

УДК 537.144.2

МИКРОБИОЛОГИЯ

А. С. Сафарян

Характеристика ДНК и белков фагов *Salmonella derby*

(Представлено академиком АН Армянской ССР Э. Г. Африкяном 19/VII 1984)

Фаги *Salmonella derby*, выделенные из бактерий *Salmonella*, объединены в одну родственную группу на основе идентичности их свойств в системе фаг-хозяин и ряда серологических показателей (1). Особенностью этих фагов является их умеренный и умеренно-вирулентный характер, тип негативных колоний, низкая частота лизогенизации и трансдукции (2). Ранее был изучен ряд физико-химических свойств умеренного и умеренно-вирулентного фагов *Salmonella derby*, обозначенных символами *dp9* и *dp1—8* (3). Определен молекулярный вес этих ДНК, установлена определенная аналогия между профилем рестрикции эндонуклеазами ДНК умеренного фага *dp9* и ДНК известного умеренного фага P22 и значительная разница между ДНК фага P22 и ДНК умеренно-вирулентного фага *dp8* (4). Разница между умеренным и умеренно-вирулентным фагами показана также по ширине интервала плавления их ДНК (5).

В этой связи представлялось интересным изучить ряд других физико-химических характеристик ДНК фагов *dp8* и *dp9* в сравнении с ДНК фага P22, а также некоторые физико-химические свойства белков этих фагов.

Очистку и концентрирование фагов проводили по Дж. Миллеру (6), ДНК выделяли по методу Макхетье (7). Препараты для электронной микроскопии готовили по известному методу (8), визуализацию молекул ДНК проводили на электронном микроскопе JEM-100 В. Молекулярную массу ДНК определяли по методу, описанному Ланг (9). Гетеродуплексы получали согласно Дэвис с сотр. (10).

Белки фагов получали по описанному ранее способу (11) и идентифицировали при помощи электрофореза в полиакриламидном геле. Денситограммы снимали при 590 нм в приборе «Isco-Scanner».

Электронномикроскопическое исследование ДНК фагов *dp8*, *dp9* и P22 показало, что они представляют собой линейные двухспиральные молекулы с молекулярным весом 28×10^6 дальтон, что согласуется с данными, полученными в отношении молекулярного веса ДНК известного умеренного фага P22 (12). На рис. 1 показаны электронные микрофотографии ДНК фагов *dp8*, *dp9* и P22, свидетельствующие о формировании циркулярных структур. В структуре ДНК вирусов и фагов обнаружены дополнительные особенности строения—липкие концы, пермутации, повторяющиеся последовательности и одноцепочечные разры-

вы (13, 14). Из избыточных концевых нуклеотидных последовательностей в ДНК фага Р22 были выявлены циклические перестановки и повторяющиеся последовательности, обеспечивающие формирование кольцевой молекулы ДНК фага Р22 при ее полной денатурации и отжиге (15). Такая же картина отмечается для ДНК фага др9 (рис. 1, б). Ве-

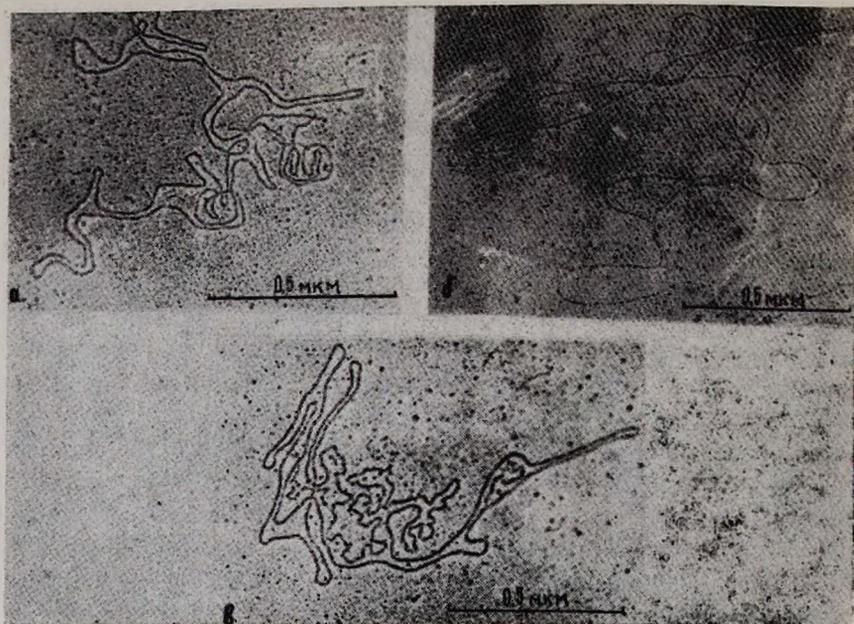


Рис. 1. Электронные микрофотографии гомодуплекса ДНК фага Р22, 97000х (а); гомодуплекса ДНК фага др9, 89000х (б); гомодуплекса ДНК фага др8, 92000х (в)

