

СХОДСТВО СПЕКТРОВ НУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ЧЕЛОВЕКА, РЕКОНСТРУИРОВАННЫХ ЧЕРЕЗ ОДНО И МНОГИЕ ПОКОЛЕНИЯ

© 2024 г. Б. А. Малярчук^{1, *}

¹ Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук,
Магадан, 685000 Россия

*e-mail: malyarchuk@ibpn.ru

Поступила в редакцию 22.01.2024 г.

После доработки 19.02.2024 г.

Принята к публикации 13.03.2024 г.

С помощью филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей целых митохондриальных геномов (мтДНК), позволяющего исследовать генетические изменения на протяжении многих поколений, реконструирован спектр нуклеотидных замен (по L-цепи мтДНК) в популяциях Европы. Также проанализированы спектры нуклеотидных замен мтДНК, наблюдаемых в состоянии гетероплазмии (на уровне $\geq 1\%$ и $\geq 5\%$) у детей первого поколения. Обнаружено, что спектры нуклеотидных замен, реконструированных через одно и многие поколения, практически не различаются по основным параметрам: по распределению пиримидиновых и пуриновых замен (с преобладанием транзиций T>C), соотношению числа транзиций и трансверсий. Анализ филогенетического дерева гаплотипов мтДНК у европейцев отчетливо выявил влияние отрицательного (очищающего) отбора на митохондриальный генофонд. Предполагается, что селективные процессы, направляющие эволюцию мтДНК в одном и многих поколениях, имеют сходный характер, то есть обусловлены отрицательным отбором. Обсуждается проблема появления и распространения мутаций в митохондриях клеток зародышевой линии.

Ключевые слова: митохондриальный геном, нуклеотидные замены, гетероплазмия, популяции человека, зародышевая линия.

DOI: 10.31857/S0016675824080092 EDN: BFKIGS

Митохондриальный геном человека представлен кольцевыми молекулами ДНК (мтДНК) длиной примерно 16569 пар нуклеотидов. В отличие от аутосомных участков, молекулы мтДНК присутствуют в сотнях и тысячах копий на клетку и наследуются строго по материнской линии [1]. Матричный характер наследования мтДНК и отсутствие рекомбинации между молекулами приводят к эволюции митохондриальных геномов посредством последовательного накопления мутаций из поколения в поколение и к стохастическому распределению мутантных форм мтДНК в процессе клеточных делений [1, 2]. В связи с этим мтДНК представляет собой достаточно простую генетическую систему для изучения макро- и микроэволюционных процессов, а в случае популяций человека — для исследования демографической истории и биомедицинских аспектов, связанных с дифференциацией населения по мере расселения на планете.

Основным проявлением мутационного процесса в митохондриальных геномах является

гетероплазмия мтДНК, т. е. гетерогенность молекул ДНК в митохондриях. В состоянии гетероплазмии молекулы мтДНК различаются по одному или более нуклеотидным основаниям и формируют, тем самым мажорные и минорные (мутантные) гаплотипы мтДНК. Более ранние исследования изменчивости мтДНК, выполненные с помощью метода дидезоксисеквенирования ДНК (секвенирование по Сэнгеру), показали, что гетероплазмия встречается довольно редко: в популяциях человека частота индивидуумов с гетероплазмией составляла примерно 1–2% [3, 4]. При этом выявление минорного варианта полиморфизма возможно на уровне 10–20% и выше [5, 6]. Однако применение высокопроизводительных технологий массового параллельного секвенирования ДНК (МПС) показало, что гетероплазмия мтДНК распространена намного чаще. Так, например, при исследовании препаратов мтДНК, полученных из цельной крови, в выборке из 1526 пар матерей и их детей примерно 45% индивидуумов характеризовались гетерогенностью молекул мтДНК — с гетероплазмией

оснований, наблюдаемой на уровне 1% и выше [7]. В популяционных исследованиях, выполненных с помощью МПС, гетероплазмия мтДНК выявлена у 25–30% исследованных индивидуумов, характеризовавшихся минорными основаниями на уровне 5% и выше [5, 8].

