

## КОНВЕРСИЯ ГЕНА

В. М. ГЛАЗЕР

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

### GENE CONVERSION

V. M. GLASER

*Gene conversion is nonreciprocal homologous recombination based on the correction of mismatched bases in recombinational heteroduplex. Genetic control and the molecular mechanisms of gene conversion as well as its roles both in the gene evolution and in life cycles of various organisms are considered.*

*Конверсия гена – нереципрокая гомологичная рекомбинация, основанная на коррекции неспаренных оснований в рекомбинационном гетеродуплексе. Рассмотрены генетический контроль и молекулярные механизмы конверсии и ее роли в эволюции генов и индивидуальной изменчивости организмов.*

### ВВЕДЕНИЕ

Конверсия гена, которой посвящена эта статья, является биологическим процессом, играющим важную роль и в эволюции живых организмов, и в их онтогенезе. Помимо того что конверсия гена участвует в общей (гомологичной) рекомбинации [1], она является одним из проявлений другого фундаментального генетического процесса – репарации ДНК [2]. Хотя в основе конверсии лежит общий механизм – исправление (коррекция) неспаренных (некомплементарных) оснований в рекомбинационном гетеродуплексе ДНК [1], этот механизм может участвовать в разнообразных биологических процессах, часто играя ключевую роль. Конверсия происходит и в клетках бактерий, и в половых и в соматических клетках эукариот.

Первоначально, со времени ее открытия К. Линдгреном в 1949 году [3], термин “конверсия гена” применяли только к конкретному явлению – нарушению стандартного менделевского расщепления  $2A : 2a$  в тетрадах аскоспор у грибов-аскомицетов [1, 3]. Однако, после того как был выяснен универсальный механизм коррекции неспаренных оснований, этот термин распространили на все процессы, в которых происходит превращение одного аллеля в другой путем коррекции рекомбинационного гетеродуплекса. Читатель, прочитавший эти строки, должен был заметить, что эта статья является логическим продолжением статей [1, 2], ранее опубликованных в “Соросовском Образовательном Журнале”.

### ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ О МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПРОЦЕССАХ, ПРИВОДЯЩИХ К КОНВЕРСИИ ГЕНА, НА ПРИМЕРЕ *ESCHERICHIA COLI*

Биологические аспекты конверсии сложны и многообразны. Для облегчения их восприятия сначала рассмотрим молекулярные процессы, лежащие в основе конверсии. Начнем с того, что у всех видов живых организмов среди различных систем репарации важнейшее место занимает особый механизм исправления ошибок репликации ДНК. Репарируемые ошибки заключаются в

том, что иногда (редко!) в ходе репликации ДНК-полимераза ошибочно включает во вновь синтезируемую цепь ДНК основание, некомплементарное основанию в матричной цепи. Механизм репарации некомплементарных оснований наиболее изучен у *E. coli* под названием “система MutHLSU”. Хотя он подробно описан в статье [2], напомним основные детали. Основу системы составляют гены *mutH*, *mutL*, *mutS* и *mutU*. Название *mut* (mutator) указывает на то, что мутанты по этим генам проявляют мутаторный фенотип, то есть у них наблюдается резкое повышение (обычно на несколько порядков) частоты спонтанного мутирования. Этот факт служит прямым доказательством того, что неспаренные основания являются предшественниками мутаций. Кроме того, он свидетельствует, что продукты указанных генов участвуют в устранении неспаренности оснований.

Система MutHLSU узнает и исправляет все пары некомплементарных оснований (G·T, G·A, T·C и т.д.), кроме пары C·C. Она репарирует еще выпадения или вставки одного–трех нуклеотидов в одной из цепей ДНК. В случае исправления ошибок репликации ДНК процесс связан с метилированием аденина в последовательностях GATC. Рассматриваемый механизм основан на том, что матричные цепи ДНК исходно метилированы, тогда как метилирование вновь синтезируемых цепей чуть-чуть запаздывает за репликацией, оставляя небольшое окно во времени для работы коррекционной системы. Процесс (см. рис. 1 в статье [2]) начинается с присоединения к некомплементарной паре оснований белка MutS, роль которого заключается в узнавании этого типа нарушений структуры ДНК. С образовавшимся комплексом связывается белок MutL. Взаимодействие MutS и MutL с некомплементарной парой оснований активирует латентную эндонуклеазу – продукт гена *mutH*, которая расщепляет одну из цепей ДНК в сайте GATC в дочерней неметилированной цепи. Возникший разрыв служит сигналом для коррекции этой цепи. От конца разрыва экзонуклеаза гидролизует цепь ДНК в направлении ошибочного основания и удаляет его. Экзонуклеазы, осуществляющие вырезание (эксцизию) участка цепи ДНК, гидролизуют одноцепочечную ДНК. Для их работы необходимо участие ДНК-геликазы (белка MutU), которая обеспечивает высвобождение одноцепочечной ДНК путем расплетания дуплекса. Образуется брешь протяженностью до 1 т.п.н. и более. Она застраивается по матрице исходной метилированной цепи с помощью ДНК-полимеразы, а затем ДНК-лигаза залечивает оставшийся разрыв цепи. Ошибка репликации исправлена. Рассмотренный механизм коррекции, когда репарации подвергается определенная цепь ДНК, называется *направленным*, хотя в других случаях выбор цепи, подвергаемой коррекции, может быть

случайным. Он также относится к системам репарации с вырезанием и застройкой протяженных брешей.

