


doi 10.18699/vjgb-25-116

## Асимметрия нуклеотидных замен в тРНК свидетельствует об общем происхождении современных организмов от термофильного предка

И.И. Титов <sup>1, 2</sup> 

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

 titov@bionet.nsc.ru

**Аннотация.** Природа последнего универсального общего предка (last universal common ancestor, LUCA) всех ныне живущих организмов до сих пор остается актуальной проблемой биологии. Существуют свидетельства в пользу того, что LUCA был как термофилом, так и мезофилом. Усложнение клеточного аппарата в ходе эволюции от ранних форм жизни к современным организмам могло проявиться в долговременных эволюционных изменениях нуклеотидного состава генетических последовательностей. Выявлению подобных тенденций в последовательностях тРНК посвящена эта работа. Представлены результаты эволюционного анализа точечных нуклеотидных замен в тРНК 123 видов трех доменов: Bacteria, Archaea и Eukaryota. Обнаружен универсальный вектор направленного эволюционного изменения последовательностей тРНК, при котором замены гуанина (G) и цитозина (C) на аденин (A) и урацил (U) суммарно происходят чаще обратных. Наиболее ярко асимметрия числа замен наблюдается в следующих переходах: а) между пуринами в преобладании числа замен G→A над числом замен A→G; б) между пиримидинами в преобладании C→U над U→C, а также в) при переходе из пурина в пиримидин и наоборот – в преобладании G→U над U→G. В результате эволюционного процесса тРНК могли терять «сильные» комплементарные пары с тремя водородными связями, формируемые гуанином и цитозином, и фиксировать «слабые» комплементарные пары с двумя водородными связями, образуемые аденином и урацилом. Обнаруженному изменению состава последовательностей были подвержены 16 из 20 семейств тРНК, что соответствует уровню статистической значимости  $p = 0.006$  согласно одностороннему биномиальному тесту. Выявленная закономерность свидетельствует о высоком GC-содержании в последовательности общего предка современных тРНК и, следовательно, подтверждает предположение о том, что самая молодая из гипотетических общих предковых клеток, от которой произошли все ныне живущие организмы (последний универсальный общий предок, LUCA), обитала в более горячей среде, нежели ныне живущие организмы.

**Ключевые слова:** эволюция; термофил; мутации; тРНК; матрица перехода; последний универсальный общий предок

**Для цитирования:** Титов И.И. Асимметрия нуклеотидных замен в тРНК свидетельствует об общем происхождении современных организмов от термофильного предка. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(7):1122-1128. doi 10.18699/vjgb-25-116


**Финансирование.** Работа поддержана бюджетным проектом № FWNR-2022-0020.

## Asymmetry of nucleotide substitutions in tRNAs indicates common descent of modern organisms from a thermophilic ancestor

I.I. Titov <sup>1, 2</sup> 

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Kurchatov Genomic Center of ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia

 titov@bionet.nsc.ru

**Abstract.** The nature of the last universal common ancestor (LUCA) of all living organisms remains a controversial issue in biology. There is evidence of both thermophilic and mesophilic LUCA origin. The increasing complexity of the cellular apparatus during the evolution from early life forms to modern organisms could have manifested itself in long-term evolutionary changes in the nucleotide composition of genetic sequences. This work is devoted to the identification of such trends in tRNA sequences. The results of an evolutionary analysis of single-nucleotide substitutions in tRNAs of 123 species from three domains – Bacteria, Archaea and Eukaryota – are presented. A universal vector of directed evolutionary change in tRNA sequences has been discovered, in which substitutions of guanine (G) to adenine (A)

and cytosine (C) to uracil (U) occur more frequently than the reverse. The most striking asymmetry in the number of substitutions is observed in the following transitions: a) purine-to-purine, where G→A outnumbers A→G, b) pyrimidine-to-pyrimidine, where C→U outnumbers U→C, and c) purine-to-pyrimidine and vice versa, where G→U outnumbers U→G. As a result, tRNAs could lose “strong” three-hydrogen-bond complementary pairs formed by guanine and cytosine and fix “weak” two-hydrogen-bond complementary pairs formed by adenine and uracil. 16 out of 20 tRNA families are susceptible to the detected change in sequence composition, which corresponds to the significance level  $p = 0.006$  according to the one-sided binomial test. The identified pattern indicates a high GC content in the common ancestor of modern tRNAs, supporting the hypothesis that the last universal common ancestor (LUCA) lived in a hotter environment than do most contemporary organisms.

