

УДК 575.2

НОНСЕНС-МУТАЦИИ У ЭУКАРИОТ

Обзор

© 2022 Н.А. Потапова

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем передачи информации имени А.А. Харкевича Российской академии наук (ИППИ РАН), 127051 Москва, Россия;
электронная почта: nadezhdalpotapova@gmail.com*

Поступила в редакцию 12.01.2022

После доработки 14.02.2022

Принята к публикации 22.03.2022

Нонсенс-мутации представляют собой мутации, в результате которых появляется стоп-кодон. В то время как продолжает оставаться общепринятым рассмотрение этих мутаций как одних из самых вредных, приводящих к преждевременной терминации синтеза белка на рибосоме и, как следствие, к возникновению дефектного полипептида, накапливаются данные, согласно которым не все нонсенс-мутации вредны. Также существуют молекулярные механизмы, которые позволяют нивелировать потенциальное неблагоприятное воздействие данных мутаций. В представленном обзоре рассмотрены актуальные сведения о нонсенс-мутациях в геномах эукариот, характеристиках таковых мутаций и молекулярных механизмах предотвращения или смягчения их неблагоприятных эффектов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нонсенс-мутация, стоп-кодон, эукариоты, отрицательный отбор, положительный отбор.

DOI: 10.31857/S0320972522040042, EDN: AQHSSS

ВВЕДЕНИЕ

Нонсенс-мутации – это мутации, в результате которых появляется преждевременный стоп-кодон. Их ещё часто называют «преждевременными стоп-кодонами», «преждевременными терминирующими кодонами», а также они являются подмножеством мутаций, называемых «нуль-мутациями» или «нуль-аллелями». Последние из указанных названий были определены ещё в XX веке, когда при проведении электрофоретических исследований белки, кодируемые генами, в которых произошла нонсенс-мутация, практически никогда не обнаруживались.

В норме стоп-кодон обозначает конец транскрипта и именно на нём останавливается трансляция белка. Если в результате нонсенс-мутации появляется преждевременный стоп-кодон, то трансляция преждевременно останавливается уже на нём, и в результате получается укороченный полипептид. Влияние нонсенс-мутации на фенотип может быть совершенно разным, в зависимости от множества характеристик, рассмотренных далее в данном обзоре. Существуют молекулярные механизмы, способствующие деградации транскриптов генов с нонсенс-мутацией и не допускающие её трансляцию. В настоящем обзоре обсуждаются дан-

ные молекулярные механизмы, а также характеристики нонсенс-мутаций, благодаря которым возможно избежать проявления мутаций в фенотипе. Стоит отметить, что и механизмы, и характеристики взаимосвязаны друг с другом в своём влиянии, и можно наблюдать, когда нонсенс-мутация не критична для организма, потому что срабатывает сразу несколько молекулярных «защит». Далее в обзоре будут рассмотрены конкретные примеры их сочетанного функционирования.

Нонсенс-мутации и их влияние на фенотип организма наиболее хорошо изучены для человека и модельных организмов (например, мыши, плодовой мушки), а также животных и растений, используемых в сельском хозяйстве. Поэтому в данном обзоре будут рассмотрены преимущественно примеры для перечисленных организмов, но, при наличии информации для других, она тоже будет представлена.

СТОП-КОДОНЫ У РАЗНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ЭУКАРИОТ

При анализе нонсенс-мутаций необходимо знать генетический код исследуемых организмов. Причина этому заключается в том, что, несмотря на высокую схожесть генетического

кода между представителями разных таксонов, некоторые его вариации всё-таки обнаруживаются, в том числе и для стоп-кодона, а соответственно, и того, что может считаться нонсенс-мутациями. Но, в отличие от прокариот, у которых эта вариация достаточно заметна [1, 2], у эукариот она слабее.

Например, известно, что кодоны UAA, UAG и UGA являются стоп-кодонами у человека и всех позвоночных; кодоны UAA и UAG кодируют глутамин у некоторых представителей амёб (рода *Tetrahymena*, *Paramecium*, *Stylonicia*, *Oxytricus*) [3, 4], диплоноад (например, *Hexamita inflata*) [5] и оксимонад [6]. Это было показано и для кодона UAA у кругоресничных инфузорий *Vorticella microstoma*, *Optiisthonica henneguyi* и *O. matiensis*. У некоторых трипаносом можно наблюдать некоторый смешанный, либо переходный, вариант, когда кодоны UAA и UAG способны кодировать и глутамин, и глутаминовую кислоту, и непосредственно стоп-кодон, а UGA кодирует триптофан [7]. Встречается похожее явление и у представителей царства Растений: например, у представителей зелёных водорослей, в том числе *Acetabularia*, кодоны UAA и UAG кодируют глутамин [8, 9]. Причины того, почему чаще всего стоп-кодон начинает кодировать глутамин, обсуждаются в работе [5]. С другими примерами можно ознакомиться в статьях [10–14]. Исходя из перечисленных примеров, становится понятно, насколько важно при анализе нонсенс-мутаций учитывать генетический код изучаемого организма, а также насколько генетический код, касательно стоп-кодонов, может отличаться внутри группы эукариот.

ЧИСЛО НОНСЕНС-МУТАЦИЙ В ГЕНОМАХ ЭУКАРИОТ

Как показывают исследования, в геномах, а точнее, в кодирующих генах, может содержаться разное число нонсенс-мутаций. Зависит это от множества характеристик вида: и размера генома, и размера кодирующей части генома, и истории вида, и его популяционной структуры, и размера популяции [15], и того, живут ли организмы, геномы которых были секвенированы, в природных, либо лабораторных условиях [16], и некоторых других характеристик.

Имеются сведения о среднем числе нонсенс-мутаций в геномах различных видов, подсчитанные на популяционных выборках. Например, у одного человека в генах в среднем имеются 21–27 нонсенс-мутаций [15, 17, 18], у бонобо *Pan paniscus* – примерно 40 нонсенс-мутаций, у восточного шимпанзе *Pan troglodytes schweini*

furthii – 23, у гориллы *Gorilla gorilla gorilla* – 59, а у калимантанского орангутана *Pongo pygmaeus* – 26 нонсенс-мутаций [15]. Геном свиньи *Sus scrofa* содержит около 30 нонсенс-мутаций [19], геном водоросли хламидомонады *Chlamydomonas reinhardtii* – в среднем около 100 нонсенс-мутаций [16], у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, в зависимости от того, находится ли популяция на африканском континенте или североамериканском, 35 и 18 нонсенс-мутаций соответственно [20, 21], а каждое растение *Arabidopsis thaliana* в среднем несёт 215 нонсенс-мутаций [22]. Важным уточнением будет отметить, что один ген может нести несколько нонсенс-мутаций, поэтому не всегда число нонсенс-мутаций является равным числу затронутых генов. Подробный актуальный список числа различных мутаций, в том числе нонсенс-мутаций, в популяциях живых организмов представлен в работе [23].

Указанные числа нонсенс-мутаций поднимают логичный вопрос о том, насколько данные мутации оказывают влияние на фенотип организма. Далее в данном обзоре будет рассмотрено, почему не все из нонсенс-мутаций, присутствующих в геноме, проявляются в фенотипе и какие причины лежат в основе этого.

НОНСЕНС-МУТАЦИИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ФЕНОТИПЫ

Нонсенс-мутации относятся к так называемым мутациям потери функции (LoF, loss-of-function mutations или loss-of-function variants). Кроме нонсенс-мутаций, к ним относятся инсерции и делеции, нарушающие рамку считывания; мутации в сайтах сплайсинга, а также более крупные мутации, которые удаляют более половины гена или влияют на первый экзон [16, 24]. Преждевременные стоп-кодоны могут появляться преимущественно в результате следующих мутаций: это может быть однонуклеотидная замена; делеция или инсерция, длина которой не кратна трём и, соответственно, приводящая к сдвигу рамки считывания и потенциальному появлению преждевременных стоп-кодонов; а также мутация в сайте сплайсинга, влияющая на интрон-экзонные границы.

Нонсенс-мутации могут по-разному влиять на проявление признаков и, в том числе, на развитие заболеваний. По подсчётам авторов работы [25], данные мутации у человека составляют примерно 20% от всех однонуклеотидных замен в кодирующих генах, которые связаны с развитием того или иного заболевания, и примерно 10% от мутаций, вызывающих моногенные за-

болевания. В работе [26] самыми вредными мутациями были показаны нонсенс-мутации, затем мутации в сайтах сплайсинга (48% от силы отрицательного отбора, воздействующего на нонсенс-мутации), потеря терминирующего кодона, в результате которой происходит удлинение белка (21% от силы отрицательного отбора, воздействующего на нонсенс-мутации), а также миссенс-мутации, при которых происходят замены на аминокислоту, кардинально отличающуюся по свойствам от исходной (12% от силы отрицательного отбора, воздействующего на нонсенс-мутации).

По частоте в популяции аллеля, который несёт нонсенс-мутацию, можно судить о вредности данной мутации. Как было показано на множестве вредных мутаций в исследовании [27], они встречаются в популяциях людей преимущественно с частотой, равной или меньшей 0,01, и лишь небольшая часть мутаций может наблюдаться с частотой между 0,01 и 0,05. Это является последствием воздействия отрицательного отбора и, например, для плодовой мушки *D. melanogaster* было показано его сильное воздействие на аллели с нонсенс-мутациями [28]. Если наблюдаемая частота мутаций выше, то можно предположить о потенциальном нейтральном или даже адаптивном воздействии этих мутаций на организм, когда на такие аллели воздействует положительный отбор (см. в подразделе «Адаптивные нонсенс-мутации»). При этом важно заметить, что такие случаи не являются частыми.

Тем не менее важно иметь в виду, что эффект данных мутаций на фенотип зависит от множества характеристик самой мутации, например, расположения в гене, уровня экспрессии этого гена в тканях, частоты использования экзона с нонсенс-мутацией в альтернативно сплайсируемых изоформах, и других причин (подробнее см. в разделе «Характеристики нонсенс-мутаций, влияющие на их патогенность»). Поэтому данные мутации могут быть как летальными, так и проявляться в фенотипе как, по всей вероятности, безвредный признак, например, влиять на цвет плодов или окраску перьев (см. примеры подробнее в подразделе «Вредные и нейтральные нонсенс-мутации»). Кроме этого, данные мутации могут быть адаптивными (см. в подразделе «Адаптивные нонсенс-мутации») и даже не проявляться в фенотипе каким-либо отклонением от нормы реакции – именно поэтому можно наблюдать у организмов десятки и даже сотни нонсенс-мутаций (см. в разделе «Число нонсенс-мутаций в геномах эукариот»).

