

ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДНК ФАГА  
 др 8 SALMONELLA DERBY

А. Г. ГАБРИЕЛЯН, Р. А. ЗАХАРЯН, М. К. ВАРТАНЯН, К. С. КАРАГЕЗЯН

Исследованы физические свойства ДНК фага др 8 S. derby. Молекулярный вес ДНК оценен по степени сглаженности дифференциальной кривой плавления и определен методом скоростной седиментации. Процентное содержание ГЦ-пар найдено двумя независимыми методами: по кривой плавления и спектру кругового дихронизма. Судя по ширине интервала плавления ДНК, фаг др 8 относится к полумерным, что согласуется с данными о лизогенизации фагом др 8 своего хозяина К 89 derby.

Фаг др 8 входит в группу близкородственных фагов др [2], выделенных из природных лизогенных штаммов Salmonella derby. Было выяснено, что некоторые из фагов др 1—9 осуществляют генерализованную трансдукцию, способны к фаговой конверсии и осуществляют конверсию морфологии бактерий, антигенных признаков и фаговых рецепторов [3]. В связи с этим представляет интерес сравнительное изучение структурных особенностей ДНК этих родственных фагов. В данной работе рассматриваются некоторые физические свойства ДНК фага др 8.

*Материал и методика.* Фаг др 8 выделен из индикаторного штамма К 89 derby. Лизат получен по общепринятой методике на твердой питательной среде (по Адамсу) [1]. ДНК фага др 8 выделена из фаголизата по методу Мак-Хетче [5, 11]. Содержание белка в препарате ДНК, определенное методом Лоурн [13], составляло ~1%.

Молекулярный вес выделенной ДНК определяли по методу скоростной седиментации [10] в 1×SSC. Центрифугирование проводили на аналитической ультрацентрифуге Spinco E (ротор АН-Д). США, с ультрафиолетовой оптикой. Седиментограммы получали после фотометрирования пластинок на двухлучевом микрофотометре ИФО-451.

Спектры кругового дихронизма (КД) регистрировали на спектрополяриметре Сагу-60 с КД-приставкой 6001.

Кривые плавления получали на усовершенствованном для прецизионных измерений спектрофотометре Hitachi (Япония) с чувствительностью ~10<sup>-4</sup> оптических единиц. Регистрацию кривых проводили при непрерывном повышении температуры в термостатированной ячейке со скоростью 0,15 град/мин. Кривые плавления дифференцировали графическим способом [14].

*Результаты и обсуждение.* Молекулярный вес ДНК (M<sub>w</sub>), определенный методом скоростной седиментации, составил (31,4±8,7)×10<sup>6</sup> дальтон. Это значение согласуется с величиной молекулярного веса ДНК др 8, определенной Сафарян с соавт. [6] электрофоретически (маркером служила ДНК фага λ). О молекулярном весе этой ДНК

позволяет судить, кроме того, степень сглаженности дифференциальной кривой плавления [4], что показано также на рис. 1 (ДНК др 8  $\sim 30 \times 10^6$  дальтон).

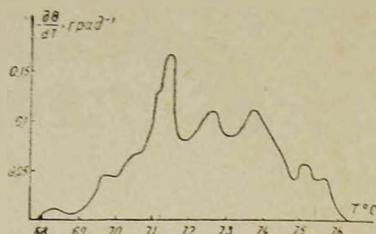


Рис. 1. Нормированная дифференциальная кривая плавления ДНК др 8 в  $0,1 \times \text{SSC}$ .

Как видно из дифференциальной кривой плавления, наиболее выраженный пик приходится на участок молекул ДНК, обогащенный АТ-парами. Таким образом, ДНК др 8 АТ-типа. Определенная по кривой плавления, температура плавления ( $T_m$ ) ДНК др 8 в  $0,1 \times \text{SSC}$  оказалась равной  $(71,55 \pm 0,05)^\circ$ . Это значение соответствует  $(43,3 \pm 1)$  процентному содержанию ГЦ-пар в ДНК [12]. Моль-процент ГЦ-пар рассчитывали также исходя из спектра кругового дихроизма [7, 16]. При расчете амплитуды полос в спектрах КД ДНК определяются по формуле:

$$\Delta \varepsilon = \alpha (1 - x) + (\alpha + \beta) x,$$

где  $x$ —моль-процент ГЦ-пар,  $\alpha$  и  $\beta$ —полуэмпирические параметры, значения которых зависят, в частности, от длины волны.

