

95-485



СООБЩЕНИЯ
ОБЪЕДИНЕННОГО
ИНСТИТУТА
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ

Дубна

P19-95-485

С.В.Аксенов, Е.А.Красавин

МОДЕЛЬ SOS-ОТВЕТА БАКТЕРИЙ
ESCHERICHIA COLI ПРИ УФ-ОБЛУЧЕНИИ

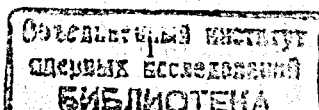
1. Закономерности SOS-ответа

1995

1. ВВЕДЕНИЕ

Мутагенное действие излучений и ДНК-тропных химических агентов на бактерии *E.coli* связано с вовлечением в репарацию повреждённой ДНК особой клеточной системы пострадиационного восстановления. Этот путь восстановления ДНК, сопряжённый с возникновением мутаций, был назван SOS-репарацией. Открытая М.Радманом в 1971 году SOS-система играет ключевую роль в репарационном мутагенезе у клеток *E.coli*. В результате исследований, проведённых в последние два десятилетия, было установлено, что SOS-система включает в себя более 17 структурных и регуляторных генов. Центральная роль в работе SOS-системы принадлежит продуктам генов *recA* и *lexA* - белкам RecA и LexA. Было выяснено, что белок LexA является репрессором генов, составляющих SOS-систему, а белок RecA в условиях повреждения ДНК инактивирует репрессор LexA. Следует заметить, что взаимодействие генов *recA* и *lexA* имеет отчётливо выраженный кибернетический характер. Это обстоятельство позволяет разработать математическую модель, описывающую основные принципы работы SOS-системы.

Особенности SOS-ответа клеток *E.coli* наиболее подробно изучены при ультрафиолетовом (УФ) облучении: выяснены закономерности образования мутаций, идентифицированы структурные и регуляторные гены, продукты которых вовлечены в мутационный процесс, исследована кинетика экспрессии ключевых генов, участвующих в SOS-ответе. Однако требуют выяснения такие элементы SOS-ответа, как биохимическая природа SOS-сигнала, запускающего работу SOS-системы, и последовательность событий SOS-репарации. С учетом изложенного целью настоящей работы является формулирование обобщённой модели регуляции SOS-системы бактерий *E.coli* при УФ-облучении, которая включает в себя ка-



чественное описание всех стадий работы SOS-системы - от событий, обуславливающих её запуск, и до полного прекращения её функционирования. Прежде чем приступить к изложению модели, рассмотрим основные закономерности SOS-ответа.

2. ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ SOS-ОТВЕТА

Впервые существование группы генов, названной SOS-системой по причине её активного функционирования лишь в условиях, ставящих под угрозу выживание клетки (повреждение ДНК или остановка её репликации), было постулировано в работе [1]. Ранние исследования SOS-ответа, т.е. всей совокупности физиологических реакций клетки на повреждающее воздействие, и генетические свидетельства в пользу существования SOS-системы обобщены в обзоре [2].

Установлено, что ультрафиолетовое и ионизирующее излучения, а также различные химические агенты, такие, как, например, метилметансульфонат, афлатоксин, налидиксовая кислота, митомин С, вызывают повреждение структуры ДНК и приводят к формированию мутаций. Значительное количество исследований, касающихся выяснения закономерностей запуска и регуляции работы SOS-системы, индукции мутаций, были проведены с использованием УФ-излучения. В данной работе мы также сосредоточимся на рассмотрении облучения УФ-светом как повреждающего воздействия, запускающего SOS-систему.

Известно, что молекула ДНК наиболее эффективно поглощает свет с длиной волны в диапазоне от 240 до 300 нм, что соответствует области длин волн, занимаемой УФ-излучением. В результате поглощения энергии квантов света пиримидиновые и пуриновые основания, входящие в состав молекулы ДНК, переходят в возбуждённое энергетическое состояние.

Вследствие этого облегчается протекание различных фотохимических реакций в месте поглощения энергии. Среди образующихся фотопродуктов наибольшая доля принадлежит пиримидиновым фотодимерам [3]. Наряду с этим образуются (примерно в десять раз меньше) соединения, называемые (6-4)-фотопродуктами. Биологически значимыми являются, однако, пиримидиновые димеры [2].

