

*Олег ТООМПУУ, Виктор ЩЕРБАКОВ*

## ИЗУЧЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИИ У ФАГА Т4.

### I. ТЕОРИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МОДЕЛЕЙ ТИПА РАЗРЫВА — ВОССОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ПОПУЛЯЦИОННЫХ ФАГОВЫХ СКРЕЩИВАНИЙ С ТЕСНО СЦЕПЛЕННЫМИ МАРКЕРАМИ

#### Постановка задачи

Современные модели генетической рекомбинации построены в основном на качественном уровне. Количественная их формализация открыла бы возможности для более строгой экспериментальной проверки предсказаний, вытекающих из этих моделей, а также позволила бы находить новые подходы для изучения механизма рекомбинации.

Особенно интересным кажется создание адекватной количественной теории рекомбинации у фагов — наиболее изученных простейших генетических систем. Однако независимо от количественной модели, положенной в основу такой теории, здесь приходится учитывать одно серьезное осложнение — это популяционный характер фаговых скрещиваний. Ч. Штейнберг и Ф. Сталь показали (Steinberg, Stahl, 1958), что теория мейтингов Н. Висконти и М. Дельбрюка (Visconti, Delbrück, 1953), которая рассматривает поведение классической модели кроссинговера в популяционных скрещиваниях, остается формально справедливой для любой другой модели рекомбинации, если придерживаться представления о дискретных мейтингах (т. е. о законченных, неперекрывающихся рядах рекомбинационных событий), которые распределены в популяции между родословными геномом случайно и независимо. Обобщенная теория попарных мейтингов была успешно применена для создания линейных картирующих функций фага Т4 и для определения общей длины генетической карты этого фага в рекомбинационных единицах (Stahl, Steinberg, 1964; Stahl и др., 1964). В качестве инструмента для изучения структуры самих мейтингов эта теория, насколько нам известно, не применялась.

Целью настоящей работы является изучение количественных свойств таких моделей генетической рекомбинации, в основе которых лежит идея о разрыве и воссоединении рекомбинирующих нитей ДНК. К моделям такого типа относятся, например, классическое представление о рекомбинации как кроссинговере, модель Р. Холлидея (Holliday, 1964, 1968), модель Х. Л. К. Вайтхауза и П. Дж. Хастингса (Whitehouse, Hastings, 1965), модель Т. Р. Брокера и Дж. Р. Лемана (Broker, Lehman, 1971), а также модель Дж. Мозиг (Mosig и др., 1971).

Используя представление о неперекрывающихся мейтингах, будем применять полученные результаты к популяционным фаговым скрещиваниям с тесно сцепленными маркерами.

### Определения

В нашем изложении примем терминологию Ч. Штейнберга и Ф. Сталя (Steinberg, Stahl, 1958). Мейтингами будем называть такие законченные, неперекрывающиеся последовательности рекомбинационных событий, посредством которых осуществляются все цветовые переходы локусов в скрещивающейся популяции хромосом. Согласно названным авторам, аллельные локусы двух вступивших в генетическое взаимодействие родителей всегда «окрашены в разные цвета», независимо от того, несут ли эти локусы разные или одинаковые маркеры. Понятие цветового перехода отражает обмен генетической информацией между аллельными локусами, включая случай обмена идентичной информацией в мейтинге изогенных родителей. В трехфакторном скрещивании любой вышедший из мейтинга геном либо имеет во всех трех локусах идентичный цвет с одним из родителей (ни один из изучаемых локусов не претерпел цветового перехода), либо отличается от одного из родителей по цвету только в одном локусе. В последнем случае считается, что цветовой переход произошел именно в этом указанном локусе. Для двухфакторного скрещивания, ввиду симметрии, локус, претерпевший цветовой переход, будет определяться условно при рассмотрении механизма мейтингов.

В дальнейшем нам придется оценивать средние вероятности цветового перехода изучаемых локусов в одном мейтинге. В теории Ч. Штейнберга и Ф. Сталя (Steinberg, Stahl, 1958) эти вероятности дают возможность находить частоты рекомбинантов любого типа в скрещивающейся популяции хромосом, если известен состав популяции в нулевой момент скрещивания. В частности, для стандартных двух- и трехфакторных скрещиваний типа  $I^{+}II^{-} \times I^{-}II^{+}$  и  $I^{+}II^{-}III^{+} \times I^{-}II^{+}III^{-}$  при тесном сцеплении маркеров и равной множественности заражения обоими родителями из этой теории следует, что

$$\bar{R}_{++} = \bar{R}_{--} = \frac{1}{4} \bar{m} (\omega^I + \omega^{II}), \quad (1)$$

$$\bar{R}_{++-} = \bar{R}_{--+} = \frac{1}{4} \bar{m} \omega^I, \quad (2)$$

$$\bar{R}_{+++} = \bar{R}_{---} = \frac{1}{4} \bar{m} \omega^{II}, \quad (3)$$

$$\bar{R}_{-++} = \bar{R}_{+--} = \frac{1}{4} \bar{m} \omega^{III}, \quad (4)$$

где  $R_{++}$  и  $R_{--}$  соответственно частоты комбинаций маркеров  $I^{+}II^{+}$  и  $I^{-}II^{-}$  среди фаговых частиц, созревших в двухфакторной популяции с усредненным числом мейтингов  $\bar{m} = \frac{1}{2}(m_1 + m_2)$  на родословную одной хромосомы ( $m_1$  принимается за среднее число мейтингов в родословной первой созревшей хромосомы, а  $m_2$  — за среднее число мейтингов в родословной хромосомы, созревшей последней);  $\bar{R}_{++-}$  — аналогичная частота комбинаций  $I^{+}II^{+}III^{-}$  среди зрелых фаговых частиц из трехфакторной популяции и т. д.;  $\omega^I$ ,  $\omega^{II}$  и  $\omega^{III}$  обозначают средние вероятности цветового перехода соответственно локусов I, II и III в одном мейтинге.

