

ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

К 68

P19-88-351

В.И.Корогодин, Н.О.Абетян*, Х.Брунцкова,
Н.Л.Джанполадян*, В.Л.Корогодина,
Н.Михова-Ценова, Н.В.Симонян*, Ч.Файси,
А.И.Чепурной

**СПОНТАННЫЙ МУТАГЕНЕЗ
И УСЛОВИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК**

Направлено в сборник "Онтогенез, эволюция,
биосфера" издательства "Наука"

*Ереванский физический институт

1988

I. Предварительные замечания

"Спонтанным мутагенезом" мы будем называть процесс возникновения мутаций генов при культивировании клеток на питательной среде без применения специальных мутагенных воздействий. Вопрос, с которого целесообразно начинать обсуждение проблемы спонтанного мутагенеза, можно сформулировать так: зависит ли частота мутирования клеток от условий их культивирования?

Эксперименты, выполненные нами на различных штаммах дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, были призваны приблизить к ответу на этот вопрос.

Следует подчеркнуть, что вопрос этот не нов. Н.В. Тимофеев-Ресовский с соавт. /1/ обсуждали некоторые его аспекты еще в тридцатые годы. В сороковые годы М.Е. Лобанов /2/ выступил с гипотезой, постулирующей связь мутабельности организмов со степенью неблагоприятности условий их существования. В пятидесятые годы А.Новик и Л.Спиллард /3,4/ приступили к экспериментальной разработке этой проблемы, используя специально сконструированный прибор - хемостат. С конца шестидесятых - начала семидесятых годов появляются десятки, а затем сотни работ, посвященных изучению влияния дисбаланса пула нуклеотидов на различные генетические процессы, в том числе на мутирование генов и хромосом и возникновение рекомбинаций. Здесь следует выделить исследование С.Е. Бреслера с соотр. /5,6/ по "валовому мутагенезу" при тиминовом голодании у бактерий и разработку проблемы дисбаланса Р. Кейнсом, Б. Кунцом, Б. Барклаем и др., завершившуюся серией обзорных статей /7-9/. В эти же годы Г.Е. Фрадкин /10/ проводит исследования по влиянию на генетические процессы в клетках дисбаланса скоростей синтеза ДНК и белка. В упомянутых и множестве других работ представлен обширный материал, - к сожалению, не поддающийся однозначной трактовке, и ряд теоретических построений, - не поддающихся, как правило, надежной экспериментальной проверке. Причина этого - методические трудности, главные из которых мы сейчас перечислим.

Дело в том, что даже при работе с такими удобными объектами, как микроорганизмы, - клетками бактерий или дрожжей, - события появления мутаций ни наблюдать, ни зарегистрировать невозможно. Нельзя зарегистрировать даже события появления мутантов, т.е. клеток с фенотипическим проявлением мутаций. Технически возможно наблюдать лишь появление

клонов мутантных клеток, и то лишь на специальных селективных средах. Для формирования регистрируемых мутантных клонов требуются значительные интервалы времени, что очень мешает судить о том, когда же появилась мутантная клетка, положившая начало тому или другому мутантному клону. Поэтому, пользуясь стандартной техникой определения частот мутирования /11,12/, удается регистрировать лишь мутантные клоны, формирующиеся из мутантов, возникающих на всем протяжении культивирования изучаемых микроорганизмов, от посева их на питательную среду до перехода в глубокую стационарную фазу. Очевидно, что это позволяет судить лишь об усредненной частоте мутирования за весь этот промежуток времени, в течение которого условия культивирования, и прежде всего состав питательной среды могут изменяться весьма существенно.

Чтобы попытаться ответить на вопрос, поставленный в начале этой работы, требовалось располагать методикой, позволяющей судить о частоте появления если не мутаций, то хотя бы мутантов в течение интервалов времени, сопоставимых с отдельными фазами клеточного цикла и уж, конечно, с отдельными фазами роста культуры. Для дрожжевых организмов такие временные интервалы показаны на рис. I. Располагая подобной

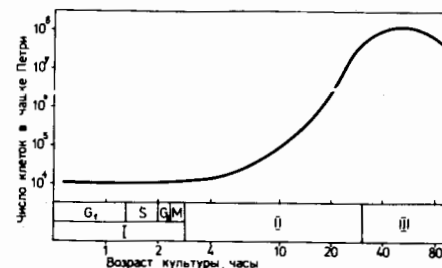


Рис. I. Схема кривой роста дрожжевых клеток в питательной среде. Логарифмический масштаб. Фазы клеточного цикла: G₁, S, G₂ и M. Фазы роста культуры: I - лаг-фаза, II - логарифмическая фаза, III - стационарная фаза, переходящая в фазу отмирания.

