

**Summary.** The *E. coli* ribosomal protein *L10* was found capable to regulate *rplJL* genes expression in *Citrobacter freundii*. Efficiency with which this protein can regulate expression of *rplJL* genes of *C. freundii* was estimated quantitatively.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sor F., Nomura M. Cloning and DNA sequence determination of the *L11* ribosomal protein operon of *Serratia marcescens* and *Proteus vulgaris*: Translation feedback regulation of the *Escherichia coli* operon by heterologous *L1* proteins // *Mol. and Gen. Genet.*—1987.—210, N 1.—P. 52—59.
2. Paton E. B., Woodmaska M. I., Kroupskaya I. V. et al. Evidence for the ability of *L10* ribosomal proteins of *Salmonella typhimurium* and *Klebsiella pneumoniae* to regulate *rplJL* genes expression in *E. coli* // *FEBS Let.*—1990.—265, N 1, 2.—P. 129—132.
3. Живолуп А. Н., Кириченко И. В., Патон Е. Б. Рибосомный белок *L10 Escherichia coli* способен регулировать экспрессию генов *rplJL Salmonella typhimurium* // *Биополимеры и клетка.*—1992.—8, № 3.—С. 37—39.
4. Живолуп А. Н., Патон Е. Б. Возможность гетерологичной регуляции экспрессии генов оперона *rplJLKlebsiella pneumoniae* белком *L10 Escherichia coli* // Там же.—С. 51—53.
5. Патон Е. Б., Крупская И. В., Живолуп А. Н. Определение минимального сегмента рибосомного белка *L10 E. coli*, сохраняющего регуляторную функцию // *Докл. АН СССР.*—1989.—309, № 2.—С. 493—496.
6. Post L. F., Strycharz G. D., Nomura M., Lewis H. Nucleotide sequence of the ribosomal protein gene cluster adjacent to the gene for RNA-polymerase subunit in *Escherichia coli* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1979.—76, N 4.—P. 1697—1701.
7. Живолуп А. Н., Крупская И. В., Вудмаска М. И., Патон Е. Б. Сравнение *in vivo* регуляторной способности рибосомных белков с различной первичной структурой // *Биополимеры и клетка.*—1992.—8, № 3.—С. 39—42.

Ин-т клеточ. биологии и генет. инженерии  
АН Украины, Киев

Получено 16.06.93

УДК 575.24

Ю. Н. Александров

#### РЕКОМБИНАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ СЛОЖНЫХ АЛЛЕЛЬНЫХ ОТНОШЕНИЙ ЛЕТАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ У ДРОЗОФИЛЫ ПОЛИНУКЛЕОТИДАМИ

*Мутагены типа ДНК или синтетических полинуклеотидов, испытанные на второй хромосоме дрозофилы, обнаружили одну важную специфическую особенность. В комплементарном тесте между летальными мутациями, индуцированными этими мутагенами, выявились сложные типы их взаимодействий. Многие хромосомы с летальными благодаря аллельным «зацеплениям» были связаны друг с другом через другие хромосомы, хотя прямых аллельных взаимодействий между парами изучаемых хромосом, как правило, не наблюдалось. Окончательное доказательство мультимутационного эффекта действия испытанных мутагенов получено рекомбинационным анализом мутаций.*

Изучать мутации, индуцированные различными физическими и химическими мутагенами, можно в тесте на аллелизм, причем взаимоотношения комплементирующих и некомплементирующих мутантов изображаются в виде матриц, на основе которых строят карты комплементации [1]. Мутации на таких картах имеют вид перекрывающихся отрезков, если мутации некомплементарны (аллельны), или вид неперекрывающихся отрезков, если мутации комплементарны (неаллельны). Линии на карте соответствуют отдельным мутациям либо нескольким мутациям и называются группами комплементации. Их концы, спроецированные на одну прямую, образуют единицы комплементации или клоны.

Подобные общепринятые приемы использованы при построении матриц аллелизма рецессивных летальных мутаций, индуцированных у

© Ю. Н. Александров, 1993

дрозофилы во второй хромосоме чужеродными вирусами, ДНК и синтетическими полинуклеотидами [2—4]. По этим матрицам строили соответствующие карты комплементации. Структура таких карт иногда оказывалась весьма сложной. Часто обнаруживалось, что число клонов приближалось или даже превышало число леталей, из анализа которых и идентифицируются клоны. Это парадоксальное явление, обнаруженное Родиным [5—8], свидетельствует о справедливости одной из альтернативных гипотез, высказанных нами ранее в отношении возможных механизмов сложных типов взаимодействия летальных мутаций, индуцированных экзогенными ДНК или вирусами. Речь идет о многоударном действии мутагенов этого класса, т. е. поражении ими одновременно нескольких участков исследованных хромосом [9].

Проверить эту гипотезу можно, проведя, например, прямой рекомбинационный анализ мутантов, связанных сложными комплементационными отношениями. В простейшем случае для трех леталей комплементационные связи между ними выглядят следующим образом: две летали, порознь аллельные третьей, не аллельны между собой. Первое положительное решение поставленной задачи получено для мутантов, индуцированных тимусной ДНК [10]. В настоящей работе проанализированы случаи сложных аллельных «зацеплений» мутантов, вызванных синтетическими полинуклеотидами.

