УДК: 575
DOI: 10.18522/2308-9709-2025-53-10

Некодирующие регуляторные элементы гена AMH у человека и мыши: консервативные и видоспецифичные участки, связанные с числом овуляторных фолликулов

Колесникова Ангелина Максимовна , Поротникова Алина Витальевна,

Шкурат Татьяна Павловна, Ломтева Светлана Витальевна

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

РЕФЕРАТ

Работа направлена на выявление некодирующих цис-регуляторных элементов гена AMH у человека (hg39) и мыши (mm39) и оценку их возможной связи с межвидовыми различиями в числе овуляторных фолликулов (моноовуляция у человека против 8–10 ооцитов за цикл у мыши).Геномные локусы AMH извлекали из UCSC Genome Browser, последовательности формировали в FASTA и выравнивали MAFFT. Консервативность оценивали парной процентной идентичностью, включая скользящее окно 100 нт с шагом 50 нт; дополнительно рассчитывали GC-состав и частоты 3-меров, а полностью консервативные отрезки длиной ≥6 нт рассматривали как кандидаты регуляторных мотивов.Выравнивание охватило 2769 п.н.; из 2421 сравнимой позиции совпало 1641, что соответствует 67,782% идентичности; выявлены 348 пропусков, преимущественно в интронных участках.Последовательность человека характеризовалась более высоким GC-содержанием, тогда как у мыши преобладали A/T. Обнаружено 77 полностью консервативных фрагментов (суммарно 767 п.н.), с кластеризацией коротких мотивов в предполагаемой промоторной зоне (позиции ~56–375) и наличием протяжённого 38-нуклеотидного мотива в 3′-области. Профиль идентичности был волнообразным, с регионами существенной дивергенции (до ~40–45%) и локальными пиками консервации (до ~80%). Сделан вывод, что консервативные домены поддерживают базовую функцию AMH, тогда как видоспецифичные некодирующие вариации могут участвовать в настройке темпов рекрутирования и созревания фолликулов, потенциально влияя на число овуляций.

Ключевые слова: AMH, антимюллеров гормон, некодирующие регуляторные элементы, промотор, энхансер, консервация, видоспецифичность, GC-состав, MAFFT, k-mer, человек, мышь, фолликулогенез.

Noncoding regulatory elements of the AMH gene in humans and mice: conserved and species-specific regions associated with ovulatory follicle number

Angelina Maksimovna Kolesnikova, Alina Vitalievna Porotnikova, Tatyana Pavlovna Shkurat, Svetlana Vitalievna Lomteva

Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia

The aim of this study was to identify non-coding cis regulatory elements of the AMH gene in humans (hg39) and mice (mm39) and to assess their possible association with interspecies differences in the number of ovulatory follicles (monoovulation in humans versus 8–10 oocytes per cycle in mice). AMH genomic loci were retrieved from the UCSC Genome Browser, sequenced in FASTA and aligned with MAFFT. Conservation was assessed by pairwise percent identity, including a 100 nt sliding window with a 50 nt step; in addition, the GC composition and frequencies of 3 mers were calculated, and completely conserved segments ≥6 nt in length were considered as candidate regulatory motifs. The alignment covered 2769 bp; out of 2421 comparable positions, 1641 coincided, which corresponds to 67.782% identity; A total of 348 gaps were identified, predominantly in intronic regions. The human sequence was characterized by a higher GC content, while A/T was predominant in the mouse. Seventy-seven fully conserved fragments (767 bp in total) were found, with clustering of short motifs in the putative promoter region (positions ~56–375) and the presence of an extended 38-nucleotide motif in the 3' region. The identity profile was undulating, with regions of significant divergence (up to ~40–45%) and local peaks of conservation (up to ~80%). It is concluded that conserved domains support the basic function of AMH, while species-specific noncoding variations may be involved in tuning the rates of follicle recruitment and maturation, potentially affecting the number of ovulations.

Keywords: AMH, anti-Müllerian hormone, noncoding regulatory elements, promoter, enhancer, conservation, species specificity, GC content, MAFFT, k-mer, human, mouse, folliculogenesis.

