

УДК 616.995.132.6-06:577.155.2

НУКЛЕОТИДНЫЙ СОСТАВ ИРНК, КОДИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ «ПАРАЗИТ-ХОЗЯИН», ФОРМИРУЮЩЕЙСЯ ПРИ ТРИХИНЕЛЛЕЗЕ

В.Э. Бутвилковский, доцент, к.м.н.; Ю.И. Линник;

А.В. Бутвилковский; В.В. Давыдов, доцент, к.б.н.

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Изучен нуклеотидный состав иРНК, кодирующих 12 ферментов дыхательной цепи человека, трихинеллы и цианорабдитис. Установлено, что ГЦ-насыщенность и содержание гуанина и цитозина в третьем положении кодонов изученных иРНК человека достоверно ближе к таковым трихинеллы по сравнению с контролем (цианорабдитис). Выдвинуто предположение о сходстве стратегий кодирования соответствующих митохондриальных белков в системе “паразит-хозяин”, формирующейся при трихинеллезе.

Ключевые слова: система “паразит-хозяин”, трихинеллез, ГЦ-насыщенность, иРНК.

We studied nucleotide composition of iRNAs encoding 12 respiratory chain's enzymes of Homo sapiens, Trichinella spiralis and Caenorhabditis elegans. It was discovered that the GC-saturation and the content of guanine and cytosine in the third codon's position of human iRNAs are significantly closer to those of trichinella in comparison with the control (C. elegans). We made a supposition about coding strategy's similarity of appropriate mitochondrial proteins in system “parasite-host” formed in trichinellosis.

Key words: system “parasite-host”, trichinellosis, GC-saturation, iRNA.

Изучение состава нуклеотидов ДНК и иРНК продолжает оставаться одной из актуальных задач молекулярной биологии. Одним из наиболее часто анализируемых показателей нуклеотидного состава нуклеиновых кислот является ГЦ-насыщенность – суммарное содержание гуанина и цитозина [5]. Полученная при изучении нуклеотидного состава нуклеиновых кислот информация позволяет оценивать термодинамическую стабильность, определять мутационное давление, нейтральность замен нуклеотидов, стратегию кодирования соответствующих белков и т.д.

Одним из новых и перспективных направлений исследований в этой области науки является изучение нуклеотидного состава нуклеиновых кислот организмов, входящих в систему “паразит-хозяин”. Данный подход может позволить получить новые данные о коэволюции компонентов системы “паразит-хозяин” на молекулярно-генетическом уровне.

Данное исследование посвящено системе “паразит-хозяин”, формирующейся при трихинеллезе, учитывая то, что это природно-очаговое заболевание характерно для Республики Беларусь.

К настоящему времени реализация вышеназванного направления возможна лишь путем сравнения митохондриальных генов, поскольку у паразитов одними из первых были секвенированы гены, кодирующие ферменты дыхательной цепи.

Цель работы: изучить нуклеотидный состав иРНК организмов – компонентов системы “паразит-хозяин”, формирующейся при трихинеллезе.

Материалы и методы

Проанализированы взятые с сервера NCBI (National Center for Biotechnology information) нуклеотидные последовательности иРНК, кодирующие ряд митохондриальных белков (субъединицы 1–4, 4L, 5, 6 НАДН-дегидрогеназы, цитохром b, субъединицы 1–3 цитохром-с-оксидазы, АТФаза b) человека (Homo sapiens, [7]) и трихинеллы (Trichinella spiralis, [9]). В качестве контроля использованы иРНК, кодирующие аналогичные белки свободноживущего круглого червя цианорабдитис (Caenorhabditis elegans, [11]).

Нуклеотидный состав изучен при помощи пакета программ MEGA [8, 10]. Полученные результаты были обработаны статистически [2, 6]. Достоверность различий определена по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

На основании полученных данных вычислена ГЦ-насыщенность изучаемых нуклеотидных последовательностей иРНК (табл. 1).

