

УДК 577.8

ГЕНЕТИКА

Г. И. НАУМОВ, И. И. ТОЛСТОРУКОВ

**МУТАТОР а-ПОЛА У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES NORBENSIS*  
SBY 2314 (BKM Y-1232)**

(Представлено академиком А. Н. Белозерским 28 VII 1971)

Известно, что пол у гетероталлических дрожжей — сахаромицетов — детерминируется двумя аллелями (*a*, *α*) локуса типа спаривания<sup>(1, 2)</sup>. Как правило, гаплоиды скрещиваются только в комбинациях *a* × *α*. Описывались случаи спонтанного мутационного превращения *a*-аллели в *α* и наоборот<sup>(3, 4)</sup>.

Изучение детерминантов гомоталлизма у природных штаммов — мутантов *Saccharomyces* позволило обнаружить специфический ген мутатор *a*-пола. У *Sacch. oviformis* WH-92 и у *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus* 28—73 присутствие мутатора приводит к превращению *α*-пола в *a*<sup>(5—7)</sup>. Природа этого явления остается неизвестной. Тетрадный анализ нестабильных по полу культур, а также гибридов таких культур со стандартными *a*- и *α*-тестерами позволил предположить, что действие мутатора *a*-пола, вероятно, ограничивается определенным периодом при прорастании споры: пол меняется только у одной из пячек споры. Дочерние клетки противоположного пола сливаются и дают гетерозиготную по полу диплоидную культуру. При последующем мейозе такой диплоид расщепляется в тетрадах на две гаплоидные споры *a*-пола и две — *α*-пола. Нестабильность *a*-пола приводит к гетерозиготности по полу сегрегантов, происходящих от *a*-споры.

Недавно был описан штамм *Sacch. norbensis* SBY 2314<sup>(8)</sup>, который после мейоза расщеплялся в тетрадах на два спорулирующих, вероятно диплоидных, клона и два гаплоидных клона исключительно *α*-пола. В последующих двух половых поколениях спорулирующие культуры *Sacch. norbensis* давали такое же расщепление.

Автором<sup>(8)</sup> были поставлены скрещивания *Sacch. norbensis* с *a*- и *α*-гаплоидами и нормальной гомоталлической культурой. Однако дальше фенотипического учета расщеплений полученных гибридов ген-анализ не проведен, т. е. генотипы штаммов не были определены. Автор<sup>(8)</sup> постулировал, что ген диплоидизации у *Sacch. norbensis* в мейозе не стабилен: при репликации ДНК в мейозе ее копии ошибочны. Ошибка в копировании гена гомоталлизма приводит к гетероталлизму.

В настоящем сообщении представлен материал, свидетельствующий о том, что нестабильность гомоталлизма связана с мутацией *a* → *α* в локусе типа спаривания. Такая мутация контролируется геном-мутатором.

В начале нашего исследования мы не располагали высокофертильным потомком культуры *Sacch. norbensis* SBY 2314—SBY 2535<sup>(8)</sup>. Для работы была взята субкультура штамма SBY 2314 из Всесоюзной коллекции микроорганизмов, где штамм SBY 2314 (старый номер Ас 645<sup>(8)</sup>) числится как ВКМ Y-1232<sup>(9)</sup>. Изоляцию спор из асков проводили по методу<sup>(10)</sup>. Как и у<sup>(8)</sup>, штамм был низкофертильный. Прорастало только 18% спор. Полученные моноспоровые культуры были спорулирующими и гаплоидными. Гаплоиды были только *α*-пола. Пол определяли на жидкой полной среде методом Линдгрена<sup>(1)</sup>. Для повышения фертильности мы

проводили гибридинг-самодиплоидизацию спорулирующих моноспоровых культур в течение трех поколений. У второго и третьего поколений в тетрадах наблюдали 2:2 расщепление по гомо- и гетероталлизму. (У трех проанализированных тетрад в  $F_2$  и у 28 тетрад в  $F_3$  расщепление было только 2D:2a).

