

Г. И. НАУМОВ

О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ МАЛЬТОЗНЫХ КОМПЛЕМЕНТАРНЫХ
ГЕНОВ У ГИБРИДОВ SACCHAROMYCES

(Представлено академиком А. Н. Белозерским 1 VIII 1969)

Утилизация мальтозы у дрожжей *Saccharomyces* контролируется полимерными генами. В настоящее время у природных штаммов дрожжей — сахаромикетов в различных комбинациях описаны семь полимерных мальтозных генов — MA_1 — MA_7 (¹⁻³). На материале генетических линий было показано, что некоторые рецессивные аллели полимерных мальтозных генов могут комплементировать, и продемонстрирована как межаллельная, так и межгенная комплементация (^{4, 5}).

Проводя гибридизацию природных штаммов сахаромикетов, не усваивающих мальтозу, мы обнаружили в некоторых скрещиваниях восстановление способности утилизировать мальтозу (⁶). Тетрадный анализ позволил установить, что комплементация идет с участием двух генов — MA_p и MA_g (⁷).

Осталось невыясненным, являются ли гены MA_p и MA_g обязательными для утилизации мальтозы и у природных mal^+ -штаммов и каково отношение этих комплементарных генов к полимерным MA_1 — MA_7 . Решение вопроса связано с анализом гибридов наших тестеров с тестерами MA_1 — MA_7 . Однако мы до последнего времени не располагали коллекцией стандартных тестеров, поэтому были получены и проанализированы гибриды с природной mal^+ -формой — *Sacch. cerevisiae*.

Материалом для работы служили моноспоровые гомоталлические культуры природных штаммов дрожжей — сахаромикетов: *Sacch. paradoxus* (syn. *exiguus* (⁸)) ВКМ 502, не усваивающие мальтозу, генотипа MA_pMA_g/MA_pMA_g ; *Sacch. globosus* (syn. *delbrueckii* (⁹)) ВКМ 439, не усваивающие мальтозу, генотипа ma_pMA_g/ma_pMA_g ; *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus* «Магарач» 437, усваивающие мальтозу неизвестного генотипа; сегреганты гибрида 502×439 — Н1—16С и Н1—16D, имеющие соответственно генотипы ma_pMA_g/ma_pMA_g (mal^-) и MA_pMA_g/MA_pMA_g (mal^+). Методы получения гибридов и учета расщепления, а также питательные среды, использованные в работе, описаны ранее (^{7, 10}).

Таблица 1

Учет расщепления гибридов дрожжей *Sacch. cerevisiae* 437 с MA -тестерами по способности усваивать мальтозу

№ гибрида	Происхождение	Число тетрад с расщеплением			Предполагаемый генотип
		4 $mal^+ : 0 mal^-$	3 $mal^+ : 1 mal^-$	2 $mal^+ : 2 mal^-$	
Н14	437 × Н1 — 16С	0	0	18	$MA_p^wMA_g/ma_pma_g$
Н15	437 × Н1 — 16D	11	0	0	$MA_p^wMA_g/MA_pMA_g$
Н16	437 × 502	1	17	8	$MA_p^wMA_g/MA_pma_g$
Н17	437 × 439	0	0	30	$MA_p^wMA_g/ma_pMA_g$

Прежде всего проанализировали гибрид Н14 дрожжей *Sacch. cerevisiae* с тестером, несущим оба рецессивных комплементарных мальтозных гена ma_p , ma_g (табл. 1). Сегрегация в асках этого гибрида $2mal^+ : 2mal^-$ говорила о моногенной (ген MA^w) детерминации способности утилизировать мальтозу у *Sacch. cerevisiae* 437, так как если бы эти дрожжи обладали комплементарными генами MA_p и MA_g , то при скрещивании с тестером,

