

ИЗМЕНЧИВОСТЬ МЕЖАЛЛЕЛЬНОЙ КОМПЛЕМЕНТАЦИИ В ГЕНЕ  $ade_2$  у  
ДИПЛОИДОВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Кафедра генетики Иркутского ун-та<sup>✶</sup>

В ряде экспериментальных работ показано, что межаллельная комплементация (МАК) может изменяться под действием генотипических факторов и факторов внешней среды (Сойдла, Инге-Вечтомов, 1966; Foley e.a., 1966; Supersuppressor..., 1966; Павленко, Сойдла, 1967).

В этих работах, как правило, констатировано изменение МАК под действием изучаемых факторов, сделаны попытки объяснить наблюдаемые эффекты влиянием этих факторов на гибридные молекулы мультимерного фермента. Такое направление в изучении действия различных факторов на МАК представляет интерес для дальнейшего развития теории МАК, развития методов исследования функции отдельных генов и генотипа (Инге-Вечтомов, Симаров, 1967). Вместе с тем данные этих работ позволяют ставить вопрос об изменчивости МАК под действием внешней среды и генотипических факторов. Выяснение этого вопроса позволит установить, насколько стабильной характеристикой конкретных аллелей является спектр их комплементации. Располагая подобными данными, можно более определенно интерпретировать особенности структуры карт МАК, выяснить зависимость между структурой карты МАК и структурой белковых субъединиц, входящих в молекулу мультимера. Кроме того, подобные сведения незаменимы в тех случаях, когда изучают изменение МАК под действием специально вводимых факторов.

В настоящей работе представлены данные об изменчивости МАК в гене  $ade_2$  *Saccharomyces cerevisiae* в различных повторностях опытов и для различных сегрегантов одного и того же гибрида, несущих идентичные аллели гена  $ade_2$ .

**Материал и методы.** При выполнении настоящей работы использовали коллекцию Петергофских генетических линий дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Инге-Вечтомов, 1963; Инге-Вечтомов, Кожин, 1964): 3 мутанта  $ade_1$  и 146 мутантов  $ade_2$ , полученных под действием ультрафиолетового света (УФ), азотистой кислоты ( $HNO_2$ ), X-лучей (Райпулис, Кожин, 1966) и этилметансульфоната (ЭМС) из прототрофного гаплоида I5B-II4, относящегося к типу спаривания  $\alpha$ . 26 из 146 мутаций  $ade_2$  получены в комбинации с типом спаривания  $\alpha$  и мутацией  $rgb_{1-1}$ . Полученные таким образом штаммы скрещивали со всеми исходными мутантами  $ade_2$ . На рис. 1 приведена система скрещиваний, используемая для получения культур  $\alpha ade_2 rgb_{1-1}$ , необходимых для постановки тестов на МАК.

Для постановки теста на МАК I гаплоиды  $\alpha ade_2 rgb_{1-1}$  получали от

<sup>✶</sup> Работа выполнена на кафедре генетики и селекции Ленинградского университета.

скрещивания соответствующих мутантов  $\alpha ade_2$  с гаплоидом 41Г-П142 генотипа  $\alpha rgh_{1-1} S_5$  и с гаплоидом 18А-П158 генотипа  $\alpha rgh_{1-1}$  (Сойдла и