Согласно современным представлениям эволюция мтДНК начинается с мутации в одной из молекул мтДНК клеток зародышевой линии, появления состояния гетероплазмии в митохондриях и последующей сегрегации молекул мтДНК на две (иногда более чем две) гомогенные линии [9–11]. Сегрегация мтДНК, приводящая к гомоплазмии, ускоряется с помощью механизма “бутылочного горлышка”, резко снижающего количество молекул мтДНК в первичных (примордиальных) зародышевых клетках [10]. В результате этого пропорции молекул мтДНК дикого и мутантного типов случайно сдвигаются вплоть до гомоплазмии каждого из типов молекул.

Исследования полиморфизма мтДНК в популяциях человека практически не учитывали влияние гетероплазмии на мутационные спектры, поскольку большая часть популяционных данных получена с помощью метода дидезоксисеквенирования ДНК, позволяющего выявлять лишь небольшие фракции минорных вариантов полиморфизма. Таким образом, межпопуляционные различия основываются на результатах распределения “мажорных” гаплотипов мтДНК, присутствующих в митохондриях с наиболее высокими частотами. Для реконструкции спектров нуклеотидных замен мтДНК для популяционных данных применяются методы филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей мтДНК, позволяющие проследить, как в процессе эволюции происходили генетические изменения (нуклеотидные замены, делеции и инсерции нуклеотидов) митохондриальных геномов в направлении от предков к потомкам. Результаты этих исследований показали, что в мутационных спектрах мтДНК наблюдаются преимущественно транзиции, а среди них пиримидиновые замены преобладают над пуриновыми (если вести учет мутаций по L-цепи мтДНК). Самыми частыми в различных этногеографических группах человека являются замены T>C [12, 13]. Обнаружено также отсутствие различий в распределении мутаций мтДНК у населения высокогорных и негорных районов [13], хотя ожидалось, что спектры нуклеотидных замен мтДНК в норме и при гипоксии должны различаться — особенно по частоте транзиций T>C, которые предположительно более всего чувствительны к уровню окислительного стресса в митохондриях [14].

Отмеченные выше особенности мутационных спектров мтДНК обнаружены с помощью филогенетического анализа нуклеотидных замен, насчитываемых по материнской линии из поколения в

поколение в очень широком временном интервале, вполне достаточном для выявления генетических эффектов, связанных с адаптацией популяций к различным условиям проживания и отбором. Между тем первичным источником мутаций мтДНК являются те генетические изменения, которые происходят в митохондриальных геномах клеток зародышевой линии и сохраняются в состоянии гетероплазмии у матерей и их детей. Поэтому представляется важным вопрос о том, насколько совпадают спектры нуклеотидных замен, наблюдаемых в состоянии гетероплазмии у первого поколения, и спектры унаследованных в череде поколений мутаций, реконструированных с помощью филогенетического анализа популяционных данных об изменчивости мтДНК. Рассмотрение этого вопроса является целью данной работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализировано распределение нуклеотидных замен в митохондриальных геномах 649 индивидуумов, характеризующихся гетероплазмией мтДНК на уровне от 1% и выше, по результатам исследования 1526 пар матерей и их детей [7]. Для анализа сформированы выборки нуклеотидных замен, унаследованных в состоянии гетероплазмии от матерей к их детям (категория “inherited” согласно работе [7]; 416 замен), и мутаций, возникших у детей и выявленных у них в состоянии гетероплазмии (категория “de novo” согласно работе [7]; 477 замен).

Поскольку по сведениям проекта Национального института исследования здоровья Великобритании (NIHR) [15] указанные выше данные были получены для индивидуумов преимущественно европейского происхождения (более 80% в общей выборке), то для сравнительного анализа нами реконструирован с помощью филогенетического анализа спектр нуклеотидных замен мтДНК у населения Европы. Для этого были использованы представленные в базе данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) нуклеотидные последовательности целых митохондриальных геномов у русских ($N = 377$), поляков ($N = 96$), чехов ($N = 102$), венгров ($N = 78$), сербов ($N = 163$), басков ($N = 176$), датчан ($N = 174$) (всего 1166 митохондриальных геномов). Для филогенетического анализа применяли метод максимальной экономии, реализованный в пакете компьютерных программ mtPhyl v4.015 (<https://sites.google.com/site/mtphyl/home>). Порядок появления нуклеотидных замен на филогенетическом древе мтДНК регистрировали в направлении от предков к потомкам. Статистическую значимость различий между частотами нуклеотидных замен в популяциях оценивали с помощью двустороннего варианта точного теста

Фишера. Все спектры нуклеотидных замен реконструировали относительно L-цепей мтДНК.

