

ГЕНОМИКА.
ТРАНСКРИПТОМИКА

УДК 575.174

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МУТАЦИОННЫХ СПЕКТРОВ
МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ В ПОПУЛЯЦИЯХ ЧЕЛОВЕКА

© 2023 г. Б. А. Малярчук*

*Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук,
Магадан, 685000 Россия*

**e-mail: malyarchuk@ibpn.ru*

Поступила в редакцию 09.03.2023 г.

После доработки 24.03.2023 г.

Принята к публикации 30.03.2023 г.

Проанализирована изменчивость нуклеотидных последовательностей целых митохондриальных геномов (мтДНК), реконструированы мутационные спектры (по L-цепи мтДНК) в четырех региональных группах коренного населения, представляющего Северо-Восточную и Южную Сибирь, Западную Азию и Америку. Обнаружено, что во всех группах преобладают пиримидиновые транзиции и среди них – замены T→C. Вторыми по частоте во всех региональных группах (кроме Северо-Восточной Сибири) идут замены A→G. Из трансверсий во всех исследованных группах населения преобладают замены C→A. Не обнаружены межрегиональные различия в распределении нуклеотидных замен в спектрах мутаций мтДНК. Однако у коренного населения Северо-Восточной Сибири выявлено существенное (4-кратное) снижение числа мутаций в митохондриальных генофондах в сравнении с остальными регионами. Это может быть связано с усилением в условиях Крайнего Севера действия отрицательного отбора на мтДНК, препятствующего накоплению новых мутаций, и дрейфа генов, более всего выраженного в изолированных и малочисленных популяциях Северо-Восточной Сибири. Из-за отсутствия межрегиональных различий в спектрах мутаций мтДНК полученные результаты не позволяют подтвердить гипотезу о том, что частота замены T→C является молекулярным маркером уровня окислительного стресса в митохондриях (по меньшей мере, для генеративных мутаций).

Ключевые слова: митохондриальная ДНК, мутационный спектр, естественный отбор, популяции человека

DOI: 10.31857/S0026898423050117, **EDN:** EJCRRFG

ВВЕДЕНИЕ

Митохондриальная ДНК (мтДНК) человека наследуется по материнской линии без рекомбинаций и обладает более высокой в сравнении с ядерным геномом скоростью накопления мутаций [1, 2]. Так, согласно современным данным, скорость накопления мутаций в митохондриальном геноме человека составляет 1.6×10^{-8} замен на нуклеотидную позицию в год [3], а в ядерном геноме человека – 0.6×10^{-9} замен на нуклеотидную позицию в год [4]. Мутационный спектр мтДНК (т.е. распределение нуклеотидных замен) характеризуется выраженным сдвигом в сторону транзиций. Преобладание транзиций над трансверсиями наблюдается также и в мутационных спектрах бактериальной и ядерной ДНК [5], однако в случае митохондриальных геномов оно выражено в более значительной степени (до 20 : 1, например, у человека [6–8]). Кроме того, анализ мутационных спектров, реконструированных по L-цепи мтДНК человека, позволил обнаружить

существенное преобладание пиримидиновых транзиций над пуриновыми, хотя максимальное мутационное давление с учетом гомоплазии мутаций испытывают G-нуклеотиды (с заменами G→A) [6–9].

Результаты исследований изменчивости мтДНК в популяциях человека свидетельствуют о достаточно высокой консервативности митохондриального генома, что обусловлено большой важностью этой генетической системы, обеспечивающей работу дыхательной цепи митохондрий. Тем не менее, в ряде работ отмечено, что между региональными группами населения могут существовать различия в распределении вариантов мтДНК, связанные с адаптацией популяций к различным условиям природной среды [10–13]. Особое внимание уделялось арктическим популяциям человека, поскольку у жителей высоких широт выше скорость метаболизма и работа системы окислительного фосфорилирования митохондрий направлена в большей степени на произ-