**Key words:** evolution; thermophile; mutations; tRNA; transition matrix; last universal common ancestor

**For citation:** Titov I.I. Asymmetry of nucleotide substitutions in tRNAs indicates common descent of modern organisms from a thermophilic ancestor. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(7):1122-1128. doi 10.18699/vjgb-25-116

## Введение

Несмотря на длительные исследования, природа последнего универсального общего предка (last universal common ancestor, LUCA) всех ныне живущих организмов – актуальная проблема биологии до сих пор. Согласно недавней работе E.R.R. Moody с коллегами (2024), LUCA возник ~ 4.2 млрд лет назад и обладал базовыми элементами клеточного аппарата современных прокариот (генами и молекулярно-генетическими системами транскрипции и трансляции, включая тРНК). Существуют свидетельства в пользу того, что LUCA был как термофилом (Di Giulio, 2000; Weiss et al., 2016; Moody et al., 2024), так и мезофилом (Galtier et al., 1999; Cantine, Fournier, 2017).

Усложнение клеточного аппарата в ходе эволюции от ранних форм жизни к современным организмам могло проявиться в долговременных эволюционных изменениях нуклеотидного состава генетических последовательностей. Так, I.K. Jordan с коллегами (2005), используя метод неукорененной парсимонии (Rickert et al., 2025), обнаружили закономерности систематического однонаправленного изменения аминокислотного состава белков при их эволюции от предковых форм: увеличение содержания аминокислот Cys, Met, His, Ser и Phe за счет снижения содержания аминокислот Pro, Ala, Glu и Gly. В работе (Galtier et al., 1999) проведено сравнение рибосомальных РНК LUCA и современных видов по GC-содержанию, но результаты позднее были подвергнуты критике (Di Giulio, 2000). Интерес представляет исследование Y. Men с коллегами (2022), в котором реконструированы фрагменты рибосомальных РНК LUCA (16S, 5S и 23S rRNA), эволюционно консервативные в современных последовательностях и соответствующие сайтам взаимодействия рРНК с белками рибосомы. Однако в этой работе нуклеотидные последовательности рРНК рассматривались в бинарном пурин-пиримидиновом коде и, следовательно, не содержали оценок GC-состава РНК. Таким образом, эволюционное изменение нуклеотидного состава РНК от LUCA до современных видов не является окончательно установленным.

В связи с этим представлялось интересным исследовать долговременные тренды изменения нуклеотидного состава такого класса нуклеотидных последовательностей, а именно, молекул тРНК, являющихся обязательным элементом систем трансляции тРНК во всех организмах.

В нашей работе изучены особенности молекулярной эволюции 20 изоакцепторных семейств тРНК, каждое из

которых в процессе трансляции обеспечивает перенос определенной аминокислоты. Эти семейства тРНК были проанализированы для 123 организмов трех доменов, Bacteria, Archaea и Eukaryota.

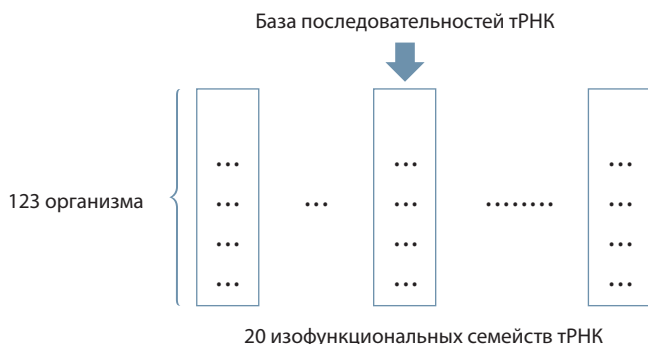
Филогенетический анализ проводили с применением метода неукорененной парсимонии (Jordan et al., 2005). Были обнаружены одиночные нуклеотидные замены, фиксировавшиеся в тРНК в ходе их эволюции от предковых последовательностей к современным; показано, что замены гуанина (G) или цитозина (C) на аденин (A) или урацил (U) фиксируются чаще замен A или U на G или C. Это обосновывает картину преимущественно однонаправленного эволюционного изменения последовательностей тРНК, при котором они теряли «сильные» комплементарные пары с тремя водородными связями, формируемые гуанином и цитозином, и фиксировали «слабые» комплементарные пары с двумя водородными связями, образуемыми аденином и урацилом. Эта особенность была характерна для 16 из 20 семейств тРНК, с уровнем статистической значимости  $p < 0.006$  согласно одностороннему биномиальному тесту.