Для оценки действия отбора на изменчивость мтДНК исследовали распределение несинонимичных (NS) и синонимичных мутаций (S) в группах замен, ассоциированных с гаплогруппами (H), и частных (P) замен в концевых ветвях филогенетического дерева согласно методологии, предложенной в работе [16]. Анализ основывается на сравнении значений соотношений NS/S в группах H и P с помощью точного теста Фишера. Индекс нейтральности NI определяли соотношением $(NS/S)_P / (NS/S)_H$. Предполагается, что в отсутствии отбора индекс нейтральности NI имеет значения, близкие к 1.0; при $NI > 1.0$ ожидается действие отрицательного (очищающего) отбора, при $NI < 1.0$ ожидается действие положительного отбора.

Для сравнительного анализа использованы также реконструированные ранее спектры нуклеотидных замен целых митохондриальных геномов населения Евразии: Северо-Восточной Сибири (эскимосы, алеуты, чукчи, коряки и юкагиры; $N = 336$), Южной Сибири и прилегающих территорий Северо-Восточного Китая (буряты, баргуты и хамнигане; $N = 430$), Западной Азии (персы, кашкайцы и ливанцы; $N = 340$) [12], а также у коренных народов Памира ($N = 202$) и Тибета ($N = 268$) [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа спектров нуклеотидных замен митохондриальных геномов, реконструированных с помощью филогенетического анализа у населения Европы в сравнении с другими регионами Евразии, показали примерно одинаковую распространенность транзиций и трансверсий в различных популяциях (табл. 1). Соотношение транзиций к трансверсиям в региональных группах варьирует от 23.5 : 1 в южносибирской группе до 27.8 : 1 в тибетской; у европейцев оно зарегистрировано на промежуточном уровне 24.7 : 1.

Во всех региональных спектрах мтДНК преобладают пиримидиновые транзиции из них — замены $T > C$, составляющие среди всех нуклеотидных замен, в среднем примерно 33.4%. Следующими по распространенности в большинстве региональных групп располагаются замены $A > G$, а в памирской и северо-восточноазиатской группах — замены $G > A$. Из трансверсий во всех популяциях преобладают замены $C > A$, кроме тибетской, где чаще замены $A > C$ (табл. 1). Тем не менее в целом по распределению частот нуклеотидных замен в спектрах мтДНК исследованные группы населения статистически значимо не различаются ($P > 0.1$, точный тест Фишера).

В исследовании спектров нуклеотидных замен, наблюдаемых в состоянии гетероплазмии на

Таблица 1. Спектры филогенетически реконструированных нуклеотидных замен мтДНК (по L-цепи) в различных популяциях человека

Нуклеотидные замены	Европа ($N = 1166$)	Западная Азия ($N = 340$)	Южная Сибирь ($N = 430$)	Северо-Восточная Сибирь ($N = 336$)	Памир ($N = 202$)	Тибет ($N = 268$)
$T > C$	33.6 (1187)	33.8 (647)	32.3 (404)	33.5 (106)	34.5 (308)	33.0 (356)
$C > T$	20.3 (723)	20.3 (388)	20.2 (252)	19.0 (60)	19.9 (178)	18.2 (196)
$A > G$	22.1 (787)	21.5 (412)	22.3 (278)	19.6 (62)	19.1 (171)	24.1 (260)
$G > A$	20.2 (718)	20.4 (391)	21.1 (264)	24.4 (77)	23.0 (206)	21.2 (229)
$C > A$	1.4 (51)	1.3 (25)	1.4 (18)	0.95 (3)	1.0 (9)	0.65 (7)
$A > C$	0.7 (25)	0.52 (10)	0.32 (4)	0.63 (2)	0.45 (4)	1.0 (11)
$T > A$	0.17 (6)	0.36 (7)	0.56 (7)	0.32 (1)	0.34 (3)	0.46 (5)
$A > T$	0.62 (22)	0.68 (13)	0.64 (8)	0.63 (2)	0.67 (6)	0.65 (7)
$G > C$	0.2 (7)	0.31 (6)	0.48 (6)	0.63 (2)	0.45 (4)	0.46 (5)
$C > G$	0.28 (10)	0.16 (3)	0.16 (2)	0	0.22 (2)	0.09 (1)
$T > G$	0.39 (14)	0.31 (6)	0.24 (3)	0.32 (1)	0.22 (2)	0.09 (1)
$G > T$	0.08 (3)	0.42 (8)	0.24 (3)	0	0.11 (1)	0.09 (1)
Всего замен	3553	1916	1249	316	894	1079