Предположение о существовании SOS-системы (SOS-гипотеза) в своих ранних формулировках [1,2] включало в себя утверждение о том, что деятельность SOS-системы, имеющая различные фенотипические проявления физиологических реакций (SOS-функции), регулируется продуктами генов *recA* и *lexA*. Основные SOS-функции включают в себя индукцию профага λ , задержку клеточного деления (образование филаментов), W-реактивацию и W-мутagenез (мутagenная репарация облучённого фага в клетке-хозяине, облучённой перед инфицированием), увеличение частоты мутирования бактерий [2]. Ранние представления о работе SOS-системы описывали индукцию и развитие SOS-ответа в виде следующей цепочки событий [4]. Действие на клетки *E.coli* дикого типа налидиксовой кислотой, облучение их УФ-светом или выращивание на средах с недостатком тимина (тиминное голодание) приводят к остановке репликации ДНК. Следующим шагом является инактивация антирепрессором нескольких репрессоров бактериальных генов, кодирующих белки, ответственные за реализацию SOS-функций. Вследствие дерепрессии этих генов наблюдается SOS-ответ. При этом утверждалась зависимость SOS-ответа от *recA*⁺-*lexA*⁺-генотипа, однако продуктам генов *recA* и *lexA* не приписывалось никаких определённых функций.

В то же время интенсивные генетические исследования, предпринятые с целью выяснения роли генов *recA* и *lexA* в регуляции работы SOS-системы, привели к изоляции нескольких важных мутаций генов *recA* и

lexA. Эти мутации так или иначе изменяют работу SOS-системы по сравнению с *recA⁺-lexA⁺*-фенотипом [5]: *lexA(Ind⁻)*, *lexA(Ts)*, *lexA(Def)*, *recA(Def)*, *recA441*, *recA730* и некоторые другие. Наличие мутантных аллелей *lexA(Def)* и *recA(Def)* приводит к синтезу белков LexA и RecA, не способных выполнять свои регулирующие функции. Поэтому в клетках двойного мутанта *lexA(Def)recA(Def)* конститутивно, т.е. в отсутствие повреждения ДНК, наблюдали выражение одной из SOS-функций - интенсивного синтеза RecA-белка. С другой стороны, выражение этой SOS-функции блокируется мутациями *lexA(Ind⁻)* (не способный к расщеплению LexA-белок) и *recA(Def)*. В клетках, несущих мутантные аллели *lexA(Ts)* (LexA-белок, не способный служить репрессором при 42°C), *recA441* (RecA-белок, приобретающий протеолитическую конформацию при 42°C) или *lexA(Ts)recA(Def)*, при культивировании в условиях повышенной до 42°C температуры наблюдался интенсивный синтез RecA-белка. Эти и некоторые другие данные свидетельствуют о том, что LexA-белок является репрессором гена *recA* и RecA-белок необходим для инактивации LexA-репрессора. В биохимических экспериментах было убедительно показано, что LexA-белок является прямым репрессором генов *recA* и *lexA* [6,7]. Было также получено доказательство расщепления LexA-белка активированным RecA-белком (RecA*) [8]. Таким образом, были установлены основные элементы схемы регуляции работы SOS-системы: репрессия LexA-белком генов *recA* и *lexA* и инактивация репрессора RecA*-белком.

В настоящее время считается, что в состав SOS-системы входят более 17 генов, расположенных в различных участках бактериальной хромосомы: *recA*, *lexA*, *sfiA*, *umuDC*, *uvrA*, *uvrB*, *uvrC*, *uvrD*, *ssb*, *ruv*, *himA* и др. [5,9]. LexA-белок является репрессором всех SOS-генов, в том числе и собственного гена *lexA*. При повреждении ДНК в клетке появляется SOS-

сигнал, при взаимодействии с которым RecA-белок приобретает активную конформацию. Активный RecA*-белок ускоряет реакцию спонтанного расщепления связи -ala-gly- LexA-белка [10], инактивируя тем самым функцию репрессора последнего. Количество молекул репрессора в клетке уменьшается, происходит активная транскрипция различных SOS-генов и интенсивный синтез соответствующих белков, что приводит к выражению SOS-функций. По мере того, как клетка восстанавливается от полученных повреждений, количество SOS-сигнала в ней убывает, RecA-белок теряет активную конформацию и LexA-репрессор накапливается в значительных количествах. Степень подавления активности SOS-генов увеличивается и, наконец, SOS-система "выключается".