Подчеркнем, что процесс исправления ошибок репликации гена не относится к конверсии гена. Мы вспомнили о нем только потому, что его механизм используется и в коррекции рекомбинационного гетеродуплекса, а это уже конверсия. Таким образом, коррекция неспаренных оснований есть широкое понятие, включающее и исправление ошибок репликации, и конверсию гена.

Для изучения механизмов конверсии у бактерий (как и у эукариот) создают искусственные гетеродуплексы, содержащие различные комбинации некомплементарных оснований, вводят их в реципиентные клетки и прослеживают дальнейшую судьбу. Используя в качестве реципиентов клетки, несущие различные мутации по репарации и рекомбинации, выявляют (по неспособности к коррекции) гены, контролирующие исправление того или иного типа некомплементарных пар, и выясняют основные характеристики конверсии. Например, Р. Фишель и др. (1988 год) вводили в клетки различных мутантов *E. coli* искусственные гетеродуплексы, которые содержали две группы неспаренных оснований, разделенные 1243 п.н. Кроме того, в их эксперименте цепи ДНК в гетеродуплексах были либо метилированы по аденину, либо неметилированы. Оказалось, что независимо от метилированности цепей репарация происходила до репликации ДНК и при этом в большинстве случаев наблюдалась одновременная коррекция (кокоррекция) обеих неспаренных групп, то есть механизм репарации протяженных брешей был доминирующим. Если была метилирована одна из цепей, кокоррекции подвергалась неметилированная цепь. Процесс контролировали все четыре гена системы MutHLSU. Если обе цепи были неметилированы, процесс также требовал продуктов всех четырех генов, но если обе цепи были метилированы – только генов *mutS* и *mutU*. Но и в том и в другом случае выбор цепи, подвергшейся кокоррекции, был случаен.

Помимо MutHLSU у *E. coli* описаны и другие системы коррекции рекомбинационного гетеродуплекса. Обычно они узнают более узкий спектр неспаренных оснований, некоторые из них специфичны для определенных некомплементарных пар. Например, система VSP (very short patch repair) превращает некомплементарную пару G·T в комплементарную G·C. Как следует из названия, эта система вырезает и застраивает очень короткие (не более пяти нуклеотидов) участки цепи ДНК, содержащие неспаренный тимин. Наряду с другими генами в ней также участвуют гены *mutL* и *mutS*. Можно привести также систему с участием генов *recF*, *recJ* и *recO*. Она работает на участке не более

300 п.н. и малоэффективна по сравнению с MutHSLU. Еще следует отметить, что другие виды бактерий имеют системы репарации ошибок репликации и коррекции гетеродуплексов, родственные MutHSLU, но не связанные с метилированием ДНК. В тех случаях, когда коррекция осуществляется направленно, выбор подвергаемой эксцизии цепи определяется наличием в этом районе одноцепочечного разрыва. Это правило распространяется и на эукариотические организмы.

Мы уделили так много внимания системе MutHSLU, так как два ее основных компонента — белки MutL и MutS — оказались консервативными и в ходе эволюции сохранились не только у бактерий, но и у эукариот, от дрожжей до человека. В следующем разделе рассмотрим именно эти эукариотические белки, запускающие процесс конверсии, не забывая при этом об участии ДНК-полимераз, лигаз, хеликаз и других белков общего метаболизма ДНК.

## ГОМОЛОГИ БЕЛКОВ MutL и MutS У ЭУКАРИОТ

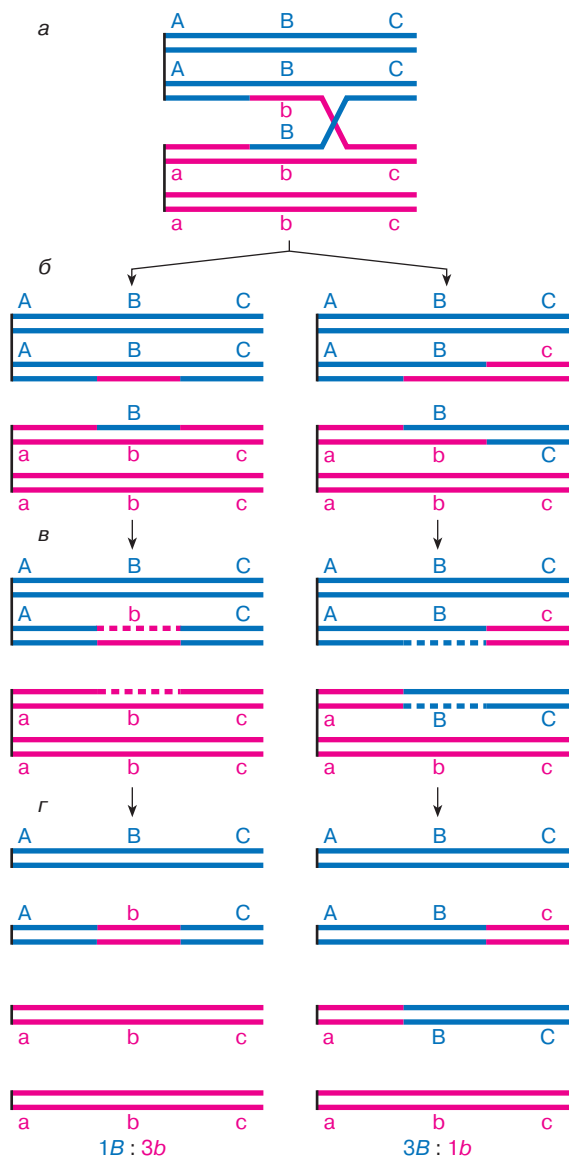
Эукариотические гомологи бактериальных белков MutL называют MLH (MutL homolog) или PMS (post meiotic segregation), а гомологи MutS — MSH (MutS homolog). Их удалось выявить по гомологии с бактериальными белками и с помощью биохимического анализа с использованием клеточных экстрактов. Как и у бактерий, эти белки могут участвовать и в исправлении ошибок репликации, и в конверсии. Главное доказательство участия каждого белка в конверсии — повышение частоты так называемой постмейотической сегрегации (ПМС) у мутанта по соответствующему гену. ПМС возникает как результат подавления конверсии и проявляется в виде секторных колоний, выросших из клеток, содержащих нерепарированный гетеродуплекс: каждая половина колонии несет один из аллелей, имеющихся в гетеродуплексе.

