

19. *Climie S. C., Friesen J. D.* Feedback regulation of the *rplJL-rpoBC* ribosomal operon of *Escherichia coli* requires a region of mRNA secondary structure // *J. Mol. Biol.*—1987.—198, N 2.—P. 371—381.
20. *Sor F., Bolotin-Fukuhara M., Nomura M.* Mutational alterations of translational coupling in the *L11* ribosomal protein operon of *Escherichia coli* // *J. Bacteriol.*—1987.—169, N 8.—P. 3495—3507.
21. *Overexpression* and purification of a biologically active rifampicin-resistant subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase / *J. D. McKinney, J. Lee, R. E. O'Neill, A. Goldfarb* // *Gene.*—1987.—58, N 1.—P. 13—18.
22. *Sor F., Nomura M.* Cloning and DNA sequence determination of the *L11* ribosomal protein operon of *Serratia marcescens* and *Proteus vulgaris*: translational feedback regulation of the *Escherichia coli* *L11* operon by heterologous *L1* proteins // *Mol. and Gen. Genet.*—1987.—210, N 1.—P. 52—59.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев

Получено 11.05.88

УДК 577.113:633.71

## РЕСТРИКЦИОННОЕ КАРТИРОВАНИЕ ХЛОРОПЛАСТНОЙ ДНК ПЯТИ ВИДОВ *Nicotiana*

И. К. Комарницкий, А. М. Самойлов, Ю. Ю. Глеба

**Введение.** Хлоропластная (хл) ДНК рода *Nicotiana*, как и большинство хлДНК высших растений, характеризуется наличием двух инвертированных повторов, между которыми находятся большая и малая уникальные последовательности [1]. К настоящему времени определена полная нуклеотидная последовательность хлДНК *N. tabacum* (155844 п. н.) и картирована значительная часть генов тРНК, рибосомных 23S, 16S, 4,5S, 5S РНК, а также генов ряда белков [2]. Выполнена также работа по рестриktionному картированию пластома 17 видов *Nicotiana*. Большинство изменений, найденных в пластома этих видов, явилось, по-видимому, результатом точечных мутаций, малых вставок, делеций и (или) перемещений [3—7].

В настоящей работе приведены результаты рестриktionного картирования еще пяти видов *Nicotiana*, три из которых австралийского — *N. eastii* (*N. eas.*), *N. occidentalis* (*N. occ.*), *N. exigua* (*N. ex.*) — и два американского — *N. undulata* (*N. und.*), *N. chinensis* (*N. chin.*) — происхождения.

Таблица 1

Величина (г. п. н.) и стехиометрия (в скобках) фрагментов хлоропластной ДНК *N. tabacum*, полученных при гидролизе эндонуклеазами рестрикции  
Size in kbp and stoichiometry (in brackets) of *N. tabacum* chloroplast DNA fragments produced by *Sat*I, *Pst*I, *Xho*I, *Pvu*II restriction endonucleases

<i>Sat</i> I	<i>Pst</i> I	<i>Xho</i> I	<i>Sma</i> I	<i>Pvu</i> II
27	25	21,9	27,8	42,9
23,8	22,2(×2)	17,9	25,7	19,6
22	18,85(×2)	15,6	17,4	17,5
19,7	9,6	12,7(×2)	11,6(×2)	14,3
16,7	8,25(×2)	11,75	9,5	12,1
15,2	7,0	10,5	8,6	10,3
13,2	5,1(×2)	9,2	8,5	10,0
11,4	4,3	8,9	7,4	8,6
5,6	3,1	5,8	5,3(×2)	6,35
2,9	2,4	5,4	3,6(×2)	4,1(×2)
0,65	1,83	3,8	3,0	3,5
—	1,5(×2)	3,1(×2)	2,9	2,5(×2)
—	1,25	3,0(×3)	2,3	—
—	—	2,6	0,9	—
—	—	1,55	—	—
—	—	0,8(×3)	—	—
—	—	0,7	—	—

