

КАРИОТАКСОНЫ, НАДЕЖНОСТЬ ГЕНОМА И ПРОГРЕССИВНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭВОЛЮЦИЯ

Корогодин В.И.

Объединенный институт ядерных исследований

Владимир Иванович Корогодин, доктор биологических наук, профессор. Руководит сектором биологических исследований Лаборатории ядерных проблем Объединенного института ядерных исследований (г. Дубна). В 1957 г. обнаружил свойство живых клеток восстанавливаться от летальных повреждений, вызываемых ионизирующими излучениями. Основные работы — в области радиобиологии, радиационной генетики и теории информации. Автор книг: Проблемы пострадиационного восстановления. М., 1966; Применение принципа попадания в радиобиологии (совместно с Н. В. Тимофеевым-Ресовским и В. И. Ивановым). М., 1968 и др. Дважды публиковался в «Природе»: 1959, № 10 и 1968, № 10.

Наследственность, ее изменчивость и естественный отбор — вот тот фундамент, на котором строится здание будущей теории эволюции. Именно будущей — как отмечал Н.В. Тимофеев-Ресовский; посылки, содержащиеся в этой триаде, недостаточны, чтобы объяснить такой важнейший общебиологический феномен, как прогрессивное развитие жизни¹. Но дело не только в недостаточности посылок. В этой же работе Н. В. Тимофеев-Ресовский подчеркивал, что в теоретической биологии — а теория эволюции является главным ее разделом — еще не сформулированы определения ряда важнейших понятий и, прежде всего понятия, «биологический прогресс». Хотя интуитивно мы хорошо понимаем, что обычно называют этим термином, строгого определения прогрессивной биологической эволюции еще нет.

Сказанное справедливо также по отношению к ряду «ключевых событий» (так их можно называть), которые в ходе эволюции тех или иных групп организмов как бы внезапно, непредвиденно открывали новые пути для дальнейшего их развития. Те ключевые события, которые повышали общий уровень организации живых существ, А.Н. Северцов называл ароморфозами. К таким событиям относятся изменения структурной организации генетического аппарата живых организмов, возникновение сексуальности с последующей дифференциацией полов и ряд других. Но дело в том, что повышение общего уровня организации, вызванное такими событиями, и, тем более, его эволюционное значение обычно выявлялось лишь спустя много поколений. Иными словами, преимущества, к которым приводили эти ключевые события, были их следствием, а не причиной, и не могли объяснить осуществление самих событий. Однако, несмотря на семантические и логические трудности, связанные с определением базовых понятий теоретической биологии, прогрессивная биологическая эволюция — столь же очевидный факт, как и существование на нашей планете высших растений, млекопитающих и человека. Столь же несомненна связь — по крайней мере в большинстве случаев — прогрессивного развития с уже упоминавшимися и другими ключевыми событиями. И дело здесь не столько в поисках нового фактического материала, сколько в необходимости конкретизации форм этой связи и выявления причин, порождающих ключевые события. По-видимому, такая конкретизация приведет со временем к решению тех логических затруднений, о которых писал Н.В. Тимофеев-Ресовский.

В этой работе я хочу рассмотреть причины, которые в ходе эволюции могли приводить к повышению уровней структурной организации генетического аппарата клеток — генома, а также возможные эволюционные последствия таких событий.

¹ Тимофеев-Ресовский Н. В. Генетика, эволюция и теоретическая биология.— Природа, 1980, № 9, с. 62.

Исходным пунктом для рассмотрения этих вопросов нам послужит понятие «надежность генома» — так можно называть свойство, обуславливающее устойчивость генетического аппарата к неблагоприятным воздействиям. Если изменчивость генома поставляет материал для естественного отбора, то его надежность, уменьшая диапазон изменчивости, играет как бы стабилизирующую роль. Означает ли это, что надежность генома противостоит эволюции? Отнюдь нет: ниже будет показано, что в ряде случаев повышение надежности генома (вернее, те способы, которыми оно достигалось) вполне могли быть теми ключевыми событиями, которые открывали перед эволюцией новые пути.

МУТАГЕНЕЗ И НАДЕЖНОСТЬ ГЕНОМА

Как известно, у подавляющего большинства организмов наследственная, или генетическая, информация записана в молекулах дезоксирибонуклеиновой кислоты — ДНК. (У некоторых «мелких» вирусов носителями наследственной информации служат молекулы РНК.) Копирование генетического аппарата при размножении клеток и организмов не всегда абсолютно точное. С той или иной частотой в ходе копирования генома генетические структуры изменяются — возникают мутации.

Различают три основных вида мутаций — генные, хромосомные и геномные. Мутации генов (элементарных единиц наследственности) образуются в результате перестановки, выпадения или вставки отдельных нуклеотидов, слагающих молекулы ДНК. В случае мутаций хромосом (ядерных органелл, объединяющих всю совокупность генов) изменяются положения их участков (инверсии, симметричные обмены) или возникают различные аномалии (асимметричные обмены, делеции, фрагменты, кольца). Геномные мутации — это изменение числа хромосом в геноме.

Последствия разных мутаций для живых клеток и организмов различны. Так, мутации генов для клеток редко бывают смертельны: вызываемые ими изменения структур отдельных белков или регуляции их синтеза в большинстве случаев совместимы с жизнеспособностью; не приводят генные мутации и к заметным изменениям количества ДНК в геноме. Мутации хромосом, напротив, часто вызывают гибель клеток, а также уменьшение или увеличение содержания в клетках ДНК. Геномные мутации или летальны, или сильно изменяют количество ДНК в клетках.

