

10. Умаров М.М., Шабает В.П., Смолин В.Ю., Мамедов Н.М. Почвоведение, 9, 70-75, 1993.
11. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1, 964 p., 1984.
12. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2, 1579 p., 1986.
13. Cakmakci m. Luttu, Evans H.J. Setdler R.J. Plant and Soil. 61, 53-63, 1981.
14. Kyndu B.C. Madras agr. j., 70, 12, 835-836, 1983.
15. Seldin L., Van Elsas J.D. Penido Elisa G.G. Plant and Soil, 70, 249-255, 1983.

Учредитель 11.III.1999

Биолог. журн. Армении, 1-2 (53), 2001

УДК 577.5:579.253.4

## СУПРЕССИЯ СВЕРХСИНТЕЗА КАПСУЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ И ИНДУКЦИИ ПРОФАГА $\lambda$ У *lon* ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* K-12

Г.Г. ОГАНЕСЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

### *Капсульные полисахариды - профаг $\lambda$ - супрессия - УФ-индукция*

*lon* мутанты *Escherichia coli* K-12 отличаются слизистым фенотипом колоний, повышенной чувствительностью к УФ-лучам и другим ингибиторам биосинтеза ДНК, образованием филаментов после УФ-облучения, пониженной способностью наследования плазмид и возможностью быть лизогенизированными умеренными фагами [3, 4, 7, 8]. Все указанные свойства обусловлены мутацией в гене, кодирующем АТФ-зависимую протеазу, ответственную за деградацию чужеродных, дефектных и нескрученных белков, а также специфических субстратов, к числу которых относятся *SulA* ингибитор клеточного деления, *RcsA*-позитивный регулятор биосинтеза капсульных полисахаридов (КПС), *N*-белок профага  $\lambda$  и другие [5, 8]. В разное время разными авторами описаны супрессорные мутации, подавляющие УФ-чувствительность [7, 12], сверхсинтез КПС [9]. Указанные супрессоры были локализованы в разных областях хромосомы. Мутации, подавляющие сверхсинтез КПС, локализовывались главным образом на 45-50 мин генетической карты *E. coli* [9].

В настоящей работе описывается новый тип супрессора *lon* мутаций, способного подавлять одновременно сверхсинтез КПС и УФ-индукцию профага  $\lambda$ .

**Материал и методика.** Бактериальные штаммы: *AB1899 F<sup>+</sup> thr leu proA his argG lon: str-r λ<sup>-</sup>* получен из музея ВКПМ, *AB1899 λ<sup>-</sup>* получен нами, *CA154 Hfr-H lacZ λ<sup>+</sup> thi* получен от Бреннер (США). *lon* мутант *Muc154-2* и его неслизистые ревертанты получены нами. Бактериофаги λ и P1vir получены от Сиовронской (Москва), M59 от Стирма (Stirm) ФРГ.

**Питательные среды.** Натуральный бульон стандарт II (Serva, ФРГ), триптоз агар (Ferak, Berlin), L-бульон и L-агар для трансдукции (1), минимальная среда M9 (1), фосфатный буфер pH6,8.

УФ-облучение культур проводилось как описано ранее [4]. Для обнаружения индукции профага λ облученные культуры разводили в свежем бульоне в соотношении 1:4, помещали в водяную баню с качалкой и периодически каждые 20 мин измеряли ОП при 660 нм. Конъюгационное и трансдукционное картирование мутации производили по обычной методике [1].

**Результаты и обсуждение.** Ранее нами была описана большая группа неслизистых ревертантов (NM) *lon* мутанта *Muc154-2*, полученных с помощью вирулентного бактериофага M59, специфически лизирующего капсулированные клетки *E. coli* [3]. Ниже приводятся данные по УФ-индукции профага λ у этих ревертантов.

Как видно из рис. 1, в отличие от дикого штамма *CA154(λ)* и его *lon* мутанта *Muc154-2*, у некоторых NM ревертантов индукция профага λ не происходит. Отсутствие индукции профага λ могло быть следствием или исцеления этих штаммов от профага, или ингибирования их индукции. Для проверки первого предположения мы проверяли у NM ревертантов характерный для лизогенных штаммов иммунитет к экзогенному профагу λ. Оказалось, что все они сохраняли иммунитет к суперинфекции внешних фагов.

Было проведено конъюгационное картирование супрессорной мутации с одновременным контролем за зиготной индукцией профага λ, при скрещивании с лизогенным и нелизогенным вариантами реципиентного *lon<sup>-</sup>* штамма *AB1899*.

Таблица 1. Выход неслизистых рекомбинантов и зиготная индукция профага λ при конъюгационном скрещивании *NM150* с лизогенным и немутагенным вариантами *AB1899*.

Реципиент	Количество прототрофных рекомбинантов							
	T <sup>+</sup> L <sup>+</sup>		ProA <sup>+</sup>		His <sup>+</sup>		ArgG <sup>+</sup>	
	Всего	слизист	Всего	слизист.	Всего	слизист.	Всего	слизист.
<i>AB18899 λ</i>	16000	82	3100	356	35	30	9	8
<i>AB1899 λ<sup>+</sup></i>	36000	126	7400	1300	194	91	26	25

Примечание: конъюгация продолжалась 2 часа.

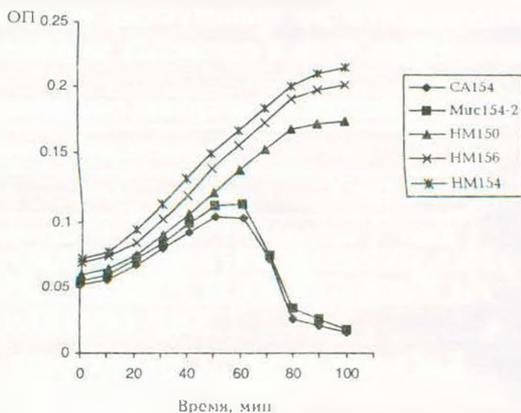


Рис. 1. УФ-индукция профага λ у неслизистых ревертантов *lon* мутанта *Muc154-2*.