методикой, можно было бы оценивать частоты мутирования R за отрезки времени $\tau = t_2 - t_1$, пользуясь простым соотношением $R = (M_2 - M_1) / (N_2 - N_1)$, где в числителе стоит прирост, за интервал времени, числа мутантов, а в знаменателе - прирост числа клеток в культуре. Отметим, что эта формула предполагает оценку частоты мутирования при нормировке числа мутантов на клетку на деление.

2. Специальные методические разработки

Разработанные нами методики /13,14/ представляют собой комбинацию техники упорядоченного посева /15/ на ядерные фильтры с последующим перенесением этих фильтров вместе с колониями дрожжей на селективную среду.

Упорядоченный посев, производимый специальными металлическими инокуляторами, позволяет наносить на поверхность ядерного фильтра, покрывающего агаризованную питательную среду в чашке Петри, I2I или 220 инокуляторов, содержащих, по желанию экспериментатора, от 1 до 10^6 клеток каждый. Культуры инкубируют требуемое время при нужной температуре (обычно при 30°C), после чего фильтры вместе с выросшими на них колониями переносят в другие чашки, на селективную среду. На селективной среде исходные клетки, сразу или после одного - двух делений, прекращают размножаться, а мутантные клетки, если они имеются, со временем образуют видимые глазом колонии вторичного роста. Перенеся фильтры на селективную среду спустя t_1 и t_2 ч после посева клеток на ту или иную исходную среду и определяя соответствующие значения N_1 , N_2 , M_1 и M_2 , можно оценивать частоты возникновения мутантов за любые разумные интервалы времени на любой среде культивирования.

Но на селективной среде мутантные колонии, например колонии реверсов, появляются не одновременно, а довольно протяженно во времени¹⁴. На рис. 2 схематически изображена типичная кривая выявления реверсов на селективной среде. Кривая выявления реверсов имеет, как

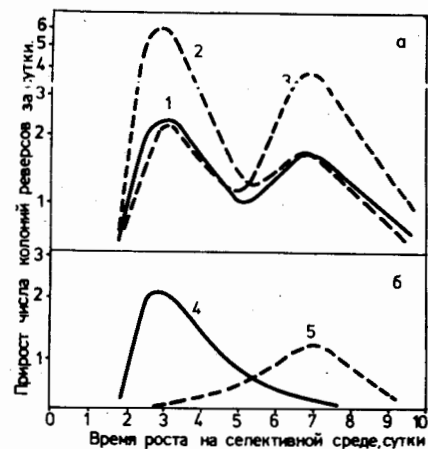


Рис. 2. Схема выявления реверсов при инкубации дрожжей на селективной среде. 1 - суммарная кривая; 2 - возрастание первой волны кривой в результате облучения исходной культуры за 24 ч до перенесения на селективную среду; 3 - возрастание второй волны кривой выявления в результате обогащения селективной среды лимитирующим метаболитом; 4 - кривая выявления "множественных" реверсов; 5 - кривая выявления "единичных реверсов".

правило, две волны. Тремя независимыми методами мы показали, что первая волна в основном соответствует мутантам, возникающим до перенесения культуры на селективную среду, а вторая - мутантам, возникающим после такого перенесения, в ходе "остаточного роста" исходной культуры. Действительно, облучение клеток гамма-лучами за 24 часа до перенесения на селективную среду повышает только первую волну, не влияя на

вторую. Добавление в селективную среду некоторого количества лимитирующего метаболита повышает только вторую волну, не влияя на первую. Наконец, свежеренесенные на селективную среду колонии, каждую в отдельности, можно растереть стеклянной палочкой, а затем регистрировать появление только "множественных" мутантов, которые возникли заведомо до перенесения культуры на селективную среду и только "единичных" мутантов, возникающих в основном в ходе остаточного роста (ж). Как показано на рис. 2, выявление множественных мутантов приходится на первую волну кривой "время-эффект", а выявление единичных мутантов - на вторую волну.