Прогрессивное развитие организмов от первичных одноклеточных до высших растений и животных сопровождалось увеличением в геноме количества ДНК: ведь чтобы обеспечить репродукцию генетического материала в более разнообразных и сложных условиях, необходимо большое количество наследственной информации. Вот почему крайние представители царства жизни по содержанию ДНК в геноме отличаются в миллионы и десятки миллионов раз. По-видимому, в ходе эволюции именно хромосомные и геномные мутации были одним из главных источников увеличения в клетках генетической информации, тогда как генным мутациям принадлежала ведущая роль в подгонке, шлифовке генотипов к изменяющимся условиям обитания.

Если принять, что частота возникновения мутаций на единицу количества ДНК постоянна, то можно ожидать, что с увеличением содержания в клетках ДНК вероятность появления мутантных генов и хромосом на одно деление клетки будет возрастать. Как это скажется на судьбе клеток, организмов и популяций? Большое количество мутаций может ускорить эволюцию, но в то же время повысит частоту летальных событий. Поэтому генетики давно пришли к выводу, что мутационный процесс должен так контролироваться естественным отбором, чтобы частота мутирования у разных организмов сохранялась в некотором оптимальном интервале².

² Шапиро Н.И.— Зоол. ж., 1938, т. 17 с. 592; Берг Р. Л., Тимофеев-Ресовский Н.В.— Проблемы кибернетики, 19 вып. 5, с. 183.

Отрицательная роль слишком высокой мутабельности должна проявляться быстрее и ярче, чем отрицательные последствия излишне низкой частоты мутирования. Значит, контроль за мутабельностью со стороны естественного отбора направлен прежде всего на то, чтобы предотвратить ее повышение сверх некоторых предельно допустимых значений, пусть даже ценой снижения частоты мутирования ниже оптимального уровня, другими словами, здесь важно, чтобы надежность генома не была слишком низкой — а сколь она окажется высокой, уже менее существенно. Поэтому надежностью генома будем называть его устойчивость к действию разных факторов (эндогенной или экзогенной природы), вызывающих хромосомные и генные мутации — основной источник генетических изменений.

Инструментом, позволяющим определять надежность генома, может служить ионизирующее излучение. В опытах с действием на клетки ионизирующих излучений γ -квантов или рентгеновских лучей) можно точно количественно охарактеризовать чувствительность клеток разных организмов и мутабельность их хромосом, что не всегда удается при использовании других мутагенов³. Анализ результатов радиобиологических экспериментов позволил нам ввести меру надежности генома и оценить надежность генома организмов, относящихся к разным таксономическим группам.

НАДЕЖНОСТЬ ГЕНОМА И КАРИОТАКСОНЫ

Гибель клеток при действии ионизирующих излучений обусловлена главным образом хромосомными мутациями, вызванными в основном разрывами молекул ДНК. Располагая кривыми выживания каких-либо клеток, можно рассчитать величину такой дозы облучения D_0 (измеряемой в греях), когда в каждой клетке в среднем возникает по одному летальному повреждению. Чем больше доза облучения, тем выше устойчивость клеток к облучению, т. е. их радиорезистентность, поэтому величина D_0 может служить мерой радиорезистентности клеток. В зависимости от радиорезистентности живые организмы можно разделить на четыре группы, называемые радиотаксонами⁴.

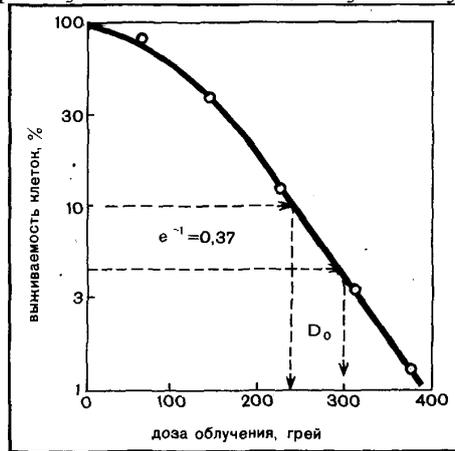
Уже давно обратили внимание на тот факт, что каждый радиотаксон объединяет организмы со сходной структурной организацией генетического аппарата⁵. По уровню структурной организации генетического аппарата большинство живых организмов также можно разделить на четыре группы, или кариотаксона. К 1-му кариотаксону относятся организмы, у которых геном представляет собой однителевую кольцевую молекулу РНК или ДНК (некоторые «мелкие» вирусы); 2-й кариотаксон составляют организмы с двунитевой кольцевой молекулой ДНК (остальные вирусы, а также бактерии и синезеленые водоросли); 3-й кариотаксон включает в себя эвкариоты-гаплонты, у которых двунитевые молекулы ДНК организованы в хромосомы, а вегетативно размножающиеся клетки содержат по одному набору таких хромосом (многие грибы и водоросли); наконец, к 4-му кариотаксону относятся эвкариоты-диплонты, у которых вегетативно размножающиеся клетки содержат по два идентичных набора хромосом (некоторые грибы и водоросли, а также все высшие растения и животные, включая человека). (Я не рассматриваю здесь структурную организацию генома гиперплоидных и многоядерных простейших, а полиплоидные растения отношу к 4-му кариотаксону, так как жизненный цикл у них такой же, что и у типичных эвкариот-диплонтов.) Изучение зависимости радиочувствительности таких

³ Timofeeff-Ressovsky N. W. Experimentelle Mutationforschung in der Vererbungslehre. Dresden u. Leipzig, 1937

⁴ Термин «радиотаксон» был предложен английским радиобиологом А. Г. Сперроу (Sparrow A. H., Underbrink A. G., Sparrow R. C.— Radiation Res., 1967, v. 32, p. 915).

⁵ Kaplan H. C., Moses L. E.— Science, 1964, v. 145, p. 21; Савич А. В., Шальнов М. И.— В кн. Системы надежности клеток. Киев, 1977, с. 46.