Эукариотические белки взаимодействуют с неспаренными основаниями по той же схеме, что и их бактериальные гомологи. Однако в отличие от бактерий эукариотические гомологи проявляют большое разнообразие и представлены семействами. У дрожжей обнаружены три гомолога MutL (MLH1, MLH2, PMS1) и шесть гомологов MutS (от MSH1 до MSH6), у человека — соответственно 11 и 4. Это свидетельствует о большей сложности и разнообразии систем коррекции у эукариот. Правда, не все белки заняты в конверсии. Так, дрожжевые белки MSH4 и MSH5 участвуют в мейотическом реципрокном кроссинговере, но не в конверсии. Белок MSH1 обеспечивает стабильность ДНК в митохондриях.

Функции некоторых белков еще не выяснены. Из гомологов MutL по крайней мере два — MLH1 и PMS1 (у человека PMS2) участвуют в исправлении ошибок репликации и в конверсии. У мутантов по генам, кодирующим эти белки, резко повышены частоты спонтанных мутаций и ПМС. В норме оба белка работают в комплексе, который эквивалентен одному бактериальному белку MutL. Из гомологов MutS по крайней мере три (MSH2, MSH3 и MSH6) функционируют в тех же процессах. MSH2 формирует два разных гетеродимера, один с MSH3, другой с MSH6. Первый участвует только в коррекции вставок/выпадения нуклеотидов, второй — и вставок/выпадения, и некомплементарных пар оснований. Эукариотическая система отличается от бактериальной и более широким спектром распознаваемых нарушений структуры дуплекса. Она узнает и репарирует гетерологии из 8–12 нуклеотидов (бактериальная не более трех). Кроме того, в клетках млекопитающих эта система узнает даже пары С-С. Отметим, что система участвует и в мейотической и в митотической конверсии. Недавно в лаборатории В.Г. Королева (Петербург) был обнаружен седьмой гомолог MutS у дрожжей — продукт гена HSM3. Оказалось, что новый белок участвует в каком-то ином пути коррекции гетеродуплекса, нежели система с участием PMS1.

## ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О КОНВЕРСИИ ГЕНА

В настоящее время общепризнаны две модели рекомбинации, приводящие к конверсии. Одна из них — модель Р. Холлидея, вторая — Дж. Жостака и др., в которой рекомбинация начинается с двуцепочечного разрыва в одном из гомологов. Обе модели рассмотрены в статье [1]. Для краткости изложения ограничимся демонстрацией конверсии на примере модели Холлидея (рис. 1). Поскольку читатель уже знаком с моделью, в рисунок включены только те ее этапы, которые непосредственно относятся к конверсии. Как видно из рис. 1, если в тетраде произошел кроссинговер в участке гена *B*, то соотношение аллелей генов *A* и *C*, внешних (фланговых) по отношению к участку кроссинговера, не изменяется и остается равным  $2A : 2a$  и  $2C : 2c$  (рис. 1, *а*), то есть рекомбинация по ним реципрокна. Напротив, рекомбинация маркеров, попавших непосредственно в участок кроссинговера, то есть в гетеродуплекс, обычно нереципрокна из-за коррекции неспаренных оснований, внесенных разными аллелями (*B* и *b*). Протяженность гетеродуплекса в мейотической рекомбинации достигает 1 т.п.н., в случае митотической рекомбинации она еще больше. Все гетерозиготные маркеры, попавшие в гетеродуплекс, обычно конвертируют совместно, что является следствием существования участка конверсии [3]. Этот факт основан на работе рассмотренной