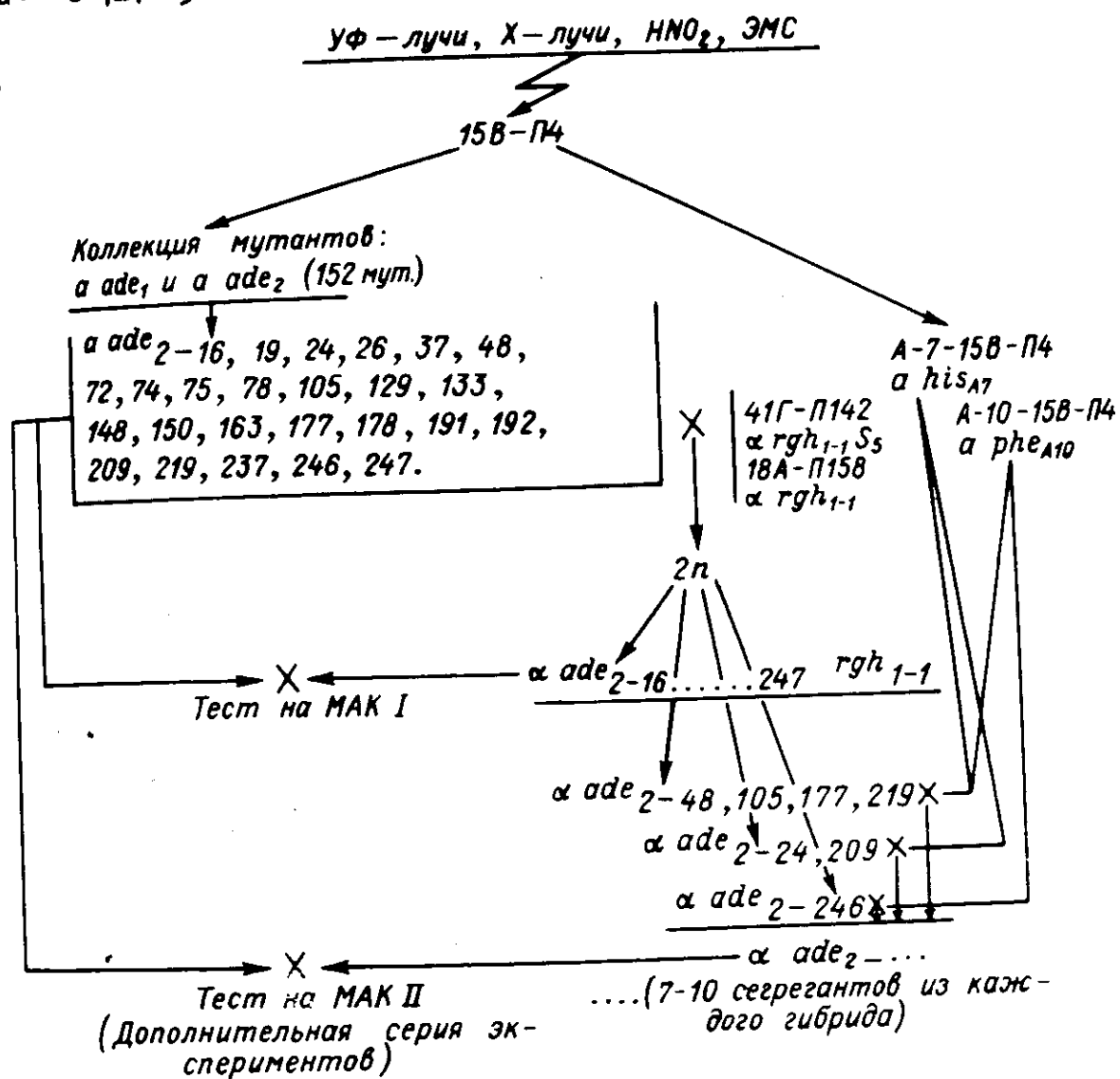


Рис. I. Получение гаплоидов  $\alpha rgh ade_2$  для проведения тестов на МАК.

др., 1967). Для постановки тестов на МАК II гаплоиды  $\alpha ade_2$  получали от скрещивания культур генотипа  $\alpha ade_2 rgh_{1-1}$  с гаплоидами А7-15В-П4 и А10-15В-П4, имеющими генотипы соответственно  $\alpha his_{A7}$  и  $\alpha phe_{A-10}$  и полученными из 15В-П4 (Мурашко, Читавичус, 1969).

В работе использовали полную и минимальную среды (Инге-Вечтомов, 1963). Чтобы обеспечить максимальную стандартизацию условий при постановке тестов на МАК, в каждом опыте использовали партию одновременно приготовленных и простерилизованных сред.

В статье приняты следующие обозначения:  $a$  и  $\alpha$  - аллели локуса типа опаривания;  $ade$ ,  $his$ ,  $phe$  - соответственно потребности в аденине, гистидине, фенилаланине;  $rgh$  - морщинистая форма колонии,  $S$ ,  $\bar{S}$  и  $v$  - соответственно доминантный, полудоминантный и рецессивный супрессоры. Постановка тестов на МАК осуществлялась подобно тому, как это описано в работе Т.Р.Сойдла (1965).

Данные о характере комплементации отдельных аллелей получены нами при анализе повторных опытов; в каждом из них использовали по несколько сегрегантов одного гибрида (см. рис. I), несущих идентичные аллели  $ade_2$ . Для общей оценки характера комплементации каждой пары аллелей (компаунда)

с учетом всех скрещиваний, в которых проверялась эта пара аллелей, мы использовали критерий Пуассона для малых выборок (Меркурьева, 1964; Урбах, 1964).

В дальнейшем, говоря о компаунде, мы будем иметь в виду только определенный генотип по  $ade_2$ . Таким образом, один и тот же компаунд по  $ade_2$  может быть представлен в виде многих гибридов, различающихся генотипическим фоном.

Результаты взаимодействия каждой пары аллелей оценивали знаком «+», если во всех скрещиваниях данная пара аллелей комплементировала или число случаев некомплементарности не превышало 5% уровня случайных отклонений, знаком «-», если во всех скрещиваниях данная пара аллелей не комплементировала или число случаев комплементации не превышало 5% уровня от случайных отклонений; «М», если с учетом всех скрещиваний данная пара аллелей обнаруживала комплементарность и некомплементарность, число которых достоверно превышало 5% уровень случайных отклонений согласно критерию Пуассона.

В качестве примера поясним в общей форме, каким образом мы оценивали комплементацию отдельных аллелей гена  $ade_2$  (табл. I). В соответ-

Т а б л и ц а I

Гипотетический пример оценки комплементационной активности аллели  $ade_{2-x}$

Аллели $ade_2$ (№ мутантов I5B-II4)	Сегреганты, несущие аллель $ade_{2-x}$							Оценки
	I	2	3	4	5	6	7	
I5	+	+	+	+	+	+	+	+
I6	-	-	-	-	-	-	-	-
I7	+	+	+	-	-	+	-	М
I8	+	+	+	+	+	+	-	+
I9	+	-	-	-	-	-	-	-
20	+	-	+	-	+	-	-	М
22	+	+	+	+	+	+	+	+
24	+	+	+	+	+	+	+	+
26	+	+	+	+	+	+	+	+

ствии с используемым нами принципом оценки аллель  $ade_{2-x}$  имеет следующую характеристику: 5+, 2М, 2-.

#### Результаты экспериментов и их обсуждение.

Количественный учет изменчивости М А К. В процессе работы было получено 3796 (26 x I46) компаундов по  $ade_2$  и 78 (26 x 3) дигетерозигот  $ade_2 + / + ade_1$ . Каждая из 26 аллелей  $ade_2$  представлена в наших опытах несколькими независимо полученными сегрегантами типа спаривания  $\alpha$ ; некоторые из них тестировали в двух-трех повторностях. Таким образом, общее число полученных и проанализированных гибридов равно 29055 (I95 x I49).

Большинство авторов учитывают способность к комплементации для каждой пары аллелей лишь в одном гибриде, поэтому не возникает проблем при

оценке МАК. В тех немногочисленных случаях, когда сведения о характере МАК получают на основе изучения нескольких культур, несущих одну и ту же аллель, т.е. каждый компаунд оказывается представленным несколькими гибридами, характер МАК оценивается знаком «-», если все диплоиды не обнаруживают восстановления дикого фенотипа, или знаком «+», если все или хотя бы один из диплоидов имеет дикий фенотип. В данном случае при составлении матрицы МАК оценка комплементационной активности проводилась не по двум параметрам «+» и «-», как обычно, а по трем: «+», «-», «М».

Когда один или оба родительских гаплоида были нечеткими (leaky) мутантами, оценить характер МАК отдельных компаундов трудно, поскольку гибрид не отличается по способности расти на минимальной среде от родительских штаммов. Характер МАК таких компаундов обозначался «1».

