

СИМПОЗИУМ ПО ГЕНЕТИКЕ

С 15 по 20 ноября 1965 г. в Ереване был проведен симпозиум по генетике микроорганизмов, организованный Научным советом по проблемам генетики и селекции, Научным советом по молекулярной биологии АН СССР совместно с Академией наук Армянской ССР.

В эти же дни более 10 лекций прочитано в большом актовом зале Ереванского государственного университета для студентов и профессорско-преподавательского состава вузов Армении.

Симпозиум кратким вступительным словом открыл проф. С. Н. Алиханян.

Ниже печатаем краткое содержание докладов, прочитанных на симпозиуме. Доклады проф. Д. М. Гольдфарба «О специфичности и направленности мутагенеза фага T-2» и В. П. Рыбчина «О механизме интеграции профага в хромосому *Escherichia coli*» будут печататься в одном из очередных номеров журнала.

Печатается также информация о совместном расширенном заседании Президиума АН АрмССР, коллегии Министерства сельского хозяйства АрмССР, ректората Ереванского государственного университета и бюро Совета по проблемам генетики и селекции АН СССР, посвященном состоянию генетики и селекции в Армянской ССР.

С. Н. АЛИХАНЯН

О ГЕНЕТИЧЕСКОМ АППАРАТЕ СИНТЕЗА ДНК

Можно представить различные пути подхода к изучению генетического аппарата синтеза ДНК. Одним из таких путей может быть изучение генетической системы, контролирующей синтез специфического предшественника ДНК — тимидиловой кислоты. Моделью для изучения генетических механизмов тиминового метаболизма являются тиминовые мутанты *E. coli*. Изучение таких мутантов имеет два аспекта: 1—изучение генетической системы, контролирующей синтез тимидиловой кислоты, и 2—изучение связи этой системы с генетической системой, непосредственно контролирующей синтез ДНК. Другим подходом к изучению генетической регуляции синтеза ДНК является использование мутантов фага, непосредственно связанных с синтезом фаговой ДНК.

В этих двух направлениях и были начаты экспериментальные исследования в нашей лаборатории.

1. Генетическое изучение тиминового метаболизма

Для изучения системы, контролирующей синтез тимидиловой кислоты, необходимо получение большого количества тиминовых мутантов. В отличие от обычных ауксотрофов, которые не делятся без необходимого метаболита, но остаются жизнеспособными, тиминовые мутанты погибают на средах без тимина. «Бестиминовая гибель» связана с наруше-

нием нормального хода репликации ДНК в отсутствие тимина, когда синтез остальных клеточных компонентов совершается нормально. Поэтому для получения тиминовых мутантов нельзя использовать обычные селективные методы получения ауксотрофов, основанные на отборе мутантов на среде без нужного фактора роста.

Для получения тиминовых мутантов нами был использован несколько модифицированный аминокперинный метод Окада, Янагисава и Райана (1960, 1961). Было получено 150 независимых тиминовых мутантов *E. coli* K-12 З. OSO. Полное отсутствие роста мутантов на ближайших предшественниках тимидиловой кислоты — дезоксицитидиловой и дезоксиуридилиловой кислотах — дает основание считать, что у них повреждена последняя стадия синтеза тимидиловой кислоты — метилирование дезоксиуридинмонофосфата, осуществляемое ферментом — тимидилатсинтетазой. Наличие у наших мутантов бестиминной гибели также свидетельствует о том, что они не отличаются от описанных в литературе мутантов *E. coli* thy, не синтезирующих тимидилатсинтазу (мутанты B₃ и 15⁻).

Ген thy локализован нами на хромосоме *E. coli* K-12 между генами *cys* и *ser/gly*. Сцепление генов thy и *cys* было показано при перенесении этих генов как при конъюгации, так и при трансдукции бактериофагом P1 кс.