Вредные и нейтральные нонсенс-мутации. Информация о нонсенс-мутациях, которые влияют

на развитие заболеваний человека, обычно появляется из публикуемых статей с описаниями клинических случаев. Так, было показано, что именно нонсенс-мутация в гене *GDF2*, кодирующем костный морфогенетический белок BMP9, была причиной развития у пациента системной красной волчанки [29]. Нонсенс-мутация в гене *PRNP*, судя по результатам секвенирования экзотов, связана с развитием болезни Альцгеймера [30]. Также была описана нонсенс-мутация в гене *TITF1*, которую обнаружили у семьи с доброкачественной семейной хореей [31], существуют и многие другие сходные по масштабу последствий примеры. Известны случаи, когда преждевременный стоп-кодон влияет на признак, но менее кардинально – например, нонсенс-мутация в гене *PAX9* оказалась причиной олигодонтии [32]. Есть данные для пациентов с синдромом удлиненного интервала QT 1 типа, который вызывается мутациями в гене *KCNQ1*, кодирующем ключевую субъединицу калиевого канала. Для исследованных пациентов было показано, что нонсенс-мутации могут быть менее вредными, чем мутации рамки считывания и миссенс-мутации [33], что, по всей видимости, является редким исключением из правила [26, 34]. Авторы данного исследования предполагают, что полипептид с нонсенс-мутацией всё равно остаётся функциональным, хоть и укороченным. В то же время белки с миссенс-мутациями и мутациями сдвига рамки считывания, согласно предположению авторов, функционируют сильно иначе из-за изменения структуры белка, которое отрицательно сказывается на работе калиевого канала.

Мутации, укорачивающие белок (PTV, protein truncating variants), среди которых главное место занимают нонсенс-мутации, изучаются не только на индивидуальных случаях, но и на целых популяциях, например, на данных почти 340 тысяч людей из базы UK Biobank [35], а также популяционных данных жителей Китая [36]. Следует заметить, что в обоих исследованиях некоторые из таких мутаций находились на высокой частоте в популяции, что означает их нейтральное или даже положительное влияние (подробнее см. в подразделе «Адаптивные нонсенс-мутации»). Так, в исследовании [36] в общей выборке из 8720 мутаций в 1320 генах было обнаружено всего 18 потенциально адаптивных мутаций в 14 генах [37].

Для того чтобы более детально изучить эффекты нонсенс-мутаций и найти потенциальные лекарства, которые могут помочь при вызванных ими заболеваниях, преимущественно используются исследования на клеточных культурах (например, [38]) и модельных организмах

(например, [39–41]), в том числе с применением метода CRISPR/Cas9 (например, [42]).

Сведения о влиянии нонсенс-мутаций на фенотип описаны и для других живых организмов — по большей части это модельные организмы и виды, используемые в сельском хозяйстве. Данная информация важна для более грамотной селекции, для понимания причин генетических заболеваний, причин ранней смертности животных и др.

Например, известны случаи, когда нонсенс-мутации являются летальными или влияют на фертильность и размер помёта у свиней [43, 44]; у крупного рогатого скота нонсенс-мутации приводят к снижению фертильности, самопроизвольным абортam [45], а также являются причиной рецессивно наследуемого заболевания, связанного с экспрессией дефектного тиреоглобулина, несущего нонсенс-мутацию в гене *Tg* [46]. Есть примеры, когда у линии кур с отсутствующим оперением, описанной ещё в 1950-х годах и активно используемой в качестве модельного объекта при изучении формирования перьев, удалось обнаружить ген *FGF20*, влияющий на отсутствие оперения и, более того, определить нонсенс-мутацию, которая и является причиной этого [47]. Известны примеры и схожих фенотипов при мутации в одном и том же гене, примерно в одном и том же домене, у разных видов. Так, именно нонсенс-мутация в гене *TYR*, кодирующем тирозинкиназу, была причиной развития кожного альбинизма у одной из пород азиатского буйвола *Bubalus arnee* [48]. Сходная по последствиям инсерция длиной 5 нуклеотидов в том же гене была обнаружена ранее у людей с альбинизмом [49].

При исследовании джерсейской породы коров было показано, что нонсенс-мутация в гене *SWC15* играет роль в снижении выживаемости [45]. Этот ген экспрессируется в 87 тканях коров, из чего можно заключить, что кодируемый им белок — жизненно важный для организма. Кроме того, ни одного организма из 749 изученных, который бы обладал двумя копиями дефектного аллеля, не было обнаружено. Вследствие мутации вместо белка длиной в 231 аминокислотный остаток в процессе трансляции получается полипептид длиной всего в 54 аминокислотных остатка, в котором отсутствует консервативный домен Swf_Cwc_15 (pfam04889).

Существуют и примеры, где преждевременные стоп-кодons оказывают не столь масштабное воздействие на организм, но по своей сути остаются мутациями потери функции. В таком случае сила отрицательного отбора, который на данные мутации воздействует, слабее, чем в предыдущих примерах. Например, плоды жёлтой

малины имеют таковой цвет вследствие инсерции длиной 5 нуклеотидов в гене *Ans*, кодирующем антоцианидин синтазу [50]. Данная мутация вызывает сдвиг рамки считывания и появление преждевременного стоп-кодона.

Другой пример — нонсенс-мутация в гене *PMEL*, кодирующем белок, необходимый для морфогенеза меланосом, у него, или японского, перепела *Coturnix japonica*, по всей видимости, влияет на окраску перьев — она изменяется с коричневой на жёлтую [51]. Имеются сведения и о том, что нонсенс-мутация всего в одном гене способна влиять и на уменьшение размера зерна у риса *Oryza glaberrima* Steud. [52], и на потерю запаха цветков у растений рода Петунья [53], и на продолжительность жизни у нематоды *Caenorhabditis elegans* [54].

По всей видимости, некоторые из изученных в работе [55] нонсенс-мутаций генов мушки *D. pseudoobscura* тоже являются нейтральными, либо же их вредный эффект сильно снижается благодаря альтернативному сплайсингу, в результате чего не все изоформы содержат экзон с мутацией, а кроме того, его могут включать в себя только редко используемые изоформы (см. подробнее в подразделе «Включение экзона с нонсенс-мутацией в альтернативно сплайсируемые изоформы»).

В научных публикациях описано множество других примеров для различных видов, но тезис, что нонсенс-мутация может быть как летальной, так и некритичной для развития признака и даже практически не влиять на фенотип (такие случаи обычно не описываются ввиду отсутствия проявления мутации в фенотипе, см. раздел «Вредные и нейтральные нонсенс-мутации»), для них тоже сохраняется.

Адаптивные нонсенс-мутации. Описаны случаи, когда нонсенс-мутации в генах являлись адаптивными [56–61]. Получается, что в данных случаях поломка гена и отсутствие транслируемого белка помогают организму лучше приспособиться к условиям среды, а потому мутация фиксируется в популяции и не элиминируется под действием отрицательного отбора. Данная точка зрения называется «меньше значит больше» («less is more»), когда мутация потери функции является адаптивной, подробнее об этом можно прочитать в оригинальной работе [62]. Такие случаи не распространены, гораздо больше описанных примеров, когда нонсенс-мутация вызывает развитие заболевания или изменение признака. Кроме того, такие аллели могут находиться на довольно высокой по сравнению с наблюдаемой для вредных мутаций частоте [27], потому что работают механизмы, позволяющие снизить отрицательное влияние нонсенс-мута-

ций на организм (см. подробнее «Характеристики нонсенс-мутаций, влияющие на их патогенность» и «Механизмы, позволяющие нивелировать патогенный эффект нонсенс-мутаций»).

Например, частота аллеля гена *ACTN3* с нонсенс-мутацией в европейской популяции составляет около 0,5 [63], кроме того, было показано недавнее воздействие на него положительного отбора [56]. Моделирование этой мутации в гомозиготном состоянии у мышей [56], которые были нокаутными по гену *ACTN3*, показало, что нонсенс-мутация изменяет метаболизм в мышцах, при котором начинает превалировать медленный, но эффективный, аэробный путь синтеза АТФ. Кроме того, имеются исследования, где было показано, что у атлетов, которые занимаются теми видами спорта, в которых необходима выносливость, чаще в гомозиготном состоянии встречается вариант этого гена с нонсенс-мутацией [64]. В связи с этим было высказано предположение [56], что для некоторых популяций, как минимум европейцев и популяций восточноазиатского региона, этот вариант действительно является адаптивным.

Похожая история, связанная с положительным отбором, была отмечена и для варианта гена *CASP12*, несущего нонсенс-мутацию [58]. Этот ген связан с силой иммунного ответа через продукцию цитокинов, а аллель без нонсенс-мутации может привести к потенциальным рискам развития сепсиса и сверхактивации иммунного ответа. Авторы предполагают, что неактивная форма гена возникла в Африке примерно 100–500 тыс. лет назад и изначально была нейтральной или почти нейтральной. Примерно 60–100 тыс. лет назад на неё начал действовать положительный отбор, в результате чего сейчас этот аллель преобладает в популяциях человека. Подобная адаптивная потеря функции известна ещё для двух паралогов *MBL1* [64], как и *CASP12* [58, 65], связанных с рисками развития сепсиса. По всей видимости, положительный отбор в данном случае может быть обусловлен изменениями в окружающей среде, повлиявшими на риски развития сепсиса и его последствий.

Имеются сведения о том, что мутации потери функции, включая нонсенс-мутации, в гене *SLC30A8*, который кодирует цинковый транспортер ZnT8, снижают риск развития диабета второго типа [60, 61]. А нонсенс-мутации в гене *RDO5* у растения *A. thaliana* приводили к тому, что у семян уменьшался период покоя, что в некоторых регионах является адаптивным преимуществом [66]. Похожее наблюдение, связанное с преимуществом гетерозиготных особей, было сделано и для свиней, у которых один из аллелей гена *MSTN* несёт в себе нонсенс-мутацию [67].

В некоторых генах нонсенс-мутация может находиться на популяционной частоте выше ожидаемой для вредных мутаций [27], но предположить какое-либо функциональное объяснение, почему так произошло, не удаётся. Например, для варианта гена *CD36* с данной мутацией, который у некоторых африканских народов достигает частоты около 0,3, были показаны признаки действующего на него положительного отбора. Тем не менее функциональная связь этого варианта гена с защитой организма от малярии находится под вопросом [59]. Тому может быть ряд причин — не до конца изученная функция белка, кодируемого данным геном; возможно, что на самом деле в этом гене наблюдается след положительного отбора, действующего на соседний ген (так называемый «генетический автостоп», genetic hitchhiking), либо другие причины.

