

ОБЪЕДИНЕННЫЙ  
ИНСТИТУТ  
ЯДЕРНЫХ  
ИССЛЕДОВАНИЙ  
ДУБНА

P19-86-569

А.В.Глазунов, А.В.Борейко, А.Х.Эссер

"БЫСТРОЕ" ПОСТРАДИАЦИОННОЕ  
ВОССТАНОВЛЕНИЕ ДРОЖЖЕЙ:  
СВЯЗЬ С  $\gamma$ -ИНДУЦИРОВАННОЙ РЕЦИПРОКНОЙ  
МИТОТИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИЕЙ  
И ГЕННОЙ КОНВЕРСИЕЙ

Направлено в журнал "Генетика"

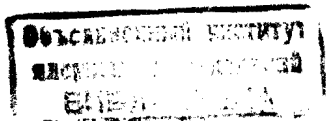
1986

Как показано ранее /1,2,3/, диплоидные клетки *Saccharomyces cerevisiae* в стационарной фазе роста культуры способны к "быстрому" пострадиационному восстановлению (БВ). Эффект состоит в увеличении выживаемости облучённых клеток при их выдерживании в воде при 28°C перед высевом на питательный агар, содержащий повышенные концентрации хлористого натрия /1,2/ или некоторых солей калия (KCl, KNO<sub>3</sub>) /3/. Гаплоидные клетки, а также диплоидные, несущие мутации rad 52 или rad 54 в гомозиготном состоянии, неспособны к БВ /1,2,4,5/. Анализ обнаруженного феномена позволил предположить, что в основе его лежит неизвестный ранее тип репарации двунитевых разрывов (ДНР) ДНК, индуцированных ионизирующей радиацией /2/. В настоящее время общепризнано, что репарация ДНР в дрожжевых клетках идёт, в основном, по рекомбинационному механизму /6,7/. В связи с этим полагают, что репарация ДНР и индуцированная ионизирующей радиацией митотическая рекомбинация являются тесно связанными процессами /8/. Таким образом, интересно было попытаться выявить связь между обсуждаемыми здесь БВ и рекомбинационными событиями в клетке, индуцированными ионизирующей радиацией.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали диплоидные штаммы дрожжей *Sacch. cerevisiae* Т1 (а ade 2-192/α ade 2-G45) и Т3 (а ade 2-192 rad 54 / α ade 2-G45 rad 54), полученные от И.А. Захарова /9/, а также П 3920-5 (а luv 2-22 ade 2-192 /α leu 2-2 luv 2-25), полученный от Д.А. Гордеина /10/ и 28-73-IV, описанный ранее /1/.

Дрожжи выращивали на плотной питательной среде YEPD в течение 4-5 суток при 28°C (стационарная фаза роста культуры). Фракции непочкущихся клеток выделяли путём центрифугирования в градиенте концентраций сахарозы (40-60%). Клетки несколько раз отмывали от сахарозы центрифугированием и ресуспендировали в стерильной дистиллированной воде.



Клетки облучали  $\gamma$ -квантами  $^{137}\text{Cs}$  (мощность дозы  $\sim 35$  Гр/мин) в водной суспензии (концентрация  $2 \times 10^6$  клеток/мл) при  $0^\circ\text{C}$ .

В работе использовали следующие плотные питательные среды:

1. Полноценная питательная среда YEPD (пептон-10 г/л, глюкоза-20 г/л, дрожжевой экстракт-5 г/л, агар-агар-20 г/л).
2. Полноценная питательная среда (ПС) ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -2 г/л,  $\text{MgSO}_4$ -1 г/л,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -1 г/л, глюкоза-20 г/л, дрожжевой автолизат -20 мл/л, агар-агар -20 г/л) /II/.
3. Полноценная солевая среда (ПСС) - ПС, содержащая 1,5 М  $\text{KCl}$ .
4. Минимальная среда (МС) ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$  -0,84 г/л,  $\text{KCl}$  -1 г/л,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  -5 г/л,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  -1,08 г/л,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  -300 мг/л, глюкоза -10 г/л,  $\text{CaCl}_2$  -150 г/л, витамины, микроэлементы, агар-агар -20 г/л) /I2/.
5. Минимальная солевая среда (МСС) - МС, содержащая 1,5 М  $\text{KCl}$  или  $\text{KNO}_3$ .