**Рис. 1.** Упрощенная схема конверсии гена по модели Холлидея. Линии соответствуют цепям ДНК, две параллельные линии – хроматиде. Синий и красный цвета позволяют различать гомологов. Вертикальные линии слева обозначают центромеры, удерживающие сестринские хроматиды. Пара синих и пара красных сестринских хроматид образует тетраду. Более детально модель Холлидея представлена в [1]; *a* – полухиазма Холлидея, сформированная в результате обмена цепями между двумя хроматидами с последующей миграцией ветвления; *б* – два типа продуктов рекомбинации, возникшие в результате двух способов разрешения полухиазмы. Слева структуры с гетеродуплексом, но без кроссинговера по внешним маркерам. Справа структуры с гетеродуплексом и кроссинговером по внешним маркерам; *v* – в левой тетраде происходит конверсия от *B* к *b*, в правой – от *b* к *B*. Направление конверсии в тетрадах выбрано произвольно. Также произвольно выбрана и стадия, на которой происходит конверсия. Она может осуществляться и раньше, до разрешения полухиазмы; *г* – продукты рекомбинации

сайтов, в которых инициируется рекомбинация. В последние годы у дрожжей идентифицировано несколько таких сайтов. Их называют горячими точками рекомбинации. Например, по данным Дж. Жостака и др., частота конверсии в начале гена *ARG4* составляет около 7,4%, затем она постепенно снижается. Удаление участка из 875 п.н. непосредственно перед кодирующей рамкой гена снижает частоту конверсии до 0,8%. Сходная ситуация наблюдалась в случае гена *HIS4*, у которого горячая точка локализована в промоторном районе. А у гена *HIS2* горячая точка лежит на 700 п.н. после гена.

Еще одна важная характеристика конверсии, легшая, как помнит читатель, в основу модели Холлидея, заключается в том, что конверсия может сопровождаться, а может не сопровождаться кроссинговером по внешним маркерам (рис. 1, *в*, *г*), и эти случаи равновероятны. Это правило не распространяется на соматические клетки, по крайней мере грибов, где конверсия преобладает, а на долю реципрокного кроссинговера приходится менее 10% событий. Это свидетельствует о том, что распространенная точка зрения на конверсию как на процесс нереципрочной рекомбинации, который может сопровождаться, а может не сопровождаться кроссинговером, может быть видоизменена. Либо конверсия и кроссинговер – это разные процессы, либо они возникают в результате разных способов разрешения полухиазмы, и в случае конверсии этот способ ориентирован на разрешение, не приводящее к кроссинговеру.

**ЭКТОПИЧЕСКАЯ КОНВЕРСИЯ:  
РОЛЬ В ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОВ**

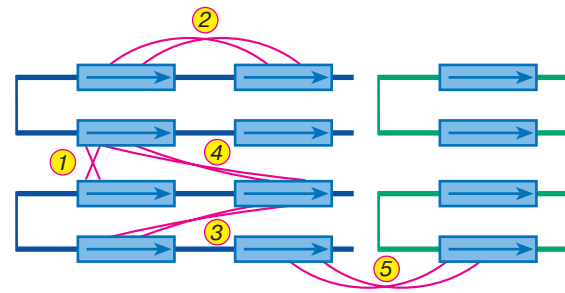
Мы рассмотрели классическую конверсию гена, происходящую между аллелями одного гена, то есть

выше системы коррекции с вырезанием и застройкой длинных брешей.

А теперь выделим другие основные закономерности процесса конверсии. Конверсия обычно равнонаправленна. Выбор удаляемого основания из двух неспаренных случаев, поэтому тетрады *3B : 1b* и *1B : 3b* равновероятны. Конверсия полярна. Это проявляется в том, что частоты конверсии разных аллелей одного гена закономерно снижаются, начиная с определенной точки, чаще всего от одного конца гена к другому. У дрожжей они обычно варьируют от 18% до долей процента. Так как частота конверсии аллеля зависит от вероятности его попадания в гетеродуплекс, то полярность указывает на наличие в хромосомах фиксированных

аллельную конверсию. Однако конверсия, как и кроссинговер, может быть эктопической. Напомним, что эктопическая рекомбинация происходит между повторяющимися последовательностями (повторами) ДНК, в избытке представленными в геноме, особенно у эукариот: гены гистонов, глобинов, рибосомных и транспортных РНК, подвижные генетические элементы и многие другие. Значение эктопической конверсии трудно переоценить, и связано это с особой ролью повторов. Эктопическая конверсия в половых клетках играет роль в эволюции генов. В настоящее время общепризнана теория, что конверсия действует как механизм, исправляющий мутации в повторах путем их постоянной “сверки”. Именно конверсии приписывается роль в поддержании генетической однородности повторов, как тандемных, так и диспергированных по геному. Например, у дрожжей гены рибосомной РНК образуют около 100 тандемных повторов 9 т.п.н.-единиц (на гаплоидный геном), и у каждого штамма дрожжей их последовательности одинаковы. Кроме того, в определенных условиях конверсия, по-видимому, может действовать и в обратном направлении, распространяя мутации и обеспечивая согласованную дивергенцию повторов. Тем самым она участвует в так называемой согласованной (concerted) эволюции. Согласованная эволюция заключается в необычном поведении мультигенных семейств, чьи члены не дивергируют независимо, а проявляют сходство внутри вида (или штамма), но синхронно накапливают различия между видами.