Колесникова А. М., Поротникова А. В., Шкурат Т. П., Некодирующие регуляторные элементы гена АМН у человека и мыши: консервативные и видоспецифичные участки, связанные с числом овуляторных фолликулов // «Живые и биокосные системы». – 2025. – № 53; URL: https://jbks.ru/archive/issue-53/article-10; DOI: 10.18522/2308-9709-2025-53-10

Введение

В настоящее время особую ценность для исследователей представляет анализ некодирующих частей генома, включая промоторы, энхансеры и другие регуляторные элементы, которые контролируют экспрессию генов и определяют пространственно-временные транскрипционные программы в различных тканях, включая гонады [4]. Понимание регуляции этих участков особенно важно для репродуктивной биологии: при высоком сходстве набора генов у человека и мыши наблюдаются принципиально различающиеся репродуктивные параметры, в частности число овулирующих фолликулов за цикл [1,4]. У взрослой мыши в одном эстральном цикле обычно овулирует около 8–10 ооцитов, тогда как у человека в норме формируется один доминантный фолликул и происходит моноовуляция; множественная овуляция рассматривается как относительно редкое отклонение. Эти различия представляют собой эволюционно закреплённый, видоспецифичный компонент репродуктивной стратегии, что обосновывает сравнительный анализ геномов для выявления регуляторных основ межвидовых вариаций [4]. Фолликулогенез играет ключевую роль в формировании функционального репродуктивного потенциала, определяя овариальный резерв, цикличность овуляции и общий гормональный фон женской репродуктивной системы [1,7]. Антимюллеров гормон (АМГ) является одним из ключевых маркеров и регуляторов роста фолликулов, участвуя в ограничении активации примордиального пула и модуляции чувствительности растущих фолликулов к внешним сигналам. Нарушения в регуляции АМГ ассоциированы с изменениями овариального резерва, риском преждевременного истощения яичников и различными формами репродуктивной дисфункции [2,3,7,9].

Ген *AMH* занимает центральное место в регуляции ранних этапов фолликулогенеза, а его экспрессия и тканевая специфичность определяются совокупностью промоторных, энхансерных и других цис-регуляторных элементов [5,7,8,10]. Регуляторные последовательности этого гена могут содержать как эволюционно консервативные мотивы, обеспечивающие базовые функции репродуктивной системы млекопитающих, так и видоспецифичные элементы, возникшие в ходе дивергенции линий приматов и грызунов [4]. Сравнительный анализ нуклеодитных последовательностей гена *AMH* у человека (Homo sapiens, hg39) и мыши (Mus musculus, mm39) позволяет выявить консервативные мотивы, ответственные за основные регуляторные функции, а также вариации, объясняющие различия в числе овуляторных фолликулов.

Цель настоящего исследования — Сравнение некодирующих регуляторных элементов гена AMH у человека и мыши: консервативные и видоспецифичные кандидаты, потенциально влияющие на число овуляторных фолликулов

Материалы и методы

Геномные последовательности человека и мыши были получены из UCSC Genome Browser (hg39 и mm39). Для каждого гена были определены координаты полных локусов, включая промоторные, интронные и возможные области энхансеров, чтобы охватить все потенциально функциональные некодирующие элементы генома. С использованием командной строки bedtools getfasta были извлечены полные нуклеотидные поседовательности гена AMH для человека и мыши. Для каждого гена были сформированы отдельные FASTA-файлы, которые затем объединялись для дальнейшего анализа. Выравнивание последовательностей проводилось с помощью MAFFT, что позволило выявить позиции полной консервации и локальные вариации в пределах регуляторных и кодирующих областей. Анализ консервативности и нуклеотидного состава учитывал степень консервативности оценивалась парной процентной идентичностью между последовательностями человека и мыши. Для локального анализа использовалось скользящее окно размером 100 нуклеотидов с шагом 50 нуклеотидов. Для каждого гена рассчитывался GC-состав каждой последовательности. Подряд идущие полностью консервативные участки длиной ≥ 6 нуклеотидов рассматривались как кандидаты на функциональные регуляторные элементы. Для выявления повторяющихся триплетов (3-mer) и потенциальных регуляторных мотивов проводился подсчёт частот всех 3-мерных последовательностей в каждой из изучаемых последовательностей (K-mer анализ). Все вычислительные процедуры и визуализация выполнялись с использованием Python3 и библиотек Biopython, Pandas, NumPy и Matplotlib**.**

Результаты исследований.