События реципрокной митотической рекомбинации и сегрегации для клеток штаммов Т1 и Т3 учитывали по методике, изложенной в /9/, определяя в первом случае долю колоний, состоящих из розово-красных и розово-красно-белых секторов, а во втором случае - наряду с колониями указанного типа подсчитывали ещё и колонии, состоящие из белорозовых и бело-красных секторов, а также розовые и красные колонии.

Частоту генной конверсии определяли как число прототрофных клонов, выросших на минимальной среде, отнесённое к общему числу выживших облучённых клеток штамма П 920-5.

Выживаемость определяли методом подсчёта макроколоний, вырастающих на плотной питательной среде через 5-8 суток при  $28^\circ\text{C}$ . Выживаемость необлучённых клеток на солевой среде составляла 70-100 % по сравнению с клетками, высеянными на соответствующие бессолевые среды (см. выше). Ошибку в определении выживаемости и частот рекомбинации определяли как сумму нормированного стандартного отклонения и относительной ошибки разведения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первой части работы изучали реципрокную митотическую рекомбинацию (РМР), индуцированную  $\gamma$ -облучением, в условиях подавления "быстрого" пострадиационного восстановления (БПВ), т.е. в присутствии повышенных концентраций хлористого калия. Для этих целей использована тест-система, разработанная И.А. Захаровым с сотр. /9/, где в качестве модельных использованы штаммы Т1 и Т3, несущие в гетерозиготе два комплементирующих аллели локуса *ade2* (*ade2-192* обуславливает

в гомозиготе образование колоний с красной окраской, *ade2-G45* - с розовой). РМР на участке XV хромосомы между центромой и локусом *ADE2* приводит к возникновению двух сестринских ядер: одного - гомозиготного по *ade2-192*, а другого - по *ade2-G45*, в результате чего возникает колония, состоящая из розово-красных секторов (или из розово-красно-белых, если РМР происходит во втором делении). Помимо колоний указанного типа возникает цельные розовые или красные колонии, а также состоящие из розово-белых и красно-белых секторов, что, как указывают авторы /9/, может быть результатом реципрокной рекомбинации (конверсии), гибели одной из кроссоверных клеток, нерасхождения хромосом и др. Вся совокупность таких колоний, включая кроссоверные, в соответствии с терминологией /9/, обозначается далее как сегреганты. Отметим, что митотическая сегрегация (МСГ) в целом также отражает уровень рекомбинационных процессов, происходящих в клетке.

Оказалось, что хлористый калий, добавленный в питательный агар в концентрации 1,5 М (условия подавления БПВ), делает окраску рекомбинантных клонов менее выраженной, что затрудняет или делает невозможным определение частоты РМР и МСГ. Тем не менее, удалось применить эту удобную систему и для наших целей.

Ранее было показано, что фиксация летальных радиационных повреждений приурочена к первому пострадиационному делению клетки /13/. В случае справедливости этого утверждения для радиационных повреждений, репарируемых клеткой в процессе БПВ, достаточно выдержать облучённые дрожжи в солевой среде до первого деления, чтобы наблюдать изменение частоты РМР или МСГ (если, конечно, таковое будет иметь место) в условиях подавления БПВ.

В предварительном опыте, результаты которого приведены на рис. I, установлено, что лучевые повреждения, элиминирующиеся в процессе БПВ, действительно становятся необратимыми после первого пострадиаци-

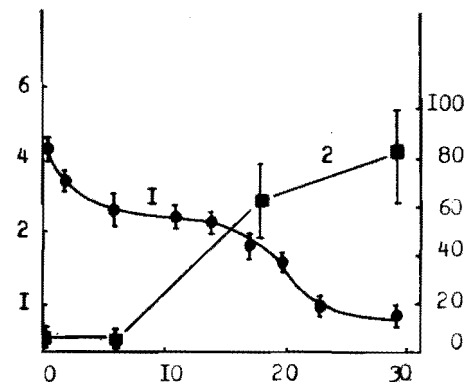


Рис. I. Выживаемость (I) и доля почкующихся клеток (2)  $\gamma$ -облучённых (доза 525 Гр) диплоидных дрожжей штамма 28-73-1В в зависимости от времени выдерживания на плотной солевой среде (ПСС). Солевая среда ПСС содержала 1,5 М  $\text{KCl}$ . По оси абсцисс - время, час; по осям ординат: слева - выживаемость, %; справа - доля почкующихся клеток, %.

