

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ХИМИЧЕСКИМ АГЕНТАМ  
 УФ-МУТАНТОВ SALMONELLA DERBY

Дж. Б. БЕГЛЯРЯН

Одним из подходов к изучению механизмов репарации ДНК в клетке является идентификация и анализ мутантов, обладающих пониженной способностью к восстановлению повреждений. Изучение таких мутантов выявило наличие специальных систем, восстанавливающих повреждения ДНК, вызванные УФ светом [6].

*Материал и методика.* В работе исследовались УФ-чувствительные мутанты К 118, К 134, полученные в нашей лаборатории [1], и дикий тип К 89.

В качестве мутагенов использовались: метилметансульфонат (ММС) в концентрации 0.2%, нитрозогуанидин (НГ), 1 мкг/мл, митоминин С (МС), 60 мкг/мл, и азотистая кислота (АК), 0.1 М.

При обработке метилметансульфонатом культуру инкубировали 2,5 час. в бульоне при 37°, встряхивая до титра  $10^8$  кл/мл. Затем ее отмывали центрифугированием и концентрировали в физиологическом растворе в 2 раза. В полученную суспензию добавляли ММС. Действие мутагена прекращали разведением (1:100) в физиологическом растворе.

При обработке нитрозогуанидином 18-часовую культуру отмывали от бульона и концентрировали в фосфатном буфере (рН 6.0) в 5 раз. Действие НГ прекращали путем разведения (1:100) суспензии в охлажденном фосфатном буфере (рН 7.0).

В опытах с азотистой кислотой 18-часовую культуру отмывали и концентрировали в ацетатном буфере (рН 4.6) в 5 раз. Действие мутагена прекращали разведением (1:100) в фосфатном буфере (рН 7.0).

При обработке митоминином С 18-часовую культуру отмывали и концентрировали в физиологическом растворе в 5 раз, затем смешивали с раствором митоминина С. Контакт с мутагеном продолжался в течение 30 мин при 37°. Действие его прекращали путем разведения (1:100) в охлажденном физиологическом растворе.

*Результаты и обсуждение.* Кинетика инактиваций ММС УФ-мутантов S. derby приведена на рис. 1, из которого видно, что эти мутанты и дикий тип К 89 проявили почти одинаковую чувствительность к этому агенту. То же самое следует сказать и о действии НГ (рис. 2).

Известно, что монофункциональные алкилирующие агенты, к числу которых принадлежат ММС и НГ, метилируют пуриновые основания ДНК, чем и обусловлено их мутагенное и инактивирующее действие. Метилированные основания подвергаются атаке нуклеаз, вслед-

ствие чего образуются одонитевые разрывы ДНК, обуславливающие летальное действие этих соединений [7].

В исследованиях с *E. coli* установлено, что Hcg мутация не увеличивает чувствительность бактерий к инактивирующему действию ММС [5], а также НГ [3].

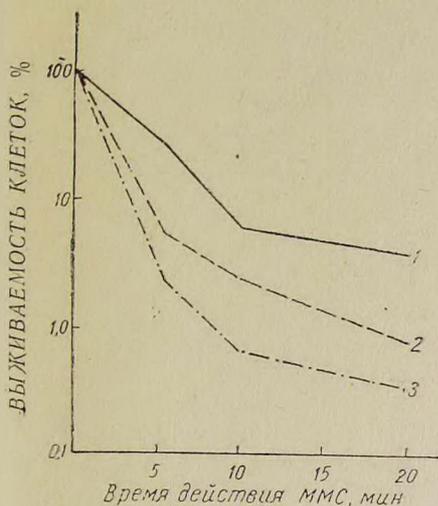


Рис. 1.