В таблице 1 представлены результаты выравнивания гена AMH у человека (chr19) и мыши (chr10). Нуклеотидная последовательность гена AMH (человек: chr19:2249323-2252073, длина 2751 bp; мышь: chr10:80641074-80643513, длина 2439 bp) показал общую длину выравнивания 2769 bp с 2421 сравнимой позицией, 1641 совпадением и 67.782% парной идентичности.

Таблица 1 Результаты выравнивании гена AMH у человека (chr19) и мыши (chr10)

Ген	Локусы	Длина выравнивания	Совпало	Число позиций выравнивания	Пропуски	Идентичность
AMH	chr19:22493233-2252073	2769	1641	2421	348	67.782
	chr10:80641074-80643513					

Сравнительный анализ нуклеотидного состава показал выраженные различия между последовательностями AMH у человека и мыши (рис. 1). При исключении позиций с пропусками выявлено, что человеческая последовательность характеризуется заметно более высоким содержанием нуклеотидов C и G. Такая повышенная GC-насыщенность обычно связана с увеличенной стабильностью двуцепочечной структуры ДНК, а также может коррелировать с особенностями транскрипционной активности и плотностью CpG-островков. Для функционально значимых генов, включая гормональные, высокая доля C/G нередко служит признаком поддерживающего отбора, направленного на сохранение консервативных регуляторных и структурных участков.

В противоположность этому, в мышиной последовательности доминируют нуклеотиды A и T, что приводит к более низкой общей GC-составляющей. Подобный сдвиг в сторону AT-богатых участков может отражать как видоспецифические особенности геномной архитектуры грызунов, так и различия в локальной мутационной среде. Известно, что геномы мышей в среднем более AT-насыщены по сравнению с человеческим геномом, что согласуется с выявленным распределением оснований в анализируемом фрагменте AMH. Более высокое содержание A и T также может быть следствием иной динамики репарации и репликации ДНК или различий в структуре некодирующих участков, соседствующих с геном.

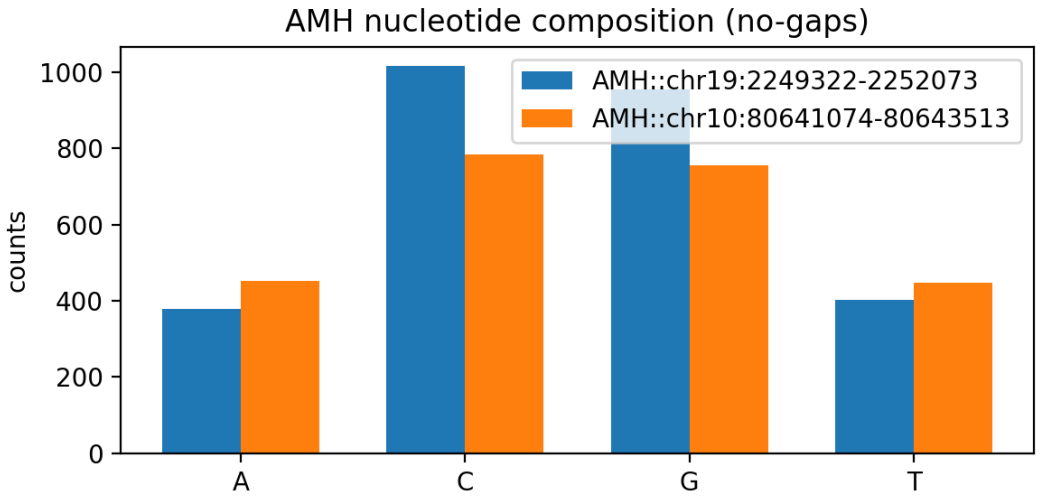

Рисунок 1. Нуклеотидный состав гена AMH

Кодирующие и ключевые регуляторные области демонстрируют высокую консервацию, в то время как интронные сегменты содержат значительное число вставок/делеций (348 пропусков). Выявлено 77 полностью консервативных участков длиной ≥ 6 bp (общая длина 767 bp), с преобладанием GC-богатых последовательностей в 5'- и 3'-областях.

Таблица 2.

