

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ КОНЦЕПЦИЯ МУТАГЕНЕЗА

Корогодин В.И., Корогодина В.Л., Файси Ч.
Объединенный институт ядерных исследований

Каковы закономерности мутагенеза — процесса изменения мутирования генов, совокупность которых составляет наследственный аппарат организмов? Ответить на этот вопрос ученые стремятся уже десятки лет. Было много попыток, в разной степени удачных, но каждая из них отражала лишь отдельные стороны этого грандиозного, постоянно совершающегося в природе процесса, без которого не было бы самой биологической эволюции.

Хотя теория эволюции насчитывает около полутора веков, в ней еще много неясного. Однако специалисты в области популяционной генетики и макроэволюции быстро накапливают знания о закономерностях, которым подчинено эволюционное движение организмов, а возможные варианты макроэволюции широко обсуждаются в литературе. Иначе обстоит дело с мутагенезом. То, что растениям и животным свойственна наследственная изменчивость, знали, конечно, еще первые животноводы и земледельцы. Давно известны и две главные формы такой изменчивости: рекомбинационная, возникающая в результате скрещивания, и мутационная, не связанная с гибридизацией. Однако закономерности мутационного процесса еще только начинают вырисовываться. Термин «мутация» для обозначения внезапно возникающих новых форм растений и животных предложил в конце прошлого века голландский ботаник и эволюционист Г. де Фриз. Он заимствовал этот термин у палеонтологов, называвших мутациями (от лат. *mutatio* — изменение) резкие смены представителей ископаемой флоры и фауны в последовательных слоях геологических отложений. Мутанты появляются, считал де Фриз, в результате резких изменений «наследственных зачатков». Время от времени тот или иной вид вступает в «мутационный период» и порождает множество новых форм, дающих начало новым разновидностям и видам. Но какова природа наследственных зачатков и что вызывает их изменения, было неизвестно.

Вторичное открытие законов Г. Менделя (1900) и выход в свет книги де Фриза (1901) стимулировали поиски мутантов. Вскоре были описаны десятки мутантов у разных живых организмов: от бактерий до млекопитающих. Однако ни в одном из этих случаев не было уверенности, что это — действительно мутанты, а не расщепившиеся гибриды, т. е. продукты когда-то происшедшего скрещивания.

Столь же ненадежными оказались и первые попытки ответить на вопросы, что собой представляют мутации и почему они происходят. Так, еще Ч. Дарвин упоминает о представлениях, согласно которым «в известные эпохи зачатки существующих видов могли подвергаться химическому действию некоторых специфических, их окружающих молекул и давать начало новым формам»¹, а в конце прошлого века Н. Ф. Гамалея описал свои наблюдения над влиянием химических веществ, взаимодействующих с «живым нуклеином», на наследственную изменчивость бактерий. В начале века английский генетик В. Бэтсон выступил с «теорией присутствия — отсутствия», согласно которой мутации — результат разрушений, исчезновения отдельных зачатков — генов. Среди некоторых микробиологов вплоть до середины века бытовала «адаптационная концепция» мутагенеза, согласно которой гены мутируют под влиянием внешней среды так, чтобы обеспечить лучшую приспособленность к ней организмов. Однако эксперименты, как будто

¹ Дарвин Ч. Собр. соч. / Пер. К.А. Тимирязева. Т. 1. М., 1907. С. 63.

подтверждающие эти представления, оказались результатами методических погрешностей.

Для строгого исследования мутагенеза требовались хорошо изученные в генетическом отношении объекты и тонкая техника экспериментов, позволяющая отличить истинных мутантов от рекомбинантов. Сделать это удалось лишь после того, как Т.Г. Морган ввел в генетику новый, чрезвычайно удобный объект — плодную мушку дрозофилу, показал (вместе со своими учениками), что наследственные факторы — гены — линейно расположены в хромосомах, и создал хромосомную теорию наследственности.

К 20-м годам в школе Моргана уже были идентифицированы многие гены дрозофилы, получены генетически чистые линии, разработаны методики для количественного учета новых мутаций.