Установлено, что наибольшая ГЦ-насыщенность характерна для изученных иРНК человека, меньшая – трихинеллы, а наименьшая – для иРНК цианорабдитис. По различиям в содержании гуанина и цитозина (а, следовательно, различиям в содержании водородных связей) в иРНК, (и соответственно и в ДНК) можно судить о различиях термодинамической стабильности соответствующих участков молекулы ДНК. Таким образом, большая насыщенность гуанином и цитозином нуклеотидных последовательностей, изучаемых иРНК

Таблица 1. ГЦ-насыщенность в иРНК, кодирующих ряд митохондриальных белков человека, трихинеллы, цианорабдитис

Фермент/организм	Homo sapiens	Trichinella spiralis	Caenorhabditis elegans
НАДН-дегидрогеназа-1	47,6±1,61 ^{2,3}	35,6±1,60 ^{1,3}	25,2±1,47 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-2	43,1±1,53 ^{2,3}	35,3±1,60 ^{1,3}	19,8±1,37 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-3	40,5±2,64 ^{2,3}	29,6±2,44 ^{1,3}	21,4±2,24 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-4	44,4±1,34 ^{2,3}	38,7±1,39 ^{1,3}	22,2±1,18 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-4L	43,0±2,87 ³	36,6±3,07 ³	18,3±2,53 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-5	45,0±1,17 ^{2,3}	38,2±1,23 ^{1,3}	22,7±1,05 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-6	43,0±2,16 ^{2,3}	28,3±3,60 ^{1,3}	20,0±1,92 ^{1,2}
Цитохром-b	45,9±1,48 ^{2,3}	35,2±1,43 ^{1,3}	26,2±1,32 ^{1,2}
Цитохром-с-оксидаза-1	46,2±1,27 ^{2,3}	37,6±1,23 ^{1,3}	29,7±1,15 ^{1,2}
Цитохром-с-оксидаза-2	46,2±1,91 ^{2,3}	36,5±1,85 ^{1,3}	25,9±1,66 ^{1,2}
Цитохром-с-оксидаза-3	46,9±1,79 ^{2,3}	34,9±1,71 ^{1,3}	27,9±1,62 ^{1,2}
АТФаза 6	44,5±1,90 ^{2,3}	32,3±1,76 ^{1,3}	24,0±1,74 ^{1,2}

Примечание - Знаком ¹ обозначено достоверное ($p < 0,05$) различие по сравнению с Homo sapiens, ² - Trichinella spiralis, ³ - Caenorhabditis elegans.

человека, свидетельствует о большей термодинамической стабильности соответствующих участков молекулы ДНК по сравнению с таковыми круглых червей. Известно, что большая термодинамическая стабильность будет обеспечивать и большую устойчивость к действию многих мутагенов [3, 4].

С нашей точки зрения, наблюдаемые различия можно объяснить тем, что паразитические представители типа Круглые черви постоянно подвергаются защитным реакциям, которые вырабатываются в ответ на их пребывание в организме хозяина. Свободноживущие же круглые черви обитают в значительно менее агрессивной, по отношению к ним, среде, чем и объясняется более низкая ГЦ-насыщенность их иРНК (и соответственно ДНК). В свою очередь, большая ГЦ-насыщенность иРНК (и соответственно ДНК) человека по сравнению с трихинеллой, вероятно, обусловлена тем, что он обладает более совершенной защитой своего генетического материала.

Примечательно, что ГЦ-насыщенность изученных иРНК человека более сходна с таковой иРНК трихинеллы, а не цианорабдитис. Вместе с тем, различия содержания гуанина и цитозина в данных иРНК человека и трихинеллы достоверны для 11 из 12 сравниваемых иРНК.

Обращает на себя внимание тот факт, что между ГЦ-насыщенностью всех изученных иРНК трихинеллы и цианорабдитис существуют достоверные различия ($p < 0,05$). Полученные данные позволяют сделать предположение о том, что сходство ГЦ-насыщенности иРНК человека и трихинеллы является одним из проявлений коэволюции в системе “паразит-хозяин” на молекулярно-генетическом уровне.

Для подтверждения или опровержения выдвинутого предположения нами определено содержание гуанина и цитозина в третьем положении кодона изученных иРНК, что является, по мнению некоторых авторов [3], более чувствительным показателем (табл. 2).