**Материалы и методы.** ДНК получали общепринятым методом [8] из хлоропластов, выделенных в среде с высокой концентрацией NaCl [9]. Рестрикции вели в общем объеме 25 мкл с 10 единицами *SalGI* (*S*), *PsiI* (*Ps*), *SmaI* (*Sm*), *PvuII* (*Pv*), *XhoI* (*X*). Рестриктазу *Pv* любезно предоставил К. Г. Скрябин, *Sm* — А. Янулайтис, остальные — промышленные препараты НПО «Фермент» (Вильнюс). Электрофорез проводили в 0,4—0,8 %-ной агарозе в трис-боратной буферной системе в течение 20—24 ч.

Стратегия рестриционного картирования состояла в том, что в качестве контроля всегда использовали рестриционные фрагменты хлДНК *N. tabacum* (табл. 1), физическая карта которой известна для восьми рестриктаз [1, 3, 10—12]. В некоторых случаях (*N. chin.*) локализацию сайтов устанавливали путем двойного перевара хлДНК. При этом в качестве маркеров использовали *HindIII*- и *EcoRI*-перевары ДНК фага лямбда.

**Результаты и обсуждение.** Проведенные анализы показали, что хлДНК австралийских видов и *N. und.* имеют набор S-рестриктов, идентичный таковому *N. tabacum*. В то же время в пластоме *N. chin.* отсутствует фрагмент 2 размером 23,8 т. п. н. Вместо него обнаружены два фрагмента соответственно массой около 19 и 5 т. п. н. (рис. 1, а, дорожка 1; табл. 2). Дополнительный сайт рестрикции анализировали путем двойного перевара хлДНК *N. chin.* рестриктазами S/X. Сооставление картин электрофоретического анализа и определение молекулярных масс фрагментов позволили картировать этот сайт на кольцевой молекуле хлДНК (рис. 2). Нами практически не обнаружено различий между хлДНК австралийских видов и *N. tabacum* при использовании рестриктазы *Ps*, что не совпадает с результатами, полученными ранее для других австралийских видов [6]. Пластом австралийских видов имеет одну копию фрагмента 25,0 т. п. н. У *N. chin.* их два, второй возник в результате объединения одной копии фрагмента 22,2 т. п. н. и фрагмента около 4 т. п. н., характерного для *N. tabacum* (рис. 1, б, дорожка 1; табл. 2). У *N. und.* отсутствует фрагмент 25,0 т. п. н. и одна копия фрагмента 3 величиной 18,5 т. п. н. Вместо них в хлДНК *N. und.* имеется одна копия фрагмента размером около 44 т. п. н. На физической карте хлДНК табака фрагменты 25,0 и 18,5 т. п. н. находятся рядом, из чего следует, что фрагмент 44 т. п. н. *N. und.* является суммой вышеназванных фрагментов. Кроме того, в сравнении с табаком и австралийскими видами в пластоме *N. und.* фрагмент *Ps8* увеличен на 0,3 т. п. н., а *P10* — на 0,1 т. п. н. (табл. 2).

Особый интерес представляют фрагменты *X5*, *Sm6*, *Pv5* хлДНК *N. chin.* и *N. und.* (рис. 1, в—д, дорожки 1, табл. 2). По сравнению с табаком в них имеются делеции в 0,175; 0,6 и 1,3 т. п. н. для *X*, *Sm* и *Pv* соответственно. Аналогичные результаты получены при изучении пластома *N. knighthiana* и *N. paniculata* для рестриктазы *Sm* [3]. Пластомы двух вышеназванных видов не различались между собой при переваре *BamHI* и *EcoRI*. Только рестрикция с помощью *HindIII* позволила обнаружить различие по одному сайту, что было использовано нами для выяснения происхождения пластома *N. rustica* [13]. Оказалось, что пластом *N. rustica* происходит от *N. knighthiana*, а не как предполагалось ранее [3]. Кроме того, рестрикция ферментами *HindIII*, *BamHI*, *EcoRI* не позволяет отличить пластомы *N. rustica* и *N. chin.* Следовательно, можно предположить, что по материнской линии этот вид также происходит от *N. knighthiana*.