личина концевого повтора для гомодуплекса ДНК фага Р22 составляет примерно 2%, а величина пермутации—20%. Такие же значения для величин концевого повтора и пермутации выявлены и для ДНК фага др9, в то же время величина концевого повтора для ДНК фагов др8 составляет 4%, а величина пермутации 15% (рис. 1, в).

Анализ гетеродуплексов ДНК фагов др8/Р22 и др9/Р22 выявил значительную гомологию между фагами др9 и Р22—70% (рис. 2), в

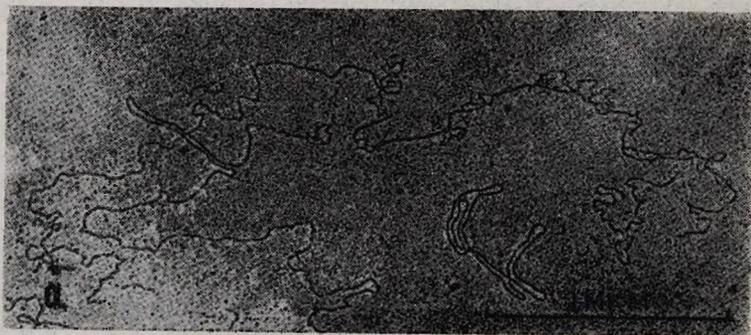


Рис. 2. Электронная микрофотография гетеродуплекса ДНК фага Р22 и др9, 45000х

то время как гомология между ДНК фагов $\phi r8$ и P22 составляет 30%.

При изучении некоторых физико-химических характеристик белков исследуемых фагов было обнаружено, что каждый фаг в своем составе содержит примерно 7 белков. Как видно из рис. 3, электрофоретическая подвижность и количественное выражение этих белков заметно

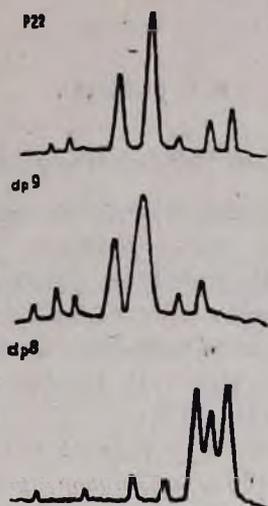


Рис. 3. Электрофореграммы белков фагов P22, $\phi r9$ и $\phi r8$

отличаются у разных фагов. Молекулярные веса белков этих фагов, определенные по продвижению маркерных белков, при электрофорезе в полиакриламидном геле находятся в пределах 18000—73000 дальтон, причем у умеренных фагов P22 и $\phi r9$ наиболее выраженными являются белки с молекулярным весом 50000—55000 дальтон, тогда как у белков умеренно-вирулентного фага $\phi r8$ преобладают молекулы с значительно низкими молекулярными весами—18000—30000 дальтон.

Наши данные полностью совпадают с результатами других авторов, полученными в отношении белков фага P22 (^{16, 17}) и являются еще одним доказательством сходства между умеренными фагами P22 и $\phi r9$ и их различия с умеренно-вирулентным фагом $\phi r8$.

Результаты наших исследований по общности и различию умеренного и умеренно-вирулентного фагов *Salmonella derby* позволяет более глубоко изучить структурно-функциональные особенности ДНК этих фагов, механизм интеграции их в геном хозяина. Известно, что ДНК умеренного фага λ интегрирует в геном хозяина согласно модели Кэмпбелла (¹⁸), по которой геном вируса сразу же после заражения принимает циркулярную форму за счет наличия липких концов, после чего с помощью реципрокной генетической рекомбинации встраивается в геном хозяина. В то же время установлено, что в отличие от фага λ умеренный фаг P22 лишен липких концов. Одновременно показано, что ДНК фага P22 циркулярно пермутирована по аналогии с ДНК фагов T2 и T4 (^{12, 15}). Циркулярно-пермутированная структура ДНК этих фагов предполагает возможное существование двух различных механизмов включения линейных геномов вирусов в их бактериальную хромосому.