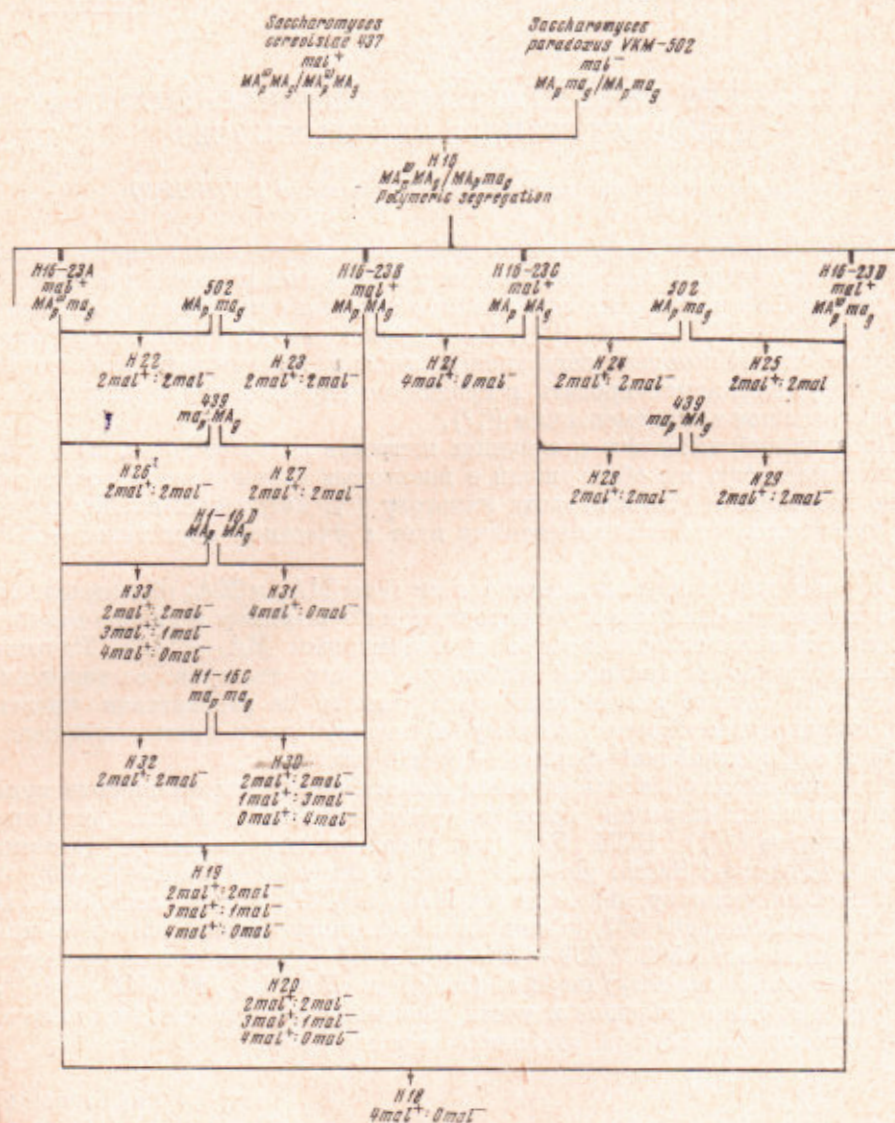


Рис. 1. Схема скрещиваний и характер сегрегации гибридов в опытах по изоляции гена MA_p^w и системы комплементарных генов MA_p , MA_g

у которого оба гена ma_p и ma_g рецессивны, мы должны были бы наблюдать комплементарное расщепление. В соответствии с литературными данными (1) ген MA^w должен рассматриваться как член серии полимерных мальтозных генов.

Далее провели скрещивание *Sacch. cerevisiae* с тестером, обладающим обоими комплементарными генами. У гибрида (H15) расщепление по способности усваивать мальтозу не было отмечено, что могло свидетельствовать о наличии комплементарных генов MA_p и MA_g у *Sacch. cerevisiae* 437. На первый взгляд результаты анализа гибридов H14 и H15 пре-

тиворечат друг другу. Это затруднение легко разрешить, если считать, что генотип *Sacch. cerevisiae* 437 — это $MA_p^w MA_g / MA_p^w MA_g$, где ген MA_p^w аллелен MA_p . Напомним, что для того чтобы утилизация мальтозы имела место, необходимо наличие двух комплементарных генов MA_p и MA_g (?) или же достаточно аллели одного из этих генов — MA_p^w .