Примечание. N — размер выборки. Частоты нуклеотидных замен приводятся в процентах, в скобках указано количество нуклеотидных замен. Данные для населения Западной Азии, Южной и Северо-Восточной Сибири приводятся по работе [12], для коренных народов Памира и Тибета — по данным работы [13].

уровне от 1% и выше у первого поколения, использованы данные о полиморфизме мтДНК в парах матерей и их детей по данным [7]. Проанализированы выборки унаследованных детьми нуклеотидных замен в состоянии гетероплазмии (категория “inherited”) и замен, возникших у детей (категория “de novo”). Для анализа эти выборки объединены в одну, так как у детей замены мтДНК унаследованы от матерей (через ооциты), а также возникли на эмбриональной стадии и позже (табл. 2). Поскольку в работе [7] использована платформа МПС, предназначенная для секвенирования коротких участков ДНК (секвенатор Illumina HiSeq 2500), то существует опасность загрязнения участков мтДНК последовательностями ядерных копий митохондриального генома. Для снижения такого риска рекомендуется повысить уровень регистрации минорных оснований в гетероплазмических смесях до 5% и выше; это позволяет избавиться от низкочастотных мутаций, в том числе исходящих от ядерных копий мтДНК [17]. Таким образом, в табл. 2 показано распределение нуклеотидных замен и для спектра мутаций, наблюдаемых в состоянии гетероплазмии на уровне 5% и выше.

Результаты сравнительного анализа показывают, что оба мутационных спектра характеризуются преобладанием пиримидиновых транзиций, и среди них замен Т>С (табл. 2). Статистически

Таблица 2. Спектры нуклеотидных замен мтДНК, наблюдаемых в состоянии гетероплазмии у первого поколения (по L-цепи)

Нуклеотидные замены	Гетероплазмия на уровне 1% и выше	Гетероплазмия на уровне 5% и выше
Т>С	34.8 (311)	35.3 (177)
С>Т	13.5 (121)	18.5 (93)
А>Г	21.9 (196)	20.5 (103)
Г>А	23.5 (210)	21.9 (110)
С>А	0.67 (6)	0.4 (2)
А>С	2.5 (22)	0.2 (1)
Т>А	0.67 (6)	0.8 (4)
А>Т	0.78 (7)	0.8 (4)
Г>С	0.56 (5)	0.8 (4)
С>Г	0.34 (3)	0.2 (1)
Т>Г	0.67 (6)	0.6 (3)
Г>Т	0	0
Всего замен	893	502

Примечание. Частоты нуклеотидных замен приводятся в процентах, в скобках указано количество нуклеотидных замен.

значимые различия выявляются только по частоте транзиции С>Т ($P = 0.016$) и трансверсии А>С ($P = 6.7 \times 10^{-4}$). В целом исследуемые спектры нуклеотидных замен различаются (хотя и не достоверно) по частоте трансверсий: 1%-й спектр содержит больше трансверсий, чем 5%-й (6.2 против 3.8%). Сравнение филогенетически реконструированного мутационного спектра митохондриальных геномов европейцев со спектрами замен мтДНК в состоянии гетероплазмии показало, что первый спектр существенно больше отличается от второго (1%-го), чем от третьего (5%-го). Филогенетический спектр мтДНК отличается от спектра для гетероплазмии на уровне 1% и выше по частоте транзиций С>Т и Г>А ($P = 2 \times 10^{-6}$ и 0.034 соответственно) и трансверсий А>С и Т>А ($P = 5.6 \times 10^{-5}$ и 0.02 соответственно), а от спектра для гетероплазмии на уровне 5% и выше только по одной замене — трансверсии Т>А ($P = 0.026$). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о сходстве спектров распределения нуклеотидных замен, реконструированных с помощью филогенетического анализа популяционных данных об изменчивости мтДНК, и нуклеотидных замен, наблюдаемых в состоянии гетероплазмии у первого поколения, особенно при гетероплазмии на уровне 5% и выше.