клеток от содержания в них ДНК показало, что каждый радиотаксон объединяет организмы, относящиеся преимущественно к одному и тому же кариотаксону.



Выживание клеток при облучении γ -лучами. Показан способ расчета величины дозы облучения (D_0), отражающей радиорезистентность клеток. Величина D_0 равна дозе облучения, уменьшающей выживаемость клеток в e раз [e — основание натуральных логарифмов]

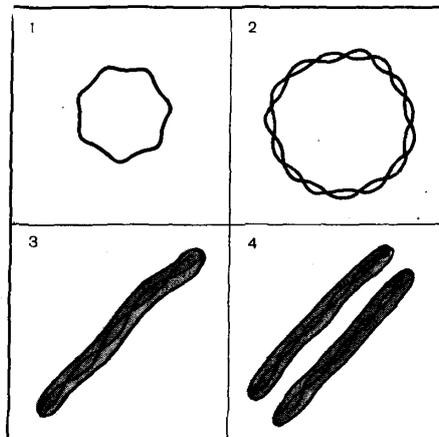
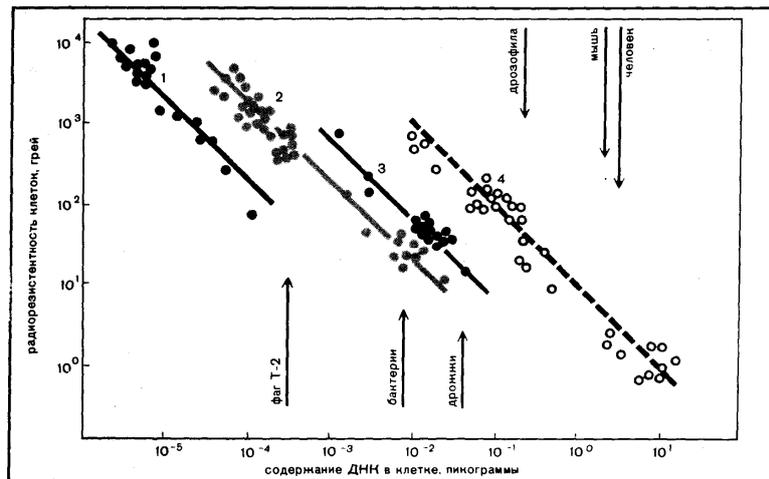


Схема строения основных форм структурной организации генетического аппарата клеток: 1 — одонитевые кольцевые молекулы РНК или ДНК (1-й кариотаксон); 2 — двунитевые кольцевые молекулы ДНК (2-й кариотаксон); 3 — двунитевые молекулы ДНК, организованные в хромосомы (3-й кариотаксон); 4 — удвоенные наборы хромосом (4-й кариотаксон).



Зависимость радиорезистентности, измеряемой дозой облучения (D_0), от содержания ДНК в клетках микроорганизме, растений и животных. Для групп клеток (радиотаксонов), которым соответствует каждая из прямых, радиорезистентность уменьшается пропорционально увеличению содержания ДНК. 1, 2, 3, 4 — номера радиотаксонов

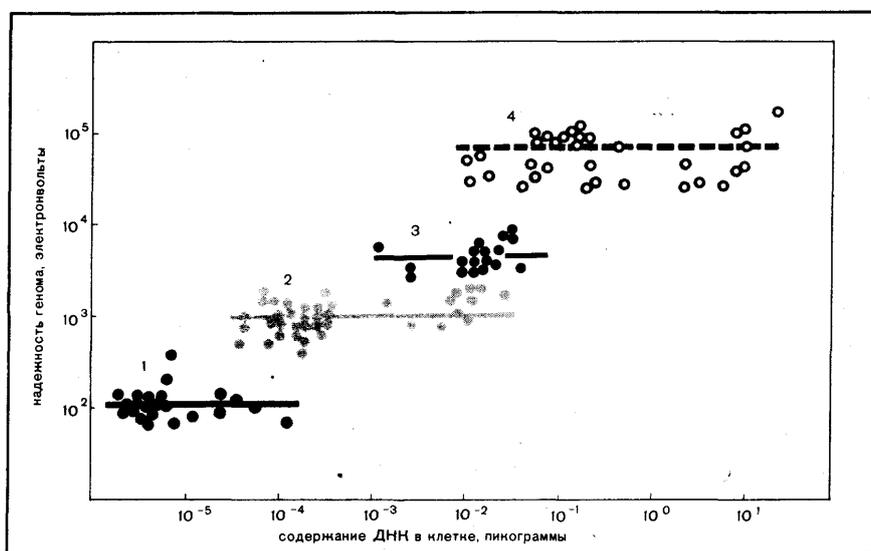
Чем больше требуется энергии излучения, чтобы повредить генетический аппарат, тем он устойчивее, надежнее, поэтому надежность генома можно выразить в

количестве энергии (обычно в электрон-вольтах), вызывающей в нем в среднем одно повреждение. Для оценки величины надежности генома можно использовать произведение D_0C , где C — содержание ДНК в клетке⁶. Среднее значение K этой величины для организмов, относящихся к одному кариотаксону, обозначает надежность генома организмов данного кариотаксона. При переходе от 1-го кариотаксона к 4-му надежность генома увеличивается почти в 600 раз (см. табл.).

Таблица

Содержание ДНК и надежность генома у организмов разных кариотаксонов

Кариотаксон	Содержание ДНК на геном,	Надежность генома, 100 эВ
1	$10^{-6} - 10^{-4}$	1,2
2	$3 \cdot 10^{-5} - 3 \cdot 10^{-2}$	10,7
3	$10^{-3} - 10^{-1}$	45,8
4	$10^{-2} - 10^2$	610,5



Зависимость надежности генома от содержания ДНК для организмов, относящихся к разным кариотаксонам. Для организмов, относящихся к одному и тому же кариотаксону, надежность генома колеблется около некоторого среднего значения, а при переходе от одного кариотаксона к другому быстро возрастает. 1, 2, 3, 4 — номера кариотаксонов.