Нельзя не заметить аналогию в поведении культур с мутатором  $\alpha$ -пола (<sup>5-7</sup>) и *Sacch. norbensis* SBY 2314. В обоих случаях спорулирующие культуры расщепляются по признаку спорообразования (гомоталлизм) 2:2. Можно предположить, что, в отличие от *Sacch. oviformis* WH-92 и *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus* 28-73, у *Sacch. norbensis* SBY 2314 имеется мутатор не  $\alpha$ -пола, а  $\alpha$ -пола. Анализ обоих мутаторов в общих чертах тождествен. У *Sacch. norbensis* SBY 2314, как и у первых двух штаммов, регулярное расщепление 2:2 свидетельствует, что нестабильность гомоталлизма связана с мутацией только в одном гене.

Общепринято, что спорулирующие диплоиды гетерозиготны по полу  $\alpha/\alpha$ , и, поскольку у *Sacch. norbensis* SBY 2314 выщепляются гаплоиды  $\alpha$ -пола, наше предположение о мутации  $\alpha \rightarrow \alpha$  у *Sacch. norbensis* SBY 2314 действительно логично. Предположим, что у *Sacch. norbensis*, как и у *Sacch. oviformis* и *Sacch. cerevisiae*, мутации по полу вызываются специальным геном-мутатором (HTH<sub>x</sub>). При анализе гибрида, гетерозиготного по мутатору, можно получить все необходимые доказательства мутационного превращения одного пола в другой и наличия аллельспецифического мутатора пола (<sup>5, 7</sup>).

Если мутатор не скрещен с локусом типа спаривания, то гибрид  $\alpha$ HTH<sub>x</sub> / ahth<sub>x</sub> даст дигенное комплементарное расщепление по гомоталлизму:

	Родительский дитип	Неродительский дитип	Тетратип
Спора A	$\alpha$ HTH <sub>x</sub> (d) *	aHTH <sub>x</sub> (D)	aHTH <sub>x</sub> (D)
Спора B	$\alpha$ HTH <sub>x</sub> (d)	aHTH <sub>x</sub> (D)	aHTH <sub>x</sub> (d)
Спора C	ahth <sub>x</sub> (d)	$\alpha$ hth <sub>x</sub> (d)	$\alpha$ hth <sub>x</sub> (d)
Спора D	ahth <sub>x</sub> (d)	$\alpha$ hth <sub>x</sub> (d)	$\alpha$ hth <sub>x</sub> (d)

d — гаплоид, D — диплоид.

Важнейшая особенность такого гибрида состоит в том, что его диплоидные сегреганты происходят всегда от споры  $\alpha$ -пола и что диплоидные сегреганты после нового мейоза дадут моногенное расщепление по гомо- и гетероталлизму 2D:2d.

В качестве рецессивного тестера по предполагаемому мутатору  $\alpha$ -пола мы взяли гаплоид  $\alpha$ -типа спаривания, происходящий (<sup>11</sup>) от инбредной XII расы *Sacch. cerevisiae*. Другой родитель — гаплоидная клетка  $\alpha$ -типа спаривания *Sacch. norbensis*. Данные тетрадного анализа гибрида представлены в табл. 1. По гомоталлизму мы наблюдали комплементарное расщепление. У всех спорулирующих сегрегантов гибрида было получено половое поколение (табл. 1). По характеру гомоталлизма сегреганты гибрида разбиваются на два типа: 1) нестабильные гомоталлические расщепляющиеся как *Sacch. norbensis* на 2D:2a; 2) стабильные гомоталлические, у которых после мейоза расщепление не наблюдается. Полученные данные позволяют утверждать, что у гибрида имеется две системы гомоталлизма, состоящие из комплементарных факторов.

Из сопоставления данных табл. 1 видно, что нестабильные гомоталлические культуры происходят только от спор  $\alpha$ -типа спаривания. Этим самым подтверждается мутационное превращение  $\alpha$ -пола: имея  $\alpha$ -аллель типа спаривания, спора дает диплоидную культуру, из которой выщепляются гаплоиды уже  $\alpha$ -пола. Комплементарное расщепление по нестабильному гомоталлизму указывает, что, кроме  $\alpha$ -аллели локуса типа спаривания,

Таблица 1

Комплементарное расщепление\* по гомоталлизму гибрида *Sacch. norbensis* 2314-F<sub>3</sub>-IA  $\times$  *Sacch. cerevisiae* XII<sub>7</sub>-IC