Действительно, фенотипическая картина расщепления обоих гибридов хорошо согласуется с вышеизложенным допущением: у гибрида (Н14) генотипа $MA_p^w MA_g / ma_p ma_g$ расщепление и должно быть моногенное, а у гибрида (Н15) генотипа $MA_p^w MA_g / MA_p MA_g$ расщепление должно отсутствовать. Если наше предположение о том, что генотип *Sacch. cerevisiae* — $MA_p^w MA_g / MA_p^w MA_g$ верно, то гибрид *Sacch. cerevisiae* 437 × *Sacch. paradoxus* 502 генотипа $MA_p^w MA_g / MA_p ma_g$ должен дать полимерное расщепление с наличием тетрад трех типов:

Неродительский дитип	Тетратип	Родительский дитип
Спора А $MA_p ma_g (mal^+)$	$MA_p ma_g (mal^+)$	$MA_p^w MA_g (mal^+)$
Спора В $MA_p^w ma_g (mal^+)$	$MA_p^w MA_g (mal^+)$	$MA_p^w MA_g (mal^+)$
Спора С $MA_p MA_g (mal^+)$	$MA_p MA_g (mal^+)$	$MA_p ma_g (mal^-)$
Спора D $MA_p MA_g (mal^+)$	$MA_p ma_g (mal^-)$	$MA_p ma_g (mal^-)$

В асках гибрида Н16 мы действительно наблюдали следующее расщепление: 4 mal^+ :0 mal^- , 3 mal^+ :1 mal^- , 2 mal^+ :2 mal^- . Анализ гибрида Н17 дрожжей *Sacch. cerevisiae* 437 × *Sacch. globosus* 439 также не противоречит высказанной гипотезе.

Для окончательного подтверждения предположенного генотипа *Sacch. cerevisiae* 437 провели изоляцию гена MA_p^w и системы комплементарных генов MA_p , MA_g у гибрида Н16. На рис. 1 приведена схема их выделения.

Для анализа выбрали тетраду Н16—23, все четыре сегреганта которой усваивали мальтозу. Согласно предполагаемому генотипу гибрида, отсутствие фенотипического расщепления указало на то, что эта тетрада неродительского дитипа, т. е. две споры имеют только ген MA_p^w , а две — систему комплементарных генов MA_p и MA_g (см. типы тетрад).

Действительно, анализ гибридов сегрегантов тетрады Н16—23 (табл. 2) говорил, что две споры были одного генотипа, две другого: генотип споры А тождествен генотипу споры D, так как гибрид А × D был гомозиготен (Н18), и не тождествен генотипам споры В и С, так как скрещивания А × В и А × С были полигибридные (Н19, Н20); генотип споры В тождествен генотипу споры С, так как гибрид В × С был гомозиготен (Н21).

Возвратные скрещивания сегрегантов А, В, С и D с родителем 502 и с штаммом 439 были моногибридные, что соответствует предполагаемым генотипам: гибриды генотипа $MA_p MA_g / MA_p ma_g$ и $MA_p^w ma_g / MA_p ma_g$ (бэкрессы Н22 — Н25), а также гибриды генотипа $MA_p MA_g / ma_p MA_g$ и $MA_p^w ma_g / ma_p MA_g$ (Н26 — Н29) дадут моногенное расщепление.

Поскольку генотипы сегрегантов А и D, В и С были одинаковы, для дальнейшего анализа были взяты сегреганты А и В. Каждый из них был скрещен с тестером Н1—16С, у которого оба комплементарных мальтозных гена были рецессивны, и с тестером Н1—16D, у которого оба комплементарных гена были доминанты. Анализ гибридов приведен в табл. 3.

