

ЧАСТЬ 6. ОБЩАЯ, ПОПУЛЯЦИОННАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА

РОЛЬ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА *HSM* ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* В ПРОЦЕССАХ МОДИФИКАЦИИ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА

А. Ю. Черненко, Д. В. Федоров, Т. А. Евстюхина, Т. Н. Кожина, В. Г. Королев
Петербургский институт ядерной физики, Гатчина
E-mail: ancher@omrb.pnpi.spb.ru

В нашей лаборатории получена коллекция мутантов *hsm* дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Мутанты *hsm2*, *hsm3* и *hsm6* характеризуются повышенным уровнем спонтанного мутагенеза, однако не проявляют чувствительности к летальному действию различных физических и химических агентов, повреждающих ДНК. Мутант *him1* отличается повышенным уровнем УФ-индуцированного мутагенеза и фенотипически сходен с мутантом *hsm3*. Изначально продукты генов *HSM2* и *HSM3* были отнесены к белкам, принимающим участие в работе системы коррекции ошибочно спаренных оснований (КОСО, мисматч-репарация) у дрожжей-сахаромицетов; продукт гена *HSM6* был отнесен к семейству вспомогательных ДНК-полимераз; функции белка *Him1* не известны до сих пор.

Наше исследование показало, что все указанные гены (*HSM2*, *HSM3*, *HSM6* и *HIM1*) не только принимают участие в контроле механизмов репарации ДНК и мутагенеза у дрожжей *S. cerevisiae*, но также регулируют работу белковых комплексов, отвечающих за процессы модификации и ремоделирования структуры хроматина у дрожжей.

Нами установлено, что продукт гена *HSM2* принадлежит к семейству хроматин-ассоциированных HMG-белков (от англ. High mobility group), вовлечен в процессы поддержания стабильности структуры хроматина, участвует в процессах транскрипции, являясь субъединицей PolII, и ассоциирован с ДНК-геликазой FrgI [неопубликованные данные].

Мы показали, что ген *HSM6* является аллелем гена *PSY4* [2]. Кодированный последним белок – Psy4p – является субъединицей комплекса Pph3-Psy2-Psy4, ответственного за дефосфорилирование гистона γ H2A. Белок Psy4 взаимодействует с Mec1p, Rad53p и Rad9p – главными белками, отвечающими за активацию чекпойнтной киназы Dun1, которая, в свою очередь, регулирует уровень пула дезоксирибонуклеотидтрифосфатов (ДНТФ), оказывая влияние на эффективность работы рибонуклеотидредуктазы (РНР). Одиночные мутанты *psy4(hsm6)* не отличаются по частоте возникновения мутаций, индуцированных УФ- и гамма-излучением, от контрольного штамма дикого типа. Однако двойные мутанты, несущие обе мутации (*hsm6* и *pph3*), резко (в 50–100 раз) повышают уровень индуцированного мутагенеза, что может говорить о влиянии мутаций в гене *HSM6* на стабильность хроматина [неопубликованные данные].

О функциях гена *HSM3* изначально было известно лишь, что он принимает участие в работе одной из систем КОСО у дрожжей и, предположительно, имеет шаперонную функцию. Нами было получено несколько мутантов по гену

HSM3. Их анализ показал, что Hsm3p имеет мультидоменную структуру [4]: N-концевой домен имеет сходство с белком Msh2 системы мисматч-репарации, центральная часть ответственна за взаимодействие с субъединицами протеасомы, а С-концевой домен отвечает за контроль спонтанного и индуцированного мутагенеза. Мутации в С-концевом домене не оказывают влияние на шаперонную функцию белка Hsm3p при взаимодействии с Rpt1, Rpt2, Rpt5 и Rpn1 субъединицами протеасомы. Анализ сверхэкспрессии белка Hsm3 показал корреляцию количества мутантного белка в клетке с ростом уровня спонтанного мутирования, без влияния на выживаемость клеток.

Мы показали, что Hsm3p принимает участие в контроле работы систем пост-репликативной и гомологичной рекомбинационной репарации [3, 5], а наличие мутаций в гене *HSM3* переключает репарационные ветви на склонный к ошибкам путь устранения повреждений. Мутации в гене *HSM3* приводят к дестабилизации D-петли и остановке ее процессирования. Более того, комбинация некоторых мутаций семейства *hsm* с мутациями по генам *RAD52* и *RAD54* приводит к существенному (на 150–250%) росту уровня индуцированного мутагенеза, 10-кратному падению выживаемости у двойных мутантов [неопубликованные данные] и 30–50% изменению уровня спонтанного мутагенеза [6]. Дальнейшее изучение указанных эффектов представляет интерес с точки зрения того, что недавно было установлено, что оба белка (*Rad52* и *Rad54*) имеют отношение не только к репарации ДНК, но и к ремоделированию структуры хроматина.

Мы также установили, что белок Hsm3p принимает участие в работе гисто-нацетилазного комплекса НАТ-В/NuB4, взаимодействуя с его субъединицами – *Nat1*, *Nat2* и *Hif1* [7]. Функционально белки Hsm3 и *Hif1* схожи и оказывают, меняя эффективность работы комплекса НАТ-В, влияние на уровень пула ДНТФ в клетке, что отражается на стабильности ДНК, эффективности репарационных процессов и последующем ремоделировании (восстановлении) структуры хроматина.