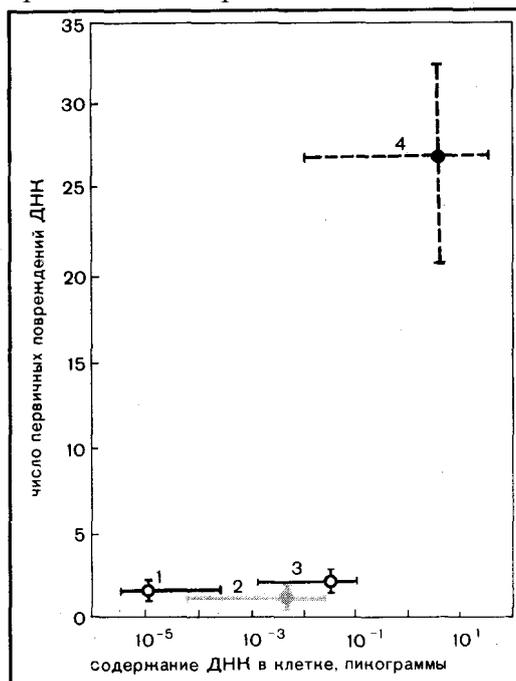
С усложнением структурной организации генома содержание ядерной ДНК в клетках организмов от 1-го и до 4-го кариотаксона увеличивается на четыре-шесть порядков. Если бы надежность генома не зависела от уровня его структурной организации, то с увеличением содержания ДНК устойчивость клеток к мутагенам катастрофически бы уменьшалась: так, в случае действия ионизирующих излучений для клеток человека D_0 была бы близка к 0,01 Гр, что в сотни раз меньше, чем в действительности. Этого, однако, не происходит: сенсibiliзирующий эффект увеличения содержания ДНК компенсируется ступенчатыми повышениями надежности генома при переходе от одного кариотаксона к другому.

Можно полагать, что в природных условиях уровень мутабельности у разных организмов обуславливается тремя основными факторами: величиной мутагенного фона, надежностью генома и содержанием в нем ДНК. Если принять, что мутагенный фон в разных регионах Земли во все времена был примерно одинаков, остаются два

⁶ Корогодин В. И. — Радиобиология, 1982, т. 22, с. 147.

последних фактора. Из определения надежности генома следует, что устойчивость клеток к мутагенным воздействиям, например к ионизирующим излучениям, равна $D_0=K/C$. Так как слишком высокая мутабельность должна неблагоприятно сказываться на судьбе популяции, то величина D_0 не может быть меньше некоторого критического значения. В таком случае максимальное количество ДНК, которое может содержаться в геноме организмов, относящихся к данному кариотаксону (т. е. при данном значении его надежности K), не может превышать некоторой пороговой величины. Такое максимально допустимое содержание ДНК будет определяться прежде всего надежностью генома и может увеличиваться только с увеличением его надежности: клетка не в состоянии содержать больше наследственной информации, чем допускает прочность ее носителя.

По мере увеличения, в ходе эволюции, количества ДНК в геноме у организмов данного кариотаксона, по мере его приближения к значению, когда уровень мутабельности угрожающе возрастал, надежность генома приобретала, по-видимому, все большую селективную ценность. Можно думать, что в зоне «критической мутабельности» естественный отбор подхватывал и закреплял любые изменения в организации генома, повышающие его надежность. «Геномные ароморфозы», когда происходило резкое повышение его надежности, существенно сдвигали вверх границы предельно допустимого содержания ДНК и тем самым открывали новые возможности для последующего увеличения количества генетической информации. В ходе эволюции такие события происходили по меньшей мере три раза; особенно возросла надежность генома при переходе от эвкариот-гаплонтов к эвкариотам-диплонтам.



Число первичных повреждений ДНК на геном при облучении дозой D_0 клеток организмов, относящихся к разным кариотаксонам [1, 2, 3, 4].

Конечно, нельзя считать, что эволюция шла по прямому пути от вирусоподобных организмов до высших растений и млекопитающих, а биологический прогресс был связан только с монотонным увеличением количества генетической информации. Организация генома предков современных прокариот еще дискутируется, а в ходе прогрессивной эволюции отдельных таксонов, по-видимому, количество ДНК на геном не только увеличивалось, но и уменьшалось⁷. Это, однако, не противоречит выводу, который можно сделать из сказанного выше: надежность генома —

⁷ Эйген М., Шустер П. Гиперцикл. М., 1982; Шальное М.И. — Радиобиология, 1977, т.17, с.652.

существенный фактор, лимитирующий сверху содержание в нем ДНК, а повышение надежности генома при переходе от одного кариотаксона к другому — необходимая предпосылка дальнейшего увеличения количества генетической информации. Такова возможная роль надежности генома в прогрессивной биологической эволюции.