Филогенетический анализ позволяет реконструировать мутационные изменения мтДНК во времени, по меньшей мере, на двух иерархических уровнях: на более древнем уровне для нуклеотидных замен, унаследованных во многих поколениях и прошедших отбор (эти замены находятся в узлах и стволах филогенетического дерева и определяют собой гаплогруппы мтДНК), и на более «молодом» уровне для нуклеотидных замен, которые расположены в одиночных концевых ветвях дерева [16]. С использованием данного аналитического подхода было выявлено действие отрицательного отбора в процессе эволюции мтДНК в различных популяциях человека, поскольку на периферии филогенетических деревьев, как правило, обнаруживается большее число несинонимичных замен, чем в стволах и узлах, особенно у основания дерева [16, 18–20].

Анализ данных об изменчивости мтДНК у европейцев показал, что спектры нуклеотидных замен, ассоциированных с гаплогруппами и концевыми ветвями филогенетического дерева, различаются лишь по частоте замен Г>А ($P = 0.037$), которые чаще находятся на периферии дерева, чем в стволах (табл. 3). В обоих спектрах доминируют пиримидиновые замены и среди них замена Т>С. Частоты трансверсий также не различаются — 4.1% в стволах дерева и 3.8% в концевых ветвях. Анализ белок-кодирующих участков мтДНК показал, что митохондриальные геномы европейцев находятся под действием отрицательного отбора (индекс нейтральности $NI = 1.32$, $P = 0.006$) (табл. 4). При

Таблица 3. Частота нуклеотидных замен, ассоциированных с гаплогруппами и концевыми ветвями филогенетического дерева мтДНК европейцев (по L-цепи)

Нуклеотидные замены	Замены, ассоциированные с гаплогруппами	Замены в концевых ветвях
T>C	34.1 (441)	33.0 (746)
C>T	21.5 (278)	19.7 (445)
A>G	21.9 (283)	22.3 (504)
G>A	18.3 (237)	21.3 (481)
C>A	1.8 (23)	1.24 (28)
A>C	0.62 (8)	0.75 (17)
T>A	0.15 (2)	0.18 (4)
A>T	0.46 (6)	0.71 (16)
G>C	0.15 (2)	0.22 (5)
C>G	0.31 (4)	0.26 (6)
T>G	0.54 (7)	0.31 (7)
G>T	0.08 (1)	0.09 (2)
Всего замен	1292	2261

Примечание как в табл. 2.

рассмотрении распределения нуклеотидных замен в филогенетическом дереве видно, что влияние отрицательного отбора статистически значимо испытывают лишь замены G>A ($P = 5.8 \times 10^{-4}$); это проявляется в том, что в концевых ветвях несинонимичные замены преобладают над синонимичными. Примечательно, что в спектрах

нуклеотидных замен преобладание пиримидиновых транзиций над пуриновыми (и среди них замен T>C) наблюдается только в группах синонимичных замен; в группах несинонимичных замен наоборот превалируют пуриновые замены (табл. 4). Причем в спектрах несинонимичных замен (как в стволах гаплогрупп, так и в концевых ветвях) наблюдается преобладание транзиций G>A, для которых ранее была показана высокая степень гомоплазии [21, 22].

В настоящей работе с помощью филогенетического анализа данных об изменчивости митохондриальных геномов исследованы спектры нуклеотидных замен, наблюдаемых в популяциях человека. Эти замены представляют собой «мажорные» варианты полиморфизма мтДНК, вышедшие из состояния гетероплазмии на протяжении многих поколений, т. е. в эволюционном масштабе времени. Кроме этого, проанализированы спектры нуклеотидных замен мтДНК, наблюдаемых в состоянии гетероплазмии у первого поколения. В результате, оказалось, что сопоставляемые спектры мутаций (по L-цепи мтДНК) практически не различаются по основным параметрам: по распределению пиримидиновых и пуриновых замен (с преобладанием транзиций T>C), соотношению числа транзиций и трансверсий.

