

М. Г. ОГАНЕСЯН, Э. Г. МУГНЕЦЯН, Л. О. ДЖАНПОЛЯДЯН

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ СРЕПТОМИЦИНОВЫХ МУТАЦИЙ ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* CA 165, НЕСУЩЕГО ОХРОВЫЙ СУПРЕССОР—SUP B.

Получено и проанализировано свыше 100 спонтанных стрептомициновых мутантов штамма *E. coli* CA 165, несущего охровый супрессор—sup B. Они отличаются высокой плеiotропностью проявления, обусловленной единичной стрептомициновой мутацией. Работа охрового супрессора оценивалась по способности супрессировать охровую мутацию в β -галактозидазном гене самих бактерий и нонсенс-мутации бактериофага T4. Установлено влияние стрептомицина на характер изменений в работе супрессора.

Показано, что высокая плеiotропность, проявляемая стрептомициновыми мутантами штамма *E. coli* CA 167, несущего sup C охровый супрессор, обусловлена единичной мутацией в локусе *str* A [1]. При этом отмечалось изменение работы охрового супрессора [1—3]. Задача настоящей работы—выделить и изучить стрептомициновые мутанты штамма *E. coli* CA 165 с целью выяснить, являются ли выявленные закономерности специфическими для супрессора—sup C или они характерны и для других охровых супрессоров.

Материал и методики. В работе использованы следующие бактериальные штаммы: чувствительный к стрептомицину штамм *E. coli* CA 165, несущий охровую мутацию в гене, контролирующем биосинтез β -галактозидазы, и охра-супрессор sup B, сбраживает лактозу (фенотип лак+); штамм 594, содержащий мутацию в гене, контролирующем биосинтез β -галактозидазы, не несущий супрессора, вследствие чего не сбраживает лактозу (фенотип лак-).

В экспериментах по трансдукции донорами служили ауксотрофные стрептомициновые мутанты. При анализе работы супрессора использованы фаги, охарактеризованные ранее [4]. Из стрептомициновых мутантов *str* A-локуса переносили в исходный штамм с помощью трансдуцирующего фага P1кс.

Для определения способности мутантов сбраживать лактозу использовали индикаторную среду Эндо. Для выявления ауксотрофов—среда M9 (Адамс) с добавлением 10 мкг/мл тиамина. При получении фаголизатов P1кс и проведении опытов по трансдукции использовали среды следующего состава: Т-бульон (дрожжевой экстракт—5 г, пептон—10 г, глюкоза—4 г, CaCl_2 — 5×10^{-3} М), агаризованные среды.

Стрептомициновые мутанты выделялись по ранее описанному методу [4]. Проверка способности стрептомициновых мутантов супрессировать различные нонсенс-мутации бактериофага T4 проводилась по Бензеру [6]. Для фенотипического анализа мутанты, нанесенные на чашки Петри с индикаторной и минимальными средами, инкубировались в термостатах при 27, 37, 42°C в течение 48 час.

Результаты и обсуждение. При высеве 100 стрептомициновых мутантов штамма *E. coli* CA 165 на полноценную среду оказалось, что 8 из них растут только при добавлении стрептомицина в среду—для своего развития они нуждаются в антибиотике. Это так называемые стрептомицинзависимые (СМ-з) мутанты (табл. 1). Стрептомицинзави-

Таблица 1
Рост стрептомициновых мутантов *E. coli* CA 165
на полноценной среде при 37°C

Номера мутантов	Без стрептомицина	Со стрептомицином
СМ-р мутанты:		
B1, B3, B4, B6—B19	3	3
B21—B60, B63—B91	3	3
B93—B100	3	3
СМ-з мутанты:		
B2, B5, B20, B61	0	3
B62, B92, B101, B107	0	3
CA—165 контроль	3	0

Условные обозначения во всех таблицах: CA 165—родительский штамм; СМ-з—рост мутантов зависит от стрептомицина; СМ-р—рост мутантов не зависит от стрептомицина; 0—отсутствие роста; 3—нормальный рост.

симые мутанты у *E. coli* CA 165 и CA 167 возникают приблизительно с одинаковой частотой (СМ-р) (8 мутантов из 100 проверенных стрептомицинустойчивых у CA 165 и 10—у CA 167). Рост мутантов изучался и на минимальных средах. Как видно из табл. 2, часть мутантов (B3, B14,

Таблица 2
Рост ауксотрофов на минимальных средах при 37°C

Номера мутантов штамма CA165	Минимальная среда А 9		Полноценная среда Эндо	
	без стрептомицина	со стрептомицином	без стрептомицина	со стрептомицином
СМ-р мутанты:				
B3, B14, B60, B65, B84, B88	0	0	3	3
B103, B110	0	1	3	3
B108	1	1	3	3
СМ-з мутанты:				
B62	0	1	0	3
CA165 контроль	3	0	3	0

1 — слабый рост

Обозначения: см. табл. 1.