водство тепла, что может отразиться на структуре мутационных спектров мтДНК [11, 14, 15]. Однако результаты проведенных исследований довольно противоречивы, особенно в отношении распределения вариантов полиморфизма и связанных с ними гаплогрупп мтДНК у населения различных климатических зон [7, 10, 12, 16, 17]. Необходимо отметить, что выполненные ранее реконструкции мутационных спектров митохондриальных геномов проведены в выборках смешанного этногеографического происхождения [6–8] и поэтому до сих пор неизвестно, имеются ли различия между спектрами мутаций мтДНК в различных региональных группах населения. Целью настоящей работы является, таким образом, проведение сравнительного анализа мутационных спектров мтДНК у коренного населения Северо-Восточной и Южной Сибири, у населения Западной Азии и индейцев Америки.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Проанализированы представленные в GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) данные об изменчивости целых митохондриальных геномов у коренного населения северо-восточной части Сибири, представленного эскимосами, алеутами, чукчами, коряками и юкагирами ($N = 336$), южной части Сибири и прилегающих территорий Северо-Восточного Китая, представленного бурятами, баргутами и хамниганами ($N = 430$), населения Западной Азии, представленного персами, кашкайцами и ливанцами ($N = 340$), а также у представителей различных племен индейцев Америки ($N = 377$). Американские индейцы представлены населением Северной и Южной Америки (152 и 225 человек соответственно), однако в настоящей работе они рассматриваются как единая группа, поскольку имеют единое “берингийское” происхождение [18], а для целей исследования представлял интерес спектр мутаций, сформировавшийся в результате долговременного увеличения разнообразия мтДНК индейцев в процессе заселения американских континентов.

Мутационные спектры мтДНК реконструировали относительно L-цепей предковых последовательностей, выявленных с помощью филогенетического анализа данных об изменчивости митохондриальных геномов. Для этого использовали метод максимальной экономии, реализованный в пакете компьютерных программ mtPhyl v4.015 (<https://sites.google.com/site/mtphyl/home>). Нуклеотидный состав L-цепи мтДНК человека (согласно кембриджской референсной последовательности rCRS [19]) следующий: А – 30.9%, Т – 24.7%, С – 31.3%, G – 13.1%.

За основу в работе использована филогенетическая классификация вариантов полиморфизма мтДНК (гаплогрупп и их подгрупп), предложен-

ная разработчиками ресурса PhyloTree (www.phylotree.org). Это позволяет проследить мутационные изменения в направлении от предка к потомку и реконструировать тем самым спектры мутаций мтДНК для анализируемых наборов митогеномов. Построения филогенетических деревьев митогеномов проводили отдельно для каждой группы населения. Статистическую значимость различий между частотами нуклеотидных замен в популяциях оценивали с помощью точного теста Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа мутационных спектров митохондриальных геномов показали примерно одинаковую распространенность транзиций в различных региональных группах населения (табл. 1). Во всех группах преобладают пиримидиновые транзиции и среди них – замены T→C. Следующими по частоте после T→C во всех региональных группах, кроме Северо-Восточной Сибири, идут замены A→G. У коренного населения северо-востока Сибири вторыми по распространенности являются замены G→A. Соотношение транзиций к трансверсиям варьирует от 23.5 на юге Сибири до 28.6 у индейцев Америки. Из трансверсий во всех исследованных группах населения преобладают замены C→A (составляя, в среднем, примерно 32% от всех трансверсий), за ними следуют замены A→T (примерно 17%). Частота трансверсий C→A несколько ниже на северо-востоке Сибири и у американских индейцев (27.3 и 23.1% соответственно), чем в популяциях Южной Сибири и Западной Азии (36.7 и 32.9% соответственно), однако эти различия статистически незначимы.

Важным представляется тот факт, что, несмотря на примерно одинаковые размеры исследованных выборок митогеномов, региональные группы различаются по количеству выявленных нуклеотидных замен. Число замен существенно (4-кратно) ниже на северо-востоке Сибири в сравнении с югом, хотя у индейцев Америки этот параметр вполне сопоставим по значению с величиной у населения Южной Сибири. Это может быть связано с особенностями истории формирования генофондов коренного населения Америки. Есть основания считать, что во время последнего ледникового максимума (примерно 15–20 тыс. лет назад) на крайнем Севере Азии и Америки (в Берингии) сохранялись группы населения, давшие начало американским индейцам [18]. Предполагается, что это были относительно небольшие группы людей (суммарно от нескольких сот до нескольких тысяч человек), хорошо адаптированных к условиям жизни в высоких широтах и в холодном климате [20]. Последующее на протяжении последних 15 тыс. лет расселение предков

Таблица 1. Мутационные спектры мтДНК у населения различных регионов мира

Нуклеотидные замены	Географический регион			
	Западная Азия (<i>N</i> = 340)	Южная Сибирь (<i>N</i> = 430)	Северо-Восточная Сибирь (<i>N</i> = 336)	Америка (индейцы) (<i>N</i> = 377)
C→T	20.3 (388)	20.2 (252)	19.0 (60)	20.1 (250)
T→C	33.8 (647)	32.3 (404)	33.5 (106)	30.1 (375)
G→A	20.4 (391)	21.1 (264)	24.4 (77)	22.5 (280)
A→G	21.5 (412)	22.3 (278)	19.6 (62)	23.9 (298)
Трансверсии	4.1 (78)	4.1 (51)	3.5 (11)	3.4 (42)
Всего замен (<i>m</i>)	1916	1249	316	1245
<i>m/N</i>	5.6	2.9	0.9	3.3

Примечание. Приведены частоты нуклеотидных замен в процентах, в скобках – число замен.