Как видно из табл. 1, при скрещивании NM150 с лизогенным реципиентом у  $T^+L^+$  рекомбинантов всего 0,3% сохраняли слизистый фенотип реципиентного штамма. Чем дальше от точки начала передачи донорной хромосомы, тем больше выход слизистых рекомбинантов. Так, среди  $ProA^+$  18% слизистых,  $His^+$  50%, а среди  $ArgG$  более 99% слизистых рекомбинантов. Такой результат свидетельствует о тесном сцеплении супрессорной мутации, подавляющей слизистый фенотип с треониновым и лейциновым маркерами, находящимися на 1-3 мин генетической карты *E. coli*. Низкий выход рекомбинантов у нелизогенного реципиентного штамма является следствием зиготной индукции профага  $\lambda$ .

Устойчивость к суперинфекции и зиготная индукция при конъюгации свидетельствуют о наличии у неслизистых ревертантов профага  $\lambda$ .

Изучение  $T^+L^+$  эксконъюгантов, полученных при скрещиваний NM мутантов с лизогенным реципиентом, показало, что вместе со слизистым фенотипом у них подавлена также УФ-индукция профага  $\lambda$ .

Для более точной локализации супрессорных мутаций были проведены эксперименты по трансдукции супрессорной мутации при помощи бактериофага Plvir в слизистый реципиентный штамм AB1899 $\lambda^+$ .

Таблица 2. Частота котрансдукции супрессорной мутации с  $Thr^+$  и  $Leu^+$  маркерами.

Количество трансдуктантов					
$Thr^+$		$Leu^+$		$Thr^+Leu^+$	
Всего	неслизист.	Всего	неслизист.	Всего	неслизист.
529	299	208	0	38	0

Как видно из табл. 2, супрессорная мутация тесно (56,5%) сцеплена с треониновым маркером. Отсутствие неслизистых  $Leu^+$  и  $Thr^+Leu^+$  рекомбинантов говорит о том, что супрессорная мутация расположена левее треонинового маркера, примерно на 0,3-й минуте генетической карты *E. coli*.

В указанной области находятся гены, кодирующие DnaK и DnaJ шапероны [6], участвующие в формировании реплицирующего комплекса профага  $\lambda$  и *grpA*, *grpB* гены, участвующие в его развитии [2]. До настоящего времени ничего не было известно об участии этих шаперонов в регуляции биосинтеза КПС. Однако недавно было показано, что мутации в *djIA* (*dnaJ* like) гене, локализующегося на 1,2 мин, могут приводить к индукции сверхсинтеза КПС у *E. coli* K-12 [11]. Участие этого гена в УФ-индукции профага  $\lambda$  не изучено.

С учетом того факта, что позитивный регулятор, индуцирующий биосинтез КПС, представляет собой комплекс, состоящий по крайней мере из двух RcsA и RcsB белков, не исключается участие шаперонов в их взаимодействии и присоединении.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. - М. Мир., 436, 1976.
2. Одоевская Е.Р., Синеокий. Генетика, 23, 4, 643-653, 1987.
3. Оганесян Г.Г. Биолог. журн. Армении, 48, 55-58, 1995.
4. Оганесян Г.Г., Барсесян А.А., Оганесян М.Г. Биолог. журн. Армении, 37, 5, 398-404, 1984.
5. Рыбчин В.Н. Генетика, 15, 3, 391-409, 1979.
6. Berlyn M.B. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 62, 3, 814-984, 1998.
7. George J., Castellazzi M., Butin. Mol. Gen. Genet., 140, 309-332, 1975.
8. Gottesman S. Ann. Rev. Genet., 30, 465-506, 1996.
9. Gottesman S., Stout V. Mol. Microbiol., 5, 1599-1606, 1991.
10. Jubete Y., Maurizi M.R., Gottesman S. J. Biol. Chem., 271, 48 30798-30803, 1996.
11. Kelley W.L., Georgopoulos C. J. Mol. Microbiol., 25, 5, 913-931, 1997.
12. Ogannessian M.G., Ogannessian H.G. Genetics, 1973.

Поступила 23.1.2000

Биолог. журн. Армении, 1-2 (53), 2001

УДК 547.963.32

## ОСОБЕННОСТИ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННОЙ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА ОПУХОЛЕВУЮ ДНК

Д.В. ГАРИБЯН, И.В. ХУДАВЕРДЯН, И.С. ДАНИЕЛЯН, А.С. АГАРОНЯН,  
О.Г. КАРАПЕТЯН

*Институт тонкой органической химии НАН Армении, 375014, Ереван*

### 5-метилцитозин - метилирование - саркома 45

При выяснении молекулярных механизмов злокачественной трансформации и дифференцировки клеток сделано заключение о корреляции уровня метилирования ДНК с функциональной активностью клеток. Выявлено, что одним из признаков злокачественного развития является нарушение уровня метилирования ДНК, поскольку энзиматическое метилирование ДНК является одним из мощных источников мутации в клетке и может дестабилизировать структуру генов [1, 4]. Кроме того, существует внутриклеточный механизм регуляции экспрессии генов [9], где активация экспрессии клеточных генов, как правило, сопровождается уменьшением уровня метилирования, что может привести к изменению характера дифференцировки клеток [11, 10]. Уникальность процесса метилирования ДНК заключается в том, что это единственный тип модификации первичной структуры ДНК эукариотической клетки.