

М. Г. ОГАНЕСЯН

СПЕЦИФИЧНОСТЬ МУТАГЕНЕЗА*

Под специфичностью мутагенеза обычно понимается способность мутагенов вызывать определенные изменения данного генотипа. Практической и теоретической важностью проблемы объясняется пристальный к ней интерес со стороны генетиков и селекционеров.

Достижения генетики позволяют поднять на новый уровень исследование проблем специфичности мутагенеза. Однако прежде чем приступить к обсуждению возможных направлений таких исследований, рассмотрим коротко состояние проблемы специфичности на сегодня.

Проблема специфичности мутагенеза была поставлена Сахаровым [7] на основании собственных работ и работ других исследователей по химическому и радиационному мутагенезу (1932—1938 гг.). Сравнение спонтанных и химически- или радиационно-индуцированных мутаций у дрозофилы привели В. В. Сахарова к выводу о различиях в действии мутагенных факторов. Для характеристики этих различий им был предложен термин «специфичность» и сформулировано правило специфичности мутагенеза. При постановке проблемы В. В. Сахаровым отмечалось, что природа мутаций будет зависеть от мутагена и внутренних возможностей организма [6, 7].

Когда в шестидесятых годах после долгого перерыва у нас возобновились работы по специфичности мутагенеза, то утрата научных традиций привела к смешению некоторых понятий, что внесло нечеткость в определение проблем специфичности.

Прежде всего произошло смешение понятий, которые кажутся очевидными, но имеют важное методологическое значение и отражаются на направлении и подходах к проблеме специфичности. Это прежде всего три понятия: правило специфичности мутагенеза, процессы, определяющие специфичность мутагенеза, проблемы специфичности мутагенеза.

Правило специфичности сформулировано В. В. Сахаровым и гласит о том, что данный мутаген при данном генотипе может вызывать лишь определенного типа мутационные изменения [6]. Это правило было подтверждено огромным количеством экспериментов на разнообразных

* Сокращенный текст доклада, прочитанного на первых «Сахаровских чтениях», организованных ВОГИС им. Н. И. Вавилова, Секцией генетики Московского общества испытателей природы 18 марта 1969 г. в Москве, и на конференции армянского отделения ВОГИС, посвященной 100-летию со дня рождения В. И. Ленина.

объектах и при разных уровнях генетического анализа. Таким образом, в настоящее время факт специфического характера мутагенеза твердо установлен и вряд ли нуждается в новых экспериментальных подтверждениях.

Сам факт специфического характера мутаций указывает на то, что с момента воздействия мутагеном и до регистрации возникших при этом мутаций в организме протекают какие-то **процессы**, которые определяют специфичность мутагенеза. На современном этапе раскрытие природы и механизмов этих процессов и составляет предмет проблемы специфичности.

Таким образом, **сегодня проблема специфичности мутагенеза сводится к расшифровке сложной цепи детерминированных метаболических и популяционных процессов, определяющих различия в генетических эффектах мутагенов.**

Уже одно разграничение этих трех понятий нацеливает наше внимание на исследование процессов, определяющих специфичность мутагенеза. Как же шли работы до настоящего времени?

Исследования по проблеме специфичности мутагенеза шли главным образом в двух направлениях. **Первое из них**, традиционное, сводится к анализу действия одного мутагена на разные генотипы либо, наоборот, действия разных мутагенов на один и тот же генотип. Эти работы показали, что при воздействии данным мутагеном на разные организмы отмечаются различия в их ответной реакции на данное воздействие. Если подвергаются такому же воздействию, например, разные стадии развития одного из этих организмов, то и в этом случае отмечаются различия в ответных реакциях. Если подвергнуть действию разных мутагенов данный организм и провести генетический анализ на разных уровнях, то можно обнаружить различия:

- а. между частотами генных мутаций и хромосомных аббераций;
- б. между разными типами хромосомных аббераций;
- в. между распределением этих аббераций вдоль хромосом;
- г. между частотами мутирования разных генов;
- д. между частотами мутирования разных аллелей данного гена;
- е. между частотами мутирования разных сайтов данного гена и другого рода различия [3].

Иными словами, в зависимости от степени тонкости проводимого генетического анализа специфический характер мутагенеза регистрируется на разных уровнях. На этих представлениях основывается существующая в настоящее время классификация специфичности мутагенеза на ген-специфичность, аллель-специфичность, сайт-специфичность и т. д. Однако нетрудно заметить, что это скорее классификация уровня проводимого генетического анализа, чем классификация самой специфичности.

