

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ
ФАГОВ PSEUDOMONAS PUTIDA

С. М. АКОПЯН, М. Г. ГАЛУСТЯН, Ш. М. КОЧАРЯН

Физико-химические свойства фага P_i-16 были изучены ранее [1, 2, 11]. Будучи трансдуцирующим, он используется в генетических исследованиях *Pseudomonas putida* [5, 12]. Имеются данные, свидетельствующие о возможности лизогенизации *P. putida* фагом P_i-16, хотя сам механизм этого феномена остается невыясненным [3, 6]. Ранее сообщалось о выделении фагов P_i1 и P_i2 из культур *P. putida*, предположительно лизогенных по фагу P_i-16 [4].

Если фаг P_i-16 лизогенизирует бактерии по механизму «классической» лизогенизации, то следовало ожидать, что выделенные фаги должны быть идентичны ему. Цель настоящей работы заключалась в сравнительном изучении физико-химических свойств фагов P_i1, P_i2 и P_i-16.

Материал и методика. Выращивание, концентрирование и очистка фагов проводились по методикам, описанным ранее [2]. Электронномикроскопическое исследование препаратов фагов в водном растворе уранил ацетата и молекул ДНК (с маркером ДНК CoI E1) по методике Кляйнмицда [9] проводили на электронном микроскопе BS-613 (ЧССР) при ускоряющем напряжении 80 кв. Размеры ДНК фагов по коитурным длинам и их молекулярные веса определялись по методике Ланг и др. [10]. Для вычисления процентного содержания ГЦ-пар в исследуемых геномах фагов проводили температурное плавление молекул ДНК. Кривые плавления получали на регистрирующем спектрофотометре PS-1800 (Англия), с программным температурным устройством. Скорость нагревания составляла 0,25° в 1 мин. Плавление проводили в 0,05×SSC и 0,1×SSC.

Результаты и обсуждение. Как показали электронномикроскопические исследования негативно контрастированных препаратов фагов P_i1 и P_i2, вирусные частицы имели головки неправильной (несколько вытянутой по длине) гексагональной формы (рис.). Характерной особенностью этих фагов было наличие хорошо выраженного сокращающегося чехла на хвостовых отростках, заканчивающихся сложно устроенной базальной мембраной, которая представлена (вид с торца) шестью выростами, оканчивающимися парными присосками.

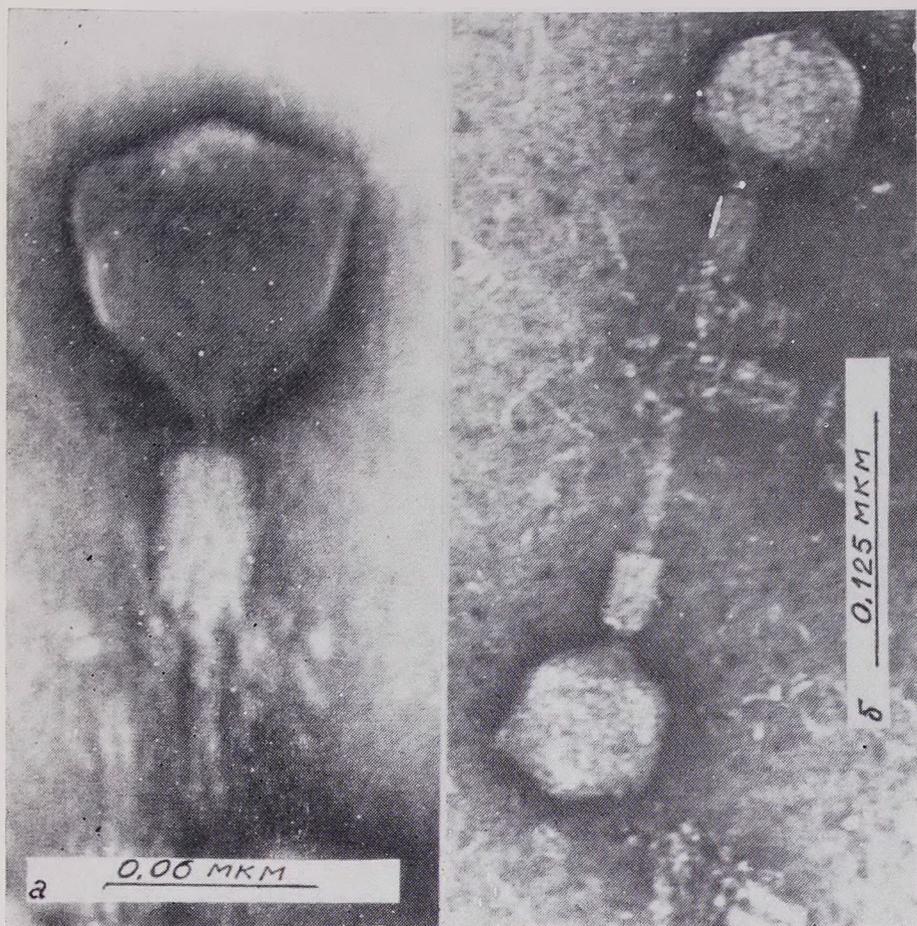


Рис. Фаговые частицы Рf1 1 (а) и Рf1 2 (б). Хорошо видны сокращенные чехлы и оголенные стержни. Окрашивание 2%-ным водным раствором уранил ацетата.