Таблица 2. Число нуклеотидных замен в стволах (с) и концевых ветвях (к) филогенетических деревьев мтДНК в различных региональных группах населения

Регион	Транзиции			Трансверсии			Соотношение к/с
	с	к	с + к	с	к	с + к	
Западная Азия (<i>N</i> = 340)	805	1033	1838	41	37	78	1.3
Южная Сибирь (<i>N</i> = 430)	571	627	1198	19	32	51	1.1
Северо-Восточная Сибирь (<i>N</i> = 336)	121	184	305	4	7	11	1.5
Америка (индейцы) (<i>N</i> = 377)	317	886	1203	9	33	42	2.9

индейцев по территориям Америки привело к увеличению разнообразия генетических линий, что и наблюдается при анализе изменчивости мтДНК.

Необходимо отметить, что независимое развитие митохондриальных генофондов популяций на американских континентах не привело к существенным изменениям структуры спектра мутаций мтДНК в сравнении со структурой в популяциях Евразии (табл. 1). Однако если рассмотреть распределение нуклеотидных замен на филогенетическом дереве, учитывая мутации отдельно в стволах и отдельно в концевых ветвях, то видно, что у американских индейцев восстановление генетического разнообразия произошло за счет возникновения множества ответвлений от относительно небольшого числа гаплогрупп-основательниц митохондриальных генофондов (табл. 2). Соотношение числа нуклеотидных замен в стволах и концевых ветвях филогенетического дерева у американских индейцев примерно в 2 раза выше, чем в остальных региональных группах населения.

Результаты анализа мутационных спектров L-цепи мтДНК показали, что в разных региональных группах населения наиболее распространены транзиции T→C. Частоты других типов замен также примерно одинаковы в разных популяционных группах. Ранее предполагалось, что

транзиции T→C (или A→G, если вести учет по H-цепи) более всего чувствительны к уровню аэробного метаболизма и всем его последствиям [21]. Это может быть связано с интенсивностью гидролитического дезаминирования аденина в одноцепочечных участках H-цепи на стадии репликации мтДНК [22]. И, таким образом, можно ожидать, что спектры мутаций мтДНК у представителей разных региональных групп населения будут различаться вследствие межрегиональных различий в процессах аэробного метаболизма и уровня окислительного стресса в митохондриях [11, 14, 15]. Однако сходство в распределении частот транзиций T→C в различных региональных группах (особенно на северо-востоке и юге Сибири) свидетельствует о том, что частота замены T→C не может быть маркером уровня окислительного стресса в митохондриях.

Низкая частота трансверсий в спектрах мтДНК, которые, однако, ожидаются с высокой частотой вследствие окислительно-восстановительных реакций в митохондриях, позволяет считать, что митохондриальная ДНК-полимераза γ не может “пройти” участки, содержащие окисленные основания, поэтому такие молекулы мтДНК просто выбраковываются в процессе репликации. Тем не менее, как показала настоящая работа, в спектрах трансверсий наиболее распространены замены

C → A (или G → T по H-цепи), которые составляют примерно 32% от всех трансверсий (или примерно 1.1% от всех выявленных нуклеотидных замен). Это именно тот тип замен, который ожидается в тех случаях, когда гуанин в C:G-парах окисляется до 8-оксигуанина [23]. Таким образом, частота трансверсий C → A (по L-цепи) теоретически может служить маркером интенсивности окислительного стресса, однако различия в частоте замен C → A между региональными группами населения также статистически незначимы. Все это заставляет усомниться в справедливости идеи о том, что в спектрах генеративных мутаций мтДНК могут отражаться адаптивные процессы, связанные с расселением популяций человека в различных климатических условиях. Возможно, такого рода гипотезы справедливы по отношению к соматическим мутациям мтДНК, особенно при исследовании биологических тканей с различным уровнем гипоксии или в процессе старения [21]. Аналогичным образом изменилось отношение к гипотезе о связи между популяционным распределением гаплогрупп мтДНК и климатом [10, 11]. Эта гипотеза первоначально была воспринята с энтузиазмом, поскольку митохондрии (и мтДНК) являются важнейшим элементом биоэнергетики и термогенеза и должны быть вовлечены в адаптивные процессы, однако подтверждений этой гипотезы довольно мало [7, 12, 16, 17, 24].