Нам удалось также разделить в 0,8 %-ной агарозе ранее считавшиеся идентичными два фрагмента *Sm11* (рис. 1, е, дорожка 1; табл. 2) и в связи с этим детализировать рестриктивную карту хлДНК *N. tabacum* для рестриктазы *Sm*.

Рестриктивное картирование пластома показало, что фрагменты хлДНК, *N. eas.*, *N. ex.*, *N. occ.* в большей степени схожи с пластомом *N. suaveolens* и *N. gossei*, а не с *N. megalosiphon* (табл. 2). К этому выводу мы пришли, сравнивая полученные результаты и данные лаборатории Р. Херрманна [6]. В той же лаборатории было показано, что

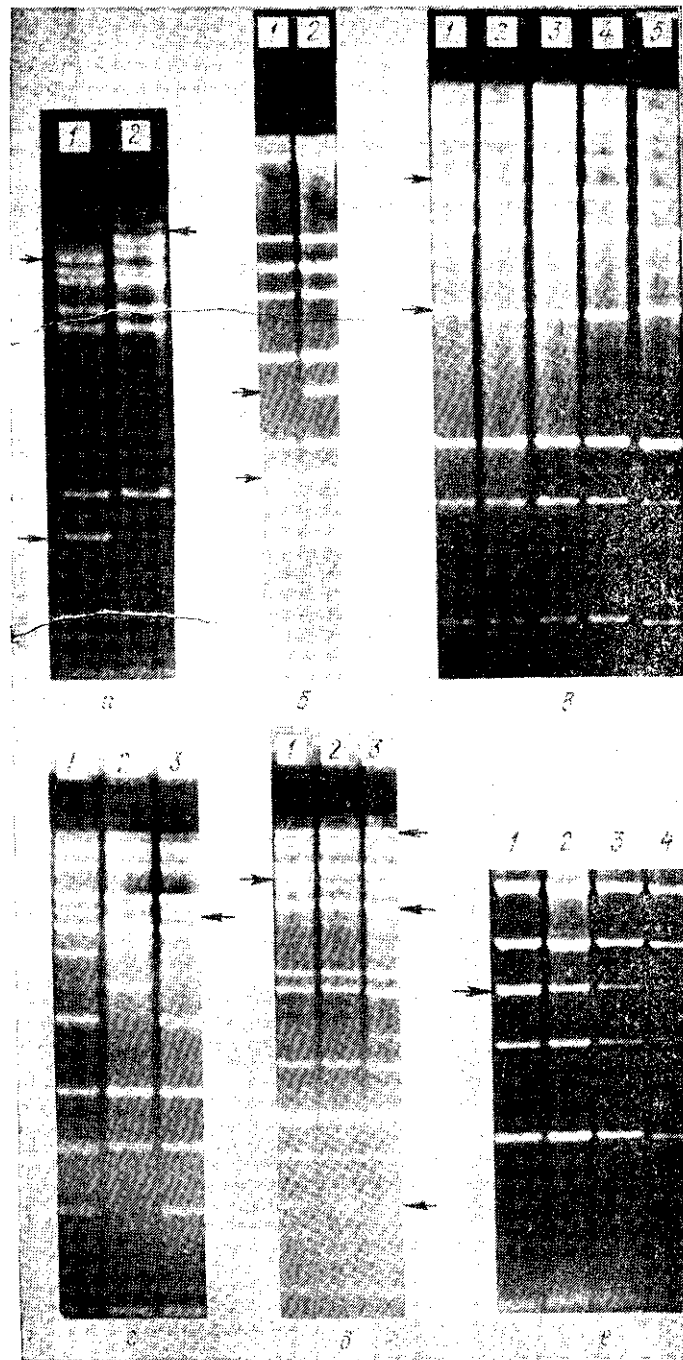


Рис. 1. Электрофореграммы фрагментов хлоропластной ДНК пяти видов *Nicotiana*: а — *SalGI* (1 — *N. chin.*; 2 — *N. tabacum*, *N. und.*, *N. ex.*, *N. eas.*, *N. occ.*); б — *PstI* (1 — *N. chin.*; 2 — *N. tabacum*, *N. ex.*, *N. occ.*, *N. eas.*); в — *PvuII* (1 — *N. chin.*; 2–4 — *N. occ.*, *N. ex.*, *N. eas.*; 5 — *N. tabacum*); г — *SmaI* (1 — *N. tabacum*; 2 — *N. chin.*; 3 — *N. ex.*, *N. eas.*, *N. occ.*); д — *XhoI* (1 — *N. chin.*; 2 — *N. tabacum*; 3 — *N. occ.*, *N. ex.*, *N. eas.*); е — *SmaI* (1 — *N. tabacum*; 2 — *N. ex.*, *N. eas.*; 3 — *N. occ.*; 4 — *N. und.*)