С другими примерами мутаций потери функции, в том числе нонсенс-мутациями, которые являются адаптивными, можно ознакомиться в обзоре [23].

Базы данных, хранящие сведения об эффекте нонсенс-мутаций. Информация о влиянии нонсенс-мутаций в конкретном гене на признаки организма полезна и необходима в прикладных целях, например, в скрининге и определении рисков развития того или иного заболевания; в определении генетической причины уже имеющегося заболевания; в понимании того, как мутации в генах влияют на организм, на котором моделируют заболевание человека; для животных и растений эта информация может быть также важна для селекции. Существуют базы данных, в которых агрегируются сведения, полученные из научных исследований, о влиянии различных мутаций в генах на признаки. Ввиду того, что лучше всего изучено проявление мутаций в фенотипе человека, модельных объектов и важных в сельском хозяйстве и животноводстве видов, информации о них имеется больше. Перечислим некоторые базы данных для человека: NCBI ClinVar [68], а также сведения в других базах NCBI (например, NCBI dbVar, NCBI dbSNP и NCBI Gene), gnomAD [69], HGMD [70], COSMIC [71], OMIM [72], LOVD [73]. Существуют похожие удобно организованные для работы базы данных и для других видов, например, для мышей [74], коров [75] и арабидопсиса [76].

РОЛЬ НОНСЕНС-МУТАЦИЙ В ЭВОЛЮЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ

Отдельно стоит рассмотреть и то, что происходит с последовательностью гена, в котором

случилась не критичная для организма нонсенс-мутация. В случае, если она критична, организмы будут элиминироваться под действием отрицательного отбора, и практически ничего о мутантном гене не получится узнать по причине его крайней редкости или вообще отсутствия в популяции. В случае некритичного влияния мутантного гена на приспособленность организмов можно наблюдать за тем, как иначе эволюционирует ген в связи с изменением действия естественного отбора на его последовательность.

Нонсенс-мутации использовались и продолжают использоваться как один из идентификаторов псевдогенов – генов, которые вследствие мутации перестали кодировать функциональный белок [77]. Кстати, именно в этой классической работе под названием «Pseudogenes as a paradigm of neutral evolution» уже указывается на то, что данные мутации являются псевдогенизирующими. Так как нонсенс-мутация делает ген нефункциональным, то на него перестаёт воздействовать отбор – скорость накопления миссенс-мутаций становится равна таковой для синонимичных мутаций. Это означает, что псевдоген эволюционирует нейтрально, то есть – согласно нейтральной теории эволюции [77]. Данному наблюдению есть целый ряд описанных доказательных примеров (например, [78–80]).

Тем не менее накапливаются доказательства того, что нонсенс-мутация не обязательно ведёт к псевдогенизации гена, то есть к одинаковой скорости накопления миссенс-мутаций и синонимичных (например, [81, 82]).

Например, если рассматривать гены плодовой мушки *D. melanogaster*, состоящие из одного экзона, то нонсенс-мутация, судя по всему, действительно является псевдогенизирующей [81]. С другой стороны, согласно аннотации генома [83], у плодовой мушки преобладают гены, содержащие в себе несколько экзонов: в количестве двух и более. И для таких генов оказывается, что в экзоне с нонсенс-мутацией отрицательный отбор настолько ослаблен, что можно предположить нейтральную эволюцию данного экзона. Но в соседних экзонах его действие уже становится сильнее. То есть можно предположить, что псевдогенизирующее воздействие нонсенс-мутации ограничивается всего лишь одним экзоном. В подтверждение этому можно привести факт, что изоформы с экзонами, в которых были обнаружены нонсенс-мутации, более чем в половину реже экспрессируются, чем изоформы, не включающие таковые экзоны.

Другим объяснением потенциально может быть рекомбинация. Здесь в простом случае нонсенс-мутация воздействует псевдогенизиру-

юще на весь ген и все экзоны, но наблюдаемый эффект изменения силы отбора в экзонах является последствием рекомбинации с геномами дрозофил, у которых нонсенс-мутации в данном гене нет. Соответственно, из-за рекомбинации фрагменты генома, которые не накопили в себе мутаций, произошедших вследствие псевдогенизации из-за нонсенс-мутации, оказываются среди фрагментов гена, которые уже успели накопить мутации. Данное объяснение имеет место быть, но не объясняет факта сильно ослабленного воздействия отрицательного отбора именно на экзон с нонсенс-мутацией.

Таким образом, концепция того, что нонсенс-мутации являются псевдогенизирующими, не распространяется на всё множество нонсенс-мутаций, и существуют альтернативные примеры. Далее в данном обзоре будут обсуждаться характеристики нонсенс-мутаций и механизмы, которые, в том числе, позволяют аллелям с нонсенс-мутациями избежать участи стать псевдогенами.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НОНСЕНС-МУТАЦИЙ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ИХ ПАТОГЕННОСТЬ

Расположение нонсенс-мутаций по длине гена.

При рассмотрении распределения частоты нонсенс-мутаций внутри генов отмечается два факта: преобладание данных мутаций в самом начале транскрипта, в первых 2–3 кодонах, и в самом конце транскрипта, особенно в предпоследнем кодоне, который предшествует настоящему стоп-кодону [16, 28, 34, 81, 84]. Данный факт объясняется довольно просто – если нонсенс-мутация локализована в самом начале, то ближайший метионин (кодон AUG) будет играть роль старт-кодона (см. рис. 2 в [85]) и, в случае если он находится близко к настоящему старт-кодону и важные белковые домены в белке не затронуты данной мутацией, то её можно считать безвредной. Если же нонсенс-мутация расположена в самом конце, перед терминирующим стоп-кодоном, то она не будет играть никакой роли, потому как в белковой последовательности окажется на один аминокислотный остаток меньше, что, исходя из наблюдаемых для разных организмов (человек, шимпанзе, плодовая мушка) распределений частот нонсенс-мутаций [28, 34, 81, 84], не повлияет на функцию белка. К тому же преобладание этих мутаций говорит и о том, что возле 5'- и 3'-концов гена воздействие отрицательного отбора на них ослаблено. Это предположение было подтверждено для гена *DMD* у человека, для которого показали, что нонсенс-мутации, расположен-

ные у концов гена, несли более мягкие последствия для фенотипа [86]. Важно заметить, что расположение нонсенс-мутаций возле 3'-конца гена касается только нескольких самых последних кодонов. В случае если мутация располагается в последнем экзоне, она чаще всего проявляется в фенотипе, потому как транскрипт не может быть деградирован системой NMD (см. в разделе «Механизмы, позволяющие нивелировать патогенный эффект нонсенс-мутаций»).

Включение экзона с нонсенс-мутацией в альтернативно сплайсируемые изоформы. Другим из возможных вариантов сглаживания эффекта данных мутаций является их влияние не на все изоформы [87]. В данном случае в общем приближении это можно рассматривать следующим образом: нонсенс-мутации, которые находятся в важных и часто включаемых в изоформы экзонах, вредны, и организмы с ними обладают низкой приспособленностью и подвергаются отрицательному отбору. С другой стороны, нонсенс-мутации в редко используемых экзонах не так существенно сказываются на фенотипе и не находятся под действием сильного отрицательного отбора. Именно поэтому мы их наблюдаем в живых организмах. Например, было показано, что у *D. pseudoobscura* некоторые нонсенс-мутации не приносят вреда организму благодаря механизму альтернативного сплайсинга [55]. Похожая идея включения не во все изоформы экзона с нонсенс-мутацией обсуждалась и была показана на данных в нескольких работах на *D. melanogaster* (например, [28, 81]), а также для шимпанзе [84].

Гаплонедостаточность гена с нонсенс-мутацией. Важную роль играет и способность, либо отсутствие таковой, организма нормально функционировать при наличии всего одного варианта аллеля без нонсенс-мутации. Например, для β -талассемии было показано, что нонсенс-мутации в первом и втором экзоне в аллеле гена, кодирующего β -глобин, даже при наличии второго аллеля без таковой мутации всё равно будут приводить к развитию заболевания вследствие гаплонедостаточности [88]. Существует множество похожих примеров и для других генов человека, среди них, например, мутации в генах *WDR26* [89] и *NFKB2* [90].

Уровень экспрессии гена с нонсенс-мутацией в различных тканях и на разных этапах развития организма. Из-за того, что нонсенс-мутации преимущественно отрицательно влияют на приспособленность организма, можно было бы ожидать, что гены, в которых они произошли и в которых они наблюдаются у живых существ, не будут критически жизненно важными, не будут экспрессироваться на ранних этапах эмбрио-

генеза и не будут экспрессироваться во всех тканях. К таким выводам приходили при изучении экспрессии генов с нонсенс-мутациями на плодовых мушках [45, 55]. В данных наблюдениях исследователи исходят обычно из следующей логики — если бы гены экспрессировались во всех или почти всех тканях, то эффект от нонсенс-мутации был бы сильнее и, соответственно, такие организмы обладали бы низкой приспособленностью и изымались бы под действием отрицательного отбора ещё на стадии эмбриона или в раннем возрасте [45].

Данное ожидание является логичным, но в значительной степени обобщающим, потому как экспрессия во всех тканях не обязательно связана с важностью функции гена, есть гены, экспрессирующиеся во всех тканях и не жизненно важные. А есть те, которые экспрессируются в конкретной ткани в определённый момент времени и являются важными. Например, известны гены, которые вызывают раннюю смерть эмбрионов и экспрессируются специфично в сердце [91]. Кроме того, важны и различные характеристики гена, например, возможности компенсации его функции в случае мутации в одном или обоих аллелях, и другие.

Некоторые из описанных общих предположений оказались верны — у мушек *D. pseudoobscura* гены, в которых содержатся нонсенс-мутации, преимущественно экспрессируются не во всех тканях [55]. Другое наблюдение было сделано на данных *D. melanogaster*, для которой было показано, что гены, несущие нонсенс-мутации, реже экспрессируются и, как заявляют авторы исследования, вовлечены в менее важные биологические функции [28]. Реже экспрессируются не только гены, несущие нонсенс-мутации у отдельного изучаемого вида, но это наблюдение распространяется и на ортологичные гены — это было проверено и показано для *D. pseudoobscura* и *D. melanogaster* [55], что даёт возможность ожидать наличие некоторых «кластеров» генов, в которых будут обнаружены нонсенс-мутации у близких видов.