Одной из важнейших для судьбы подвергнутой воздействию УФ-излучения бактериальной клетки SOS-функций является повышение частоты мутирования [2,5,9]. Повышение уровня бактериального мутагенеза и связанные с этим явления W-реактивации и W-мутагенеза (увеличение выживаемости и мутагенез облучённого фага λ , инфицирующего облучённую клетку-хозяина) побуждали предположить существование особой клеточной системы, взаимодействие которой с поврежденной ДНК приводило бы к закреплению мутаций. Отсутствие явлений W-реактивации и W-мутагенеза у мутантов *recA(Def)* или *lexA(Ind⁻)* [1] привело к формулированию концепции SOS-репарации. Под нею понимается особый мутагенный путь репарации повреждённой ДНК, находящийся под контролем генов *recA* и *lexA* и на этом основании являющийся SOS-функцией, выражаемой одновременно с другими SOS-функциями в ходе SOS-ответа [2]. Протекание SOS-репарации требует функционирования по крайней мере трёх SOS-генов: *recA*, *umuD* и *umuC* [9]. Мутации в этих генах блокируют мутационный процесс при УФ-облучении клеток.

RecA-белок, как оказалось, осуществляет в ходе SOS-репарации по крайней мере еще две функции, помимо расщепления LexA-репрессора [5,11]. Поскольку было показано [12], что RecA-белок не производит расщепления какого-либо другого репрессора, нежели LexA, то можно предположить наличие у него следующих функций:

- протеолитическое расщепление какого-либо белка, который принимает вследствие этого участие в биохимических процессах закрепления мутаций;
- механическое участие самого RecA-белка в процессе мутирования хромосомы.

Перечисленные функции требуют обладания RecA-белком активной конформацией [12,13]. Действительно, в двойных мутантах *recA441lexA(Def)*, выращиваемых при 42°C, наблюдали повышение частоты мутирования, обусловленное протеканием SOS-репарации, по сравнению с клетками линии *recA⁺lexA(Def)* [12].

Были проведены эксперименты [14-16], убедительно свидетельствующие о реализации первой из предположенных дополнительных функций RecA-белка в SOS-мутации. Опыты [16] показали, что в SOS-индуцированных клетках имеет место протеолитическое расщепление UmuD-белка. По полученным данным молекулярный вес молекулы UmuD составляет примерно 17000 дальтон, а вес продукта реакции расщепления - 14000 дальтон. В клетках, содержащих аллель *lexA(Def)*, до действия УФ-излучения наблюдали присутствие только белка весом 17000 дальтон, а после действия - также и белка весом 14000 дальтон. Кроме того, в клетках двойного мутанта *recA730lexA(Def)* (RecA-белок очень легко приобретает активную конформацию) в отсутствие УФ-облучения наблюдали оба белка весом 17000 и 14000 дальтон, а в клетках линии *recA⁺lexA(Def)*

- только белок весом 17000 дальтон, т.е. исходный UmuD-белок. Все эти наблюдения свидетельствуют о том, что RecA⁺-белок осуществляет протеолитическое расщепление UmuD-белка и это существенно для нормального протекания SOS-репарации. В дальнейших опытах [15] было показано, что для мутирования SOS-индуцированных клеток необходимо и достаточно присутствие лишь продукта реакции расщепления весом 14000 дальтон, содержащего COOH-конец исходного полипептида UmuD. Однако точная биохимическая роль белков UmuD и UmuC в процессе SOS-мутации не выяснена.