### Формализация рекомбинационных моделей типа разрыва — воссоединения и применение их к популяционным фазовым скрещиваниям

В обобщенной теории попарных мейтингов (Steinberg, Stahl, 1958) мейтинг принимается за «черный ящик», структура которого не рассматривается. Мы припишем этому «черному ящику» содержание рекомбинационной модели Р. Холлидея (Holliday, 1964). Модель Р. Холлидея предназначалась для объяснения данных по рекомбинации у грибов, но она имеет, по-видимому, более общее значение, так как содержит основные формальные элементы многих других моделей типа разрыва — воссоединения. Значит, количественное рассмотрение модели Р. Холлидея должно привести к выводам, которые могут быть применены и к другим моделям этого класса. Представим модель Р. Холлидея в виде, удобном для наших расчетов.

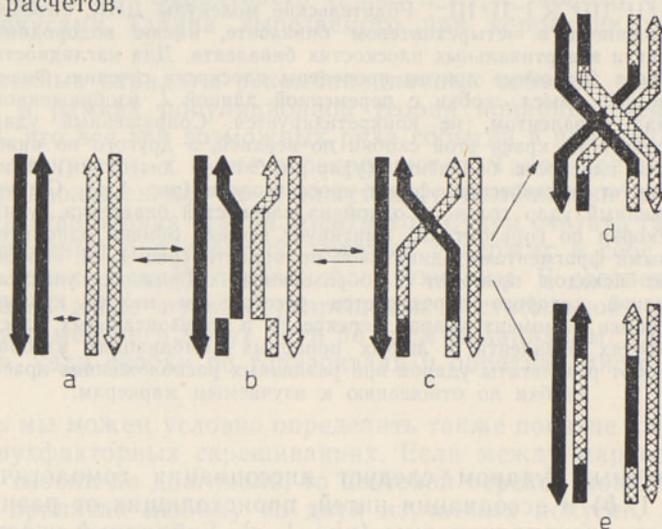


Рис. 1. Модель генетической рекомбинации по Р. Холлидею (Holliday, 1964). *a* — объединение гомологичных молекул ДНК в четырехнитевой бивалент (двухконечная стрелка указывает точки первичных разрывов в нитях одинаковой полярности); *b* — диссоциация нитей одинаковой полярности в гомологичных участках; *c* — образование гибридных участков; *d* — кроссинговер, возникший в результате вторичных разрывов в интактных нитях полухиазмы; *e* — обмен одностранными фрагментами одинаковой полярности в результате образования вторичных разрывов в нитях, уже затронутых первичными разрывами.

Рекомбинационные события инициируются в четырехнитевом биваленте разрывами двух нитей ДНК одинаковой полярности (рис. 1, *a*). На рис. 2 этому событию формально соответствует удар по нитям одинаковой полярности одного из краев скобки, изображенной над четырехнитевым бивалентом. Такой удар происходит равновероятно либо по верхней, либо по нижней плоскостям бивалента. Независимо от распределения инициирующих разрывов по хромосоме, мы можем условно определить «генетические расстояния» на ней. Нормируя длину одной дочерней хромосомы на единицу, будем считать, что вероятность попадания данного первичного удара скобки в пределы отрезка *d* в расчете на две плоскости бивалента равна *d*.

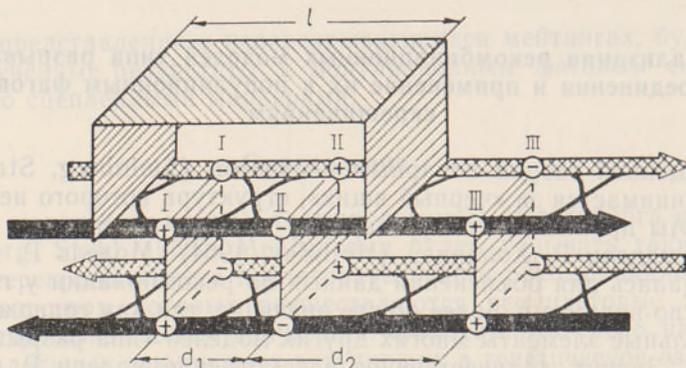


Рис. 2. Формализованная структура мейтинга согласно рекомбинационной модели Р. Холлидея в скрещивании типа I-II-III+ X I-II+III-. Родительские молекулы ДНК, объединившиеся в четырехнитевом биваленте, имеют водородные связи в вертикальных плоскостях бивалента. Для наглядности через аллельные локусы проведены плоскости сечения. Физический смысл скобки с переменной длиной  $l$ , изображенной над бивалентом, не конкретизируется. Сопряженный удар одного из краев этой скобки по верхней, а другого по нижней плоскости бивалента (удар скобки по диагонали) имитирует генетический эффект кроссинговера (рис. 1, d). Сопряженный удар только в одной из плоскостей бивалента (удар скобки по горизонтали) имитирует эффект обмена одонитевыми фрагментами одинаковой полярности (рис. 1, e). Любой из исходов приводит к образованию гибридного участка, длина которого определяется расстоянием между краями скобки в момент удара. Перекресты в горизонтальных плоскостях бивалента в любых попарных комбинациях изображают результаты ударов при различных расположениях краев скобки по отношению к изучаемым маркерам.

За первичным ударом следует диссоциация гомологичных нитей ДНК (рис. 1, b) и ассоциация нитей, происходящих от разных гомологов с образованием полухиазмы (рис. 1, c). Гибридный участок в такой полухиазме имеет переменную длину  $l$ . Мы предполагаем, что величины  $l$  распределены нормально с математическим ожиданием  $\xi$  и дисперсией  $\sigma^2$ .

Исход всего ряда событий определяется тем, каким способом будет разрешена нестабильная конфигурация полухиазмы. Возможны три взаимонесключающих механизма.

**Удар скобки по диагонали.** Полухиазма разрешается с вероятностью  $\alpha$  в полную хиазму в результате вторичных разрывов в интактных нитях бивалента, которые происходят на расстоянии  $l$  от первичных разрывов (рис. 1, d). На рис. 2 этому механизму соответствует удар второго несработавшего края скобки длиной  $l$  по двум нитям, не затронутым первичным ударом. Мы допускаем возможность коррекции гетерозиготности в гибридной области как на стадии полухиазмы, так и после ее разрешения вплоть до первой репликации молекулярной гетерозиготы с общей вероятностью  $2\mu$  на одну пару гетероаллелей, причем условная вероятность коррекции любой из пары аллелей равна  $1/2$ . Величина  $\mu$  не зависит от расстояния между локусами, если длина участка, вырезаемого при коррекции, меньше этого расстояния. Для пары идентичных аллелей, попавших в гибридный участок,  $\mu=0$ . В системе с параметрами  $\xi=0$ ,  $\sigma=0$  коррекция также невозможна, и удар скобки по диагонали сводится к классическому механизму кроссинговера.