Fig. 1. The electrophoregram of chloroplast DNA fragments of five *Nicotiana* species: а — *SalGI* (1 — *N. chin.*; 2 — *N. tabacum*, *N. und.*, *N. ex.*, *N. eas.*, *N. occ.*); б — *PstI* (1 — *N. chin.*; 2 — *N. tabacum*, *N. ex.*, *N. occ.*, *N. eas.*); в — *PvuII* (1 — *N. chin.*; 2–4 — *N. occ.*, *N. ex.*, *N. eas.*; 5 — *N. tabacum*); г — *SmaI* (1 — *N. tabacum*; 2 — *N. chin.*; 3 — *N. ex.*, *N. eas.*, *N. occ.*); д — *XhoI* (1 — *N. chin.*; 2 — *N. tabacum*; 3 — *N. occ.*, *N. ex.*, *N. eas.*); е — *SmaI* (1 — *N. tabacum*; 2 — *N. ex.*, *N. eas.*; 3 — *N. occ.*; 4 — *N. und.*)

фрагментная вариация локализована в семи районах пластидной хромосомы, четыре из которых — в большой, один — в малой уникальных областях и по одному — в инвентированных повторах. Больше всего изменений отмечено в трех областях большой уникальной последовательности — центральной ее части и двух областях возле повторов [6].

Таблица 2  
Анализ пластома пяти видов *Nicotiana*  
*Plastome analysis of five Nicotiana species*