Комплементарное расщепление гибрида Н30 и отсутствие расщепления у гибрида Н31 доказывали, что утилизация мальтозы у сегреганта Н16 — 23В контролируется системой комплементарных генов MA_p и MA_g . В свою очередь, моногенное расщепление гибрида Н32 и полимерное расщепление гибрида Н33 доказывало наличие у сегреганта Н16 — 23А только одного гена MA_p^w . Поскольку *Sacch. paradoxus* 502 не обладал генами MA и MA_p^w , ясно, что оба они происходят от *Sacch. cerevisiae* 437, т. е. генотип последнего $MA_p^w MA_g / MA_p^w MA_g$.

Таблица 2

Расщепление гибридов в опытах по изоляции мальтозных генов у гибрида Н16

№ гибрида	Происхождение	Число тетрад с расщеплением		
		2 mal ⁺ :2 mal ⁻	3 mal ⁺ :1 mal ⁻	4 mal ⁺ :0 mal ⁻
H18	H16-23A×H16-23D	0	0	18
H19	H16-23A×H16-23B	1	13	5
H20	H16-23A×H16-23C	0	7	7
H21	H16-23B×H16-23C	0	0	13
H22	H16-23A×502	16	0	0
H23	H16-23B×502	13	0	0
H24	H16-23C×502	20	0	0
H25	H16-23D×502	11	0	0
H26	H16-23A×439	10	0	0
H27	H16-23B×439	13	0	0
H28	H16-23C×439	11	0	0
H29	H16-23D×439	14	0	0

Таблица 3

Идентификация мальтозных генов у сегрегантов тетрады неродительского дитина Н16-23

№ гибрида	Происхождение	Генотип	Число тетрад с расщеплением				
			4 mal ⁺ :0 mal ⁻	3 mal ⁺ :1 mal ⁻	2 mal ⁺ :2 mal ⁻	1 mal ⁺ :3 mal ⁻	0 mal ⁺ :4 mal ⁻
H30	H16-23B×H1-16C	MA _p MA _g /ma _p ma _g	0	0	3	6	3
H31	H16-23B×H1-16D	MA _p MA _g /MA _p MA _g	14	0	0	0	0
H32	H16-23A×H1-16C	MA _p ^w ma _g /ma _p ma _g	0	0	10	0	0
H33	H16-23A×H1-16D	MA _p ^w ma _g /MA _p MA _g	0	9	2	0	0

Таким образом, в локусе MA_p^w обнаружена серия множественных аллелей: MA_p^w (фенотип mal⁺), MA_p (фенотип mal⁺ только при наличии в генотипе комплементарного фактора MA_g), ma_p (фенотип mal⁻). Природа же второго комплементарного гена MA_g остается неизвестной. Можно только считать доказанным, что ген MA_g встречается как у видов, усваивающих мальтозу, так и у неусваивающих. Представляется вероятным, что аллель MA_g также является членом серии множественных аллелей в локусе, который может обнаруживаться и как фактор, полимерный гену MA_p^w.

Пользуюсь случаем поблагодарить В. В. Юркевича и И. А. Захарова за обсуждение настоящей работы.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
4 VII 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ O. Winge, C. Roberts, The Chemistry and Biology of Yeasts, N. Y., 1958.
² H. Oeser, Arch. Microbiol., 44, 47 (1962). ³ H. Oeser, H. Windisch, Naturwiss., 51, 122 (1964). ⁴ Y. Oshima, J. Ferment. Technol., 38, 521 (1960). ⁵ Y. Oshima, J. Ferment. Technol., 46, 550 (1967). ⁶ Г. И. Наумов, В. В. Юркевич, ДАН, 185, 447 (1969). ⁷ Г. И. Наумов, Генетика, № 10 (1969). ⁸ В. И. Кудрявцев, Систематика дрожжей, Изд. АН СССР, 1954. ⁹ J. Lodder, N. I. W. Kreger van Rij, The Yeasts. A Taxonomic Study, Amsterdam, 1952. ¹⁰ Г. И. Наумов, Научн. докл. высш. школы, Биологические науки, № 6, 131 (1969).