Поэтому полученные данные могут свидетельствовать о том, что селективные процессы, направляющие эволюцию мтДНК в одном и многих поколениях, имеют сходный характер, т. е. обусловлены отрицательным отбором, который вполне надежно регистрируется при анализе филогенетических деревьев гаплотипов мтДНК в популяциях человека. Так, по данным настоящей и других работ [16, 18–20, 23, 24] в белок-кодирующих участках митохондриальных геномов влияние отрицательного

Таблица 4. Анализ распределения несинонимичных (NS) и синонимичных (S) замен в филогенетическом дереве мтДНК европейцев (тест Elson et al. [16])

Тип замен	Количество замен, ассоциированных с гаплогруппами			Количество замен в концевых ветвях			<i>P</i>	<i>NI</i>
	NS	S	NS/S	NS	S	NS/S		
T>C	43 (20.2)	142 (29.8)	0.3	107 (23.3)	246 (31.7)	0.43	0.086	1.43
C>T	35 (16.4)	96 (20.2)	0.36	38 (8.3)	168 (21.7)	0.23	0.078	0.64
A>G	67 (31.5)	124 (26.0)	0.54	106 (23.1)	182 (23.5)	0.58	0.77	1.07
G>A	56 (26.3)	95 (20.0)	0.59	183 (39.9)	154 (19.9)	1.19	0.00058	2.02
Tv	12 (5.6)	19 (4.0)	0.63	25 (5.4)	25 (3.2)	1.0	0.36	1.59
Все	213	476	0.45	459	775	0.59	0.0061	1.32

Примечание. Частоты нуклеотидных замен (в процентах) приводятся в скобках. Tv – трансверсии. *P* – достоверность различий для двустороннего точного теста Фишера, *NI* – индекс нейтральности.

отбора связано с увеличением числа несинонимичных нуклеотидных замен на периферии филогенетических деревьев гаплотипов мтДНК. Кроме этого, возможное действие отрицательного отбора, связанное с различиями в распределении патогенных несинонимичных замен, было выявлено при сравнении митохондриальных геномов в парах мать–ребенок [25]. Таким образом, если принять, что гетероплазмичные смеси мутаций, наблюдаемые в первом поколении, испытывают влияние отрицательного отбора, то было бы важно понять истоки этого явления и изучить распределение нуклеотидных замен на более ранних стадиях — в ооцитах и первичных зародышевых клетках. Однако полученные к настоящему времени данные в этом направлении довольно противоречивы — в основном, видимо, из-за малых объемов проанализированных мутаций. В одной из работ в спектре нуклеотидных замен мтДНК, находящихся в митохондриях ооцитов в состоянии гетероплазмии, наблюдалось преобладание пуриновых замен над пиримидиновыми [26], а в другой, наоборот — причем, даже с преобладанием транзиций Т>С [27].