Положительной стороной этого традиционного подхода к проблеме специфичности является следующее:

1. Работами этого направления на обширном материале было дока-

зано, что, действительно, характер мутаций зависит от природы мутагена и внутренних возможностей организма.

2. Они показали, что имеется некая первичная специфичность, проявление которой на разных уровнях регистрируется в эксперименте в зависимости от уровня проведенного генетического анализа.

Главным недостатком такого подхода является то, что эти работы указывают на факт наличия первичной специфичности без попытки выяснения ее природы и механизмов.

Второе направление—более новое—это химический подход к проблеме специфичности. При этом реакция мутагена с генной молекулой рассматривается как чисто химический процесс. Исходя из этих представлений, были предложены классификация мутаций и мутагенов. Например, мутации делились на мутации типа замен и знаковые мутации и, в соответствии с этим, мутагены подразделялись на индуцирующие те или иные замены или знаковые мутации [11].

Положительная сторона такого подхода—выяснение специфической природы первичных химических реакций, лежащих в основе мутагенеза.

Его недостаток—упрощенность, поскольку, во-первых, он не принимает в расчет все, что происходит до и после такой первичной реакции, во-вторых, недооценивает сложности и своеобразие биологических процессов.

Не признавая ничего мистического за биологией, тем не менее следует отметить своеобразие и сложность биологических процессов в сравнении с химическими. В самом деле, осуществленный недавно химический синтез фермента РНК-азы по праву считается триумфальным достижением современной химии. Этот синтез потребовал привлечения сложнейшего арсенала методов и материалов современной химии. Однако даже столь сложные химические процессы не выдерживают никакого сравнения с живой клеткой, которая за считанные минуты осуществляет сотни, возможно, тысячи, таких и более сложных взаимопереплетенных биосинтетических процессов.

Таким образом, существующие подходы к проблеме специфичности дали свои положительные результаты. Однако они не отражают существа всех процессов, определяющих специфический характер мутагенеза. Очевидно, что требуется некоторый новый подход к проблеме специфичности, который нацеливал бы внимание исследователей на выяснение природы и механизмов процессов, обеспечивающих специфический характер мутагенеза. Ниже представлена схема, в которой сделана попытка указать основные этапы процессов, лежащих в основе специфичности мутагенеза (рис. 1).

При составлении этой схемы мы исходили из того, что в основе современного подхода к проблеме специфичности должен лежать генотрофный принцип, т. е. мы должны исходить из того, что **все своеобразие процессов, протекающих в данном организме, определяется особенностью его генетических систем, его генотипом** [9]. Из этого следует, что **все процессы, о которых пойдет речь в представленной схеме, в двух**

организмах будут протекать в соответствии с различиями их генотипов. Это диктуемое генотипом своеобразие и определяет специфический характер процессов, протекающих с момента воздействия мутагеном и до регистрации выхода мутаций.

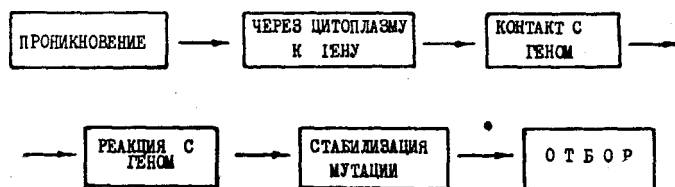


Рис. 1.

Основные этапы, через которые осуществляется мутагенез, сводятся к тому, что мутаген должен проникнуть в клетку, транспортироваться к гену, вступить с ним в контакт, прореагировать с генными молекулами, и эта первичная реакция должна проявиться, выдержав давление отбора. На каждом из этих этапов осуществляется ряд процессов, придающих своеобразный характер мутагенезу. В приведенной схеме указаны основные процессы, которые определяют это своеобразие (рис. 2).

Представленная схема специфичности мутагенеза, с нашей точки зрения, настолько очевидна, что не требует специального обсуждения—мы ограничимся лишь некоторыми частными и общими замечаниями.

Как видно из схемы, существует два главных процесса, обеспечивающих специфичность: индукция и проявление мутаций. Свообразие процесса индукции определяется свойствами мутагена и генотипической средой организма. Процесс же проявления мутаций протекает практически уже без участия мутагена. Таким образом, **основная роль мутагена в специфичности исчерпывается на этапе индукции**. Специфичность проявления мутации почти целиком определяется генотипической средой организма, которая играет определенную роль также на этапе индукции. Таков удельный вклад мутагена и генотипической среды в специфичность мутагенеза. Преобладающая роль генотипической среды и диктует выбор генетотрофного принципа, определяющего специфичность мутагенеза.