Мотивы с наибольшей консервативностью (≥ 15 нуклеотидов) в генах AMH мыши и человека

Начало	Конец	Длина	Последовательность
2590	2628	38	GAGGAGCGCATCAGCGCGCACCACGTGCCCAACATGGT
2557	2589	32	GCCTACGCGGGCAAGCTGCTCATCAGCCTGTC
2171	2193	22	CCCCGCTGCTGGCGCGCCTGCT
2482	2502	20	AACCACGTGGTGCTGCTGCT
294	312	18	AGACCTGGCCACCTTCGG
1655	1673	18	CACGGCCAGCTGGACACC
2353	2370	17	TGCGCGCTGCGCGAGCT
2539	2556	17	CCCTGCTGCGTGCCCAC
2145	2160	15	CCTCCCGGGTCTGCC
2254	2269	15	AAGGCGCTGCAGGGC

Наиболее длинный мотив включает 38-нуклеотидную последовательность GAGGAGCGCATCAGCGCGCACCACGTGCCCAACATGGT (poz. 2590-2628). Короткие мотивы (6-12 bp) кластеризуются в промоторной области (poz. 56-375), указывая на сохранённые сайты транскрипционных факторов.

Таблица 3.

Мотивы с наименьшей консервативностью гена AMH мыши и человека

Начало	Конец	Длина	Последовательность
74	81	7	CTGAGGC
152	159	7	GCAGCCC
243	250	7	CTATGAG
313	320	7	GTCTGCA
418	425	7	GAAGGTA
1119	1126	7	AGGTCAC
1170	1177	7	GCATGGG
1403	1410	7	GCGGCTC
1620	1627	7	TGCTGCC
1632	1639	7	CCGAGCC
1679	1686	7	TTCCCGC
1692	1699	7	GGTGCGC
1870	1877	7	CTGCGGG
1934	1941	7	GCTTCCC
2056	2063	7	CTGCACG
2278	2285	7	GAGTGGC
2506	2513	7	ATGCAGG
2524	2531	7	GCCCTGG
141	147	6	CTGGCC
334	340	6	CAGGCT
1011	1017	6	CAGTGA
1042	1048	6	GTTCCA
1378	1384	6	GTGGAC
1506	1512	6	AGCCAG
1555	1561	6	GCTGCA
1585	1591	6	CCGCTG
1788	1794	6	TTCCAG
1824	1830	6	CAGCGC
1987	1993	6	CTCGAC

Сравнительный анализ структорно-функциональной организации генов показал, что наиболее консервативные участки расположены именно в кодирующих областях. Видимые различия между человеческой и мышиной некодирующими последовательностями AMH в выравнивании могут отражать видоспецифические особенности регуляции фолликулогенеза. У

человека и мыши существенно различается суммарный объём овариального резерва и динамика его расходования, эти физиологические отличия нередко сопровождаются различиями в генах, участвующих в контроле рекрутирования и созревания фолликулов. Поскольку АМН напрямую влияет на скорость активации фолликулов, различия в его нуклеотидной последовательности, в том числе в уровне консервативности отдельных участков, могут отражать адаптацию гормона к разному количеству фолликулов и различной скорости их созревания у изучаемых видов.

Таблица 4. Консервативные участки гена АМН, расположенные в некодирующих областях

Ген	Начало	Конец	Длина	Последовательность
АМН	418	425	7	GAAGGTA
АМН	942	951	9	GGACAGATC
АМН	1154	1164	10	CAGGTACCAG
АМН	1170	1177	7	GCATGGG
АМН	1444	1453	9	GGTAGGTCC
АМН	1506	1512	6	AGCCAG
АМН	1515	1526	11	CGTGCCCACCC
АМН	1692	1699	7	GGTGCGC