Полученные результаты свидетельствуют о высоком GC-содержании в нуклеотидных последовательностях тРНК общего предка современных Bacteria, Archaea и Eukaryota и, следовательно, в пользу предположения о том, что последний универсальный общий предок (LUCA) обитал в более горячей среде, нежели ныне живущие организмы, т. е. он был термофилом или теплолюбивым мезофилом (умеренным термофилом). Этот вывод обосновывается тем, что содержание нуклеотидов G и C в нуклеотидных последовательностях связано с оптимальной температурой обитания организмов, в связи с чем генетические макромолекулы (ДНК, РНК) можно рассматривать как своеобразные молекулярные термометры, а их GC-содержание – как индикатор температуры среды обитания.

## Материалы и методы

Нуклеотидные последовательности тРНК трех доменов, Bacteria, Archaea и Eukaryota, взяты из курируемой базы данных, представленной в работе (Sprinzl et al., 1998) (Приложение S1)<sup>1</sup>. В этой базе данных содержалось выравнивание последовательностей тРНК, «наиболее совместимое с филогенией и известными трехмерными струк-

<sup>1</sup> Приложения S1 и S2 см. по адресу:  
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2025-29/appx41.zip>



**Рис. 1.** Схема создания выборки из базы последовательностей тРНК.

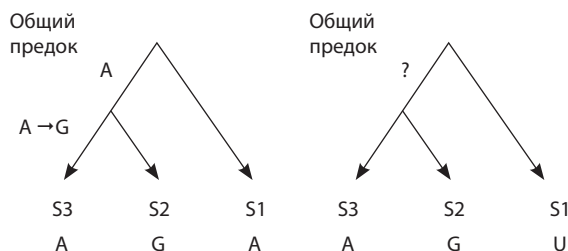
турами тРНК» (Sprinzl et al., 1998). Каждая из тРНК была сопоставлена авторами базы данных своей аминокислоте.

Процедура формирования выборки нуклеотидных последовательностей для эволюционного анализа состояла в следующем: 1) для каждого из 123 организмов рассматривали 20 групп тРНК. Каждая группа включала тРНК, взаимодействующие с одной из 20 аминокислот. Возможным горизонтальным переносом (Soucy et al., 2015), как и переходами между группами в результате ремодинга (смены изоакцепторной группы в результате изменения антикодона, для которой к настоящему времени известно лишь около 20 случаев (Bermudez-Santana et al., 2010; Velandia-Huerto et al., 2016; Romanova et al., 2020)), пренебрегали; 2) для каждой позиции нуклеотидных последовательностей этой группы, соответствующих конкретному организму и аминокислоте, подсчитывали частоты четырех нуклеотидов и рассматриваемой позиции приписывали нуклеотид с наибольшей частотой; при рассмотрении всех позиций последовательностей группы конструировали консенсусную последовательность группы тРНК; 3) для консенсусной последовательности, соответствующей определенной группе тРНК, оценивали ее сходство с каждой из нуклеотидных последовательностей множественного выравнивания, входящих в рассматриваемую группу, и из этой группы выбиралась та последовательность, которая была наиболее сходна с консенсусом.

Таким способом была построена выборка нуклеотидных последовательностей тРНК для эволюционного анализа, содержащая  $20 \times 123 = 2460$  типичных последовательностей тРНК (рис. 1). Каждая последовательность этой выборки была наиболее типичной для одного из изофункциональных семейств тРНК конкретного организма (из 123).

Согласно работе (Jordan et al., 2005), идентификацию нуклеотидных замен, фиксировавшихся в ходе эволюции нуклеотидных последовательностей каждого изофункционального семейства тРНК, осуществляли на основе метода неукорененной максимальной парсимонии по филогенетическим деревьям из трех вершин (рис. 2) с помощью программы Dnapars (пакет Phylip, <https://phyilip.web.github.io/phyilip>).

При анализе отдельного семейства изоакцепторных тРНК выполняли следующую процедуру: для каждой нуклеотидной последовательности S1 из 123 последовательностей тРНК, входящих в семейство, идентифицировали



**Рис. 2.** Поиск нуклеотидных замен методом неукорененной максимальной парсимонии по простейшим деревьям из трех ближайших тРНК.

Слева показана идентифицированная замена  $A \rightarrow G$  внутри группы из двух ближайших родственников S2 и S3, а справа – неинформативная замена.

такую ближайшую (по сходству) нуклеотидную последовательность S2 и далее – ближайшую к S2 последовательность S3 (см. рис. 2), что S2 и S3 образовывали пару ближайших родственников. В результате формировалась филогенетическая тройка, в которой S1 была «внешним родственником» (outgroup) по отношению к паре S2 и S3.

