

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-12

СДВИГ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ НУКЛЕОТИДОВ МЕЖДУ ЛИДИРУЮЩЕЙ И ОТСТАЮЩЕЙ ЦЕПЯМИ БАКТЕРИЙ ВЫЗВАН АССИМЕТРИЧНЫМ МУТАГЕНЕЗОМ***NUCLEOTIDE BIAS BETWEEN LEADING AND LAGGING STRAND IN BACTERIA IS CAUSED BY ASYMMETRIC MUTAGENESIS**Э. А. Бадамшин¹, А. В. Скуднов¹, К. Ю. Попадьян¹, К. В. Гунбин¹, С. В. Денисов²¹*Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград*²*Школа биологических наук факультета биологии, медицины и здравоохранения Манчестерского университета, Великобритания*E. A. Badamshin¹, A. V. Skudnov¹, K. Y. Popadin¹, K. V. Gunbin¹, S. V. Denisov²¹*Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad*²*School of Biological Sciences, Faculty of Biology, Medicine and Health, The University of Manchester, United Kingdom*

✉ badamshin124@gmail.com

Аннотация

Эксперимент по накоплению мутаций — это общепринятая техника получения наиболее чистого мутационного спектра. Согласно правилу четности 1 (гипотеза), частоты комплементарных мутаций должны быть равны. По этой причине в данных исследованиях наиболее часто применяется 6-компонентный мутационный спектр (2 пары оснований × 3 возможные мутации), который не различает комплементарные мутации (например, C>T и G>A), частоты накопления которых на лидирующей и отстающей цепях могут различаться. В данной работе мы представляем 12-компонентный мутационный спектр, построенный с учетом направления репликации и способный наглядно продемонстрировать разницу в накоплении мутаций между лидирующей и отстающей цепями ДНК бактерий.

Abstract

The Mutation Accumulation Experiment (MAE) is a commonly employed technique to obtain the most pure mutational spectrum. According to the parity rule 1 (hypothesis) frequencies of complementary mutations have to be equal. For this reason, the 6-component mutation spectrum (2 base pair types × 3 possible mutations) is commonly used in research which doesn't differentiate between complementary mutations (e.g. C>T and G>A), some which accumulates on leading and lagging strands differently. In this work we present 12-component strand-specific mutation spectra which is able to show difference in mutation accumulation between leading and lagging DNA strands of various bacteria.

Введение

Эксперимент по накоплению мутаций (mutation accumulation experiment, MAE) — это распространенный метод для получения наиболее чистого мутационного спектра [1]. В подобных исследованиях обычно используется 6-компонентный мутационный спектр (2 пары оснований × 3 возможные мутации) для различных видов бактерий.

Согласно правилу четности 1 (гипотеза), частоты комплементарных мутаций равны между собой [2]. По этой причине 6-компонентный мутационный спектр наиболее часто применяется в подобных исследованиях. Данный подход не разделяет комплементарные мутации (например, C>A и G>T как G:C>T:A), считая их частоты равными и уменьшая таким образом количество возможных мутаций с 12 до 6. В данной работе мы предлагаем метод 12-компонентного мутационного спектра (см. рисунок), построенного с учетом особенностей процесса репликации у бактерий, для изучения асимметрии в накоплении различных типов мутаций между лидирующей и отстающей цепями, а также степени ее вклада в проявление эффекта GC-скоса у бактерий [3].

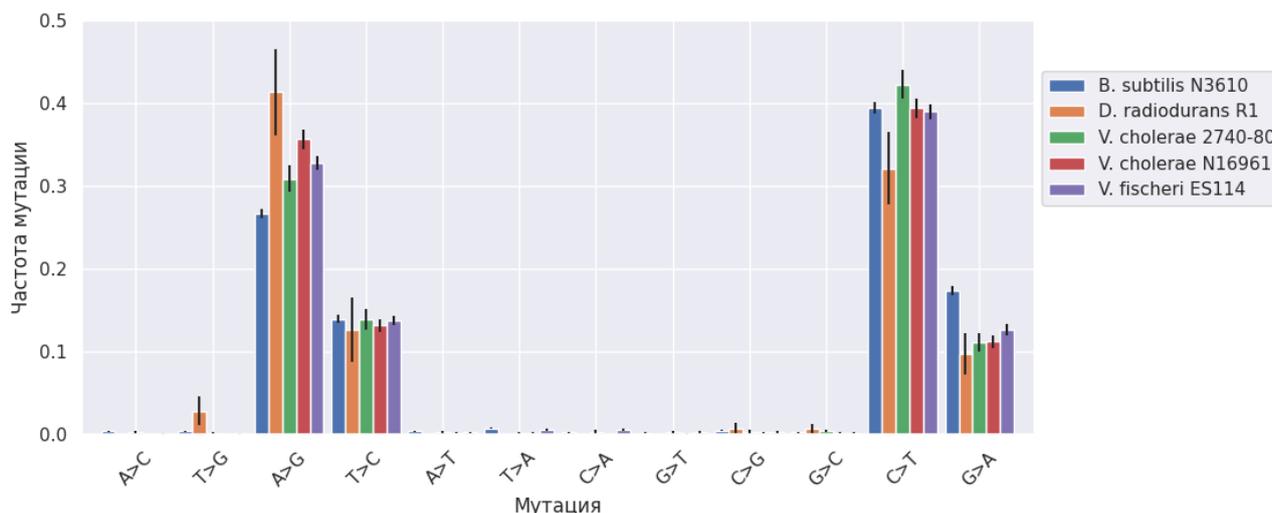
Методы

На основании данных экспериментов по накоплению мутаций для диких линий, а также линий с различными мутационными повреждениями репарации в 7 видах бактерий [4–9] были построены 12-компонентные мутационные спектры для матрицы отстающей цепи, нормализованные к 1 (см. рисунок). Частоты мутаций рассчитывались по формуле: $\mu = m/nT$, где μ — частота мутации, m — число наблюдаемых мутаций, n — число