При обсуждении специфичности индукции (левая часть рис. 2) следует отметить, что она состоит из трех основных процессов—преодоление мембран, изменения в цитоплазме и контакт с геном,—из которых «преодоление мембран» понимается в широком смысле, как возможность мутагена пассивно или активно (благодаря наличию пермеазных систем) преодолевать клеточные мембраны, при этом нередко вызывая их изменение [14]. На пути к гену мутаген может вмешиваться в ряд процессов, которые на схеме приведены под названиями дебалансировки, модификации и транспортировки.

Под дебалансировкой понимается способность мутагена вмешиваться в метаболический баланс организма, вызывая самые разные нарушения внутриклеточного равновесия (например, нарушение равновесия между внутриклеточными мутагенами и антимутагенами, как это

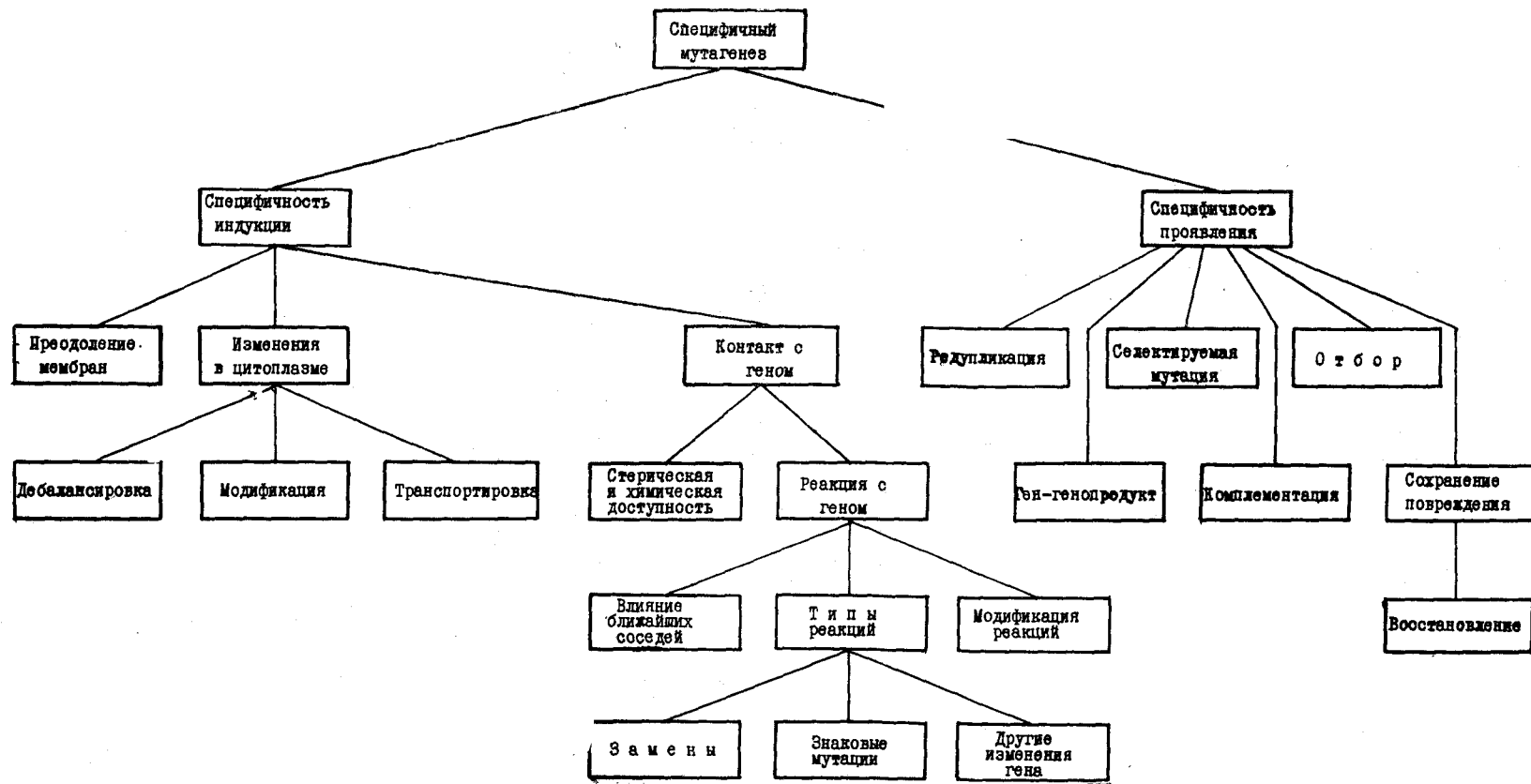


Рис. 2.

