

наблюдалась временная стерильность. Плодовитость животных с участка не отличалась от контроля. Частота РТ была проанализирована в 6884 метафазах от 44 самцов, экспонированных на 1 и 2 участках. Уровень РТ оказался относительно низким и не превышал долей процента, независимо от участка экспонирования.

Для определения первичных генетических эффектов в популяциях рыб, обитающих в водоеме-охладителе ЧАЭС, загрязненном радионуклидами, оценивали частоту клеток с aberrациями хромосом в эпителии роговицы глаз карпа. Частота клеток с aberrациями хромосом у карпов, обитающих в этом водоеме, в мае 1986 года составила $3,1 \pm 0,3\%$, а в контрольном водоеме — $3,0 \pm 0,2\%$. В 1987 году в облучаемой популяции она составила $3,6 \pm 0,5\%$. Из этого следует, что в популяциях рыб водоема-охладителя ЧАЭС не ожидается заметного увеличения генетического груза за счет воздействия ионизирующих излучений.

Полученные результаты подтвердили сделанный ранее анализ более чем 20-летних исследований по оценке генетических последствий хронического воздействия бета-излучения ^{90}Sr — ^{90}Y на природные популяции микроорганизмов, растений и животных. Еще до Чернобыльской аварии было установлено, что при мощности дозы порядка 0,1 рад/сутки и выше (около 40 рад в год и выше), как правило, удается зарегистрировать те или иные генетические эффекты (нарушение числа и структуры хромосом, различные виды точковых мутаций), однако такие уровни облучения не приводят к каким-либо существенным генетическим последствиям для природных популяций. Процесс экологического сдвига, связанный с выпадением чувствительных видов и перестройкой структуры облучаемых сообществ, начинается при более высоких мощностях доз хронического облучения — 1 рад/сутки и выше. Исследования, проведенные в Чернобыле, позволили подтвердить эти оценки мощностей доз редкоионизирующих излучений, вызывающих в популяциях статистически значимые генетические эффекты. Кроме того, получена уникальная информация о начальных процессах радиационного поражения объектов природных экосистем.

Поступило 26 VI 1989 г.

Биолог. ж. Армения, № 9—10, (42), 1989

УДК 575.224

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ТОЧКОВЫХ И ХРОМОСОМНЫХ МУТАЦИЙ У ЭУКАРИОТ

И. Б. МОССЭ

Институт генетики и цитологии АН БССР, г. Минск

Հողածուծ վերլուծում են կետային և բրոմոսպալին ռադիացիոն մուտացիաների էլիթ տարրեր աստիճանի մասին գրական տվյալները՝ կախված բնորոշի մեթոդներից, վերականգնիչ համակարգերի աշխատանքի տրոյսնափետուրներից և այլ ներդրեն ու էկզոգեն գործոններից: Քննարկվում է նաև նախնական վնասվածքների բնահանրությունը և այդ երկու տիպի կազմավորումների մեխանիզմների տարբերությունը:

Сокращения: ФГА — фитогеомоаглютинин; ФУДР — фтордезоксигуанидин; БДУ — бромдезоксигуанидин; СХО — сестринские хроматидные обмены.

In the paper there are analysed literature data on different dependence of yield of point and chromosomal radiation mutations upon metabolic cell state, effective work of repair systems and upon other endogenous or exogenous factors. The common character of primary damages and difference of mechanisms developing these two types of mutations are discussed.

Предположение о неодинаковой зависимости выхода точковых и хромосомных мутаций от эффективности репарационных систем было высказано нами в 1974 г. [12] и подтверждено многочисленными работами последних лет.

Данные, свидетельствующие о независимости (или слабой зависимости) формирования точковых мутаций от интенсивности процессов репарации, получены при исследовании различных факторов:

1. *Радиочувствительность стадий гаметогенеза.* В радиобиологии существует установившееся положение о том, что радиочувствительность стадий гаметогенеза неодинакова. Это объясняется разной эффективностью репарационных процессов на разных стадиях. Однако указанное положение верно лишь для мутаций абберрантного происхождения. Что же касается точковых мутаций, то по этому тесту радиочувствительность разных стадий как сперматогенеза, так и овогенеза оказывается одинаковой. Так, Лефевр [41] не обнаружил никаких различий в радиочувствительности постмейотических половых клеток дрозофилы по тесту точковых мутаций и пришел к выводу, что радиочувствительность спермиев и сперматид по точковым мутациям одинакова. В то же время выход транслокаций в сперматидах выше, чем в спермиях, в 11,6 раза, а рецессивных, сцепленных с полом летальных мутаций (смесь хромосомных и точковых) — в 3,7 раза [38].

