

## РЕМОЛДИНГ ГЕНОВ ТРАНСПОРТНЫХ РНК В МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОМАХ

Е.В. Романова<sup>1</sup>, Ю.С. Букин<sup>1</sup>, В.В. Алёшин<sup>2</sup>, Д.Ю. Щербаков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, e-mail: info@lin.irk.ru

<sup>2</sup>НИИ Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва,  
e-mail: fxb@genebee.msu.su

Митохондриальные (мт) геномы большинства многоклеточных обычно содержат стандартный набор из генов 37 генов: 13 белок-кодирующих генов, 22 генов транспортных РНК (тРНК) и двух рибосомных генов. тРНК служат адаптером для перевода с нуклеотидной последовательности в аминокислотную, тем самым играя ключевую роль в процессе биосинтеза белка (Crick, 1958). 22 митохондриальных тРНК, достаточно, чтобы провести трансляцию всего мт генома, так как присутствие урацила в первой позиции антикодона (wobble position) позволяет распознавать любой из четырех нуклеотидов в третьей позиции кодона (Barrel et al., 1980). Тем не менее, в мт геномах разных организмов были замечены дополнительные копии генов тРНК. В некоторых случаях сходство первичных структур аллоакцепторных тРНК позволило предположить смену идентичности тРНК за счет мутаций в антикодоне. Это явление, названное впоследствии тРНК ремолдинг (tRNA remolding) (Cantatore et al., 1987), выявляет возможность эволюции тРНК генов независимо от их генетического кода.

Увеличение количества полных мт и ядерных геномов в базах данных, произошедшее, в том числе, благодаря широкому применению технологии высокопроизводительного секвенирования, позволило понять, что ремолдинг – весьма нередкое явление в мт геномах, менее часто происходящее в ядерных геномах (Rawlings et al., 2003, Rogers and Griffiths-Jones, 2014, Sahyoun, et al., 2015). Большинство случаев ремолдинга было выявлено в результате *in silico* анализа. Так ремолдинг показан у губок (Lavrov, Lang, 2005), насекомых (Jiang et al., 2016), моллюсков (Rawlings et al., 2003), членистоногих (Jiang et al., 2016) и других групп животных. Экспериментально были подтверждены случаи изменения генетического кода, вызванные мутациями в антикодоне тРНК гена в геноме *E.coli* (Saks et al., 1998), в ядерных геномах *Candida* (Bezerra et al., 2013), дрожжей (Mühlhausen et al., 2016), инфузорий (Heaphy et al., 2016), что доказало возможность функционирования дополнительных копий тРНК. Таким образом, корректная аннотация тРНК генов в геномах различных организмов исключительно важна в контексте исследования их эволюции и в виду возможного влияния на точность трансляции.

Недавно мы провели исследование мт геномов десяти видов амфипод из озера Байкал (Romanova et al., 2016). Для них характерна большая вариабельность по длине, порядку генов, а также наличие дополнительных копий генов тРНК в пяти из десяти видов (*Eulimnogammarus vittatus*, *Acanthogammarus victorii*, *Garjajewia cabanisii*, *Gmelinoides fasciatus* и *Pallaseopsis kesslerii*). Низкий процент сходства первичных последовательностей некоторых копий позволил предположить, что произошла смена идентичности тРНК за счет мутаций в антикодоне (тРНК ремолдинг). Мы провели исследование принадлежности дополнительных копий генов тРНК к определенному классу на основе анализа их первичной структуры. Был произведен анализ достоверности различий между распределениями попарных генетических дистанций в выборках изоакцепторных тРНК, содержащих разные копии удвоенных тРНК генов. В четырех из пяти случаях принадлежность удвоенного гена к группе тРНК генов, не соответствующей антикодону, была подтверждена с высокой степенью статистической значимости. Полученный результат (принадлежность к определенному классу тРНК генов) был