ДИПЛОИД-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕПАРАЦИЯ И ЕЕ РОЛЬ В НАДЕЖНОСТИ ГЕНОМА

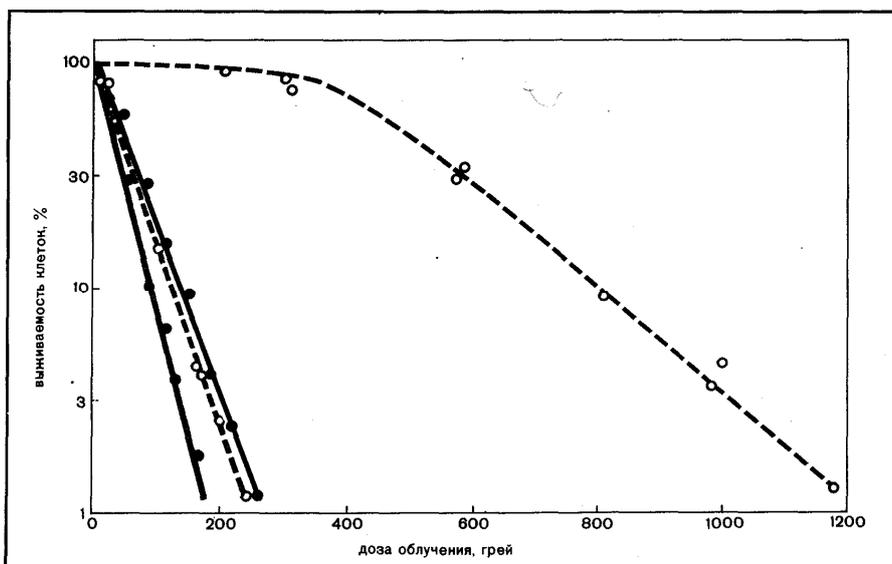
Высказанное выше положение, думаю, можно рассматривать как гипотезу, заслуживающую определенного внимания. Ведь хорошее соответствие кариотаксонов радиотаксонам не может быть простой случайностью — скорее всего, оно отражает общебиологическую закономерность. Поэтому вопрос о том, каковы механизмы, обеспечивающие повышение надежности генома с усложнением его структурной организации, также представляет большой интерес. При обсуждении этого вопроса мы опять обратимся к радиобиологии, сознавая, однако, что такой подход не столько даст нам окончательный ответ, сколько наметит пути дальнейших исследований.

Весьма обширные данные о возникновении одиночных и двойных разрывов ДНК при ее облучении в растворах и живых клетках позволяют считать, что надежность генома у представителей 1-го и 2-го кариотаксонов имеет физико-химическую природу: чтобы получить одиночный разрыв в молекуле ДНК или РНК, вызывающий повреждение одонитевой молекулы нуклеиновой кислоты, необходима доза около 100 эВ, а для образования двойного разрыва (что приводит к повреждению двунитевой ДНК) нужно около 1000 эВ. Эти данные соответствуют значениям надежности генома этих организмов. У представителей 3-го кариотаксона более высокая надежность генома (около 5000 эВ) может быть обусловлена наличием белкового матрикса хромосом, благодаря чему для их повреждения требуется больше энергии, чем для образования двойного разрыва в «голой» молекуле ДНК. Вот почему определение надежности генома по радиационно-химическим выходам первичных повреждений ДНК для первых трех кариотаксонов дает величины, близкие к единице,— роль физико-химического фактора в обеспечении их надежности ведущая.

Совершенно другая ситуация в случае 4-го кариотаксона: здесь на одно биологически значимое повреждение приходится до 30—40 двойных разрывов ДНК. Так как строение хромосом у организмов 3-го и 4-го кариотаксонов идентично, то резкое повышение надежности генома (в 10—20 раз!) при переходе от гаплоидных к диплоидным клеткам эвкариот физико-химическими факторами объяснить нельзя. Чем же обуславливается этот феномен?

При действии ионизирующих излучений более высокая надежность генома организмов 4-го кариотаксона проявляется в том, что диплоидные клетки эвкариот значительно устойчивее к облучению, чем гаплоидные. Это хорошо видно на примере дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, природных диплоидов, у которых можно искусственно получать вегетативно размножающиеся гаплоидные клетки. Этот факт известен давно. Вначале его объясняли тем, что большинство облученных гаплоидных клеток погибает якобы за счет генных рецессивных летальных мутаций, которые «безвредны» для диплоидных клеток. Позже было обнаружено, что такие мутации при облучении возникают крайне редко, а лучевую гибель как гаплоидных, так и диплоидных клеток дрожжей вызывают в основном однотипные повреждения, скорее всего, хромосомные мутации⁸. Но в диплоидных клетках содержится в два раза больше ДНК, чем в гаплоидных, и значит такие повреждения у них должны возникать в два раза чаще. Почему же диплоидные клетки дрожжей-сахаромицетов устойчивее к облучению, чем гаплоидные?

⁸ Корогодин В. И., Гудкова Н. К., Близник К. М.— Радиобиология, 1978, т. 18, с. 516.



Выживание гаплоидных (цветные линии) и диплоидных (черные линии) клеток дрожжей-сахаромицетов при действии ионизирующих излучений (пунктир) и тех же клеток, несущих мутацию (сплошные линии), которая блокирует диплоид-специфическую репарацию ДНК. Видно, что такие мутации мало сказываются на радиорезистентности гаплоидных клеток, но резко уменьшают устойчивость диплоидных клеток.



Колонии облученных гаплоидных (вверху) и диплоидных (внизу) клеток дрожжей-сахаромицетов. Разные формы и размеры колоний у диплоидов свидетельствуют об образовании нестабильных мутантов.

Еще в конце 50-х годов было установлено, что диплоидные клетки дрожжей-сахаромицетов, в отличие от гаплоидных, эффективно восстанавливаются от летальных лучевых повреждений. В ходе этого восстановления ликвидируются (репарируются) разрывы молекул ДНК⁹. Это позволяет считать, что высокая надежность генома у диплоидных клеток этих дрожжей (4-й кариотаксон) по сравнению с гаплоидными клетками этих же дрожжей (3-й кариотаксон) обусловливается диплоид-специфической репарацией, т.е. исправлением поврежденных участков ДНК, требующим для своего

⁹ Корогодина В.И. Проблемы пострадиационного восстановления. М. 1966; Luchnik A.N., Glaser V.M., Shestakov S.V.— Molecular Biol. Rep., 1977, v. 3, p. 437.

