

ЛИТЕРАТУРА

1. Гриц Н.В., Ющенко В.К., Фомичев А.Ю. Генетическая трансформация бактерий *E.coli* K-12 дезоксирибонуклеиновой кислотой, обработанной озоном *in vitro* // Труды БГТУ. Серия 3. Химия и химическая технология.-1998.- Вып. 6.
2. Shinriki N. et al. Degradation of yeast RNA, yeast phenylalanin tRNA and tobacco mosaic virus RNA // *Biochem. Biophys. Acta.* -1981.-V. 655.-P. 323-328.
3. Герасимова Л.К. и др. Действие озона на нуклеиновые кислоты // Вестник Белорусского ун-та. Серия 2. Химия. Биология. География. - 1984. -№ 1. - С. 32-35.

УДК 537.37

Н.В. Гриц, доцент;

Г.В. Машковская;

А.Ю. Фомичев, научн. сотр.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ДЕЙСТВИЮ ОЗОНА МУТАНТОВ С РАЗНЫМИ ДЕФЕКТАМИ ГЕНОВ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА РЕПАРАЦИЮ ДНК

The role *uvrA*⁺, *lexA*⁺, *recA*⁺ genes in process of reparation ozone-induced demiges of bacterial and phage DNA was investigated.

Работы в плане изучения летального и других эффектов озона, выявления наиболее чувствительных к нему клеточных структур, а также идентификации ферментных систем и систем генетического контроля, детерминирующих чувствительность микроорганизмов к озону и восстановление индуцированных повреждений, ведутся в ряде лабораторий [1-3], однако накопленные данные часто противоречивы. Основываясь на экспериментально установленном факте разной чувствительности к озону отдельных бактериальных мутантов, дефектных по синтезу, участвующих в репарации повреждений ДНК ферментов [4, 5], мы попытались выяснить роль отдельных генов, вовлеченных в репарацию УФ- и γ -повреждений ДНК, в восстановлении жизнеспособности обработанных озоном бактерий.

В качестве объектов исследования были выбраны изогенные, т.е. практически «одинаковые» штаммы бактерий, различающиеся лишь наличием одной мутации, сообщающей клетке дефектность в осуществлении какого-либо из этапов репарации ДНК. В их числе были штаммы *E.coli* K-12: АВ1157 (не содержит мутаций в генах, ответственных за восстановление ДНК); АВ1886 *uvrA*6 (дефектен по эксцизии пиримидиновых димеров и в силу этого повышенно чувствителен к УФ-свету); АВ2494 *lexA*1 (по-

вышенно чувствителен к УФ- и γ -лучам); АВ2463 *hcsA13* (дефектен по пострепликативной рекомбинационной репарации, сверхчувствителен к УФ- и γ -лучам).

Учитывая, что озон эффективно инактивирует бактерии за счет лизиса (особенно в буфере) [6], обработку озоном осуществляли в дистиллированной воде и в режиме, существенно не снижающем жизнеспособность клеток (концентрация бактерий в суспензии около 10^8 кл/мл; концентрация озона - 0,4 мг/л воздуха; скорость продувки озонированного воздуха через 10 мл суспензии в пробирке - 0,1 л/мин).

Полученные кривые инактивации бактерий, обработанных озоном, представлены на рис.