Перечисленные выше примеры описывают основные характеристики, влияющие на патогенность нонсенс-мутаций, тем не менее существуют и иные, например, наличие паралогов и сходных по функциям генов, потенциально способных при определённых обстоятельствах дублировать ген с нонсенс-мутацией [92]; полиплоидия, также потенциально позволяющая в некоторых случаях «подменять» аллель с нонсенс-мутацией; «устойчивость» кодонов к мутации в стоп-кодонах, когда превращение кодона в стоп-кодон за один шаг, то есть одну мутацию, невозможно [93, 94], и некоторые другие.

МЕХАНИЗМЫ, ПОЗВОЛЯЮЩИЕ НИВЕЛИРОВАТЬ ПАТОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ НОНСЕНС-МУТАЦИЙ

Несмотря на то что нонсенс-мутации присутствуют в генах живых организмов и есть гены, оба аллеля которых несут такие мутации, не всегда наблюдается их отрицательное влияние на фенотип. Тому есть множество причин, некоторые из которых уже были перечислены в данном обзоре в разделе «Характеристики нонсенс-мутаций, влияющие на их патогенность». Тем не менее существуют более глобальные молекулярные механизмы, которые позволяют нивелировать патогенный эффект аллелей с нонсенс-мутациями, которые *a priori* являются патогенными. В данном разделе перечислены молекулярные механизмы, которые наиболее хорошо изучены. Тем не менее есть вероятность, что не все возможные пути избежать патогенного воздействия нонсенс-мутации наблюдались, и некоторые ещё предстоит обнаружить и изучить.

Генетическая компенсация. Не так давно был обнаружен механизм генетической компенсации (genetic compensation response, GCR), который позволяет восполнять отсутствие транслируемого белка с гена, в котором произошла нонсенс-мутация, и является эволюционно консервативным для многоклеточных [95]. Для запуска механизма генетической компенсации необходимо наличие в клетке мРНК гена с нонсенс-мутацией. Генетическую компенсацию могут выполнять гены того же семейства, что и мутантный ген [96, 97], при этом их нуклеотидные последовательности должны быть схожи с мутантным геном. В результате экспрессии данных генов-компенсаторов повышается, и в фенотипе организма не проявляется ожидаемый эффект от нонсенс-мутации.

Данный механизм активно изучается и высказываются предположения, что генетическая компенсация может быть использована в лечении заболеваний, вызываемых нонсенс-мутациями [96]. Подробнее о данном явлении можно прочитать в обзорах [95, 97, 98]. Генетическая компенсация тесно связана с нонсенс-опосредованным распадом мРНК, который будет обсуждаться далее.

Дегградация мРНК, содержащей нонсенс-мутацию. Нонсенс-опосредованный распад мРНК (nonsense-mediated mRNA decay, NMD) – процесс, при котором транскрипты, содержащие в себе нонсенс-мутацию, подвергаются дегградации и, следовательно, не транслируются, и дефектный полипептид в клетке не присутствует. Этот важный процесс известен для всех изученных эукариотических организмов [99], в том

числе и растений [100]. Мутации в генах, которые кодируют белки, необходимые для работы NMD, у дрожжей и нематод не важны для жизни, но для плодовых мушек, мыши, рыбы данио-рерио таковые мутации летальны [100]. Подробно о NMD рассказано в обзорах, посвященных самому процессу [99, 101–103], его взаимосвязи с проявлением заболеваний у человека [104–106], а NMD и некоторые другие схожие механизмы (nonsense-associated alternative splicing – нонсенс-ассоциированный альтернативный сплайсинг, nonsense-mediated translational repression – нонсенс-опосредованная трансляционная репрессия, nonsense-mediated transcriptional gene silencing – нонсенс-опосредованное подавление экспрессии генов) рассмотрены в обзоре [107].

Насчёт эффективности NMD у человека сведения отличаются: так, известно, что либо около 10% [103], либо до 25% [108] или до 50% [34] транскриптов, содержащих нонсенс-мутации, подвергается данному процессу. Для дрожжей *S. cerevisiae* тоже были указаны значения примерно 10–15% [109]. Для *A. thaliana* были получены примерно похожие значения – 13% от числа генов, содержащих интроны (необходимые для функционирования NMD) [110].

Как было показано в работе [34], где авторы проанализировали все известные полиморфизмы в кодирующих генах человека, чаще всего подвергаются дегградации через NMD транскрипты мутантных генов, участвующих в фосфорилировании, взаимодействии между клетками, передаче сигнала и транспорте. Для мутантных генов, которые были рассмотрены как не попадающие под NMD, подобного смещения относительно участия в молекулярных процессах не было отмечено. Авторы предполагают, что видимо, для организма менее вредно совсем не иметь таковых белков, чем иметь укороченные их варианты, способные в данном случае принести больше вреда. Стоит отметить, что в данном исследовании остаётся не совсем ясным, почему именно гены, кодирующие белки с указанными функциями, чаще подвергаются воздействию NMD. Год публикации (2008), общий объём имеющихся на тот момент данных и то, что влияние или отсутствие влияния NMD на транскрипт предсказывалось, может заставить усомниться в полученных результатах. С другой стороны, подобных работ найти не получается, а значит вопрос остаётся открытым и ждёт дальнейших исследований для своего ответа.

У растений, на примере *A. thaliana*, поломка генов, кодирующих белки, которые участвуют в работе NMD, влияет не только на то, что такие транскрипты остаются не дегградированными,

но и на другие признаки [100, 111, 112], тем самым демонстрируя и множество функций, которые несут данные гены, и сложность взаимосвязей внутри организмов. Для плодовой мушки *D. melanogaster*, рыбы *Danio rerio*, мыши такие мутации летальны ещё на эмбриональной стадии [100].

Об эффективности NMD для различных клеток и тканей организма имеются противоречивые сведения. Например, при исследовании NMD в отдельных клетках было показано, что ответ на этот процесс и деградация мРНК с нонсенс-мутацией в двух генах, кодирующих β -глобины, в каждой из клеток отличается, то есть спектр эффективности NMD широк и зависит от множества деталей [113]. Подобное различие в эффективности NMD было ранее показано для разных тканей мышей [114]. Но совершенно противоположные результаты были получены в работе [115], где было показано, что во всех тканях человека NMD работает примерно одинаково.

В уже описанном ранее примере изменения окраски перьев у перепела *C. japonica* было предположено, что на деградацию мРНК с нонсенс-мутацией в гене *PMEL* может влиять NMD, так как нет никаких ограничений для работы данного процесса, которые будут описаны далее в обзоре – мутация находится в четвертом (не последнем и не предпоследнем) экзоне [51]. С другой стороны, авторы не исключают, что причина может быть ещё более простая – у организма может быть меньше меланоцитов, которые экспрессируют этот ген, как раз ввиду данной мутации.

Но у данного механизма есть свои ограничения, для которых, тем не менее, имеются и примеры-исключения. Основными ограничениями считаются следующие: если преждевременный стоп-кодон расположен либо в последнем экзоне, либо в предпоследнем экзоне менее чем за 50–55 нуклеотидов до его границы с интроном, то NMD не срабатывает и в результате происходит трансляция мутантной мРНК [116]. С одной стороны, как уже было отмечено выше (см. раздел «Характеристики нонсенс-мутаций, влияющие на их патогенность»), если нонсенс-мутация располагается прямо перед терминирующим стоп-кодоном или в двух-трёх позициях до него, то отрицательный отбор на неё не воздействует. Поэтому в том, что NMD для них не работает, нет проблемы – в белке не будет одного или нескольких аминокислотных остатков на конце, но его функция не пострадает. С другой стороны, есть примеры, когда нонсенс-мутации в последнем экзоне, будучи в гетерозиготном состоянии, влияют на развитие у человека забо-

левания β -талассемии [88]. А у одной из пород азиатских буйволов, которые стали альбиносами вследствие мутации в гене *Tyr*, кодирующем тирозинкиназу [48], по всей видимости, NMD не работает. Причина этому заключается в том, что мутация располагается в последнем экзоне, а NMD в них, как прежде было отмечено, не срабатывает.

Известны случаи, когда транскрипты с нонсенс-мутацией и в первом экзоне обходили NMD (например, [117–119]), а разнообразные способы избежать этот процесс для транскрипта рассмотрены подробно в работе [120].

Чтение сквозь стоп-кодон. Так называемое «чтение сквозь стоп-кодон» (stop codon readthrough, stop codon suppression, либо translational readthrough) – это явление, при котором стоп-кодон, в обсуждаемом случае – преждевременный, распознаётся не как стоп-кодон, а как кодирующий, и трансляция на нём не останавливается, а продолжается в той же рамке считывания. Данный процесс распространён не только у вирусов и бактерий, но и у эукариот [121]. Так, у дрожжей *S. cerevisiae* UAA и UAG могут кодировать серин и треонин, а UGA – тирозин и фенилаланин [122]. При этом важную роль играет контекст – сам стоп-кодон и нуклеотиды вокруг него [123, 124]. Например, кодон UGA (в генетическом коде человека) наиболее вероятно подвергается данному процессу при наличии после него динуклеотида CU [125], следующий за ним по «лёгкости» чтения сквозь стоп-кодон – UAG, а затем – кодон UAA [121]. Также для всех стоп-кодонов повышает вероятность данного процесса наличие вторичных структур после них [121].

Чтение сквозь стоп-кодон было обнаружено у видов рода *Drosophila* для 283 генов [121]. При этом, как было показано на *D. melanogaster*, эффективность процесса зависит от стадии жизненного цикла особи и отличается между тканями. Наиболее эффективно и быстро чтение сквозь стоп-кодон проходит у взрослых особей [126]. Кроме того, стоп-кодоны, которые подвергаются данному процессу, можно обнаружить при анализе популяционных данных, потому как они встречаются с частотой выше, чем наблюдается для вредных мутаций, то есть выше 0,05 [27]. Например, частота таких кодонов была выше 0,3 в североамериканской и замбийской популяциях плодовых мушек [81].

Имеются сведения о наличии данного механизма обхода патогенного эффекта нонсенс-мутаций и для нематоды *C. elegans*, и для различных мушек рода *Drosophila*, и для человека [122]. А для мушки *Drosophila sechellia* было показано [82], что несмотря на нонсенс-мутацию в локусе *Ir75a*, ко-

дирующем один из обонятельных рецепторов, этот локус продолжает экспрессироваться благодаря механизму чтения сквозь стоп-кодон.