ПЕРВЫЕ ФАКТЫ И ГИПОТЕЗЫ

Первые опыты Г. Меллера и Е. Альтенбурга (1919) по определению частот мутирования у дрозофилы показали, что спонтанно мутации возникают очень редко — с частотами 10^{-5} — 10^{-6} (один мутантный ген на 10^5 — 10^6 мух). При этом чем выше температура среды, тем больше частота мутирования.

Эти опыты послужили началом обширной программы по выяснению природы генов и их изменчивости. Сам Меллер не придавал особого значения обнаруженному им «температурному мутагенезу» — по той причине, что, во-первых, трудно «дозировать» воздействие температуры на мутагенез, а, во-вторых, невозможно установить, связано ли увеличение частоты с действием повышенной температуры непосредственно на сами гены или на физиологические процессы у дрозофилы, что лишь опосредованно влияет на генетический аппарат. Поэтому для основных исследований Меллер избрал ионизирующие излучения, природа взаимодействия которых с веществом уже была хорошо известна, которые можно было бы точно дозировать и для которых легче избежать артефактов, связанных с использованием повышенных температур.

Результаты опытов по радиационному мутагенезу Меллер доложил на Генетическом конгрессе в Берлине, в 1927 г.² Главные выводы были следующие. Ионизирующие излучения могут во много раз повышать частоту мутирования генов. Облучение вызывает такие же мутации (судя по проявлению), как и возникающие спонтанно. Это позволяло думать, что облучение лишь ускоряет мутационный процесс, и потому радиационный мутагенез может служить моделью для изучения спонтанной изменчивости генов. С этой поры излучения прочно входят в арсенал методов, применяемых в исследованиях по мутагенезу.

Спустя десять лет итоги исследований по радиационному мутагенезу подвели Н. В. Тимофеев-Ресовский, К. Г. Циммер и М. Дельбрук³, сформулировав так называемую термодинамическую концепцию мутационного процесса. Анализ собственных и полученных в других лабораториях результатов по зависимости частоты возникновения генных мутаций от дозы облучения, длины волны излучения, распределения дозы во времени, а также от ряда сопутствующих факторов, в частности температуры, показал, что при облучении мутации генов происходят как одноэтапные события, вызываемые поглощением одного кванта излучения. Сопоставление частот индуцированных облучением мутаций со спонтанными частотами, а также влиянием на мутагенез повышенных температур привело авторов к выводу, что мутации генов представляют собой конформационные преобразования молекул, требующие значительной энергии активации. В опытах с облучением эта энергия поставляется

² Меллер Г. Дж. Избр. работы по генетике. М.; Л., 1937. С. 178—205.

³ Timofeeff-Ressovsky N. W., Zimmer K. G., Delbruck M. // Nachr. Ges. Wiss. Gottingen. Math. phys. Kl. 1935. Bd. 6. S. 189—245.

ионизацией (и, возможно, возбуждением), а в обычных условиях — тепловым движением молекул. Сам ген, согласно этим воззрениям, — нечто вроде белковой макромолекулы, способной принимать различные конформации. Тем самым как будто решались вопросы и о природе радиационного, температурного и спонтанного мутагенеза. Различия в частотах спонтанного мутирования разных генов объяснялись разной энергией активации, требующейся для их конформационных переходов. Казалось, и феномен множественного аллелизма (когда один ген может принимать несколько мутантных форм), и существование «обратных мутаций» (переход мутантного гена в исходную, «дику» форму) нашли свое объяснение. Эта работа произвела большое впечатление в научных кругах, что ярко отражено в книге Э. Шредингера «Что такое жизнь с точки зрения физики?» (1946).

Но последующее развитие генетики и выяснение молекулярного строения генов показали, что ни сам ген, ни природа его изменчивости не имеют ничего общего с белковыми молекулами и их конформационными преобразованиями. Научное значение этой работы свелось в основном к строгому описанию количественных закономерностей радиационного мутагенеза, что в дальнейшем послужило основой принципа попадания и мишени. Что же касается спонтанного мутагенеза, то эта работа выявила лишь одну (правда, важную) его особенность — частота возникновения спонтанных мутаций намного выше, чем следовало бы ожидать, если бы это мутирование было обязано природному радиационному фону.

