

УДК 576.8.095.5

ГЕНЕТИКА

Академик В. Д. ТИМАКОВ, В. С. ЛЕВАШЕВ, В. А. ПЕККЕЛЬ

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА Lon^- -КУЛЬТУР

Из известных в настоящее время чувствительных к у.-ф. облучению мутантов *E. coli* K-12 механизм повышенной чувствительности менее изучен у Lon^- -мутантов, образующих длинные нитевидные неразделяющиеся клетки и слизистые (мукоидные) колонии. По мнению ряда авторов (^{1, 2}), все свойства, характерные для Lon^- -культур — образование нитевидных форм, формирование слизистых колоний и повышенная чувствительность к у.-ф. лучам — являются результатом мутации одного гена *lon*, картирующегося на второй минуте (⁴). Возможно, что изменения у Lon^- -культур являются следствием изменения одного метаболического пути. Однако описано (³) получение Lon^- -культур, не образующих слизистых колоний, что дает основание предполагать сложное строение *lon*-гена. Задачей настоящей работы явилось изучение детерминирования свойств, характеризующих Lon^- -культуры *E. coli* K-12.

В работе использовались культуры *Escherichia coli* K-12: HfrC, G62, полученные нами Lon^- -культуры 3RL, 3RL-9 (производные HfrC), 15m, 13Rt, 111-8 и f_{66}' , несущая *lon*-ген на эписоме. Использовались также культуры W3350, C1412, AB761, P678 и *E. coli* B/r (wr_2). Все Lon^- культуры имели генотип $\text{muc}^+ \text{lon}^-$, за исключением 111-8 и 13RT, не образующих слизистых колоний ($\text{muc}^- \text{lon}^-$). 3RL-9 и 13RT, в отличие от других Lon^- -культур, спонтанно образовывали нитевидные формы и условно названы нами Lon^- -B-культурами. Трансдукция осуществлялась фагом P1. В качестве селективной среды использовался обогащенный минимальный агар с добавлением лактозы.

При скрещивании методом трансдукции двух Lon^- -культур с частотой, превышающей 1%, удается получить $\text{Muc}^- \text{Lon}^-$ -рекомбинанты, что указывает на различное детерминирование свойств нитеобразования и гиперпродукции капсульного полисахарида. Этот вывод согласуется с ранее полученными данными (⁵). Получение с достаточно высокой частотой Muc^- -рекомбинантов при скрещивании двух Muc^+ -культур указывает на возможное наличие у гена *Muc* двух цистронов, из которых у Muc^+ -культур только у одного имеется мутация. Для подтверждения данного предположения был поставлен тест на комплементацию путем скрещивания культур $F_{66}^+ \text{muc}^+ \text{lon}^- \times F^- \text{muc}^+ \text{lon}^-$ для получения частичного диплоида по *muc*-гену. В результате были получены культуры, имеющие Muc^- -фенотип. В качестве контроля были поставлены дополнительные опыты по элиминации F' -фактора из частичных диплоидов путем обработки в течение 18 час. раствором акридина оранжевого (20 $\mu\text{g}/\text{мл}$). После удаления F' -фактора культуры вновь приобретали Muc^+ -фенотип. У частичных диплоидов $F' \text{muc}^+ \text{lon}^- / \text{muc}^+ \text{lon}^-$ наряду с приобретением Muc^- -фенотипа имело место образование дикого фенотипа по *lon*-гену, т. е. и *lon*-геп у изучаемых культур имеет две комплементарные мутации. Данные опыты наводят на мысль, что у $\text{Muc}^+ \text{Lon}^-$ -культур Muc^+ -фенотип обусловлен мутацией только одного цистрона. Проведенные скрещивания $\text{Muc}^- \text{Lon}^-$ -рекомбинантов между собой с помощью трансдукции фагом P1 показали, что при этом с частотой, равной 1%, возникают Muc^+ -рекомбинанты, т. е. можно предположить наличие у Muc^- -рекомбинантов одной не проявляющейся

мутации. Если это предположение верно, то тогда не проявляющаяся мутация может встречаться у некоторых культур дикого типа по гену *mus*. Для подтверждения этого предположения было проведено скрещивание трансдукцией фагом P1 ряда культур дикого типа по генам *mus* и *lon*. В результате скрещивания культур HfrC, G62, AB761, P678, W3350, C1412, III-8, 13RT между собой было показано, что эти культуры с частотой от 1 до 15% образуют *Mus*⁺-рекомбинанты, причем, за исключением скрещивания HfrG × G62(P1), в котором образовывались только *Mus*⁺-рекомбинанты, во всех случаях имело место образование и *Lon*⁻-рекомбинантов. Следует отметить, что не все *Mus*⁺-рекомбинанты являлись и *Lon*⁻-рекомбинантами, т. е. наблюдалось расщепление в потомстве по признакам *Lon* и *Mus*, что еще раз подтверждает разное их детерминирование. Например, в скрещивании G62 × 13RT(P₁) котрансдукция гена *mus* с *tsx* равнялась 40%, а гена *lon* 58%. Из изученных культур выделялась группа культур (C1412, 13Rt, *wr*₂), у которых образование *Mus*⁺-рекомбинантов наблюдалось лишь в том случае, когда они являлись донорами. Когда эти культуры использовались в качестве реципиентов, *mus*-ген у них не проявлялся даже в том случае, если донором была *Mus*⁺-культура. Различие между культурами 13RT, C1412 и *wr*₂ заключалось в различии по генам-супрессорам. Культура C1412 была *sup*⁻, *wr*₂ *sup*⁺ *ochre*, 13RT *sup*⁺ *amber*. Таким образом у C1412 *sup*⁻ не имело места проявление гена *mus*, что, в свою очередь, указывает на белковую природу продукта этого гена. Эти данные совпадают с (6), но отличаются тем, что проявление *mus*-гена у наших культур зависело от наличия *amber*, а не *ochre* супрессора. Непроявление *mus*-гена у культуры 13RT, так как она *sup*⁺ *amber*, имело другую природу и зависело от наличия иной мутации, супрессирующей или репрессирующей его проявление. Эта мутация тесно сцеплена с геном *tsx* и, соответственно, с *lon*. Котрансдукция с геном *tsx* равнялась 69%. Возможно, эта мутация типа мутаций гена-оператора, так как при ее трансдукции культуре *Mus*⁺*Lon*⁻ (3RL-9) репрессируется проявление признаков *Mus* и *Lon* и вместе с этим утрачивается чувствительность к у.-ф. облучению. Полученные данные указывают на сложную структуру *lon*-гена, по-видимому, объединенного в единый оперон, имеющий и *mus*-цистроны. Возможно в этот оперон включен цистрон, мутация в котором супрессирует или репрессирует проявление *lon*-гена и выполняет функции гена-оператора.

Второй Московский государственный медицинский
институт им. Н. И. Пирогова

Поступило
12 VII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Дж. Гриппберг, Вестн. АМН СССР, 11, 17 (1969). ² P. Howard-Flinders et al., Genetics, 49, 237 (1964). ³ H. J. Adler, A. A. Hardigree, J. Bacteriol., 90, 223 (1965). ⁴ A. Taylor, C. Trotter, Bacteriol. Rev., 31, 4, 332 (1967). ⁵ В. С. Левашев, А. М. Домбровский, Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 12, 12 (1970). ⁶ A. Marcovitz, B. Baker, J. Bacteriol., 94, 388 (1967).