В пределах тиминового локуса выявлено 17 сайтов. Распределение мутаций по генной карте неравномерно. В сайте 3, являющемся горячей точкой, лежат 56 мутаций. Интересно, что большинство из этих мутантов — 46 температурочувствительны, т. е. являются ауксотрофами только при 36°C, а при 28°C ведут себя как прототрофы. В других сайтах гена thy локализовано всего 2 таких мутанта. Вероятно, что мутация в сайте 3 вызывает специфическое повреждение фермента тимидилатсинтазы, приводящее к термолабильности.

При изучении тиминовых мутантов было обнаружено, что рост некоторых из них подавляется высокими концентрациями тимидина (выше 10 мкг/мл). Тимидинчувствительные клетки (td-s) не делятся в присутствии тимидина, хотя и остаются жизнеспособными. Мутация td-s фенотипически проявляется и в прототрофном по тимину штамме.

Ген td локализован в проксимальной части хромосомы штамма Hfr З. OSO и сцеплен с геном thr (треонин). Интересно, что тимидин подавляет синтез соединений, важных не только для клетки хозяина, но и для размножения в ней частиц фага P1 кс, не способного индуцировать синтез тимидилата.

При изучении минимальных количества тимина, обеспечивающих нормальный рост тиминовых мутантов, были выявлены два типа мутантов, резко различающихся по количественной потребности в тимине: нуждающихся в 20 мкг/мл и в 0.5 мкг/мл тимина. Генетическое изучение признака малой количественной потребности в тимине показало, что он обусловлен мутацией в локусе thr (thymine low requirement), расположенном в проксимальной части хромосомы Hfr З. OSO и сцеп-

ленном с геном *thr*. При определении выхода фага P1 кс из тиминовых мутантов с разной потребностью в тимине было показано, что возможно мутация *thr* связана с активацией фермента, способствующего превращению тимина в тимидин или какое-либо другое тиминсодержащее соединение. Для решения этого вопроса необходимы дополнительные эксперименты.

В опытах с радиоактивным тиминном (C^{14}) было показано, что мутация, контролирующая низкую потребность в тимине, приводит к более эффективному использованию экзогенного тимина. Исследование прототрофных ревертантов показало, что включение экзогенного тимина регулируется взаимодействием двух генов (*thy* и *thr*) таким образом, что восстановление внутренней системы биосинтеза тимина препятствует включению экзогенного тимина.

2. Изучение мутаций, контролирующих синтез ДНК у бактериофага T4

Мутанты фага, имеющие нарушения синтеза ДНК, в большинстве случаев летальны. Нами проводится изучение одного из классов условнолетальных мутантов фага T4B — температурочувствительных мутаций (*ts*), летальных только при 42° и не летальных при 27°.

Различными методами у фага T4B было получено около 300 мутантов *ts*. Все мутанты были разбиты на две группы: 1—«переживающие», не дающие урожая при 42°C, но сохраняющие жизнеспособность, и 2—«непереживающие», гибнущие при 42°C. У 25 «переживающих» мутантов исследовалась динамика синтеза ДНК в инфицированных бактериях при 42°C. У 17 мутантов синтез ДНК практически не отличался от синтеза ДНК у фага дикого типа. У 7 мутантов был обнаружен резко подавленный синтез ДНК (скорость синтеза при 42°C была в 20–50 раз ниже, чем при 27°C).

Группировка *ts* мутантов по генам осуществлялась на основании теста количественной комплементации. В результате все изученные мутанты были разбиты на 4 группы. Семь мутантов, показавших отсутствие синтеза ДНК при 42°C, распределились по всем 4 группам комплементации: 2—в первой группе, 3—во второй и по одному в 3 и 4 группах. Эти данные дают основание предположить, что полученные мутации затрагивают, по крайней мере, четыре различных гена, имеющих отношение к синтезу фаговой ДНК.

Изложенные выше результаты изучения тиминовых мутантов *E. coli* и мутантов фага T4B с блокированной системой синтеза ДНК можно рассматривать лишь как первые этапы экспериментального подхода к изучению генетического аппарата регуляции синтеза ДНК в клетке.