

ИЗУЧЕНИЕ ОСНОВНЫХ ТИПОВ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕНОВ, ДЕТЕРМИНИРУЮЩИХ ХОЗЯЙСТВЕННО-ВАЖНЫЕ ПРИЗНАКИ ЛЕСНЫХ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД И ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ

¹Баранов О.Ю., ²Пантелеев С.В., ²Ярмолович В.А., ³Гончарова Л.В.

¹Институт леса НАН Беларуси

(г. Гомель, Беларусь)

e-mail: betula-belarus@mail.ru

²Белорусский технологический университет

³Центральный ботанический сад НАН Беларуси

(г. Минск, Беларусь)

e-mail: sidorov@tut.by

В ходе исследования были рассмотрены различные типы генных мутаций выявляемых у древесных растений и фитопатогенных микроорганизмов, связанные как с заменой нуклеотидов, так и приводящие к изменениям размера генов: делеции, инсерции, дупликации и др.

Транзиции (замены нуклеотидных оснований одного типа) были выявлены в различных генах лесных древесных видов и фитопатогенных микроорганизмов (рисунки 1, 2).

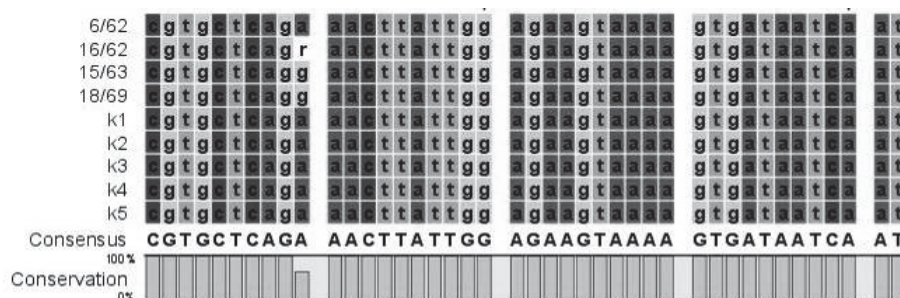


Рисунок 1 – Выявление транзиции А→Г в гене мирценсинтазы сосны обыкновенной

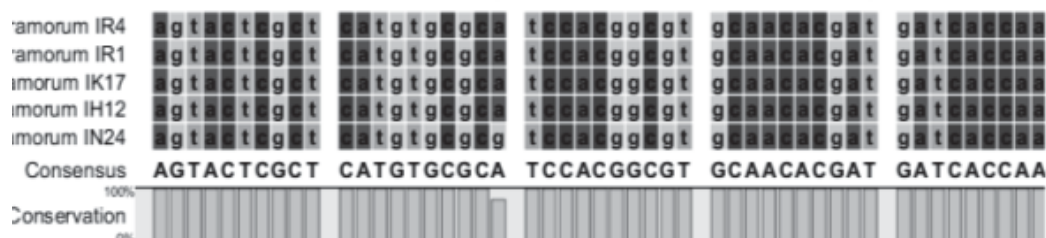


Рисунок 2 – Выявление транзиции А→Г в гене элицитина фитифторы (*Phytophthora ramorum*)

Проведенный анализ частоты замен среди пуриновых (A→G, G→A) и пиримидиновых (C→T, T→C) оснований, не выявил достоверных различий между растительными и грибными организмами, что по всей видимости связано с особенностями нуклеотидного состава и направленности мутационных процессов для отдельных видов и изученных регионов ДНК (таблица 1).

Таблица 1 – Соотношение транзиций различного типа в EST-маркерах у изученных видов древесных растений и микроорганизмов (плюсовая цепь)

	Лесные древесные виды	Фитопатогенные грибные виды
Количество изученных видов	6	8
Количество изученных EST-маркеров	31	28
Соотношение транзиций (A→G)/(G→A)	1/0,94	1/0,93
Соотношение транзиций (C→T)/(T→C)	1/0,88	1/0,86

Как видно из таблицы, несмотря на отсутствие отличий между растительными и грибными видами, суммарный уровень транзиций A→G и C→T для каждой из групп организмов несколько превышал альтернативные варианты G→A и T→C, что может быть связано с биохимическими особенностями взаимодействия системы репликации по отношению к определенным типам азотистых оснований.