В этом разделе мы ограничимся анализом эктопической конверсии прямых повторов ДНК (рис. 2) как более исследованной, имея в виду, что основные результаты ее изучения приложимы и к конверсии инвертированных повторов. Такая рекомбинация наиболее изучена у дрожжей. Несмотря на некоторые расхождения между результатами разных авторов, можно выделить общие закономерности. Сначала рассмотрим мейотическую рекомбинацию. Здесь бросается в глаза тот факт, что внутрихромосомная и гетерохромосомная реципрокная рекомбинация (кроссинговер) резко подавлены по сравнению с аллельной (неравный кроссинговер в меньшей степени). Зная об их роли в возникновении вредных хромосомных перестроек, это неудивительно. В отличие от реципрокных обменов частоты внутрихромосомной конверсии мало отличаются от частот аллельной: и те и другие составляют около 1–3% тетрад. Частоты гетерохромосомной конверсии (~0,5%) также близки к аллельной. Но в отличие от аллельной эктопическая конверсия практически никогда не сопровождается кроссинговером. Считается, что этот факт имеет большое значение для роли конверсии в поддержании стабильности повторяющихся генов: очень важно, чтобы процесс сверки повторов



**Рис. 2.** Рекомбинация между прямыми повторами ДНК. Линии изображают хроматиды в профазе мейоза I. Вертикальные линии, соединяющие сестринские хроматиды, соответствуют центромерам. Негомологичная тетрада выделена зеленым цветом. Прямоугольники изображают гомологичные прямые повторы, стрелки внутри прямоугольников – их ориентацию. Х-образные соединения указывают на рекомбинацию (кроссинговер или конверсия). Рекомбинация по пути 1 аллельная, остальные относятся к эктопической. Рекомбинацию по путям 2 и 3 называют внутрихромосомной, 4 – межхромосомной (неравный кроссинговер), 5 – гетерохромосомной. Реципрокные кроссинговеры по пути 2 ведут к делециям, 3 и 4 – к сопряженным делециям и дупликациям, 5 – к транслокациям

не сопровождался кроссинговером – источником перестроек хромосом. Важный критерий для оценки роли эктопической конверсии в эволюции – ее частоты в половых клетках. Показано, что в сперматиде мыши она столь же активный процесс, как и у дрожжей: внутрихромосомная конверсия последовательностей длиной 2,5 т.п.н. составляет ~2%, гетерохромосомная ~0,7%.

Уровни всех типов митотической рекомбинации намного ниже по сравнению с мейотической. Подобно мейотическим клеткам, здесь также резко подавлен эктопический кроссинговер, тогда как уровни эктопической и аллельной конверсий близки. И здесь отсутствие реципрокных обменов объясняет работу эктопической конверсии в поддержании гомогенности повторов. Ведь не следует забывать, что у вегетативно размножающихся дрожжей митотические клетки обеспечивают передачу генетического материала в ряду поколений, так же как и мейотические клетки. Подавление реципрокных эктопических обменов подтверждает приведенные выше предположения, что существуют ограничения для механизма разрешения рекомбинационных интермедиатов, приводящего к кроссинговеру, или что кроссинговер и конверсия – разные процессы. Интересно, что недавно у дрожжей был выявлен ген *HPRI*, продукт которого специфически подавляет реципрокную рекомбинацию между повторами и не влияет на другие типы рекомбинации.

## БЕЛКИ MutS и MutL ДЕЙСТВУЮТ КАК ГЕНЕТИЧЕСКИЙ БАРЬЕР ДЛЯ ГОМЕОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ

Еще одна функция конверсионной системы если не всей, то ее основных компонентов — белков MutS и MutL — заключается в контроле над гомеологической рекомбинацией. Так называют кроссинговер между родственными, но дивергировавшими последовательностями ДНК. Контроль такой рекомбинации должен препятствовать нежелательным перестройкам между членами уже дивергировавших семейств генов и генетическим обменам при межвидовой гибридизации. Иными словами, он обеспечивает стабильность и целостность геномов, с одной стороны, и генетическую изоляцию — с другой.

Гетеродуплексы, формирующиеся при гомеологических обменах, содержат множественные неспаренные основания, которые служат мишенью для коррекционной системы. Действительно, в опыте *in vitro* было показано, что белки MutS и MutL *E. coli* связываются с рекомбинационным гетеродуплексом, сформированным из цепей ДНК, дивергировавших на несколько процентов их нуклеотидного состава, и препятствуют рекомбинации путем подавления миграции ветвления (о миграции ветвления см. [1]). Но особенно показательны результаты генетических экспериментов. При скрещивании *E. coli* с сальмонеллой (дивергенция нуклеотидных последовательностей их ДНК составляет около 20%) частота генетических рекомбинантов снижается на четыре порядка по сравнению с внутривидовым скрещиванием. У мутантов с инактивацией белка MutS и/или MutL частота рекомбинантов возрастает в 1–3 тыс. раз, что прямо указывает на снятие блока рекомбинации. Правда, снятие блока неполное, всего на 10–30%. Последний факт можно объяснить тем, что высокий уровень дивергенции сам по себе препятствует рекомбинации: для рекомбинации необходимо, чтобы хотя бы в районе ее инициации имелся участок полной гомологии, что является существенным ограничением. Но, как бы то ни было, роль белков MutS и MutL даже на таком фоне проявляется достаточно ярко. Как полагает французский исследователь М. Радман, существуют два механизма подавления гомологической рекомбинации этими белками. Основной механизм действует путем подавления едва начавшейся рекомбинации, запрещая миграцию ветвления, с последующим выбрасыванием внедрившейся в гетеродуплекс чужеродной ДНК с помощью хеликазы MutU. Второй механизм зависит от белка MutH, но в нем также участвуют MutS и MutL. Детали его пока не выяснены.