**Удар скобки по горизонтали.** С вероятностью  $\beta$  вторичные разрывы могут произойти в нитях, уже затронутых первичными разрывами. В результате хромосомы обмениваются одностранными фрагментами одинаковой полярности (рис. 1, *e*). Таким разрывам на рис. 2 соответствует удар несработавшего края скобки на расстоянии  $l$  от первичного удара в той же плоскости бивалента. При данном механизме также допускается коррекция гетерозиготности в гибридном участке начиная с возникновения полухиазмы вплоть до первой репликации с вероятностью  $2\mu$  на пару гетероаллелей.

**Обратная диссоциация полухиазмы.** Нормируем на  $\gamma = 1 - (\alpha + \beta)$  вероятность того, что за первичным ударом вообще не последует обмена фрагментами ДНК между родителями, и полухиазма разрешится путем обратной диссоциации до родительских хромосом. Вероятность коррекции захваченной в гибридный участок пары гетероаллелей в таком варианте обозначим  $2\nu$ . Вероятность  $\nu$ , как и  $\mu$ , не зависит от расстояния между локусами (длина вырезаемого при коррекции участка ДНК мала).

Изложенные варианты рекомбинационных событий могут быть рассмотрены в рамках популяционной теории попарных мейтингов, если допустить, что все три возможных ряда событий в популяционном скрещивании дискретны, т. е. не перекрываются. Такое допущение эквивалентно предположению, что в кинетике рекомбинации лимитирующей является всегда первая стадия. Мейтингом будем считать такой дискретный законченный ряд событий, который содержит в себе образование одной (и только одной) первичной полухиазмы. В соответствии с рассмотренными выше путями разрешения нестабильной конфигурации полухиазмы, мейтинги могут идти по трем механизмам: удар скобки по диагонали, удар скобки по горизонтали и обратная диссоциация полухиазмы.

Теперь мы можем условно определить также понятие цветового перехода в двухфакторных скрещиваниях. Если между маркерами произошел удар скобки по диагонали, то цветовой переход может быть равновероятно приписан любому из двух изучаемых локусов. При захвате одного из локусов гибридным участком цветовой переход возможен только в захваченном локусе. Если же в гибридный участок попадают оба локуса одновременно, то цветовой переход претерпевает тот из них, который подвергается коррекции.

В дальнейших расчетах мы будем исходить из рис. 2, который позволяет легко находить среднее число нитей в биваленте, прошедших в одном мейтинге цветовой переход определенного локуса, если указано расположение гибридного участка по отношению к маркерам. В табл. 1 и 2 приведены результаты таких оценок для двух- и трехфакторных скрещиваний. На основании этих данных можно установить все функциональные зависимости типа  $\omega^i = \omega^i(d_1, d_2)$ , которыми, согласно уравнениям (1) — (4), определяются частоты любых рекомбинантов в лизате стандартного скрещивания. Например, чтобы найти функцию  $\omega^{\text{II}} = \omega^{\text{II}}(d_1, d_2)$  для стандартного трехфакторного скрещивания, следует суммировать данные из 5-й, 6-й и 7-й граф табл. 2 для стандартного условия  $f = 1 - f = 1/2$ , взвешивая каждое слагаемое вероятностью исхода мейтинга по заданному механизму ( $\alpha$ ,  $\beta$  или  $\gamma$ ), и учитывая в то же время вероятность соответствующего расположения гибридного участка по отношению к изучаемым локусам. Эта вероятность усредняется интегрированием через все возможные длины  $l$  гибридного участка с функцией распределения  $\varphi(l)$ . При попадании первичного удара скобки недалеко от конца одного из геномов, объединившихся в биваленте, длина

гибридного участка будет лимитироваться расстоянием до этого конца. Мы учтем это, выбирая верхним пределом интегрирования в соответствующих случаях  $l = \infty$ . В итоге получаем для двухфакторного скрещивания равенство

$$\frac{1}{4} \omega^I = \frac{1}{4} \omega^{II} = A \int_0^d (d-l) \varphi(l) dl + (A+B) \left[ \int_0^d l \varphi(l) dl + \int_d^\infty d \varphi(l) dl \right] + C \int_d^\infty (l-d) \varphi(l) dl, \quad (5)$$

и для трехфакторного скрещивания, принимая  $d_1 \leq d_2$ , равенства

$$\begin{aligned} \frac{1}{4} \omega^I = & (A+B) \left\{ \int_0^{d_1} l \varphi(l) dl + \int_{d_1}^\infty d_1 \varphi(l) dl \right\} + \\ & + A \left\{ \int_0^{d_1} l \varphi(l) dl + \int_{d_1}^{d_2} d_1 \varphi(l) dl + \int_{d_2}^{d_1+d_2} (d_1+d_2-l) \varphi(l) dl \right\} + \\ & + C \left\{ \int_{d_1}^{d_1+d_2} (l-d_1) \varphi(l) dl + \int_{d_1+d_2}^\infty d_2 \varphi(l) dl \right\} + \\ & + (A+B-C) \left\{ \int_{d_2}^{d_1+d_2} (l-d_2) \varphi(l) dl + \int_{d_1+d_2}^\infty d_1 \varphi(l) dl \right\} + \\ & + C \int_{d_1+d_2}^\infty [l - (d_1+d_2)] \varphi(l) dl + 2A \int_0^{d_1} (d_1-l) \varphi(l) dl; \quad (6) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{1}{4} \omega^{II} = & B \left\{ \int_0^{d_1} l \varphi(l) dl + \int_{d_1}^{d_2} d_1 \varphi(l) dl + \int_{d_2}^{d_1+d_2} (d_1+d_2-l) \varphi(l) dl \right\} + \\ & + C \left\{ \int_{d_1}^{d_1+d_2} (l-d_1) \varphi(l) dl + \int_{d_1+d_2}^\infty d_2 \varphi(l) dl + \int_{d_2}^{d_1+d_2} (l-d_2) \varphi(l) dl + \right. \\ & \left. + \int_{d_1+d_2}^\infty d_1 \varphi(l) dl + \int_{d_1+d_2}^\infty [l - (d_1+d_2)] \varphi(l) dl \right\}; \quad (7) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{1}{4} \omega^{III} = & (A+B) \left\{ \int_0^{d_2} l \varphi(l) dl + \int_{d_2}^\infty d_2 \varphi(l) dl \right\} + \\ & + A \left\{ \int_0^{d_1} l \varphi(l) dl + \int_{d_1}^{d_2} d_1 \varphi(l) dl + \int_{d_2}^{d_1+d_2} (d_1+d_2-l) \varphi(l) dl \right\} + \end{aligned}$$