Японскими исследователями показано, что при облучении выход мутаций *dumpy* точкового происхождения одинаков на всех стадиях сперматогенеза у дрозофилы, в то время как индукция мутаций *dumpy* хромосомной природы различается [47].

Не обнаружил различий между зрелыми и незрелыми ооцитами и чувствительности к индукции облучением мутаций *dumpy* точковой природы и Фуйкава [30]. Многое и совств. [48] показали, что вариации в общей частоте мутаций на протяжении оогенеза обусловлены мутациями абберрантного происхождения, тогда как выход точковых мутаций мало зависит от фазы овогенеза. Эти данные полностью согласуются с результатами [59], полученными при исследовании индукции мутации в 10 специфических локусах половой хромосомы в ооцитах и овогониях дрозофилы.

Таким образом, по тесту точковых мутаций спермии имеют практически одинаковую со сперматидами радиочувствительность, а овогонии с ооцитами, несмотря на огромную разницу в метаболизме и эффективности репарационных процессов в этих клетках.

11. *Радиочувствительность разных линий.* При изучении разных линий дрозофилы, отличающихся по своей радиочувствительности, показано [2], что выход точковых мутаций одинаков, а различия обусловлены лишь неодинаковой индукцией хромосомных абберраций.

III. Кислородный эффект. Известно, что кислород, присутствующий во время облучения, подавляет работу репарационных систем [3]. Кислородный эффект является модификацией способности к репарации [23].

Изменение кислородом частоты радиационных мутаций показано лишь для хромосомных аббераций, а индукция облучением точковых мутаций не изменяется при воздействии кислородом или азотом. Например, по данным Собелса [57], обработка половых клеток дрозофилы азотом после облучения в кислороде повышает частоту транслокаций в этих клетках, но не изменяет выхода точковых мутаций (рецессивные летальные мутации в кольцевой X-хромосоме). Аналогично воздействие кислородом после облучения в азоте уменьшает выход аббераций хромосом, но не влияет на индукцию точковых мутаций [48].

Выдерживание в кислороде после облучения в азоте способствует репарации повреждений в сперматидях дрозофилы, при этом уменьшается выход индуцированных облучением аббераций, но частота генных мутаций в специфических локусах половой хромосомы и аутосомы II не изменяется [40].

IV. Влияние мощности дозы. В работах Фуйикава [29, 30] изучался выход видимых мутаций и мутаций *dimru* у дрозофилы при облучении γ -лучами с разной мощностью дозы—3000 рад/мин и 30 рад/мин. Оказалось, что частота мутаций абберантной природы была значительно ниже при малой мощности дозы, чем при высокой, но выход точковых мутаций оставался одинаковым при уровнях мощностей дозы, различающихся в 100 раз. Таким образом, индукция точковых мутаций не зависит от мощности дозы облучения.

V. Влияние вида излучения. Репарация повреждений, индуцированных нейтронным облучением, не обнаружена. Такие повреждения либо вообще не репарируются, либо репарируются с большим трудом. При изучении выхода мутации *dimru* у дрозофилы установлено, что ОБЭ нейтронов по сравнению с рентгеновским излучением в 2 раза выше для мутаций хромосомной природы, чем для точковых [29]. Аналогичные данные получены и Александровым [1].

VI. Влияние гена, нарушающего рекомбинацию. При исследовании влияния γ -лучей на индукцию мутаций у дефектной по рекомбинации линии дрозофилы *e3G* было установлено [49], что частота точковых мутаций в сперматоцитах мутантной и дикой линий одинакова, а индукция у гиперплондных самцов различна. Автор предполагает, что *e3G* ген включается в процесс индукции ионизирующей радиацией больших структурных изменений и не связан с индукцией генных мутаций.

Для всех приведенных фактов возможно лишь одно объяснение—отсутствие влияния вообще или слабое влияние репарационных систем на выход точковых мутаций.

