

Г. И. НАУМОВ, И. И. ТОЛСТОРИКОВ

МУТАТОР α -ПОЛА У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES NORBENSIS*
SBY 2314 (ВКМ Y-1232)

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

Известно, что пол у гетероталлических дрожжей — сахаромикетов детерминируется двумя аллелями (α , α) локуса типа спаривания (¹, ²). Как правило, гаплоиды скрещиваются только в комбинациях $\alpha \times \alpha$. Описывались случаи спонтанного мутационного превращения α -аллели в α и наоборот (³, ⁴).

Изучение детерминантов гомоталлизма у природных штаммов — мутантов *Saccharomyces* позволило обнаружить специфический ген мутатор α -пола. У *Sacch. oviformis* WH-92 и у *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus* 28—73 присутствие мутатора приводит к превращению α -пола в α (⁵⁻⁷). Природа этого явления остается неизвестной. Тетрадный анализ нестабильных по полу культур, а также гибридов таких культур со стандартными α - и α -тестерами позволил предположить, что действие мутатора α -пола, вероятно, ограничивается определенным периодом при прорастании споры: пол меняется только у одной из почек 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 α -пола и две — α -пола. Нестабильность α -пола приводит к гетерозиготности по полу сегрегантов, происходящих от α -споры.

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

Автором (⁸) были поставлены скрещивания *Sacch. norbensis* с α - 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 (⁸) 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 $\alpha \rightarrow \alpha$ 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 (⁸). Для работы была взята субкультура штамма SBY 2314 из Всесоюзной коллекции микроорганизмов, где штамм SBY 2314 (старый номер Ac 645 (⁸)) числится как ВКМ Y-1232 (⁹). Изоляцию спор из асков проводили по методу (¹⁰). Как и у (⁸), штамм был низкофертильный. Проросло только 18% спор. Полученные моноспоровые культуры были спорулирующими и гаплоидными. Гаплоиды были только α -пола. Пол определяли на жидкой полной среде методом Линдегрена (¹). Для повышения фертильности мы

провели инбридинг-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 α -пола (⁵⁻⁷) 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 α -пола, а а-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 а/а, и, поскольку у *Sacch. norbensis* SBY 2314 выщепляются гаплоиды α -пола, наше предположение о мутации $a \rightarrow \alpha$ 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 (НТН_x). При анализе гибрида, гетерозиготного по мутатору, можно получить все необходимые доказательства мутационного превращения одного пола в другой и наличия аллельспецифического мутатора пола (^{5, 7}).

Если мутатор не сцеплен с локусом типа спаривания, то гибрид $aНТН_x/ahth_x$ даст дигенное комплементарное расщепление по гомоталлизму:

	Родительский дигип	Неродительский дигип	Тетратип
Спора А	$\alphaНТН_x$ (d) *	$aНТН_x$ (D)	$aНТН_x$ (D)
Спора В	$\alphaНТН_x$ (d)	$aНТН_x$ (D)	$\alphaНТН_x$ (d)
Спора С	$ahth_x$ (d)	αhth_x (d)	αhth_x (d)
Спора D	$ahth_x$ (d)	αhth_x (d)	$a hth_x$ (d)

d — гаплоид, D — диплоид.

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

В качестве рецессивного тестера по предполагаемому мутатору а-пола мы взяли гаплоид а-типа спаривания, происходящий (¹¹) от инбредной XII расы *Sacch. cerevisiae*. Другой родитель — гаплоидная клетка α -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 а-типа спаривания. Этим самым подтверждается мутационное превращение а-пола: имея а-аллель типа спаривания, спора дает диплоидную культуру, из которой выщепляются гаплоиды уже α -пола. Комплементарное расщепление по нестабильному гомоталлизму указывает, что, кроме а-аллели локуса типа спаривания,

Таблица 1

Комплементарное расщепление * по гомоталлизму гибрида *Sacch. norbensis* 2314-F₃-1A × *Sacch. cerevisiae* XII₇-1C

Серегант	Спорооб- разование	Тип спарива- ния	Расщепление в последую- щем мейозе	Серегант	Спорооб- разование	Тип спарива- ния	Расщепление в последую- щем мейозе
1A	—	α	—	9A	+	—	4D : 0α
1B	—	a	—	9B	+	—	4D : 0α
1C	—	α	—	9C	—	α	—
1D	+	—	4D : 0α	9D	—	a	—
2A	—	a	—	10A	—	α	—
2B	—	α	—	10B	—	a	—
2C	—	α	—	10C	—	α	—
2D	+	—	2D : 2α	10D	—	—	—
3A	+	—	2D : 2α	11A	—	α	—
3B	—	a	—	11B	+	—	2D : 2α
3C	—	α	—	11C	+	—	4D : 0α
3D	—	α	—	11D	—	α	—
4A	—	α	—	12A	—	—	—
4B	+	—	4D : 0α	12B	—	α	—
4C	—	a	—	12C	—	a	—
4D	—	a	—	12D	—	α	—
5A	—	α	—	13A	—	α	—
5B	—	a	—	13B	—	a	—
5C	+	—	4D : 0α	13C	—	—	—
5D	—	α	—	13D	+	—	4D : 0α
6A	—	α	—	14A	—	α	—
6B	—	α	—	14B	—	a	—
6C	—	α	—	14C	—	a	—
6D	—	a	—	14D	+	—	4D : 0α
7A	+	—	4D : 0α	15A	+	—	4D : 0α
7B	—	α	—	15B	—	α	—
7C	—	a	—	15C	+	—	2D : 2α
7D	—	α	—	15D	—	a	—
8A	—	a	—	16A	—	α	—
8B	—	α	—	16B	+	—	2D : 2α
8C	+	—	4D : 0α	16C	—	α	—
8D	—	a	—	16D	—	a	—

* D — спорующий диплоид, не имеющий типа спаривания; α-гаплоид α-типа спаривания.

нестабильный гомоталлизм детерминирован 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* XII₇.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт генетики и селекции
промышленных микроорганизмов
Москва

Поступило
23 VII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ C. Lindegren, The Yeast Cell, its Genetics and Cytology, St. Louis, 1949.
² R. Mortimer, D. Howthorne, Genetics, 53, 165 (1966). ³ S. Pomper, McKee, Science, 117, 455 (1953). ⁴ И. Захаров, Б. Симаров, Генетика, № 3, 118 (1966). ⁵ I. Takano, Y. Oshima, Genetics, 57, 875 (1967). ⁶ I. Takano, Y. Oshima, Genetics, 65, 421 (1970). ⁷ Г. Наумов, И. Толсторуков, Генетика, 8, № 3, 95 (1972). ⁸ J. Santa Maria, D. Vidal, Bol. Inst. Nac. Inv. Agronomicas (Madrid), № 62, 1 (1970). ⁹ Каталог культур микроорганизмов, поддерживаемых в институтах СССР, Дополнение 1, В. Рудрявцев (редактор), «Наука», 1968.
¹⁰ J. Johnston, R. Mortimer, J. Bacteriol., 78, 292 (1959). ¹¹ С. Инге-Вечтомов, Вестн. Ленингр. ун-ва, № 21, 117 (1963).