В нашей работе, как это принято в исследованиях по мутагенезу, использовались ауксотрофные по разным метаболитам штаммы дрожжей; в роли мутантов выступали реверсы по этим метаболитам. Как известно, реверсы - смешанная группа мутантов, состоящая из двух подгрупп: локусных реверсов, когда новая мутация возникает в исходном мутантном гене и супрессорных реверсов, образующихся в результате прямых мутаций в генах-супрессорах. Локусные реверсы отличаются от супрессорных по ряду признаков, в том числе по окраске колоний. Учитывая порознь локусные и супрессорные реверсы, мы могли оценить частоты мутирования генов, контролирующих разные метаболические системы клеток.

3. Возникновение мутантов в ходе клеточного цикла

Нормировка частоты мутирования на клетку на деление, о чем шла речь выше, основана на допущении, что мутации возникают во время удвоения ДНК клетки, а не в другие периоды клеточного цикла. Пользуясь описанной выше методикой, мы смогли проверить, сколь справедлива эта посылка по отношению к дрожжевым организмам.

Результаты типичного опыта приведены на рис. 3. Темными кружками здесь показано увеличение числа клеток в синхронно растущей культуре дрожжей; так как начало образования почки у дрожжевых клеток соответствует началу S-фазы клеточного цикла, здесь клетка с почкой считается за две клетки. Светлыми кружками показано содержание в этой же культуре числа мутантных клеток. Видно, что увеличение числа мутантов не только следует увеличению числа клеток в культуре, но приурочено в S-фазе клеточного цикла. Значит, у дрожжевых организмов спонтанные мутанты возникают во время репликации ДНК.

(ж) "Множественными" мы называем мутанты, когда на поверхности одной растертой колонии вырастают две и более колоний мутантов, образующихся из содержавшегося в такой колонии микроклона мутантных клеток; "единичными" - когда вырастает одна мутантная колония.

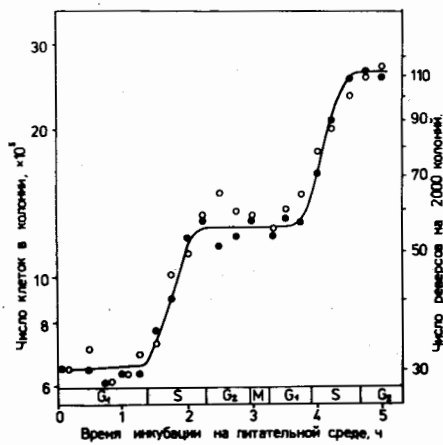


Рис. 3. Зависимость частоты возникновения мутантов от фазы клеточного цикла. Штамм NA3-24 (a leu2-1 lys1-1 RAD), полноценная среда. Темные кружки - число клеток в синхронизированной культуре дрожжей (почки считаются за отдельные клетки); светлые кружки - число реверсов по лейцину, оодержавшихся в культуре в данный момент времени (нормировано на 2000 колоний).

Приуроченность возникновения мутантов к делению ядра клетки означает, что нормировка числа мутантов на клетку на деление, в целях оценки частоты мутирования, вполне корректна. Эту меру частоты мутирования генов мы и будем использовать в дальнейшем.

4. Частота мутирования и продолжительность роста культуры

Посмотрим теперь, зависит ли частота спонтанного мутирования генов от продолжительности роста культуры.

На рис. 4 а приведен отрезок кривой, соответствующий логарифмической фазе роста дрожжей, ауксотрофных по лейцину и лизину, на полноценной среде. Стрелками показаны сроки, когда образцы культуры переносили на селективную среду для определения числа реверсов. На рис. 4 б показаны частоты возникновения локусных и супрессорных реверсов на эти отрезки времени. Видно, что на всем протяжении логарифмической фазы роста культур значения этих частот остаются практически постоянными. Это справедливо и для гена *leu2* и для генов, мутация которых обуславливает появление супрессорных реверсов. Хотя абсолютные значения частот мутирования для этих генов различны, на протяжении логарифмической фазы роста они остаются одними и теми же. Не изменяется, соответственно, и суммарная частота возникновения реверсов.