Ранее [11, 12] нами получены летальные мутации, индуцированные различными полинуклеотидами. Всего имелось шесть таких групп леталей, возникших при воздействии на дрозофилу поли(I), поли(U), поли(A), поли(A, C), поли(dA) и поли(dT). Мух, несущих летальные мутации, скрещивали между собой в тесте на комплементацию. Скрещивания проводили как внутри каждой группы леталей, индуцированных соответствующим мутагеном, так и между группами. Затем строили матрицы комплементации, где фиксировались все возможные связи между мутациями. Матрицы комплементации анализировали, отбирали все случаи аллелизма мутаций, особое внимание уделяли вариантам со сложным характером аллельных «зацеплений» леталей.

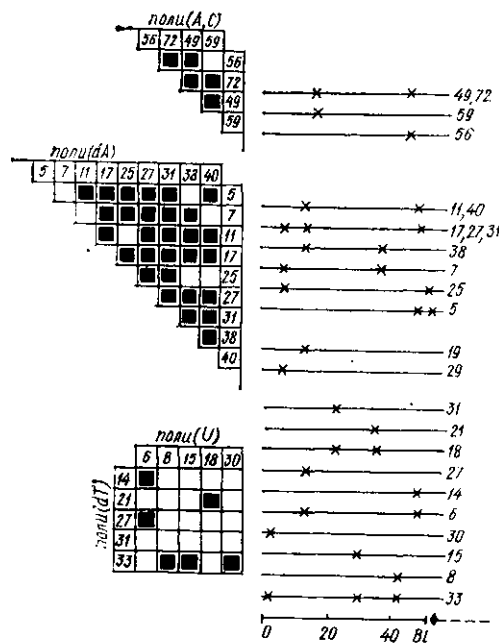
Для групп леталей, индуцированных поли(I), поли(U) и поли(dT), сложных аллельных отношений не было найдено, для таковых, индуцированных поли(A), поли(dA) и поли(A, C), такие случаи обнаружены многократно. Исходя из гипотезы мультимутационного действия этих агентов, было дано следующее истолкование результатов комплементационного теста. Мутации, индуцированные поли(A, C), могли, согласно этому предположению, возникнуть в двух локусах; две из четырех «летальных» хромосом оказывались дилетальными. Летали, возникшие под влиянием поли(A), поражают пять локусов, девять из двенадцати «летальных» хромосом несут по две мутации. Аналогичным образом летали серии поли(dA) могли индуцироваться в пяти локусах, пять из девяти «летальных» хромосом несут по две мутации, три хромосомы — по три мутации.

Следующим этапом исследования было картирование летальных мутаций, связанных сложными аллельными отношениями. Анализ локализации этих мутаций на второй хромосоме дрозофилы, проведенный стандартным методом Су/VIL, для четырех серий мутантов приведен на рисунке.

Рассмотрим случай для группы леталей, вызванных воздействием поли(A, C). Летальные мутации 72, 49, и 56 расположены на 48-й морганиде карты второй хромосомы дрозофилы, в то же время первые две из них некомплементарны летали 59, локализованной на 17-й морганиде карты хромосомы. Естественно предположить, что в этом локусе у «летальных» хромосом 72 и 49 имеются дополнительные летали, кроме выявленных при локализации; в таком случае комплементационные и рекомбинационные данные совпадают.

Соответствие комплементационного теста и рекомбинационного анализа обнаружено для леталей, индуцированных поли(A) и поли(dA), хотя характер аллельных «зацеплений» здесь значительно сложнее.

Более того, определить возможную локализацию дополнительных летальных мутаций, возникших в хромосомах 11, 40, 38, 17, 27, 31, 25 и 7 под воздействием поли(dA), помогли перекрестные скрещивания мух, несущих эти летали, с мухами, несущими летали серий поли(A) и поли(A, C). Как установлено нами ранее [11], спектры мутаций, вызванных разными искусственными и естественными полинуклеотидами, в основном различны, но эти различия не абсолютны, и часто наблюдается межгрупповой аллелизм леталей. В данном случае небольшой межгрупповой аллелизм леталей серий поли(A) и поли(dA), поли(A, C) и поли(dA), показал, что леталь 19 серии поли(A) (15-я морганида) оказалась некомплементарной леталям 11, 40, 17, 27, 31, 38, а леталь 29 серии поли(A, C) (8-я морганида) — некомплементарной леталям 7, 25, 17, 27, 31. Тем самым обнаружилось существование минимум трех леталей в хромосомах 17, 27, 31 и минимум двух — в хромосомах 11, 40, 25, 38, 7.