Интересным представляется выявленное в настоящей работе существенное снижение числа мутаций в митохондриальных геномах коренного населения Северо-Восточной Сибири (при том, что структура спектра мутаций сохраняется). Это может быть связано с усилением действия отрицательного отбора на мтДНК, препятствующего накоплению новых мутаций в условиях Крайнего Севера, а также с дрейфом генов, проявления которого более всего выражены в изолированных и малочисленных популяциях, таких как популяции коренных народов Северо-Восточной Сибири [25].

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-24-00264, <https://rscf.ru/project/22-24-00264/>).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Brown W.M., George M., Wilson A.C. (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **76**, 1967–1971.
2. Giles R.E., Blanc H., Cann H.M., Wallace D.C. (1980) Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **77**, 6715–6719. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.11.6715>
3. Soares P., Ermini L., Thomson N., Mormina M., Rito T., Rohl A., Salas A., Oppenheimer S., Macaulay V., Richards M.B. (2009) Correcting for purifying selection: an improved human mitochondrial molecular clock. *Am. J. Hum. Genet.* **84**, 740–759. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.05.001>
4. Lipson M., Loh P.-R., Sankararaman S., Patterson N., Berger B., Reich D. (2015) Calibrating the human mutation rate via ancestral recombination density in diploid genomes. *PLoS Genet.* **11**, e1005550. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005550>
5. Jukes T.H. (1980) Silent nucleotide substitutions and the molecular evolutionary clock. *Science*. **210**, 973–978.
6. Мальярчук Б.А. (2005) Анализ распределения нуклеотидных замен в генах митохондриальной ДНК человека. *Генетика*. **41**, 93–99.
7. Kivisild T., Shen P., Wall D.P., Do B., Sung R., Davis K., Passarino G., Underhill P.A., Scharfe C., Torroni A., Scozzari R., Modiano D., Coppa A., de Knijff P., Feldman M., Cavalli-Sforza L.L., Oefner P.J. (2006) The role of selection in the evolution of human mitochondrial genomes. *Genetics*. **172**, 373–387. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.043901>
8. Pereira L., Freitas F., Fernandes V., Pereira J.B., Costa M.D., Costa S., Máximo V., Macaulay V., Rocha R., Samuels D.C. (2009) The diversity present in 5140 human mitochondrial genomes. *Am. J. Hum. Genet.* **84**, 628–640. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.04.013>
9. Samuels D.C., Boys R.J., Henderson D.A., Chinnery P.F. (2003) A compositional segmentation of the human mitochondrial genome is related to heterogeneities in the guanine mutation rate. *Nucl. Acids Res.* **31**, 6043–6052. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg784>
10. Mishmar D., Ruiz-Pesini E., Golik P., Macaulay V., Clark A.G., Hosseini S., Brandon M., Easley K., Chen E., Brown M.D., Sukernik R.I., Olckers A., Wallace D.C. (2003) Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **100**, 171–176. <https://doi.org/10.1073/pnas.0136972100>
11. Ruiz-Pesini E., Mishmar D., Brandon M., Procaccio V., Wallace D.C. (2004) Effects of purifying and adaptive selection on regional variation in human mtDNA. *Science*. **303**, 223–226. <https://doi.org/10.1126/science.1088434>
12. Ingman M., Gyllensten U. (2007) Rate variation between mitochondrial domains and adaptive evolution in humans. *Hum. Mol. Genet.* **16**, 2281–2287. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm180>
13. Balloux F., Lawson Handley L.-J., Jombart T., Liu H., Manica A. (2009) Climate shaped the worldwide distribution of human mitochondrial DNA sequence variation. *Proc. R. Soc. B*. **276**, 3447–3455. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0752>
14. Brand M.D. (2000) Uncoupling to survive? The role of mitochondrial inefficiency in ageing. *Exp. Gerontol.* **35**, 811–820. [https://doi.org/10.1016/s0531-5565\(00\)00135-2](https://doi.org/10.1016/s0531-5565(00)00135-2)