Все сказанное, по-видимому, правомочно также для циркулярно-пер-
мутированных ДНК исследуемых нами фагов $\phi r 8$ и $\phi r 9$ и указывает
на определенное эволюционное родство между фагами P22 и $\phi r 9$ и
структурной организацией их ДНК.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Армянской ССР

Ա. Ս. ՍԱՅԱՐՅԱՆ

Salmonella derby ֆագերի ԴՆԹ-երի և սպիտակուցների բնութագիրը

Ճր 8, Ճր 9 և p 22 ֆագերի ԴՆԹ-ի համոզուրելքսային մոլեկուլների էլեկտրոնամիկրոսկոպիկական հետազոտությունը ցույց է տվել, որ առաջին երկուսի մոտ ծայրային կրկնությունները կազմում են 2 %, իսկ շրջանաձև պերմուտացիան՝ 28 %: Մինչդեռ p 22-ի մոտ՝ համապատասխանաբար 4 % և 15 %: Հետերոզուրելքսային քննությամբ հայտնի է դարձել, որ Ճր 9 և p 22 ֆագերի ԴՆԹ-ի մոլեկուլների միջև կա մոտ 70 % միատիպություն, իսկ Ճր 8-ի և p 22-ի միջև՝ ընդամենը 30 %:

Ցույց է տրված, որ Ճր 8 և Ճր 9 ֆագերի կառուցվածքում գերակշռում են փոքր մոլեկուլային կշիռ ունեցող սպիտիները, իսկ p 22-ի մոտ՝ մեծ: Բոլոր ֆագերի մոտ հայտնաբերվել են 7 տարբեր պեպտիդներ:

ЛИТЕРАТУРА — Գ Ր Ա Վ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

- ¹ М. К. Вартамян, Б. П. Карабеков, *Вопр. мол. клеточ. биол. иммунол.*, 97, 1970.
- ² М. К. Вартамян, Ж. А. Кцоян, Б. П. Карабеков, *Бiol. журн. Армении*, т. 30, 14 (1977).
- ³ Р. А. Захарян, А. С. Сафарян, Э. Т. Захарян и др., *ДАН АрмССР*, т. 66, 296 (1978).
- ⁴ А. С. Сафарян, Э. Т. Захарян, К. С. Карагезян и др., *Бiol. журн. Армении*, т. 8, 879 (1978).
- ⁵ А. Г. Габриелян, Р. А. Захарян, М. К. Вартамян и др., *Бiol. журн. Армении*, т. 32, 357 (1979).
- ⁶ Дж. Миллер, в кн.: *Эксперименты в мол. генетике*, Мир, М., 1976.
- ⁷ L. MacHattie, D. Ritchie, C. Thomas, *J. Mol. Biol.*, v. 23, 355 (1967).
- ⁸ A. Kleinschmidt, *Methods in Enzymology*, v. 12, 361 (1968).
- ⁹ D. Lang, *J. Mol. Biol.*, v. 54, 537 (1970).
- ¹⁰ R. Davis, M. Sinon, N. Davidson, *Methods in Enzymology*, v. 21, 413 (1971).
- ¹¹ J. Strauss, B. Burge, J. Darnell, *Virology*, v. 37, 367 (1969).
- ¹² M. Rhosdes, L. MacHattie, C. C. Thomas, *J. Mol. Biol.*, v. 37, 21 (1968).
- ¹³ Т. А. Смирнова, И. Б. Миненкова, М. Р. Позосбекова и др., *Молекуляр. ген. микробиол. вирусол.*, т. 2, 27 (1984).
- ¹⁴ C. Thomas, L. MacHattie, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 52, 1297 (1964).
- ¹⁵ M. Rhosdes, C. Thomas, *J. Mol. Biol.*, v. 37, 41 (1968).
- ¹⁶ D. Botstein, C. Vaddel, J. King, *J. Mol. Biol.*, v. 80, 669 (1973).
- ¹⁷ J. King, E. Lenk, D. Botstein, *J. Mol. Biol.*, v. 80, 697 (1973).
- ¹⁸ A. Campbell, in: *The Bacteriophage Lambda*, 13, 1973.