Энзим	Виды, имеющие наборы рестриктивных фрагментов, не различимых с <i>N. tabacum</i>	Виды с измененными наборами фрагментов	Изменение строения относительно <i>N. tabacum</i> (т.п.н.)
<i>SaiGI</i>	<i>und., ex., eas., occ.</i>	<i>chin.</i> (рис. 1, а, дорожка 1)	$S_2^1$ (18,8) и $S_2^2$ (5) вместо $S_2$ (23,8)
<i>PstI</i>	<i>ex., occ., eas.</i>	<i>chin.</i> (рис. 1, б, дорожка 1)	Отсутствует сайт между $Ps_2$ и $Ps_8$ , $Ps_{10}$ (2,45) вместо $Ps_{10}$ (2,4)
—	—	<i>und.</i> (данные отсутствуют)	$Ps_1^1$ (44) вместо $Ps_1$ (25) и $Ps_3$ (22,2)
—	—	—	$Ps_8$ (4,6) вместо $Ps_8$ (4,3)
—	—	—	$Ps_{10}$ (2,5) вместо $Ps_{10}$ (2,4)
<i>PvuII</i>	—	<i>eas., ex., occ.</i> (рис. 2, в, дорожки 2—4)	$Pv_9$ (6,2) вместо $Pv_9$ (6,35)
—	—	<i>chin.</i> (то же, дорожка 1)	$Pv_5$ (10,8) вместо $Pv_5$ (12,1)
<i>SmaI</i>	—	<i>ex., eas., occ.</i> (рис. 1, г, дорожка 3), <i>chin.</i> (то же, дорожка 2)	Отсутствует сайт между $Sm_8$ (7,4) и $Sm_{12}$ (2,9)
—	—	<i>chin.</i> (то же)	Отсутствует сайт между копией $Sm_9$ (5,3) и $Sm_{13}$ (2,3)
—	—	—	Отсутствует сайт между второй копией $Sm_9$ (5,3) и $Sm_{15}$ (0,9) ( $Sm_{15}$ <i>N. tabacum</i> на рис. 1, г, не показан)
—	—	<i>und.</i> (данные отсутствуют)	Отсутствует сайт между $Sm_8$ (7,4) и $Sm_{12}$ (2,9)
—	—	<i>ex., eas.</i> (рис. 1, е, дорожка 2), <i>occ., und.</i> (то же, дорожки 3, 4)	$Sm_{15}$ (0,92) вместо $Sm_{15}$ (0,9)
—	—	<i>und.</i> (то же, дорожка 4)	$Sm_{13}$ (2,35) вместо $Sm_{13}$ (2,3)
<i>XhoII</i>	—	<i>occ., ex., eas.</i> (рис. 1, д, дорожка 3)	Отсутствует сайт между $X_1$ (21,9) и $X_{15}$ (2,1)
—	—	—	$X_7^1$ (8,9) вместо $X_7$ (9,2)
—	—	—	$X_{10}^1$ (5,35) вместо $X_{10}$ (5,4)
—	—	<i>chin.</i> (то же, дорожка 1)	$X_5^1$ (11,6) вместо $X_5$ (11,75)

Выявленные нами изменения пластома пяти видов локализованы в тех же областях, за исключением повторов. Большинство изменений, как считают авторы работ [6, 7], связано с делециями (вставками). Однако природа их возникновения в пластидной ДНК пока не ясна.

По мнению одних [14], это может произойти в результате неправильного расположения пар при репликации. Другие исследователи относят возникновение изменчивости за счет рекомбинации и связанных с ней процессов, а также перестановки [15]. К настоящему времени достоверно не идентифицированы вставки в хлДНК. Попытки же обнаружить рекомбинацию у высших растений в естественных условиях, например, у *Oenothera* и *Pelargonium* с двуродительским наследованием цитоплазмы пока безуспешны [16, 17]. Исходя из этого, Херрманн

[6] полагает, что пластидная дивергенция, в частности у *Nicotiana*, очевидно, произошла в результате ошибок при репликации.

Данных о районе инициации репликации хлДНК высших растений пока недостаточно [18]. Имеющиеся сведе-

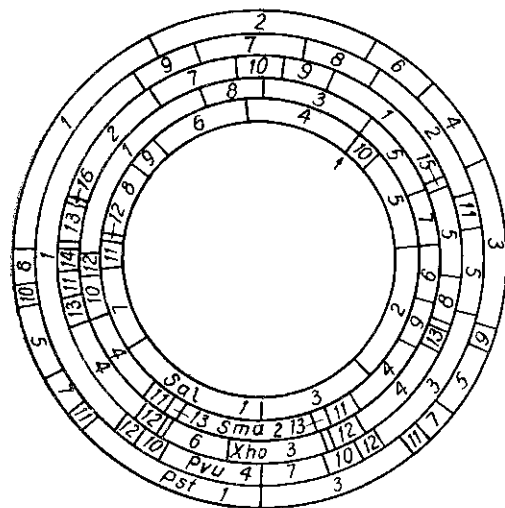


Рис. 2. Рестрикционная карта хлоропластной ДНК *N. rustica*. Стрелкой показан дополнительный сайт рестрикции для *SalGI* в сравнении с *N. tabacum*

Fig. 2. The restriction map of *N. rustica* chloroplast DNA. The arrow indicates an additional restriction site for *SalGI* as compared to *N. tabacum*.