У дрожжей и клеток млекопитающих подавление гомеологической рекомбинации менее выражено (не бо-

лее чем в 200 раз) по сравнению с бактериями. Тем не менее обнаружено участие в этом подавлении гомологов MutS — белков MSH2 и MSH3. У дрожжей инактивация каждого из белков повышает уровень гомеологической рекомбинации на 10–20%, тогда как у двойных мутантов она возрастает до 30%, что говорит о том, что оба белка работают независимо друг от друга.

## КОНВЕРСИЯ И СИНАПСИС ГОМОЛОГИЧНЫХ ХРОМОСОМ В МЕЙОЗЕ

Описание конверсии гена будет неполным без упоминания гипотезы о ее роли в мейозе, выдвинутой А.Карпентером и другими исследователями более десяти лет назад. Согласно гипотезе, в мейозе конверсия и кроссинговер являются отдельными процессами, разобращенными во времени и играющими разные роли. Функционирование аппаратов конверсии и кроссинговера связано с особыми уплотнениями в местах контактов ДНК и синаптонемного комплекса, называемыми рекомбинационными узелками. Они бывают двух типов: ранние и поздние. Первые связаны с конверсией, вторые (их в несколько раз меньше) — с кроссинговером. По времени появления в мейозе узелки совпадают с приписываемыми им процессами. Конверсия происходит в зиготене или даже лептотене. Роль конверсии заключается в проверке гомологии между хромосомами после их временного синапсиса. Проверка осуществляется прямым сравнением последовательностей ДНК через попытку сформировать гетеродуплекс. При наличии гомологии ситуация стабилизируется при участии синаптонемного комплекса. При отсутствии гомологии хромосомы расходятся для новых попыток поиска гомологии. События кроссинговера происходят в пахитене и приводят к формированию хиазм, которые необходимы для правильного расхождения гомологов в анафазе I.

Изложенная гипотеза получила убедительные, хотя и косвенные подтверждения, полученные при изучении мутантов, дефектных по мейозу. Например, у дрожжей мутант *mer1* образует нежизнеспособные аскоспоры (это означает, что у него нарушен мейоз) и дефектен по обоим типам мейотической рекомбинации и спариванию гомологических хромосом. Если в клетку мутанта *mer1* ввести на плазмиде другой ген *MER2* в большом числе копий, то у него одновременно полностью восстанавливаются способность к конверсии и спариванию хромосом, но не кроссинговер и не жизнеспособность спор. Эти данные указывают на роль конверсии в поиске гомологии и на то, что синапсис — прямое следствие поиска гомологии. В то же время они свидетельствуют о роли кроссинговера в расхождении хромосом, поскольку нерасхождение хромосом в

результате подавления кроссинговера приводит к утрате жизнеспособности аскоспор. И все же гипотезу о роли конверсии в мейозе рано признавать доказанной.

## КАССЕТНЫЙ МЕХАНИЗМ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Этот способ переключения генов распространен в природе. Он заключается в том, что некоторые активно экспрессирующиеся гены могут заменяться на другие аллели, с помощью эктопической конверсии меняя свою последовательность на последовательность гомологичных, но неидентичных и в норме неэкспрессирующихся (молчащих) генов, несущих резервную информацию и обычно называемых кассетами. Для многих организмов это важный механизм онтогенетической изменчивости. Наиболее изучен механизм переключения типов спаривания у дрожжей.

Следует оговорить, что переключение типов спаривания — сложная система как в смысле структурной организации участвующих генетических локусов, так и в отношении генетической регуляции процесса. Из-за недостатка места рассмотрим только тот ее аспект, который непосредственно связан с участием конверсионного механизма. У гаплоидных клеток дрожжей существуют два половых типа:  $\alpha$  и  $a$ , что соответственно определяется наличием в клетке одного из двух состояний локуса *MAT*: *MAT $\alpha$*  или *MAT $a$* . При встрече клетки разных типов копулируют. У гетероталлических штаммов ( $ho$ ) локус *MAT* стабилен, но у гомоталлических штаммов ( $HO$ ) клетки прорастающих аскоспор могут менять свой тип спаривания на противоположный с вероятностью, близкой к единице на генерацию. Это позволяет гаплоидным клеткам продуцировать клетки противоположного полового типа и затем копулировать с образованием диплоидов *MAT $a$ /MAT $\alpha$* . Экспрессия *MAT $a$* , и *MAT $\alpha$*  в диплоидной клетке выключает ген *HO* и создает некопулирующие клетки, которые способны к мейозу и споруляции с образованием гаплоидных клеток обоих типов спаривания ( $2a : 2\alpha$ ). *MAT*-локус расположен в хромосоме 3 (рис. 3, *a*).