Одним из своеобразных вариантов чтения сквозь стоп-кодон является определение стоп-кодона как кодирующего селеноцистеин [127]. Селеноцистеиновая тРНК может интерпретировать кодон UGA как селеноцистеин, если в 3'-UTR имеется специальный мотив, так называемый SECIS-элемент. Данный механизм был показан для многих эукариот, например, для видов рода *Drosophila* [122], млекопитающих, птиц, рыб.

Были предприняты попытки, в том числе успешные, для того чтобы использовать данный механизм в лечении пациентов, причина заболевания которых – нонсенс-мутация, например, при миодистрофии Дюшенна или муковисцидозе [128]. Так, вещество аталурен используется в лечении миодистрофии Дюшенна [129]. Если рассматривать механизм его работы в самом общем виде, то аталурен связывается с рибосомой и, по достижении мутантного стоп-кодона, позволяет не останавливать трансляцию, а использовать тРНК кодирующих аминокислот – для UAA и UAG это тРНК для глутамина, лизина и тирозина, а для UAG – тРНК триптофана, аргинина и цистеина [130]. Также гентамицин используется в лечении одного из гипотрихозов у человека, вызванного нонсенс-мутацией в гене *CDSN* [131], а для лечения муковисцидоза проходит вторую фазу клинических испытаний вещество ELX02 [132]. Подробнее об использовании данного метода в лечении заболеваний можно прочесть в обзорах (например, [128, 133, 134]).

Многие авторы сходятся во мнении, что благодаря наличию и NMD, и чтению сквозь стоп-кодон достигается больший контроль за качеством транслируемых транскриптов [126].

Методы геномного редактирования. Ещё одним потенциальным способом избежать вредного влияния нонсенс-мутаций может стать метод геномного редактирования CRISPR. Некоторые пациенты с диагностированным муковисцидозом являются гомозиготами по нонсенс-мутации в гене *CFTR*, либо же компаундными гетерозиготами. В работе [135] было показано, что использование метода CRISPR/

dCas13b позволяет редактировать мутантную мРНК в различных клеточных линиях (IB3-1, HeLa, FRT) и может быть хорошей альтернативой, например, аталурену, который позволяет осуществлять чтение сквозь стоп-кодон.

Нонсенс-мутации рассматривались на протяжении долгого времени в качестве патогенных, кардинально влияющих на организм и приводящих к синтезу белков, лишённых полноценной функциональности. В настоящее время нонсенс-мутации продолжают рассматриваться научным сообществом преимущественно в данном ключе, но появляется всё больше информации о том, что не всегда такие мутации приводят к полной потере функции гена: влияет и важность затрагиваемого мутацией гена для организма, и расположение мутации по длине гена, и статус гаплонедостаточности, и другие варианты. Кроме того, существует множество способов, которые позволяют клетке избежать накопления дефектных полипептидов, либо же дают возможность рибосоме не останавливаться на нонсенс-мутации, а продолжить синтез белка, развивается и терапия заболеваний, вызванных данными мутациями. При этом обсуждаемые характеристики нонсенс-мутаций, влияющие на их проявление в фенотипе, а также молекулярные механизмы, способные позволить избежать проявления в фенотипе, взаимосвязаны – и часто сразу несколько из них оказывают сочетанное влияние. В данном обзоре подробно освещаются перечисленные выше подходы к пониманию характеристик и влияния нонсенс-мутаций в геномах эукариот.

Благодарности. Автор выражает благодарность Игорю Игоревичу Адамейко, Ольге Владимировне Черченко, Екатерине Юрьевне Царёвой, Эвелине Ильиничне Никельшпарг, Ивану Владимировичу Кулаковскому, а также Борису Романовичу Петрову за ценные комментарии.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных автором исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Osawa, S., and Jukes, T.H. (1989) Codon reassignment (codon capture) in evolution, *J. Mol. Evol.*, **28**, 271-278, doi: 10.1007/BF02103422.
- Campbell, J. H., O'Donoghue, P., Campbell, A. G., Schwientek, P., Sczyrba, A., et al. (2013) UGA is an additional glycine codon in uncultured SR1 bacteria from the human microbiota, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 5540-5545, doi: 10.1073/pnas.1303090110.
- Sánchez-Silva, R., Villalobo, E., Morin, L., and Torres, A. (2003) A new noncanonical nuclear genetic code: Translation of UAA into glutamate, *Curr. Biol.*, **13**, 442-447, doi: 10.1016/S0960-9822(03)00126-X.

4. Ring, K. L., and Cavalcanti, A. R. (2007) Consequences of stop codon reassignment on protein evolution in ciliates with alternative genetic codes, *Mol. Biol. Evol.*, **25**, 179-186, doi: 10.1093/molbev/msm237.
5. Keeling, P. J., and Doolittle, W. F. (1996) A non-canonical genetic code in an early diverging eukaryotic lineage, *EMBO J.*, **15**, 2285-2290, doi: 10.1002/j.1460-2075.1996.tb00581.x.
6. Keeling, P. J., and Leander, B. S. (2003) Characterisation of a non-canonical genetic code in the oxymonad *Streblomastix strix*, *J. Mol. Biol.*, **326**, 1337-1349, doi: 10.1016/s0022-2836(03)00057-3.
7. Záhonová, K., Kostygov, A., Ševčíková, T., Yurchenko, V., and Eliáš, M. (2016) An unprecedented non-canonical nuclear genetic code with all three termination codons reassigned as sense codons, *Curr. Biol.*, **26**, 2364-2369, doi: 10.1016/j.cub.2016.06.064.
8. Ohama, T., Inagaki, Y., Bessho, Y., and Osawa, S. (2008) Evolving genetic code, *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.*, **84**, 58-74, doi: 10.2183/pjab.84.58.
9. Cocquyt, E., Gile, G. H., Leliaert, F., Verbruggen, H., Keeling, P. J., et al. (2010) Complex phylogenetic distribution of a non-canonical genetic code in green algae, *BMC Evol. Biol.*, **10**, 327, doi: 10.1186/1471-2148-10-327.
10. Swart, E. C., Serra, V., Petroni, G., and Nowacki, M. (2016) Genetic codes with no dedicated stop codon: Context-dependent translation termination, *Cell*, **166**, 691-702, doi: 10.1016/j.cell.2016.06.020.
11. Pánek, T., Žihala, D., Sokol, M., Derelle, R., Klimeš, V., et al. (2017) Nuclear genetic codes with a different meaning of the UAG and the UAA codon, *BMC Biol.*, **15**, 8, doi: 10.1186/s12915-017-0353-y.
12. Mukai, T., Lajoie, M. J., Englert, M., and Sull, D. (2017) Rewriting the genetic code, *Annu. Rev. Microbiol.*, **71**, 557-577, doi: 10.1146/annurev-micro-090816-093247.
13. Ling, J., O'Donoghue, P., and Söll, D. (2015) Genetic code flexibility in microorganisms: Novel mechanisms and impact on physiology, *Nat. Rev. Microbiol.*, **13**, 707-721, doi: 10.1038/nrmicro3568.
14. Bezerra, A., Guimarães, A., and Santos, M. (2015) Non-standard genetic codes define new concepts for protein engineering, *Life*, **5**, 1610-1628, doi: 10.3390/life5041610.
15. De Valles-Ibáñez, G., Hernandez-Rodriguez, J., Prado-Martinez, J., Luisi, P., Marqués-Bonet, T., et al. (2016) Genetic load of loss-of-function polymorphic variants in great apes, *Genome Biol. Evol.*, **8**, 871-877, doi: 10.1093/gbe/evw040.
16. Flowers, J. M., Hazzouri, K. M., Pham, G. M., Rosas, U., Bahmani, T., et al. (2015) Whole-genome resequencing reveals extensive natural variation in the model green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, *Plant Cell*, **27**, 2353-2369, doi: 10.1105/tpc.15.00492.
17. MacArthur, D. G., Balasubramanian, S., Frankish, A., Huang, N., Morris, J., et al. (2012) A systematic survey of loss-of-function variants in human protein-coding genes, *Science*, **335**, 823-828, doi: 10.1126/science.1215040.
18. Li, A. H., Morrison, A. C., Kovar, C., Cupples, L. A., Brody, J. A., et al. (2015) Analysis of loss-of-function variants and 20 risk factor phenotypes in 8,554 individuals identifies loci influencing chronic disease, *Nat. Genet.*, **47**, 640-642, doi: 10.1038/ng.3270.
19. Groenen, M. A., Archibald, A. L., Uenishi, H., Tuggle, C. K., Takeuchi, Y., et al. (2012) Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution, *Nature*, **491**, 393-398, doi: 10.1038/nature11622.
20. Lack, J. B., Cardeno, C. M., Crepeau, M. W., Taylor, W., Corbett-Detig, R. B., et al. (2015) The *Drosophila* genome nexus: a population genomic resource of 623 *Drosophila melanogaster* genomes, including 197 from a single ancestral range population, *Genetics*, **199**, 1229-1241, doi: 10.1534/genetics.115.174664.
21. Yang, H., He, B. Z., Ma, H., Tsaur, S. C., Ma, C., et al. (2015) Expression profile and gene age jointly shaped the genome-wide distribution of premature termination codons in a *Drosophila melanogaster* population, *Mol. Biol. Evol.*, **32**, 216-228, doi: 10.1093/molbev/msu299.
22. Xu, Y. C., Niu, X. M., Li, X. X., He, W., Chen, J. F., et al. (2019) Adaptation and phenotypic diversification in arabidopsis through loss-of-function mutations in protein-coding genes, *Plant Cell*, **31**, 1012-1025, doi: 10.1105/tpc.18.00791.
23. Monroe, J. G., McKay, J. K., Weigel, D., and Flood, P. J. (2021) The population genomics of adaptive loss of function, *Hereditas*, **126**, 383-395, doi: 10.1038/s41437-021-00403-2.
24. MacArthur, D. G., and Tyler-Smith, C. (2010) Loss-of-function variants in the genomes of healthy humans, *Hum. Mol. Genet.*, **19**, R125-R130, doi: 10.1093/hmg/ddq365.
25. Mort, M., Ivanov, D., Cooper, D. N., and Chuzhanova, N. A. (2008) A meta-analysis of nonsense mutations causing human genetic disease, *Hum. Mutat.*, **29**, 1037-1047, doi: 10.1002/humu.20763.
26. Gorlov, I. P., Kimmel, M., and Amos, C. I. (2006) Strength of the purifying selection against different categories of the point mutations in the coding regions of the human genome, *Hum. Mol. Genet.*, **15**, 1143-1150, doi: 10.1093/hmg/ddl029.
27. Marth, G. T., Yu, F., Indap, A. R., Garimella, K., Gravel, S., et al. (2011) The functional spectrum of low-frequency coding variation, *Genome Biol.*, **12**, R84, doi: 10.1186/gb-2011-12-9-r84.
28. Lee, Y. C., and Reinhardt, J. A. (2012) Widespread polymorphism in the positions of stop codons in *Drosophila melanogaster*, *Genome Biol. Evol.*, **4**, 533-549, doi: 10.1093/gbe/evr113.
29. Hernandez-Gonzalez, I., Tenorio-Castano, J., Ochoa-Parra, N., Gallego, N., Pérez-Olivares, C., et al. (2021) Novel genetic and molecular pathways in pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease, *Cells*, **10**, 1488, doi: 10.3390/cells10061488.
30. Guerreiro, R., Brás, J., Wojtas, A., Rademakers, R., Hardy, J., et al. (2014) Nonsense mutation in PRNP associated with clinical Alzheimer's disease, *Neurobiol. Aging*, **35**, 2656.e13-2656.e16, doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.05.013.
31. Nakamura, K., Sekijima, Y., Nagamatsu, K., Yoshida, K., and Ikeda, S. (2012) A novel nonsense mutation in the *TITF-1* gene in a Japanese family with benign hereditary chorea, *J. Neurol. Sci.*, **313**, 189-192, doi: 10.1016/j.jns.2011.09.013.
32. Nieminen, P., Arte, S., Tanner, D., Paulin, L., Alaluusua, S., et al. (2001) Identification of a nonsense mutation in the *PAX9* gene in molar oligodontia, *Eur. J. Human Genet.*, **9**, 743-746, doi: 10.1038/sj.ejhg.5200715.
33. Ruwald, M. H., Xu Parks, X., Moss, A. J., Zareba, W., Baman, J., et al. (2016) Stop-codon and C-terminal nonsense mutations are associated with a lower risk of cardiac events in patients with long QT syndrome type 1, *Heart Rhythm*, **13**, 122-131, doi: 10.1016/j.hrthm.2015.08.033.
34. Yamaguchi-Kabata, Y., Shimada, M. K., Hayakawa, Y., Minoshima, S., et al. (2008) Distribution and effects of nonsense polymorphisms in human genes, *PLoS One*, **3**, e3393, doi: 10.1371/journal.pone.0003393.
35. DeBoever, C., Tanigawa, Y., Lindholm, M. E., McInnes, G., Lavertu, A., et al. (2018) Medical relevance

