

УДК 576.877.5.24

ИЗМЕНЕНИЕ СПОНТАННОЙ И УЛЬТРАФИОЛЕТ- ИНДУЦИРОВАННОЙ МУТАБИЛЬНОСТИ У СТРЕПТОМИЦИНОВЫХ МУТАНТОВ *ESCHERICHIA* *COLI* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ *gpsL* ГЕНА

М. Г. ОГАНЕСЯН, А. Х. ЧАХАЛЯН

Исследована роль различных аллелей *gpsL* гена в специфическом выходе спонтанных и ультрафиолетиндуцированных мутаций. С этой целью определяли выход спонтанных и УФ-индуцированных реверсий по признаку потребности в аргинине и лейцине у ряда стрептомицинрезистентных (СМ-Р) и стрептомицинзависимых (СМ-З) штаммов *E. coli*.

Показано, что в зависимости от аллельного состояния *gpsL* гена индексы лейциннезависимых и аргининнезависимых реверсий уменьшаются или увеличиваются от 2-х до сотен раз.

Первичное мутационное повреждение преодолевает ряд клеточных барьеров, изменение которых накладывает отпечаток своеобразия на данный мутационный процесс, обуславливая специфический выход мутаций [1]. В настоящее время проблема специфичности решается путем выявления и изучения процессов, которые в той или иной мере вовлекаются в мутагенез, изменяя частоту и спектр мутаций. Одним из таких процессов является биосинтез белков.

Мы уже сообщали [2, 3] о влиянии рибосомных (*gpsL*⁻) мутаций на количественный выход и спектр индуцированных нитрозогуанидином ревертантов у серии изогенных штаммов, отличающихся только аллельным состоянием *gpsL* гена [4]. Предварительные данные определения индексов спонтанных и УФ-индуцированных лейциннезависимых и аргининнезависимых реверсий у исходного *gpsL*⁺ штамма *E. coli* JC 335 и одного из его *gpsL*⁻ экстрансдуктантов (СМ-Р 9-335) [5] также подтвердили высказанное ранее предположение о возможности специфического участия рибосом в мутагенезе [1].

В настоящей работе с целью изучения роли различных аллелей *gpsL* гена в реализации спонтанных и УФ-индуцированных реверсий определялась мутабельность нескольких экстрансдуктантов JC 335, содержащих в своем геноме различные *gpsL*⁻ мутации.

Материал и методика. В работе использовались штамм *E. coli* JC 335 и его стрептомициновые производные, описанные ранее [3]. Состав использованных сред, методики УФ-облучения и определения индексов реверсий также описаны ранее [5].

Для определения своеобразия, вносимого разными аллелями *gpsL* гена в мутационный процесс, использовали сконструированную методом трансдукции серию

изогенных штаммов, включивших различные аллели гена, определяющего отношение культуры к стрептомицину. В качестве контрольной культуры использовали стрептомицинчувствительный (СМ-Ч) полиауксотрофный штамм E. coli JC 335. Донорные СМ-Р мутанты 9—180, 10—180, 37—180 и СМ-3 мутанты 19—180, 29—180 выделены у СМ-Ч штамма E. coli SA 180 [6]. Мутанты характеризуются плейотропным проявлением и отличаются друг от друга рядом измененных признаков, что позволяет подразделять их группы [7].

Для оценки вклада, вносимого разными *grsL*-аллелями в процесс реализации мутаций, сравнивали индексы спонтанных и УФ-индуцированных реверсий к лейцину- и аргининнезависимости. Для определения индекса спонтанных реверсий по потребности в лейцине и аргинине культуру высевали на индикаторные среды и после соответствующей инкубации определяли долю ревертантов по каждому из признаков. Результаты серии таких экспериментов приведены в табл. 1, 2.

Результаты и обсуждение. Как видно из приведенных результатов, различные *grsL*-аллели приводят к существенному сдвигу в индексе спонтанных реверсий. В большинстве случаев отмечается снижение индекса реверсий по сравнению с исходной культурой от 2-х до 10-ти раз, как по потребности в лейцине, так и в аргинине. Исключения составляют экстрансдуктанты, получившие *grsL*-аллель от мутанта 29—180, у которых отмечается увеличение индекса спонтанных реверсий по лейциновому маркеру, причем в необычных масштабах (более чем в 1000 раз).