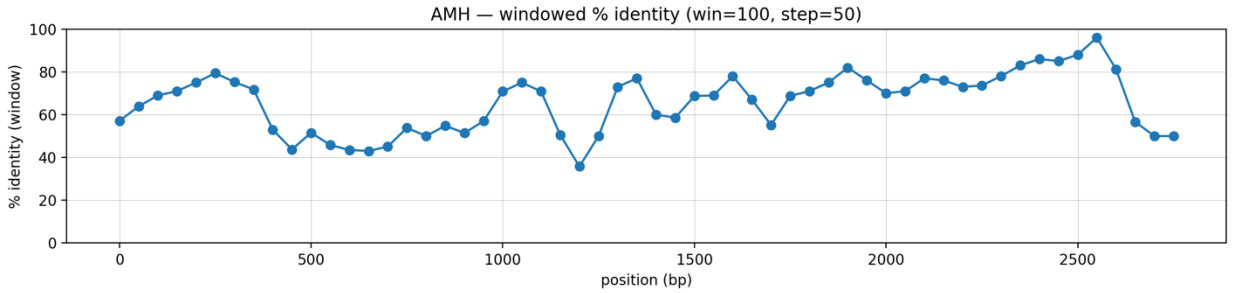

Рисунок 2. График скользящей консервации гена АМН и GC-состав

Скользящий анализ процентной идентичности (окно 100 п.н., шаг 50 п.н.) показывает, что уровень последовательного сходства между человеческим и мышиным АМН неоднороден по длине выровненного региона. В начальной части последовательности идентичность колеблется в диапазоне 55–80%, достигая локального максимума около 80% в области ~250–300 п.н. Центральная часть выравнивания характеризуется пониженной идентичностью, снижаясь до 40–45% в промежутке примерно 450–650 п.н., что указывает на наличие участков значительной дивергенции. Далее процент идентичности частично восстанавливается, достигая 70–80% в нескольких регионах, однако остаётся волнообразным и отражает чередование более

консервативных и более вариабельных доменов. Вблизи конца выровненного участка наблюдается повторное снижение идентичности, что может быть связано с структурными различиями, вставками или делениями, специфичными для одного из видов.

Такая картина соответствует типичному профилю эволюционно дивергировавших генов: наличие высоко-консервативных доменов (предположительно функционально значимых) перемежается с изменчивыми участками, в которых допустима большая степень нуклеотидных замен.

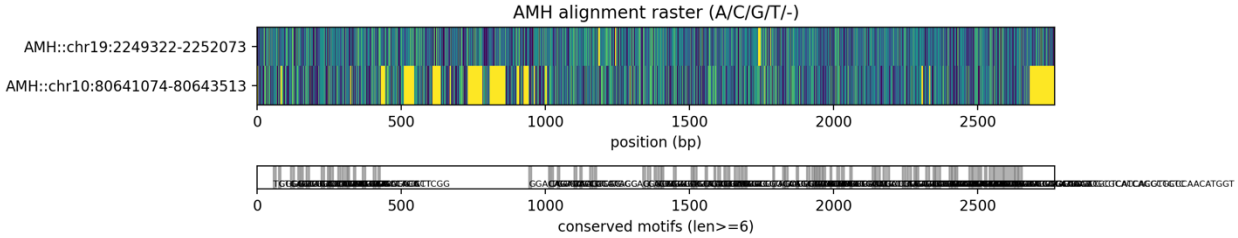

Рисунок 3. Карта мотивов гена АМН у мыши и человека.

Визуализация двух выровненных последовательностей АМН демонстрирует распределение совпадающих и различающихся нуклеотидов между человеком и мышью. Многочисленные разноцветные вертикальные колонки отражают участки расхождений, тогда как полосы более однородного окрашивания соответствуют зонам высокой консервации. В нескольких регионах, особенно в первой трети выравнивания, наблюдаются скопления вариабельных позиций, что согласуется с результатами скользящего анализа идентичности.

Под растровым изображением (рис.3) представлена карта консервативных мотивов, выделенных по критерию минимальной длины (len ≥ 6). Эти мотивы формируют дискретные блоки, распределённые вдоль последовательности, и их локализация в значительной степени коррелирует с областями повышенной идентичности, выявленными методом скользящего окна. Отдельные мотивы располагаются как в начале, так и в середине и конце гена, что указывает на наличие нескольких функционально значимых фрагментов, сохранённых в ходе эволюции обоих видов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ген АМН у человека и мыши демонстрирует выраженные нуклеотидные и структурные отличия, включая вариабельные участки с пониженной идентичностью, чередующиеся с консервативными доменами. Скользящий анализ идентичности выявил несколько регионов существенной дивергенции, а растровое выравнивание и карта мотивов подтвердили наличие протяжённых участков, в которых последовательности двух видов расходятся как по составу отдельных