ния об этом районе у хлДНК *Euglena gracilis* указывают на его локализацию внутри уникального сегмента вблизи повтора [19—21], а именно в области, особенно склонной к внутримолекулярному изменению [22, 23]. Изменения в самих повторах всегда симметрично затрагивают оба повтора. Из этого был сделан вывод о существовании механизма коррекции копии, обеспечивающего идентичность удвоенного сегмента [6]. Суть его состоит в появлении изменений в результате, например, ошибок при репликации одного повтора, которое во всех случаях должно обеспечивать такие же изменения во втором повторе.

Утрату коррекции наблюдал Майер [24] у пластомных мутантов хламидомонады, содержащих делеции в пограничных уникальных последовательностях возле повторов. Эти пластомы копировались, но утратили способность к коррекции копии, что приводило к асимметричности повторенных сегментов. Возможно, что оба процесса, репликация и коррекция копии, связаны и находятся под контролем пограничных с повторами уникальных последовательностей.

Изменение в центре большой уникальной последовательности может быть вызвано формированием однокольцевых димеров типа голова — хвост, которые могут соединиться в этой части хромосомы [25]. Изменения в малой уникальной области менее существенны. Возникновение их вызвано, в основном, точечными мутациями, например, отсутствием в пластоме *N. und.* сайта для рестриктазы *Ps* (табл. 2) и появлением дополнительных сайтов для *BglI* (*N. raimondii*) и *KpnI* (*N. suaveolens*, *N. megalosiphon*) [6].

Мы анализировали пять из 70 [26] видов *Nicotiana*, относящихся к трем секциям и двум под родам. Сопоставляя его с полученными ранее результатами [3—6], можно выделить некоторые характерные черты пластома рода *Nicotiana*. Во-первых, для австралийских видов, объединенных в подрод *Suaveolens*, характерно отсутствие сайта между *X1/X15* в сравнении с американскими видами того же подрода и видами других подродов (*Tabacum* и *Rustica*). Во-вторых, большая уникальная область пластома американских видов подродов *Tabacum* и *Rustica* в меньшей степени подвержена изменениям, чем видов подро-

да *Suaveolens*. В-третьих, из вышеуказанного следует, что пластом рода эволюционировал двумя независимыми путями, что подтверждает высказывание таксономистов о том, что в формировании рода принимали участие роды *Cestrum* и *Petunia* [26].

#### RESTRICTION MAPPING OF CHLOROPLAST DNAs OF FIVE NICOTIANA SPECIES

I. K. Komarnitsky, A. M. Samoylov, Yu. Yu. Gleba

N. G. Kholodny Institute of Botany,  
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

#### Summary

Restriction mappings for five *Nicotiana species* of Australian origin — *N. eastii*, *N. occidentalis*, *N. exigua* and American one — *N. undulata*, *N. chinensis* have been constructed using *Sal* G1, *Xho* I, *Pst* I, *Pvu* II and *Sma* I restriction endonucleases.

Most of changes found in chloroplast DNA are positioned in the central part of the large single-copy region and are adjacent to inverted repeats. These changes are, probably, due to deletions and/or insertions. On the contrary, the changes in the small single-copy region are mainly caused by point mutations.