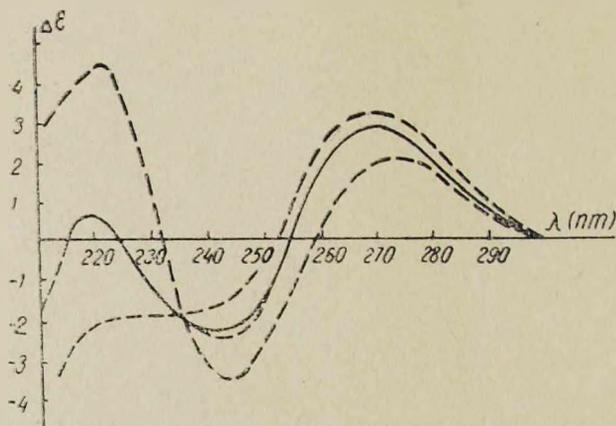


Рис. 2. КД-спектры ДНК др 8. Первая сверху пунктирная кривая—1, вторая пунктирная—2, вторая сплошная—3, третья пунктирная—4.

На рис. 2 приведены КД-спектры ДНК в единицах молярного дихроизма ( $\Delta \varepsilon$ ) в растворителе  $0,1 \times \text{SSC}$ . Кривая 1 соответствует расчет-

ному спектру идеализированной ДНК со 100%-ным содержанием АТ-пар; кривая 4—расчетному спектру ДНК со 100%-ным содержанием ГЦ-пар; кривая 3—экспериментально полученному спектру ДНК  $dp\ 8$ , она практически совпадает с расчетной кривой 2 для ДНК в В-форме с 43%-ным содержанием ГЦ-пар.

Таким образом, процентное содержание ГЦ-пар в ДНК  $dp\ 8$ , определенное двумя независимыми методами, оказывается равным 43.

Ширину интервала плавления находили по кривой плавления ДНК как  $\Delta T = \frac{1}{(\partial\theta/\partial T)_{T=T_m}}$ , где  $\theta$ —степень спиральности молекул ДНК. Ширина  $\Delta T$  оказалась равной  $(5,7 \pm 0,1)^\circ$ . Эта величина больше, чем таковая для ДНК вирулентных фагов с квазислучайной последовательностью оснований ( $\sim 3^\circ$ ) [8, 9]. Она приближается к величине  $\Delta T$  для ДНК фагов умеренных. Однако у ДНК истинно умеренных фагов, например  $\lambda$ , величина  $\Delta T$  больше ( $\sim 10^\circ$ ) вследствие блочности строения. Всю ДНК в геноме умеренных фагов можно разбить на ряд последовательностей, отличающихся друг от друга средним содержанием ГЦ-пар и имеющих каждая случайную последовательность оснований [15]. Вероятно, блочное строение ДНК умеренных фагов обусловлено их способностью захватывать участки ДНК хозяина.

Вывод о полуумеренном характере фага  $dp\ 8$  согласуется с данными о лизогенизации своего хозяина К 89, при которой наблюдается обратная зависимость: при увеличении множественности инфекции процент лизогенных бактерий уменьшается. Так, при множественности инфекции, равной 1, этот показатель составляет 18,5, при 100—1,3. Между тем у истинно умеренных фагов отмечается прямая зависимость процента лизогенных бактерий от множественности инфекции.

Авторы благодарят Ю. С. Лазуркина и Ю. Л. Любченко за предоставление возможности для проведения работы и Л. С. Шляхтенко, Ю. А. Банникова за помощь в работе.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 7.II 1979 г.