описано в случае цианистого калия, или нарушение равновесия между естественными метаболитами и т. д.).

Кроме того, и сам мутаген подвергается модифицирующему влиянию внутриклеточной среды. Такие модификации могут привести к полной или частичной инактивации или, наоборот, активации первичного мутагена с образованием вторичного мутагена [4].

Иногда мутаген вступает в реакцию с предшественниками генных молекул и в таком виде транспортируется прямо к гену, как это описано, например для формальдегида [5].

Так или иначе мутаген должен вступить в контакт с геном, однако шансы контакта с различными генами неодинаковы, поскольку последние отличаются разной степенью стерической и химической доступности. Стерическая доступность генов определяется своеобразием пространственной укладки генетического материала. Химическая же доступность определяется химической (гистонные и негистонные белки, липиды и т. д.) экранированностью генетического материала, что также может определить различную поражаемость участков генома [8].

Преодолев все барьеры, мутаген вступает в реакцию с геном, на характер которой будет влиять химическая природа мутагена, химическая природа генетического материала в мутационном сайте (в простейшем случае—природа нуклеотидов на данном участке ДНК) и влияние ближайшего окружения этого сайта (в случае ДНК—влияние ближайших соседей). В настоящее время постулировано два типа реакций: простые и сложные замены и «знаковые» мутации или вставки и выпадения, однако возможны и другого типа изменения генной молекулы. Прежде чем перейти к специфичности проявления мутаций, следует отметить, что первичная реакция мутагена с геном может подвергаться самым разным модификациям [4, 11].

Относительно специфичности проявления мутаций (правая часть рис. 2), следует отметить, что возникшее мутационное повреждение гена должно сохраниться и пройти сквозь защитные барьеры клетки (конверсия генов, репарация и так далее), направленные на восстановление исходного состояния гена [17]. Преодоление этих барьеров выводит мутационное повреждение на уровень редупликации. Необходимо различать два аспекта редупликации. Во-первых, современная теория мутаций молчаливо исходит из того, что для «становления» любой мутации требуется редупликация генных молекул [11], хотя имеются данные о том, что для некоторых мутаций редупликации не являются обязательным этапом [18]. Во-вторых, так или иначе любая мутация может передаваться по наследству только после редупликации, поэтому мутагены вызывающие, помимо мутагенных повреждений, нарушение редупликации генов, сами воздвигают барьеры на пути реализации мутаций. Кроме того, в процессе редупликации возможны помехи [16].

Возникшее мутационное изменение в гене должно привести к изменению соответствующего признака, иначе мы его не заметим. В простейшем случае это сводится к процессам транскрипции и трансляции

[13], и на каждом из этих этапов возможны новые барьеры на пути реализации мутации (помехи в работе РНК-полимеразы и других ферментов, рибосомная и другого рода супрессия и т. д.).

Однако, если мутационному повреждению удастся преодолеть все указанные барьеры, это еще не означает, что оно нами будет регистрироваться как мутация, поскольку, во-первых, некоторые замены нуклеотидов не приводят к заменам аминокислот вследствие вырожденности кода, во-вторых, не любые замены аминокислот в белке приводят к изменению функции последнего, поэтому некоторые замены аминокислот обычными методами не отбираются как мутации. Первичный продукт гена должен преодолеть еще барьер комплементации, ибо при вступлении в сложный комплекс (каковыми часто являются активные макромолекулы) он может подвергнуться комплементационному «исправлению». [10]. Наконец возникшая мутация должна выдержать давление отбора, а не элиминироваться им [12].

Таков тот многоэтапный путь, который прodelывает любое мутационное событие.

В заключение к развиваемым нами представлениям необходимо сделать несколько замечаний общего характера:

1. Разбор схемы указывает, что решение проблем специфичности возможно лишь на основе генетотрофного принципа, ибо **специфический характер любого мутационного процесса определяется особенностями каждого из этапов, представленных на схеме. Эти особенности обеспечиваются генотипической средой организма, т. е. диктуются его генотипом.**

2. Проблема специфичности мутагенеза сводится к проблеме мутагенеза вообще. Это естественно, ибо специфический мутагенез тоже мутагенез. Однако в этом случае особый упор делается на своеобразие мутационного процесса в заданных условиях. Это своеобразие данного мутационного процесса в сравнении с обобщенным представлением о мутационном процессе и составляет специфичность, поэтому характерная особенность проблемы специфичности мутагенеза в сравнении с проблемой мутагенеза вообще сводится к выявлению именно этих своеобразных (специфических) сторон данного мутационного процесса. Очевидно, что это возможно при условии понимания мутационного процесса вообще и в свою очередь будет помогать этому пониманию, поскольку в природе любой мутагенез специфичен, обобщенный же мутагенез существует лишь в наших научных абстракциях.