Таблица 1

Среднее число нитей в биваленте, претерпевших в одном мейтинге цветовой переход одного из локусов при различных расположениях гибридного участка полухиазмы по отношению к изучаемым локусам.  $f$  и  $(1-f)$  — относительные множественности родителей в нулевое время скрещивания

Расположение гибридного участка полухиазмы по отношению к изучаемым локусам	Среднее число нитей в биваленте, претерпевших цветовой переход локуса I в мейтинге по механизму			Среднее число нитей в биваленте, претерпевших цветовой переход локуса II в мейтинге по механизму		
	удара скобки по диагонали	удара скобки по горизонтали	обратной диссоциации полухиазмы	удара скобки по диагонали	удара скобки по горизонтали	обратной диссоциации полухиазмы
Захват локуса I	2	2	$8f(1-f)v$	0	0	0
Захват локуса II	0	0	0	2	2	$8f(1-f)v$
Захват двух локусов	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)v(1-v)$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)v(1-v)$
Расположение между локусами	2	0	0	2	0	0

по отношению к изучаемым локусам  $\mu$  и  $(1-\mu)$  — относительные множественности родителей в нулевое время скрещивания

удара скобки по диагонали  $v$  и  $(1-v)$  — относительные множественности родителей в нулевое время скрещивания

по отношению к изучаемым локусам  $\mu$  и  $(1-\mu)$  — относительные множественности родителей в нулевое время скрещивания

удара скобки по горизонтали  $v$  и  $(1-v)$  — относительные множественности родителей в нулевое время скрещивания

Трехфакторное скрещивание  
 Среднее число нитей в биваленте, претерпевших в одном мейтинге цветовой переход одного из локусов при различных расположениях гибридного участка по отношению к изучаемым локусам.  $f$  и  $(1-f)$  — относительные множественности родителей в нулевое время скрещивания

Расположение гибридного участка по отношению к изучаемым локусам	Среднее число нитей в биваленте, претерпевших цветовой переход локуса I в мейтинге по механизму				Среднее число нитей в биваленте, претерпевших цветовой переход локуса II в мейтинге по механизму				Среднее число нитей в биваленте, претерпевших цветовой переход локуса III в мейтинге по механизму				
	удара скобки по диагонали	удара скобки по горизонтали	обратной диссоциации полухиазмы	удара скобки по горизонтали	удара скобки по диагонали	удара скобки по горизонтали	обратной диссоциации полухиазмы	удара скобки по диагонали	удара скобки по горизонтали	обратной диссоциации полухиазмы	удара скобки по диагонали	удара скобки по горизонтали	обратной диссоциации полухиазмы
захват локуса I	2	2	$8f(1-f)v$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
захват локуса II	2	0	0	0	0	2	$8f(1-f)v$	2	0	2	0	0	0
захват локуса III	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
захват локусов I и II	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)v(1-v)$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)v(1-v)$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)v(1-v)$	$2-8f(1-f)$	$2-8f(1-f)$	$2-8f(1-f)$	$2-8f(1-f)$	$2-8f(1-f)$	$8f(1-f)v$ $8f(1-f)v^2$
захват локусов II и III	$2-8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$2-8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)v^2$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)v(1-v)$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)v(1-v)$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)\mu(1-\mu)$	$8f(1-f)v(1-v)$	$8f(1-f)v(1-v)$
захват трех локусов	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
расположение между локусами I и II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
расположение между локусами II и III	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Таблица 3

Стандартные частот рекомбинантов всех типов от расстояний между маркерами согласно рекомбинационной модели Р. Холлiday при разных отношениях этих расстояний к математическому ожиданию распределения длины гибридного участка. Предполагается, что распределение узкое,  $\xi \gg \sigma/2$ ,  $|d_1 - \xi| \gg \sigma/2$ ,  $|d_2 - \xi| \gg \sigma/2$ .

отношения расстояний между маркерами к математическому ожиданию распределения длины гибридного участка	Двухфакторное скрещивание		Трехфакторное скрещивание	
	$\bar{R}_{++}(d_1) = \bar{R}_{--}(d_1)$	$\bar{R}_{++}(d_2) = \bar{R}_{--}(d_2)$	$\bar{R}_{+++}(d_1, d_2) = \bar{R}_{---}(d_1, d_2)$	$\bar{R}_{++-}(d_1, d_2) = \bar{R}_{-+-}(d_1, d_2)$
$d_1 + d_2 < \xi$	$2\bar{m}C\xi + 2\bar{m}(A+B-C)d_1$	$2\bar{m}C\xi + 2\bar{m}(A+B-C)d_2$	$\bar{m}C\xi$	$\bar{m}C\xi + 2\bar{m}(A+B-C)d_1$
$d_2 < \xi, d_1 + d_2 > \xi$	$2\bar{m}C\xi + 2\bar{m}(A+B-C)d_1$	$2\bar{m}C\xi + 2\bar{m}(A+B-C)d_2$	$\bar{m}(B-2C)\xi + \bar{m}(B-C)(d_1 + d_2)$	$\bar{m}B\xi + \bar{m}(2A+B-C)d_1 - \bar{m}(B-C)d_2$
$d_2 > \xi > d_1$	$2\bar{m}C\xi + 2\bar{m}(A+B-C)d_1$	$2\bar{m}B\xi + 2\bar{m}Ad_2$	$\bar{m}C\xi + \bar{m}(B-C)d_1$	$\bar{m}(2B-C)\xi - \bar{m}(B-C)d_1 + 2\bar{m}Ad_2$
$d_1 > \xi, d_2 > \xi$	$2\bar{m}B\xi + 2\bar{m}Ad_1$	$2\bar{m}B\xi + 2\bar{m}Ad_2$	$\bar{m}B\xi$	$\bar{m}B\xi + 2\bar{m}Ad_1$