### dp 8. SALMONELLA DERBY ՔԱՎՏԵՐԻՈՅԱԿԻ ԴՆԹ-Ի ՖԻԶԻԿԱԿԱՆ ՀԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ա. Գ. ԿԱՔՐԻՆՅԱՆ, Թ. Ա. ՋԱԲԱՐՅԱՆ, Մ. Կ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Կ. Ս. ՂԱՐԱԴՅՈՂՅԱՆ

Ուսումնասիրվել են  $dp\ 8$  S. derby ֆագի ԴՆԹ-ի ֆիզիկական հատկությունները լուծույթում: Որոշվել է ԴՆԹ-ի մոլեկուլյար կշիռը, որը չափվել է սեդիմենտացիոն եղանակով: Այն համապատասխանում է հալման դիֆերենցիալ կորի տեսքին: Ըստ հալման ջերմաստիճանի արժեքի և շրջանային դիֆերոնդմի սպեկտրի տվյալ ԴՆԹ-ի ԳՑ զույգերի բաղադրությունը հավասար է 43%-ի:

$\Delta T$  ԴՆԹ-ի հալման ինտերվալի լայնությունը թույլ է տալիս եզրակացնելու, որ  $dp\ 8$  ֆագը կիսաշափավոր է: Վերջին եզրակացությունը հաստատվում է  $dp\ 8$  ֆագով անցկացվող К 89 S. derby-ի լիզոգենիզացիայի տվյալներով:

# PHYSICAL PROPERTIES OF DNA $\text{dp}8$ BACTERIOPHAGE SALMONELLA DERBY

A. G. GABRIELIAN, R. A. ZACHARIAN, M. K. VARTANIAN,  
K. S. KARAGIOZIAN

Some physical properties of DNA of  $\text{dp}8$  bacteriophage *S. derby* have been studied. The molecular weight of DNA has been determined, using sedimentation data and the differential melting curve.

The content of GC-pairs in DNA molecules has been defined by melting curve and the spectrum of circular dichroism. The  $\text{dp}8$  phage is semimoderate, as the width of melting curve permits to conclude. This conclusion agrees with lisogenization data.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Адамс М. Бактериофаги. М., 1961.
2. Вартанян М. К., Карабеков Б. П., Матевосян Н. А. Сб. Вопросы молекулярно-клеточной биологии, Ереван, 1971.
3. Вартанян М. К., Кцоян Ж. А., Карабеков Б. П. Биолог. ж. Армении, 31, 1, 3, 1978.
4. Габриелян А. Г., Захарян Р. А. Биолог. ж. Армении, 31, 8, 833, 1978.
5. Захарян Э. Г., Захарян Р. А., Чарчоглян А. А., Карагезян К. С., Африкян Э. К. Биолог. ж. Армении, 31, 1, 3, 1978.
6. Сафарян А. С., Захарян Э. Г., Карагезян К. С., Саркисян Н. Н., Кцоян Ж. А., Захарян Р. А. Биолог. ж. Армении, 31, 8, 879, 1978.
7. Шляхтенко Л. С. Канд. дисс., М., 1974.
8. Шугалий А. В., Франк-Каменецкий М. Д., Лазуркин Ю. С. Мол. биол., 5, 766, 1971.
9. Frank-Kamenetskii M. D., Lazurkin Yu. S. Ann. Rev. Biophys. Bioenerg., 3, 127, 1974.
10. Freifelder D. J. Mol. Biol., 54, 567, 1970.
11. MacHattie L. A., Ritchie D. A., Thomas C. A., J. Mol. Biol., 23, 355, 1967.
12. Marmur J., Doty P. J. Mol. Biol., 5, 109, 1962.
13. Layre E. Meth. Enzym., 3, 447, 1957.
14. Lyubchenko Yu. L., Frank-Kamenetskii A. L., Lazurkin Yu. S., Gause G. G. Biopolymers, 15, 1019, 1976.
15. Skalka A., Burgi E., Hersky A. D. J. Mol. Biol., 35, 1, 1968.
16. Usatyi A. F., Schlyachtenko L. S. Biopolymers, 12, 45, 1973.