диплоидного деления клетки. Диплоидные дрожжи штамма 28-73-IV облучали  $\gamma$ -квантами при 0°C в дозе 525 Гр и рассеивали на плотную солевую среду (ПСС), покрытую бумажным фильтром, инкубировали при 28°C в течение различных промежутков времени, после чего переносили фильтры с клетками на полноценную среду (ПС), где после 5-7 суток роста при 28°C определяли их выживаемость. Одновременно путём микроскопирования определяли долю почкующихся клеток в популяции при их инкубации на ПСС. Как видно, после незначительного снижения выживаемости в первые часы выдерживания, по-видимому, не связанного с фиксацией лучевых повреждений, выживаемость клеток выходит на плато (23-27 %) и далее с ростом числа почкующихся клеток убывает, достигая к 23-29 часам выдерживания на ПСС постоянного значения (7-10%). Эти величины хорошо согласуются с выживаемостью облучённых клеток, сразу высеванных на ПСС (7,3 ± 0,6 %) и после 1-часового выдерживания в воде при 28°C, достаточного для завершения БПВ (27 ± 2 %). Таким образом, деление облучённой клетки на ПСС приводит к подавлению БПВ, т.е. делает лучевые повреждения, элиминируемые в процессе восстановления, необратимыми.

Исходя из установленного выше факта, мы провели с клетками штамма Т1 опыт, аналогичный описанному: при этом облучённые клетки ( $D_{\gamma} = 1050$  Гр) инкубировали на ПСС в течение 2-х суток (к этому моменту клетки совершают 1-2 деления) и определяли частоту РМР и МСГ. В таблице I приведены результаты нескольких опытов. Как видно, в результате пострадиационной инкубации клеток на ПСС, частота РМР снижается в разных опытах в 2-6 раз, а МСГ - приблизительно в 2 раза. Разница достоверна в обоих случаях с уровнем значимости  $\alpha < 0,05 / 14$ /. Спонтанный уровень РМР и МСГ во всех вариантах опыта составлял не более 0,1 %.

В той же таблице приведены результаты экспериментов со штаммом Т3, гомозиготным по мутации *rad 54/9/*, блокирующей БПВ /5/. К сожалению, из-за малого числа событий нельзя было достоверно установить изменение (или отсутствие такового) частоты РМР, однако частота МСГ приблизительно одинакова в обоих вариантах опыта и в 2-3 раза ниже, чем соответствующая величина для клеток "дикого" типа. Пониженный выход сегрегантов для штамма Т3, облучённого  $\gamma$ -квантами, наблюдали и ранее /15/. Таким образом, мутантные клетки, не способные к БПВ, не обнаруживают, в отличие от клеток "дикого" типа, изменения частоты МСГ при инкубации на солевой среде, что также свидетельствует о связи процессов пострадиационного восстановления и рекомбинации.

Выдерживание облучённых клеток перед рассеиванием на ПСС в воде в течение 2 часов при 28°C не влияло на уменьшение частоты РМР и МСГ,

Таблица I  
 $\gamma$ -индуцированная\* митотическая рекомбинация и сегрегация у диплоидных дрожжей штаммов Т1 (+/+) и Т3 (*rad54/rad54*)

Штамм	№ опыта	% рекомбинантов		% сегрегантов	
		Высев на ПС	Высев на ПС после 2-х суток инкубации на ПСС	Высев на ПС	Высев на ПС после 2-х суток инкубации на ПСС
Т1	1	3,2 ± 0,5	1,5 ± 0,2	19,4 ± 1,4	11,1 ± 0,6
	2	3,6 ± 0,9	1,1 ± 0,3	18,3 ± 2,5	13,0 ± 1,3
	3	1,7 ± 0,4	0,2 ± 0,1	19,5 ± 1,5	10 ± 1
	4	3,3 ± 0,5	0,5 ± 0,3	19,0 ± 1,5	11 ± 2
	5	2,4 ± 0,5	1,2 ± 0,2	18 ± 2	10,0 ± 0,7
Т3	1	-	-	3,8 ± 0,6	4,3 ± 0,6
	2	-	-	2,6 ± 0,4	1,5 ± 0,3

\* Выживаемость клеток штамма Т1, облучённого в дозе 1050 Гр, составляла 17-25 %; для штамма Т3, облучённого в дозе 70 Гр, - 11-14 %.