$$\begin{aligned}
& + C \left\{ \int_{d_2}^{d_1+d_2} (l-d_2) \varphi(l) dl + \int_{d_1+d_2}^{\infty} d_1 \varphi(l) dl \right\} + \\
& + (A+B-C) \left\{ \int_{d_1}^{d_1+d_2} (l-d_1) \varphi(l) dl + \int_{d_1+d_2}^{\infty} d_2 \varphi(l) dl \right\} + \\
& + C \int_{d_1+d_2}^{\infty} [l - (d_1+d_2)] \varphi(l) dl + 2A \int_0^{d_2} (d_2-l) \varphi(l) dl, \quad (8)
\end{aligned}$$

где  $A \equiv \frac{1}{8} \alpha$ ;  $B \equiv \frac{1}{8} (\beta + \gamma v)$  и  $C \equiv \frac{1}{8} [(\alpha + \beta) \mu (1 - \mu) + \gamma v (1 - v)]$ .

Отметим, что если параметр  $A$  однозначно отражает вклад механизма удара скобки по диагонали в суммарную вероятность цветового перехода локуса, то физический смысл параметров  $B$  и  $C$  не такой определенный. Параметр  $B$  является количественной мерой суммарного вклада механизмов удара скобки по горизонтали и обратной диссоциации полу-хиазмы, а  $C$  отражает суммарный вклад коррекции во всех трех рассмотренных механизмах.

Уравнения (5) — (8) совместно с уравнениями (1) — (4) удовлетворяют общему количественному свойству рекомбинационных моделей, не учитывающие эффект маркера. Для них соблюдаются равенства

$$\bar{R}_{++}(d_1) = \bar{R}_{-++}(d_1, d_2) + \bar{R}_{+++}(d_1, d_2), \quad (9)$$

$$\bar{R}_{++}(d_2) = \bar{R}_{-++}(d_1, d_2) + \bar{R}_{+++}(d_1, d_2). \quad (10)$$

Аналогичные равенства должны соблюдаться также для реципрокных рекомбинантов.

Из названных уравнений следует еще ряд практических заключений. Например, допуская нормальное распределение длины гибридного участка с усечением при  $l=0$

$$\varphi(l) = \begin{cases} 0, & \text{при } l < 0 \\ \frac{2}{\sigma \sqrt{2\pi} \left[ 1 + \operatorname{erf} \left( \frac{\xi}{\sigma \sqrt{2}} \right) \right]} e^{-\frac{(l-\xi)^2}{2\sigma^2}}, & \text{при } l > 0, \end{cases}$$

где  $\xi$  и  $\sigma$  — параметры распределения и  $\operatorname{erf} \left( \frac{\xi}{\sigma \sqrt{2}} \right) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^{\frac{\xi}{\sigma \sqrt{2}}} e^{-t^2} dt$  — функция ошибок, можно, решив уравнение (5), прийти к следующей функции для двухфакторного скрещивания:

$$\begin{aligned}
& \frac{1}{4} \left[ 1 + \operatorname{erf} \left( \frac{\xi}{\sigma \sqrt{2}} \right) \right] \omega^{\text{II}} = \\
& = \left\{ A \left[ \operatorname{erf} \left( \frac{\xi}{\sigma \sqrt{2}} \right) + \operatorname{erf} \left( \frac{d-\xi}{\sigma \sqrt{2}} \right) \right] + (A+B-C) \left[ 1 - \operatorname{erf} \left( \frac{d-\xi}{\sigma \sqrt{2}} \right) \right] \right\} d + \\
& + \left\{ B \left[ \operatorname{erf} \left( \frac{\xi}{\sigma \sqrt{2}} \right) + \operatorname{erf} \left( \frac{d-\xi}{\sigma \sqrt{2}} \right) \right] + C \left[ 1 - \operatorname{erf} \left( \frac{d-\xi}{\sigma \sqrt{2}} \right) \right] \right\} \xi + \\
& + \frac{2\sigma}{\sqrt{2\pi}} \left\{ B e^{-\frac{\xi^2}{2\sigma^2}} - (B-C) e^{-\frac{(d-\xi)^2}{2\sigma^2}} \right\}. \quad (11)
\end{aligned}$$

Для трехфакторного скрещивания получаем из уравнения (7) таким же образом:

$$\begin{aligned} & \frac{1}{4} \left[ 1 + \operatorname{erf} \left( \frac{\xi}{\sigma\sqrt{2}} \right) \right] \omega_{II} = \\ & = (B-C) \left[ \operatorname{erf} \left( \frac{d_1+d_2-\xi}{\sigma\sqrt{2}} \right) - \operatorname{erf} \left( \frac{d_1-\xi}{\sigma\sqrt{2}} \right) \right] d_1 + (B-C) \left[ \operatorname{erf} \left( \frac{d_1+d_2-\xi}{\sigma\sqrt{2}} \right) - \operatorname{erf} \left( \frac{d_2-\xi}{\sigma\sqrt{2}} \right) \right] d_2 + \\ & + \left\{ B \left[ \operatorname{erf} \left( \frac{\xi}{\sigma\sqrt{2}} \right) + \operatorname{erf} \left( \frac{d_1-\xi}{\sigma\sqrt{2}} \right) \right] - (B-C) \left[ \operatorname{erf} \left( \frac{d_1+d_2-\xi}{\sigma\sqrt{2}} \right) - \operatorname{erf} \left( \frac{d_2-\xi}{\sigma\sqrt{2}} \right) \right] \right\} + \\ & + C \left[ 1 - \operatorname{erf} \left( \frac{d_1-\xi}{\sigma\sqrt{2}} \right) \right] \left\{ \xi + \frac{2\sigma}{\sqrt{2\pi}} \left\{ B e^{-\frac{\xi^2}{2\sigma^2}} - (B-C) e^{-\frac{(d_1-\xi)^2}{2\sigma^2}} - \right. \right. \\ & \left. \left. - (B-C) e^{-\frac{(d_2-\xi)^2}{2\sigma^2}} + (B-C) e^{-\frac{(d_1+d_2-\xi)^2}{2\sigma^2}} \right\} \right\}. \quad (12) \end{aligned}$$

