

УДК 576.851.48.095.57

ГЕНЕТИКА

А. П. ПЕХОВ, С. Н. РУДНЕВА

**МУТАЦИИ гес^- И ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК,
ИНДУЦИРОВАННЫХ РАЗНЫМИ МУТАГЕНАМИ
У *ESCHERICHIA COLI* K-12**

(Представлено академиком Н. В. Цицыным 11 XII 1969)

Результаты изучения рекомбинационнодефектных (гес^-) мутантов *E. coli* K-12 и других микроорганизмов показывают, что мутации гес^- сопровождаются значительным повышением чувствительности мутантных клеток к ультрафиолетовому и рентгеновскому излучениям, а также к некоторым химическим мутагенам (¹⁻⁷). Эти наблюдения позволили предположить, что рекомбинационная дефектность бактерий и дефектность их в восстановлении повреждений ДНК, индуцированных ультрафиолетовым излучением или другими мутагенами, связаны с одной мутацией (^{8, 9}). Между тем известно, что клетки отдельных мутантных штаммов *E. coli* гес^- способны «вырезать» пиримидиновые димеры из ДНК (¹⁰), а штаммы, дефектные по «вырезанию», не всегда дефектны в рекомбинации (¹¹). Таким образом, можно предполагать, что рекомбинационная дефектность и неспособность восстанавливать повреждения ДНК обусловлены двумя мутациями. Если это допущение верно, то возможна идентификация генов гес , активность которых не связана с восстановлением повреждений ДНК, индуцированных ультрафиолетовым излучением или другими мутагенами.

С целью получения данных о роли генов гес в восстановлении повреждений ДНК, вызванных мутагенами различной природы, мы исследовали чувствительность выделенных нами (¹²) четырех рекомбинационнодефектных мутантов *E. coli* P678F⁻ (гес-10 , гес-15 , гес-48 и гес-75) к ультрафиолетовому излучению, метилметансульфонату, азотистой кислоте и митомцину С. Используемые мутанты имеют независимое происхождение.

Обработке мутагенами подвергали бактериальные взвеси в физиологическом растворе или среде М9 с концентрацией $2-5 \times 10^7$ кл./мл, которые были приготовлены из 18-часовых бульонных культур мутантных штаммов после их центрифугирования. Облучение взвесей ультрафиолетовыми лучами проводили при помощи лампы БУВ-15 в условиях, исключающих фотореактивацию. Обработку бактерий метилметансульфонатом и митомцином С проводили путем добавления растворов этих мутагенов в бактериальные взвеси и последующей инкубации смесей при 37° в течение 20 и 30 мин. (соответственно). Действие мутагенов прекращали центрифугированием и двукратным отмыванием клеток в физиологическом растворе. Обработку бактерий азотистой кислотой проводили прибавляя во взвеси свежеприготовленный 0,1 М раствор NaNO_2 в 0,02 М ацетатном буфере (рН 4,0) и выдерживая смеси в разные промежутки времени при 37°. Действие мутагена прекращали разведением проб 1:10 в 0,2 М фосфатном буфере. Число бактерий, выживших в обработанных мутагенами взвешях, определяли путем подсчета колоний, выросших на МПА при 37°, через 48-72 часа после посева соответствующих разведений. В контрольных опытах определяли чувствительность к мутагенам клеток исходного штамма *E. coli* P678 F⁻ гес^+ .

Изучение чувствительности рекомбинационнодефектных мутантов к ультрафиолетовому излучению показало, что она у изучаемых мутантов

неодинакова. На рис. 1А приведены дозные кривые выживаемости клеток мутантов ges^- и исходного штамма ges^+ . Как показывают эти кривые, мутанты ges-10 и ges-48 , имея сходные уровни выживаемости, характеризуются высокой по сравнению с исходным штаммом чувствительностью к ультрафиолетовому излучению. Некоторое повышение чувствительности к излучению характерно для мутанта ges-15 . Однако чувствительность к излучению мутанта ges-75 является такой же, как и чувствительность исходного штамма, поскольку степень инактивации клеток в обоих случаях одинакова.