осуществления двух наборов хромосом. Этот вывод хорошо подтверждается тем фактом, что у дрожжей-сахаромицетов мутации генов, контролирующих диплоид-специфическую репарацию ДНК, мало сказываются на радиорезистентности гаплоидных клеток, но резко уменьшают устойчивость к облучению клеток диплоидных. Репарация ДНК присуща и другим организмам, относящимся к 4-му кариотаксону,— дрозофиле, мыши, человеку. Во всех этих случаях мутации генов, нарушающие репарацию, увеличивают чувствительность к мутагенным воздействиям. Вероятно, диплоид-специфическая репарация ДНК обуславливает высокую надежность генома не только у диплоидных клеток дрожжей-сахаромицетов, но и у других представителей 4-го кариотаксона.

Репарация ДНК — процесс, в котором участвует большое число ферментов, синтез которых контролируется разными генами. Для диплоид-специфической репарации необходим не только полный комплект этих ферментов, но и двойной набор хромосом: неповрежденные участки одной из гомологичных хромосом служат как бы образцом для починки (с помощью ферментов) поврежденных участков другой. Если какое-либо из этих условий не соблюдается, диплоид-специфическая репарация не идет. Это означает, что в случае дефекта системы репарации диплоидные клетки эвкариот будут относиться не к 4-му, а к 3-му радиотаксону и, следовательно, будут более чувствительны к мутагенам, чем гаплоидные, в ядрах которых содержится в два раза меньше ДНК.

Если предположение о селективной ценности надежности генома справедливо, то при отсутствии или дефекте репарационной системы гаплоидные клетки эвкариот должны иметь селективное преимущество перед диплоидными, у которых чаще возникают летальные повреждения генетического аппарата. В таком случае можно ожидать, что существующие в природных условиях эвкариоты-гаплонты дефектны по системе репарации.

Для проверки этого предположения были использованы природные дрожжи-гаплонты *Pichia guilliermondii* и *Pichia pinus*¹⁰.

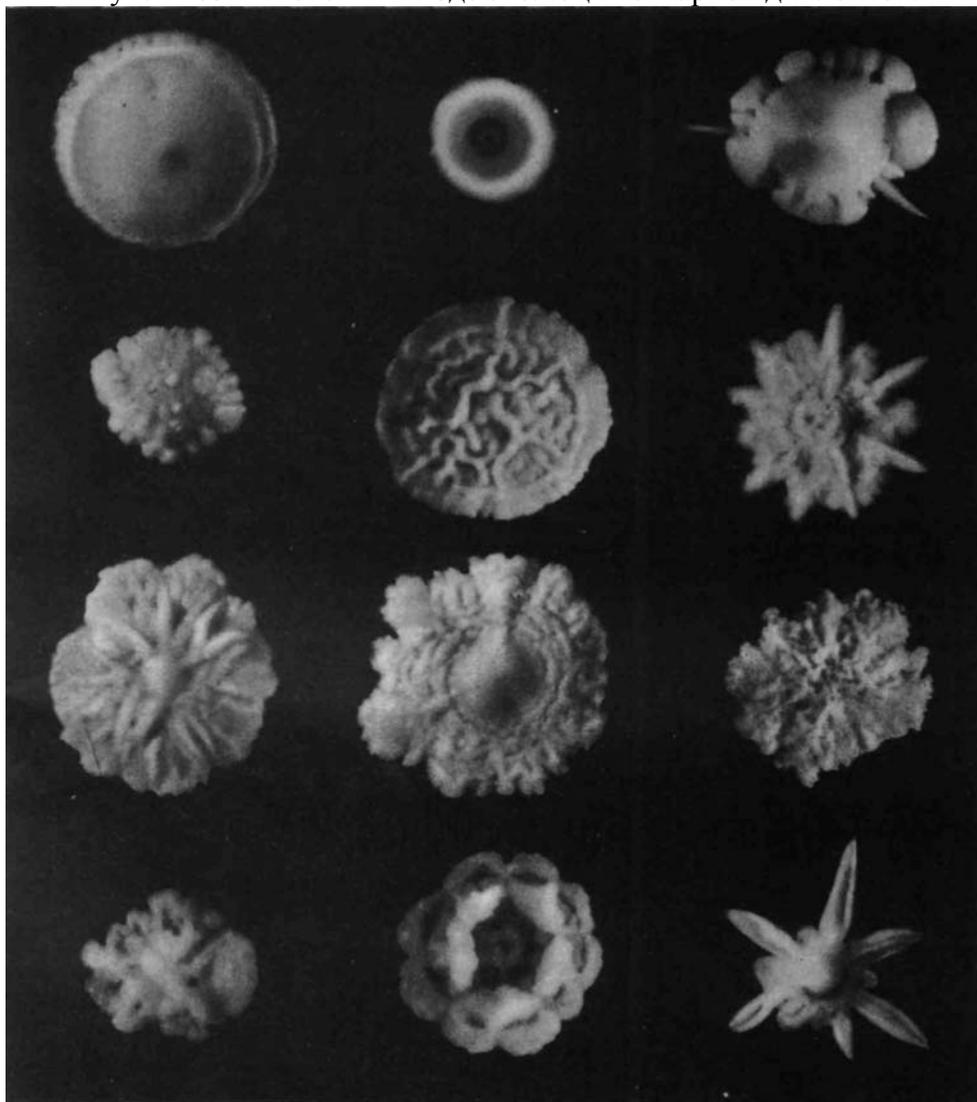
Половой процесс присущ и дрожжам-диплонтам, и гаплонтам, только у первых зигота дает начало вегетативно размножающимся диплоидным клеткам, а у вторых вслед за копуляцией клеток-гамет происходит редукционное деление зиготы и прорастание вегетативно размножающихся половых клеток — аскоспор. Путем подбора состава питательной среды у дрожжей-гаплонтов были получены стабильные при длительном культивировании диплоидные клетки. Опыты показали, что у этих дрожжей диплоидные клетки почти в два раза чувствительнее к облучению, чем гаплоидные, т.е. и те и другие относятся к 3-му радиотаксону. Было также установлено, что диплоидные клетки дрожжей-гаплонтов не могут восстанавливаться от лучевых повреждений¹¹. Все это очень хорошо подтверждает предположение, что высокая надежность организмов 4-го кариотаксона обусловлена диплоид-специфической репарацией и имеет селективную ценность.