КОНЦЕПЦИЯ ДИСБАЛАНСА

Согласно термодинамической концепции мутационного процесса, повышение температуры должно увеличивать частоту генных мутаций, а понижение — уменьшать. Однако уже в конце 30-х годов было установлено, что у дрозофилы частота мутирования генов увеличивается как при повышении, так и при понижении температуры по сравнению с оптимальной. Исходя из этого Ю. Я. Керкис предложил «физиологическую концепцию» мутагенеза, впоследствии дополнительно развитую М. Е. Лобашевым⁴.

Эта концепция основывалась на допущении, что спонтанные мутации возникают в результате разного рода физиологических и биохимических процессов в клетках и отражают степень неупорядоченности этих процессов. А если это так, то возрастание такой неупорядоченности, сопровождающее отклонение условий обитания от оптимальных, должно усиливать спонтанный мутагенез.

Несколько натурфилософский характер этих представлений компенсировался их эвристичностью. Действительно, из физиологической концепции следовало, что наивысшая мутабельность должна приходиться на границы ареала обитания видов, что могло иметь эволюционное значение. Разного рода внешние воздействия, например отклонение температуры от оптимальной, должны повышать мутабельность вследствие нарушения физиологического гомеостаза клеток и организмов. Правда, большие затруднения при проверке этой концепции связаны с определением степени оптимальности условий для данного организма, особенно при одновременном изменении нескольких параметров. И, тем не менее, идеи, заложенные в физиологической концепции, получили в последующем экспериментальную разработку. В 60-е годы выявились два направления. Во-первых, это изучение мутационных эффектов стресса — состояния организмов и клеток, очевидно связанного с физиологическим дискомфортом. В нашей стране это направление развивается в Институте цитологии и генетики СО АН СССР и непосредственно связано с именем Ю.Я. Керкиса, работавшего там в последние годы жизни. Во-вторых, это изучение генетических последствий дисбаланса пулов нуклеотидов или скоростей

⁴ Керкис Ю. Я. // Усп. сокр. биол. 1940. Т. 12. № 1. С 143—159; Л о б а ш е в • М. Е. // Вест. Ленингр. ун-та. 1947. № 8. С. 10—29.

синтеза ДНК и белка, идущее сейчас в ряде лабораторий, но связанное с физиологической концепцией лишь логически.

В период, разделяющий появление физиологической концепции и начало экспериментальной разработки дисбаланса, в генетике произошел ряд событий, равных по значению только открытию генов и созданию хромосомной теории наследственности. Это открытие полового процесса у грибов и бактерий, разработка методов их генетического анализа и определения частот мутирования их генов; выяснение генетической роли ДНК и ее структуры; расшифровка кода генетической информации; выяснение механизмов синтеза белка; конкретизация на молекулярном уровне понятия «ген» и путей передачи наследственной информации от генов к признакам и от родителей к потомкам; открытие репарации ДНК от повреждений и взаимосвязи трех основных генетических процессов — репликации, репарации и рекомбинации ДНК. Короче говоря, за этот период родилась и созрела новая научная дисциплина — молекулярная генетика. Весь облик генетики коренным образом изменился. От поиска закономерностей генетических явлений перешли к изучению их молекулярной природы.

Выяснение строения генов и расшифровка их функций в жизни клеток позволили установить молекулярные события, лежащие в основе мутаций. Это — замена, вставка или выпадение в гене одного или нескольких нуклеотидов. Каждый ген, мутируя, может порождать множество аллелей, различающихся числом или последовательностью нуклеотидов. Обратные мутации — такие изменения ранее мутировавшего гена, которые приводят к частичному или полному восстановлению его исходных функций. Конкретизировано классическое утверждение о том, что мутации возникают в результате конвариантной редупликации генетических структур, или, как часто говорят, «ошибок репликации» ДНК. Подтвердилось и представление Меллера, согласно которому искусственные мутагены вызывают лишь такие мутации, которые возникают спонтанно, только со значительно меньшей частотой. Однако второе допущение Меллера о том, что искусственные мутагены лишь ускоряют природный мутагенез, вряд ли можно считать правильным: частоты мутаций разных генов при воздействии мутагенов меняются не пропорционально частотам их спонтанного мутирования. Все это теперь хорошо известно и вошло в учебники.