В методе неукорененной максимальной парсимонии предполагается, что, если в определенной позиции последовательности находится нуклеотид, совпадающий у S1, S2 и S3, то этот нуклеотид содержался в той же позиции тРНК у общего предка S1, S2 и S3. Если при этом у S3 наблюдается другой нуклеотид, то вдоль ветви, ведущей к S3, произошла одиночная нуклеотидная замена. Если все три нуклеотида были различны, то, согласно (Jordan et al., 2005), эту позицию считали неинформативной и исключали из рассмотрения. Этот способ не требует стационарности и обратимости эволюционного процесса (Klopfstein et al., 2015).

## Результаты

Следуя подходу I.K. Jordan с коллегами (2005) и рассматривая изменения нуклеотидов между последовательностями ближайших предков и потомков, мы построили матрицу мутационных переходов для каждого из 20 выравненных семейств тРНК. В табл. 1 приведен пример такой матрицы для семейства тРНК<sup>Cys</sup>. Недиagonальные элементы  $M_{i,k}$  ( $i, k = 1, \dots, 4$ ) характеризуют полное число одиночных замен в последовательностях тРНК<sup>Cys</sup> нуклеотида  $i$  на нуклеотид  $k$ . Диагональные элементы  $M_{i,k}$  соответствуют консервативным позициям. Строки и столбцы с пропусками в выравниваниях (–) в основном соответствовали району варибельной петли и были опущены для количественных оценок.

Из табл. 1 видно, что среди нуклеотидных замен, выявленных для семейства тРНК<sup>Cys</sup>, наиболее часто наблюдались транзиции, т. е. замены между пуринами ( $N_{G \rightarrow A} = 139$  и  $N_{A \rightarrow G} = 113$ ) и между пиримидинами ( $N_{C \rightarrow U} = 177$  и  $N_{U \rightarrow C} = 138$ ).

Существенно, что количество замен «сильных» нуклеотидов на «слабые» ( $G \rightarrow A$ ,  $G \rightarrow U$ ,  $C \rightarrow A$ ,  $C \rightarrow U$ ), в сумме равное 417, преобладает над количеством замен «слабых» нуклеотидов на «сильные» ( $A \rightarrow G$ ,  $A \rightarrow C$ ,  $U \rightarrow C$ ,  $U \rightarrow G$ ), которое равно 340. Это свидетельствует об эволюционной тенденции в направлении снижения GC-состава в тРНК в пользу увеличения AU-состава. Выявленный нами эффект,

**Таблица 1.** Матрица числа однонуклеотидных замен в последовательностях тРНК<sup>Cys</sup>

Из\в	A	C	G	U	–
A	1526	38	113	44	27
C	43	2292	74	177	25
G	139	91	2469	58	6
U	45	138	51	1492	23
–	20	27	0	39	3131

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: зеленым цветом обозначено количество замен из «сильных» нуклеотидов (G и C, образующих комплементарные пары с тремя водородными связями) в «слабые» (A и U, образующих комплементарные пары с двумя водородными связями); желтым – количество замен «слабых» нуклеотидов A и U на «сильные» нуклеотиды (G и C). В колонке, обозначенной знаком «–», указано количество замен в позициях выравнивания, соответствующих делециям.

**Таблица 2.** Матрица числа однонуклеотидных замен в последовательностях тРНК<sup>Glu</sup>

Из\в	A	C	G	U	–
A	1353	40	101	57	37
C	52	2526	105	184	35
G	167	105	2389	51	9
U	58	124	37	1608	27
–	30	35	0	23	2956

описанный выше, был назван асимметрией нуклеотидных замен.

К тем же выводам мы приходим после рассмотрения мутационных переходов в семействе тРНК<sup>Glu</sup> (табл. 2). В этом семействе количество замен «сильных» нуклеотидов на «слабые» равно 454, а количество замен «слабых» нуклеотидов на «сильные» равно 302.

Такой же анализ проведен для всех 20 изоакцепторных семейств тРНК (Приложение S2). Далее была получена оценка эффекта асимметрии по всем семействам изоакцепторных тРНК. Для этого рассчитали общую матрицу замен посредством суммирования соответствующих элементов всех 20 матриц семейств изоакцепторных тРНК (см. Приложение S2). При этом по всем тРНК количество идентифицированных одиночных замен было равно 24653, а неинформативных замен – 2083.

