

И. А. ЗАХАРОВ, Л. М. ГРАЧЕВА, С. В. КОВАЛЬЦОВА,
Т. Н. КОЖИНА, В. Г. КОРОЛЕВ

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРИРОДА МУТАЦИЙ У ДРОЖЖЕЙ,
ИНДУЦИРОВАННЫХ РАЗНЫМИ ИЗЛУЧЕНИЯМИ И
ВОЗНИКАЮЩИХ НА ФОНЕ РАЗЛИЧНОГО ГЕНОТИПА**

(Представлено академиком Н. П. Дубининым 1 VI 1973)

Известно, что природа мутационного изменения в ДНК определяется двумя факторами: с одной стороны характером первичного повреждения, зависящим от механизма действия данного мутагена, и с другой стороны — особенностями процессов, которые развертываются вслед за возникновением первичных повреждений до фенотипического проявления мутации. Процесс становления мутации происходит при участии репарационных систем, поэтому генетические изменения, затрагивающие синтез репарационных ферментов, могут сказываться на природе мутаций, индуцированных у радиочувствительных штаммов с нарушенной способностью к репарации.

Настоящее исследование ставило задачу объяснить значение обоих упомянутых факторов. Для этого проводилось изучение особенностей прямых мутаций в локусе ad_2 у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, индуцированных различными ионизирующими и неионизирующими излучениями, а также инкорпорированным радиоактивным фосфором, т. е. определение специфичности мутагенного действия различных источников радиации на клетки дикого типа. Было изучено также влияние мутаций радиочувствительности, блокирующих разные этапы процесса пострadiационного восстановления, на характер мутаций, индуцированных одним мутагеном.

Материалом для исследований послужила коллекция гаплоидных прототрофных радиочувствительных мутантов дрожжей-сахаромицетов, полученная в лаборатории радиационной генетики Ленинградского института ядерной физики АН СССР (^{1, 2}). В работе использовались следующие штаммы: 15В-П4 — прототрофный гаплоид дикого типа и гаплоидные радиочувствительные мутанты, несущие мутации в следующих локусах радиочувствительности: uvs_1 , xrs_1 , xrs_2 и xrs_4 . Ранее было показано, что мутация uvs_1 аллельна мутации gad_2 , блокирующей выщепление димеров пиримидиновых оснований, индуцированных у.-ф. лучами (³). Мутации xrs_1 , xrs_2 и xrs_4 , приводящие к повышению чувствительности и к действию у.-ф. лучей, и к рентгеновскому излучению, резко снижали частоту индуцированной митотической рекомбинации у диплоидов, представляя собой, таким образом, мутации типа $гес^-$. Эти мутации, видимо, связаны с нарушениями в работе пострепликативного рекомбинационного восстановления.

В работе использовались следующие мутагены: ультрафиолетовые и рентгеновские лучи, β -излучение радиофосфора, нейтроны деления (средняя энергия 3,5 мэв) и инкорпорированный радиоактивный изотоп фосфора P^{32} . Условия облучения и введения радиоактивного фосфора описаны ранее (⁴⁻⁶). Все эти мутагены применялись для изучения специфичности мутагенного действия различных физических факторов на штамм дикого типа 15В-П4 в дозах, дающих 5—50% выживания клеток.

Установление специфичности действия применяемых мутагенов и влияния мутаций радиочувствительности на мутационный процесс проводилось при сравнении характера возникающих мутаций в локусе ad_2 . При этом

Особенности мутагенного действия различных источников излучения на гаплоидный штамм дрожжей дикого типа

№ варианта	Мутаген	Всего мутаций в локусе	Число комплементирующих мутаций	Число некомплементирующих мутаций	% некомплементирующих	Различие достоверно с вариантами
1	У.-ф.	77	59	18	23,4	№№ 4, 5
2	R	73	46	27	37,0	
3	β	134	94	40	29,8	
4	P ³²	94	54	40	42,5	№ 1
5	Нейтроны	47	24	23	48,9	№ 1

сравнивались карты локуса ad_2 , построенные методом межаллельной комплементации. Способ построения генетических карт с использованием веронных тестеров описан ранее (⁷).

При изучении специфичности мутагенного действия примененных физических факторов и инкорпорированного радиоактивного фосфора на клетки дикого типа были получены следующие результаты (табл. 1).