Если распределение длины гибридного участка узкое, так что  $\xi \gg \sigma\sqrt{2}$  и  $|d-\xi| \gg \sigma\sqrt{2}$ , то уравнения (11) и (12) существенно упрощаются. В результате имеем

в двухфакторных скрещиваниях:

а) для  $d < \xi$ ,  $\bar{R}_{++}(d) = \bar{R}_{--}(d) = 2\bar{m}C\xi + 2\bar{m}(A+B-C)d$ , (13)

б) для  $d > \xi$ ,  $\bar{R}_{++}(d) = \bar{R}_{--}(d) = 2\bar{m}B\xi + 2\bar{m}Ad$ ; (14)

в трехфакторных скрещиваниях:

а) для  $d_1 + d_2 < \xi$ ,

$$\bar{R}_{+++}(d_1, d_2) = \bar{R}_{---}(d_1, d_2) = \bar{m}C\xi, \quad (15)$$

б) для  $d_1 < \xi$ ,  $d_2 < \xi$ ,  $d_1 + d_2 > \xi$ ,

$$\bar{R}_{+++}(d_1, d_2) = \bar{R}_{---}(d_1, d_2) = -\bar{m}(B-2C)\xi + \bar{m}(B-C)(d_1 + d_2), \quad (16)$$

в) для  $d_2 > \xi > d_1$ ,

$$\bar{R}_{+++}(d_1, d_2) = \bar{R}_{---}(d_1, d_2) = \bar{m}C\xi + \bar{m}(B-C)d_1, \quad (17)$$

г) для  $d_1 > \xi$ ,  $d_2 > \xi$ ,

$$\bar{R}_{+++}(d_1, d_2) = \bar{R}_{---}(d_1, d_2) = \bar{m}B\xi. \quad (18)$$

Для рекомбинантов типа I+II+III-, I-II-III+, I+II-III- и I-II+III+ также могут быть получены простые линейные зависимости частоты рекомбинации от генетического расстояния между маркерами, аналогичные уравнениям (15) — (18). Все результаты для стандартных скрещиваний суммированы в табл. 3.

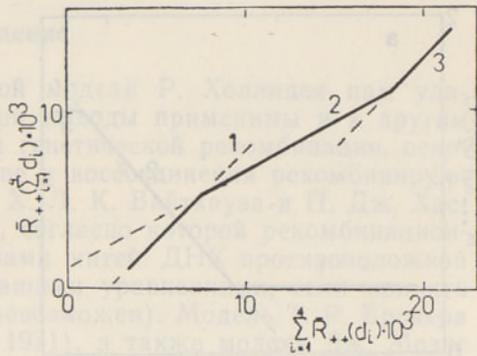
### Предсказания теории для частных случаев стандартного эксперимента

Экспериментальная проверка теории, например, уравнений (1) и (3) совместно с уравнениями (11) и (12) возможна с применением ЭВМ. Здесь мы рассмотрим некоторые частные выводы из этих уравнений, при сравнении которых с экспериментом можно обойтись без вычислительной техники.

**Двухфакторные скрещивания.** Из уравнений (13) и (14) заключаем следующее. Если серию стандартных двухфакторных скрещиваний спла-

Рис. 3. Эффект сужения генетической карты, предсказываемый рекомбинационной моделью Р. Холлидея в идеальной системе с параметрами  $m=5$ ,  $\xi=1 \cdot 10^{-2}$ ,  $\sigma=0$ ,  $\alpha=\beta=0,2$ ,  $\gamma=0,6$ ,  $\mu=0,1$ ,  $\nu=0,05$ . Прямая 1 соответствует уравнению (19), 2 — уравнению (20) при  $n=4$ . Непрерывные линии — ожидаемое расположение экспериментальных данных. Если все расстояния  $d_i$ , по которым суммируются частоты рекомбинации, становятся больше значения математического ожидания  $\xi$ , то экспериментальные данные должны выйти на прямую 3 согласно уравнению

$$\bar{R}_{++}(\sum_{i=1}^n d_i) = -2(n-1)\bar{m}B\xi + \sum_{i=1}^n \bar{R}_{++}(d_i).$$



нирывать таким образом, что  $d = \sum_{i=1}^n d_i$ , то результаты измерений для всех значений  $\sum_{i=1}^n d_i < \xi$ , при постоянном  $n$  будут укладываться в линейную зависимость

$$\bar{R}_{++}(\sum_{i=1}^n d_i) = -2(n-1)\bar{m}C\xi + \sum_{i=1}^n \bar{R}_{++}(d_i) \quad (19)$$

с наклоном, равным единице в координатах  $\bar{R}_{++}(\sum_{i=1}^n d_i) - \sum_{i=1}^n \bar{R}_{++}(d_i)$ .

Для скрещиваний на расстояниях  $d_i < \xi$ ,  $\sum_{i=1}^n d_i > \xi$  линейная зависимость  $\bar{R}_{++}(\sum_{i=1}^n d_i)$  от  $\sum_{i=1}^n \bar{R}_{++}(d_i)$  приобретает при  $B > C$  наклон меньше единицы:

$$\bar{R}_{++}(\sum_{i=1}^n d_i) = 2\bar{m}\left(B - \frac{nAC}{A+B-C}\right)\xi + \frac{A}{A+B-C} \sum_{i=1}^n \bar{R}_{++}(d_i). \quad (20)$$

Иллюстрация идеального соблюдения линейных зависимостей (19) и (20) представлена на рис. 3. Точка пересечения двух прямых с координатами  $\{2\bar{m}[A+B+(n-1)C]\xi; 2\bar{m}(A+B)\xi\}$  соответствует здесь критическому значению  $d = \xi$ . Абсолютная величина эквивалентных отрезков, которые прямая 1 отсекает на осях абсцисс и ординат, является мерой вклада коррекционного механизма в общую частоту рекомбинации.