- of protein-truncating variants across 337,205 individuals in the UK Biobank study, *Nat. Commun.*, **9**, 1612, doi: 10.1038/s41467-018-03910-9.
36. Xu, H., Zhen, Q., Bai, M., Fang, L., Zhang, Y., et al. (2021) Deep sequencing of 1320 genes reveals the landscape of protein-truncating variants and their contribution to psoriasis in 19,973 Chinese individuals, *Genome Res.*, **31**, 1150-1158, doi: 10.1101/gr.267963.120.
 37. Xu, Y. C., and Guo, Y. L. (2020) Less is more, natural loss-of-function mutation is a strategy for adaptation, *Plant Commun.*, **1**, 100103, doi: 10.1016/j.xplc.2020.100103.
 38. Kaler, S. G., Tang, J., Donsante, A., and Kaneski, C. R. (2009) Translational read-through of a nonsense mutation in *ATP7A* impacts treatment outcome in Menkes disease, *Ann. Neurol.*, **65**, 108-113, doi: 10.1002/ana.21576.
 39. Roosing, S., Rosti, R. O., Rosti, B., de Vrieze, E., Silhavy, J. L., et al. (2016) Identification of a homozygous nonsense mutation in *KIAA0556* in a consanguineous family displaying Joubert syndrome, *Hum. Genet.*, **135**, 919-921, doi: 10.1007/s00439-016-1689-z.
 40. Perez, H., Abdallah, M. F., Chavira, J. I., Norris, A. S., Egeland, M. T., et al. (2021) A novel, ataxic mouse model of ataxia telangiectasia caused by a clinically relevant nonsense mutation, *eLife*, **10**, e64695, doi: 10.7554/eLife.64695.
 41. Yang, C., Feng, J., Song, W., Wang, J., Tsai, B., et al. (2007) A mouse model for nonsense mutation bypass therapy shows a dramatic multiday response to geneticin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 15394-15399, doi: 10.1073/pnas.0610878104.
 42. McHugh, D. R., Steele, M. S., Valerio, D. M., Miron, A., Mann, R. J., et al. (2018) A G542X cystic fibrosis mouse model for examining nonsense mutation directed therapies, *PLoS One*, **13**, e0199573, doi: 10.1371/journal.pone.0199573.
 43. Flossmann, G., Wurmser, C., Pausch, H., Tenghe, A., Doddenhoff, J., et al. (2021) A nonsense mutation of bone morphogenetic protein-15 (BMP15) causes both infertility and increased litter size in pigs, *BMC Genomics*, **22**, 38, doi: 10.1186/s12864-020-07343-x.
 44. Derks, M., Gjuvsland, A. B., Bosse, M., Lopes, M. S., van Son, M., et al. (2019) Loss of function mutations in essential genes cause embryonic lethality in pigs, *PLoS Genet.*, **15**, e1008055, doi: 10.1371/journal.pgen.1008055.
 45. Sonstegard, T. S., Cole, J. B., VanRaden, P. M., Van Tassell, C. P., Null, D. J., et al. (2013) Identification of a nonsense mutation in *CWC15* associated with decreased reproductive efficiency in Jersey cattle, *PLoS One*, **8**, e54872, doi: 10.1371/journal.pone.0054872.
 46. Ricketts, M. H., Simons, M. J., Parma, J., Mercken, L., Dong, Q., et al. (1987) A nonsense mutation causes hereditary goitre in the Afrikaner cattle and unmasks alternative splicing of thyroglobulin transcripts, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 3181-3184, doi: 10.1073/pnas.84.10.3181.
 47. Wells, K. L., Hadad, Y., Ben-Avraham, D., Hillel, J., Cahaner, A., et al. (2012) Genome-wide SNP scan of pooled DNA reveals nonsense mutation in *FGF20* in the scaleless line of featherless chickens, *BMC Genomics*, **13**, 257, doi: 10.1186/1471-2164-13-257.
 48. Damé, M. C., Xavier, G. M., Oliveira-Filho, J. P., Borges, A. S., Oliveira, H. N., et al. (2012) A nonsense mutation in the tyrosinase gene causes albinism in water buffalo, *BMC Genetics*, **13**, 62, doi: 10.1186/1471-2164-13-62.
 49. Chintamaneni, C. D., Halaban, R., Kobayashi, Y., Witkop, C. J., Jr., and Kwon, B. S. (1991) A single base insertion in the putative transmembrane domain of the tyrosinase gene as a cause for tyrosinase-negative oculocutaneous albinism, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 5272-5276, doi: 10.1073/pnas.88.12.5272.
 50. Rafique, M. Z., Carvalho, E., Stracke, R., Palmieri, L., Herrera, L., et al. (2016) Nonsense mutation inside anthocyanidin synthase gene controls pigmentation in yellow raspberry (*Rubus idaeus* L.), *Front. Plant Sci.*, **7**, 1892, doi: 10.3389/fpls.2016.01892.
 51. Ishishita, S., Takahashi, M., Yamaguchi, K., Kinoshita, K., Nakano, M., et al. (2018) Nonsense mutation in *PMEL* is associated with yellowish plumage colour phenotype in Japanese quail, *Sci. Rep.*, **8**, 16732, doi: 10.1038/s41598-018-34827-4.
 52. Wu, W., Liu, X., Wang, M., Meyer, R. S., Luo, X., et al. (2017) A single-nucleotide polymorphism causes smaller grain size and loss of seed shattering during African rice domestication, *Nat. Plants*, **3**, 17064, doi: 10.1038/nplants.2017.64.
 53. Amrad, A., Moser, M., Mandel, T., de Vries, M., Schuurink, R. C., et al. (2016) Gain and loss of floral scent production through changes in structural genes during pollinator-mediated speciation, *Curr. Biol.*, **26**, 3303-3312, doi: 10.1016/j.cub.2016.10.023.
 54. Zhao, Y., Wang, H., Poole, R. J., and Gems, D. (2019) A fln-2 mutation affects lethal pathology and lifespan in *C. elegans*, *Nat. Commun.*, **10**, 5087, doi: 10.1038/s41467-019-13062-z.
 55. Hoehn, K. B., McGaugh, S. E., and Noor, M. A. (2012) Effects of premature termination codon polymorphisms in the *Drosophila pseudoobscura* subclade, *J. Mol. Evol.*, **75**, 141-150, doi: 10.1007/s00239-012-9528-x.
 56. MacArthur, D. G., Seto, J. T., Raftery, J. M., Quinlan, K. G., Huttley, G. A., et al. (2007) Loss of *ACTN3* gene function alters mouse muscle metabolism and shows evidence of positive selection in humans, *Nat. Genet.*, **39**, 1261-1265, doi: 10.1038/ng2122.
 57. North, K. N., Yang, N., Wattanasirichaigoon, D., Mills, M., Easteal, S., et al. (1999) A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population, *Nat. Genetics*, **21**, 353-354, doi: 10.1038/7675.
 58. Xue, Y., Daly, A., Yngvadottir, B., Liu, M., Coop, G., et al. (2006) Spread of an inactive form of *caspase-12* in humans is due to recent positive selection, *Am. J. Hum. Genet.*, **78**, 659-670, doi: 10.1086/503116.
 59. Fry, A. E., Ghansa, A., Small, K. S., Palma, A., Auburn, S., et al. (2009) Positive selection of a *CD36* nonsense variant in sub-Saharan Africa, but no association with severe malaria phenotypes, *Hum. Mol. Genet.*, **18**, 2683-2692, doi: 10.1093/hmg/ddp192.
 60. Flannick, J., Thorleifsson, G., Beer, N. L., Jacobs, S. B., Grarup, N., et al. (2014) Loss-of-function mutations in *SLC30A8* protect against type 2 diabetes, *Nat. Genet.*, **46**, 357-363, doi: 10.1038/ng.2915.
 61. Dwivedi, O. P., Lehtovirta, M., Hastoy, B., Chandra, V., Krentz, N., et al. (2019) Loss of ZnT8 function protects against diabetes by enhanced insulin secretion, *Nat. Genet.*, **51**, 1596-1606, doi: 10.1038/s41588-019-0513-9.
 62. Olson, M. V. (1999) When less is more: Gene loss as an engine of evolutionary change, *Am. J. Hum. Genet.*, **64**, 18-23, doi: 10.1086/302219.
 63. Mills, M., Yang, N., Weinberger, R., Vander Woude, D. L., Beggs, A. H., et al. (2001) Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy, *Hum. Mol. Genet.*, **10**, 1335-1346, doi: 10.1093/hmg/10.13.1335.
 64. Niemi, A. K., and Majamaa, K. (2005) Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes, *Eur. J. Hum. Genet.*, **13**, 965-969, doi: 10.1038/sj.ejhg.5201438.
 65. Wang, X., Grus, W. E., and Zhang, J. (2006) Gene losses during human origins, *PLoS Biol.*, **4**, e52, doi: 10.1371/journal.pbio.0040052.