В табл. 2 приведены суммарные данные по МАК для 26 аллелей; их способность к комплементации оценена в скрещивании со всеми 146 мутантами  $ade_2$ . В качестве контроля копуляционной активности служили скрещивания с 3 мутантами  $ade_1$ . Характеристикой каждой из аллелей является количество компаундов, в которые она входила, оцененных «+», «-» и «М». В терминах теории МАК оценки «+» и «-» интерпретируются как неперекрывающиеся и перекрывающиеся функциональные повреждения в белковых субъединицах, входящих в мультимерную молекулу (Crick and Orgel, 1964). Чтобы учесть степень модификации тестируемых аллелей, мы определили индекс изменчивости МАК для каждой из них (см. табл. 2). Индекс изменчивости Им определяли как отношение числа модифицируемых компаундов («М») к числу стабильно комплементирующих компаундов («+») для каждой аллели. В этом случае Им позволяет определить изменчивость МАК с учетом функциональной активности каждой аллели.

При сравнении индексов изменчивости для разных аллелей очевидной корреляции величины Им с положением аллелей на карте МАК (Сойдла и др., 1967) обнаружить не удается. Максимальная величина Им наблюдалась для аллелей 105, 209, 48, 72, 163; минимальная — для 102, 129, 19, 177, 237.

Однако следует отметить, что изменчивость МАК, выражаемая в нашем случае величиной Им, определяется скорее свойствами гибридных мультимеров, которые зависят от величины функциональных повреждений и от особенностей положения на карте МАК каждой из двух аллелей компаунда. В связи с этим интересно сравнить Им для различных компаундов, объединяющих аллели некомплементирующие, полярно комплементирующие и активно комплементирующие в различных сочетаниях.

Из работ, выполненных в лаборатории физиологической генетики на Петергофских генетических линиях дрожжей, известно, что ряд мутантных аллелей, включенных в наши опыты, несут нонсенс-мутации, а другие относятся к несупрессируемым и, вероятно, большинство из них являются миссенс-мутациями. (Инге-Вечтомов, 1968; Неоднозначность ..., 1971). В связи с этим, исследуемые в наших опытах компаунды можно распределить на три группы, различающихся по природе мутантных аллелей, входящих в их состав:

1. Компаунды с двумя нонсенс-аллелями.
2. Компаунды с одной супрессируемой нонсенс-аллелью и одной несупрессируемой аллелью.
3. Компаунды с двумя несупрессируемыми аллелями.

Т а б л и ц а 2

Анализ комплементационной активности 26 аллелей гена  $ade_2$ 

Номера аллелей	Вероны	+	M	-	1	Индекс модификации Им
191	УШ	87	17	40	5	0,19±0,037
209	I	59	48	39	3	0,81±0,048
102	УШ	77	7	56	9	0,09±0,098
48	УП	64	29	55	1	0,45±0,048
78	УШ	72	12	57	8	0,16±0,039
24	УШ	67	18	61	3	0,27±0,044
26	УI	67	15	63	4	0,22±0,042
163	УI	58	20	68	3	0,34±0,049
237	УП	69	7	70	3	0,10±0,033
192	У-УI	62	II	73	3	0,17±0,041
74	Ш	55	IO	79	5	0,18±0,044
129	У-УI	63	5	80	1	0,08±0,098
19	П-Ш	44	4	97	2	0,09±0,039
177	I-Ш	43	3	102	1	0,07±0,011
246	У-УI	34	6	106	5	0,17±0,056
178	IУ-УI	35	7	105	2	0,20±0,058
148	I-УП	28	3	114	4	0,10±0,054
219	Ш-УI	30	3	112	4	0,10±0,050
150	Ш-УП	28	3	115	3	0,10±0,054
16	I-УI	24	8	117	0	0,33±0,074
105	I-УП	4	18	127	0	4,50±0,082
72	I-УП	5	2	142	0	0,40±0,054
37	I-УШ	3	1	145	0	0,33±0,068

Примечание. Аллели I33 и 247 не комплементируют, в таблицу не включены.

В табл. 3 представлены данные о комплементационной активности этих трех типов компаундов, а также величины Им для каждой из трех групп компаундов.

Т а б л и ц а 3

## Изменчивость МАК для компаундов разных типов

Тип компаунда	Тестиrowано комбинаций	+	-	M	Им
Нонсенс/Нонсенс	90	0	90	0	0,00
Нонсенс/Миссенс	1104	63	992	49	0,77
Миссенс/Миссенс	2680	1024	1447	209	0,20

Однако понятие "не супрессируемая аллель" еще не гарантирует, что такая аллель не несет нонсенс-мутацию, особенно если эта аллель относится к группе полярных и некомплементирующих. Мы определили Им для компаундов, объединяющих две полярные или некомплементирующие аллели; одну некомплементирующую или полярную и одну комплементирующую аллель; две комплементирующие аллели. Полученные таким образом величины Им оказались близки к соответствующим величинам, приведенным в табл. 3.

Компаунды, объединяющие супрессируемые и несупрессируемые аллели, имеют наибольшую величину Им.

Обнаружение различия Им для трех типов компаундов позволяют более конкретно обсуждать вопрос о природе изменчивости МАК исходя из особенностей структуры мультимерных молекул, синтезированных под контролем нонсенс- и миссенс-аллелей.

Можно предполагать, что компаунды нонсенс/миссенс контролируют синтез гибридных мультимеров, которые очень лабильны, поскольку состоят из целых субъединиц и фрагментов белковых субъединиц. Возможно, что эти мультимеры изменяют активность даже при незначительных изменениях внутриклеточной среды.

С другой стороны, можно предположить, что активность тех же гибридных мультимеров изменяется в присутствии генетических факторов, специфично действующих на гибридные молекулы и белковые субъединицы или на процесс их синтеза и таким образом влияющих на МАК. В связи с этим появляется необходимость оценить способность неконтролируемых факторов генотипа и факторов внешней среды изменять характер МАК.