Установлено, что максимальное содержание гуанина и цитозина в третьем положении кодонов свойственно изученным иРНК человека, промежу-

Таблица 2. Содержание гуанина и цитозина в третьем положении кодонов иРНК, кодирующих ряд митохондриальных белков

Фермент / организм	Homo sapiens	Trichinella spiralis	Caenorhabditis elegans
НАДН-дегидрогеназа-1	51,7±2,80 ^{2,3}	31,3±2,68 ^{1,3}	13,4±1,99 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-2	47,4±2,68 ³	39,9±2,85 ³	15,5±2,15 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-3	42,6±4,61 ³	31,6±4,30 ³	17,0±3,55 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-4	48,1±2,33 ³	41,0±2,42 ³	11,5±1,58 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-4L	45,5±5,00 ³	41,4±5,44 ³	12,8±3,78 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-5	49,1±2,03 ^{2,3}	42,4±2,17 ^{1,3}	15,5±1,57 ^{1,2}
НАДН-дегидрогеназа-6	39,4±3,69 ^{2,3}	28,6±3,61 ^{1,3}	10,3±2,52 ^{1,2}
Цитохром-b	50,8±2,57 ^{2,3}	31,2±2,40 ^{1,3}	15,7±1,89 ^{1,2}
Цитохром-с-оксидаза-1	47,1±2,20 ^{2,3}	31,1±2,04 ^{1,3}	13,3±1,48 ^{1,2}
Цитохром-с-оксидаза-2	48,3±3,31 ^{2,3}	30,5±3,06 ^{1,3}	9,9±1,96 ^{1,2}
Цитохром-с-оксидаза-3	47,7±3,10 ^{2,3}	28,7±2,82 ^{1,3}	16,4±2,31 ^{1,2}
АТФаза 6	46,3±3,31 ^{2,3}	35,0±2,87 ^{1,3}	10,5±2,17 ^{1,2}

Примечание - Знаком ¹ обозначено достоверное ($p < 0,05$) различие по сравнению с Homo sapiens, ² - Trichinella spiralis, ³ - Caenorhabditis elegans.

точное – иРНК трихинеллы, а минимальное – иРНК цианорабдитис.

Значения ГЦЗ-содержания в иРНК человека также ближе к таковым трихинеллы по сравнению с контролем. Важно отметить, что для четырех иРНК, кодирующих субъединицы 2, 3, 4 и 4L НАДН-дегидрогеназы человека и трихинеллы, различия содержания гуанина и цитозина в третьем положении кодона не являются статистически различимыми. Эти факты подтверждают наличие коэволюции между компонентами системы “паразит-хозяин”, формирующейся при трихинеллезе.

Для оценки характера связи между ГЦ-насыщенностью и содержанием гуанина и цитозина в третьем положении кодонов иРНК построен график их взаимозависимости (рис. 1).

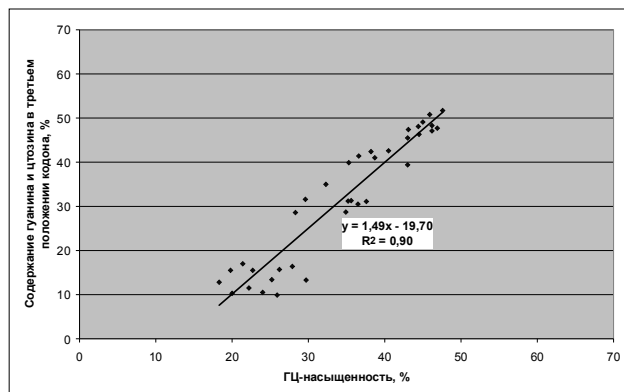


Рис. 1. Зависимость между ГЦ-насыщенностью и содержанием гуанина и цитозина в третьем положении кодонов иРНК, кодирующих ряд митохондриальных белков человека, трихинеллы и цианорабдитис

Обнаружено существование достоверной прямой сильной корреляционной связи между данными показателями ($r = 0,95 \pm 0,054$, $p < 0,001$). Полученные данные сходны с данными других исследователей, полученными при анализе ядерных генов и соответствующих им иРНК [1]. Тот факт, что для изученных нами иРНК, кодирующих митохондриальные белки, свойственна аналогичная зависимость, свидетельствует о том, что данная закономерность носит фундаментальный общебиологический характер.

При проведении регрессионного анализа для зависимости содержания гуанина и цитозина в третьем положении кодонов (у) от ГЦ-насыщенности (х) изученных иРНК получено уравнение:

$$y = 1,49x - 19,70.$$

Наличие четкой взаимосвязи между сопоставляемыми показателями подтверждает и высокая достоверность аппроксимации линии линейного тренда ($R^2 = 0,90$).