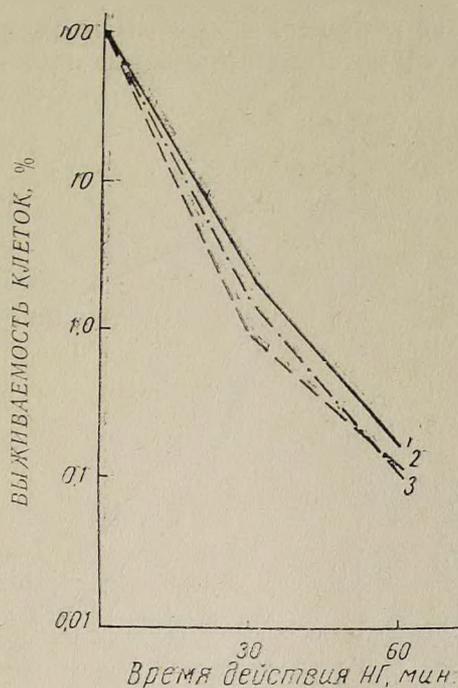


Рис. 2.

Рис. 1. Выживаемость разных мутантов *S. derby* после обработки метилметансульфонатом. 1—дикий тип К 89; 2—мутант К 118; 3—мутант К 134.

Рис. 2. Выживаемость разных мутантов *S. derby* после обработки нитрозогуанидином. 1—дикий тип К 89; 2—мутант К 118; 3—мутант К 134.

Отсутствие различий в чувствительности между этими мутантами и диким штаммом свидетельствует о том, что, по-видимому, восстановление летальных повреждений, индуцированных ММС и НГ, осуществляется у них одинаковым механизмом.

Азотистая кислота и митомизин С вызывают значительно более выраженную инактивацию мутантов К 118 и К 134 по сравнению с диким типом (рис. 3, 4).

Бифункциональные алкилирующие агенты, к числу которых относятся МС, вызывают межнитевые сшивки в ДНК. Азотистая кислота, как известно, дезаминирует основание и тоже приводит к образованию межнитевых сшивок в ДНК. Эти сшивки, не подвергаясь репарации, препятствуют репликации ДНК, что ведет к гибели бактерий. Репарация повреждений такого типа требует ферментативной активности, свойственной Hcg<sup>+</sup> бактериям [5]. Анализируемые мутанты, как и

Нсг-мутанты *E. coli* по-видимому, лишены этой активности, вследствие чего чувствительны к действию МС и АК.

Известно, что репарация одиночных разрывов не требует первого этапа восстановления—выщепления поврежденных оснований. Следовательно, она будет проходить даже у штаммов, дефектных по первому этапу восстановления, но при условии, если другие звенья репарационной системы у них сохранены [6]. По всей видимости, такими мутантами являются исследуемые нами.

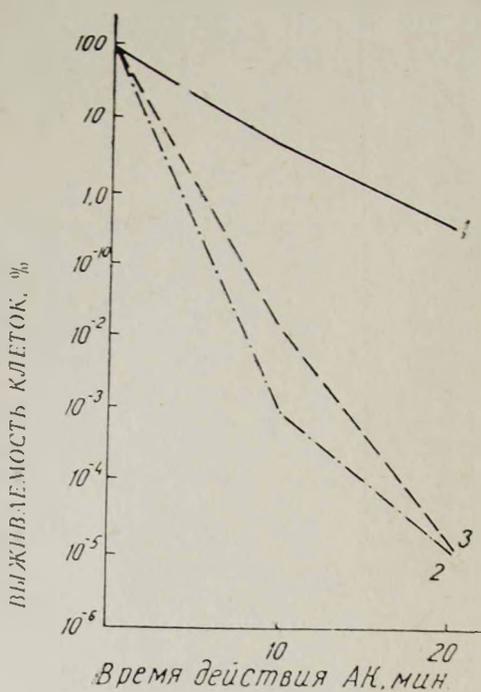


Рис. 3.

Рис. 3. Выживаемость разных мутантов *S. derby* после обработки азотистой кислотой. 1—дикий тип К 89; 2—мутант К 118; 3—мутант К 134.