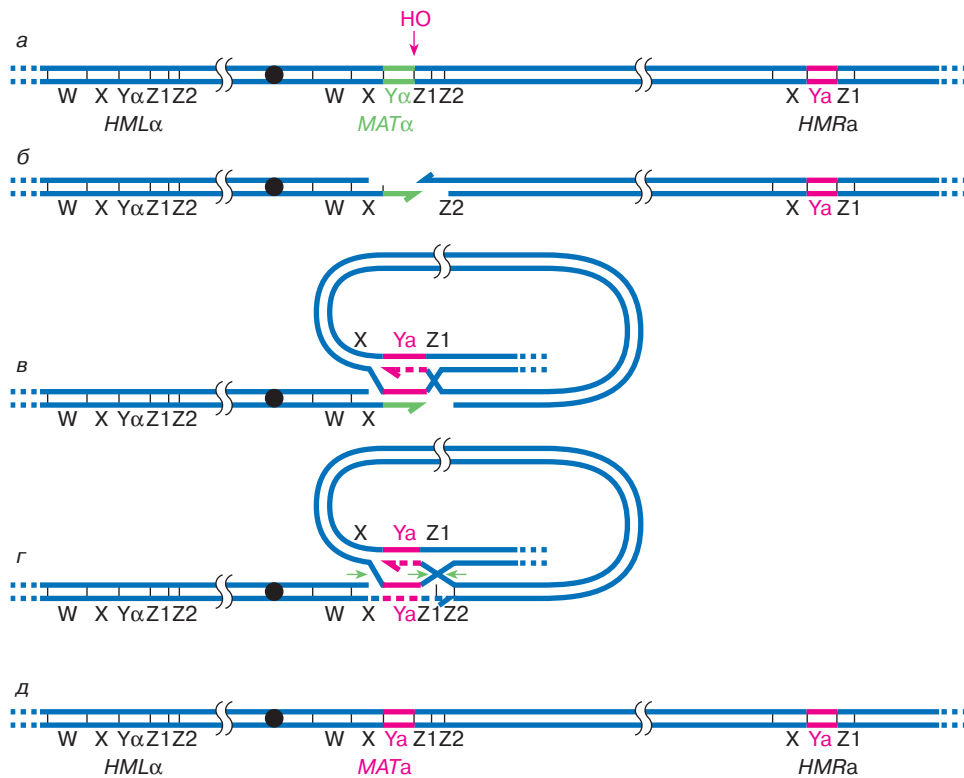
Рассмотрим схему переключения локусов. В правом плече хромосомы рядом с центромерой находится экспрессируемый локус (*MAT $a$*  или *MAT $\alpha$* ), определяющий тип спаривания, дистальнее находится молчащий локус — кассета *HMR $a$*  (для  $a$ -типа спаривания). В левом плече находится кассета *HML $\alpha$*  (для  $\alpha$ -типа). Как видно из рис. 3, *a*, локусы *MAT* более гомологичны с *HML $\alpha$*  (все имеют районы *W* и *Z2*), чем с *HMR $a$* , который лишен их. Ключевую роль в определении типа спаривания играют районы *Y $a$*  (650 п.н.) и *Y $\alpha$*  (750 п.н.). Переключение типа спаривания заключается в замене

одного *Y*-района на другой с использованием генетической информации соответствующей кассеты.

Переключение находится под контролем гена *HO*, который кодирует сайт-специфическую эндонуклеазу, делающую двуцепочечный разрыв в локусе *MAT* (на рис. 3, *a* это *MAT $\alpha$* ) на границе между районами *Y* и *Z1* (рис. 3, *a, б*). Разрыв никогда не происходит в кассетах. Разрыв инициирует конверсию *Y*-района, которая всегда направлена на удаление исходного *Y*-района и его замену районом из кассеты. Направление конверсии, очевидно, определяется наличием разрыва в реципиентном участке хромосомы. При этом донорная кассета сохраняется. Предполагаемая молекулярная модель процесса конверсии представлена на рис. 3. Нетрудно заметить ее сходство с моделью Жостака и др. (см. [1]). Однако данный процесс отличается тем, что конверсия при переключении *MAT*-локусов в норме не сопровождается кроссинговером: это привело бы к губельной для клетки делеции большого участка хромосомы. Считается, что способ разрешения рекомбинационных интермедиатов без кроссинговера может достигаться с помощью топоизомеразы I.

Сходный механизм наблюдается у африканских трипаносом и некоторых патогенных бактерий. Африканские трипаносомы — это возбудители сонной болезни у людей и болезни нагана у рогатого скота. В кровотоке хозяина поверхность трипаносомы покрыта однородной оболочкой из особого гликопротеина, являющегося антигеном. Последний бывает разных типов, и состав оболочки может меняться в результате смены гликопротеина. Поэтому он называется VSG (variant surface glycoprotein). Непрерывная смена VSG позволяет паразиту уходить от иммунного ответа хозяина. Хотя геном содержит более 1000 гомологичных, но неидентичных генов VSG, в каждой клетке экспрессируется только один. Сайт экспрессии находится в телемере одной из хромосом. С 5'-стороны к гену в сайте экспрессии примыкает район из переменного по числу набора 76 п.н. повторов, которые ведут себя как горячие точки рекомбинации. Замена гена VSG в сайте экспрессии происходит путем направленной конверсии, которая простирается от 76 п.н. повторов к 3'-концу гена. Реципрокный кроссинговер наблюдается в очень редких случаях.