С этой целью мы провели серию дополнительных экспериментов. Для каждой из семи аллелей (209, 105, 48, 24, 177, 219, 246) было получено от 5 до 18 сегрегантов  $\alpha$   $ade_2$ , которые тестировали на МАК со стандартным набором из 146 мутантов  $\alpha$   $ade_2$  (рис. 1, тест на МАК II). В этих экспериментах особое внимание уделяли максимальной стандартизации условий опытов: каждый опыт ставили на одной партии сред, посев, а также первый и второй учет проводили строго в одинаковые сроки.

Изменчивость МАК под действием неконтролируемых генотипических факторов учитывали по изменению МАК в компаундах с одинаковым сочетанием аллелей, полученных от скрещивания нескольких сегрегантов  $\alpha$   $ade_2$  с мутантами  $\alpha$   $ade_2$  из I5B-П4. Если в этих опытах несколько гибридов показывали МАК, отличную по сравнению с остальными, содержащими те же аллели, причем число их достоверно превышало 5% уровень случайных отклонений, то такой компаунд учитывали как модифицируемый (М) под действием неконтролируемых генотипических факторов. Компаунд, показывающий комплементарную активность + или - в одном опыте и меняющий характер МАК в другом опыте, следовало бы отнести к группе модифицируемых только под действием неконтролируемых факторов внешней среды. Таких компаундов в наших опытах не обнаружено. В то же время компаунды, модифицируемые в наших экспериментах под действием генотипических факторов, можно объединить в две группы. В одном случае различный характер МАК в отдельных гибридах для одного компаунда точно воспроизводился в разных повторностях опытов (генотипическая изменчивость), а в другом случае некоторые из гибридов проявляли различный характер МАК, т.е. обнаруживали или не обнаруживали ее в разных повторностях опытов (модификационная изменчивость).

Таким образом, проведя специальную серию экспериментов, мы смогли убедиться, что изменчивость МАК определяется в первую очередь действием генотипических факторов, которые имеются в генотипе диплоидов и наследуются отдельными сегрегантами  $\alpha$   $ade_2$ . Модифицирующее влияние неконтролируемых условий среды обнаружено нами только на фоне действия генотипических факторов.

В табл. 4 представлены данные об изменчивости МАК у компаундов разных типов под действием генотипических факторов и факторов внешней среды.

## Изменчивость МАК для компаундов разных типов

Тип компаунда	Тести- ровано комби- наций	+	-	M	Изменчивость	
					генотип.	модификац.
Нонсенс Нонсенс	15	0	15	0	0 (0,00)*	0 (0,00)
Миссенс Нонсенс	224	7	188	29	13 (1,85±0,11)	16 (2,28±0,10)
Миссенс Миссенс	804	328	357	119	79 (0,24±0,018)	40 (0,12±0,016)
					$\chi = 20,7, \quad p < 0,05$	

\* В скобках представлен индекс модификации (Им).

Наличие двух групп компаундов, модифицируемых под действием генотипических факторов, не обязательно говорит о двух разных типах генов - модификаторов МАК. Вполне возможно, что и генотипическая, и модификационная изменчивость определяются одними и теми же факторами, но при сочетании одних аллелей в присутствии генов-модификаторов возможно образование лабильных мультимерных молекул, а при сочетании других аллелей формируются мультимерные молекулы, устойчивые к незначительным колебаниям факторов внешней среды.

Это предположение может быть в какой-то мере проиллюстрировано тем, что модификационная изменчивость для компаундов нонсенс-миссенс встречается чаще (Им = 2,28), чем генотипическая (Им = 1,85). Для компаундов миссенс/миссенс наблюдается обратная ситуация. Обнаруженный факт может указывать на то, что гетеромультимеры, состоящие из целых полипептидных цепей и их фрагментов (миссенс/нонсенс), менее стабильны, чем гетеромультимеры, состоящие только из целых полипептидов (миссенс/миссенс). Как мы уже отмечали (табл. 3), индекс изменчивости МАК для компаундов нонсенс/миссенс значительно выше, чем для миссенс/ миссенс. В связи с этим следует заметить, что в ряде работ показана способность нонсенс-супрессоров индуцировать МАК и в таких компаундах, где объединены нонсенс- и миссенс-аллели (Supersuppressor..., 1966; Инге-Вечтомов, Симаров, 1967; Симаров и др., 1970).

Поскольку данные о МАК, индуцированной супрессорами, получены для ряда аллелей, используемых в наших опытах, мы попытались сравнить наши данные с результатами опытов, представленных в работе С.Г. Инге-Вечтомова и Б.В. Симарова (1967). Основанием для такого сравнения служит то, что в цитируемой работе также была использована система скрещиваний, изображенная на рис. 1.

В табл. 5 сравнивается характер МАК для компаундов, проверяющихся в наших опытах по изучению изменчивости МАК и в опытах С.Г. Инге-Вечтомова и Б.В. Симарова в присутствии доминантных супрессоров.

## Сравнение матрицы максимальной комплементации и матрицы МАК в присутствии доминантных супрессоров

a ade <sub>2</sub>	Аллели, использованные в составе генотипа $\alpha$ ade <sub>2</sub>													
	209		246		I63		48		2I9		24		I9I	
	S*	+**	S	+	S	+	S	+	S	+	S	+	S	+
I6	⊕	-	⊕	-	⊕	-	⊕	M	⊕	-	+	+	+	+
I20	⊕	M	⊕	-	⊕	-	⊕	M	⊕	-	+	+	+	+
I48	⊕	-	-	-	⊕	-	⊕	M	-	-	+	+	+	+
I05	⊕	-	-	-	⊕	-	⊕	-	-	-	+	M	+	M
75	⊕	-	-	-	⊕	-	⊕	-	⊕	-	⊕	-	+	M
9I	⊕	-	-	-	⊕	-	-	-	-	-	⊕	-	+	+
I28	⊕	e	⊕	e	⊕	e	⊕	e	⊕	e	-	e	⊕	e
I90	⊕	-	-	-	⊕	-	-	-	⊕	-	-	-	-	M
I33	⊕	-	-	-	⊕	-	-	-	-	-	-	-	-	M
I44	⊕	-	-	-	⊕	-	-	-	-	-	-	-	-	+
I99	⊕	-	-	-	⊕	-	-	-	-	-	-	-	-	M
20I	⊕	-	-	-	⊕	-	-	-	-	-	-	-	-	M
99	⊕	-	-	-	⊕	-	-	-	-	-	-	-	-	M
I33	⊕	-	-	-	⊕	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	⊕	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M

\* В графе отражен характер комплементирования аллелей ade<sub>2</sub> в присутствии супрессора; компаунды, в которых обнаружена индуцированная супрессором комплементация, обведены кружком (Инге-Вечтомов, Симаров, 1967).