наблюдаемых в опытах, приведенных в таблице I. Так, частота РМР при немедленном высеве на ПСС уменьшалась с 3,6 ± 0,9 до 1,1 ± 0,3 % (табл. I, опыт 2), а после выдерживания в течение 2 часов в воде при 28°C - с 3,2 ± 0,5 % до 1,3 ± 0,4 %. Для МСГ эти величины соответственно составили: 18,3 ± 2,5 и 13,0 ± 1,3 %, 20,0 ± 2,7 и 8,2 ± 1,5 %.

В другой серии опытов клетки Т1 облучали  $\gamma$ -квантами ( $D_{\gamma} = 420$  Гр) в воде или 12 %-ом растворе KCl, после чего ресуспендировали в жидкой ПС или ПСС и инкубировали в течение 10-43 ч при 28°C. Далее рассеивали на плотную ПС для определения частоты РМР и МСГ. Как видно (таблица 2), выдерживание облучённых в воде клеток в течение 10 часов (более 50 % клеток к этому моменту образовали почки) не приводит к изменению частоты РМР и МСГ. В то же время выдерживание в жидкой ПСС ведёт к заметному снижению этих величин, коррелируя с увеличением доли почкующихся клеток. Выдерживание облучённых клеток в жидкой ПС до переноса в ПСС в течение 30-60 мин при 28°C (время, достаточное для завершения БПВ), не влияет на изменение частоты РМР и МСГ в ходе инкубации в солевой среде.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельству-

Таблица 2

Частота  $\mu$ -индуцированной митотической рекомбинации и сегрегации в зависимости от времени выдерживания облученных клеток Т1 в жидкой солевой среде

№ опыта	Условия облучения	Время пост-радиационной инкубации в жидкой ПС при 28°C, ч	Время выдерживания в СС, ч	% рекомбинантов	% сегрегантов	% почкующихся клеток
1	H <sub>2</sub> O	0	0	4,3 ± 0,6	13,0 ± 1,2	5 ± 2
	H <sub>2</sub> O	10	0	2,9 ± 0,4	11,0 ± 0,9	5 ± 2
	I <sub>2</sub> % KCl	0	0	3,3 ± 0,7	9,5 ± 1,3	5 ± 2
	I <sub>2</sub> % KCl	0	22	0,9 ± 0,5	5,4 ± 1,6	30 ± 6
	I <sub>2</sub> % KCl	0	43	0,5 ± 0,1	4,1 ± 0,4	50 ± 10
2	I <sub>2</sub> % KCl	0	0	2,3 ± 0,2	8,7 ± 0,9	5 ± 2
	I <sub>2</sub> % KCl	0	10	2,5 ± 0,3	7,4 ± 0,8	20 ± 5
	I <sub>2</sub> % KCl	0,5	10	3,1 ± 0,6	10,4 ± 1,0	20 ± 5
	I <sub>2</sub> % KCl	1	10	2,4 ± 0,3	6,7 ± 0,6	20 ± 5
	I <sub>2</sub> % KCl	0	23	1,2 ± 0,5	6,9 ± 0,7	50 ± 10
	I <sub>2</sub> % KCl	0,5	23	0,4 ± 0,1	4,1 ± 0,4	50 ± 10
	I <sub>2</sub> % KCl	1	23	0,8 ± 0,4	3,9 ± 0,4	50 ± 10

\*Облученные клетки выдерживали в жидкой полноценной среде (ПС), после чего ресуспендировали в жидкой солевой среде (СС) (ПС + I<sub>2</sub> % KCl). В случае облучения в растворе хлористого калия клетки ресуспендировали в ПС, содержащей I<sub>2</sub> % глюкозы (для смягчения осмотического шока).

дт, что в условиях подавления "быстрого" пострадиационного восстановления (БПВ) реципрокная митотическая рекомбинация (РМР) и митотическая сегрегация (МСГ) у дрожжевых клеток подавлены в значительной степени. Как отмечено выше, репарация ДНР и  $\mu$ -индуцированная митотическая рекомбинация - тесно связанные процессы, имеющие общий генетический контроль некоторых этапов. Тот факт, что выдерживание облученных клеток в воде или питательной среде в течение интервала времени, достаточного для завершения БПВ, не влияет на частоту РМР и МСГ, легко объясним. Действительно, используемая тест-система позволяет выявить процессы рекомбинации, протекающие между сестринскими хроматидами в митозе, тогда как рекомбинационные процессы, связанные с репарацией

ДНР при выдерживании в непитательной среде, происходят в G<sub>1</sub>-фазе клеточного цикла.