Но изучение молекулярной природы гена и его изменчивости не вскрыло закономерностей спонтанного мутагенеза. Прорыв в эту область наметился лишь в конце 50-х годов, когда был обнаружен феномен «бестиминовой гибели» бактерий.

Клетки, неспособные самостоятельно синтезировать тимин (один из нуклеотидов, из которых строятся молекулы ДНК) в результате мутации гена, контролирующего его синтез, могут размножаться лишь в питательной среде, содержащей этот нуклеотид. В бестиминовой среде бактерии не размножаются и постепенно погибают. Если же в среде тимин присутствует в очень малом количестве, то клетки могут несколько раз поделиться, причем в культуре возникает множество самых разных мутантов, намного больше, чем у таких же бактерий в сбалансированной по тимину среде. Такой «валовой мутагенез» у дефектных по тимину бактерий изучали С. Е. Бреслер с сотрудниками (1970). Это явление логично было объяснить дисбалансом нуклеотидов: если в клетках нарушено необходимое для нормальной репликации ДНК соотношение концентраций нуклеотидов (аденин, гуанин, тимин, цитозин), то возрастает вероятность ошибок репликации, на место недостающего нуклеотида подставляется другой или образуется пробел», частота мутаций возрастает.

В ходе обстоятельного изучения дисбаланса нуклеотидов на модельных системах (репликация ДНК фагов *in vitro*) и живых клетках (бактерий, дрожжей, высших растений и животных) выяснилось, что мутагенный эффект наблюдается как при недостатке, так и при избытке отдельных нуклеотидов: дисбаланс приводит к увеличению частоты не только генных мутаций, но и мутаций хромосом или

рекомбинаций⁵.

Другой пример дисбаланса — нарушение оптимального соотношения скоростей синтеза ДНК и белка. Если у бактерий избирательно снизить скорость синтеза ДНК, например налидиксовой кислотой, частота генных мутаций возрастает. По мнению Г. Е. Фрадкина⁶, обнаружившего и тщательно изучившего это явление, в его основе лежит нарушение процессов репарации ДНК: репарационные ферменты не успевают ликвидировать разрывы ДНК, возникающие в ходе ее репликации, что и вызывает разного рода мутации.

Близок к мутагенным эффектам дисбаланса и мутагенез, вызываемый в клетках стрессовыми ситуациями. Известно, что стресс на клеточном уровне нарушает физиологические и биохимические процессы, в том числе и синтез ДНК. Р.И. Салганик, изучающий с группой сотрудников «стрессовый мутагенез» у бактерий, обсуждает ряд молекулярных механизмов, повышающих при стрессе частоту рекомбинаций, суть которых, в конечном счете, сводится к различного рода проявлениям дискоординации нормально протекающих в клетках генетических процессов⁷.

Логически стройная и весьма правдоподобная с точки зрения молекулярных механизмов дисбалансная концепция мутагенеза имеет один серьезный недостаток: с ее позиций трудно объяснить, почему увеличение частот мутаций при дисбалансе по-разному выражено для разных генов одной и той же клеточной популяции. Ведь у разных генов механизмы редупликации абсолютно идентичны, а соотношения четырех нуклеотидов сходны. Значит, дисбаланс нуклеотидов должен в равной мере повышать частоты мутирования разных генов. Но это не наблюдается ни у бактерий, ни у дрожжей — объектов, достаточно хорошо изученных в этом отношении. Чем же объяснить эти различия?

