

Академик Н. П. ДУБИНИН, Г. Д. ЗАСУХИНА, В. А. НЕСМАШНОВА, Г. Н. ЛЬВОВА

**СПОНТАННЫЙ И ИНДУЦИРОВАННЫЙ МУТАГЕНЕЗ У ВИРУСА
ЗАПАДНОГО ЛОШАДИНОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА В КЛЕТКАХ
КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ, КОНТРАСТИРУЮЩИХ
ПО РЕПАРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ**

Ранее нами было показано, что первичные и перевиваемые клетки сирийского хомячка отличаются по способности вырезать тиминовые и урациловые димеры, образующиеся после у.-ф. облучения в ДНК и РНК клеток. В этой системе клеток были показаны различия в выживаемости РНК-содержащего вируса после воздействия некоторыми мутагенами ⁽¹⁾. Кроме того, нами была обнаружена другая система клеток, контрастирующая по системе ДНК-репарации: клетки безлейкозных и обычных (контаминированных вирусом лейкоза кур) куриных эмбрионов. Изучение репаративной активности клеток обычных и безлейкозных куриных эмбрионов, проведенное по методу Сетлоу и др. ⁽²⁾, выявило, что клетки безлейкозных куриных эмбрионов обладают репаративной активностью, тогда как клетки обычных эмбрионов не способны вырезать тиминовые димеры, образующиеся после у.-ф. облучения, из ДНК ⁽³⁾.

Настоящее сообщение посвящено исследованию выживаемости (разница в титрах контрольного и обработанного мутагеном вируса) вируса западного лошадиного энцефаломиелита (WEE) после воздействия мутагенами и показателям спонтанной изменчивости вируса в этих клетках.

В работе был использован крупнобляшечный мутант РНК-содержащего вируса (WEE). Крупнобляшечный мутант этого вируса в условиях пассирования на белых мышах образовывал в клетках куриного эмбриона преимущественно крупные бляшки диаметром 4–6 мм.

Анализ спонтанной мутабельности вируса в клетках обычных и безлейкозных куриных эмбрионов на протяжении 5 пассажей, которые проводили каждые 24 часа (это соответствует примерно 40 вирусным циклам), показал, что к концу 1-го пассажа в клетках безлейкозных куриных эмбрионов образовывалось 14% мелкобляшечных вариантов (табл. 1). При этом число их существенно не изменялось в течение 5 проведенных пассажей. Мелкобляшечные варианты вируса проверены на стабильность признака размера бляшек. При этом было показано, что они сохраняли мелкобляшечную характеристику на протяжении 40 последующих вирусных генераций. В клетках обычных куриных эмбрионов число мелкобляшечных вариантов нарастало по мере пассирования и достигало 76% к 5-му пассажу. Следовательно, возникновение вариантов вируса отмечалось в каждом последующем вирусном поколении, что приводило к накоплению их в вирусной популяции. Из приведенных данных следует, что клетки безлейкозных куриных эмбрионов способствуют определенной стабильности исходной по признаку размера бляшек генетической характеристике вируса, тогда как в клетках обычных куриных эмбрионов возникают спонтанные мутации.

В литературе имеются сведения о репарации повреждений, вызванных у.-ф. лучами в геноме ДНК-содержащих вирусов с помощью репаративного механизма клеток хозяина ⁽⁴⁾. Аналогичные результаты получены с РНК-содержащим вирусом в системе первичных и перевиваемых клеток почек хомяка, контрастирующих по системе РНК-репарации ⁽¹⁾.

При анализе показателей выживаемости вируса в опытах с у.-ф. лучами, когда облучение инфицированных клеток у.-ф. лучами проводилось в темноте лампой БУВ-15 (эффективность излучения 4,6 эрг/мм², длина волны 253,7 мкм, экспозиция 3 мин.), было обнаружено, что выживаемость

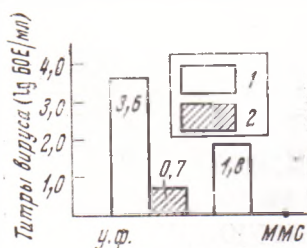


Рис. 1. Выживаемость вируса WEE в клетках обычных (1) и безлейкозных (2) куриных эмбрионов после у-ф. облучения и воздействия MMC

вируса (lg БОЕ на 1 мл) в клетках обычных куриных эмбрионов составляет 3,6, тогда как в клетках безлейкозных 0,7 (рис. 1). Следует отметить при этом, что клетки обычных и безлейкозных куриных эмбрионов обладают одинаковой чувствительностью к вирусу. Аналогичные данные нами были получены в опытах с метилметансульфонатом (ММС) в концентрации $2 \cdot 10^{-3}$ М при экспозиции 2 часа, когда также отмечалась повышенная выживаемость вируса в клетках безлейкозных куриных эмбрионов. Если разница в титрах (lg БОЕ на 1 мл) контрольного и обработанного вируса в клетках обычных куриных эмбрионов составляла 1,8, то в клетках безлейкозных эмбрионов эти титры были одинаковыми.

По-видимому, различия в выживаемости вируса после воздействия мутагенами в клетках обычных и безлейкозных куриных эмбрионов связаны с тем, что в клетках безлейкозных куриных эмбрионов имеется активная система не только ДНК-репарации, но и РНК-репарации, и потенциальные повреждения вирусного генома частично восстанавливаются активно функционирующей клеточной системой. В табл. 1 суммированы данные по выходу индуцированных ММС мелкобляшечных вариантов вируса. Видно, что в клетках безлейкозных куриных эмбрионов при данных условиях эксперимента не отмечалось нарастания числа мелкобляшечных вариантов по сравнению с контролем. В то же время число индуцированных ММС мелкобляшечных вариантов вируса в клетках обычных куриных эмбрионов было в 10 раз выше, чем в контроле. В опытах с у-ф. лучами в обеих клеточных системах индукции вариантов на проводимом уровне исследований не наблюдалось. Эти результаты подтверждают ранее полученные данные, которые показывают, что в клетках обычных куриных эмбрионов система РНК-репарации находится в неактивном состоянии⁽⁵⁾, что отражается на показателях выживаемости и индуцированной мутабельности вируса.

Таким образом, как в системе первичных клеток (обычных и безлейкозных куриных эмбрионов), так и в системе первичных и перевиваемых клеток (почек сирийского хомяка), контрастирующих по репаративной активности, получены данные о различиях в показателях спонтанной и индуцированной мутабельности у РНК-содержащего вируса. Можно предполагать, что эффект ряда химиотерапевтических веществ и инактиваторов вирусов варьирует в зависимости от активности системы репарации.

Институт общей генетики Академии наук СССР
Москва

Поступило
3 I 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Г. Д. Засухина, Г. Н. Львова и др., Генетика, № 7, 110 (1973). ² R. Setlow, P. Swensen, W. Carrier, Science, v. 142, 1464 (1963). ³ Н. П. Дубинин, Г. Д. Засухина, Л. Л. Матусевич, ДАН, т. 212, № 2, 481 (1973). ⁴ C. Lytle, S. Aaronson, E. Harvey, Intern. J. Rad. Biol., v. 22, 2 (1972). ⁵ Н. П. Дубинин, Г. Д. Засухина и др., ДАН, т. 207, № 4, 971 (1972).