B60, B65, B84, B88) не растет на минимальных средах. Мутант B18—ауксотроф нуждается в факторах роста, слабо растет на минимальной среде независимо от наличия или отсутствия антибиотика в среде. У

мутантов В103, В110 стрептомицин слабо супрессирует ауксотрофность. Стрептомицинзависимый мутант В62 так же нуждается в неидентифицированных факторах роста, поскольку слабо растет на минимальной среде со стрептомицином. Для проверки зависимости ауксотрофности от стрептомициновой мутации методом трансдукции был осуществлен перенос *str* А-локуса мутантов в исходный штамм СА 165. Анализ трансдуктантов подтвердил эту зависимость, поскольку все проверенные трансдуктанты приобретали одновременно устойчивость к стрептомицину и зависимость от факторов роста. Среди стрептомициновых мутантов обоих штаммов (СА 167, СА 165) доля ауксотрофов одинакова и составляет около 10%.

Инкубация стрептомициновых мутантов *E. coli* СА 165 при различных температурах позволила выделить группу температурочувствительных мутантов, утративших способность роста при 42°C как на минимальных, так и полноценных средах (табл. 3). Температурочувствительный фенотип проявили 6 мутантов у СА 165 и 8—у СА 167.

Таблица 3

Рост температурочувствительных мутантов СА 165 на различных средах при разных температурах инкубации (°C)

Номера мутантов	Минимальная среда М9						Полноценная среда Эндо					
	без стрептомицина			со стрептомицином			без стрептомицина			со стрептомицином		
	27	37	42	27	37	42	27	37	42	27	37	42
СМ-р мутанты:												
В52, В73, В113	3	3	0	3	3	0	3	3	0	3	3	0
В105	1	1	0	1	1	0	3	3	0	3	3	0
В73	3	1	0	3	1	0	3	3	0	3	3	0
СМ-з мутанты:												
В107	0	0	0	3	3	0	0	0	0	3	3	0
СА165—контроль	3	3	3	0	0	0	3	3	3	0	0	0

Обозначения: см. табл. 1 и 2.

По способности стрептомициновых мутантов сбраживать лактозу судили об изменении характера работы супрессора (табл. 4). Все мутанты СА 165, как и СА 167, были разделены на 3 группы: нормально сбраживающие, сбраживающие слабо и не сбраживающие (лактозу) [1].

Об изменении характера работы охра-супрессора судили и по способности мутантов супрессировать нонсенс-мутации у фага Т4. (табл. 5). Все мутанты подразделялись на несколько групп. В первую группу вошли мутанты, которые, как и исходный штамм СА 165, супрессируют только охровые мутации фага Т4, во вторую группу—мутанты, которые не супрессируют нонсенс-мутации фага Т4, в третью—мутанты, кото-

Т а б л и ц а 4

Рост мутантов *E. coli* CA 165 на индикаторной среде Эндо при 37°C

Номера мутантов	Без стрептомицина	Со стрептомицином
СМ-р мутанты:		
B1, B3, B4, B6, B7, B11, B12, B15, B16, B22, B23, B30—B34, B39, B40, B41, B43, B45, B50, B54, B56, B57, B59, B62—B65, B67, B68, B69, B72, B73, B84—B88, B90, B95, B98, B99	+	+
СМ-з мутанты:		
B2, B5, B61, B92	0	+
СМ-р мутанты:		
B8, B13, B14, B17, B18, B21, B24—B28, B35, B37, B38, B42, B44, B46, B47—B49, B55, B60, B66, B68, B71, B74, B77, B78, B80, B81, B93, B98	±	±
СМ-з мутанты:		
B62	0	±
СМ-р мутанты:		
B10, B19, B50, B51, B58, B70, B75, B76, B78, B82, B83, B89, B91, B94, B97, B100	—	—
СМ-з мутанты:		
B20, B101, B107	0	—
CA165	+	0

Обозначения: + нормальная способность сбраживать лактозу; ± ослабленная способность сбраживать лактозу; — утрата способности сбраживать лактозу; 0 отсутствие роста.