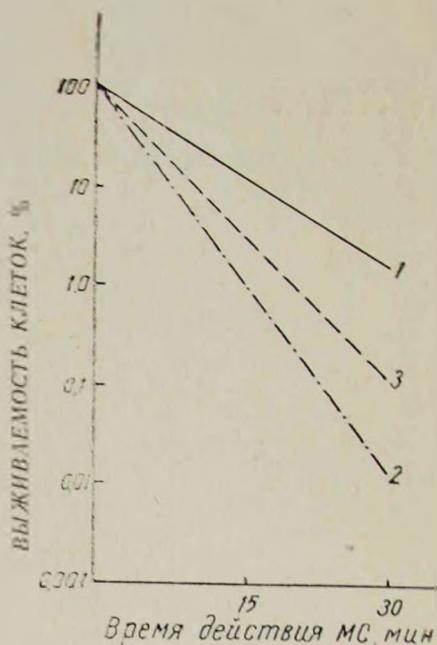


Рис. 4.

Рис. 4. Выживаемость разных мутантов *S. derby* после обработки митомицином С. 1—дикий тип К 89; 2—мутант К 118; 3—мутант К 134.

Иницизия после действия аналогов УФ, МС и АК, осуществляется теми же УвгА, В-зависимыми ферментами, которые узнают пиримидиновые димеры, а иницизия ДНК, поврежденной ММС и ПГ, проводится другими эндонуклеазами, тогда как выщепление и ресинтез после действия всех указанных агентов осуществляется в общем одними и теми же ферментативными системами [4, 6].

Таким образом, в опытах на *Salmonella derby* подтвердилась выявленная на кишечных палочках закономерность.

Исследованные мутанты, у которых способность к восстановлению поврежденной фаговой и собственной ДНК нарушена, очевидно, можно

отнести к мутантам по ранней стадии эксцизионной репарации типа Uvr A, B, C, подобно известным Uvr A, B, C мутантам E. coli.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 21.II 1979 г.

## SALMONELLA DERBY-ի ՈՒՖ-ՄՈՒՏԱՆՏՆԵՐԻ ԶԴԱՅՈՒՆՈՒԹՅՈՒՆԸ ՔԻՄԻԱԿԱՆ ԱՂԵՆՏՆԵՐԻ ՆԿԱՏՄԱՄԲ

Ձ. Բ. ԲԵՅԱՐՅԱՆ

Աշխատանքը նվիրված է S. derby ՈւՖ-մուտանտների զգայունության ուսումնասիրությանը: Պարզվել է, որ այդ մուտանտները զգայուն են ազոտական թթվի և միտոմիցին C-ի և կայուն են մեթիլմեթանսուլֆոնատի և նիտրոզոզոնիդինի նկատմամբ: Ստացված տվյալները թույլ են տալիս ուսումնասիրվող մուտանտները (K 118 և K 134), E. coli Uvr A, B, C մուտանտների նման, դասակարգել էկսցիզիոն ընպարացիայի վաղ շրջանի Uvr A, B, C մուտանտների շարքին:

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Կ՞ոյան Զ. Ա., Դանաղյան Կ. Գ. Тез. докл. юбил. сессии Арм. об-ва генет. и селекц. им. Вавилова Н. И., Ереван, 1977.
2. Смирнов Г. Б., Скавронская А. Г. Генетика, 4, 11, 111, 1968.
3. Смирнов Г. Б., Скавронская А. Г. Генетика, 4, 9, 105, 1968.
4. Томилин Н. В. Цитология, 19, 10, 1086, 1977.
5. Bridges B., Munson J. Biochem. Biophys. Res. Commun., 22, 268, 1966.
6. Howard-Flanders F., Boyce R. Radiat. Res. Suppl., 6, 156, 1966.
7. Lawly P. D. Res. Molec. Biol., 5, 89, 1966.