В следующей серии опытов использована система, позволяющая учитывать события реципрокной и нереципрокной рекомбинации между гомологичными хромосомами в G<sub>1</sub>-фазе клеточного цикла. Мутации *lys* 2-22 и *lys* 2-25 представляют собой неперекрывающиеся делеции /10/ в локусе *lys* 2. Как показано ранее, реверсии мутантных клеток с генотипом *lys* 2-22/*lys* 2-25 к фенотипу *Lys*<sup>+</sup> происходят в основном за счёт генной конверсии (~70%) и реципрокной рекомбинации (~30%). Имея в виду указанное обстоятельство, мы условно будем называть прототрофные клоны, образование которых индуцировано  $\mu$ -облучением, "конвертантами".

На рисунке 2 приведены результаты следующего опыта. Клетки штамма П 3920-5 (*lys* 2-22/*lys* 2-25) облучали в дозе 700 Гр при 0°C и рассевали на минимальные среды МС и МСС (последняя содержала 1,5 М KNO<sub>3</sub>) либо сразу, либо после выдерживания в воде при 28°C. После этого определяли выживаемость облученных клеток (в этом случае среды МС и МСС содержали лизин) и долю конвертантов в популяции выживших клеток, подсчитывая число клонов, выросших на средах МС и МСС (без лизина). Как видно, высев облученных клеток на бессолевые среды не приводит к изменению величины выживаемости и частот генной конверсии при выдерживании их в воде при 28°C (кривые 1 и 2). Иную картину наблюдали при высеве клеток на солевые среды (МСС): здесь выживаемость возрастает, достигая за 2 ч выдерживания уровня выживаемости на бессолевой среде (МС) (с 0,9 ± 0,2 % до 8,1 ± 1,2 %), а частота конверсии, напротив, уменьшается, также достигая за 2 ч выдерживания соответствующей величины на бессолевой среде (с 1,9 ± 0,6 % до 0,8 ± 0,06 %) (кривые 3 и 4). Уровень спонтанной конверсии при этом во всех вариантах опыта был незначительным и составлял 10<sup>-3</sup>-10<sup>-2</sup>%. Отметим, что от опыта к опыту степень изменения частоты генной конверсии в результате выдерживания облученных клеток в воде существенно варьировала (таблица 3), однако имела место корреляция этой величины с эффективностью "быстрого" пострадиационного восстановления (выборочный коэффициент корреляции 0,985, доверительная вероятность 0,95 по Z-критерию Фишера) /14/.

На рисунке 3 по оси абсцисс отложена эффективность "быстрого" пострадиационного восстановления, определяемая здесь как S/S<sub>0</sub>, где S<sub>0</sub>, S - выживаемость клеток до и после завершения БПВ; по оси ординат - коэффициент уменьшения частоты генной конверсии в результате 2-часового выдерживания в воде при 28°C, определяемый как f<sub>0</sub>/f, где f<sub>0</sub>, f - частота конвертантов до и после выдерживания. Как видно, связь между этими величинами хорошо описывается линейной регрессией Y = (1,16 X + 1,33) ± 0,57 (доверительная вероятность 0,95). Таким образом представленные данные свидетельствуют о связи "быстрого"

пострадиационного восстановления с процессами рекомбинации, происходящими в G1-фазе клеточного цикла.

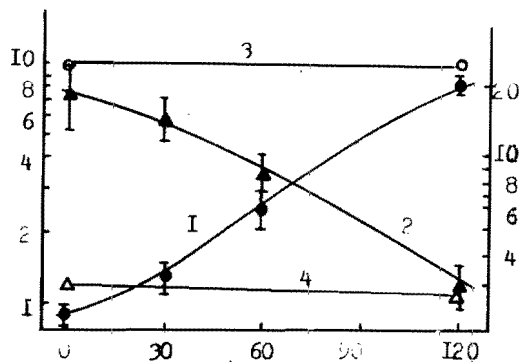


Рис. 2. Выживаемость (I, 3) и частота генной конверсии  $\lambda_{us} 2-22/\lambda_{us} 2-25 \rightarrow \lambda_{us}^+$  (2, 4) для  $\gamma$ -облучённых (доза 700 Гр) диплоидных клеток штамма П 3920-5 в зависимости от времени выдерживания в воде при 28°C перед высевом на среду МС (светлые символы) или МСС (тёмные символы). Солевая среда МСС содержала 1,5 М  $KNO_3$ . По оси абсцисс - время, мин; по осям ординат:

слева - выживаемость, %, справа - частота генной конверсии ( $\times 10^3$ ). В обоих случаях шкала логарифмическая.