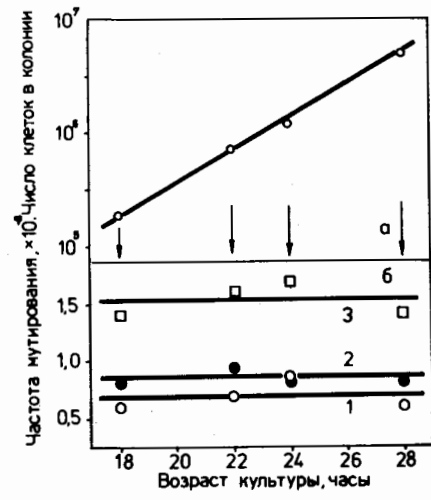


Рис. 4. Зависимость частоты возникновения мутаций от возраста культуры, находящейся в логарифмической фазе роста. Штамм NA3-24 (a leu2-1 lys1-1 RAD), полноценная среда. а - кривая роста дрожжей; б - частоты возникновения локусных (1) и супрессорных (2) реверсов по потребности в лейцине и их сумма (3).

5. Частота мутирования генов и состав питательной среды

Обратимся теперь к результатам опытов, в которых клетки ауксотрофные по тому или иному метаболиту, культивировали на средах с разным содержанием этого метаболита.

На рис. 5 приведены кривые, описывающие зависимость усредненных (от ранней логарифмической до стационарной фазы роста) значений час-

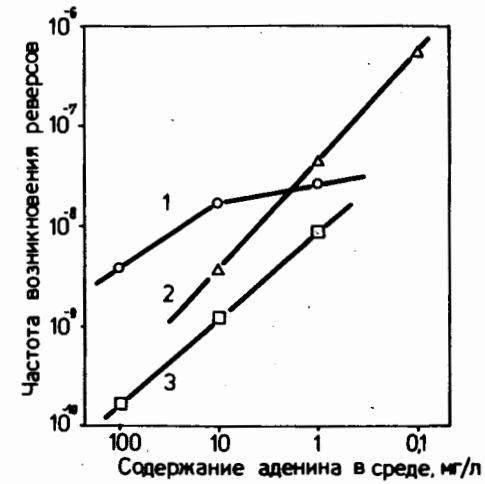


Рис. 5. Зависимость частоты возникновения реверсов у ауксотрофных по аденину дрожжей от содержания аденина в среде. Усредненные частоты по всему периоду культивирования. Использованы штаммы: 1 - 8ПГ (a ade2-192 rad3), 2 - p192 (a ade2-192), 3 - 769-p192-15В-4 (a ade2-192 lys5-3)

тот возникновения реверсов у ауксотрофных по аденину дрожжей разных штаммов от содержания аденина в питательной среде /16-18/. Мы видим, что с уменьшением содержания аденина в среде частота возникновения реверсов возрастает. Мы видим также, что у разных штаммов этот феномен проявляется по-разному. На рис. 6 на примере одного из штаммов показано, что увеличение частоты мутирования при уменьшении содержания аденина в среде значительно ярче выражено для локусных реверсов, чем для реверсов супрессорной группы /18/. На рис. 7 показано, что закономерность эта присуща и дрожжам, ауксотрофным по лейцину и лизину.

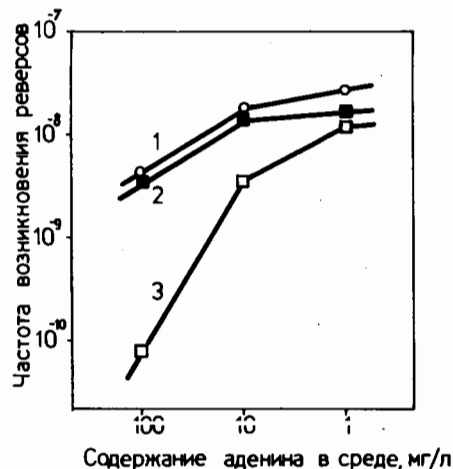


Рис. 6. Зависимость частоты возникновения реверсов разных типов от содержания аденина в среде. Штамм 769-p192-15B-П4. 1 - суммарная частота ревертирования; 2 - супрессорные реверсы; 3 - локусные реверсы.