Трансверсии (замены нуклеотидных оснований разных типов) также были диагностированы в различных генах лесных растений и микроорганизмов (рисунки 3, 4). При этом следует отметить, что общая частота встречаемости трансверсий по сравнению с транзициями была ниже среди всех изученных видов (таблица 2).

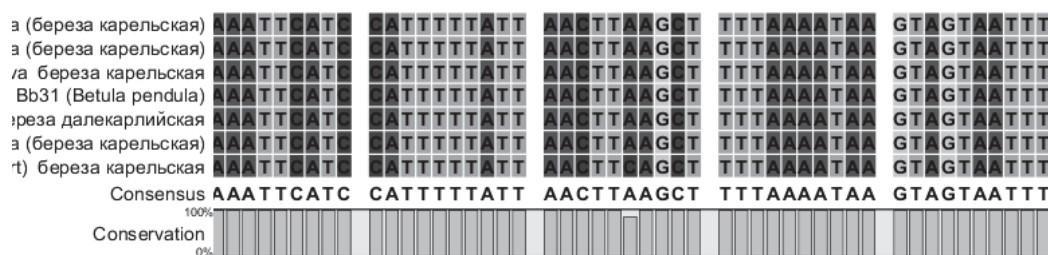


Рисунок 3 – Выявление трансверсии A→C в гене алкогольдегидрогеназы карельской березы (вариант березы повислой)

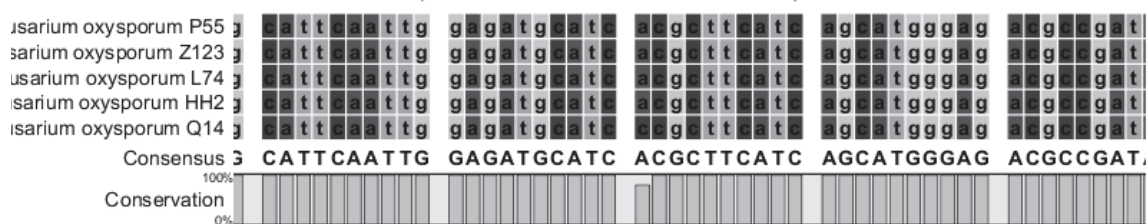


Рисунок 4 – Выявление трансверсии в А→С гене синтазы бета-кетоацил-ацил несущего белка (АСР) у изолятов *Fusarium oxysporum*

Таблица 2 – Соотношение трансверсий различного типа в EST-маркерах у изученных видов древесных растений и микроорганизмов (плюсовая цепь)

	Лесные древесные виды	Фитопатогенные грибные виды
Количество изученных видов	6	8
Количество изученных EST-маркеров	31	28
Соотношение транзиций / трансверсий	1/0,42	1/0,37
Соотношение трансверсий (А→Т)/(Т→А)	1/0,83	1/0,8
Соотношение трансверсий (G→C)/(C→G)	1/0,87	1/0,83

Результаты, представленные в таблице показывают, что в целом соотношение в уровне транзиций и трансверсий между группами организмов достоверно не отличались, что в свою очередь указывает на превалирование биохимических особенностей распознавания пуриновых и пиримидиновых оснований корректирующими ферментами.

Проведенный анализ распределения нуклеотидных замен внутри кодона показал, что у лесных древесных растений и микроорганизмов преобладающее число транзиций и трансверсий происходят в третьем нуклеotide кодона и зачастую являются синонимичными. На рисунке 5 представлен фрагмент САД гена, детерминирующего дегидрогеназу коричневого спирта, содержащий две транзиции (С→Т) и (G→А). Проведенный анализ возможных продуктов трансляции прямой и обратной последовательностей САД гена с применением системы смещения рамки считывания (+1, +2, +3, -1, -2, -3) показал, что обе замены локализованы в третьей позиции для каждого из кодонов. При этом все альтернативные варианты триплетов кодировали одну и ту же аминокислоту: GTC/GTT – валин (V), AGG/AGA – аргинин (R). Таким образом изменение последовательности полипептидной цепи вследствие возникновения данных транзиций не происходило. Однако, в тоже время следует отметить, что изменение сочетания кодонов в полинуклеотидной цепи ДНК может отразиться на уровне трансляции белковых молекул, что в свою очередь связано с определенным составом

тРНК в клетках различных организмов. Для *Picea* spp. употребляемость кодонов GTC и GTT примерно является одинаковой и составляет $\approx 1,8\%$ от общего числа используемых триплетов. В тоже время последовательность AGA (0,98%) в кодирующих участках генома встречается в 3 раза чаще кодона AGG (0,28%), что по всей видимости указывает на большую эффективность трансляции *Picea* spp. триплета AGA и соответственно более высокую концентрацию аргениновых тРНК AGA-типа.