* Исследование выполнено при поддержке РФФ (проект № 21-75-20145).

© Э. А. Бадамшин, А. В. Скуднов, К. Ю. Попадьян, К. В. Гунбин, С. В. Денисов, 2024

сайтов, T — общее число поколений в эксперименте. Для расчета стандартных отклонений и подтверждения статистической значимости результатов использовалась 1000 итераций бутстрепа. Позиции точек начала (origins) и окончания (терминации) репликации были предсказаны с помощью Ori-Finder 2022 [10].



12-компонентный мутационный спектр матрицы отстающей цепи для линий бактерий с дефицитом репарации MMR (Δ MutS/-L). Шкала погрешностей — стандартное отклонение

Результаты

1. В паре транзиций G:C>A:T мутация C>T встречалась значительно чаще, чем комплементарная G>A на матрице отстающей цепи во всех анализируемых линиях бактерий (см. рисунок). Наименьшей разница была у вида *Mycobacterium smegmatis*, в котором отсутствует система репарации MMR (mismatch repair) [9].

2. В мутациях A:T>G:C, мутация A>G происходит значительно чаще, чем T>C на матрице отстающей цепи во всех видах линий-мутаторов (см. рисунок), а также в линиях дикого типа у видов *B. subtilis*, *B. cenocepacia* и *V. fischeri*.

3. Асимметричное накопление мутаций G:C>A:T и A:T>G:C характерно как для основных, так и для вторичных хромосом, а также для межгенных участков основной хромосомы линий-мутаторов, что подтверждает мутационную природу данного явления.

4. Косинусное сходство полученных мутационных спектров показало, что мутационные спектры имеют высокую степень сходства у близкородственных видов, однако не способны в полной мере отразить степень филогенетического родства между различными кладами бактерий.

Выводы

Мы предполагаем, что обнаруженная асимметрия в мутационном спектре между лидирующей и отстающей цепями ДНК бактерий является причиной возникновения обнаруженного в бактериальных хромосомах GC-скоса [3], проявляющегося в обогащении лидирующей цепи по гуанину и тимину.

Литература

1. Mahilkar A. et al. Selection in a growing colony biases results of mutation accumulation experiments // Scientific Reports. 2022. No. 1 (12). P. 15470.
2. Sueoka N. Intrastrand parity rules of DNA base composition and usage biases of synonymous codons // Journal of Molecular Evolution. 1995. No. 3 (40). P. 318–325.
3. Lobry J. R. Asymmetric substitution patterns in the two DNA strands of bacteria. // Molecular Biology and Evolution. 1996. No. 5 (13). P. 660–665.
4. Long H. et al. Background Mutational Features of the Radiation-Resistant Bacterium *Deinococcus radiodurans* // Molecular Biology and Evolution. 2015. No. 9 (32). P. 2383–2392.
5. Sung W. et al. Asymmetric Context-Dependent Mutation Patterns Revealed through Mutation-Accumulation Experiments // Molecular Biology and Evolution. 2015. No. 7 (32). P. 1672–1683.
6. Mutation Landscape of Base Substitutions, Duplications, and Deletions in the Representative Current Cholera Pandemic Strain | Genome Biology and Evolution | Oxford Academic. URL: <https://academic.oup.com/gbe/article/10/8/2072/5061320> (access date: 18.07.2024).

7. Genome-Wide Biases in the Rate and Molecular Spectrum of Spontaneous Mutations in *Vibrio cholerae* and *Vibrio fischeri* | *Molecular Biology and Evolution* | Oxford Academic. URL: <https://academic.oup.com/mbe/article/34/1/93/2649121?login=true> (access date: 17.05.2024).

8. Rate and Molecular Spectrum of Spontaneous Mutations in the GC-Rich Multichromosome Genome of *Burkholderia cenocepacia* | *Genetics* | Oxford Academic. URL: <https://academic.oup.com/genetics/article/200/3/935/5936246> (access date: 18.07.2024).

9. Rate and Spectrum of Spontaneous Mutations in *Mycobacterium smegmatis*, a Bacterium Naturally Devoid of the Postreplicative Mismatch Repair Pathway | *G3 Genes|Genomes|Genetics* | Oxford Academic. URL: <https://academic.oup.com/g3journal/article/6/7/2157/6027717> (access date: 18.07.2024).

10. Dong M.-J., Luo H., Gao F. Ori-Finder 2022: A Comprehensive Web Server for Prediction and Analysis of Bacterial Replication Origins // *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. 2022. No. 6 (20). P. 1207–1213.