Сегрегант	Спорообразование	Тип спаривания	Расщепление в последующем мейозе	Сегрегант	Спорообразование	Тип спаривания	Расщепление в последующем мейозе
1A	—	$\alpha$	—	9A	+	—	4D : 0 $\alpha$
1B	—	a	—	9B	+	—	4D : 0 $\alpha$
1C	—	$\alpha$	—	9C	—	$\alpha$	—
1D	+	—	4D : 0 $\alpha$	9D	—	a	—
2A	—	a	—	10A	—	$\alpha$	—
2B	—	$\alpha$	—	10B	—	$\alpha$	—
2C	—	$\alpha$	—	10C	—	$\alpha$	—
2D	—	—	2D : 2 $\alpha$	10D	—	—	—
3A	+	—	2D : 2 $\alpha$	11A	—	$\alpha$	—
3B	—	a	—	11B	+	—	2D : 2 $\alpha$
3C	—	$\alpha$	—	11C	+	—	4D : 0 $\alpha$
3D	—	$\alpha$	—	11D	—	$\alpha$	—
4A	—	$\alpha$	—	12A	—	—	—
4B	+	—	4D : 0 $\alpha$	12B	—	$\alpha$	—
4C	—	$\alpha$	—	12C	—	a	—
4D	—	a	—	12D	—	$\alpha$	—
5A	—	$\alpha$	—	13A	—	$\alpha$	—
5B	—	a	—	13B	—	a	—
5C	+	—	4D : 0 $\alpha$	13C	—	—	—
5D	—	$\alpha$	—	13D	+	—	4D : 0 $\alpha$
6A	—	$\alpha$	—	14A	—	$\alpha$	—
6B	—	$\alpha$	—	14B	—	a	—
6C	—	$\alpha$	—	14C	—	a	—
6D	—	a	—	14D	+	—	4D : 0 $\alpha$
7A	+	—	4D : 0 $\alpha$	15A	+	—	4D : 0 $\alpha$
7B	—	$\alpha$	—	15B	—	$\alpha$	—
7C	—	a	—	15C	+	—	2D : 2 $\alpha$
7D	—	$\alpha$	—	15D	—	a	—
8A	—	a	—	16A	—	$\alpha$	—
8B	—	$\alpha$	—	16B	+	—	2D : 2 $\alpha$
8C	+	—	4D : 0 $\alpha$	16C	—	$\alpha$	—
8D	—	a	—	16D	—	a	—

\* 0 — спорулирующий диплоид, не имеющий типа спаривания;  $\alpha$ -гаплоид  $\alpha$ -типа спаривания.

нестабильный гомоталлизм детерминируется еще каким-то фактором. Последний и является «мутатором» а-пола. Не исключено, что сам мутатор имеет сложное строение — состоит из комплементарных генов.

В настоящее время проводится идентификация генов стабильного и нестабильного гомоталлизма у *Sacch. norbensis* SBY 2314, *Sacch. cerevisiae* XII<sub>7</sub>.

Всесоюзный научно-исследовательский  
институт генетики и селекции  
промышленных микроорганизмов  
Москва

Поступило  
23 VII 1971

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> C. Lindegren, The Yeast Cell, its Genetics and Cytology, St. Louis, 1949.
- <sup>2</sup> R. Mortimer, D. Howthorne, Genetics, 53, 165 (1966). <sup>3</sup> S. Pomreg, McKee, Science, 117, 455 (1953). <sup>4</sup> И. Захаров, Б. Симаров, Генетика, № 3, 118 (1966). <sup>5</sup> I. Takano, Y. Oshima, Genetics, 57, 875 (1967). <sup>6</sup> I. Takano, Y. Oshima, Genetics, 65, 421 (1970). <sup>7</sup> Г. Наумов, И. Толсторуков, Генетика, 8, № 3, 95 (1972). <sup>8</sup> J. Santa Maria, D. Vidal, Bol. Inst. Nac. Inv. Agronomicas (Madrid), № 62, 1 (1970). <sup>9</sup> Каталог культур микроорганизмов, поддерживаемых в институтах СССР, Дополнение 1, В. Кудрявцев (редактор), «Наука», 1968.
- <sup>10</sup> J. Johnston, R. Mortimer, J. Bacteriol., 78, 292 (1959). <sup>11</sup> С. Ииге-Вечтомов, Вестн. Ленингр. унив., № 24, 117 (1963).