**Трехфакторные скрещивания.** Серию результатов по трехфакторным скрещиваниям удобно сравнивать с соответствующими данными по двухфакторным скрещиваниям. Если рекомбинационное поведение трехфакторной системы подчиняется уравнениям (15) — (18), то, имея в виду линейную зависимость (13), легко прийти к соотношениям:

а) для  $d_1 + d_2 < \xi$ ,

$$\bar{R}_{+++}(d_1, d_2) = \bar{m}C\xi; \quad (21)$$

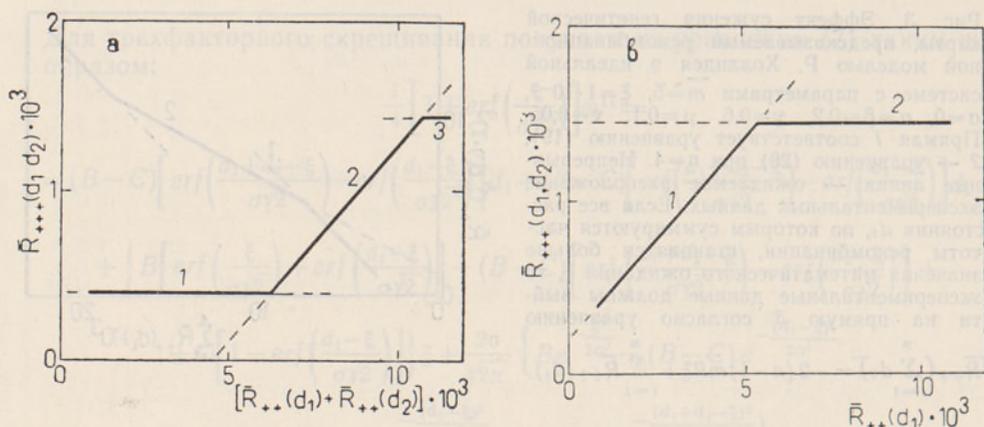


Рис. 4. Сопоставление частот рекомбинации в трех- и двухфакторных скрещиваниях, предсказываемых моделью Р. Холлидея в идеальной системе с параметрами  $\bar{m}=5$ ,  $\xi=1 \cdot 10^{-2}$ ,  $\sigma=0$ ,  $\alpha=\beta=0,2$ ,  $\gamma=0,6$ ,  $\mu=0,1$ ,  $\nu=0,05$ . Непрерывные линии — ожидаемое расположение экспериментальных данных. *a* — заданы условия  $d_1 < \xi$ ,  $d_2 < \xi$ . Прямая 1 соответствует уравнению (21), 2 — уравнению (22). Если выбрать  $d_1 > \xi$  и  $d_2 > \xi$ , то экспериментальные данные должны выйти на плато 3, согласно уравнению  $\bar{R}_{+++}(d_1, d_2) = \bar{m}B\xi$ . *b* — задано условие  $d_2 > \xi$ . Прямая 1 соответствует уравнению (23), 2 — уравнению (24).

б) для  $d_1 < \xi$ ,  $d_2 < \xi$ ,  $d_1 + d_2 > \xi$ ,

$$\bar{R}_{+++}(d_1, d_2) = -\bar{m} \left[ B - 2C + \frac{2C(B-C)}{A+B-C} \right] \xi + \frac{\bar{m}}{2} \frac{B-C}{(A+B+C)} [\bar{R}_{++}(d_1) + \bar{R}_{++}(d_2)]; \quad (22)$$

в) для  $d_1 < \xi < d_2$ ,

$$\bar{R}_{+++}(d_1, d_2) = \bar{m}C \left( 1 - \frac{B-C}{A+B-C} \right) \xi + \frac{B-C}{2(A+B-C)} \bar{R}_{++}(d_1); \quad (23)$$

г) для  $d_1 > \xi$ ,  $d_2 > \xi$ ,

$$\bar{R}_{+++}(d_1, d_2) = \bar{m}B\xi. \quad (24)$$

Согласно этим уравнениям, в эксперименте ожидаются линейные зависимости двух типов. На рис. 4, *a* отложены значения  $\bar{R}_{+++}(d_1, d_2)$ , вычисленные для идеальной системы с заданными параметрами, против суммы соответствующих данных по двухфакторным скрещиваниям  $\bar{R}_{++}(d_1) + \bar{R}_{++}(d_2)$  на расстояниях  $d_1 < \xi$ ,  $d_2 < \xi$ . В соответствии с уравнениями (21) и (22), точка  $\{2\bar{m}(A+B+C)\xi; \bar{m}C\xi\}$  на пересечении двух прямых принадлежит критическому значению  $d_1 + d_2 = \xi$ . Величина отрезка, отсекаемого прямой 1 на оси ординат, может служить мерой вклада коррекционного механизма в общую частоту рекомбинантов. На рис. 4, *b* изображена зависимость  $\bar{R}_{+++}(d_1, d_2)$  от  $\bar{R}_{++}(d_1)$  для условия  $d_2 > \xi$  в идеальной системе с заданными параметрами, вычисленная по уравнениям (23) и (24). Точка пересечения прямых  $\{2\bar{m}(A+B)\xi; \bar{m}B\xi\}$  соответствует критическому значению  $d_1 = \xi$ . Величина отрезка, отсекаемого прямой 2 на оси ординат, является мерой вклада механизмов удара скобки по горизонтали и обратной диссоциации полукомплексов в общую частоту рекомбинантов в трехфакторном скрещивании.