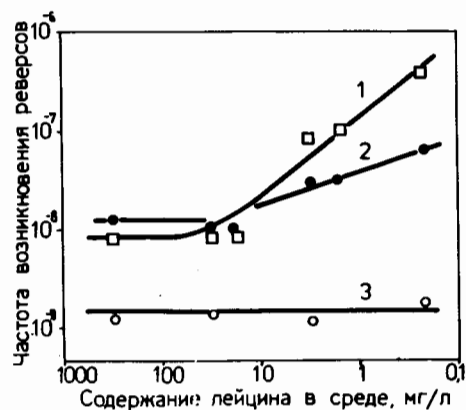


Рис. 7. Зависимость частоты возникновения реверсов разных типов от содержания лейцина в среде. Штамм NA3-24. 1 - локусные реверсы по гену *leu2*, 2 - супрессорные реверсы, 3 - локусные реверсы по гену *lys1*.

При уменьшении содержания в среде лейцина частота возникновения локусных реверсов увеличивается заметно быстрее, чем частота возникновения супрессорных реверсов. Характерно, что лимит по лейцину у тех

же самых клеток практически не влияет на частоту возникновения локусных реверсов по потребности в лизине (мутация в гене *lys1*).

Результаты, представленные на рис. 5 - 7, примечательны в трех отношениях. Во-первых, они показывают, что состав питательной среды может существенно влиять на частоту возникновения мутантов: при уменьшении содержания в среде лимитирующего метаболита в сто раз частоты мутирования некоторых генов могут увеличиваться на один - два порядка. Во-вторых, данные показывают, что мутагенный эффект условий культивирования может быть по-разному выражен для разных штаммов. В-третьих, у клеток одного и того же штамма этот эффект может по-разному проявляться у разных генов. Последний феномен рассмотрим более внимательно на примере дрожжей, ауксотрофных по аденину.

6. Влияние условий культивирования на частоту возникновения локусных и супрессорных реверсов

Мы видели, что на всем протяжении логарифмической фазы роста культуры частота спонтанного возникновения реверсов остается практически постоянной (рис. 4). В то же время при уменьшении содержания в среде незаменимого метаболита частота мутирования генов заметно возрастает (рис. 5), что особенно ярко выражено для мутаций локусного типа (рис. 6 и 7). Нет ли здесь противоречия? Ведь по мере приближения культуры к стационарной фазе роста содержание в среде незаменимых метаболитов тоже уменьшается и это, казалось бы, должно повлиять на мутационный процесс.

В действительности так и происходит. В этом можно убедиться, если регистрировать частоту мутирования не только на протяжении логарифмической фазы роста, когда скорость размножения клеток остается постоянной, но и при переходе к стационарной фазе, когда начинает оказываться лимит по контролируемому метаболиту и скорость размножения клеток уменьшается.

В одной из серий опытов клетки, ауксотрофные по аденину, выращивали на средах, содержащих 1, 10 и 100 мг/л этого метаболита. Объемы сред, заливаемых в чашки Петри, были подобраны так, чтобы кривые роста были по возможности близки друг к другу (рис. 8). Через 30 и 96 ч, что соответствовало логарифмической и стационарной фазам роста, колонии, растущие на фильтрах, переносили в новые чашки Петри на селективную среду, лишенную аденина. Тотчас же каждую колонию растирали стеклянной палочкой. Затем в течение 10 суток регистрировали проявление колоний реверсов локусного и супрессорного типов, причем порознь учитывали реверсы, возникающие до перенесения культур на селективную среду ("множественные" реверсы) и реверсы, возникающие уже на селек-