Диагональные элементы полученной матрицы (табл. 3) характеризуют средний нуклеотидный состав тРНК рассмотренных видов организмов – 32.9 % (G), 27.8 % (C), 21.0 % (U), 18.3 % (A), а также содержание «сильных» нуклеотидов G+C (60.7 %) и «слабых» (39.3 %). Транзиции представлены 4 из 12 недиагональных элементов. Доля транзиций в общем числе замен была равна 56 %.

Как и в большинстве частных матриц для отдельных семейств изоакцепторных тРНК (см. для примера табл. 1 и 2), в табл. 3 число замен «сильных» нуклеотидов на «слабые» (показаны зеленым цветом) превышает число замен

**Таблица 3.** Матрица числа нуклеотидных замен, выявленных методом неукорененной парсимонии тРНК, суммированная по всем изоакцепторным семействам

Из\в	A	C	G	U	–
A	28841	952	2949	1273	853
C	963	43778	1829	3963	951
G	3451	1881	51756	1421	330
U	1272	3438	1261	32994	715
–	666	862	210	867	53981

**Таблица 4.** Асимметрия нуклеотидных замен в тРНК

$A_{G \rightarrow A}$	$A_{C \rightarrow U}$	$A_{G \rightarrow U}$	$A_{G \rightarrow C}$	$A_{A \rightarrow U}$	$A_{C \rightarrow A}$
0.16	0.14	0.12	0.028	0.008	0.011

«слабых» нуклеотидов на «сильные» (отмечены желтым цветом): ср.  $N_{G \rightarrow A} = 3451$  и  $N_{A \rightarrow G} = 2949$ ,  $N_{C \rightarrow U} = 3963$  и  $N_{U \rightarrow C} = 3468$ ,  $N_{G \rightarrow U} = 1421$  и  $N_{U \rightarrow G} = 1261$ ,  $N_{C \rightarrow A} = 963$  и  $N_{A \rightarrow C} = 952$ .

Для количественной оценки асимметрии замен вычислим относительную разницу, определяемую как удвоенную разность двух величин, деленную на их сумму, числа замен между нуклеотидами F и Z, где  $F, Z \in (A, U, G, C)$ :

$$A_{F \rightarrow Z} = \frac{2(N_{F \rightarrow Z} - N_{Z \rightarrow F})}{N_{F \rightarrow Z} + N_{Z \rightarrow F}}. \quad (1)$$

В табл. 4 представлены результаты расчетов  $A_{F \rightarrow Z}$  на основе уравнения (1) и табл. 3. Асимметрия числа замен составила: 0.16 для  $G \rightarrow A$  и  $A \rightarrow G$ ; 0.14 для  $C \rightarrow U$  и  $U \rightarrow C$ ; 0.12 для  $G \rightarrow U$  и  $U \rightarrow G$ . Остальные переходы оказались слабо асимметричными: от 0.008 до 0.028 (см. табл. 4).

На основе табл. 3 мы можем также рассчитать баланс потерь и приобретений  $B_F$  для нуклеотида типа F:

$$B_F = \sum_Z (N_{Z \rightarrow F} - A_{F \rightarrow Z}). \quad (2)$$

В табл. 5 продемонстрировано суммарное снижение числа «сильных» нуклеотидов G/C в исследованных нуклеотидных последовательностях всех проанализированных семейств тРНК на 1198 (714 G + 484 C) за счет эволюционного приобретения такого же количества слабых нуклеотидов A/G (512 A + 686 U). С учетом суммарного количества нуклеотидов G, C, A и U в исследованных последовательностях тРНК изменения количества этих нуклеотидов в ходе эволюции семейств тРНК, нормированные на их количество, составили: –0.014, –0.011, +0.018 и +0.021 для G, C, A и U соответственно (см. табл. 5).

Матрицы числа нуклеотидных замен для всех 20 изоакцепторных семейств тРНК приведены в Приложении S2. В табл. 6, полученной на основе этих 20 матриц, приведены арифметические разности  $N_{F \rightarrow Z} - N_{Z \rightarrow F}$  ( $F, Z \in (A, U, G, C)$ ) между количествами всех возможных типов нуклеотидных замен, фиксировавшихся в процессе эволюции 20 изоакцепторных семейств тРНК. Каждому варианту арифметической разности замен  $F \rightarrow Z$  и  $Z \rightarrow F$  со-



**Таблица 5.** Характеристики состава и эволюционной динамики исследованных нуклеотидных последовательностей всех проанализированных семейств тРНК

