

8. Barth P. T., Grinter N. J. J. Mol. Biol., 113, 453, 1977.
9. Borovik A. S., Kalambet Ju. A., Lyubchenko Yu. L., Shitov V. T., Golovanov Eu. I. Nucl. Acids Res., 8, 18, 4165, 1980.
10. Clewell D. B., Helinski D. R. Biochemistry, 9, 4428, 1970.
11. Datta N., Hedges R. W. J. Gen. Microbiol., 70, 453, 1972.
12. Datta N., Hedges H. W., Shaw E. J., Sykes R. B., Richmond M. H. J. Bacteriol., 108, 1244, 1971.
13. Dobritsa A. A., Ksenzenko V. N., Fedoseeva V. B., Alexandrov A. A., Kamini-na T. P., Khmel'nitsky M. I. Gene, 8, 153, 1980.
14. Felsenfeld G., Hirschman S. Z. J. Mol. Biol., 13, 407, 1965.
15. Frank—Kamenetskii M. D., Lazurkin Yu. S. Ann. Rev. Biophys. Bioenerg., 3, 127, 1974.
16. Grinsted J., Saunders J. R., Ingram L. C., Sykes R. B., Richmond M. H. J. of Bacteriology, 110, 2, 529, 1972.
17. Heffron F., M.—Carthy B. J., Ohtsubo H., Ohtsubo E. Cell, 18, 1153, 1979.
18. Lyubchenko Yu L., Frank—Kamenetskii M. D., Vologodskii A. V., Lasurkin Yu. S., Gause G. G. Biopolymers, 15, 1019, 1976.
19. Marmur J., Doty F. J. Mol. Biol., 5, 109, 1962.
20. Novick R. P., Clowes R. C., Cohen S. N. Curtis R, 111, Datta N., Falko S. Bacteriol. Rev., 40, 168, 1976.
21. Olsen R. H., Shipley P. L. J. Bacteriol., 113, 772, 1973.
22. Rubens C., Falkow S. Proc. of National Acad. of Sci, USA, 72, 3623, 1975.
23. Saunders J. R., Grinsted J. J. of Bacteriol., 112, 690, 1972.
24. Wada A., Yabuki S. Husimi, Fine structure in the thermal denaturation of DNA, Crit. Rev. Biochem., 1, 1978.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

УДК 576.8.575.24

ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ НОВОЙ ГРУППЫ РИБОСОМНЫХ МУТАНТОВ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ

ГАР. Г. ОГАНЕСЯН

Получено более 100 новых рибосомных (стрептомициновых) мутантов у кишечной палочки. Отмечена высокая плейотропия проявления мутаций этого типа, выражающаяся в изменении термочувствительности, ауксотрофности, скорости деления клеток и других свойств.

Ключевые слова: рибосома, мутации, фенотип, стрептомицин, плейотропия, кишечная палочка.

Стрептомицин (СМ) является одним из наиболее распространенных антибиотиков аминокликозидного ряда и широко используется как в медицинской практике, так и в молекулярно-биологических исследованиях. Было установлено, что стрептомицин действует на один из компонентов (белок S 12) малой (30 S) субчастицы рибосомы и детерминруется *grsL* локусом.

Стрептомициновые мутации связаны с изменением гена¹, контролирующего биосинтез S12 белка, в результате чего клетка приобретает

устойчивость (или зависимость) к антибиотику [7]. Поскольку рибосомы играют активную роль в определении специфичности трансляции, можно предположить, что изменения структуры рибосом приводят к изменению их функций.

При изучении стрептомицинрезистентных (СМ-р) и стрептомицинзависимых (СМ-з) мутантов бактерий была обнаружена высокая плейотропия при проявлении мутаций, выражавшихся в изменении свойства клетки: температурочувствительности, ауксотрофности, скорости деления, чувствительности к УФ-лучам и др. [3-5].

Задача настоящей работы состояла в выделении и изучении новой группы стрептомициновых рибосомных мутантов для получения дополнительных данных о природе биосинтетических процессов, изменяющихся при мутировании генов, контролирующих биогенез рибосом. Полученные данные могут быть использованы в практической селекции полезных форм микроорганизмов, продуцентов ценных метаболитов.

Материал и методика. Бактерии. В работе использованы чувствительные к стрептомицину бактерии *E. coli* K12 штамм СА 167 (получен от Бреннера), несущий охрасупрессор *sur C* и чувствительную к нему мутацию в гене лактозного оперона [6], который сбраживает лактозу (лак+фенотип).

Питательные среды. В качестве индикаторной среды при определении способности сбраживать лактозу использовали среду Эндо. Минимальная среда (М9) готовилась для выявления групп ауксотрофных мутантов [1]. Во всех необходимых случаях добавлялся стрептомицин до получения конечной концентрации—200 мкг/мл.

Выделение и анализ мутантов. Стрептомициновые мутанты выделялись по ранее описанному методу [4]. Для фенотипического анализа мутанты, высеянные на соответствующие среды, инкубировались при 27°, 37° и 42° в течение 4-х сут, и результаты регистрировались каждые 24 ч.

Результаты и обсуждение. Было получено свыше 100 спонтанных стрептомициновых мутантов штамма СА 167. Спонтанная частота появления стрептомицинустойчивых мутантов составляет 1—2 на 10⁹ проверенных клеток, а частота возникновения стрептомицинзависимых мутантов на порядок ниже, что согласуется с литературными данными [2].

Из общей группы полученных спонтанных СМ-р мутантов можно выделить группы, характер роста которых на различных средах приведен в табл. 1.