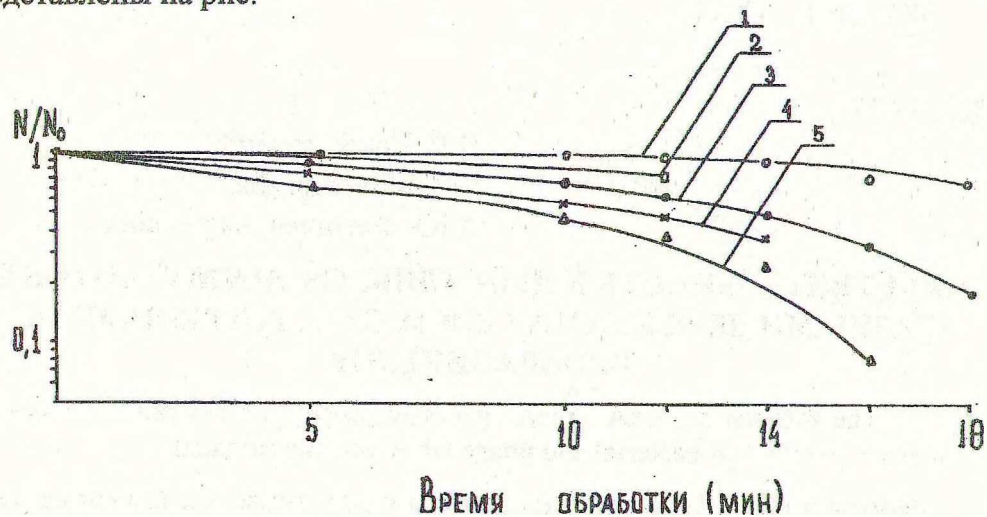


Рис. Инактивация бактерий при обработке в дистиллированной воде озоном в концентрации 0,4 мг/л воздуха: 1 - штамм АВ1157; 2 - штамм АВ1886 *uvrA6*; 3 - штамм АВ2494 *lexA1*; 4 - штамм АВ2463 *hcsA13*; 5 - штамм АВ2480 *uvrA6 hcsA13*

Как и следовало ожидать, наиболее устойчивыми к озону оказались бактерии штамма АВ1157, у которых гены, ответственные за этапы репарации и рекомбинации, не повреждены. Мутант АВ1886 *uvrA6*, содержащий мутацию, сообщающую клетке дефектность по эксцизии первичных повреждений ДНК, в частности, димеров пиримидиновых оснований, более чувствителен к озону. Еще более чувствительны к озону бактерии, содержащие мутации *lexA1* и *hcsA13*, а самой высокой чувствительностью к озону обладал двойной мутант АВ2480 *uvrA6 hcsA13*.

Был исследован также вклад каждого из 3-х генов (*uvrA*⁺, *lexA*⁺ и *hcsA*⁺) в процесс реактивации клеткой-хозяина (*hcs*-реактивация) О₃-обработанных умеренных фагов Р1 и λ . Различия между штаммами по способности к *hcs*-реактивации выражены в меньшей степени, чем по спо-

способности к восстановлению повреждений бактериальной ДНК. По-видимому, основную роль в hcr-реактивации играет ДНК-полимераза I [7], детерминируемая у *E.coli* геном *polA*.

Полученные результаты позволяют заключить, что главная роль в устранении индуцированных озоном повреждений бактериальной ДНК принадлежит пострепликативной рекомбинационной репарации и, возможно, системе SOS-репарации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Coves G., Chung Y.S. Localisation d'un gene responsable de la sensibilité a l'ozone chez *E.coli* // *Rev. Can. Biol.* -1979. -V. 38.-N2. -P. 97-99.
2. Коней С.В. і інші. Перакісне акісленне ліпідаў і міжмалекулярныя з'вязкі ў дражджавых і бактэрыяльных мембранах пры дзеянні азону // *Весті АН БССР.*-1982 - Серыя біял. -№ 2. -С. 125-128.
3. Гриц Н.В., Фомичев А.Ю. Действие озона на бактериофаги в системе фаг - клетка-хозяин // *Микробиология.*-1990. -Т.59. № 5.-С. 831.
4. Hamelin C., Chung Y.S. Role of the *pol*, *rec* and *dna* gene products in the repair of lesions produced in *E.coli* DNA by oxone // *Studia Biophys.* - 1978. -V. 68. N 3. -P. 229-235.
5. Song J., Chung Y. Effect of ozone on DNA-repair deficient mutants of *Bacillus subtilis* // *Rev. Can. Biol. Exp.* -1983. -V. 42. N1.-P. 83.
6. Гриц Н.В., Фомичев А.Ю. Действие озона на клетки грамотрицательных и грамположительных бактерий при разных условиях обработки // *Труды БГТУ. Серия 3. Химия и химическая технология.*-1998. - Вып. 6.
7. L'Herault P., Chung Y.S. Host cell reactivations of ozonetreated T3 bacteriophage by different strains of *Escherichia coli* // *Experientia.*-1982. -V. 38. -N 12. -P. 1491-1492.