Выводы

1. Значения ГЦ-насыщенности и содержания гуанина и цитозина в третьем положении кодонов изученных иРНК человека ближе к таковым трихинеллы по сравнению с контролем.

2. Между ГЦ-насыщенностью и содержанием гуанина и цитозина в третьем положении кодонов иРНК, кодирующих изученные митохондриальные белки, существует достоверная, прямая, сильная корреляционная связь.

Заключение

Обнаруженное сходство нуклеотидного состава иРНК, соответствующих субъединицам 1–4, 4L, 5, 6 НАДН-дегидрогеназы, цитохрому b, субъединицам 1–3 цитохром-с-оксидазы, АТФазе 6 человека и трихинеллы, свидетельствует о наличии коэволюции компонентов системы “паразит–хозяин”, формирующейся при трихинеллезе. По нашему мнению, данное сходство может служить признаком наличия аналогичных стратегий кодирования соответствующих митохондриальных белков в иРНК, что и станет объектом наших дальнейших исследований.

Литература

1. Барковский Е.В., В.В. Хрусталева Сравнительная характеристика матричных РНК аденилатциклаз актиномицетов // Бел. мед. журнал. – 2004. – №3. – С. 27–30.
2. Бредфорд Хилл А. Основы медицинской статистики. – М., 1958.
3. Бутвиловский А.В., Барковский Е.В., Бутвиловский В.Э. Темпы эволюционных изменений и насыщенность гуанином и цитозином экзонов и интронов генов алкогольдегидрогеназы класса 3 мыши и человека // Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии: III Международный симпозиум, посвященный 100-летию со дня рождения академика Н.Р. Сисакаяна (Москва, Дубна, 24-28 января 2007 г.): Аннот. докл. – Дубна: ОИЯИ, 2006. – С. 31-32.
4. Бутвиловский А.В., Климович Н.С. Сравнительный анализ генов алкогольдегидрогеназы человека // Вести Национальной

Академии Наук Беларуси. Серия медицинских наук. – 2006, №5. – С. 40-42.

5. Бутвиловский В.Э., Барковский Е.В., Бутвиловский А.В., Давыдов В.В., Хрусталева В.В. Справочник терминов молекулярной эволюции и филогенетики. Учебно-методическое пособие. Мн.: БГМУ, 2006. – 40 с.
6. Медик В.А., Токмачев М.С., Фишман Б.Б. Статистика в медицине и биологии: Руководство. В 2-х томах. /Под ред. Ю.М. Комарова. Т.1. Теоретическая статистика. – М.: Медицина, 2000. – с. 283-289.
7. Ingman M., Kaessmann H., Paabo S., Gyllensten U. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans //Nature. – 2000. – Vol. 408. – P. 708-713.
8. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. //Brief. Bioinform.. – 2004. – Vol. 5. – P. 150-163.
9. Lavrov D.V., Brown W.M. Trichinella spiralis mtDNA. A nematode mitochondrial genome that encodes a putative ATP8 and normally structured tRNAs and has a gene arrangement relatable to those of coelomate metazoans. //Genetics. – 2001. – Vol. 157 (2). – P. 621-637.
10. Nei M., Kumar S. //Molecular Evolution and Phylogenetics. - Oxford University Press, New York, 2000.
11. Okimoto R., Macfarlane J.L., Clary D.O., Wolstenholme D.R. The mitochondrial genomes of two nematodes, Caenorhabditis elegans and Ascaris suum. //Genetics. – 1992. – Vol. 130 (3). – P. 471-498.

Resume

NUCLEOTIDE COMPOSITION OF iRNAs ENCODING RESPIRATORY CHAIN'S ENZYMES OF COMPONENTS OF “PARASITE - HOST” SYSTEM FORMED IN TRICHINELLOSIS

V.E. Butvilovsky, Yu.I. Linnik, A.V. Butvilovsky, V.V. Davydov

The research purpose was to study nucleotide composition of iRNAs encoding respiratory chain's enzymes of components of “parasite - host” system formed in trichinellosis. We determined that the values of GC-saturation and the content of guanine and cytosine in the third codon's position of investigated iRNAs of man are closer to those of trichinella in comparison with the control. We detected the presence of a significant direct strong correlation link between GC-saturation and the content of guanine and cytosine in the third codon's position of iRNAs encoding the investigated mitochondrial proteins.

Поступила 21.02.07