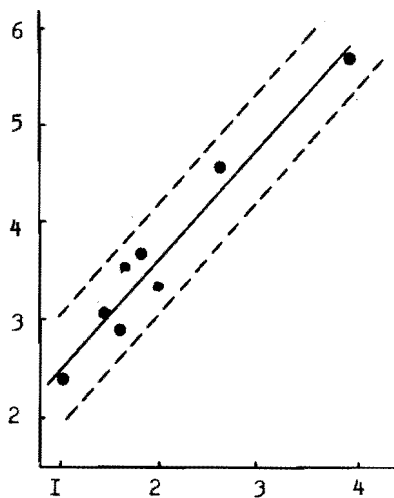


Рис. 3. Эффективность "быстрого" пострadiационного восстановления при разных уровнях снижения частоты генной конверсии  $\lambda_{us} 2-22/\lambda_{us} 2-25 \rightarrow \lambda_{us}^+$  в результате 2-часового выдерживания  $\gamma$ -облучённых (доза 700 Гр) клеток штамма П 3920-5 в воде при 28°C. Клетки высевали на среду МСС, содержащую 1,5 М  $KCl$ . По оси абсцисс - коэффициент уменьшения частоты генной конверсии; по оси ординат - эффективность "быстрого" пострadiационного восстановления. Пунктирными линиями отложен 95 %-ый доверительный интервал линейной регрессии.

Интерпретация приведенных данных может быть следующая. Ранее авторами /16/ была высказана гипотеза о том, что репарация ДНР в непитательной среде есть особый путь репарации, не связанный с митотической рекомбинацией и генной конверсией, но имеющий с ними общие этапы. С другой стороны, существует модель /17/, согласно которой ДНР явля-

Таблица 3  
Выживаемость и частота  $\gamma$ -индуцированной генной конверсии у диплоидных дрожжей П 3920-5

№ опыта	Доза, Гр	Немедленный высев				Выдерживание в воде в течение 2 ч при 28°C перед высевом			
		Выживаемость, %		Частота конверсии, %		Выживаемость, %		Частота конверсии, %	
		МС	МСС*	МС	МСС	МС	МСС	МС	МСС
1	350	90 ± 8	19 ± 2	0,05 ± 0,01	0,08 ± 0,02	100 ± 9	55 ± 6	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01
2	700	12 ± 1	3,5 ± 0,4	0,32 ± 0,04	0,32 ± 0,06	16 ± 2	20 ± 2	0,23 ± 0,03	0,08 ± 0,01
3	700	7,8 ± 0,8	1,5 ± 0,2	0,44 ± 0,04	0,71 ± 0,08	7,8 ± 0,8	5,4 ± 0,5	0,27 ± 0,02	0,40 ± 0,04
4	700	9,0 ± 0,8	5,0 ± 0,4	0,25 ± 0,03	0,12 ± 0,03	15 ± 2	23 ± 2	0,17 ± 0,02	0,04 ± 0,01
5	700	19 ± 2	3,9 ± 0,3	0,20 ± 0,02	0,34 ± 0,02	12 ± 1	13 ± 1	0,26 ± 0,02	0,17 ± 0,02
6	700	9,4 ± 0,7	0,9 ± 0,2	0,32 ± 0,03	1,9 ± 0,6	9,7 ± 0,7	8,1 ± 1,2	0,28 ± 0,02	0,32 ± 0,06

\* В опытах № 1-4 солевая среда МСС содержала 1,5 М  $KCl$ , в опытах 5 и 6 - 1,5 М  $KNO_3$ .

ется "стартовой" точкой процесса геномной конверсии. Можно предположить, что в основе "быстрого" восстановления лежит именно особый путь репарации ДНР. Тогда выживание облученных клеток в непитательной среде приводит к элиминации существенной части ДНР ещё до начала рекомбинационных процессов, приводящих к геномной конверсии, что даст в результате снижение эффективности рассматриваемого процесса, наблюдаемого в опыте.