1. Seyer P., Kowallik K. V., Herrmann R. G. A physical map of *Nicotiana tabacum* plastid DNA including the location of structural genes of ribosomal RNAs and the large subunit of ribulose biphosphate carboxylase (oxygenase) // *Curr. Genet.*— 1984.—3, N 4.— P. 189—204.
2. The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression / K. Shinozaki, M. Ohme, M. Tanaka et al. // *EMBO J.*— 1986.—5, N 9.— P. 2043—2049.
3. Kung S. D., Zhu Y. S., Shen G. F. *Nicotiana* chloroplast genome. 3. Chloroplast DNA evolution // *Theor. and Appl. Genet.*— 1982.—61, N 1.— P. 73—79.
4. *Nicotiana* chloroplast genome. 4. *N. accuminata* has larger inverted repeats and genome size / G. F. Shen, K. Chen, M. Wu, S. D. Kung // *Mol. and Gen. Genet.*— 1982.—187, N 1.— P. 12—18.
5. *Nicotiana* chloroplast genome. 5. Construction, mapping and expression of clone library of *N. otophora* chloroplast DNA / Y. S. Zhu, E. J. Duvall, P. S. Lovett, S. D. Kung // *Ibid.*— P. 61—66.
6. Physical mapping of plastid DNA variation among eleven *Nicotiana species* / Y. Salts, R. G. Herrmann, N. Peleg et al. // *Theor. and Appl. Genet.*— 1984.—69, N 1.— P. 1—14.
7. Tassopulu D., Kung S. D. *Nicotiana* chloroplast genome. 6. Deletion and hot spot—a proposed origin of the inverted repeats // *Ibid.*— 67, N 2—3.— P. 183—193.
8. Kolodner R., Tewari K. K. The molecular size and conformation of the chloroplast DNA from higher plant // *Biochim. et biophys. acta.*— 1975.—402, N 3.— P. 372—390.
9. Bookjans G., Stunman B. M., Henningsen K. W. Preparation of chloroplast DNA from pea plastids isolated in a medium of high ionic strength // *Anal. Biochem.*— 1984.—141, N 1.— P. 244—247.
10. Jurgenson J. E., Bourque D. P. Mapping of rRNA genes in an inverted repeat in *Nicotiana tabacum* chloroplast DNA // *Nucl. Acids Res.*— 1980.—8, N 16.— P. 3505—3516.
11. Fluhr R., Edelman M. Physical mapping of *Nicotiana tabacum* chloroplast DNA // *Mol. and Gen. Genet.*— 1981.—181, N 4.— P. 484—490.
12. Derivation of a physical map of chloroplast DNA from *Nicotiana tabacum* by two-dimensional gel and computer-aided restriction analysis / M. Hildebrand, J. E. Jurgenson, R. T. Ramage, D. P. Bourque // *Plasmid.*— 1985.—14, N 1.— P. 64—79.
13. Комарницкий И. К., Глеба Ю. Ю., Гребенкин А. П. ДНК хлоропластов как маркер в генной систематике рода *Nicotiana* // *Геном растений: Тез. докл. науч. конф.*— Черновцы: Изд-во Черновил. ун-та, 1983.— С. 37.
14. On the formation of spontaneous deletions: the importance of short sequence homologous in the generation of large deletion / A. M. Albertini, M. Hofer, M. P. Calos, J. H. Miller // *Cell.*— 1982.—29, N 2.— P. 319—328.
15. Calos M. P., Miller J. H. Transposable elements // *Ibid.*— 1980.—20, N 4.— P. 579—595.
16. Chiu W. L., Sears B. Recombination between chloroplast DNAs does not occur in sexual crosses of *Oenothera* // *Mol. and Gen. Genet.*— 1985.—198, N 3.— P. 525—528.
17. Metzlaiff M., Börner T., Hagemann R. Variations of chloroplast DNAs in the genus *Pelargonium* and their biparental inheritance // *Theor. and Appl. Genet.*— 1981.—60, N 1.— P. 37—41.