Исследование изменчивости мтДНК в примордиальных зародышевых клетках показало, что по мере развития зародышевых клеток наблюдается усиление отрицательного отбора, что проявляется в уменьшении величины соотношения числа несинонимичных замен к синонимичным на более поздних стадиях эмбрионального развития [10]. Однако позже этот вывод был оспорен в связи с возможной примесью мутаций, связанных с ядерными копиями мтДНК [28]. По результатам реанализа был предложен вывод о том, что характер отбора мутаций мтДНК в ходе раннего эмбрионального развития нельзя связывать только с влиянием отрицательного отбора, поскольку на некоторых этапах возможны проявления положительного отбора (даже в пользу вредных мутаций) [28]. Таким образом, для прояснения вопросов, связанных с изучением генетических изменений в клетках зародышевой линии, необходимы дальнейшие исследования спектров мутаций мтДНК на различных стадиях эмбриогенеза.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов. Работа выполнена по литературным данным.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Giles R.E., Blanc H., Cann H.M., Wallace D.C.* Maternal inheritance of human mitochondrial DNA // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1980. V. 77. P. 6715–6719. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.11.6715>
2. *Case J.T., Wallace D.C.* Maternal inheritance of mitochondrial DNA polymorphisms in cultured human fibroblasts // *Somat. Cell Genet*. 1981. V. 7. P. 103–108. <https://doi.org/10.1007/BF01544751>
3. *Howell N., Kubacka I., Mackey D.A.* How rapidly does the human mitochondrial genome evolve? // *Am. J. Hum. Genet*. 1996. V. 59. P. 501–509.
4. *Lightowlers R.N., Chinnery P.F., Turnbull D.M., Howell N.* Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease // *Trends Genet*. 1997. V. 13. P. 450–455. [https://doi.org/10.1016/s0168-9525\(97\)01266-3](https://doi.org/10.1016/s0168-9525(97)01266-3)
5. *Just R.S., Irwin J.A., Parson W.* Mitochondrial DNA heteroplasmy in the emerging field of massively parallel sequencing // *Forensic Sci. Int. Genet*. 2015. V. 18. P. 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.05.003>
6. *Skonieczna K., Malyarchuk B., Jawieñ A. et al.* Heteroplasmic substitutions in the entire mitochondrial genomes of human colon cells detected by ultra-deep 454 sequencing // *Forensic Sci. Int. Genet*. 2015. V. 15. P. 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.10.021>
7. *Wei W., Tuna S., Keogh M.J. et al.* Germline selection shapes human mitochondrial DNA diversity // *Science*. 2019. V. 364. <https://doi.org/10.1126/science.aau6520>
8. *Taylor C.R., Kiesler K.M., Sturk-Andreaggi K. et al.* Platinum-quality mitogenome haplotypes from United States populations // *Genes*. 2020. V. 11. <https://doi.org/10.3390/genes11111290>
9. *Shoubbridge E.A., Wai T.* Mitochondrial DNA and the mammalian oocyte // *Curr. Topics in Developmental Biol*. 2007. V. 77. P. 87–111. [https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(06\)77004-1](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(06)77004-1)
10. *Floros V.I., Pyle A., Dietmann S. et al.* Segregation of mitochondrial DNA heteroplasmy through a developmental genetic bottleneck in human embryos // *Nat. Cell. Biol*. 2018. V. 20. P. 144–151. <https://doi.org/10.1038/s41556-017-0017-8>
11. *Wallace D.C., Chalkia D.* Mitochondrial DNA genetics and the heteroplasmy conundrum in evolution and disease // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*. 2013. V. 5. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021220>
12. *Малыарчук Б.А.* Сравнительный анализ мутационных спектров митохондриальных геномов в популяциях человека // *Мол. биология*. 2023. Т. 57. № 5. С. 792–796. <https://doi.org/10.31857/S0026898423050117>
13. *Малыарчук Б.А.* Характеристика спектра нуклеотидных замен митохондриальной ДНК в популяциях человека в условиях высокогорья // *Генетика*. 2023. Т. 59. № 11. С. 1313–1318. <https://doi.org/10.31857/S0016675823110085>