По всей видимости, RecA-белок играет еще и третью роль в мутационной SOS-репарации [11,15], поскольку введение в клетки линии *lexA71::Tn5(Def)ΔrecA* плазмиды, имеющей ген, кодирующий необходимый фактор мутации - фрагмент UmuD-белка, содержащий COOH-конец полипептида UmuD, не изменяет исходной немутабельности этой линии. Вполне возможно, что эта третья роль RecA-белка сводится к его механическому участию в процессах мутации, что будет более подробно обсуждаться ниже. Таким образом, SOS-репарация включает в себя

- деятельность RecA-белка как антирепрессора, инактивирующего LexA-репрессор и запускающего тем самым работу SOS-системы;
- активацию RecA⁺-белком UmuD-белка для его роли в мутации;
- непосредственное участие RecA⁺-белка в мутации.

Опыты с геномом фага λ, реплицирующимся в УФ-облученной клетке *E.coli*, показали возможность осуществления SOS-мутации в ходе репликации ДНК [17]. Участие ДНК-полимеразы III (PoIII) в процессе закрепления мутаций установлено генетическими исследованиями. Вполне

логичным выглядит тогда предположение о торможении деятельности корректорской функции PolIII, в результате чего снижается точность синтеза ДНК и возникают мутации. В этом случае должна существовать мутация в гене *dnaE(polC)*, тормозящая деятельность той же самой функции PolIII, но в отсутствие работы SOS-системы. Такие мутанты должны быть гипермутабельными при воздействии УФ-излучения, и, что более важно, мутагенез должен быть независим от действия SOS-системы. И такие мутации действительно были обнаружены и картированы [17]. В биохимических экспериментах *in vitro* наблюдали ингибирование RecA-белком корректорской 3'→5'-экзонуклеазной активности ε-субъединицы голофермента PolIII [18]. При этом не происходит значительного влияния RecA на деятельность полимеризующей α-субъединицы, так что способность нитей ДНК к элонгации не нарушается. Таким образом, существенным этапом мутагенной SOS-репарации может быть снижение точности репликативного синтеза ДНК вследствие ингибирования RecA-белком корректорской функции PolIII, входящей в состав реплисома. Как будет обсуждаться ниже, такое снижение точности не распространяется на процесс репликации всей бактериальной хромосомы, а некоторым образом ограничивается участками ДНК, содержащими повреждения. Эти представления находятся в согласии с экспериментально подтвержденной концепцией "локально направленного мутагенеза" [5,19]. По этой концепции большая часть мутаций не является сайт-специфичной (т.е. мутации не вносятся непосредственно в места повреждений ДНК) или вообще случайно распределенной по всей хромосоме, а вносится в некоторой определенной близости от повреждения ДНК.

В течение долгого времени оставалась неизвестной биохимическая природа SOS-сигнала - события, приводящего к активации RecA-белка

вслед за повреждением ДНК. Опыты *in vitro* показали, что для реакции протеолитического расщепления репрессора фага λ RecA-белком необходимо присутствие одонитевой ДНК [20]. Для появления и развития SOS-сигнала в клетке *E.coli*, подвергнутой воздействию УФ-излучения, необходима репликация поврежденной ДНК [21]. Действительно, пиримидиновые димеры, представляющие собой основную часть повреждений ДНК при воздействии УФ-излучением, являют непреодолимое препятствие для движения репликативной вилки: полимеризация ДНК голоферментом PolIII прекращается за один нуклеотид до первого пиримидина, входящего в состав димера [22]. С другой стороны, в наново синтезированных дочерних нитях ДНК в клетках *E.coli uvrA6*, не способных к эксцизионной репарации пиримидиновых димеров, после завершения репликации в условиях облучения УФ-светом содержатся одонитевые дефекты - бреши [23]. Следовательно, можно представить себе, что реплисома при движении своем по хромосоме постоянно встречает димеры. Встретив димер, реплисома не может продвигаться дальше и распадается и реиницируется спустя некоторое время "ниже по течению", оставляя напротив димеров участки одонитевой ДНК - бреши. Одонитевая ДНК брешей, возможно, служит SOS-сигналом, взаимодействуя с которым RecA-белок приобретает активную конформацию [21]. Взаимосвязь между репликацией ДНК и появлением SOS-ответа в клетках *E.coli* исследовалась также в работе [24]. В термочувствительном мутанте *dnaB(Ts)*, имеющем дефект в функции элонгации нитей ДНК при нормальной температуре, наблюдали активную экспрессию *recA*-гена (одна из SOS-функций) лишь при повышении температуры культивирования до 42°C, тогда как в мутантах с дефектом инициации репликации *dnaA46* или *dnaC325* выражение этой SOS-функции

отсутствовало. Следовательно, именно движение репликативной вилки (элонгация нитей ДНК) контролирует SOS-ответ.