Анализ негативов электронных микрофотографий фагов Pfl 1 и Pfl 2 обнаружил следующие параметры капсидов и хвостовых отростков (табл. 1):

Таблица 1
Морфологические особенности фагов и молекулярный вес фаговых ДНК

ФАГИ	Размеры, Å		ДНК	
	головка	хвост	длина молекул, мк	молекулярный вес, Мдальтон
Pf-16	1065,5	1365,5	47	94
Pfl 1	674,6	963,7	36	72
Pfl 2	741,5	443,4	36	72

Как видно из табл. 1, у бактериофагов Pfl 1 и Pfl 2, в сравнении с фагом Pf-16, наблюдается заметная вариабельность молекулярных весов ДНК (M_L), рассчитанных нами по значению контурных длин L : $M_L = L \times K$. Коэффициент линейной плотности (K), величина которого зависит от состава оснований, определяли по формуле, предложенной Фрейфельдером [8].

Параллельно нами исследовался молярный состав оснований по температуре плавления их ДНК. С этой целью было использовано уравнение, предложенное Франк-Каменецким [7]: $T_{пл} = 176 - (2,6 - X_0) (36 - 7,04 \times \lg Na^+ /)$, где X_0 — процентное содержание ГЦ-пар в ДНК; $\lg Na^+$ для $0,05 \times SSC$ и $0,1 \times SSC$ соответственно составляют 50,15 и 48,03.

Таблица 2
Термическая денатурация фаговых ДНК

ДНК фага	Температура плавления		Молярное содержание ГЦ-пар, % (рассчитано по температуре плавления ДНК)
	в $0,05 \times SSC$ град	в $0,1 \times SSC$ град	
Pfl 1	82,5	83	79
Pfl 2	84,5	88,5	70
Pf-16	—	—	48*

*—данные Ниблак и др. [11].

Как следует из результатов, приведенных в табл. 2, ДНК изученных фагов, как и фага Pf-16, не относятся к АТ-типу.

Суммируя приведенные данные, можно отметить необычные для исследованной группы фагов свойства ДНК. Хотя фаги Pfl 1 и Pfl 2 по ряду биологических и морфологических свойств близки, они существенно различаются по нуклеотидному составу. Более того, сравнительная характеристика морфологических и физико-химических данных фагов Pfl 1, Pfl 2 и фага Pf-16 выявила заметную вариабельность этих свойств.

Таким образом, бактериофаги Pfl 1 и Pfl 2 отличаются от бактериофага Pf-16 как по морфологическим признакам, так и по суммарному нуклеотидному составу и молекулярному весу. В этой связи представляется целесообразным дальнейшее исследование, направленное на выявление степени родства геномов этих фагов: построение карт частичной денатурации ДНК фагов Pfl 1 и Pfl 2 и конструирование гетеродуплексных молекул их ДНК с ДНК фага Pf-16.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 18.II 1979 г.

PSEUDOMONAS PUTIDA ՖԱԳԵՐԻ ՖԻԶԻԿԱ-ԲԻՈԽԻՄԻԱԿԱՆ ՈՐՈՇ ՀԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ս. Մ. ՀԱՎՈՐՅԱՆ, Մ. Գ. ԳԱՍՊՈՍՅԱՆ, Ծ. Մ. ԲՈՉԱՐՅԱՆ

Ուսումնասիրվել են Pseudomonas putida ֆագերի ԴՆԲ-ի ֆիզիկա-քիմիական հատկությունները, մոլեկուլյար կշիռը և ԳՑ զույգերի տոկոսային պարունակությունը:

Որոշված են ֆագային մասնիկների էլեկտրոնամանրադիտակային շափուկերը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Акопян С. М., Захарян Р. А., Агабалян А. С., Захарян Э. Г., Кочарян Ш. М. Мат-лы XV Чехослов. конференции по электронной микроскопии, Прага, 13, 1977.
2. Акопян С. М., Галустян М. Г., Агабалян А. С., Захарян Э. Г., Амирханова Л. М., Азарян Н. Г., Арутюнян Д. Г., Захарян Р. А. Биолог. ж. Армении, 30, 12, 54, 1977.
3. Арутюнян Д. Г., Кочарян Ш. М., Захарян Р. А., Алиханян С. П. Тезисы докл. XIV Международного генетического конгресса, часть 1, 56, 1978.
4. Арутюнян Д. Г., Кочарян Ш. М. Сб. трудов Института эксперимент. биологии АН АрмССР, Ереван, 1979.
5. Chakrabarty A. M., Gunsalus C. F., Gunsalus I. C. Proc. Nat. Acad. Sci USA 60, 168, 1968.
6. Chakrabarty A. M., Gunsalus I. C. Virology, 30, 20, 1969.
7. Frank-Kamenetskii M. D. Biopolymers, 10, 2623, 1971.
8. Freifelder D. T. Mol. Biol., 54, 567, 1970.
9. Kleinschmidt A. K., Lang D., Jacherts D., Zahn R. K. Biochim. Biophys. Acta, 61, 857, 1962.
10. Lang D. J. Mol. Biol., 54, 557, 1970.
11. Niblack T. F., McDantel R. M., Killmer P., Gunsalus I. C. J. Bacteriol., 92, 1254, 1966.
12. Stanisich V. A., Richmond M. H. In: Genetics and Biochemistry of Pseudomonas N. Y.—London, 163, 1975.