Среди индуцированных мутаций, несущих изменения в локусе ad_2 , встречались как комплементирующие, так и некомплементирующие. Однако их соотношение варьировало в зависимости от применяемого мутагена. Наименьшее количество некомплементирующих мутаций наблюдалось в случае облучения у.-ф. лучами. Далее по этому признаку мутагены располагались в следующем порядке: β -излучение, рентген, инкорпорированный фосфор и нейтроны деления. Однако достоверная разница по соотношению комплементирующих и некомплементирующих мутаций обнаружена лишь между у.-ф. и инкорпорированным фосфором ($\chi^2=6,94$; $P<0,01$) и между у.-ф. и нейтронами ($\chi^2=8,61$; $P<0,01$).

На основании этих данных мы пришли к выводу о том, что все используемые мутагены индуцируют мутации как типа замен оснований, выявляемые как комплементирующие, так и мутации других молекулярных типов. Для у.-ф. лучей, как это и ожидалось, число комплементирующих мутаций оказалось наибольшим, поскольку известно, что этот мутаген, первичным продуктом действия которого является образование пиримидиновых димеров, в основном приводит к образованию мутаций типа замен оснований (⁸). Применение ионизирующих излучений повышает долю некомплементирующих мутаций, возникающих, по-видимому, вследствие вставок-выпаждений нуклеотидов.

Можно было предположить, что при облучении нейтронами наличие плотноионизирующей компоненты должно приводить к индукции более грубых мутационных изменений, например типа делеций или иных хромосомных перестроек, как это было показано для растений (⁹). Это могло проявиться в повышенной частоте возникновения некомплементирующих мутаций. Однако достоверных различий по этому признаку между нейтронами и жесткими рентгеновыми лучами не было обнаружено (⁶).

Использование различных радиочувствительных мутантов, имеющих блоки на разных этапах пострадиационного восстановления, позволило установить, что мутации xrs_2 и xrs_4 , связанные, по-видимому, с блоком пострепликативной репарации, приводят к достоверному повышению частоты у.-ф. индуцированных некомплементирующих мутаций в локусе ad_2 по сравнению со штаммом дикого типа с ненарушенной системой восстановления (табл. 2). Мутации uvr_1 и xrs_1 по этому признаку от нормы не отличаются. Природа некомплементирующих мутаций в этих случаях не устанавливалась, можно лишь предполагать, что мутации xrs_2 и xrs_4 , связанные с нарушениями процессов митотической рекомбинации, приводят после

Влияние мутаций радиочувствительности на индуцированный у.-ф. мутационный процесс

№ варианта	Генотип гаплоида	Всего мутаций в локусе ad_2	Число комплекмирующих мутаций	Число некомплекмирующих мутаций	% некомплекмирующих	Различие достоверно с вариантами
1	uvs_1	64	52	12	18,7	№№ 4, 5
2	uvs^+xrs^+	77	59	18	23,4	
3	xrs_1	81	57	24	29,6	
4	xrs_4	76	46	30	39,5	№ 1
5	xrs_2	72	35	37	51,4	№ 1

облучения к неупорядоченной деградации ДНК и как следствие этого — к возникновению мутаций типа делеций.

Таким образом, применение тонких генетических методов для анализа природы индуцированных генных мутаций позволило установить, что несмотря на некоторые достоверные различия все применяемые физические мутагены особой специфичностью мутагенного действия не обладают. Данные же по влиянию мутаций радиочувствительности на индуцированный мутационный процесс показывают, что процессы митотической рекомбинации оказывают существенное влияние на природу возникающих мутаций. Таким образом, при лучевом мутагенезе молекулярная природа индуцированных мутаций определяется не столько характером первичного молекулярного изменения в ДНК, сколько последующими процессами, ведущими к становлению мутации.

Ленинградский институт ядерной физики
им. Б. П. Константинова
Академии наук СССР

Поступило
1 VI 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ И. А. Захаров, Т. Н. Кожина, ДАН, 176, № 6, 1418 (1967). ² Н. Г. Сулова, И. А. Захаров, Генетика, 6, № 8, 158 (1970). ³ Т. Н. Кожина, И. А. Захаров, Генетика, 8, № 12 (1972). ⁴ Т. Н. Кожина, В. П. Степанова, Генетика, 4, № 9, 65 (1968). ⁵ Л. М. Грачева, Н. Ю. Железнякова, В. Г. Королев, Генетика, 6, № 11, 101 (1970). ⁶ Т. Н. Кожина, Генетика, 9, № 1 (1973). ⁷ Т. Р. Сойдла, С. Г. Инге-Вецтомов, Б. В. Симаров, В сборн. Исследования по генетике, Л., № 3, 1967, стр. 148. ⁸ B. J. Kilbey, F. J. de Serres, H. V. Mallin, Mut. Res., 12, № 1, 47 (1971). ⁹ Н. С. Эйгес, В. С. Можаяева и др., В сборн. Практические задачи генетики в сельском хозяйстве, «Наука», 1971, стр. 100.