Диплоид-специфическая репарация у дрожжей, как и у других организмов, происходит при участии большого числа ферментов. Многие из этих ферментов необходимы и для других процессов жизнедеятельности. Отдельные ферменты репарационной системы первоначально возникали, скорее всего, независимо друг от друга, выполняя при этом различные функции. Только после того, как образовался полный набор ферментов, они смогли осуществлять совершенно новую функцию — восстанавливать от повреждений ДНК и хромосомы при наличии неповрежденных гомологов, т. е. в диплофазае жизненного цикла клеток. У гаплоидных клеток наличие полного набора репарационных ферментов мало сказывалось на их жизнеспособности, зато у диплоидных резко увеличивало надежность генома. Можно думать, что по

¹⁰ Корогодина В.И. Радиобиология, 1977, т. 17, с. 700.

¹¹ Глазунов А. В., Лобачевский П. Н.— Радиобиология, 1983, т. 23, с. 409.

крайней мере у некоторых одноклеточных эвкариот это сыграло решающую роль в переходе диплоидной зиготы к вегетативному размножению с последующей редукцией гаплофазы, т. е. к диплоидной форме вегетативной фазы жизненного цикла. Таков один из возможных путей возникновения в ходе эволюции эвкариот-диплонт.



Наглядная иллюстрация каскадного мутагенеза: после однократного облучения исходной клетки (вверху слева) из одного нестабильного клона образуется несколько новых рас диплоидных дрожжей.

КАСКАДНЫЙ МУТАГЕНЕЗ У ДИПЛОИДНЫХ КЛЕТОК

Обратим теперь внимание на следующие хорошо известные факты. 1-й и 2-й кариотаксоны представлены только одноклеточными организмами. В 3-й кариотаксон, наряду с одноклеточными, входят и многоклеточные организмы-гаплонты (некоторые водоросли), но это тупики эволюции, не давшие начала высшим формам жизни. Все высшие растения и животные относятся к 4-му кариотаксону, который объединяет подавляющее большинство эвкариот-диплонт, от дрожжей до человека.

Это означает, что именно диплоидное состояние клеток в вегетативной фазе жизненного цикла послужило основой для расцвета прогрессивной эволюции. Действительно, решающее значение в переходе к высшим многоклеточным принадлежало морфофизиологической дифференциации гамет на мужские и женские с последующим формированием оогамии (когда мужские гаметы представляют собой сперматозоиды, а женские — яйцеклетки); оогамия, в свою очередь, явилась предпосылкой для возникновения эмбриогенеза. При редукционном делении зиготы, как это происходит у гаплонтов, это исключено.

Каждый очередной шаг эвкариот-диплонт по пути прогрессивной эволюции был связан с увеличением генетической информации. Возможность этого, как мы видели, была создана диплоид-специфической репарацией, резко увеличившей надежность генома. Но для эволюции диплонт характерна еще одна особенность — высокий темп наращивания количества ДНК. Если для увеличения содержания ДНК в клетках, как уже отмечалось, большое значение имеют хромосомные и геномные мутации, то следует ожидать, что и в этом отношении диплонт обладает каким-то преимуществом перед гаплонтами. Посмотрим, так ли это, опять обратившись к результатам радиобиологических экспериментов.

Для гаплоидных клеток зависимость выживаемости от дозы облучения описывается экспоненциальной кривой, а для диплоидных, как правило, — кривой с «плечом». Мы уже отмечали, что в обоих случаях летальны хромосомные мутации, а различная радиочувствительность клеток обусловлена диплоид-специфической репарацией. Особенности же форм кривых выживания гаплоидных и диплоидных клеток отражают тот факт, что для первых абсолютно летальна практически любая хромосомная мутация, а для вторых единичные мутации лишь частично снижают жизнеспособность, и для того чтобы диплоидная клетка погибла, в ней должно возникнуть два или больше таких повреждений¹². Это не связано с эффектом восстановления, а обусловлено тем, что повреждение одной из гомологичных хромосом обычно частично компенсируется его отсутствием у второй. Но самое замечательное здесь то, что диплоидные клетки с такими повреждениями, если они выживают, дают начало нестабильным клонам — т. е. семействам клеток, у которых мутации возникают во много раз чаще, чем у клеток, не несущих подобных повреждений. Это явление было впервые обнаружено Г. А. Надсоном и Г. С. Филипповым, а затем, много лет спустя, подробно изучалось в нашей лаборатории¹³.

Облученные гаплоидные клетки на агаризованной питательной среде дают одинаковые по размерам и форме колонии — такие же как и необлученные. Из облученных диплоидных клеток, напротив, вырастают колонии разных форм и размеров. Такие нестандартные колонии, образующиеся из отдельных частично поврежденных диплоидных клеток, содержат, как правило, большое число разных морфологических мутантов, одни из которых стабильны, а другие при последующих пересевах дают начало все новым и новым формам.