\*\* В графе приведены наши результаты изучения комплементирования аллелей ade<sub>2</sub>.

Из 44 компаундов, показавших МАК в присутствии доминантных супрессоров, лишь для четырех обнаружена изменчивость МАК в наших экспериментах. Остальные сорок компаундов в наших опытах не комплементировали. Эти различия весьма существенны ( $P \gg 0,999$ ), чтобы убедиться в том, что модификацию МАК, обнаруженную в наших опытах, вряд ли можно объяснить действием доминантных носово-супрессоров типа S<sub>1</sub> и S<sub>5</sub>.

Еще более четкая разница обнаружена нами при сравнении характера МАК, индуцированной полудоминантными супрессорами ( $\bar{S}$ ), в наших данных по изучению изменчивости МАК. Из 7 компаундов, показавших МАК, индуцированную  $\bar{S}$ , в опытах С.Г. Инге-Вечтомова и Б.В. Симарова, ни один не проявил МАК в наших опытах.

Подобный анализ мы провели также и для рецессивных супрессоров. Результаты сравнения характера МАК для компаундов, показавших МАК, индуцированную рецессивным супрессором s<sub>2-48</sub> (соответствует s<sub>48</sub> по Инге-Вечтому и Симарову, 1967), с нашими данными приведены в табл. 6.

Из трех компаундов, у которых происходила индукция МАК в присутствии рецессивного супрессора, для двух наблюдалась изменчивость комплементации в наших опытах. Конечно, сравниваемый материал не столь велик, чтобы делать окончательные выводы о причинах модификации МАК в наших экспериментах. Однако не исключено, что модификаторами МАК, наряду с генами анти-супрессорами, описанными другими авторами (Сойдла, Инге-Вечтомов, 1966), могут быть рецессивные супрессоры, подобные s<sub>2-48</sub>.



Сравнение матрицы максимальной комплементации  
и матрицы МАК в присутствии рецессивного супрес-  
сора  $s_{2-48}$ \*

Аллели, используемые в составе генотипа $a ade_2 s_{2-48}$	Аллели, используемые в составе генотипа $\alpha ade_2$ с $s_{2-48}$ и без него							
	72		177		191		209	
	s	+	s	+	s	+	s	+
19	Не исследованы		-	-	+	+	+	+
5	-		-	-	+	+	+	+
240	-	-	+	-	+	+	+	+
226	-	-	-	-	+	+	⊕	М
223	-	-	-	-	+	+	⊕	М
210	-	-	-	-	+	+	+	+
209	⊕	-	-	М	+	М	-	-
191	+	М	+	+	-	М		
177	-	-	-	-	Не исследованы			
137	-	-	-	-				
20	+	-	-	-				
12	-	-	-	-				
7	-	-	-	-				

\* См. примечание к табл. 5.

Построение карт максимальной и минимальной комплементации. Характер МАК, как мы убедились, зависит не только от особенностей мутантных аллелей изучаемого гена, но также от структуры генотипа, на фоне которого исследуется комплементация того или иного компаунда, и в меньшей степени от факторов внешней среды.

Мы попытались найти способ, позволяющий отразить количественно изменчивость МАК, выявленную в наших опытах. Наша матрица МАК, учитывающая комплементацию «+», «-» и «М», может быть использована для построения двух карт комплементации: максимальной, когда «М» расшифровывается наравне с «+» как наличие комплементации, и минимальной, когда «М» расшифровывается наравне с «-» как отсутствие комплементации.

Построенные по общей матрице МАК карты максимальной и минимальной комплементации могут быть полезны для выяснения зависимости структуры карт от действия факторов, влияющих на МАК. В подобных случаях наличие карт максимальной и минимальной комплементации позволит выявлять не только положительные отклонения в характере МАК, возникающие при действии специально вводимых факторов, но также и исключительные негативные отклонения в характере МАК.

Один из формальных принципов, используемых при построении карт МАК, предполагает наличие полной матрицы МАК. В этом случае удается более точно определить порядок расположения отдельных мутантных аллелей на карте МАК.

Проведенные нами эксперименты позволяют построить полную матрицу МАК лишь для 26 аллелей гена  $ade_2$  (см. рис. 2).

		.Номера аллелей, использованных в составе генотипа																									
		$\alpha ade_2 rgh_{1-1}$																									
$\alpha ade_2$		191	209	102	48	78	24	26	163	237	192	74	129	19	177	246	178	148	219	150	16	105	72	75	37	133	247
191	-	M	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M	M	M	M	-	-
209	M	-	M	+	M	-	+	+	+	M	+	+	M	+	M	+	+	+	+	M	-	M	-	-	-	-	-
102	-	M	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M	M	-	-	-	-	-
48	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
78	-	M	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	-	-	-	M	-	-	+	+	+	M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
163	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
237	+	M	+	-	+	M	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M	-	-	-	-	-	
192	+	+	+	+	M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
74	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
129	+	M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
19	+	+	+	+	M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
177	+	M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
246	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
178	+	+	M	M	+	+	M	-	-	+	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
148	+	-	M	M	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
219	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
150	+	M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
16	+	-	M	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
105	M	-	M	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
72	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
75	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
37	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
133	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
247	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