Таблица 1

Рост различных ауксотрофных мутантов на разных средах

Группы мутантов	Минимальная (М9) среда		Полноценная (Эндо) среда	
	без СМ	с СМ	без СМ	с СМ
I группа (всего 2 мутанта)	—	—	+	+
II группа (всего 19 мутантов)	—	—	—	+
СА 167 (контроль)	+	—	+	—

— — отсутствие роста, + — нормальный рост.

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что среди выделенных мутантов имеются две группы, ведущие себя как ауксотрофы. Мутанты первой группы ведут себя как обычные ауксотрофы, в то время как мутанты второй группы проявляют одновременно зависимость от СМ (не растут без добавления антибиотика и на полноценной среде Эндо). Полученные результаты могут объясниться тем, что у первой группы мутантов рибосомные мутации каким-то образом повредили биосинтетические процессы, происходящие в клетке и обеспечивающие ее необходимыми факторами роста, такими, например, как витамины, аминокислоты, нуклеотиды. У мутантов же второй группы помимо указанных повреждений рибосома вследствие мутаций утратила способность функционировать в отсутствие стрептомицина; этим можно объяснить неспособность мутантов второй группы расти на полноценной среде Эндо без антибиотика.

Результаты проверки роста стрептомициновых мутантов при различных температурах представлены в табл. 2.

Таблица 2

Рост различных рибосомных мутантов при разных температурах на синтетической и полноценной средах

Группы мутантов	Минимальная (М9) среда						Полноценная (Эндо) среда					
	без СМ			с СМ			без СМ			с СМ		
	27°	37°	42°	27°	37°	42°	27°	37°	42°	27°	37°	42°
I группа (всего 25 мутантов)	2	2	0	2	2	0	3	3	0	3	3	0
II группа (всего 3 мутанта)	2	2	0	2	2	0	3	3	3	3	3	0
III группа (всего 5 мутантов)	0	0	0	2	2	0	0	0	0	3	3	3
СА 167 (контроль)	3	3	3	0	0	0	3	3	3	0	0	0

0 — отсутствие роста, 2 — ослабленный рост, 3 — нормальный рост.

Как видно из таблицы, по отношению к температуре проверенные мутанты подразделяются на три группы. В первой оказываются мутанты, утратившие способность роста при 42° независимо от условий. Термочувствительность мутантов второй группы зависит от состава инкубационной среды и проявляется только на синтетической среде. Можно предположить, что у мутантов этой группы при 42° инактивировались какие-то этапы биосинтеза факторов роста (аминокислоты, витамины, нуклеотиды и др.). Наконец, третья группа представлена мутантами, которые наряду с термочувствительностью проявляют зависимость от наличия стрептомицина в среде.

Были проверены также лактозосбраживающая способность и скорость клеточного деления у выделенных мутантов. Исходный штамм СА 167 мог сбраживать лактозу и на индикаторной среде Эндо имел

лак⁺ фенотип вследствие подавления supC супрессором мутации в Z-гене. Среди проверенных СМ-р и СМ-з мутантов со сравнительно высокой частотой наблюдается изменение лак⁺ фенотипа на лак⁻, что свидетельствует о рестрицирующем влиянии рибосомных мутаций на работу охра-супрессора.

Проверка скорости роста мутантов показала, что имеются мутанты, по скорости роста опережающие исходный штамм СА 167, и группа мутантов, значительно отстающих от него.

Таким образом, было выделено и охарактеризовано несколько классов СМ-р и СМ-з мутантов, что указывает на высокоплейотропное действие стрептомициновых мутаций. Полученные данные позволяют предположить, что обнаруженные типы изменений могут быть следствием изменений самого белка S12 в структуре рибосом либо иных жизненно важных белков, синтезируемых на мутантных рибосомах как результат каких-то нарушений в их работе при рибосинтезе белков.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 16.VI 1982 г.

ԱՂԻՔԱՅԻՆ ՑՈՒՊԻԿԻ ՌԻԲՈՍՈՄԱՅԻՆ ՄՈՒՏԱՆՏՆԵՐԻ ՆՈՐ ԽՄԲԻ ՍՍԱՅՈՒՄԸ ԵՎ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Գ. Հ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

Աղիքային ցուպիկից անջատված են ավելի քան 100 նոր ռիբոսոմալ (ստրեպտոմիցինային) մուտանտներ: Ուշադրություն է դարձված այն փաստի վրա, որ այդպիսի մուտանտները ունեն բարձր պլեյոտրոպիա, որն արտահայտվում է ջերմազգայունության, աուկսոտրոֆության, բջջի կիսման արագության և այլ հատկանիշների փոփոխությամբ:

ISOLATION AND ANALYSIS OF A NEW GROUP OF RIBOSOM MUTANTS OF ESCHERICHIA COLI

G. H. OHANESSIAN

More than 100 new ribosomal (streptomycin) mutants of *E. coli* have been obtained. The mutants have high pleiotropy, which is expressed in thermosensitivity, auxotrophy, in the rate of cell division (doubling time) and in other properties.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Адамс М. Бактериофаги. М., 1961.
2. Барегамян И. Н. Вопросы молекулярно-клеточной биологии и иммунологии. 13—18, Ереван, 1970.
3. Кудлай Д. Г., Чубукова В. Ф., Оганесян М. Г. Генетика лекарственной устойчивости бактерий. 29, М., 1972.
4. Оганесян М. Г., Барегамян И. Н. Биолог. ж. Армении, 27, 7, 1974.
5. Оганесян М. Г., Мугнцян Э. Г. Биолог. ж. Армении, 29, 11, 1976.
6. Brenner S., Beckwith G. R. J. Mol. Biol., 13, 629, 1965.
7. Nomura, Mizushima, Ozaki et al. Structure and function of ribosomes and their molecular components. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 34, 49, 1969.