

С. Е. БРЕСЛЕР

## О МЕХАНИЗМЕ МУТАГЕНЕЗА В ОТКРЫТОЙ СИСТЕМЕ И ПРОБЛЕМАХ, ВСТАЮЩИХ В СВЯЗИ С ЭТИМ ИССЛЕДОВАНИЕМ

В докладе рассматривается мутагенез на выделенной из клеток *Bacillus subtilis* чистой ДНК. Под действием различных агентов: гидроксилamina, гидразина, азотистой кислоты, диметилсульфата, ультрафиолетового света, кислой среды — молекулы ДНК химически изменяются. Вводя модифицированную ДНК в культуру реципиентных клеток *Bac. subtilis*, можно наблюдать трансформацию этих клеток, т. е. приобретение ими новых наследуемых свойств, в основе чего лежит химическая модификация ДНК. В излагаемой работе рассматриваются мутации в локусе триптофана, в которых заблокирована одна из двух начальных стадий синтеза триптофана клетками *Bac. subtilis*. В этих мутантах накапливаются некоторые предшественники триптофана (антракиловая кислота, соединение Амадори), отличающиеся способностью люминесцировать в ультрафиолетовом свете, что облегчает их селекцию.

Реакция мутагенеза сопровождается количественно весьма значительной реакцией инактивации ДНК. В докладе формулируется феноменологическая теория обоих процессов, позволяющая объяснить и обобщить все имеющиеся экспериментальные данные.

В основе теории лежит представление о том, что при действии химических агентов на молекулы ДНК в последних возникают неспецифические повреждения, которые не могут быть застроены в геном реципиентной клетки. Гораздо реже возникают также специфические повреждения в изучаемых локусах, которые проявляются в дальнейшем как мутации.

Так как трансформация включает в себя двойную рекомбинацию донорной ДНК с геномом реципиентной клетки, то, пользуясь законом генетической рекомбинации, можно сформулировать, как влияют неспецифические повреждения ДНК на эффективность трансформации. Количественно действие неспецифических повреждений сводится к уменьшению рекомбинационных длин с обеих сторон от рассматриваемого генетического маркера, так как рекомбинация может происходить только на участках от рассматриваемого маркера до ближайших повреждений. Исходя из этого принципа, легко вывести закон падения трансформации от времени воздействия мутагенного фактора. Приближенный закон оказывается:  $\frac{R}{R_0} = \frac{1}{(kt + a)^2}$ . Этот закон был найден эмпирически

Рупертом и Гудгелом для действия УФ-света на трансформирующую ДНК. Он подтверждается с высокой точностью для самых различных мутагенных факторов. Теория инактивации ДНК позволила ввести понятие числа неспецифических повреждений на единицу длины ДНК —  $Z$ . В первом приближении число  $Z$  вычисляется из падения трансформации

$\frac{R}{R_0} = \frac{1}{4Z^2}$ . Теория предсказывает полную аддитивность чисел  $Z$ , вызванных различными повреждающими агентами. Эксперимент полностью подтверждает это заключение.

Распространяя теорию на явление мутагенеза и считая, что мутационное повреждение возникает в результате одного эффективного акта взаимодействия молекул ДНК с химическим агентом, была получена простая формула для относительного числа возникающих мутантов:

$$\frac{n_m}{n} = \frac{K_2}{K_1} Z, \text{ где } n_m \text{ — число возникших мутантов,}$$

$n$  — число трансформантов по тому же маркеру, сохранившихся после воздействия повреждающего фактора.

$K_2$  — кинетическая константа мутагенеза,

$K_1$  — кинетическая константа инактивации,

$Z$  — число неспецифических повреждений, приходящихся на единицу генетической длины (протяженность ДНК, на которой вероятность рекомбинации приближается к своему предельному значению 0,5). Относительное число мутантов, согласно теории, должно нарастать линейно с  $Z$  и со временем. Опыт полностью подтверждает этот вывод. Кроме того для каждого из мутагенных факторов может быть найдена из опыта величина  $\frac{K_2}{K_1}$ , характеризующая его эффективность.

Из изученных мутагенов наиболее эффективным является гидроксил-амин. На порядок хуже — азотистая кислота. Самые низкоэффективные мутагенные факторы — это УФ-свет и кислая среда. Для действия УФ света было проведено сравнение мутагенного действия *in vitro* и *in vivo* на живых клетках *Bac. subtilis*. Эффективность мутагенного фактора *in vivo* оказывается количественно ниже, так как повреждаться способны не только ДНК, а разнообразные ферментные системы, что ведет к гибели клетки и не повышает выход мутантов.

Во второй части доклада рассматривается, каким образом, пользуясь измерениями степени инактивации трансформирующей ДНК, можно изучать генетическую карту бактерий и измерить абсолютные (т. е. физические) размеры гена.

Карта участка генома *Bac. subtilis*, ответственного за синтез ароматических и гетероциклических аминокислот, была построена на основании генетических данных автора и данных, опубликованных Ледербергом с сотр. Пользуясь точными закономерностями падения трансформируемости с ростом числа неспецифических повреждений, можно проверить эту карту независимым способом. Данные по падению вероятности трансформации полностью подтверждают рекомбинационные расстояния, найденные с помощью генетики. Если в качестве инактивирующего фактора выбрать ДНК'азу, то число химических повреждений может быть измерено по числу освобождающихся фосфатных групп. Одновременно из падения трансформации мы находим  $Z$ , число неспецифических

повреждений, приходящихся на единицу генетической длины. Отсюда мы получаем физический масштаб генетической карты. Взяв далее кратчайшее расстояние, измеренное на генетической карте *Vac. subtilis*, мы можем перевести это расстояние в абсолютные физические размеры (например, молекулярные веса ДНК). Оно оказывается равным 600 000 дальтонов. Этот участок ДНК по порядку величины соответствует одному гену или цистрону. В дальнейшем, накопив больше данных по положению мутантов на генетической карте, размер гена может быть определен более точно.

Полученная в работе цифра хорошо согласуется с оценками, проведенными ранее Бензером и Гереном для фага T4 и цистрона фосфатазы *E. coli*.

В заключение доклада говорится о различных новых возможностях, открываемых методом изучения мутагенеза и инактивации ДНК в открытой системе.

В настоящей работе участвовали Д. А. Перумов и В. Л. Калинин.

Н. И. ШАГИРО, Н. Б. ВАРШАВЕР

## ГЕНЕТИКА СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Генетическое изучение соматических клеток имеет довольно давнюю историю. Этот вид клеток широко используется и в настоящее время для решения различных вопросов общей и радиационной генетики, медицинской генетики и т. д. По своим методическим приемам генетика соматических клеток наиболее родственна генетике микроорганизмов и в значительной степени инициирована последней. Современные цитогенетические исследования, как правило, основываются на изучении именно соматических клеток, причем эти исследования ведутся не только *in vivo*, но и *in vitro* в культуре ткани.

Однако генетика соматических клеток в собственном смысле слова — это та новая область генетики, где соматическая клетка выступает как самостоятельная биологическая единица, участвующая в передаче генетической информации, путем гибридизации или трансформации, где можно, получив потомство отдельно взятой клетки, вести генетический анализ, изучая процессы рекомбинации. Это отнюдь не значит, что генетика соматических клеток может быть оторвана от генетики на организменном уровне. Совершенно очевидно, что для плодотворного развития генетики соматических клеток такая связь не только желательна, но и необходима.

Исследования в этой области ведутся на различных объектах — растениях, насекомых, млекопитающих и человеке. Наиболее успешно раз-