Как уже отмечалось, внутри групп леталей, полученных воз-

действием на мух поли(I), поли(U) и поли(dT), сложных комплементарных отношений не выявлено. Однако при изучении комплементарных свойств леталей в перекрестных скрещиваниях мух, несущих летали серий поли(dT) и поли(U), обнаружены случаи сложных аллельных отношений. Данные комплементарного анализа и рекомбинационного теста полностью совпали: в тех хромосомах, где предполагалось наличие дополнительных летальных мутаций, их обнаружили путем картирования (см. рисунок).

Таким образом, гипотеза многоударности мутагенного действия естественных и искусственных полинуклеотидов подтвердилась в прямом тесте на рекомбинационный анализ. Вторые хромосомы дрозофилы, обработанные этими мутагенами, несут, как правило, сразу несколько дефектов, расположенных несмежно и характеризующихся рецессивным летальным действием. В настоящее время множественность мутационных дефектов рассматривается как один из аргументов в пользу инсерционной природы их возникновения (аналогичным образом действуют различные мобильные элементы).

Резюме. Мутагени типу ДНК або синтетичних полінуклеотидів, випробувані на другій хромосомі дрозофіли, виявили одну важливу специфічну особливість. У комплементарному тесті між летальними мутаціями, що індуковані цими мутагенами, з'ясувалися складні типи їх взаємодій. Багато хромосом з летальними завдяки алельним «зачепленням» були пов'язані одна з одною через інші хромосоми, хоча прямих алельних взаємодій між парами хромосом, що вивчаються, як правило, не спостерігалось. Остаточний доказ мультимутаційного ефекту дії випробуванних мутагенів отримано рекомбінаційним аналізом мутацій.

Резюме. Мутагени типу ДНК або синтетичних полінуклеотидів, випробувані на другій хромосомі дрозофіли, виявили одну важливу специфічну особливість. У комплементарному тесті між летальними мутаціями, що індуковані цими мутагенами, з'ясувалися складні типи їх взаємодій. Багато хромосом з летальними завдяки алельним «зачепленням» були пов'язані одна з одною через інші хромосоми, хоча прямих алельних взаємодій між парами хромосом, що вивчаються, як правило, не спостерігалось. Остаточний доказ мультимутаційного ефекту дії випробуванних мутагенів отримано рекомбінаційним аналізом мутацій.

**S u m m a r y.** Allelic relationships of the mutations induced by synthetic polynucleotides are of a rather specific and complex pattern. A general hypothesis has been suggested to explain the complex complementary relations of lethal mutations. According to this hypothesis, specific interactions of these mutations reflect certain structural peculiarities of chromosomes connected with a multiplicity of defects. Existence of chromosomes with multiple mutations has been proved by the recombination analysis.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Инге-Вецтомов С. Г. Введение в молекулярную генетику.— М.: Высш. шк., 1983.— 343 с.
2. Гершензон С. М. Вызывание летальных мутаций с помощью ДНК у *Drosophila melanogaster* // Журн. общ. биологии.— 1964.— 25, № 5.— С. 371—375.
3. Гершензон С. М., Александров Ю. Н., Малюга С. С. Мутагенное действие ДНК и вирусов у дрозофилы.— Киев: Наук. думка, 1975.— 160 с.
4. Александров Ю. Н., Гершензон С. М. Мутагенное действие двух синтетических полинуклеотидов и его высокая специфичность // Молекуляр. биология.— 1982.— № 3.— С. 16—19.
5. Родин С. Н. Анализ аллельных отношений рецессивных леталей, индуцированных у дрозофилы чужеродными ДНК и некоторыми вирусами // Генетика.— 1974.— 10, № 9.— С. 94—105.
6. Родин С. Н., Миркин Б. Г. О математической обработке матриц аллелизма. Сообщ. 1. Построение и интерпретация комплементационных карт // Вопр. мат. генетики.— Новосибирск: Ин-т цитологии и генетики СО АН СССР, 1974.— С. 198—213.
7. Миркин Б. Г., Родин С. Н. Графы и гены. Использование графов в анализе структуры функций и эволюции генетических систем.— М.: Наука, 1977.— 240 с.
8. Родин С. Н. Идея коэволюции.— Новосибирск: Наука, 1991.— 268 с.
9. Александров Ю. Н., Гершензон С. М., Малюга С. С. Мутагенные свойства невирус-лентных для дрозофилы ДНК- и РНК-содержащих вирусов // Генетика.— 1971.— 7, № 9.— С. 102—112.
10. Александров Ю. Н., Голубовский М. Д. Роль вирусов и экзогенной ДНК в естественном мутационном процессе: экспериментальное исследование на дрозофиле // Генетика.— 1983.— 19, № 11.— С. 1818—1827.
11. Гершензон С. М., Александров Ю. Н. Мутагенное действие природных и синтетических полинуклеотидов и проблема направленных мутаций // Журн. общ. биологии.— 1982.— 43, № 6.— С. 747—763.
12. Александров Ю. Н., Гершензон С. М. Избирательное мутагенное действие синтетических полинуклеотидов // Биополимеры и клетка.— 1985.— 1, № 1.— С. 21—25.

Ин-т физиологии и генетики растений  
АН Украины, Киев

Получено 11.06.93