14. *Mikhailova A.G., Mikhailova A.A., Ushakova K. et al.* A mitochondria-specific mutational signature of aging: increased rate of A > G substitutions on the heavy strand // *Nucl. Ac. Res.* 2022. V. 50. P. 10264–10277. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac779>
15. *Turro E., Astle W.J., Megy K. et al.* Whole-genome sequencing of patients with rare diseases in a national health system // *Nature.* 2020. V. 583. P. 96–102. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2434-2>
16. *Elson J.L., Turnbull D.M., Howell N.* Comparative genomics and the evolution of human mitochondrial DNA: Assessing the effects of selection // *Am. J. Hum. Genet.* 2004. V. 74. P. 229–238. <https://doi.org/10.1086/381505>
17. *Li M., Schroeder R., Ko A., Stoneking M.* Fidelity of capture-enrichment for mtDNA genome sequencing: Influence of NUMTs // *Nucl. Ac. Res.* 2012. V. 40. P. e137. <https://doi.org/10.1093/nar/gks499>
18. *Moilanen J.S., Majamaa K.* Phylogenetic network and physicochemical properties of nonsynonymous mutations in the protein-coding genes of human mitochondrial DNA // *Mol. Biol. Evol.* 2003. V. 20. P. 1195–1210. <https://doi.org/10.1093/molbev/msg121>
19. *Kivisild T., Shen P., Wall D.P. et al.* The role of selection in the evolution of human mitochondrial genomes // *Genetics.* 2006. V. 172. P. 373–387. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.043901>
20. *Деренко М.В., Малярчук Б.А.* Молекулярная филогеография населения Северной Евразии по данным об изменчивости митохондриальной ДНК. Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 2010. 376 с.
21. *Малярчук Б.А.* Анализ распределения нуклеотидных замен в генах митохондриальной ДНК человека // *Генетика.* 2005. Т. 41. № 1. С. 93–99.
22. *Galtier N., Enard D., Radondy Y. et al.* Mutation hot spots in mammalian mitochondrial DNA // *Genome Res.* 2006. V. 16. P. 215–222. <https://doi.org/10.1101/gr.4305906>
23. *Ельцов Н.П., Володько Н.В., Стариковская Е.Б. и др.* Роль естественного отбора в эволюции митохондриальных гаплогрупп Северо-Восточной Евразии // *Генетика.* 2010. Т. 46. № 9. С. 1247–1249.
24. *Литвинов А.Н., Малярчук Б.А., Деренко М.В.* Характер молекулярной эволюции митохондриальных геномов русского населения Восточной Европы // *Вестник СВНЦ ДВО РАН.* 2020. № 2. С. 107–113. <https://doi.org/10.34078/1814-0998-2020-2-107-113>
25. *Cavadas B., Soares P., Camacho R. et al.* Fine time scaling of purifying selection on human nonsynonymous mtDNA mutations based on the worldwide population tree and mother-child pairs // *Hum. Mut.* 2015. V. 36. P. 1100–1111. <https://doi.org/10.1002/humu.22849>
26. *Boucret L., Bris C., Seegers V. et al.* Deep sequencing shows that oocytes are not prone to accumulate mtDNA heteroplasmic mutations during ovarian ageing // *Hum. Rep.* 2017. V. 32. P. 2101–2109. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex268>
27. *Kang E., Wu J., Gutierrez N. et al.* Mitochondrial replacement in human oocytes carrying pathogenic mitochondrial DNA mutations // *Nature.* 2016. V. 540. P. 270–275. <https://doi.org/10.1038/nature20592>
28. *Fleischmann Z., Cote-L'Heureux A., Franco M. et al.* Reanalysis of mtDNA mutations of human primordial germ cells (PGCs) reveals NUMT contamination and suggests that selection in PGCs may be positive // *Mitochondrion.* 2024. V. 74. P. 101817. doi: 10.1016/j.mito.2023.10.005

Similarity of Human Mitochondrial DNA Nucleotide Substitution Spectra Reconstructed Over One and Many Generations

B. A. Malyarchuk^{1, *}

¹*Institute of Biological Problems of the North, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Magadan, 685000 Russia*

**e-mail: malyarchuk@ibpn.ru*

Using phylogenetic analysis of mitochondrial whole genome nucleotide sequences (mtDNA), allowing the study of genetic changes over many generations, a spectrum of nucleotide substitutions (along the L-strand of mtDNA) was reconstructed in European populations. The spectra of mtDNA nucleotide substitutions observed in a heteroplasmic state (at $\geq 1\%$ and $\geq 5\%$ levels) in first generation children were also analyzed. It was found that the spectra of nucleotide substitutions reconstructed over one and many generations do not differ practically in the main parameters: the distribution of pyrimidine and purine substitutions (with predominance of transitions T>C), the ratio of the number of transitions and transversions. Analysis of the phylogenetic tree of mtDNA haplotypes in Europeans clearly revealed the influence of negative (purifying) selection on mitochondrial gene pools. It is suggested that the selective processes guiding the mtDNA evolution in one and many generations are of a similar nature, i.e., caused by negative selection. The problem of how mutations occur and spread in mitochondria of germ line cells is discussed.

Keywords: mitochondrial genome, nucleotide substitutions, heteroplasmy, human populations, germ line.