Характеристики состава и эволюционной динамики	G	C	A	U
Суммарное количество консервативных нуклеотидов четырех типов в деревьях неукорененной парсимонии для исследованных последовательностей тРНК	51 756	43 778	28 841	32 994
Среднее содержание нуклеотидов четырех типов в исследованных последовательностях тРНК, %	32.9	27.8	18.3	21.0
Изменения количества нуклеотидов четырех типов в ходе эволюции семейств тРНК	−714	−484	+512	+686
Изменения количества нуклеотидов четырех типов в ходе эволюции семейств тРНК, нормированные на их количество	−0.014	−0.011	+0.018	+0.021

**Таблица 6.** Арифметические разности  $N_{F \rightarrow Z} - N_{Z \rightarrow F}$  ( $F, Z \in (A, U, G, C)$ ) между количествами всех возможных типов нуклеотидных замен, фиксировавшихся в процессе эволюции 20 изоакцепторных семейств тРНК

tRNA	$N_{G \rightarrow A} - N_{A \rightarrow G}$	$N_{C \rightarrow U} - N_{U \rightarrow C}$	$N_{G \rightarrow U} - N_{U \rightarrow G}$	$N_{G \rightarrow C} - N_{C \rightarrow G}$	$N_{A \rightarrow U} - N_{U \rightarrow A}$	$N_{C \rightarrow A} - N_{A \rightarrow C}$	$A_{S \rightarrow W}^*$
Ala	−5	36	21	0	−20	−4	0.13
Arg	20	41	4	6	21	21	0.14
Asn	45	30	10	4	−10	−11	0.19
Asp	32	4	20	2	−2	13	0.21
Cys	26	39	7	17	−1	5	0.20
Gln	−4	−2	21	−3	10	31	0.11
Glu	66	60	14	0	−1	12	0.40
His	52	2	−18	10	−4	−17	0.04
Ile	25	−2	5	16	13	8	0.12
Leu	62	89	25	6	−13	25	0.14
Met	34	45	−11	14	7	−9	0.12
Phe	20	44	7	4	19	8	0.24
Pro	29	21	24	−9	2	14	0.20
Ser	50	105	61	−5	−12	−32	0.19
Trp	44	13	6	0	3	−4	0.16
Tyr	44	48	7	−3	−23	5	0.24
Gly	−11	4	−7	9	5	6	−0.04
Thr	−21	−26	−17	−14	−5	0	−0.06
Val	12	12	−23	−5	7	−19	−0.03
Lys	−18	−58	−31	3	5	−41	−0.34

\* В последнем столбце приведено значение относительной разности количества замен между «сильными» и «слабыми» нуклеотидами,  $A_{S \rightarrow W} = 2(N_{S \rightarrow W} - N_{W \rightarrow S}) / (N_{S \rightarrow W} + N_{W \rightarrow S})$ , где  $S \in (G, C)$ ,  $W \in (A, U)$ .

ответствует определенный столбец табл. 6. Каждая строка этой таблицы соответствует определенному изоакцепторному семейству тРНК. В последней колонке приведена относительная разность количества замен,  $A_{S \rightarrow W}$ , «сильных» нуклеотидов,  $S \in (G, C)$ , на слабые,  $W \in (A, U)$ , определяемая уравнением (1).

Из табл. 6 можно видеть, что 16 семейств тРНК характеризуются положительной величиной относительной разности количества замен,  $A_{S \rightarrow W} > 0$ . Вместе с тем для

четырёх семейств тРНК (нижние строки) характерна отрицательная разность,  $A_{S \rightarrow W} < 0$ . Из этих четырёх семейств тРНК для трёх тРНК, тРНК<sup>Gly</sup>, тРНК<sup>Thr</sup> и тРНК<sup>Val</sup>, наблюдаемый отрицательный тренд, т.е. преобладание замен  $W \rightarrow S$  над  $S \rightarrow W$ , незначителен ( $-0.06 \leq A_{S \rightarrow W} \leq -0.03$ ), и только для тРНК<sup>Lys</sup> преобладание замен  $W \rightarrow S$  над  $S \rightarrow W$  имеет выраженный характер ( $A_{S \rightarrow W} = -0.34$ ).