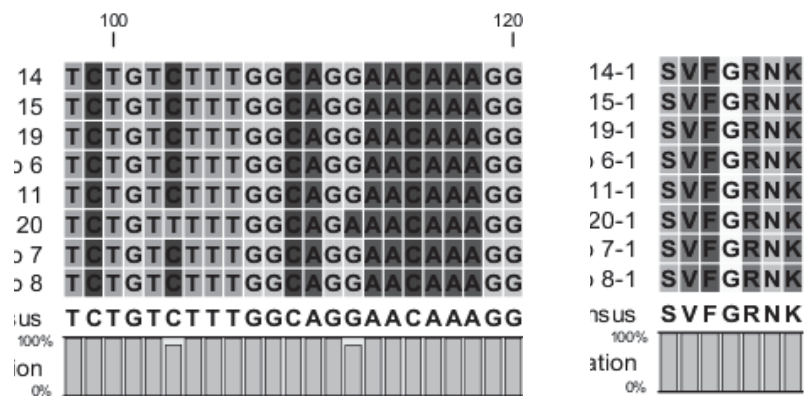


Рисунок 5 – Выявление синонимичных транзиций в третьем нуклеотиде кодонов (ген дегидрогеназы коричневого спирта (CAD), ель европейская, диплоидная ткань)

В случае несинонимичных транзиций и трансверсий как у растений, так и у микроорганизмов зачастую проходили изменения в полипептидной цепи, за счет замены аминокислот со сходным зарядом, что также не оказывало существенного влияния на функциональные и структурные особенности белковых молекул (рисунок 6).

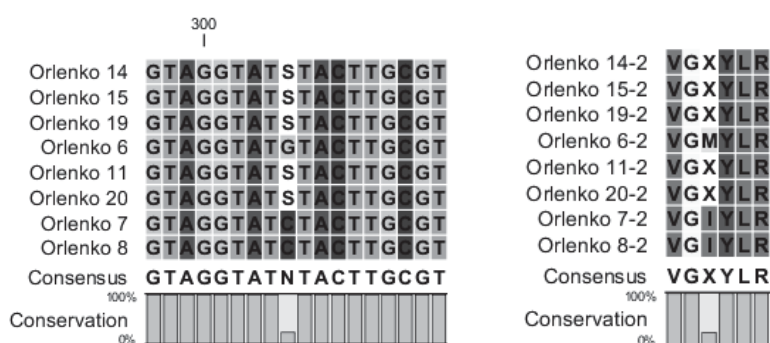


Рисунок 6 – Выявление несинонимичной трансверсии в третьем нуклеотиде кодона (ген дегидрогеназы коричневого спирта (CAD), ель европейская, диплоидная ткань)

На рисунке 6 представлена трансверсия C→G, вызывающая превращение кодона ATC (изолейцин) в ATG (метионин). При этом следует отметить, что данные аминокислоты по структуре радикала относятся к неполярным

соединениям, и сохраняют как суммарный заряд, так и полярность полипептидной цепи, включая степень сродства по отношению к различным растворителям. Употребляемость кодона ATG для *Picea abies* составляет $\approx 3,2\%$ и превышает в 1,5 раза частоту встречаемости ATC (1,9%), что по всей видимости также отражается на уровне трансляции аллельных вариантов CAD(305)^C и CAD(305)^G.

В ходе изучения аллельных вариантов, связанных с внутригенными делециями, инсерциями и дупликациями установлено, что данный тип внутривидового полиморфизма встречался значительно реже по сравнению с нуклеотидными заменами. Для большей части исследованных EST-маркеров лесных древесных видов изменчивость размера аллелей отсутствовала или была представлена единичными случаями. При этом следует отметить, что все выявленные мутации не вызывали смещения рамки считывания, поскольку размеры делетированных регионов были кратны трем.

