-expression levels in the human genome // *Am. J. Hum. Genet.* 2003. V. 73. P. 688–692.
16. *Tanaka M., Ozawa T.* Strand asymmetry in human mitochondrial DNA mutations // *Genomics*. 1994. V. 22. P. 327–335.
17. *Green P., Ewing B., Miller W. et al.* Transcription-associated mutational asymmetry in mammalian evolution // *Nat. Genet.* 2003. V. 33. P. 514–517.
18. *Clayton D.A.* Replication and transcription of vertebrate mitochondrial DNA // *Annu. Rev. Cell Biol.* 1991. V. 7. P. 453–478.
19. *Reyes A., Gissi C., Pesole G., Saccone C.* Asymmetrical directional mutation pressure in the mitochondrial ge-

- nome of mammals // *Mol. Biol. Evol.* 1998. V. 15. P. 957–966.
20. *Tamura K.* On the estimation of the rate of nucleotide substitution for the control region of human mitochondrial DNA // *Gene*. 2000. V. 259. P. 189–197.
21. *Beletskii A., Bhagwat A.S.* Transcription-induced mutations: increase in C to T mutations in the nontranscribed strand during transcription in *Escherichia coli* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996. V. 93. P. 13919–13924.
22. *Малярчук Б.А.* Роль контекста в возникновении мутаций в гипервариабельном сегменте 1 митохондриальной ДНК человека // *Молекуляр. биология*. 2002. Т. 36. № 3. С. 418–423.