Для оценки статистической значимости преобладания положительных величин, характеризующих относитель-

ную разность между а) количеством замен «сильных» нуклеотидов на «слабые» ( $S \rightarrow W$ ) и б) количеством замен «слабых» нуклеотидов на «сильные» ( $W \rightarrow S$ ), фиксировавшихся в ходе эволюции 20 семейств тРНК, использовали односторонний биномиальный тест (Lehmann, 2012). В нашем случае уровень значимости вычисляли как вероятность  $p$  случайного наблюдения 16 матриц из 20 с заменами в пользу уменьшения количества «сильных» нуклеотидов G/C: см. выражение (3). При этом предполагалось, что количество фиксированных замен типов  $S \rightarrow W$  и  $W \rightarrow S$  в среднем одинаково:

$$p = \sum_{l=16}^{l=20} C_l^{20} 0.5^{20} = 0.0059. \quad (3)$$

С использованием выражения (3) статистическая гипотеза об асимметрии матриц эволюционных замен в направлении потери нуклеотидов G и C и приобретения нуклеотидов A и U была принята с уровнем значимости  $p < 0.006$ .

## Обсуждение

Проведенный нами анализ эволюции 20 семейств изоакцепторных тРНК 123 видов трех доменов (Bacteria, Archaea и Eukaryota) от их предковых форм выявил тенденцию снижения G/C-состава тРНК в пользу увеличения A/U-состава. Этот эффект был назван асимметрией нуклеотидных замен. Он заключался в эволюционной потере «сильных» нуклеотидов G и C, способных формировать энергетически выгодные комплементарные пары с тремя водородными связями и приобретении «слабых» нуклеотидов A и U, формирующих менее стабильные комплементарные пары с двумя водородными связями. Обнаруженному изменению состава последовательностей были подвержены 16 из 20 семейств тРНК, что соответствует уровню статистической значимости  $p < 0.006$ , согласно одностороннему биномиальному тесту.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу предположения о том, что последний универсальный общий предок (LUCA) обитал в более горячей среде, нежели ныне живущие организмы, т.е. был термофилом или теплолюбивым мезофилом (умеренным термофилом). Этот вывод обосновывается тем, что содержание нуклеотидов G и C в нуклеотидных последовательностях связано с оптимальной температурой обитания организмов (Dutta, Chaudhuri, 2010), поэтому генетические макромолекулы (ДНК, РНК) можно рассматривать как своеобразные молекулярные термометры, а их GC-содержание – как индикатор температуры среды обитания.

Условия ранней Земли должны были определить энергетические, метаболические, биохимические и экологические особенности LUCA. Согласно работам (Di Giulio, 2000; Weiss et al., 2016), LUCA жил в горячих источниках, высокая температура которых облегчает протекание биохимических реакций и молекулярно-генетических процессов, но требует термодинамической и кинетической устойчивости биомолекулярных структур, термодинамические флуктуации которых значительно выражены при более высокой температуре среды обитания. Современные термофилы адаптированы к большим температурам благодаря в том числе высокому содержанию в геноме нуклеотидов G и C (Dutta, Chaudhuri, 2010), формирующих более

энергетически прочные комплементарные связи друг с другом. И это особенно важно для термостабильности структурных РНК, включая тРНК.

Необходимо отметить, что четыре семейства тРНК из 20 исследованных в нашей работе не следуют общей тенденции потери «сильных» нуклеотидов. Причины, обуславливавшие особенности эволюции этих тРНК, могут быть разнообразны. Например, два семейства, тРНК<sup>Gly</sup> и тРНК<sup>Val</sup>, соответствуют химически простым так называемым миллеровским аминокислотам. Предположительно, эти аминокислоты входили в самые древние белки, и нуклеотидный состав их тРНК мог успеть достигнуть их индивидуального эволюционного равновесия, пусть и отличного от среднего по всем тРНК. Однако в целом при сравнении GC-состава тРНК организмов, живущих при разных температурах, наши результаты свидетельствуют о том, что современные организмы в среднем живут в более холодной среде, нежели последний универсальный общий предок (LUCA).

## Заключение

Обнаружен универсальный вектор направленного эволюционного изменения последовательностей тРНК, при котором замены гуанина (G) и цитозина (C) на аденин (A) и урацил (U) суммарно происходят чаще обратных. В результате эволюционного процесса тРНК могли терять «сильные» комплементарные пары с тремя водородными связями, формируемые гуанином и цитозином, и фиксировать «слабые» комплементарные пары с двумя водородными связями, образуемые аденином и урацилом. Обнаруженному изменению состава последовательностей были подвержены 16 из 20 семейств тРНК, что соответствует уровню статистической значимости  $p = 0.006$  согласно одностороннему биномиальному тесту. Выявленная закономерность свидетельствует о высоком GC-содержании в последовательностях общих предков современных тРНК и, следовательно, в пользу предположения о том, что самая молодая из гипотетических общих предковых клеток, от которой произошли все ныне живущие организмы (последний универсальный общий предок, LUCA), обитала в более горячей среде, нежели ныне живущие организмы.