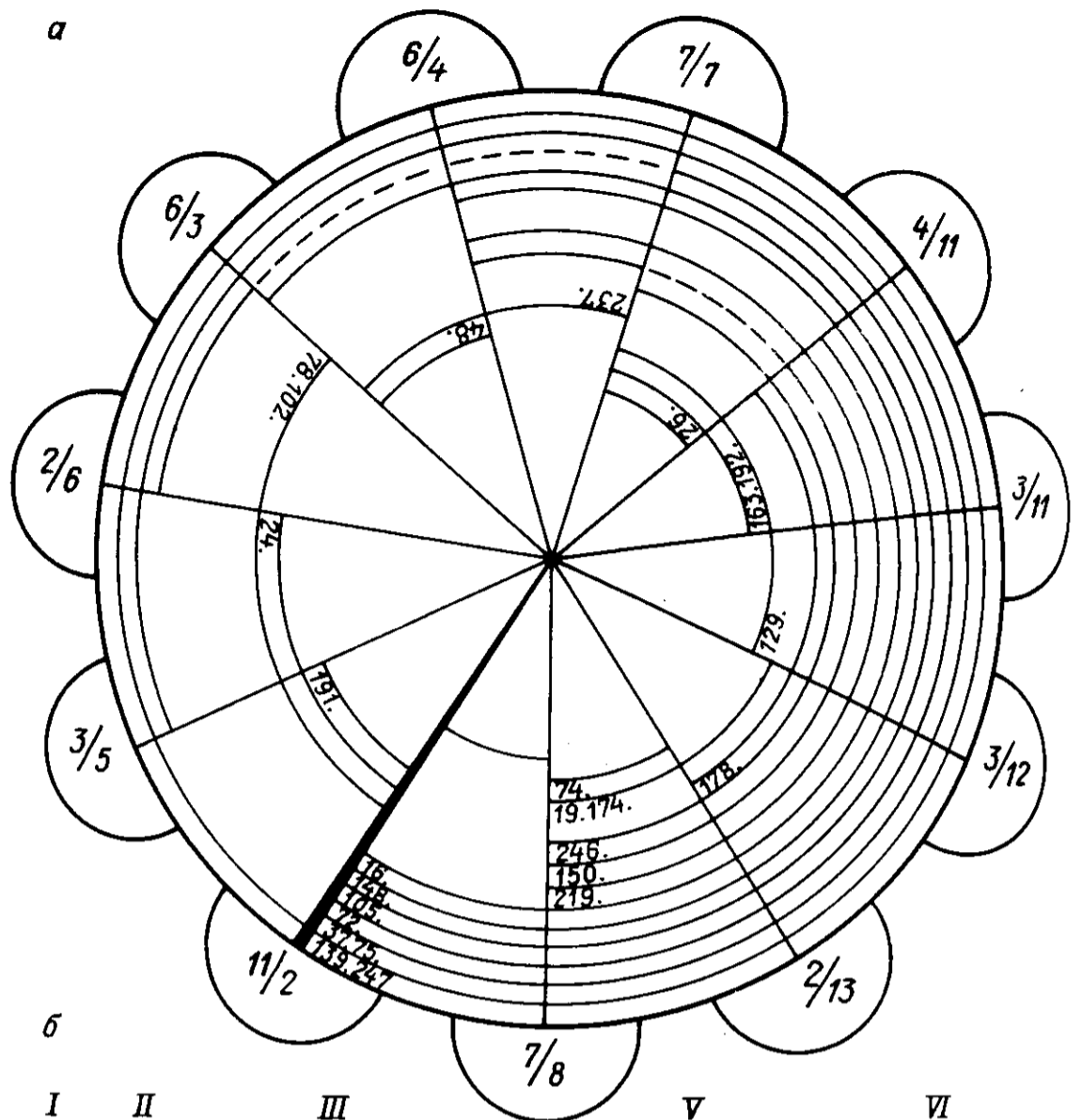
Рис. 2. Полная матрица межаллельной комплементации для 26 аллелей гена  $ade_2$ .

«+» - наличие комплементации; «-» - отсутствие комплементации; «M» - изменчивая комплементация.

Учитывая, что даже при полном соблюдении формальных принципов построения карт возможно изменение структуры карт в зависимости от порядка включения в карту мутантных аллелей (Ратнер, Родин, 1971), мы попытались свести до минимума различия в построении карт минимальной и максимальной комплементации. Поэтому первоначально были построены круговые варианты карт, но далее они были "разрезаны" и представлены в линейной форме. При этом мы следовали формальному принципу, согласно которому лучшим вариантом карты является такой, на котором характер взаимодействия мутантных аллелей удается изобразить при наименьшем числе разрывов. На круговой карте максимальной комплементации (рис. 3) лучшим местом для "разрезания" является граница двух комплонов, у которой оканчиваются отрезки прямых, изображающие 11 аллелей и разрывается лишь 1 линия, изображающая 2 некомплементирующие мутации. Наиболее удобным местом разрыва на минимальной карте (рис. 4) является граница двух веронов, пересекающая 2 отрезка, изображающих 5 мутантных аллелей.

Сравнивая полученные таким образом линейные карты минимальной и максимальной комплементации, следует отметить одинаковое направление полярности на этих двух картах, одинаковый общий порядок расположения аллелей. Однако карты минимальной и максимальной комплементации различаются по ряду параметров (табл. 7).

