

ОБЩИЙ КОНТРОЛЬ СТАБИЛЬНОСТИ ХРОМОСОМ И МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА У САХАРОМИЦЕТОВ

Н. А. КОЛТОВАЯ, М. Е. СМЕРНОВА*, А. Б. ДЕВИН*

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна,

*Институт молекулярной генетики АН СССР, Москва

Առանձնացված են *sgm* միտոխոնդրիալ մուտացիաները, որոնք իջեցնում են շաքարանկալի բիոսինթեզի ρho^- -մուտացիոնիկությունը: Այդ մուտացիաներից մեկը՝ *sgm5*-ը տեղայնացված է *CDC28* բջջային ցիկլի ստարտի գենում՝ կոդավորող պրոտեինկինազան:

Nuclear mutations *sgm*, lowering the mitochondrial ρho^- mutability of yeast cells have been distinguished. One of these mutations *sgm5* is localized in the start gene of cellular cycle *CDC28*, coding protein kinase.

Механизмы клеточного цикла обеспечивают точное воспроизведение и передачу наследственного аппарата вновь образующимся клеткам. Выделяя и изучая мутации, снижающие генетическую стабильность клеток, можно надеяться идентифицировать новые гены цикла клеточного деления или лучше понять действие уже известных генов этого типа.

Нами выделены ядерные мутации *sgm*, снижающие митохондриальную ρho^- мутабельность дрожжевых клеток [2]. Одна из этих мутаций *sgm5*, локализована в гене старта клеточного цикла *CDC28* [1], кодирующем протеинкиназу [3, 4].

Результаты измерения темпа спонтанных мутаций ρho^- у группы моноспоровых клонов с различными генотипами представлены в табл. 1. Для исходного клона этот темп составляет около 10%, у клонов *sgm2*, 4, 5 темп на порядок ниже, мутация в гене *sgm1* снижает темп в 60 раз.

Таблица 1. Темп спонтанных мутаций ρho^- у линий с различным генотипом

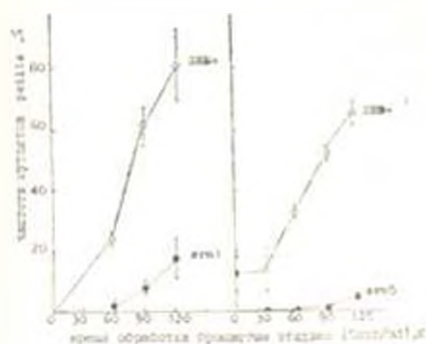
Генотип	Средний темп спонтанных мутаций ρho^- , %
SRN ⁺	11,3
<i>sgm1</i>	0,2
<i>sgm2</i>	2,4
<i>sgm3</i> , <i>sgm5</i>	1,0
<i>sgm1</i> , <i>sgm5</i>	1,01
дисомники (IV и XIV)	2,3

Две из этих мутаций, а именно *sgm1* и *sgm5*, влияют также на чувствительность клеток к индукции мутаций ρho^- мутаций под действием бромистого этидия. Чувствительность к индукции ρho^- мутаций определяли у моноспоровых клонов из двух тетрад, полученных от гетерозигот.

Сокращения: БЭ—бромистый этидий.

готного диплоида. Данные усредняли для клонов одного генотипа. Мутации *sgm1* и *sgm5* существенно снижают чувствительность клеток к мутагенному действию БЭ и в этом отношении отличаются от *sgm2*, *sgm3* и *sgm4*.

Обнаружено, что помимо мутаций *sgm* на стабильность митохондриального генома влияют нарушения баланса хромосом. Дисомии по не-



Зависимость выхода мутаций ρ^- от времени обработки БЭ.

которым хромосомам, в частности IV, VII и XIV, отличаются от изогенных им гаплоидов сниженной (приблизительно в 5 раз) спонтанной митохондриальной ρ^- -мутабельностью.

Вместе с тем мутации *sgm1* и *sgm5* вызывают существенное (до 2 порядков величины) повышение темпа спонтанной утраты парных хромосом IV и XIV у дисомиков (табл. 2).