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ КОНЦЕПЦИЯ

Вряд ли можно сомневаться, что дисбаланс нуклеотидов, как и дисбаланс скоростей синтеза ДНК и белка, усугубляют ошибки репликации ДНК, но определяет ли этот механизм все особенности «дисбалансного мутагенеза» и, прежде всего, его генную специфичность? Ведь дисбаланс не ограничивается влиянием только на ход репликации ДНК, он сказывается на множестве клеточных процессов, в том числе и на регуляции активности многих генов. В литературе же еще четверть века назад начали появляться сообщения о влиянии функционального состояния генов на различные генетические события.

Напомним, что гены всех без исключения организмов могут находиться в трех функциональных состояниях: неактивном (репрессия), когда обе цепи ДНК образуют двойную спираль, как бы защищенную от внешних воздействий, особенно у эукариот, молекулами специальных белков, так что ген «молчит»; активном (дерепрессия), когда белковая «защита» снята, цепи ДНК раскручены и на одной из них идет синтез молекул информационной РНК; и в состоянии репликации, когда двойная спираль ДНК раскручивается и на обеих цепях идет синтез ДНК-копий. Регулировать функциональное состояние тех или иных генов удастся, меняя условия культивирования клеток. Еще в 60-е годы обнаружилось, что если синхронизировать деление бактерий и в разные сроки кратковременно облучать их ультрафиолетовыми лучами, то по мере репликации ДНК мутационный спектр меняется — чаще мутируются то одни, то другие гены. Измененная мутабельность как бы скользит по молекуле ДНК, совпадая с точкой репликации. Явление это, указывающее на связь индуцированной мутабельности гена с его функциональным состоянием, использовали

⁵ Genetic consequences of nucleotide pool imbalance. N. Y., 1985.

⁶ Фрадкин Г.Е. Жизнеспособность, радиочувствительность, мутабельность клеток и метаболическая ДНК. М., 1983.

⁷ Салганик Р.И. // Генетика. 1987. Т. 23. № 6. С. 1050—1063

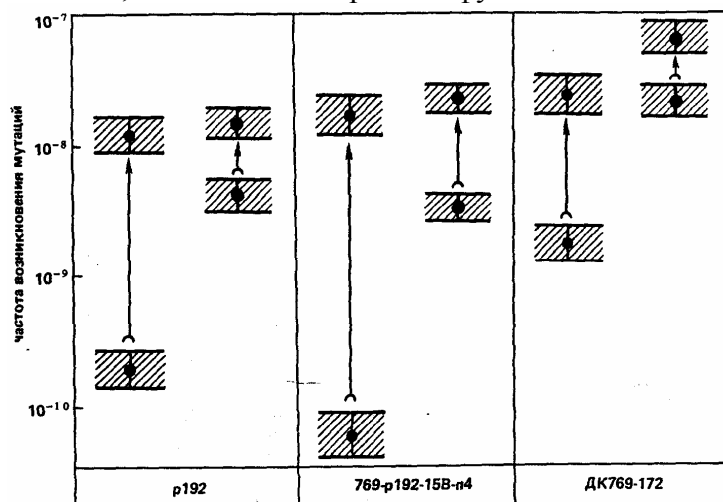
для картирования хромосом некоторых бактерий.

Несколько раньше на клетках дрожжей выяснилось, что гены в активном состоянии чаще вступают в рекомбинацию, чем репрессивные. А в опытах на бактериях установили, что активные гены гораздо чаще мутируют при действии УФ-света и химических мутагенов, чем неактивные, и что процессы фотореактивации после УФ-облучения значительно эффективнее идут на активных генах. Наконец, уже в 80-х годах обнаружили, что темновая репарация повреждений ДНК у клеток млекопитающих в культуре также значительно эффективнее осуществляется на работающем гене, чем на гене, находящемся в состоянии покоя⁸.

Заинтересовавшись этими фактами, мы провели серию экспериментов, чтобы выяснить, как влияет функциональное состояние гена на его мутабельность в условиях дисбаланса нуклеотидов.