Заметим, что в случае справедливости сделанных предположений при немедленном высеве облученных клеток следовало бы ожидать повышенную частоту геномной конверсии на солевой среде по сравнению с бессолевой, что наблюдается не всегда (см. табл. 3). Можно, однако, представить себе, что в ряде случаев на минимальной среде ауксотрофные клетки совершат хотя бы одно деление. Тогда прототрофы могут возникать, помимо геномной конверсии в G1-фазе, ещё и за счёт рекомбинации в G2 или M-фазе клеточного цикла. Как показано выше, частота митотической сегрегации на солевой среде существенно подавлена. Это может приводить к тому, что разница выхода конвертантов на МС и МСС нивелируется (за счёт подавления на МСС митотической рекомбинации).

Кроме того, возникает вопрос: как увязать обсуждаемые результаты с данными по митотической рекомбинации? Заметим, что митотический кроссинговер, выявляемый с помощью тест-системы И.А.Захарова и др. /9/, и геномная конверсия, обсуждаемая здесь, — существенно различные процессы: если митотический кроссинговер есть результат рекомбинации между хроматидами гомологичных хромосом и имеет место в митотических клетках, то геномная конверсия (в системе /Ю/) есть продукт взаимодействия хромосом в G1-фазе клеточного цикла. Отметим также, что снижение частоты митотического кроссинговера при пострadiационном делении клетки в присутствии повышенной концентрации КС<sub>2</sub> может являться результатом подавления общих этапов репарации ДНР и митотической рекомбинации.

Таким образом, вне зависимости от интерпретации представленных данных можно сделать следующие выводы. В условиях подавления "быстрого" восстановления митотический кроссинговер также существенно подавлен; имеет место корреляция между эффективностью "быстрого" восстановления и уменьшением частоты геномной конверсии при инкубации облученных клеток в непитательной среде при 28°C. Представленные данные свидетельствуют о связи рекомбинационных процессов с "быстрым" восстановлением дрожжей.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Глазунов А.В., Капутьцевич Ю.Г. Радиобиология, 1982, т. 22, вып. I, с. 62 — 69.
2. Глазунов А.В., Капутьцевич Ю.Г. Радиобиология, 1983, т. 23, вып. 3, с. 344—348.
3. Борейко А.В., Насонова Е.А., Глазунов А.В. Радиобиология, 1984, т.24, вып. 4, с. 543—545.
4. Глазунов А.В., Капутьцевич Ю.Г. Радиобиология, 1982, т. 22, вып.5, с. 633—636.
5. Глазунов А.В., Борейко А.В. Радиобиология, 1985, т.25, вып.5, с. 612—616.
6. Королёв В.Г., Грачёва Л.М. Генетика, 1972, т.8, №8, с. III—129.
7. Resnick M.A. J. Theor. Biol., 1976, v. 59, N1, p.97—100.
8. Kung b., Haynes R. Ann. Rev. Genet., v.15, p. 57—89.
9. Захаров И.А., Ковальцова С.В., Марфин С.В. Генетика, 1979, т. 15, №1, с. 37—42.
10. Chernoff Y.O., Kidgotko O.V., Demberelijn O., Luchnikova I.L., Soldatov S.P., Glaser V.M. and Gordenin D.A. Current genetics, 1984, v.9, p. 31—37.
11. Захаров И.А. и др. Сборник методик по генетике дрожжей-сахаромицетов. Наука, Л., 1984.
12. Арман И.П., Девин А.Б. Генетика, 1969, т.5, №10, с. 127—134.
13. Корогодия В.И. Проблемы пострadiационного восстановления. Атомиздат, М., 1966.
14. Лакин Г.Ф. Биометрия. Высшая школа, М., 1980.
15. Касинова Г.В. Генетика, 1980, т. 16, №11, с. 2058—2060.
16. Глазер В.М., Самадашвили М.Н., Вишневецкая О.Ю., Солдатов С.П., Шестаков С.В. В кн.: XI Ежегодная конференция по мутагенам внешней среды. М., 1984, с. 191.
17. J.W. Szostak, T.L. Orr-Weaver, R.J. Rothstein and F.W. Stahl. Cell, 1983, v.33, p. 25—35.

Рукопись поступила в издательский отдел  
21 августа 1986 года.