нуклеотидов, так и по локальной структуре соответствующих элементов. Эти молекулярные различия хорошо согласуются с известными межвидовыми особенностями фолликулогенеза. У человека АМН играет ключевую роль в длительном и постепенном росте антральных фолликулов, а также в поддержании относительно продолжительного репродуктивного окна. У мыши же АМН участвует в регулировании гораздо более быстрого, циклического и динамичного фолликулогенеза, сопровождаемого более высокой скоростью рекрутирования и атрезии фолликулов. Выявленные различия в последовательности, особенно в регионах, соответствующих регуляторным или функциональным доменам гена, могут отражать адаптацию к этим разным режимам развития фолликулов.

Заключение

Таким образом, дивергентные участки гена АМН, характеризующиеся пониженной идентичностью и видоспецифическими мотивами, вероятно, способствуют формированию отличий в чувствительности фолликулов к АМН, скорости фолликулярного роста и особенностям контроля рекрутирования. Консервативные же домены обеспечивают сохранение базовой функции гормона как ингибитора ранних этапов фолликулогенеза. В совокупности эти данные указывают на то, что межвидовые вариации в последовательности АМН могут быть одним из молекулярных факторов, лежащих в основе различий в динамике и архитектуре фолликулогенеза у человека и мыши.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23–15-00464.

Список использованной литературы

1. Адамян Л.В., Сибирская Е.В., Пивазян Л.Г. и др. Современный взгляд на фолликулогенез и методы его активации. Эффективная фармакотерапия. 2025; 21 (20): 84–92. DOI 10.33978/2307-3586-2025-21-20-84-92. Эффективная фармакотерапия. 2025. Том 21. № 20. Акушерство и гинекология
2. Найдукова А.А., Каприна Е.К., Иванец Т.Ю., Чернуха Г.Е. Значение антимюллерова гормона в диагностике синдрома поликистозных яичников. Акушерство и гинекология. 2017; 1: 46-52.
3. Согоян Н.С., Козаченко И.Ф., Адамян Л.В. Роль АМГ в репродуктивной системе женщин (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2017;23(1):37 42.

4. Castresana J. Genes on human chromosome 19 show extreme divergence from the mouse orthologs and a high GC content. Nucleic Acids Res. 2002 Apr 15;30(8):1751-6. doi: 10.1093/nar/30.8.1751. PMID: 11937628; PMCID: PMC113201.
5. Dewailly D, Robin G, Peigne M, Decanter C, Pigny P, Catteau-Jonard S. Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary. Hum Reprod Update. 2016 Nov;22(6):709-724. doi: 10.1093/humupd/dmw027. Epub 2016 Aug 27. PMID: 27566840.
6. Didier Dewailly, Geoffroy Robin, Maëliss Peigne, Christine Decanter, Pascal Pigny, Sophie Catteau-Jonard, Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary, Human Reproduction Update, Volume 22, Issue 6, 20 November 2016, Pages 709–724, https://doi.org/10.1093/humupd/dmw027
7. Moolhuijsen LME, Visser JA. Anti-Müllerian hormone and ovarian reserve: update on assessing ovarian function. J Clin Endocrinol Metab 2020; 105 (11) 3361-3373
8. Nilsson E, Rogers N, Skinner MK. Actions of anti-Mullerian hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition. Reproduction. 2007 Aug;134(2):209-21. doi: 10.1530/REP-07–0119. PMID: 17660231; PMCID: PMC8260025.
9. Rosenfield R.L., Wroblewski K., Padmanabhan V., Littlejohn E., Mortensen M., Ehrmann D.A. Anti-Müllerian hormone levels are independently related to ovarian hyperandrogenism and polycystic ovaries. Fertil. Steril. 2012; 98(1): 242-9.
10. Skałba P, Cygal A, Dabkowska-Huć A. Wpływ hormonu anty-Mullerowskiego (AMH) na folikulogeneze [The influence of anti-Mullerian hormone on folliculogenesis]. Ginekol Pol. 2008 Feb;79(2):137-40. Polish. PMID: 18510094.

Статья поступила в редакцию 21 июля 2025 г.
Принята к печати 10 сентября 2025 г.
Received July 21, 2025
Accepted 10, September, 2025