66. Xiang, Y., Song, B., Née, G., Kramer, K., Finkemeier, I., et al. (2016) Sequence Polymorphisms at the reduced DORMANCY5 pseudophosphatase underlie natural variation in Arabidopsis dormancy, *Plant Physiol.*, **171**, 2659-2670, doi: 10.1104/pp.16.00525.
67. Matika, O., Robledo, D., Pong-Wong, R., Bishop, S. C., Riggio, V., et al. (2019) Balancing selection at a premature stop mutation in the myostatin gene underlies a recessive leg weakness syndrome in pigs, *PLoS Genet.*, **15**, e1007759, doi: 10.1371/journal.pgen.1007759.
68. Landrum, M. J., Lee, J. M., Benson, M., Brown, G. R., Chao, C., et al. (2018) ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence, *Nucleic Acids Res.*, **46**, D1062-D1067, doi: 10.1093/nar/gkx1153.
69. Karczewski, K. J., Francioli, L. C., Tiao, G., Cummings, B. B., Alföldi, J., et al. (2020) The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans, *Nature*, **581**, 434-443, doi: 10.1038/s41586-020-2308-7.
70. Stenson, P. D., Mort, M., Ball, E. V., Chapman, M., Evans, K., et al. (2020) The human gene mutation database (HGMD®): Optimizing its use in a clinical diagnostic or research setting, *Hum. Genet.*, **139**, 1197-1207, doi: 10.1007/s00439-020-02199-3.
71. Tate, J. G., Bamford, S., Jubb, H. C., Sondka, Z., Beare, D. M., et al. (2019) COSMIC: The catalogue of somatic mutations in cancer, *Nucleic Acids Res.*, **47**, D941-D947, doi: 10.1093/nar/gky1015.
72. McKusick, V. A. (1998) *Mendelian Inheritance in Man. A Catalog of Human Genes and Genetic Disorders* (12th edition) Baltimore: Johns Hopkins University Press.
73. Fokkema, I. F., Taschner, P. E., Schaafsma, G. C., Celli, J., Laros, J. F., et al. (2011) LOVD v.2.0: The next generation in gene variant databases, *Hum. Mutat.*, **32**, 557-563, doi: 10.1002/humu.21438.
74. Blake, J. A., Baldarelli, R., Kadin, J. A., Richardson, J. E., Smith, C. L., et al. (2021) Mouse Genome Database (MGD): Knowledgebase for mouse-human comparative biology, *Nucleic Acids Res.*, **49**, D981-D987, doi: 10.1093/nar/gkaa1083.
75. Chen, N., Fu, W., Zhao, J., Shen, J., Chen, Q., et al. (2020) BGVD: An integrated database for bovine sequencing variations and selective signatures, *Genom. Proteom. Bioinform.*, **18**, 186-193, doi: 10.1016/j.gpb.2019.03.007.
76. Rhee, S. Y., Beavis, W., Berardini, T. Z., Chen, G., Dixon, D., et al. (2003) The Arabidopsis Information Resource (TAIR): a model organism database providing a centralized, curated gateway to Arabidopsis biology, research materials and community, *Nucleic Acids Res.*, **31**, 224-228, doi: 10.1093/nar/gkg076.
77. Li, W. H., Gojobori, T., and Nei, M. (1981) Pseudogenes as a paradigm of neutral evolution, *Nature*, **292**, 237-239, doi: 10.1038/292237a0.
78. Li, W. H., Gojobori, T., and Nei, M. (1981) Evolution of pseudogenes and its relevance to the neutrality vs selection controversy, *Genetics*, **97**, 1.
79. Singleton, B. K., Green, C. A., Avent, N. D., Martin, P. G., Smart, E., et al. (2000) The presence of an RHD pseudogene containing a 37 base pair duplication and a nonsense mutation in africans with the Rh D-negative blood group phenotype, *Blood*, **95**, 12-18.
80. Harrison, P. M., Milburn, D., Zhang, Z., Bertone, P., and Gerstein, M. (2003) Identification of pseudogenes in the *Drosophila melanogaster* genome, *Nucleic Acids Res.*, **31**, 1033-1037, doi: 10.1093/nar/gkg169.
81. Potapova, N. A., Andrianova, M. A., Bazykin, G. A., and Kondrashov, A. S. (2018) Are nonsense alleles of *Drosophila melanogaster* genes under any selection? *Gen. Biol. Evol.*, **10**, 1012-1018, doi: 10.1093/gbe/evy032.
82. Prieto-Godino, L. L., Rytz, R., Bargeton, B., Abuin, L., Arguello, J. R., et al. (2016) Olfactory receptor pseudopseudogenes, *Nature*, **539**, 93-97, doi: 10.1038/nature19824.
83. Dos Santos, G., Schroeder, A. J., Goodman, J. L., Strelets, V. B., Crosby, M. A., et al. (2015) FlyBase: introduction of the *Drosophila melanogaster* Release 6 reference genome assembly and large-scale migration of genome annotations, *Nucleic Acids Res.*, **43**, D690-D697, doi: 10.1093/nar/gku1099.
84. Wetterbom, A., Gyllensten, U., Cavelier, L., and Bergström, T. F. (2009) Genome-wide analysis of chimpanzee genes with premature termination codons, *BMC Genom.*, **10**, 56, doi: 10.1186/1471-2164-10-56.
85. Xu, J., and Zhang, J. (2016) Are human translated pseudogenes functional? *Mol. Biol. Evol.*, **33**, 755-760, doi: 10.1093/molbev/msv268.
86. Torella, A., Zanobio, M., Zeuli, R., Del Vecchio Blanco, F., Savarese, M., et al. (2020) The position of nonsense mutations can predict the phenotype severity: A survey on the *DMD* gene, *PLoS One*, **15**, e0237803, doi: 10.1371/journal.pone.0237803.
87. Valentine, C. R. (1998) The association of nonsense codons with exon skipping, *Mutat. Res.*, **411**, 87-117, doi: 10.1016/s1383-5742(98)00010-6.
88. Thein, S. L. (2004) Genetic insights into the clinical diversity of beta thalassaemia, *Br. J. Haematol.*, **124**, 264-274, doi: 10.1046/j.1365-2141.2003.04769.x.
89. Skraban, C. M., Wells, C. F., Markose, P., Cho, M. T., Nesbitt, A. I., et al. (2017) *WDR26* haploinsufficiency causes a recognizable syndrome of intellectual disability, seizures, abnormal gait, and distinctive facial features, *Am. J. Hum. Genet.*, **101**, 139-148, doi: 10.1016/j.ajhg.2017.06.002.
90. Kuehn, H. S., Bernasconi, A., Niemela, J. E., Almejun, M. B., Gallego, W., et al. (2020) A nonsense N-terminus NFKB2 mutation leading to haploinsufficiency in a patient with a predominantly antibody deficiency, *J. Clin. Immunol.*, **40**, 1093-1101, doi: 10.1007/s10875-020-00842-2.
91. Zhang, X., Chai, J., Azhar, G., Sheridan, P., Borrás, A. M., et al. (2001) Early postnatal cardiac changes and premature death in transgenic mice overexpressing a mutant form of serum response factor, *J. Biol. Chem.*, **276**, 40033-40040, doi: 10.1074/jbc.M104934200.
92. Yngvadottir, B., Xue, Y., Searle, S., Hunt, S., Delgado, M., et al. (2009) A genome-wide survey of the prevalence and evolutionary forces acting on human nonsense SNPs, *Am. J. Hum. Genet.*, **84**, 224-234, doi: 10.1016/j.ajhg.2009.01.008.
93. Casci, T. (2011) Molecular evolution: Dealing with nonsense, *Nat. Rev. Genet.*, **12**, 805, doi: 10.1038/nrg3109.
94. Cusack, B. P., Arndt, P. F., Duret, L., and Roest Crollius, H. (2011) Preventing dangerous nonsense: Selection for robustness to transcriptional error in human genes, *PLoS Genet.*, **7**, e1002276, doi: 10.1371/journal.pgen.1002276.
95. Ma, Z., and Chen, J. (2020) Premature termination codon-bearing mRNA mediates genetic compensation response, *Zebrafish*, **17**, 157-162, doi: 10.1089/zeb.2019.1824.
96. Ma, Z., Zhu, P., Shi, H., Guo, L., Zhang, Q., et al. (2019) PTC-bearing mRNA elicits a genetic compensation response via Upf3a and COMPASS components, *Nature*, **568**, 259-263, doi: 10.1038/s41586-019-1057-y.
97. Ma, Z. P., and Chen, J. (2019) [Nonsense mutations and genetic compensation response], [Article in Chinese], *Hereditas*, **41**, 359-364, doi: 10.16288/j.ycz.19-101.
98. El-Brolosy, M. A., and Stainier, D. (2017) Genetic compensation: A phenomenon in search of mechanisms, *PLoS Genet.*, **13**, e1006780, doi: 10.1371/journal.pgen.1006780.

