

УДК 575.13:575.224:582.282.23

Э.А.Кочетова (6 курс, каф. БФ), Т.Н.Кожина, к.б.н., с. н. с. (ПИЯФ РАН)

АНАЛИЗ МУТАНТА ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* С НАРУШЕННЫМ ПРОЦЕССОМ РЕПАРАЦИИ ДНК

Механизмы репарационного процесса у дрожжей достаточно хорошо изучены. Предполагается, что существует несколько основных путей репарации, каждый из которых контролируется определенной группой генов. Однако далеко не все гены описаны и детально изучены. Для решения этой задачи обычно получают мутанты, чувствительные к летальному действию того или иного мутагена.

В лаборатории генетики эукариот ПИЯФ РАН была получена коллекция мутантов, сверхчувствительных к летальному действию УФ лучей на фоне мутации *rad2*, блокирующей NER (нуклеотид-эксцизионную репарацию). Одновременно с чувствительностью к УФ некоторые из таких двойных мутантов оказались чувствительными к MMS (метилметансульфонату).

Целью настоящей работы стало исследование одного из этих мутантов. Его условно назвали *x111*. Мутация *x111* была отделена от мутации *rad2* методом тетрадного анализа, и все дальнейшие исследования проводили на штамме, содержащем только мутацию *x111*. При проведении тетрадного анализа было показано, что это мутация является рецессивной и признаки, которые она обуславливает, наследуются моногенно. При этом выяснилось, что у диплоида, гомозиготного по *x111*, не нарушен процесс споруляции, и мутация *x111* не влияет на выживаемость аскоспор, т.е. мутация не затрагивает мейоз.

Исследование радиобиологических характеристик показало, что мутация *x111* не влияет на чувствительность клеток к УФ, но вызывает чувствительность к MMS. Т.е. этот мутант мог иметь отношение к путям репарации, которые контролируются группами генов *RAD6* (мутагенный путь) и *RAD52* (рекомбинационный путь), т. к. мутации большинства генов из этих групп приводят к MMS чувствительности. Тест на аллелизм мутации *x111* со всеми известными мутациями, приводящими к MMS чувствительности (это мутации из групп *RAD6*, *RAD52* и несколько других), показал, что мутация *x111* не аллельна ни одной из них, т.е. можно предположить, что это новый, до сих пор не известный ген, вовлеченный в процессы репарации. Для определения пути репарации, затронутого изучаемой мутацией, были получены два двойных мутанта *x111 rad18* и *x111 rad52*. Такие штаммы получали методом трансформации интегративными плазмидами, разрушающими гены из групп *RAD6* и *RAD52*. Исследование двойных мутантов показало, что мутация *x111* затрагивает рекомбинационный путь репарации. При изучении влияния мутации *x111* на индуцированный мутационный процесс было показано, что эта мутация не влияет на частоту индуцированных мутаций. Кроме того, были сконструированы диплоидные штаммы, позволяющие учитывать влияние мутации *x111* на процесс внутригенной рекомбинации. Было показано, что мутация *x111* не влияет на конверсию и подавляет процесс кроссинговера. Это подтверждает гипотезу об участии гена *X111* в рекомбинационном пути репарации.

Итак, можно сделать заключение о том, что, скорее всего *X111* — это новый репарационный ген, который относится к группе генов рекомбинационной репарации. Возможно, он

контролирует процесс межхромосомных обменов. В настоящее время ведется работа по клонированию нового гена и его картированию.