Облученные диплоидные клетки образуют нестабильные клоны очень часто — выход их может достигать 50%! Процесс новообразования мутантов в нестабильных клонах может продолжаться очень долго, на протяжении сотен клеточных делений. В результате такого каскадного мутагенеза из одной исходной клетки после однократного облучения можно получить множество новых рас.

Каскадный мутагенез, у диплоидных клеток вызывают не только ионизирующие излучения, но и другие повреждающие хромосомы воздействия — ультрафиолетовый свет, химические соединения, повышенная температура. Изредка нестабильные клоны возникают и спонтанно.

Вероятно, в основе каскадного мутагенеза лежит хромосомная нестабильность всего генома. Пусковым событием здесь служит, скорее всего, мутация одной из хромосом, возникающая непосредственно при действии мутагена, что приводит генетический аппарат как бы в возбужденное состояние; начинается «слепой поиск», в ходе которого образуются самые разные хромосомные и геномные мутации, все новые перестройки генетического аппарата, продолжающиеся до тех пор, пока не

¹² Капульцевич Ю. Г. Количественные закономерности лучевого поражения клеток. М., 1978.

¹³ Надсон Г. А., Филиппов Г. С. — Вестник рентгенол. и радиол., 1932, № 10, с. 275; Корогодин В. И., Близник К. М. — Радиобиология, 1972, т. 12, с. 163; Корогодин В. И., Близник К. М., Капульцевич Ю. Г. — Там же, 1972, т. 12, с. 416; 1977, т. 17, с. 492; Толсторуков И. И., Близник К. М., Корогодин В. И. — Генетика, 1982 т. 18, с. 1276.

сформируются стабильные комбинации. Число стабильных состояний для каждого генома, по-видимому, не так уж велико, что и позволяет часто наблюдать возникновение сходных вариантов. В эксперименте из чистой исходной культуры дрожжей можно получить такие же по внешнему виду расы, какие характерны для разных штаммов, видов и родов дрожжей природного происхождения. Здесь наблюдается прямая аналогия с законом гомологических рядов в наследственной изменчивости.¹⁴

Можно думать, что в ходе каскадного мутагенеза часто возникают хромосомные перестройки, приводящие к дупликациям — удвоениям относительно крупных участков отдельных хромосом. Об этом свидетельствует следующее. У гаплоидных клеток, как уже отмечалось, получить нестабильные клоны нельзя. Такие клоны, однако, весьма часто встречаются среди аскоспорового потомства нестабильных диплоидных клеток. Известно, что дупликации хромосом могут вызывать генетическую нестабильность даже у гаплоидных организмов. Можно думать, что, возникнув в диплоидной клетке и пройдя через мейоз (редукционное деление) при образовании аскоспор, такие дупликации и служат причиной нестабильности гаплоидных дрожжей, получаемых из аскоспор нестабильных диплоидных клеток.

Хотя опыты, результаты которых описаны выше, проводились только на дрожжевых организмах, на основании ряда косвенных данных можно предположить, что каскадный мутагенез свойствен диплоидным клеткам и других эвкариот. Следовательно, хромосомная нестабильность, легко индуцируемая у диплоидных клеток, может вносить существенный вклад в эволюцию геномов организмов 4-го кариотаксона по пути увеличения содержания генетической информации.

НАДЕЖНОСТЬ ГЕНОМА И ПРОГРЕССИВНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ

Таким образом, анализ результатов радиобиологических экспериментов позволяет сформулировать следующую точку зрения на возможную роль повышения надежности генома в прогрессивной биологической эволюции.

По мере накопления в клетках ДНК все большую селективную ценность приобретала надежность генетического аппарата. Задача повышения надежности генома могла иметь разные решения; одни из них оказывались тупиковыми, так как препятствовали его дальнейшему совершенствованию, а другие открывали новые пути для прогрессивной эволюции. Примерами первых могут служить многоядерность и полигеномность у некоторых простейших, примером вторых — диплоид-специфическая репарация.

Диплоид-специфическая репарация стала возможной, скорее всего, у гаплоидных предков современных эвкариот-диплонт в результате удачного сочетания функций нескольких ферментов, первоначально выполнявших другие функции; судя по множественному эффекту мутаций генов, контролирующих синтез репарационных ферментов, эти функции выполняются ими до сих пор. Переход к вегетативной диплофазе, реализовавшей эту возможность, был, таким образом, «непредвидимым» следствием совместной деятельности этих ферментов. Диплоидное состояние генома не только открыло пути для дальнейшего увеличения содержания в них ДНК, но и «создало» весьма эффективный механизм осуществления этого процесса — каскадный мутагенез, а также послужило основой для морфофункциональной дифференциации гамет. В последующем все это привело к возникновению оогамии и высших многоклеточных растений и животных.

Конечно, я далек от мысли, что это — единственный механизм прогрессивной эволюции генома. Другие механизмы, ему сопутствующие и, может быть, не менее эффективные, еще предстоит установить. Но одна особенность рассмотренного выше

¹⁴ Вавилов Н. И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. Саратов, 1922.

механизма, которую я уже отмечал, должна быть присуща им всем. Это — выявление в новых ситуациях новых свойств и функций у тех черт строения живых организмов, которые первоначально создавались естественным отбором в качестве одного из возможных решений совершенно других, злободневных, задач. Здесь явная аналогия с феноменом, который античные математики называли поризмом: когда метод решения какой-либо частной математической задачи оказывался значительно важнее для дальнейшего развития науки, чем та задача, которую с его помощью удалось решить¹⁵. Думаю, это сходство биологической эволюции и развития человеческого знания отражает наиболее общие закономерности динамики информации, лежащей в их основе.

¹⁵ Грязное Б.С. О взаимоотношении проблем и теорий.— Природа, 1977, № 4, с. 60