3. Специфические особенности данного мутационного процесса обеспечиваются двумя способами:

а) мутаген активно вмешивается в мутационный процесс, внося изменения на любом из этапов (например, изменяет мембраны, ферменты, участвующие в репликации, транскрипции, трансляции и т. д.) [2].

б) мутаген лишь «запускает» первичное мутационное событие, дальнейшие же процессы протекают без его участия. Но так или иначе решающей в процессе мутагенеза является генотипическая среда.

4. Представленные здесь соображения относятся и к прокариотам и к эукариотам, естественно, с некоторыми несущественными оговорками. Из этих соображений мы по возможности пользовались терминами «генные молекулы» (а не ДНК), «клеточные мембраны» (без конкретизации) и т. д.

5. Эти соображения в общей форме приложимы как к спонтанному, так и к химически- или физически-индуцированному мутагенезу. Хотя в деталях будут иметься различия (например, для спонтанного мутагенеза отпадают начальные этапы, для проникающей радиации снимается вопрос о преодолении некоторых барьеров на пути к гену и т. д.).

6. Своевременна ли предлагаемая постановка проблемы специфичности? Нам кажется—да. Хотя представленная здесь схема основывается на работах, часто не только не посвященных проблеме специфичности, но и проблеме мутагенеза вообще, тем не менее эти работы показывают, что арсенал методов современной генетики позволяет проводить анализ мутационного процесса практически на любом этапе. Задача сводится к тому, чтобы эти методы были бы направлены к систематическому изучению проблем мутагенеза вообще и специфического мутагенеза в частности.

Рамки настоящего краткого сообщения не позволяют обсудить ряд других интересных сторон проблемы специфичности мутагенеза, как, например, соотношение специфичности мутагенеза и дифференциального и направленного мутагенеза [4].

Ереванский государственный университет,
кафедра генетики и цитологии

Поступило 26.II 1969 г.

Մ. Գ. ՕԳԱՆԵՍՅԱՆ

ՄՈՒՏԱԳԵՆԵԶԻ ՍՊԵՑԻՖԻԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Քննական տեսանկյունով համառոտակի դիտարկվում է մուտագենների սպեցիֆիկության պրոբլեմի արդի վիճակը: Առաջարկվում է մուտագենների սպեցիֆիկության նոր սխեմա և քննարկվում են նրա առանձնահատկությունները:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Анфинсен К. Молекулярные основы эволюции. Изд. ИЛ, М., 1962.
2. Ауэрбах Ш. Генетика, 2, 3, 1966.
3. Никифоров В. Г. В кн.: Общая генетика. Изд. Наука, М., стр. 113, 1965.
4. Оганесян М. Г. Канд. дисс. М., 1964.
5. Оганесян М. Г. Биол. журнал Армении, XXI, 11, 1968.
6. Сахаров В. В. Бисл. журн. 7, 595, 1938.
7. Сахаров В. В. ЖОБ, 1, 137, 1940.
8. Тейлор Дж. Г. В кн.: Молекулярная генетика. Изд. Мир, М., стр. 78, 1964.
9. Уильямс Р. Биохимическая индивидуальность. Изд. ИЛ, М., 1960.

10. Финчем Дж. Генетическая комплементация, Изд. Мир, М., 1968.
11. Фриз Э. В кн.: Молекулярная генетика. Изд. Мир, М., стр. 226, 1964.
12. Эрлих П., Холм Р. Процесс эволюции. Изд. Мир, М., 1966.
13. Attardy G. *Ann. Rev. Microbiol.*, 21, 383, 1967.
14. Finean I. B. *Quart. Rev. Biophys.* 2, 1, 1969.
15. Gorini L., Beckwith J. R. *Ann. Rev. Microbiol.*, 20, 401, 1966.
16. Hayes D. *Ann. Rev. Microbiol.*, 21, 369, 1967.
17. Howard-Flanders P. *Ann. Rev. Biochem.*, 37, 175, 1968.
18. Oganessian M. G., Mugnetzian E. G. *Proc. XII ICG*, v. 1, p. 81, 1968.