рые супрессируют не охровые, а опал-мутации того же фага. Следующую группу составили мутанты, супрессирующие как охровые, так и опал-мутации, пятую группу—мутанты, которые только на среде со стрептомицином проявляют изменения в работе охра-супрессора. Так, мутанты B85, B86, B108 на среде без стрептомицина не проявили изменений в работе супрессора, добавление же стрептомицина в среду привело к тому, что эти мутанты супрессируют опал-мутации фага Т4. Мутанты B93, B88, не супрессирующие охра-мутации на среде без стрептомицина, на среде со стрептомицином супрессируют как охра-, так и опал-мутации фага Т4. Интересно отметить, что у обоих штаммов (CA 167 и CA 165) ни один стрептомициновый мутант не обладал способностью супрессировать амбер-мутации фага Т4.

Изучение стрептомициновых мутантов штамма *E. coli* CA 165 свидетельствует о том, что изменения ряда свойств стрептомициновых мутантов сходны с такими же изменениями, выявленными ранее у стрептомициновых мутантов штамма CA 167, несущего другой охровый супрессор—sup C. [1].

Таблица 5

Изменение характера супрессии нонсенс-мутантов фага Т4 стрептомициновыми мутантами *E. coli* CA 165 при 37°C

Номера групп	Номера мутантов	Без стрептомицина				Со стрептомицином			
		Т4	охра	опал	амбер	Т4	охра	опал	амбер
1	B1—B4, B6—B—11, B15—B23, B26—B32, B34—B57, B59—B61, B64—B84, B88—B90, B92, B95—B100	3	3	0	0	3	3	0	0
2	B13, B91, B93, B109	3	0	0	0	3	0	0	0
3	B1, B25	3	0	3	0	3	0	3	0
4	B14, B62, B89	3	3	3	0	3	3	3	0
5	B85, B86, B108	3	3	0	0	3	3	3	0
6	B93, B58	3	0	0	0	3	3	3	0
	CA 165	3	3	0	0	0	0	0	0
	Штамм 594	3	0	0	0	0	0	0	0

Условные обозначения: 0—отсутствие зоны лизиса; 3—четкая литическая зона.

Изменение работы охра-супрессора, обнаруживаемое нами по способности мутантов сбрасывать лактозу и супрессией нонсенс-мутаций фага Т4, не зависело ни качественно, ни количественно от вида охра-супрессора. Изменения были идентичны у стрептомициновых мутантов штаммов CA 165 и CA 167. Таким образом, одинаковый спектр изменений у стрептомициновых мутантов штаммов CA 165 и CA 167, по-видимому, указывает на то, что эти изменения характерны для охровых супрессоров и не носят штаммспецифического характера.

Ереванский государственный университет,
кафедра генетики и цитологии

Поступило 15.XI 1976 г.

Մ. Գ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Է. Գ. ՄՈՒՂՆԵՑՅԱՆ, Լ. Օ. ԶԱՆՓՈՒԱԴՅԱՆ

ՍՏՐԵՊՏՈՄԻՑԻՆԱՅԻՆ ՄՈՒՏԱՆՏՆԵՐԻ ԱՐՏԱՀԱՅՏՄԱՆ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՕԽՐԱ-ՍՈՒՊՐԵՍՈՐ
SUP B ԿՐՈՂ CA 165 ՇՏԱՄԻ ՄՈՏ

Ա մ փ ո փ ու մ

E. coli CA—167 շտամի ստրեպտոմիցինային մուտանտների ուսումնասիրությունները ի հայտ բերեցին որոշակի օրինաչափություններ օխրա-սուպրեսորի աշխատանքի փոփոխման մեջ:

Այս աշխատանքում ուսումնասիրվել են 100 ստրեպտոմիցինային մուտանտների մեկ ուրիշ օխրա-սուպրեսոր կրող շտամի *E. coli* CA—165 մոտ:

Պարզաբանված է, որ բոլոր ուսումնասիրված հատկանիշներով այդ շտամների վարքագիծը նույնն է անկախ նրանց կրած սուպրեսորի տիպից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

- 1 Оганесян М. Г., Мугнецян Э. Г. Биологический журнал Армении, 11, 1976.
2. Breckenridge L. et al. Genetics, 65, 1970.
3. Strigini P., Brickman J. Mol. Biol. 75, 4, 1973.
4. Оганесян М. Г., Барегамян И. Н. Биологический журнал Армении, 7, 1974.
5. Адамс М. Бактериофаги. М., 1961.
6. Benzer S., Champe S. P. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 47, 1025, 1961.