В наших опытах использовались гаплоидные клетки дрожжей-сахаромицетов — низших эукариот, у которых генетический аппарат организован примерно так же, как у высших растений и животных. Для создания дисбаланса пулов нуклеотидов мы взяли мутанты с дефектом одного из генов, контролирующих синтез аденина, неспособные обеспечивать себя этим нуклеотидом. Такие клетки хорошо размножаются в среде, содержащей аденин, и быстро прекращают делиться без него. Разработав специальную технику эксперимента, мы определяли частоту возникновения реверсов (т.е. клеток, у которых восстанавливалась способность самостоятельно синтезировать аденин) в одной и той же культуре дрожжей при сбалансированном пуле нуклеотидов и при остром дефиците по аденину.

Отметим, что реверсы могут возникать за счет мутаций двух типов: «обратных» мутаций первоначально нарушенного гена (локусные мутации) и «прямых» мутаций в генах-супрессорах (супрессорные мутации). Регуляция активности этих генов обеспечивается разными механизмами. Так, в среде с аденином гены, контролирующие его синтез, подавлены, и только истощение аденина активирует их. Гены-супрессоры, обычно контролирующие синтез транспортной или рибосомальной РНК, вероятно, активны постоянно, независимо от того, есть в среде аденин или нет. Переноса клетки из среды с аденином в среду без аденина и определяя в обоих случаях частоты локусных супрессорных мутаций, мы смогли изучить влияние дисбаланса нуклеотидов на частоту мутаций генов, находящихся в разных функциональных состояниях.



Частота возникновения мутаций в гене, контролирующем синтез аденина (показан цветом), и в генах-супрессорах у разных штаммов дрожжей-сахаромицетов, неспособных синтезировать аденин.

⁸ Clavilier L., Lunati M., Slonimski P. P. // C. R. Soc. Biol. (Paris). 1960. Vol. 154. P. 1970—1974; Lipschuti R., Falk R., Avigad C // Israel J. Medical Sci. 1964. Vol. 1. NS 2. P. 323-324; Herman R. K., Dworkin N. B. // J. Bacteriol. 1971. Vol. 106. NB 2. P. 543—550; Kolsch E., Starlinger P. // Z. Vererbungsl. 1965. Vol. 96. P. 304—306; Madhoni H. D., Bohr V. A., Hanawalt P. C // Cell. 1986. Vol. 45. P. 417—423.

Внизу — частота мутаций генов при избытке аденина в среде, вверху — при его отсутствии. Стрелки указывают на изменение частоты мутаций при переходе гена, контролирующего синтез аденина, из неактивного состояния в активное.

На среде без аденина (клетки здесь могли несколько раз поделиться за счет «остаточного роста»), где все интересующие нас гены находились в активном состоянии, частота их мутаций была примерно одинаковой (10^{-8} на клетку на деление). Однако в среде с аденином, где гены-супрессоры «работают», а гены, контролирурующие синтез этого нуклеотида, «выключены», частота мутирования генов-супрессоров уменьшалась всего в несколько раз, а аденинового гена — очень сильно. В целой серии опытов на дрожжах разных штаммов мы получили сходные результаты. Если в присутствии аденина гены, контролирующие его синтез, мутируют в десятки и сотни раз реже, чем гены-супрессоры, то в его отсутствие частота мутаций в обеих группах выравнивается. Дисбаланс по аденину резко повышает частоту мутаций в генах, контролирующих его синтез (от 15 до 150 раз для разных штаммов), и лишь незначительно (в 2—4 раза) — в генах-супрессорах.

Очевидно, что такую генную специфичность дисбалансного мутагенеза объяснить одним только дисбалансом нуклеотидов невозможно. И сначала мы попытались объяснить это тем, что активные гены намного чувствительнее к дисбалансу, чем молчащие⁹. Но каковы роли в общем эффекте функционального состояния генов и дисбаланса нуклеотидов?