Таблица 1
Индексы спонтанных реверсий к лейцинезависимости у исходного штамма и экстрансдуктантов

Штаммы	Проверено бактериальных клеток	Обнаружено ревертантов	Индекс реверсий ($\times 10^3$)	Отношение индекса реверсий экстрансдуктанта к индексу реверсий исходного штамма
JC 335	$1,0 \times 10^{11}$	458	0,48	1,00
9—335	$0,9 \times 10^{11}$	75	0,07	0,14
10—335	$1,0 \times 10^{11}$	224	0,20	0,42
37—335	$1,0 \times 10^{11}$	143	0,15	0,31
19—335	$0,6 \times 10^{11}$	164	0,24	0,49
29—335	$0,2 \times 10^{11}$	89592	487,64	1015,92

Таблица 2
Индексы спонтанных реверсий к аргининнезависимости у исходного штамма и экстрансдуктантов

Штамм	Проверено бактериальных клеток	Обнаружено ревертантов	Индекс реверсий ($\times 10^6$)	Отношение индекса реверсий экстрансдуктанта к индексу реверсий исходного штамма
JC 335	$1,0 \times 10^{11}$	34	0,061	1,00
9—335	$1,0 \times 10^{11}$	12	0,018	0,29
10—335	$1,0 \times 10^{11}$	29	0,027	0,44
37—335	$1,0 \times 10^{11}$	20	0,020	0,33
19—335	$0,6 \times 10^{11}$	30	0,049	0,80
29—335	$0,6 \times 10^{11}$	30	0,051	0,84

Мутант СМ-3 29—180 существенно отличается от исходной культуры SA 180 по широкому спектру признаков [6, 7]. Возникающие у

экстрансдуктанта 29—335 (полученного переносом *grsL*- аллеля из культуры СМ-3 29—180 в штамм JC 335) ревертанты к лейциннезависимости обладают интересными особенностями, поэтому они будут описаны специально. Здесь мы только отметим их необычно большую частоту появления. Поскольку СМ-3 29—180 является стрептомицинзависимым мутантом, можно было думать, что это является характерной особенностью такого типа мутантов. Однако проверка другого стрептомицинзависимого мутанта СМ-3 29—180 показала, что перенос *grsL*- аллеля из этой культуры в штамм JC 335 не приводит к таким разительным переменам. Это свидетельствует о специфических особенностях *grsL*- аллеля из штамма СМ-3 29—180.

У этих же экстрансдуктантов был изучен мутагенез, индуцированный УФ-лучами. Доза УФ-лучей подбиралась из расчета гибели более 90% обработанных клеток. Результаты этой серии экспериментов обобщены в табл. 3 и 4.

Таблица 3
Индексы УФ-индуцированных реверсий к лейциннезависимости у
исходного штамма и экстрансдуктантов

Штамм	Выживаемость, %	Проверено бактериальных клеток	Обнаружено ревертантов	Индекс реверсий ($\times 10^6$)	Отношение индекса реверсий экстрансдуктанта к индексу реверсий исходного штамма
JC 335	7,2	$5,4 \times 10^9$	12701	2,61	1,00
9—335	7,7	$4,6 \times 10^9$	5740	1,33	0,51
10—335	7,2	$6,7 \times 10^9$	11676	1,72	0,66
37—335	7,8	$6,5 \times 10^9$	8149	1,31	0,50
19—335	6,9	$6,1 \times 10^9$	4051	0,69	0,26
29—335	8,2	$0,1 \times 10^9$	39851	337,71	129,39

Таблица 4
Индексы УФ-индуцированных реверсий к аргининнезависимости у
исходного штамма и экстрансдуктантов

Штамм	Выживаемость, %	Проверено бактериальных клеток	Обнаружено ревертантов	Индекс реверсий ($\times 10^6$)	Отношение индекса реверсий экстрансдуктанта к индексу реверсий исходного штамма
JC 335	7,4	$7,3 \times 10^9$	160	2,933	1,00
9—335	7,6	$5,9 \times 10^9$	23	0,426	0,15
10—335	7,2	$9,1 \times 10^9$	16	0,198	0,07
37—335	7,4	$9,9 \times 10^9$	77	0,757	0,26
19—335	6,6	$5,4 \times 10^9$	39	0,623	0,21
29—335	8,4	$6,9 \times 10^9$	36	0,759	0,26

Как видно из данных табл. 3 и 4, при УФ-индуцированном мутагенезе также наблюдается снижение индексов реверсий от 2-х до 10-ти раз у большинства экстрансдуктантов. Это справедливо в отношении обоих маркеров. Исключение опять составляет экстрансдуктант 29—335, у которого отмечается более чем стократное увеличение индекса реверсий к лейциннезависимости.