15. Leonard W.R., Snodgrass J.J., Sorensen M.V. (2005) Metabolic adaptation in indigenous Siberian populations. *Annu. Rev. Anthropol.* **34**, 451–471
<https://doi.org/10.1146/annurev.anthro.34.081804.120558>
16. Elson J.L., Turnbull D.M., Howell N. (2004) Comparative genomics and the evolution of human mitochondrial DNA: assessing the effects of selection. *Am. J. Hum. Genet.* **74**, 229–238.
<https://doi.org/10.1086/381505>
17. Sun C., Kong Q.-P., Zhang Y.-P. (2007) The role of climate in human mitochondrial DNA evolution: a reappraisal. *Genomics.* **89**, 338–342.
<https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2006.11.005>
18. Hoffecker J.F., Elias S.A., Scott G.R., O'Rourke D.H., Hlusko L.J., Potapova O., Pitulko V., Pavlova E., Bourgeon L., Vachula R.S. (2023) Beringia and the peopling of the Western Hemisphere. *Proc. R. Soc. B.* **290**, 20222246.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2022.2246>
19. Andrews R.M., Kubacka I., Chinnery P.F., Lightowlers R.N., Turnbull D.M., Howell N. (1999) Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat. Genet.* **23**, 147.
<https://doi.org/10.1038/13779>
20. Fagundes N.J.R., Tagliani-Ribeiro A., Rubicz R., Tarskaia L., Crawford M.H., Salzano F.M., Bonatto S.L. (2018) How strong was the bottleneck associated to the peopling of the Americas? New insights from multilocus sequence data. *Genet. Mol. Biol.* **41**(suppl. 1), 206–214.
<https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2017-0087>
21. Mikhailova A.G., Mikhailova A.A., Ushakova K., Tretyakov E.O., Iliushchenko D., Shamansky V., Lobanova V., Kozenkov I., Efimenko B., Yurchenko A.A., Kozenkova E., Zdobnov E.M., Makeev V., Yurov V., Tanaka M., Gostimskaya I., Fleischmann Z., Annis S., Franco M., Wasko K., Denisov S., Kunz W.S., Knorre D., Mazunin I., Nikolaev S., Fellay J., Reymond A., Khrapko K., Gunbin K., Popadin K. (2022) A mitochondria-specific mutational signature of aging: increased rate of A > G substitutions on the heavy strand. *Nucl. Acids Res.* **50**, 10264–10277.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkac779>
22. Корниенко И.В., Малярчук Б.А. (2005) Анализ механизмов возникновения мутаций в митохондриальной ДНК человека. *Молекуляр. биология.* **39**, 869–877.
23. Richter C., Park J.-W., Ames B.N. (1988) Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **85**, 6465–6467.
24. Деренко М.В., Малярчук Б.А. (2010) Молекулярная филогеография населения Северной Евразии по данным об изменчивости митохондриальной ДНК. Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 376 с.
25. Clemente F.J., Cardona A., Inchley C.E., Peter B.M., Jacobs G., Pagani L., Lawson D.J., Antão T., Vicente M., Mitt M., DeGiorgio M., Faltyskova Z., Xue Y., Ayub Q., Szpak M., Mägi R., Eriksson A., Manica A., Raghavan M., Rasmussen M., Rasmussen S., Willerslev E., Vidal-Puig A., Tyler-Smith C., Vilems R., Nielsen R., Metspalu M., Malyarchuk B., Derenko M., Kivisild T. (2014) A selective sweep on a deleterious mutation in CPT1A in Arctic populations. *Am. J. Hum. Genet.* **95**, 584–589.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.09.016>

Comparative Analysis of Mitochondrial Genome Mutation Spectra in Human Populations

B. A. Malyarchuk*

Institute of Biological Problems of the North, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Magadan, 685000 Russia

**e-mail: malyarchuk@ibpn.ru*

Nucleotide sequence variability of whole mitochondrial genomes (mtDNA) was analyzed and mutation spectra were reconstructed (by L-chain of mtDNA) in four regional groups of indigenous populations representing Northeastern and Southern Siberia, Western Asia, and the Americas. The pyrimidine transitions were found to be predominant in all groups, and of these, the substitutions T→C were most frequent. The second most common in all regional groups (except Northeastern Siberia) are substitutions A→G. Of the transversions, in all the populations studied the substitutions C→A prevail. Between-regional differences in the distribution of nucleotide substitutions in mtDNA mutation spectra were not detected. However, a significant (4-fold) decrease in the number of mutations in mitochondrial gene pools was detected in the indigenous population of Northeastern Siberia compared to other regions. This may be due to the increased effect of negative selection on mtDNA in the Far North environment, which prevents the accumulation of new mutations, and gene drift, which is most pronounced in isolated and small populations of Northeastern Siberia. Because of the lack of between-regional differences in mtDNA mutation spectra, the results obtained do not allow us to confirm the hypothesis that the T→C substitution frequency appears to be a molecular marker of the level of oxidative stress in mitochondria (at least for generative mutations).

Keywords: mitochondrial DNA, mutation spectrum, natural selection, human populations