Чтобы ответить на этот вопрос, А.И. Чепурной и Н. Михова-Ценова (1988) провели аналогичные эксперименты на штаммах дрожжей, способных самостоятельно синтезировать все нуклеотиды, но содержащих мутации, блокирующие синтез двух аминокислот — лейцина и лизина. Гены, контролирующие синтез лейцина, активны лишь при исчерпании в среде этой аминокислоты, что, однако, никак не сказывается на функциональном состоянии генов, контролирующих синтез лизина. Выращивая такие клетки в среде с лейцином (когда гены, контролирующие его синтез, подавлены) или в среде с его дефицитом (когда гены, контролирующие его синтез, активны), эти авторы определяли частоты возникновения мутаций в лейциновом гене, лизиновом гене и генах-супрессорах. По мере обеднения среды лейцином частота мутаций лейцинового гена повышалась в десятки раз, генов-супрессоров — в несколько раз, а гена, контролирующего синтез лизина, не менялась. Но дефицит по лейцину не может вызывать дисбаланс нуклеотидов! Следовательно, мутабельность генов связана в основном с их функциональным состоянием.

Напомним, что в опытах как с аденином, так и с лейцином определялась спонтанная мутабельность генов — без искусственных мутагенов. Единственным меняющимся параметром было содержание в среде аденина или лейцина, что регулировало генную активность. Это позволило предположить, что частота спонтанных мутаций в значительной мере обусловлена функциональным состоянием генов: активные мутируют намного чаще, чем находящиеся в состоянии репрессии. Эту систему представлений мы и назвали функциональной концепцией мутагенеза, так же, по-видимому, можно объяснить результаты, полученные недавно американскими исследователями на бактериях¹⁰.

Чем же обусловлено изменение спонтанной мутабельности генов, переходящих из неактивного состояния в активное? Скорее всего, тем же, что и другие упоминавшиеся выше события, частота которых связана с функциональной активностью генов, — подверженность действию физических и химических мутагенов, репарруемость ДНК и т. п. Конформация генов в активном состоянии резко меняется, ген как бы раскрывается и становится доступнее действию разных ферментов и внутриклеточных метаболитов, совокупный эффект которых и создает спонтанный

⁹ Ильина В.Л., Корогодин В.И., Файси Ч // Генетика. 1987. Т. 23. № 4. С. 637—642.

¹⁰ Cairns J., Overbaugh J., Miller S. // Nature 1988. Vol. 335. № 6186. P. 142—145.

мутационный фон. В этом отношении спонтанный мутагенез, видимо, мало отличается от других генетически значимых событий с участием ДНК: репарации и рекомбинации.

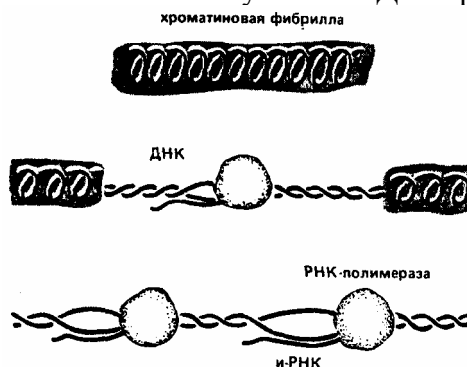


Схема изменений конформаций гена при его активации. Неактивные гены представляют собой компактные фибриллы (—30 м в диаметре), где спирализация ДНК накручена на гистоновые октамеры. При умеренной активации гена молекулы РНК-полимеразы вытесняют гистоновые октамеры на участке транскрипции, вследствие чего фибрилла в этой области разворачивается до 10 м в диаметре. При интенсивной транскрипции удаляются все гистоны, молекула ДНК вытягивается и на ее деспирализованных участках синтезируется информационная РНК.

ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

На примере генных мутаций мы проследили основные этапы развития представлений о мутационном процессе — от ранних натурфилософских построений до современных попыток понять механизмы и закономерности этого важнейшего свойства живых организмов.