Таблица 2. Митотическая стабильность парных хромосом у дисомиков

Генотип	Тип спонтанной утраты хромосом, %		
	IV	XIV	VII
SRM-	0.07 ± 0.03	0.26 ± 0.07	0.00 ± 0.02
<i>sgm1</i>	9.7 ± 3.2	5.61 ± 3.43	< 0.01
<i>sgm5</i>	1.75 ± 0.19	—	0.43 ± 0.15

Таким образом, обнаружены скоординированные изменения митотической стабильности хромосом и митохондриального генома. Заметим, что по существующим представлениям в основе ρ^- -мутагенеза лежат фрагментация митохондриального генома и амплификация образовавшихся фрагментов (мт плазмид). Падение ρ^- -мутабельности может быть обусловлено снижением митотической стабильности мт плазмид.

Из табл. 2 видно, что мутация *sgm1* оказывает заметное влияние на митотическую стабильность хромосом IV и XIV, но не VII хромосомы. По-видимому, продукт гена *SRM1* взаимодействует со структурами или компонентами, имеющимися в мт геноме и хромосомах IV и XIV, но не в VII хромосоме. Перспективными моделями для изучения вза-

взаимодействия генов SRM с генетическими структурами являются рекомбинантные плазмиды

Как в хромосомной, так и в митохондриальной ДНК обнаружены ARS-последовательности [5]. Если митотическая стабильность природных генетических структур зависит от взаимодействия генов и продуктов SRM с ARS-последовательностями, то можно ожидать, что соответствующие мутации *sgm* скажутся и на митотической стабильности ARS-содержащих рекомбинантных плазмид. Действительно, мутация *sgm5* умеренно, но вполне заметно увеличивает темп потери центромерных плазмид, несущих ARS1 из IV хромосомы (табл. 3).

Таблица 3. Стабильность кольцевых мини-хромосом

Плазмида	Генотип клеток, несущих плазмиду			
	<i>sgm1</i>	<i>sgm5</i>	<i>sgm1</i> <i>sgm1</i>	<i>sgm5</i> <i>sgm5</i>
YCp19 (CEN4)	0.73±0.10	0.88±0.02	0.24±0.09	
pYe (CEN11)10	0.67±0.06	0.82±0.03	0.36±0.07	

Использованные кольцевые мини-хромосомы [6, 7] содержат элемент ARS1 и ген TRP1, а также центромерные последовательности *S. cerevisiae*, наименования которых указаны в скобках. Гаплоидные трансформанты генотипа *sgm1*, *sgm5*, несущие в отдельности данные плазмиды, были любезно предоставлены В. Т. Пешехоновым и О. В. Чепурной (ЛИЯФ). Трансформанты скрещивали с родственными им гаплоидными линиями генотипов SRM⁻, *sgm1* и *sgm5*. У полученных трех групп диплоидов определяли митотическую стабильность плазмид, мерой которой служила доля клеток Trp⁺ в двухсуточных клонах, выращенных в неселективных условиях. Величина тестируемой выборки для каждого генотипа составляла 150—180 клеток.

По предварительным данным мутация *sgm5* снижает митотическую стабильность не только кольцевых центромерных плазмид, но и плазмид, не содержащих центромеры. В отличие от мутации *sgm5*, мутация *sgm1* приводит к некоторому повышению стабильности плазмид.

Можно предположить, что в обеспечении митотической стабильности природных хромосом, mt плазмид *rho*⁻ и рекомбинантных молекул у дрожжей заметную роль играют взаимодействия определенных фосфорилируемых белков с последовательностями ARS. Эти взаимодействия могут быть существенны, например, для инициации репликации ДНК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Смирнова М. Е., Колтаная Н. А., Арман И. Н., Делин А. Б. Докл. АН СССР, 301, 2, 461, 1988.
2. Devin A. B., Koltovaia A. A. Mutation Res., 91, 6, 451, 1981.
3. Lohmeier A. T., Reed S. J. Nature, 307, 183, 1984.