Приведем еще один интересный пример. Известно, что гены иммуноглобулинов — антител, лежащих в основе иммунитета у позвоночных, формируются в ходе дифференцировки В-лимфоцитов путем рекомбинационной состыковки кодирующих *V*, (*D*) и *J*-сегментов, случайно выбранных из множества им подобных. Эта комбинаторика сегментов обеспечивает разнообразие антител в первую очередь (см. [4]). Однако это



**Рис. 3.** Предполагаемая схема переключения типа спаривания у гомоталлических штаммов дрожжей: *а* – структура и расположение локусов типа спаривания в хромосоме 3. На схеме представлена хромосома 3 в клетке α-типа спаривания. Это определяет направление переключения к а-типу. W, X, Ya, Yα, Z1 и Z2 – районы, составляющие локусы типа спаривания. Красная стрелка указывает сайт двуцепочечного разрыва в локусе MAT, образуемого HO-эндонуклеазой; *б* – от двуцепочечного разрыва в локусе MATα происходит деградация 5'-концов цепей ДНК с образованием выступающих рекомбиногенных 3'-концов (показаны полустрелками); *в* – образовавшиеся 3'-концы вступают в синапсис с гомологичным районом в кассете HMRa. Для этого хромосома образует петлю. Один из 3'-концов действует как затравка для репаративного синтеза (показан пунктиром) по матрице донорной последовательности Ya (выделена красным цветом); *г* – второй 3'-конец, несущий реципиентную последовательность Yα подвергается направленной конверсии по матрице Ya. Зеленые стрелки указывают точки разрывов для осуществляемого топоизомеразой I разрешения рекомбинационного интермедиата; *д* – продукт переключения – хромосома 3 с локусом MATa

наблюдается не у всех видов. У кролика и некоторых птиц происходит состыковка одинаковых сегментов с образованием одного гена тяжелой цепи и одного гена легкой. Разнообразие генов достигается путем направленной конверсии этих двух генов за счет других иммуноглобулиновых сегментов, играющих роль доноров генетической информации, то есть в этом случае процесс также осуществляется по типу кассетного механизма.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы рассмотрели механизмы и генетический контроль конверсии гена лишь кратко коснувшись биологических аспектов этого явления. А между тем биологическое значение конверсии огромно. В эволюционном плане

она имеет прямое отношение к поддержанию стабильности генетического материала. Оно осуществляется путем предотвращения кроссинговера между дивергировавшими ДНК, а также путем поддержания однородности повторяющихся последовательностей ДНК. В то же время конверсия может обеспечивать генетическую изменчивость, функционируя в направлении фиксации мутаций. Участвуя в согласованной эволюции повторов ДНК, конверсия может приводить к их общей дивергенции. Вполне вероятно и позитивная роль конверсии в осуществлении синапсиса гомологов в мейозе.

Конверсия (эктопическая) участвует в индивидуальной изменчивости организмов, так как происходит в соматических клетках многоклеточных и клетках



вегетативно размножающихся одноклеточных. В качестве примера мы рассмотрели каскадный механизм переклечения генов, изученный у некоторых патогенных бактерий, дрожжей, трипаносом и даже позвоночных животных.

Не следует забывать, что конверсия обогатила науку о генетической рекомбинации, результаты ее исследования лежат в основе всех современных моделей рекомбинации. В этой связи нельзя обойти вопрос о взаимосвязи между конверсией и кроссинговером. С одной стороны, из рассмотрения моделей рекомбинации следует, что конверсия является этапом общего процесса кроссинговера. С другой стороны, накоплено множество данных о том, что многие мутации рекомбинационных генов по-разному влияют на оба типа рекомбинации: одни избирательно подавляют конверсию, другие – кроссинговер. В то же время мы видим, что в одних случаях рекомбинация сводится преимущественно к кроссинговеру, например при конъюгации и трансдукции у бактерий, в других – к конверсии. Таким образом, конверсия и кроссинговер часто выступают как независимые явления. Но насколько независимы? На этот вопрос еще нет ответа. Оба процесса базируются на общих моделях. В этой связи привлекательна выдвигаемая многими исследователями и рассмотренная в этой статье идея, что конверсия и кроссинговер различаются способом разрешения полухиазмы или другого рекомбинационного интермедиата. Пред-

полагается, и тому есть экспериментальные подтверждения, что разрешение, приводящее к конверсии, осуществляется с помощью топоизомеразы I, которая, обладая свойством разделять цепи ДНК, просто разводит гомологов (см. рис. 3). Если это так, то можно ожидать, что выбор пути, по которому пойдет рекомбинация, регулируется на уровне разрешения рекомбинационного интермедиата.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Глазер В.М. Гомологичная генетическая рекомбинация // Соросовский Образовательный Журнал. 1998. № 7. С. 13–21.
2. Сойфер В.Н. Репарация генетических повреждений // Там же. 1997. № 8. С. 4–13.
3. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: Высш. шк., 1989. С. 157–160.
4. Абелев Г.И. Основы иммунитета // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 5. С. 4–10.

*Рецензент статьи* С.Г. Инге-Вечтомов

\* \* \*

Вадим Моисеевич Глазер, кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики МГУ. Автор более 100 публикаций в области генетики микроорганизмов и молекулярной генетики.