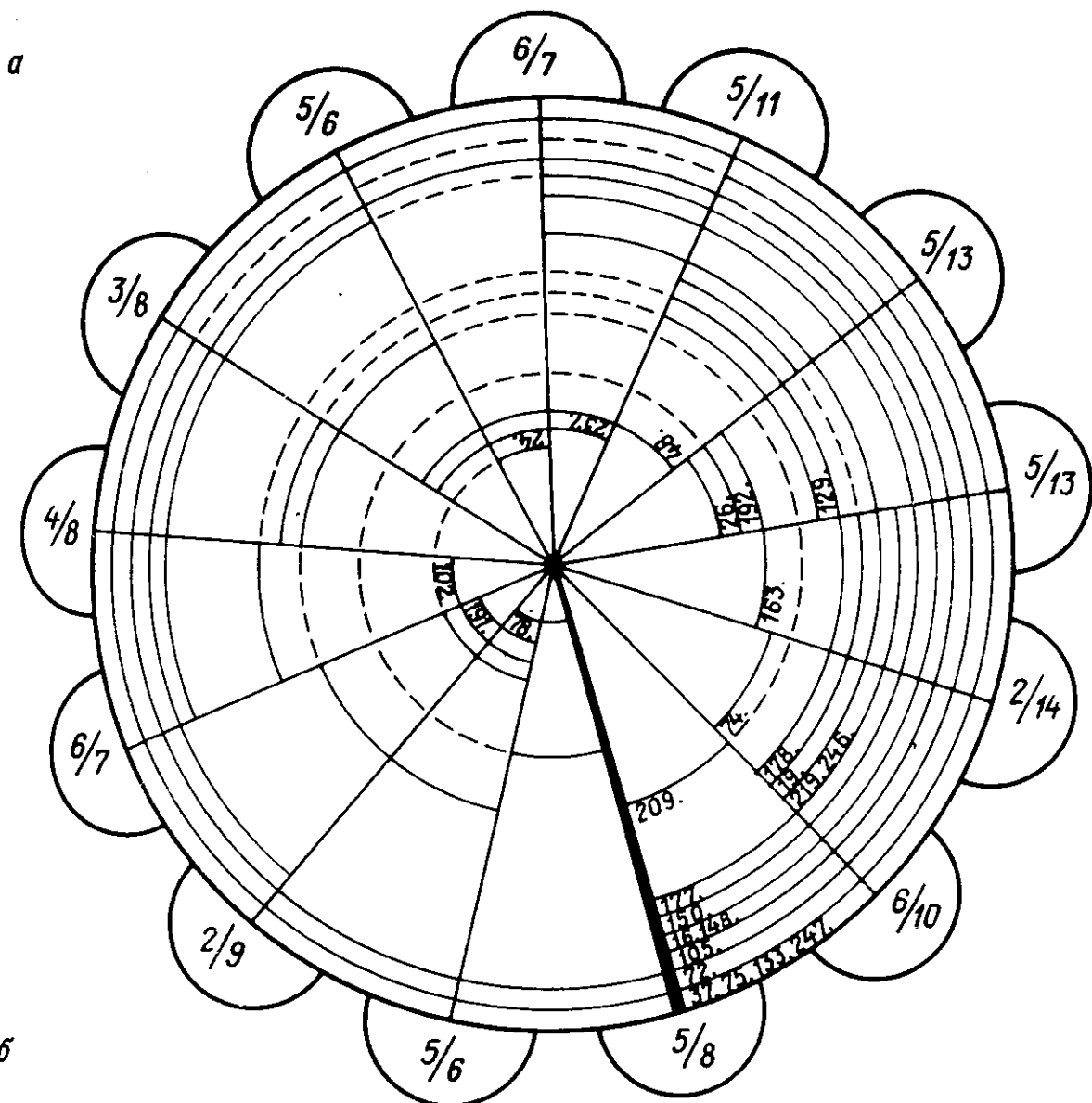
На карте минимальной комплементации 4, а максимальной - 6 веронов.



b

I		II		III		V		VI		
									191.	
								24.		
								78.102		
							48.			
						237.				
					26.					
				129.						
					163.192.					
209.										
	74.									
	19.177.									
		178.								
	246.									
	150.									
	219.									
16.										
148.										
105.										
72.										
37.75										
133.247.										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

Рис. 3. Полная карта максимальной комплементации для 26 аллелей гена *ade2*.  
 А - круговой вариант; Б - линейный вариант. Перекрывающиеся линии - некомплементирующие аллели, неперекрывающиеся - комплементирующие. Пунктирные линии - разрывы в группах комплементации. У границ комплонов на круговых картах отмечено число аллелей, относящихся к группам, не пересекающим (числитель) и пересекающим (знаменатель) границу комплона. Оптимальным местом "разрезания" является граница двух комплонов, где оканчивается наибольшее и разбивается наименьшее число групп комплементации.



b

		I		II		III		IV				
											78.	
									102.	191.		
										24.		
					48.	237.						
			192.									
			26.									
	74.	163.										
209.												
			129.									
	178.											
	119.											
	219. 246.											
177.												
150.												
16. 158.												
105.												
72.												
37. 75. 133. 247.												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

Рис. 4. Полная карта минимальной комплементации для 26 аллелей гена  $ade_2$ .  
Пояснения те же, что для рис. 3.

Различаются карты также по числу единиц комплементации, по числу групп, изображенных с разрывами. Интересно отметить, что на карте минимальной комплементации увеличивается число групп, изображаемых с разрывами. Причем разрывы появились в основном для групп, изображающих аллели миссенс

Сравнение основных параметров карт максимальной и минимальной комплементации для локуса  $ade_2$

Сравниваемые параметры (числа)	Карта комплементации	
	максимальной	минимальной
Всего групп . . . . .	21	21
Группы с разрывами . . .	2	8
Группы полярные . . . . .	6	6
Некомплементирующие аллели . . . . .	2	4
Единицы комплементации	11	13
Количество веронов . . .	6	4

(209, 24, 192 и др.). Возвращаясь к вопросу о возможной природе факторов, вызывающих изменчивость МАК, в связи с вышесказанным стоит заметить, что в нашем случае вряд ли изменчивость МАК индуцируется генами, подобными генам-антисупрессорам. Для них показано изменение МАК, не приводящее к значительному увеличению числа разрывов в группах комплементации (Сойдла, Инге-Вечтомов, 1966). Особенно существенным нам кажется различие в числе веронов, выделяемых на минимальной и максимальной картах. Правда, здесь следует учесть, что не все веронные тестеры, найденные Сойдла для гена  $ade_2$  (Сойдла, 1967), были включены в наши опыты, поэтому некоторые вероны определялись по положению мутантных аллелей, явно не подходящих для роли веронных тестеров (например, аллель I78 для верона III на карте максимальной комплементации). Однако первый верон, определяемый по положению аллели 209, которая на карте Сойдла и сотрудников (Сойдла и др., 1967) является веронным тестером, исчезает на карте минимальной комплементации, аллель 209 оказывается некомплементарной ряду аллелей, расположенных в правом конце карты.