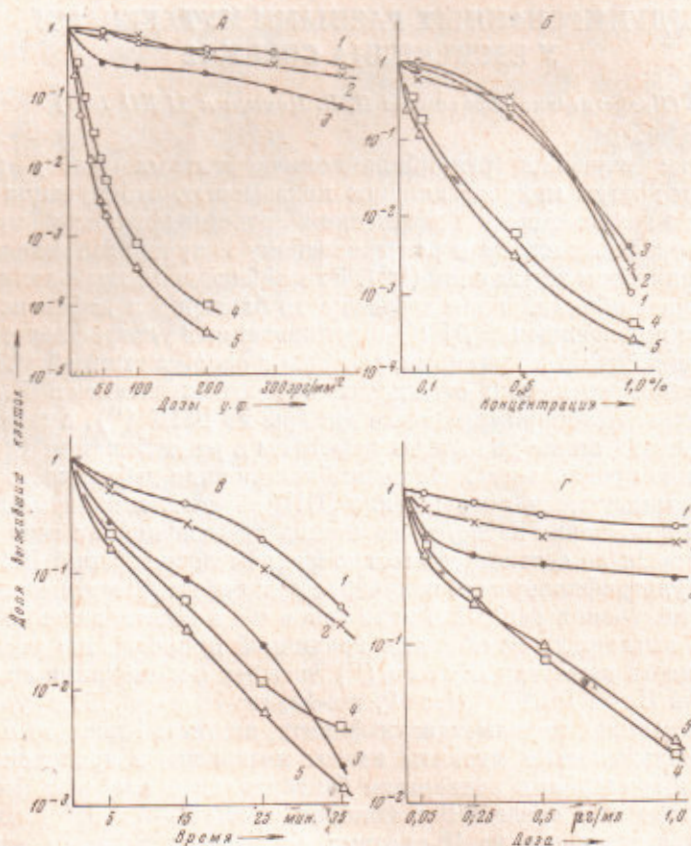


Рис. 1. А — выживаемость клеток в зависимости от дозы у.ф. излучения. Б, Б', Г — чувствительность клеток к метилметансульфонату (Б), азотистой кислоте (Б') и к митомицину С. 1 — исходный штамм *E. coli* P678 F $^+$ ges^+ ; 2 — мутант ges-75 ; 3 — мутант ges-15 ; 4 — мутант ges-10 ; 5 — мутант ges-48 .

Сходное поведение рекомбинационнотренированных мутантов выявлено также при определении их чувствительности к метилметансульфонату, азотистой кислоте и митомицину С. Полученные данные иллюстрируются кривыми, показанными на рис. 1Б, Б', Г. Как и в случае ультрафиолетового излучения, наибольшей чувствительностью к химическим мутагенам и митомицину С обладают мутанты ges-10 и ges-48 , причем их чувствительность также намного превышает чувствительность исходного штамма. Из числа остальных мутантов мутант ges-15 имеет значительно повышенную по сравнению с исходным штаммом чувствительность лишь к азотистой кислоте и незначительно повышенную чувствительность к митомицину С, а мутант ges-75 не обладает повышенной чувствительностью ни к одному из этих мутагенов.

Наши данные о повышенной чувствительности мутантов гес-48, гес-10 и частично гес-15 к ультрафиолетовому излучению являются дальнейшим подтверждением идеи о связи между генетической рекомбинацией и восстановлением лучевых повреждений ДНК⁽⁸⁾. Однако, поскольку мутант гес-75 обладает неизменной чувствительностью к ультрафиолетовому излучению, можно предполагать, что система рекомбинации и система «вырезания» пиримидиновых димеров, обуславливающие переживание клеток после их облучения, независимы. Эта независимость проявляется, по-видимому, тогда, когда в рекомбинации повреждена стадия, отсутствующая или не имеющая значения в восстановлении ДНК. Такое повреждение, вероятно, несет мутант гес-75.

Описанные здесь данные свидетельствуют также о том, что рекомбинационный механизм восстанавливает повреждения ДНК, индуцируемые метилметансульфонатом, азотистой кислотой и митомицином С. Имея в виду механизмы действия этих мутагенов, представляемые данные можно объяснить, допустив, что функции генов гес иногда вовлекаются в восстановление не только пиримидиновых димеров, но и в восстановление повреждений ДНК других типов.

Научно-исследовательская лаборатория
экспериментальной иммунологии
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
3 XII 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. J. Clark, A. D. Margulies, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 53, 2, 451 (1965).
- ² P. Howard-Flanders, L. Theriot, *Genetics*, 53, 6, 1137 (1966).
- ³ P. Van de Putte, H. Zwenk, A. Rörsch, *Mutation Res.*, 3, 331 (1966).
- ⁴ T. Searashi, B. Straus, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 20, 6, 680 (1965).
- ⁵ J. A. Hoch, M. Barakat, C. Anagnostopoulos, *J. Bacteriol.*, 93, 6, 1925 (1967).
- ⁶ A. A. Прозоров, Р. Р. Азизбеян и др., *Генетика*, 4, 2, 97 (1968).
- ⁷ H. Böhme, E. Geissler, *Mol. and Gen. Genetics*, 103, 3, 228 (1968).
- ⁸ P. Howard-Flanders, R. Boyce, *Radiation Res., Suppl.* 6, 156 (1966).
- ⁹ A. J. Clark, M. Chamberlin et al., *Mol. Biol.*, 19, 442 (1966).
- ¹⁰ A. J. Clark, *J. Cell. Physiol.*, 70, 2, p. 2, Suppl. 1, 165 (1967).
- ¹¹ P. Howard-Flanders, R. Boyce, L. Theriot, *Genetics*, 53, 1119 (1966).
- ¹² С. Н. Руднева, А. П. Пехов, *Бюлл. экп. биол. и мед.*, 7, 100 (1969).