Сравнение табл. 3 и 4 с табл. 1 и 2 показывает, что индексы реверсий при УФ-индуцированном мутагенезе во всех случаях выше, чем их спонтанный уровень. При этом закономерности поведения экстрансдуктантов сходны, что особенно четко видно на примере экстрансдуктанта 29—335.

Имеются сообщения о том, что добавление стрептомицина к средам, на которых отбираются ревертанты, приводит к некоторому увеличению выхода мутантов [8, 9]. Проведенная специальная проверка показала, что в ряде случаев действительно происходит некоторое увеличение выхода ревертантов, однако оно статистически незначимо и отмечалось только в отношении немногих аллелей, использованных в настоящей работе.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о том, что различные мутационные изменения рибосом могут качественно и количественно сдвинуть выход мутаций как в сторону увеличения, так и уменьшения.

Филиал Всесоюзного научно-исследовательского
института генетики и селекции
промышленных микроорганизмов, г. Чаренцаван

Поступило 23.XI 1977 г.

ESCHERICHIA COLI-ի ՍՏՐԵՊՏՈՄԻՑԻՆԱՅԻՆ ՄՈՒՏԱՆՏՆԵՐԻ ՄՈՏ
ՍՊՈՆՏԱՆ ԵՎ ՈՒՆՏՐԱՄԱՆՈՒՇԱԿԱԳՈՒՅՆ ՃԱՌԱԳԱՅՔՆԵՐՈՎ
ԻՆԴՈՒԿՑՎԱԾ ՄՈՒՏԱԲԻՂՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒՄԸ
ԿԱԽՎԱԾ *rpsL* ԳԵՆԻ ԱԼԵԼԻՑ

Մ. Գ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ա. Խ. ՉԱԽԱԿՅԱՆ

Հետազոտվել է *rpsL* գենի տարբեր ալելների դերը սպոնտան և ուլտրա-մանուշակագույն ճառագայթների ազդեցությամբ ինդուկցված մուտագենների պրոցեսում: Այդ նպատակով որոշվել է լիցիինանկախ և արգինինանկախ ռե-վիրտանտների քանակը *E. coli*-ի ստրեպտոմիցինի նկատմամբ կալոն և ստրեպտոմիցինից կախված մի շարք շտամների մոտ:

Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ ելակետային *rpsL*⁺ շտամի համեմատությամբ, ռեվիրտանտների քանակը կարող է 2-ից մինչև մի քանի հարյուր անգամ ավելանալ կամ պակասել տարբեր *rpsL*⁻ շտամների մոտ:

The change of spontaneous and UV-induced mutability in streptomycin mutants of *E. coli* depending on the allelic state of *rpsL* gene

M. G. Oganesian, A. Kh. Chakhalian

The analysis of spontaneous and UV-induced reversions to prototrophy in the isogenic strains differing by their allelic state of ribosomal *rpsL* locus reveals that the frequency of leucine and arginine revertants in *rpsL*⁻ strain increases or decreases from two to hundred times as compared with *rpsL*⁺ strain.

The results prove the hypothesis that ribosomes can be involved in the mutation process.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Оганесян М. Г.* Биологический журнал Армении, 22, 12, 1969.
2. *Чахоян А. Х.* Тез. докл. III съезда Арм. об-ва генетиков и селекционеров им. Н. И. Вавилова, 15, 1976.
3. *Оганесян М. Г., Чахоян А. Х.* Биологический журнал Армении, 30, 9, 3—9, 1977.
4. *Wachtman В. J., Low К. В., Taylor А. L.* Bacteriol Reviews, 40, 116—166, 1976.
5. *Оганесян М. Г., Чахоян А. Х.* Биологический журнал Армении, 27, 8, 1974.
6. *Оганесян М. Г., Барегамян И. Н.* Вопросы молекулярно-клеточной биологии и иммунологии, 18, Ереван, 1970.
7. *Барегамян И. Н., Оганесян М. Г.* Вопросы молекулярно-клеточной биологии, 11—16, Ереван, 1971.
8. *Скаврцкая А. Г., Алешкин Г. И., Лихобей Г. Я.* Генетика, 9, 10, 163—165, 1973.
9. *Clarke С. H.* Mut. Res., 19, 41—43, 1973.