Мы показали, что белок Hsm3 взаимодействует с *Asf1p* – одним из основных чекпойнтных модификаторов и белков-сборщиков хроматина, и гистон-метилазой *Dot1* [неопубликованные данные]. Это позволяет предполагать, что Hsm3p прямо или косвенно может влиять на чекпойнт и процесс не только ацетилирования, но и метилирования гистонов у дрожжей. С белком *Sin3* – гистондеацетилазой, функциональным антагонистом *Nat1p* – белок Hsm3 не взаимодействует. Однако с *Sin3p* взаимодействует *Him1p*, причем фенотипы двойных мутантов *hsm3hat1* и *him1sin3* схожи. Более того, нами показано, что *Sin3p* также оказывает влияние на уровень пула ДНТФ в клетке [1].

Литература

1. Лебовка И. Ю., Кожина Т. Н., Федорова И. В., Пешехонов В. Т., Евстюхина Т. А., Черненко А. Ю., Королев В. Г. Гистон деацетилаза *Sin3* контролирует уровень спонтанного и УФ-индуцированного мутагенеза в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* // Генетика. 2014. Т. 50. № 1. С. 5–11.
2. Федоров Д. В., Ковальцова С. В., Евстюхина Т. А., Пешехонов В. Т., Черненко А. Ю., Королев В. Г. Ген *HSM6* идентичен гену *PSY4* дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Генетика. 2013. Т. 49. № 3. С.328–336.

3. Черненко А. Ю., Грачева Л. М., Евстюхина Т. А., Ковальцова С. В., Пешехонов В. Т., Федорова И. В., Королев В. Г. Взаимодействие гена *HSM3* с генами эпистатической группы *RAD6* у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Генетика. 2012. Т. 48. № 2. С. 160–167.

4. Черненко А. Ю., Иванова С. В., Ковальцова С. В., Грачева Л. М., Пешехонов В. Т., Федорова И. В., Королев В. Г. Генетический анализ доменной структуры белка Hsm3 дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Генетика. 2010. Т. 46. № 6. С. 742–749.

5. Черненко А. Ю., Федоров Д. В., Грачева Л. М., Евстюхина Т. А., Ковальцова С. В., Пешехонов В. Т., Федорова И. В., Королев В. Г. Взаимодействие гена *HSM3* с генами, инициирующими гомологичную рекомбинационную репарацию у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Генетика. 2012. Т. 48. № 3. С. 333–339.

6. Черненко А. Ю., Федоров Д. В., Косарева А. А., Кожина Т. Н., Королев В. Г. Изменение частот спонтанного мутагенеза при комбинациях мутаций *hsm3* и *hsm6* с мутацией *rad52* в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Генетика. 2014. Т. 50. № 2. С. 243–245.

7. Chernenkov A., Fedorov D., Kosareva A., Kozhina T., Evstiukhina T., Peshekhonov V., Korolev V. The role of *Saccharomyces cerevisiae* *HSM3* and *HSM6* genes in DNA repair, mutagenesis and chromatin modifications // FEBS Journal. 2013. Vol. 280 (Suppl. 1). P. 65.

THE ROLE OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* HSM-FAMILY GENES IN CHROMATIN REMODELING AND MODIFYING

A. YU. CHERNENKOV, D. V. FEDOROV, T. A. EVSTYUKHINA,
T. N. KOZHINA, V. G. KOROLEV

Petersburg Nuclear Physics Institute, Saint-Petersburg, Gatchina

Summary. Members of the *HSM*-family (*HSM2*, *HSM3*, *HSM6* and *HIM1* genes) take part as in DNA repair and mutagenesis, so in chromatin structure maintenance, modifying and remodeling. The protein products of mentioned genes have versatile roles in case of their multidomain structures. These proteins can affect genome stability because of their influence on dNTP pool in yeast cells and great mutability under the effects of DNA damaging agents.

ПОИСК ИСТОЧНИКОВ УСТОЙЧИВОСТИ КАРТОФЕЛЯ К ГЛОБОДЕРОЗУ ПРИ ПОМОЩИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

О. А. КУЗМИНОВА, С. Г. ВОЛОГИН, З. СТАШЕВСКИ, Е. А. ГИМАЕВА

Татарский НИИ сельского хозяйства, Казань

E-mail: KuzminovaOA.OK@gmail.com

Нематодные болезни картофеля широко распространены и значительно снижают не только урожайность культуры, но и товарные качества клубней, резко увеличивают отходы картофеля при хранении. К наиболее распространенным и вредоносным фитогельминтозам картофеля относится глободероз, вызываемый золотистой нематодой (*Globodera rostochiensis* Woll и *Globodera pallida*). Ущерб, причиняемый картофельной нематодой, при сильном заражении может достигать 85–90 %. В Европе и в России цистообразующие нематоды, поражающие картофель, имеют статус карантинных патогенов [9]. На территории России распространена только золотистая картофельная нематода патогена *Ro1*. По данным карантинной службы, *G. rostochiensis* зарегистрирована в 56 регионах РФ на площади более 53 тыс. га [1].