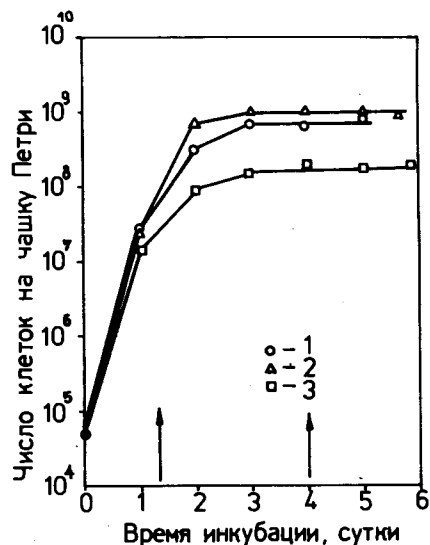


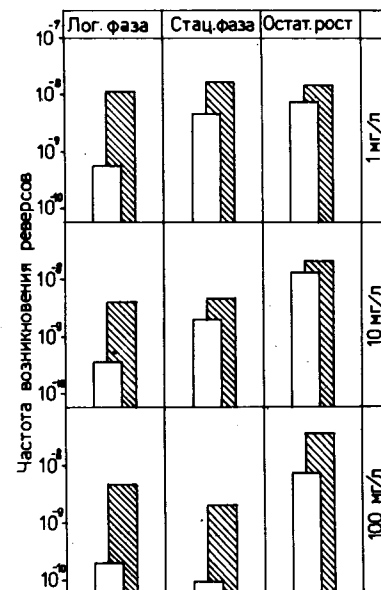
Рис. 8. Кривые роста ауксотрофных по аденину дрожжей (штамм r192) на средах с разным исходным содержанием аденина. 1 - 100 мг/л аденина, 6 мл среды на чашку Петри; 2 - 10 мг/л аденина, 15 мл среды; 3 - 1 мг/л аденина, 30 мл среды. Стрелками показаны сроки перенесения культур на селективную среду.

тивной среде за счет остаточного роста ("единичные реверсы"). Параллельно определяли число клеток на чашку Петри как к моменту перенесения культур на селективную среду, так и после завершения остаточного роста. Частоту мутаций рассчитывали на клетку на деление.

Значения частот возникновения локусных и супрессорных реверсов, вычисленные по данным этих экспериментов, приведены на рис. 9. Левая колонка здесь соответствует 30-часовому культивированию клеток на средах, содержащих разное количество аденина, средняя - 96-часовому культивированию, а правая - остаточному росту клеток, перенесенных на селективную среду после 30-часового культивирования на разных средах.

Как показано на рис. 9, в логарифмической фазе роста (30 ч.) частоты возникновения локусных и супрессорных реверсов различаются более чем на порядок, но значения этих частот близки при всех трех уровнях содержания аденина в среде: частоты появления локусных реверсов равны примерно 10^{-10} , а супрессорных - $10^{-9} - 10^{-8}$ на клетку на деление. Это хорошо согласуется с тем, что в логарифмической фазе роста при всех использованных условиях культивирования (разное содержание аденина и разные объемы сред) клетки размножались примерно с одинаковыми скоростями (рис. 8), т.е. лимит по аденину еще не наблюдается ни в одном из вариантов опыта.

По мере приближения культур к стационарной фазе роста (96 ч.) картина изменяется: хотя частота возникновения супрессорных реверсов во всех трех группах остается примерно такой же, как и раньше (по-



Зависимость частоты возникновения локусных (□) и супрессорных (▨) реверсов от условий культивирования.

Рис. 9. Зависимость частоты возникновения локусных (светлые столбики) и супрессорных (темные столбики) реверсов от условий культивирования. Штамм r192. Пояснения в тексте.

рядка $10^{-9} - 10^{-8}$), частота возникновения локусных реверсов сохраняет исходное значение лишь в группе "100 мг/л аденина", где этот метаболит не является лимитирующим фактором. В группе "10 мг/л аденина" частота возникновения локусных реверсов увеличивается в 5,4 раза, а в группе "1 мг/л аденина" - почти в 10 раз. Это и естественно: в двух последних группах, особенно в группе "1 мг/л", аденин служит лимитиру-

ющим рост фактором, что и проявляется при завершении логарифмической фазы роста и переходе к стационарной.

Когда же колонии с исходных сред переносят на селективную, полностью лишённую аденина, и клетки, находясь на этой среде, делятся еще один - два раза, различия во влиянии исходных сред на мутагенез практически исчезают: во всех трех вариантах опыта частоты возникновения локусных и супрессорных реверсов практически сравниваются (в среднем $0,9 \cdot 10^{-8}$ и $2,2 \cdot 10^{-8}$ соответственно). Единственного деления достаточно, чтобы клетки полностью "забыли" свою предисторию.