Мы видели, как первые исследования мутагенеза на дрозофиле (а позже — и на других объектах) показали очень низкие частоты мутаций отдельных генов, а также важную закономерность мутационного процесса, проявляющуюся в различии частот мутаций разных генов у одних и тех же организмов. Физиологическая концепция подчеркивала, хотя и в общем виде, большую роль, которая принадлежит в мутационном процессе метаболизму клеток, его отклонениям от гомеостаза. Концепция дисбаланса стремилась конкретизировать понятие «физиологического дискомфорта», связывая мутабельность генов с нарушением нормальных условий синтеза ДНК, но, к сожалению, не могла объяснить различия в частотах мутирования разных генов и зависимость «мутационных спектров» от условий культивирования клеток. Наконец, функциональная концепция отражает роль функционального состояния генов в их ответах на эндогенный и экзогенный мутагенный фон, что, по-видимому, служит одной из причин различных мутационных спектров клеток при разных условиях их культивирования.

Попытаемся теперь наметить основные закономерности природного мутационного процесса. Можно думать, что ведущая роль здесь принадлежит структурной организации и функциональному состоянию генетического аппарата клеток. Роль же факторов внешней среды в мутагенезе троякая. Некоторые из них могут сами служить мутагенами (как, например, природный радиационный фон), вызывая дискретные генетические изменения. Другие способны влиять на стабильность физиологических и биохимических процессов, вызывая дисбаланс и, тем самым, повышая эндогенный мутагенный фон. Наконец, условия среды обитания определяют функциональное состояние клеток, подавляя одни и активируя другие гены и, следовательно, заметно меняя их восприимчивость к действию мутагенов разной природы. И хотя молекулярные события, приводящие к разного рода мутациям, а также молекулярные изменения генетических структур, эти мутации представляющие, во всех случаях одинаковы, частоты разных мутаций в разных ситуациях могут сильно различаться.

Если наша гипотеза о связи мутабельности генов с их функциональным

состоянием со временем подтвердится на разных объектах и, таким образом, приобретет статус всеобщности, старый вопрос о влиянии внешних условий на мутационный процесс будет решен. Естественно, что в этом случае мутагенез клеток надо будет характеризовать не одним числом, а распределением частот мутаций разных генов на пространстве режимов. Трудности экспериментального нахождения такого распределения полностью окупятся его эвристичностью.

Три следствия из этих представлений, достойные дальнейшей разработки, можно наметить уже сейчас.

Если гены мутируют тем чаще, чем интенсивнее они работают, то мутационный спектр клеток должен отражать функциональное состояние их генетического аппарата при данных внешних условиях. В таком случае ряд вопросов молекулярной генетики, связанных с регуляцией генов в живых клетках, можно будет изучать, используя в качестве маркеров частоты мутаций разных генов. Не исключено, что некоторые физические или химические факторы, усиливающие выраженность влияния функционального состояния генов на их мутабельность, смогут выступать здесь в роли своеобразного микроскопа.

Кроме того, как отмечалось выше, активные гены не только обладают повышенной мутабельностью, но и эффективнее участвуют в разных генетических процессах — репарации, рекомбинации. Возможно, функциональное состояние генома влияет и на такие события, как взаимодействие генов с мобильными генетическими элементами, транспозиция и амплификация генов. Это может иметь важное значение для дифференцировки клеток и тканей, синтеза иммуноглобулинов и других процессов, в совокупности представляющих собой онтогенез многоклеточных организмов.

И наконец, как отмечали еще в 1971 г. Р. К. Герман и Н. Дворкин, одни из первых авторов, описавших влияние функционального состояния генов на их мутабельность, явление это может существенно отразиться на нашем понимании эволюции. Представление о независимости мутагенеза от условия обитания должно будет уступить место признанию определенной «направленности» наследственной изменчивости, в том смысле, что гены, интенсивнее работающие в данных условиях, чаще мутируют и, тем самым, представляют собой более мобильный материал для естественного отбора, нежели стабильные, консервативные, в данных условиях не используемые. Для популяции это может означать большее разнообразие белков, контролируемых активными генами, что должно обеспечивать большую пластичность популяции и устойчивость при варьирующих внешних условиях¹¹.

¹¹ Эту мысль подсказал авторам Н.А. Колчанов.