

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-37

**ТЕРНИСТЫЙ ПУТЬ К РЕКОНСТРУКЦИИ И АНАЛИЗУ МУТАЦИОННЫХ СПЕКТРОВ
АЭРОБНЫХ И АНАЭРОБНЫХ ПРОКАРИОТ*****THE ROCKY ROAD TO AEROBIC AND ANAEROBIC PROKARYOTES MUTATIONAL SPECTRA
RECONSTRUCTION AND ANALYSIS**А. В. Скуднов¹, Э. А. Бадамшин¹, В. В. Лобанова¹, Б. Э. Ефименко¹,
К. В. Гунбин¹, К. Ю. Попадьин¹, С. В. Денисов²¹Центр геномных исследований, Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград²Манчестерский университет, ВеликобританияA. V. Skudnov¹, E. A. Badamshin¹, V. V. Lobanova¹, B. E. Efimenko¹, K. V. Gunbin¹, K. Y. Popadin¹, S. V. Denisov²¹Center for Mitochondrial Functional Genomics, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad²The University of Manchester, United Kingdom

✉ konstantinpopadin@gmail.com

Аннотация

В нашей работе мы представляем надстройку к пайплайну NeMu [1] для автоматизированного построения мутационных спектров видов бактерий. В данной работе мы строим и сравниваем мутационные спектры аэробных и анаэробных прокариот. Обнаруженные частоты могут быть специфичны для исследуемой клады, либо являются общими для аэробов и анаэробов. Мы рассматриваем нейтральные мутационные спектры, то есть только синонимичные полиморфизмы в третьих позициях кодонов, влияние отбора на которые минимально. Это позволяет оценить влияние стрессовых факторов, таких как активные формы кислорода, на ДНК бактерий.

Abstract

In our work, we present an adaptation of the NeMu Pipeline [1] for automated construction of mutational spectra of bacterial species. In this work, we construct and compare mutational spectra of aerobic and anaerobic prokaryotes. The frequencies detected may be specific to the clade under study, or they may be common to aerobes and anaerobes. We consider neutral mutational spectra, that is, only synonymous polymorphisms in the third positions of codons, the influence of selection on which is minimal. This allows us to assess the influence of stress factors, such as reactive oxygen species, on bacterial DNA.

GC-состав генома бактерий связан с концентрацией кислорода в окружающей среде: более высокий уровень кислорода соответствует большей доли нуклеотидов G и C. Кроме того, GC-состав метагеномов океанических бактерий неравномерно распределен по глубине и коррелирует с уровнем кислорода на соответствующих глубинах. Естественно предположить, что мутационный спектр существенным образом влияет на GC-состав и частоты мутаций [2].

Для проверки этого предположения мы провели объединение двух баз данных — AnnoTree [3], содержащей филогенетику и таксономию GTDB, и JGI GOLD [4], содержащей экологические аннотации видов с таксономией NCBI. Мы провели идентификацию ортологий генов бактерий из GTDB с помощью базы данных KEGG Orthology [5] и построили мутационные спектры для каждого гена. Далее они были нормализованы и объединены для получения общего мутационного спектра видов выбранных облигатных аэробных и анаэробных прокариот (см. рисунок).

Мы провели внутривидовое выравнивание последовательностей ортологичных генов, рассчитали внутривидовые филогении и реконструировали предковые последовательности в каждом внутреннем узле, чтобы использовать эти реконструкции при построении мутационных спектров. Это было сделано с помощью ранее разработанного в нашей лаборатории пайплайна NeMu [1]. Этот пайплайн позволяет из выравнивания последовательностей генов и восстановленных предковых последовательностей построить мутационный спектр, рассматривая синонимичные полиморфизмы, в нашем случае локализованные в третьих позициях кодонов, т. е. преимущественно нейтральные мутации. Насколько нам известно, это единственный пайплайн, позволяющий получать мутационные спектры на основании сравнительно-геномных данных.

* Исследование выполнено при поддержке РФФ (проект № 21-75-20143).