И, наконец, еще одна закономерность, уже знакомая нам по предыдущему материалу (рис. 7 и 8). Изменения содержания аденина в среде значительно сильнее влияют на частоту возникновения локусных реверсов, чем супрессорных. Крайние значения частот возникновения локусных реверсов различаются в 100 - 150 раз ($8,8 \cdot 10^{-10}$ и $1,3 \cdot 10^{-8}$). Различия же в частотах образования супрессорных реверсов значительно меньше (от $0,2 \cdot 10^{-8}$ до $3,5 \cdot 10^{-8}$) и зачастую имеют случайный характер.

7. Некоторые общие выводы

Приведенные выше материалы позволяют следующим образом ответить на вопрос, поставленный в начале этой работы: Условия культивирования могут существенно влиять на частоту мутирования генов.

Мы видели, что у дрожжевых организмов различное содержание в среде лимитирующих рост метаболитов (в наших опытах – аденина или лейцина) может существенно влиять на частоту мутирования генов как в логарифмической фазе роста (рис. 7), так и при приближении к стационарной фазе (рис. 9). При этом одинаковые изменения условий культивирования могут по-разному сказываться на частоте мутирования разных генов. Так, обеднение среды по аденину или лейцину, особенно при резком уменьшении их содержания по сравнению с оптимальным, может приводить к многократному возрастанию частот мутирования генов, связанных с синтезом этих метаболитов (в нашем случае – генов *ade1* и *leu2*), мало или вовсе не влияя на частоты мутирования других генов (генов-супрессоров или гена *lys1*).

Естественно предположить, что функциональная активность генов, контролирующих синтез аденина или лейцина, с одной стороны, и генов-супрессоров – другой, должны по-разному зависеть от содержания в среде таких специфических метаболитов, как аденин или лейцин. Так, при наличии аденина (или лейцина) гены, контролируемые его синтез, могут переходить в неактивное состояние и будут дерепрессироваться лишь при исчерпании или отсутствии этого метаболита, а гены-супрессоры, скорее всего связанные с синтезом РНК, могут "активно работать" вне зависимости от его содержания в среде. Если принять эти допущения, то полученные нами результаты можно объяснить тем, что частоты спонтанного мутирования генов тем выше, чем большую "функциональную нагрузку" эти гены испытывают.

Вряд ли гены, контролирующие синтез аденина или лейцина, являются исключением из общего правила. Скорее всего все гены, активно участвующие в синтезе какого-либо метаболита или вообще "активно работающие", могут мутировать в десятки и сотни раз чаще, чем эти же гены в пассивном, репрессированном состоянии. Тогда частоты мутирования разных генов, или "мутационные спектры" клеток, должны отражать функциональное состояние генома при данных условиях среды. Можно думать, что этот феномен (если он действительно имеет место) играет существенную роль в генетической изменчивости клеток при изменяющихся условиях их обитания. Заметим, что такое предположение было высказано Р.Германом и Н.Дворкин¹⁹ около двадцати лет назад, но до сих пор не получило экспериментального подтверждения.

И, наконец, последнее замечание. Частоту спонтанного мутирования клеток обычно характеризуют одной единственной величиной, вне зависимости от условий их культивирования. Сказанное выше означает, что спонтанную мутабельность клеток следует задавать не одним числом, а распределением этой величины по пространству режимов, причем для разных генов такие распределения могут перекрываться, а не совпадать¹⁸.

Литература

1. Timofeeff-Ressovsky N.W., Zimmer K.G., Delbrück M. Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen (Math.-Physik. Kl., Fachgr. VI, Biol.), N.F., 1935, Bd. 1, No 13, s. 189-245.
2. Лобашев М.Е. Физиологическая (паранекротическая) гипотеза мутационного процесса. Вестн. Ленинград. ун-та, 1947, № 8, с.10-29.
3. Novick A., Szilard L. Experiments with the chemostat on spontaneous mutations of bacteria. Proc. Nat. Acad. Sci. 36 (1950), 708-719.
4. Novick A., Szilard L. Experiments on spontaneous and chemically induced mutations of bacteria growing in the chemostat. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 16 (1951), 331-343.
5. Бреслер С.Е. О происхождении спонтанных мутаций. В кн.: Проблемы новейшей истории эволюционного учения. Л., Наука, 1981, с.27-37.
6. Bresler S.E., Mosevitsky M.I., Vyacheslavov L.G. Mutations as possible replication errors in bacteria growing under conditions of thymine deficiency. Mutation Res. 19 (1973)281-293.
7. Barclay B.J., Kunz B.A., Little J.G., Haynes R.H. Genetic and biochemical consequences of thymidylate stress. Can. J. Biochem. 60 (1982) 172-194.
8. Kunz B.A. Genetic effects of deoxyribonucleotide pool imbalances. Environmental Mutagenesis 4 (1982) 695-725.
9. Genetic consequences of nucleotide pool imbalance. (Ed. F.J. de Serres), Plenum, New York, 1985.
10. Фрадкин Г.Е. Жизнеспособность, радиочувствительность, мутабельность клеток и метаболическая нестабильность ДНК. М.: Энергоатомиздат, 1983, 232 с.
11. Браун В. Генетика бактерий. М.: Наука, 1968, с.100.
12. Захаров И.А., Кожин С.А., Кожина Т.Н., Федорова И.В. Сборник методов по генетике дрожжей сахаромыцетов. Л., Наука, 1984.