99. Chang, Y. F., Imam, J. S., and Wilkinson, M. F. (2007) The nonsense-mediated decay RNA surveillance pathway, *Annu. Rev. Biochem.*, **76**, 51-74, doi: 10.1146/annurev.biochem.76.050106.093909.
100. Riehs-Kearnan, N., Gloggnitzer, J., Dekrout, B., Jonak, C., and Riha, K. (2012) Aberrant growth and lethality of Arabidopsis deficient in nonsense-mediated RNA decay factors is caused by autoimmune-like response, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 5615-5624, doi: 10.1093/nar/gks195.
101. Maquat, L. E. (2005) Nonsense-mediated mRNA decay in mammals, *J. Cell Sci.*, **118**, 1773-1776, doi: 10.1242/jcs.01701.
102. Kurosaki, T., Popp, M. W., and Maquat, L. E. (2019) Quality and quantity control of gene expression by nonsense-mediated mRNA decay, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **20**, 406-420, doi: 10.1038/s41580-019-0126-2.
103. Stalder, L., and Mühlemann, O. (2008) The meaning of nonsense, *Trends Cell Biol.*, **18**, 315-321, doi: 10.1016/j.tcb.2008.04.005.
104. Khajavi, M., Inoue, K., and Lupski, J. R. (2006) Nonsense-mediated mRNA decay modulates clinical outcome of genetic disease, *Eur. J. Hum. Genet.*, **14**, 1074-1081, doi: 10.1038/sj.ejhg.5201649.
105. Holbrook, J. A., Neu-Yilik, G., Hentze, M. W., and Kulozik, A. E. (2004) Nonsense-mediated decay approaches the clinic, *Nat. Genet.*, **36**, 801-808, doi: 10.1038/ng1403.
106. Lindeboom, R. G., Supek, F., and Lehner, B. (2016) The rules and impact of nonsense-mediated mRNA decay in human cancers, *Nat. Genet.*, **48**, 1112-1118, doi: 10.1038/ng.3664.
107. Hwang, J., and Kim, Y. K. (2013) When a ribosome encounters a premature termination codon, *BMB Rep.*, **46**, 9-16, doi: 10.5483/bmbrep.2013.46.1.002.
108. Nickless, A., Bailis, J. M., and You, Z. (2017) Control of gene expression through the nonsense-mediated RNA decay pathway, *Cell Biosci.*, **7**, 26, doi: 10.1186/s13578-017-0153-7.
109. Kervestin, S., and Jacobson, A. (2012) NMD: A multifaceted response to premature translational termination, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **13**, 700-712, doi: 10.1038/nrm3454.
110. Kalyna, M., Simpson, C. G., Syed, N. H., Lewandowska, D., Marquez, Y., et al. (2012) Alternative splicing and nonsense-mediated decay modulate expression of important regulatory genes in Arabidopsis, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 2454-2469, doi: 10.1093/nar/gkr932.
111. Rayson, S., Arciga-Reyes, L., Wootton, L., De Torres Zabala, M., Truman, W., et al. (2012) A role for nonsense-mediated mRNA decay in plants: pathogen responses are induced in *Arabidopsis thaliana* NMD mutants, *PLoS One*, **7**, e31917, doi: 10.1371/journal.pone.0031917.
112. Shi, C., Baldwin, I. T., and Wu, J. (2012) Arabidopsis plants having defects in nonsense-mediated mRNA decay factors UPF1, UPF2, and UPF3 show photoperiod-dependent phenotypes in development and stress responses, *J. Integr. Plant Biol.*, **54**, 99-114, doi: 10.1111/j.1744-7909.2012.01093.x.
113. Sato, H., and Singer, R. H. (2021) Cellular variability of nonsense-mediated mRNA decay, *Nat. Commun.*, **12**, 7203, doi: 10.1038/s41467-021-27423-0.
114. Zetoune, A. B., Fontanière, S., Magnin, D., Anczuków, O., Buisson, M., et al. (2008) Comparison of nonsense-mediated mRNA decay efficiency in various murine tissues, *BMC Genet.*, **9**, 83, doi: 10.1186/1471-2156-9-83.
115. Teran, N. A., Nachun, D. C., Eulalio, T., Ferraro, N. M., Smail, C., et al. (2021) Nonsense-mediated decay is highly stable across individuals and tissues, *Am. J. Hum. Genet.*, **108**, 1401-1408, doi: 10.1016/j.ajhg.2021.06.008.
116. Nagy, E., and Maquat, L. E. (1998) A rule for termination-codon position within intron-containing genes: when nonsense affects RNA abundance, *Trends Biochem. Sci.*, **23**, 198-199, doi: 10.1016/s0968-0004(98)01208-0.
117. Neu-Yilik, G., Amthor, B., Gehring, N. H., Bahri, S., Paidassi, H., et al. (2011) Mechanism of escape from nonsense-mediated mRNA decay of human beta-globin transcripts with nonsense mutations in the first exon, *RNA*, **17**, 843-854, doi: 10.1261/rna.2401811.
118. Inácio, A., Silva, A. L., Pinto, J., Ji, X., Morgado, A., et al. (2004) Nonsense mutations in close proximity to the initiation codon fail to trigger full nonsense-mediated mRNA decay, *J. Biol. Chem.*, **279**, 32170-32180, doi: 10.1074/jbc.M405024200.
119. Perrin-Vidoz, L., Sinilnikova, O. M., Stoppa-Lyonnet, D., Lenoir, G. M., and Mazoyer, S. (2002) The nonsense-mediated mRNA decay pathway triggers degradation of most BRCA1 mRNAs bearing premature termination codons, *Hum. Mol. Genet.*, **11**, 2805-2814, doi: 10.1093/hmg/11.23.2805.
120. Dyle, M. C., Kolakada, D., Cortazar, M. A., and Jagannathan, S. (2020) How to get away with nonsense: Mechanisms and consequences of escape from nonsense-mediated RNA decay, *Wiley Interdiscip. Rev RNA*, **11**, e1560, doi: 10.1002/wrna.1560.
121. Jungreis, I., Lin, M. F., Spokony, R., Chan, C. S., Negre, N., et al. (2011) Evidence of abundant stop codon readthrough in *Drosophila* and other metazoa, *Genome Res.*, **21**, 2096-2113, doi: 10.1101/gr.119974.110.
122. Adachi, H., and Yu, Y. T. (2020) Pseudouridine-mediated stop codon readthrough in *S. cerevisiae* is sequence context-independent, *RNA*, **26**, 1247-1256, doi: 10.1261/rna.076042.120.
123. McCaughan, K. K., Brown, C. M., Dalphin, M. E., Berry, M. J., and Tate, W. P. (1995) Translational termination efficiency in mammals is influenced by the base following the stop codon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 5431-5435, doi: 10.1073/pnas.92.12.5431.
124. Cassan, M., and Rousset, J. P. (2001) UAG readthrough in mammalian cells: Effect of upstream and downstream stop codon contexts reveal different signals, *BMC Mol. Biol.*, **2**, 3, doi: 10.1186/1471-2199-2-3.
125. Stiebler, A. C., Freitag, J., Schink, K. O., Stehlik, T., Tillmann, B. A., et al. (2014) Ribosomal readthrough at a short UGA stop codon context triggers dual localization of metabolic enzymes in Fungi and animals, *PLoS Genet.*, **10**, e1004685, doi: 10.1371/journal.pgen.1004685.
126. Chen, Y., Sun, T., Bi, Z., Ni, J. Q., Pastor-Pareja, J. C., et al. (2020) Premature termination codon readthrough in *Drosophila* varies in a developmental and tissue-specific manner, *Sci. Rep.*, **10**, 8485, doi: 10.1038/s41598-020-65348-8.
127. Böck, A., Forchhammer, K., Heider, J., Leinfelder, W., Sawers, G., et al. (1991) Selenocysteine: The 21st amino acid, *Mol. Microbiol.*, **5**, 515-520, doi: 10.1111/j.1365-2958.1991.tb00722.x.
128. Keeling, K. M., Xue, X., Gunn, G., and Bedwell, D. M. (2014) Therapeutics based on stop codon readthrough, *Annu. Rev. Genom. Hum. Genet.*, **15**, 371-394, doi: 10.1146/annurev-genom-091212-153527.
129. Peltz, S. W., Morsy, M., Welch, E. M., and Jacobson, A. (2013) Ataluren as an agent for therapeutic nonsense suppression, *Annu. Rev. Med.*, **64**, 407-425, doi: 10.1146/annurev-med-120611-144851.
130. Roy, B., Friesen, W. J., Tomizawa, Y., Leszyk, J. D., Zhuo, J., et al. (2016) Ataluren stimulates ribosomal selection of near-cognate tRNAs to promote nonsense suppression, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 12508-12513, doi: 10.1073/pnas.1605336113.
131. Peled, A., Samuelov, L., Sarig, O., Bochner, R., Malki, L., et al. (2020) Treatment of hereditary hypotrichosis simplex

- of the scalp with topical gentamicin, *Br. J. Dermatol.*, **183**, 114-120, doi: 10.1111/bjd.18718.
132. Leubitz, A., Vanhoutte, F., Hu, M. Y., Porter, K., Gordon, E., et al. (2021) A randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple dose escalation study to evaluate the safety and pharmacokinetics of ELX-02 in healthy subjects, *Clin. Pharmacol. Drug Dev.*, **10**, 859-869, doi: 10.1002/cpdd.914.
133. Martins-Dias, P., and Romão, L. (2021) Nonsense suppression therapies in human genetic diseases, *Cell. Mol. Life Sci.*, **78**, 4677-4701, doi: 10.1007/s00018-021-03809-7.
134. Morais, P., Adachi, H., and Yu, Y. T. (2020) Suppression of nonsense mutations by new emerging technologies, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 4394, doi: 10.3390/ijms21124394.
135. Melfi, R., Cancemi, P., Chiavetta, R., Barra, V., Lentini, L., et al. (2020) Investigating REPAIRv2 as a tool to edit CFTR mRNA with premature stop codons, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 4781, doi: 10.3390/ijms21134781.

NONSENSE MUTATIONS IN EUKARYOTES

Review

Nadezhda A. Potapova

*Kharkevich Institute for Information Transmission Problems (IITP), Russian Academy of Sciences,
127051 Moscow, Russia; e-mail: nadezhdalpotapova@gmail.com*

Nonsense mutations are a type of mutations which result in a premature termination codon occurrence. In general, these mutations have been considered to be among the most harmful ones which lead to premature protein translation termination and result in shortened nonfunctional polypeptide. However, there is evidence that not all nonsense mutations are harmful as well as some molecular mechanisms exist which allow to avoid pathogenic effects of these mutations. This review addresses relevant information on nonsense mutations in eukaryotic genomes, characteristics of these mutations and different molecular mechanisms preventing or mitigating harmful effects thereof.

Keywords: nonsense mutation, stop codon, eukaryotes, negative selection, positive selection