подтвержден также байесовским анализом на основе выравненных последовательностей всех генов тРНК из мт геномов байкальских амфипод с учетом вторичной структуры РНК. Таким образом, мы показали, что дополнительные копии в мт геноме *G. fasciatus*, первоначально идентифицированные по последовательности антикодона как принадлежащие валиновой и глутаминовой тРНК, обе являются гистидиновыми. В мт геноме *A. victorii* тРНК ген аспарагиновой кислоты также оказался геном гистидиновой тРНК. Дополнительная копия гена пролиновой тРНК в мт геноме *E. vittatus* была отнесена нами к классу генов лейциновых тРНК. Интересно, что мт геном вида *P. kesslerii* содержит дополнительную копию тРНК с четырьмя основаниями в антикодоне (квадруплетный антикодон), но по первичной структуре он показывает наибольшее сходство с геном триптофановой тРНК. В мт геноме *G. cabanisii* нами была подтверждена принадлежность обеих копий к лейциновым генам тРНК. Биоинформатический анализ тРНК генов позволил отделить случаи простого удвоения тРНК от случаев тРНК ремодлинга в мт геномах байкальских амфипод. Примечательно, что в данной группе видов в мт геномах присутствуют тРНК гены на разных стадиях своей эволюции, в том числе и тРНК с квадруплетным антикодомом. Наиболее вероятно, что одна из двух копий со временем накопит замены и превратится в псевдоген, хотя существуют примеры функционирования дополнительных копий тРНК генов, приведшие к смене аминокислоты, узнаваемой тРНК (Sengupta and Higgs, 2015). Считается, что случаи удвоения тРНК генов и ремодлинга наблюдаются в геномах с повышенной скоростью мутирования (Sengupta and Higgs, 2015). Вероятно, условия среды в Байкале способствуют ускоренной эволюции мт геномов амфипод.

#### Литература

- Barrell B.G., Anderson S., Bankier A.T., de Bruijn M.H., Chen E., Coulson A.R., Drouin J., Eperon I.C., Nierlich D.P., Roe B.A., Sanger F., Schreier P.H., Smith A.J., Staden R., Young I.G. Different pattern of codon recognition by mammalian mitochondrial tRNAs // Proc Natl Acad Sci USA. – 1980. – V. 77(6) – P. 3164–3166.
- Cantatore, P., Gadaleta, M.N., Roberti, M., Saccone, C. and Wilson, A.C. Duplication and remoulding of tRNA genes during the evolutionary rearrangement of mitochondrial genomes // Nature. – 1987. – V. 329. – P. 853–855.
- Crick, F.H.C. On protein synthesis // Symp. Soc. Exp. Biol. – 1958. – V. 12. – P. 138–163.
- Jiang P., Li H., Song F., Cai Y., Wang J., Liu J., Cai W. Duplication and remolding of tRNA genes in the mitochondrial genome of *Reduvius tenebrosus* (Hemiptera: Reduviidae) // Int J Mol Sci. – 2016. – V. 17(6). pii: E951. doi: 10.3390/ijms17060951.
- Lavrov D.V., Lang B.F. Transfer RNA gene recruitment in mitochondrial DNA // Trends Genet. – 2005. – V. 21. – P. 129–133.
- Rawlings T.A., Collins T.M., Bieler R. Changing identities: tRNA duplication and remolding within animal mitochondrial genomes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – V. 100. – P. 15700–15705.
- Rogers HH, Griffiths-Jones S. tRNA anticodon shifts in eukaryotic genomes // RNA. – 2014. – V. 20 (3). – P. 269–281.
- Romanova E.V., Aleoshin V.V., Kamaltynov R.M., Mikhailov K.V., Logacheva M.D., Sirotnina E.A., Gornov A.Y., Anikin A.S., Sherbakov D.Y. Evolution of mitochondrial genomes in Baikalian amphipods // BMC Genomics. – 2016. – V. 17 (14). doi: 10.1186/s12864-016-3357-z.
- Sahyoun A.H., Hölzer M., Jühling F., Höner zu Siederdissen C., Al-Arab M., Tout K., Marz M., Middendorf M., Stadler P.F., Bernt M. Towards a comprehensive picture of alloacceptor tRNA remolding in metazoan mitochondrial genomes // Nucleic Acids Res. – 2015. – V. 43 (16). – P. 8044–8056.
- Sengupta S., Higgs P. Pathways of genetic code evolution in ancient and modern organisms // J Mol Evol. – 2015. – V. 80. – P. 229–243.