Можно отметить, что с изложенными выше представлениями согласуется явление стабильной репликации, т.е. репликации, продолжающейся в течение 3 и более клеточных поколений в отсутствие синтеза белка [25,26]: Стабильная репликация появляется в клетке в ответ на любое воздействие, которое приводит к уменьшению скорости нормальной репликации: тиминовое голодание, действие налидиксовой кислоты или УФ-излучением. Установлено, что стабильная репликация является $recA^+$ - $lexA^+$ -зависимой, т.е. одной из SOS-функций [12,25,26]. Стабильная репликация происходит только в присутствии активированного RecA-белка [12]; что может быть связано с вмешательством RecA*-белка в работу реплисомы. Действительно, поскольку пиримидиновые димеры блокируют продвижение репликативной вилки, в условиях проявления стабильной репликации репликативный комплекс должен быть каким-то образом изменён для того, чтобы постоянно возобновлять свою работу после распада на димере. Реплисома, модифицированная подобным образом, участвует и в мутационном процессе. Основанием тому служат опыты [26]: увеличение частоты мутирования не наблюдалось при действии известного мутагена метилметансульфоната в условиях, при которых стабильная репликация ДНК не протекала. В то же время стабильная репликация сама по себе не является достаточной для индукции мутаций; поскольку в отсутствие синтеза белка даже при стабильной репликации повышения уровня мутагенеза не наблюдалось.

Итак, существуют достаточно убедительные свидетельства того, что SOS-сигналом, активирующим RecA-белок для его функционирования в SOS-ответе, является одонитевая ДНК, которая накапливается в клетке, по крайней мере, при повреждении ДНК облучением УФ-светом, вследст-

вие "прерывистого" синтеза ДНК дочерних нитей, выражающегося в образовании брешей. Застройка брешей, возможно, представляет собой мутагенную SOS-репарацию, осуществляемую голоферментом PolIII, модифицированным RecA*-белком.

В следующем разделе на основе изложенных выше наблюдений мы сформулируем обобщённую модель регуляции работы SOS-системы у бактерий *E.coli*, описывающую последовательность стадий работы SOS-системы, включая действие такой важной SOS-функции, как мутагенная SOS-репарация.

3. МОДЕЛЬ РЕГУЛЯЦИИ SOS-СИСТЕМЫ

Как отмечалось, работа SOS-системы бактерий *E.coli* регулируется посредством взаимодействия продуктов основных генов системы $recA$ и $lexA$ - белков RecA и LexA соответственно (рис.1). Белок LexA является репрессором всех SOS-генов, в том числе и генов $lexA$ и $recA$. Это значит, что молекулы LexA-белка обратимо связываются с операторами SOS-генов (областями, регулирующими транскрипторную активность генов) и ограничивают процесс транскрипции. После повреждения ДНК в клетке появляется SOS-сигнал, после взаимодействия с которым молекулы RecA-белка приобретают активную конформацию (превращаются в RecA*-белок). RecA*-белок инактивирует LexA-репрессор, вследствие чего происходит активная транскрипция всех SOS-генов и синтез значительных количеств соответствующих белков.

Наряду с этим, RecA*-белок непосредственно участвует в мутагенной SOS-репарации. В ходе SOS-репарации убывает количество одонитевой ДНК, формирующей SOS-сигнал, уменьшается и количество RecA*-белка. В клетке накапливается LexA-репрессор, транскрипция SOS-генов

вновь ограничивается, меньше синтезируется SOS-белков, и SOS-система приходит в исходное "выключенное" состояние.