Исходя из этого определение веронов следовало бы пересмотреть с тем, чтобы учесть особенности комплементационной активности веронных тестеров в условиях минимальной комплементации. Возможно, именно те вероны, которые удается определить на карте минимальной комплементации, являются показателями функционально различных участков белковой субъединицы.

### В ы в о д ы

1. Показано изменение характера МАК в локусе  $ade_2$  под действием неконтролируемых генотипических факторов.

Для количественной оценки изменчивости МАК аллели гена  $ade_2$  определяли Им - индекс изменчивости МАК. Корреляции величины Им с положением аллелей на карте МАК не обнаружено.

2. Обнаружены четкие различия в величинах Им для компаундов различных типов. Компаунды с одной супрессируемой и одной несупрессируемой аллелями имеют наибольшую величину Им.

3. При построении матрицы МАК наряду с оценками «+» и «-» использовали оценку «М» - модифицируемая комплементация. По полученной матрице построены карты минимальной и максимальной комплементации.

4. Анализ основных параметров карт максимальной и минимальной комплементации показал, что исходя из принципа определения веронов, при их выделении следует учитывать особенности комплементационной активности веронных тестеров в условиях минимальной комплементации.

5. Обсуждается возможная природа генетических факторов, вызывающих изменчивость МАК.

#### Summary

The varieties of interallelic complementation ( IAC ) in different experiments and for different segregants of the hybrids carrying the same alleles of  $ade_2$  gene were studied. Varieties of IAC were compared for the particular alleles studied and for various compounds of the alleles ( nonsense/nonsense, missense/nonsense, missense/missense ).

Matrices of IAC were constructed taking into the consideration the variability of IAC. Besides the traditional signs «+» and «-» a symbol «M» for variable complementation was introduced. The matrices obtained was converted into two complementation maps - the minimal and the maximal one.

An analysis of specificity of IAC differences among the various compounds studied and also the investigation of both the minimal and maximal complementation maps were used to discuss some properties of the modifier genes involved.

#### У к а з а т е л ь л и т е р а т у р ы

И н г е - В е ч т о м о в С. Г. Новые генетические линии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. - Вестник Ленингр. ун-та, 1963, № 21, с.117-125.

И н г е - В е ч т о м о в С. Г., К о ж и н С. А. Сравнение специфичности действия ультрафиолетовых и рентгеновых лучей на мутабельность дрожжей. - В кн.: Исследования по генетике, № 2. Л., Изд-во Ленингр. ун-та, 1964, с. 77-85.

И н г е - В е ч т о м о в С. Г., С и м а р о в Б. В. Связь супрессии и межallelной комплементации у *S.cerevisiae*. - В кн.: Исследования по генетике, № 3. Л., Изд-во Ленингр. ун-та, 1967, с.127-148.

И н г е - В е ч т о м о в С. Г. Супрессия. - В кн.: Вопросы молекулярной генетики микроорганизмов. М., "Наука", 1968, с. 52-76.

Меркурьева Е. К. Биометрия в животноводстве. М., "Колос", 1964, 311 с.

Мурашко Л. Н., Читавичюс Л. Б. Получение, изучение и природа ауксотрофных мутантов и дрожжей. — В кн.: Матер. II конф. молодых специалистов. Механизмы биологических процессов. Л., Изд-во Ленингр. ун-та, 1969, с. 14-15.

Неоднозначность действия геча. — В кн.: Исследования по генетике, вып. 4. Л., Изд-во Ленингр. ун-та, 1971, с. 13-36. Авт.: Инге-Вечтомов С. Г., Кожин С. А., Симаров Б. В., Сойдла Т. Р.

Павленко В. В., Сойдла Т. Р. Влияние повышенной концентрации ионов калия и магния на межallelную комплементацию у дрожжей. — "Генетика", 1967, № 1, с. 136-143.

Райпулис Е. П., Кожин С. А. Сравнение мутабельности локусов  $ad_1$  и  $ad_2$  у дрожжей под действием азотистой кислоты. — Труды Моск. о-ва испыт. природы, 1966, т. 22, с. 135-139.

Ратнер В. А., Родин С. И. Построение карт МАК при помощи ЭВМ. — "Генетика", 1971, т. VII, № II, с. 154-172.

Симаров Б. В., Миронова Л. Н., Инге-Вечтомов С. Г. Классификация мутаций-нонсенсов в локусе  $ade_2$  у дрожжей. — В кн.: Тез. междунар. конф. "Молекулярные механизмы генетических процессов". М., 1970, с. 61.

Сойдла Т. Р. Предварительная карта комплементации локуса  $ade_2$  у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. — "Генетика", 1965, № 3, с. 128-131.

Сойдла Т. Р., Инге-Вечтомов С. Г. Влияние генотипа на межallelную комплементацию и супрессию у дрожжей. — "Генетика", 1966, № 9, с. 141-159.

Сойдла Т. Р., Инге-Вечтомов С. Г., Симаров Б. В. Межallelная комплементация в локусе  $ade_2$  у дрожжей. — В кн.: Исследования по генетике, № 3. Л., Изд-во Ленингр. ун-та, 1967, с. 148-164.

Урбах З. Ю. Биометрические методы. М., "Наука", 1964, 445 с.

Grick F.H.C., Orgel L.E. The theory of inter-allelic complementation. — J. Mol. Biol., 1964, v.8, N 1, p.161-165.

Foley I.M., Giles N.H., Roberts C.F. Complementation at the adenylsuccinase locus in *Aspergillus nidulans*. — "Genetics", 1966, v.52, N 6, p.1247-1263.

Inge-Vechtomov S.G., Pavlenko V.V. Tri-allelic complementation and the subunit structure of protein. — "Nature", 1969, v.222, 1078-1079.

Supersuppressor induced interallelic complementation. — Zs. Vererbungslehre, 1966, v.98, N 4, p.375-384. Auth.: Inge-Vechtomov S.G., Simarov B.V., Soidla T.R., Kožin S.A.