## Обсуждение

Формализацией рекомбинационной модели Р. Холлидея нам удалось достичь общности теории. Наши выводы применимы и к другим современным качественным моделям генетической рекомбинации, основанными на представлении о разрыве и воссоединении рекомбинирующих нитей ДНК. Например, модель Х. Л. К. Вайтхауза и П. Дж. Хастингса (Whitehouse, Hastings, 1965), согласно которой рекомбинационные события инициируются разрывами нитей ДНК противоположной полярности, может быть описана нашими уравнениями, если принять  $\beta=0$  (удар скобки по горизонтали невозможен). Модель Т. Р. Брокера и Дж. Р. Лемана (Broker, Lehman, 1971), а также модель Дж. Мозиг и др. (Mosig и др., 1971) описываются теми же уравнениями, несмотря на то, что авторы постулируют нерцепрокность рекомбинации, так как средние вероятности цветовых переходов локусов остаются теми же (табл. 1 и 2). Классическую модель кроссинговера получаем при значении параметров  $\alpha=1$ ,  $\beta=\gamma=0$ ,  $\xi=0$ ,  $\sigma=0$  и  $\mu=\nu=0$ , (срабатывает только удар скобки по диагонали при  $l=0$  без коррекции гетерозигот). Тогда, для  $d \ll 1$  из уравнений (1) и (5) следует, что классическая «частота рекомбинации»  $\bar{R}_{++}(d) + \bar{R}_{--}(d) = \frac{1}{2} \bar{m}d$ , что согласуется с теорией Н. Висконти и М. Дельбрюка (Visconti, Delbrück, 1953).

Теория в принципе применима и к скрещиваниям непопуляционного характера. В этом случае правые части уравнений (1) — (4) следует помножить на фактор 2, т. е. все наблюдаемые частоты рекомбинации увеличиваются вдвое, так как идентичные родители теперь не скрещиваются.

Данные табл. 3, а также рис. 3 и 4 и соответствующие им уравнения являются абстракцией для идеальной системы с постоянной длиной гибридного участка ( $l \equiv \xi$ ). В реальных системах, по-видимому, не соблюдается условие  $\xi \gg \sigma$ , и вследствие распределения длины гибридного участка экспериментальные точки должны отклоняться от пересечений прямых на рис. 3 и 4 по плавным кривым. Следует отметить, что значения параметров, положенные в основу этих рисунков, иллюстративны и не связаны с экспериментом. Это дает возможность наглядно проследить за вкладом всех механизмов рекомбинации в суммарный результат.

Коррекция в нашем изложении рассматривалась как точковая, т. е. размер корректируемой области принимался всегда меньшим расстояния между маркерами. Это ограничение означает, что в данном виде теория неприменима к системам, в которых идет коррекция протяженных участков ДНК (например, грибы) с характерным эффектом расширения карты, но она должна вплоть до расстояний немногих нуклеотидных пар правильно предсказывать рекомбинационное поведение фагов, у которых расширения генетической карты не обнаружено, и коррекция протяженных участков, следовательно, отсутствует (см., например, Fisher, Bernstein, 1965).

## Выводы

Изучены общие свойства молекулярных моделей генетической рекомбинации типа разрыва — воссоединения и найдены пути их проверки в популяционных фаговых скрещиваниях с тесно сцепленными маркерами. Рассмотрена проблема двух и трех локусов в стандартных скрещиваниях.

## ЛИТЕРАТУРА

- Broker T. R., Lehman J. R., 1971. Branched DNA molecules: intermediates in T4 recombination. *J. Mol. Biol.* **60** : 131—149.
- Fisher K. M., Bernstein H., 1965. The additivity of intervals in the rIIA cistron of phage T4D. *Genetics* **52** : 1127—1136.
- Holliday R., 1964. A mechanism for gene conversion in fungi. *Genet. Res. Camb.* **5** : 282—304.
- Holliday R., 1968. Genetic recombination in fungi. In "Replication and recombination of genetic material" (ed. by W. J. Peacock and R. D. Brock), p. 157—174. Canberra, Australian Academy of Science.
- Mosig G., Ering R., Schliewen W., Bock S., 1971. The patterns of recombination and segregation in terminal region of T4 DNA molecules. *Mol. Gen. Genetics* **113** : 51—91.
- Stahl F. W., Edgar R. S., Steinberg J., 1964. The linkage map of bacteriophage T4. *Genetics* **50** : 539—552.
- Stahl F. W., Steinberg C. M., 1964. The theory of formal phage genetics for circular maps. *Genetics* **50** : 531—538.
- Steinberg C., Stahl F., 1958. The theory of formal phage genetics. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **23** : 42—46.
- Visconti N., Delbrück M., 1953. The mechanism of genetic recombination in phage. *Genetics* **38** : 5—33.
- Whitehouse H. L. K., Hastings P. J., 1965. The analysis of genetic recombination on the polaron hybrid DNA model. *Genet. Res. Camb.* **6** : 27—92.

*Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонской ССР  
Институт химической физики  
Академии наук СССР*

Поступила в редакцию  
23/XII 1974

Oleg TOOMPUU, Viktor ŠTŠERBAKOV

## REKOMBINATSIOONI KVANTITATIIVSETE SEADUSPÄRASUSTE UURIMINE BAKTERIOFAAGIL T4

### I. Tihedalt liitunud markeritega faagipopulatsioonide DNA-ahelate katkemist ja taasühinemist eeldavate rekombinatsioonimudelite teooria

#### Resüme

Vaadeldakse selliste geneetilise rekombinatsiooni molekulaarsete mudelite üldisi omadusi, milles informatsioonivahetus vanemlike DNA-ahelate vahel toimub ahelate katkemise ja taasühinemise teel. Analüüsitakse võimalusi kontrollida neid omadusi tihedalt liitunud markeritega kahe- ja kolmefaktorilistel süsteemidel.

*Eesli NSV Teaduste Akadeemia  
Eksperimentaalbioloogia Instituut  
NSVL Teaduste Akadeemia  
Keemilise Füüsika Instituut*

Toimetusse saanud  
23. XII 1974

Oleg TOOMPUU, Viktor ŠHČHERBAKOV

## THE STUDY OF QUANTITATIVE ASPECTS OF GENETIC RECOMBINATION IN T4 PHAGE

### I. The theory of breakage — reunion models for population phage crosses with closely linked markers

#### Summary

The general properties of breakage — reunion models of genetic recombination were examined, and the ways of their verification in population phage crosses with closely linked markers were found. Two and three locus problems were considered in the  $I+II \times I-II+$ ;  $II+III \times III-II+$ ; and  $I+II-III+ \times I-II+III-$  type standard crosses.

*Academy of Sciences of the Estonian SSR,  
Institute of Experimental Biology  
Academy of Sciences of the USSR,  
Institute of Chemical Physics*

Received  
Dec. 23, 1974