Известно, что пиримидиновые димеры, основной тип повреждения ДНК при действии УФ-излучения, представляют собой препятствие для продвижения репликативной вилки. Реплисома распадается в месте расположения димера и реиницируется дальше "ниже по течению" (рис.2). Таким образом, в ходе репликации поврежденной ДНК в клетке накапливаются участки одонитевой ДНК - бреши, которые и представляют собой SOS-сигнал. Такую репликацию поврежденной молекулы ДНК называют "прерывистой". RecA-белок вступает в реакцию с одонитевой ДНК брешей и превращается в RecA*-белок. Застройка брешей составляет содержание SOS-репарации и осуществляется ДНК-полимеразой III (PolIII), модифицированной RecA*-белком. У модифицированной ДНК-полимеразы подавляется корректорская функция её ε-субъединицы и точность синтеза ДНК в области застройки бреши уменьшается. Это приводит к возникно-

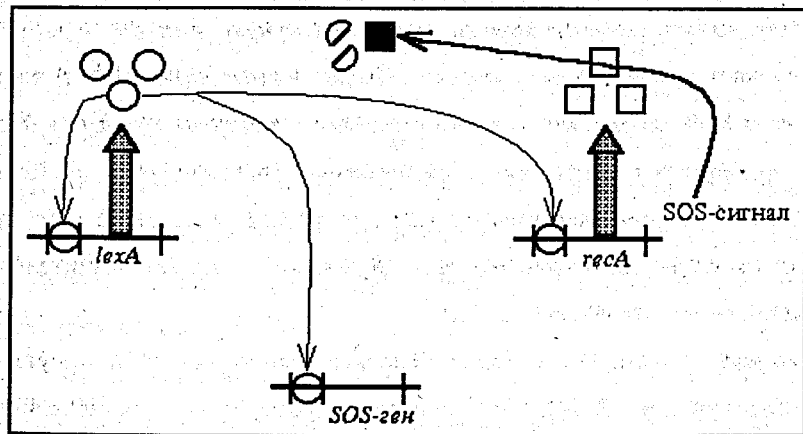


Рис. 1. Модель регуляции работы SOS-системы. Знаки O, □ и ■ представляют белки LexA, RecA и RecA*. LexA репрессирует SOS-гены. RecA* расщепляет LexA

вению мутаций в области ДНК, ограниченной репарационной активностью модифицированного голофермента PolIII (т.е. в области бреши).

Предлагаемая модель описывает, каким образом происходит регуляция работы SOS-системы и формирование SOS-ответа при действии УФ-излучения. В модели использованы описанные в литературе представления о характере взаимодействия белков RecA и LexA и предположения о роли репликации в формировании SOS-сигнала [5,9,21,27]. Мы полагаем, что ключевой составляющей SOS-сигнала является одонитевая ДНК бреши, а кинетика количества одонитевой ДНК определяется движением реплисомы (образование брешей) и мутагенной SOS-репарацией (застройка брешей). Согласно модели, вслед за повреждением ДНК в клетке увеличивается величина SOS-сигнала вследствие "прерывистой" репликации ДНК. Увеличение количества RecA*-белка и инактивация репрессора приводят к активной работе SOS-генов. Следствием этого является проявление различных SOS-функций, экспериментально регистрируемых как SOS-ответ.

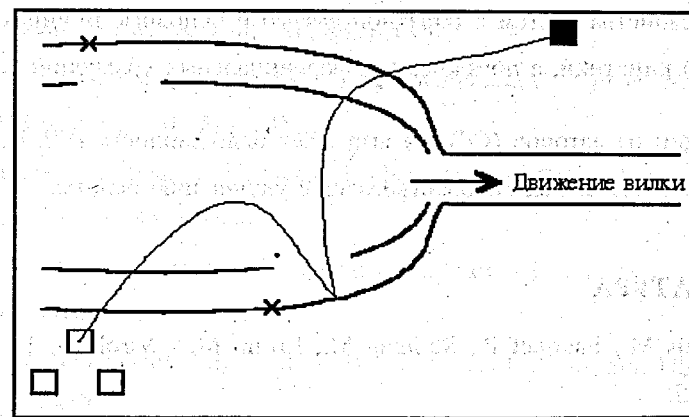


Рис. 2. Механизм активации RecA-белка после УФ-облучения. Знаки *, □ и ■ представляют димеры, RecA и RecA*. RecA активируется в реакции с одонитевой ДНК брешей. Бреши появляются в результате "прерывистой" репликации