18. *A. Petunia hybrida* chloroplast DNA region close to one of the inverted repeats shows sequence homology with the *Euglena gracilis* chloroplast DNA region that carries the putative replication origin // J. M. de Haas, K. J. M. Boot, M. A. Haring et al. // Mol. and Gen. Genet.—1986.—202, N 1.—P. 48—54.
19. Koller B., Delius H. Origin of replication in chloroplast DNA of *Euglena gracilis* located close to the region of variable size // EMBO J.—1982.—1, N 4.—P. 995—998.
20. Schlunegger B., Stutz E. The *Euglena gracilis* chloroplast genome: structural features of a DNA region possibly carrying the single origin of DNA replication // Curr. Genet.—1984.—8, N 6.—P. 629—634.
21. Ravel-Chapius P., Heizmann P., Nigon V. Electron microscopic localization of the replication of *Euglena gracilis* chloroplast // Nature.—1982.—300, N 5887.—P. 78—81.
22. Palmer J. D., Thompson W. F. Chloroplast DNA rearrangements are more frequent when a large inverted repeat sequence is lost // Cell.—1982.—29, N 4.—P. 537—550.
23. Teeri T. H., Saura A., Lokki J. Inversion polymorphism in pea chloroplast DNA // Theor. and Appl. Genet.—1985.—69, N 5—6.—P. 567—570.
24. Mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* with physical alterations in their chloroplast DNA // A. M. Myers, D. M. Grant, D. K. Rabert et al. // Plasmid.—1982.—7, N 1.—P. 133—151.
25. Kolodner R., Tewari K. K. Inverted repeats in chloroplast DNA from higher plants // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1979.—76, N 1.—P. 41—45.
26. Псарева Е. Н. О роде никоциана // Тр. Всесоюз. ин-та табака и махорки.—1963.—Вып. 153.—С. 10—153.

Ин-т ботаники им. Н. Г. Холодного АН УССР, Киев

Получено 10.03.87

УДК 575.24:576.851.5

## РЕСТРИКЦИОННЫЙ АНАЛИЗ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ ФРАГМЕНТА ХРОМОСОМЫ *Bacillus subtilis*, ЧАСТИЧНО СУПРЕССИРУЮЩЕГО МУТАЦИИ В ГЕНАХ *recB recC Escherichia coli*

Ф. Ш. Гизатуллин, Б. И. Барабанщиков

**Введение.** Мутации в генах *recB recC E. coli* приводят к снижению активности АТФ-зависимой ДНКазы и нарушению процессов репарации и гомологичной рекомбинации [1, 2]. Аналогичные мутации описаны и для *Bac. subtilis* [3, 4], однако с биохимической и генетической точек зрения они изучены менее полно по сравнению с мутациями *E. coli*.

Ранее мы сообщили, что нам удалось клонировать в плазмиде *pBR322* фрагмент хромосомы *Bac. subtilis*, полностью восстанавливающий экзонуклеазную активность АТФ-зависимой ДНКазы клеток *E. coli recB21 recC22*. Присутствие гибридной плазмиды *pKU1* повышало устойчивость мутантных клеток к митомицину, но практически не влияло на частоту рекомбинации при конъюгации [5]. В данной работе приведены результаты по дальнейшей характеристике клонированного фрагмента, установлению его местоположения на хромосоме *Bac. subtilis* и комплементации описанных ранее для данного микроорганизма мутаций *recE5* [3] и *recH342* [4], снижающих активность АТФ-зависимой ДНКазы и нарушающих процессы репарации и рекомбинации.

**Материалы и методы.** В работе использованы штаммы *Bac. subtilis* 168 (протроф), *SB-25 (recH342)*, *IA334 (recE5)*, *QB934 (tre glyB argC trpC)*, а также штаммы *E. coli* *JC5519 (recB21 recC22)*, *JC1583 (recB21 recC22 sbcB)*.

Хромосомную ДНК выделяли по Мармуру [6], плазмидную — щелочным методом [7]. Трансформацию клеток *E. coli* плазмидами проводили по Коэну [8], получение компетентных клеток *Bac. subtilis* — по модифицированному методу Спидайзена [6], трансдукцию фагом *AR9* — по [9].

Активность АТФ-зависимой ДНКазы определяли по [5].