13. Ильина В.Л., Корогодин В.И. Доказательство реальности увеличения частоты возникновения реверсов у гаплоидных дрожжей при уменьшении содержания аденина в среде. Генетика, 1987, т.23, № 4, с.630.
14. Чепурной А.И., Михова-Ценова Н. Закономерности выявления мутантов на селективных средах. Препринт ОИЯИ, Р19-87-563, Дубна, 1987.
15. Хромов-Борисов Н.Н. Метод упорядоченного посева для исследования мутационного процесса у микроорганизмов. В кн.: Конференция по генетике промышленных микроорганизмов, Цахкадзор. Тез. докл. М., Наука, 1973, с.35.
16. Ильина В.Л., Корогодин В.И., Файси Ч. Влияние содержания аденина в питательной среде на частоту возникновения реверсов у гаплоидных дрожжей. Генетика, 1985, т.21, № 10, с.1643.
17. Ilyina V.L., Korogodin V.I., Fajsi Cs. Dependence of spontaneous reversion frequencies in haploid yeasts of different genotypes on the concentration of adenine in the medium and on the age of culture. Mutation Res. 174 (1986) 189-194.
18. Ильина В.Л., Корогодин В.И., Файси Ч. Зависимость частоты образования реверсов разных типов у ауксотрофных по аденину дрожжей от содержания аденина в среде. Генетика, 1987, т.23, № 4, с.637.
19. Herman R.K., Dworkin N.B. Effect of gene induction on the rate of mutagenesis by ICR-191 in Escherichia coli. J.Bacteriol. 106, No 2 (1971) 543-550.

Рукопись поступила в издательский отдел
19 мая 1988 года.

Корогодин В.И. и др.
Спонтанный мутагенез и условия культивирования клеток

P19-88-351

Исследовался вопрос: зависит ли частота спонтанного мутирования клеток от условий их культивирования? На синхронной культуре показано, что мутации происходят в S-фазе клеточного цикла. Было показано, что при культивировании дрожжей на селективной среде мутантные клоны появляются в двух волнах: первая соответствует предсуществовавшим мутантам, а вторая - возникающим в ходе "остаточного роста". Частота мутаций постоянна, по крайней мере в логарифмической фазе роста культуры. Реверсии к прототрофности происходят с разной скоростью на разных средах. С уменьшением концентрации необходимого метаболита /аденина или лейцина/ в питательной среде частота реверсии по соответствующему гену возрастает. Это изменение более выражено для локусных реверсий, чем для супрессорных.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1988

Перевод авторов

Korogodin V.I. et al.
Spontaneous Mutagenesis and Cell Cultivation Conditions

P19-88-351

It has been investigated, whether spontaneous mutation frequency depends on the cultivation conditions. On synchronous cultures it was shown that mutations occur at the S-phase of the cell cycle. Mutant clones of yeast appear on selective medium in two waves: the first wave corresponds to the pre-existing mutants, whereas the second to those occurring during "residual growth". The mutation frequency is constant, at least during the logarithmic growth phase of the culture. Reversions to prototrophy occur with different rates on different media. With a decrease of the concentration of the necessary metabolite (adenine or leucine) in the medium, the frequency of reversion of the corresponding gene increases. This dependence is more pronounced for locus revertants than for suppressors.

The investigation has been performed at the Laboratory of Nuclear Problems, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1988