В процессе мутагенной SOS-репарации уменьшается количество однонитевой ДНК в клетке, а, следовательно, и величина SOS-сигнала. Накапливающийся репрессор подавляет активность SOS-генов и спустя определённое время после облучения наблюдается прекращение SOS-ответа.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе проведён анализ экспериментальных фактов, касающихся закономерностей работы SOS-системы бактерий *E.coli* при УФ-облучении, на основании чего сформулирована обобщённая модель регуляции работы SOS-системы. Предлагаемая модель качественно описывает последовательность событий SOS-ответа клеток *E.coli* при УФ-облучении.

Рассмотренная выше структурная схема взаимодействия основных генов, контролирующих SOS-ответ, имеет отчётливо выраженный кибернетический характер с элементами отрицательной обратной связи. Это обстоятельство позволяет формализовать схему работы SOS-системы, используя свойства систем с обратной связью и основные принципы биохимической кинетики, с помощью дифференциальных уравнений.

Один из авторов (С.В.А.) выражает благодарность В.Л.Аксёнову за полезные обсуждения, способствовавшие улучшению работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Defais M., Fauquet P., Radman M., Errera M. - *Virology*, 1971, vol.43, p.495.
2. Witkin E.M. - *Bacteriol. Rev.*, 1976, vol.40, p.869.
3. Haseltine W.A. - *Cell*, 1983, vol.33, p.13.
4. Witkin E.M. - *Biochimie*, 1982, vol.64, p.549.

5. Walker G.C. - *Microbiol. Rev.*, 1984, vol.48, p.60.
6. Brent R., M. Ptashne. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, vol.78, p.4204.
7. Little J.W., Mount D.W., Yanisch-Perron C.R. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, vol.78, p.4199.
8. Little J.W., Edmiston S.H., Pacelli L.Z., Mount D.W. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980, vol.77, p.3225.
9. Walker G.C. - *Ann. Rev. Biochem.*, 1985, vol.54, p.425.
10. Little J.W. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, vol.81, p.1375.
11. Witkin E.M. - *Environ. and Mol. Mut.*, 1989, vol.14, suppl.16, p.30.
12. Witkin E.M., Kogoma T. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, vol.81, p.7539.
13. Ennis D.G., Fisher B., Edmiston S., Mount D.W. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985, vol.82, p.3325.
14. Burckhardt S.E., Woodgate R., Scheuermann R.H., Echols H. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, vol.85, p.1811.
15. Nohmi T., Battista J.R., Dodson L.A., Walker G.C. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, vol.85, p.1816.
16. Shinagawa H., Iwasaki H., Kato T., Nakata A. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, vol.85, p.1806.
17. Bourguignon-van Horen F., Brothorn A., Caillet-Fauquet P. et al. - *Biochimie*, 1982, vol.64, p.559.
18. Lu C., Scheuermann R.H., Echols H. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, vol.83, p.619.
19. Schaaper R.M., Glickman B.W. - *Mol. Gen Genet.*, 1982, vol.185, p.404.
20. Craig N.L., Roberts J.W. - *Nature*, 1980, vol.283, p.26.
21. Sassanfar M., Roberts J. - *J. Mol. Biol.*, 1990, vol.212, p.79.

22. Moore P.D., Bose K.K., Rabkin S.D., Strauss B.S. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1981, vol.78, p.110.
23. Rupp W.D., Howard-Flanders P. - J. Mol. Biol., 1968, vol.31, p.291.
24. Casaregola S., D'Ari R., Huisman O. - Mol. Gen. Genet., 1982, vol.185, p.440.
25. Kogoma T., Torrey T.A., Connaughton M.J. - Mol. Gen. Genet., 1979, vol.176, p.1.
26. Lark K.G., Lark C.A. - Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1978, vol.43, p.537.
27. Little J.W., Mount D.W. - Cell, 1982, vol.29, p.11.

Рукопись поступила в издательский отдел

28 ноября 1995 года.