## Список литературы / References

- Bermudez-Santana C., Attolini C.S.-O., Kirsten T., Engelhardt J., Prohaska S.J., Steigele S., Stadler P.F. Genomic organization of eukaryotic tRNAs. *BMC Genomics*. 2010;11(1):270. doi 10.1186/1471-2164-11-270
- Cantine M.D., Fournier G.P. Environmental adaptation from the origin of life to the last universal common ancestor. *Orig Life Evol Biosph*. 2017;48(1):35-54. doi 10.1007/s11084-017-9542-5
- Di Giulio M. The universal ancestor lived in a thermophilic or hyperthermophilic environment. *J Theor Biol*. 2000;203(3):203-213. doi 10.1006/jtbi.2000.1086
- Dutta A., Chaudhuri K. Analysis of tRNA composition and folding in psychrophilic, mesophilic and thermophilic genomes: indications for thermal adaptation. *FEMS Microbiol Lett*. 2010;305(2):100-108. doi 10.1111/j.1574-6968.2010.01922.x
- Galtier N., Tourasse N., Gouy M. A non hyperthermophilic common ancestor to extant life forms. *Science*. 1999;283(5399):220-221. doi 10.1126/science.283.5399.220

- Jordan I.K., Kondrashov F.A., Adzhubei I.A., Wolf Y.I., Koonin E.V., Kondrashov A.S., Sunyaev S. A universal trend of amino acid gain and loss in protein evolution. *Nature*. 2005;433(7026):633-638. doi 10.1038/nature03306
- Klopfstein S., Vilhelmsen L., Ronquist F. A nonstationary Markov model detects directional evolution in hymenopteran morphology. *Syst Biol*. 2015;64(6):1089-1103. doi 10.1093/sysbio/syv052
- Lehmann E.L. The Fisher, Neyman-Pearson theories of testing hypotheses: one theory or two? In: Rojo J. (Ed.) *Selected Works of E.L. Lehmann. Selected Works in Probability and Statistics*. Boston, MA: Springer, 2012;201-208. doi 10.1007/978-1-4614-1412-4\_19
- Men Y., Lu G., Wang Y., Lin J., Xie Q. Reconstruction of the rRNA sequences of LUCA, with bioinformatic implication of the local similarities shared by them. *Biology*. 2022;11(6):837. doi 10.3390/biology11060837
- Moody E.R.R., Álvarez-Carretero S., Mahendrarajah T.A., Clark J.W., Betts H.C., Dombrowski N., Szánthó L.L., ... Spang A., Pisani D., Williams T.A., Lenton T.M., Donoghue P.C.J. The nature of the last universal common ancestor and its impact on the early Earth system. *Nat Ecol Evol*. 2024;8(9):1654-1666. doi 10.1038/s41559-024-02461-1
- Rickert D.A., Fan L.W.-T., Hahn M.W. Inconsistency of parsimony under the multispecies coalescent. *Theor Popul Biol*. 2025;166:56-69. doi 10.1016/j.tpb.2025.09.004
- Romanova E.V., Bukin Y.S., Mikhailov K.V., Logacheva M.D., Aleoshin V.V., Sherbakov D.Yu. Hidden cases of tRNA gene duplication and remolding in mitochondrial genomes of amphipods. *Mol Phylogenet Evol*. 2020;144:106710. doi 10.1016/j.ympev.2019.106710
- Soucy S.M., Huang J., Gogarten J.P. Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nat Rev Genet*. 2015;16(8):472-482. doi 10.1038/nrg3962
- Sprinzel M., Horn C., Brown M., Ioudovitch A., Steinberg S. Compilation of tRNA sequences and sequences of tRNA genes. *Nucleic Acids Res*. 1998;26(1):148-153. doi 10.1093/nar/26.1.148
- Velandia-Huerto C.A., Berkemer S.J., Hoffmann A., Retzlaff N., Romero Marroquín L.C., Hernández-Rosales M., Stadler P.F., Bermúdez-Santana C.I. Orthologs, turn-over, and remolding of tRNAs in primates and fruit flies. *BMC Genomics*. 2016;17(1):617. doi 10.1186/s12864-016-2927-4
- Weiss M.C., Sousa F.L., Mrnjavac N., Neukirchen S., Roettger M., Nelson-Sathi S., Martin W.F. The physiology and habitat of the last universal common ancestor. *Nat Microbiol*. 2016;1(9):16116. doi 10.1038/nmicrobiol.2016.116

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 13.09.2025. После доработки 07.10.2025. Принята к публикации 07.10.2025.