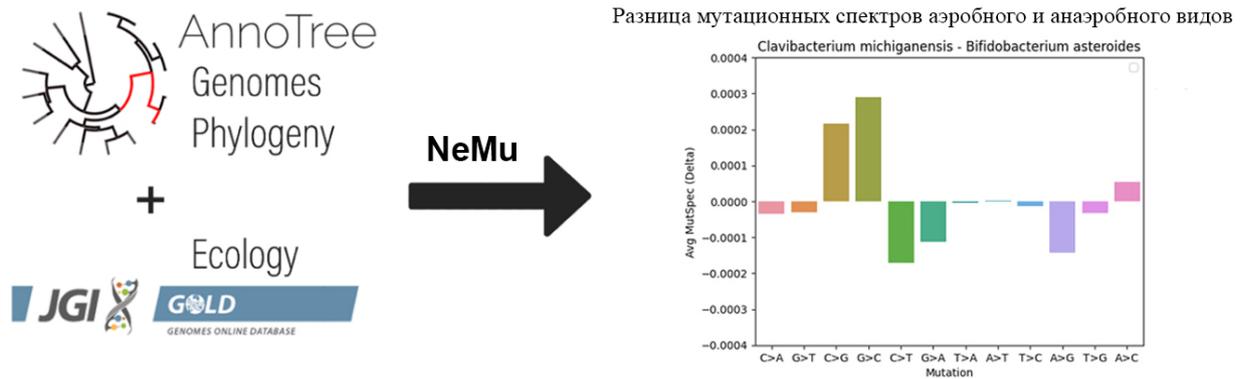


Схема проведения эксперимента. На гистограмме положительные значения отражают перевес частот мутирования в сторону аэроба *Clavibacterium michiganensis*, отрицательные — в сторону анаэроба *Bifidobacterium asteroides* (Аэроб — Анаэроб)

В качестве пилотного сравнения мы восстановили мутационные спектры для двух видов, различающихся по аэробному статусу и находящихся на соседних ветках филогенетического дерева: *Clavibacter michiganensis* (аэроб) и *Bifidobacterium asteroides* (анаэроб). Мутационные спектры этих двух видов существенно различаются. Наиболее контрастной является повышенная частота G>C- и C>G-мутаций у аэроба *C. michiganensis* по сравнению с анаэробом *B. asteroides*. Мы работаем над тем, чтобы расширить этот подход на все дерево бактерий, чтобы можно было сделать выводы, являются ли наблюдаемые различия общими для всех аэробов и анаэробов или являются только видоспецифическими характеристикам.

В целом в данной работе мы представили эволюционный взгляд на факторы, формирующие мутационные спектры двух экологически контрастных групп прокариот. Более того, мы представляем потенциально более быстрый и дешевый биоинформатический метод проведения экспериментов по накоплению мутаций на природных линиях.

Литература

1. Efimenko B., Popadin K., Gunbin K. NeMu: a comprehensive pipeline for accurate reconstruction of neutral mutation spectra from evolutionary data // *Nucleic Acids Research*. 2024. No. W1 (52). P. W108–W115.
2. Naya H., Romero H., Zavala A. et al. Aerobiosis Increases the Genomic Guanine Plus Cytosine Content (GC%) in Prokaryotes // *Journal of Molecular Evolution*. 2002. No. 55. P. 260–264.
3. Mendler K., Chen H., Parks D. H. et al. AnnoTree: visualization and exploration of a functionally annotated microbial tree of life // *Nucleic Acids Research*. 2019. No. 9 (47). P. 4442–4448.
4. Mukherjee S., Stamatis D., Bertsch J. et al. Genomes OnLine database (GOLD) v.7: updates and new features // *Nucleic acids research*. 2018. No. 47.
5. Dunlap W., Starcevic A., Baranašić D. et al. KEGG orthology-based annotation of the predicted proteome of *Acropora digitifera*: ZoophyteBase — an open access and searchable database of a coral genome // *BMC Genomics*. 2013. No. 14. P. 509.