В отличие от точковых мутаций, индукция хромосомных аббераций не только эффективно изменяется под воздействием физических и химических модификаторов, но и зависит от многих факторов, зачастую неконтролируемых экспериментатором. Рассмотрим основные из них,

Известно, что разные виды живых существ обладают различной радиочувствительностью. Известно также, что и стадии гематогенеза и клеточного цикла тоже обладают различной радиочувствительностью. Однако нельзя говорить о радиочувствительности вообще, так как общая радиочувствительность, определяемая по летальной или полULEтальной дозе, не всегда коррелирует с цитогенетической радиочувствительностью разных органов, тканей и клеток, между которыми часто отсутствует корреляция по индукции хромосомных aberrаций. Что же касается определения генетической радиочувствительности с помощью разных тестов, то, как показано в предыдущем параграфе, можно получить противоположные результаты, так как стадии клеточного цикла и гематогенеза, линии животных с разным генотипом и т. д. различаются по радиочувствительности, определяемой по тесту хромосомных aberrаций, но обладают одинаковой радиочувствительностью по тесту точковых мутаций. Чтобы избежать получения противоречивых данных, надо учитывать специфику каждого используемого теста, а также разнообразные факторы, изменяющие или искажающие результаты оценки кластогенного действия ионизирующей радиации (равно, как и любых других мутагенов).

I. Генотип. Известно, что индукция облучением хромосомных перестроек существенно отличается у особей разных генотипов.

Межлинейные различия в радиочувствительности ряд авторов связывают с неодинаковой эффективностью репарационных процессов у разных линий. В частности, различная степень восстановления ДНК в клетках млекопитающих разных линий оказалась ответственной за различия в их радиочувствительности [31].

Известно, что радиочувствительность клеток зависит от плоидности. Например, повышенная радиочувствительность мутанта дрожжей *gad51* обнаружена лишь у диплоидов, а аналогичный гаплоидный мутант обладает такой же устойчивостью к радиации, что и дрожжи дикого типа [14].

Такие же результаты получены японскими исследователями Накаи с соавт. при изучении мутанта дрожжей *gad52* [13].

На цитогенетическую радиочувствительность клеток влияют даже небольшие изменения генотипа. Так, показано, что частота aberrаций, индуцируемых в культивируемых фибробластах человека, значительно выше в клетках с трисомией хромосом по сравнению с диплоидными клетками [60], а частота транслокаций в клетках мышей с нормальным кариотипом оказалась ниже, чем у мышей, гетерозиготных по транслокации [24].

При этом межлинейные различия по цитогенетической радиочувствительности могут не коррелировать с общей радиочувствительностью. Так, мыши линии 101/H оказались более чувствительными к отношению вызываемой рентгеновским излучением гибели сперматогонических клеток, чем гибриды (C3H/HeH $\times$ 101/H) F₁, но в то же время уровень транслокаций у мышей 101/H оказался существенно ниже [26].

II. Тканевая специфичность. Сравнение радиочувствительности по тесту хромосомных перестроек затрудняется еще и тем, что нет корреляции

ляции между различной частотой aberrаций у разных линий и в клетках разных тканей животных, т. е. линия, более чувствительная к индукции перестроек в каких-то соматических клетках, оказывается устойчивой к индукции aberrаций в половых клетках, и наоборот. Так, в работе Домаревой с соавт. [8] показано, что относительная радиочувствительность мышей четырех генотипов, определяемая по выходу хромосомных перестроек в сперматоцитах, обратна таковой в клетках роговицы глаза. Аналогичные данные получены и в других работах [60].

Одной из причин, обуславливающих разную индукцию aberrаций в разных тканях организма, и являются различия в эффективности репарационных систем. Показано, например, что в клетках млекопитающих репарационные энзимы обладают неодинаковой активностью в тканях разных органов.

III. Возраст и пол. Известно, что цитогенетическая радиочувствительность увеличивается по мере старения организма. Однако влияние возраста на индукцию мутаций не всегда однозначно. Так, уровень реплицированных транслокаций и фрагментов хромосом у мышей значительно возрастает с увеличением возраста от 75 до 850 дней, а частота гиперплоидных и анеуплоидных клеток не изменяется [51].

У старых облученных самок мыши частота aberrаций в 3 раза выше, чем у молодых [55]. Интересно, что при этом играет роль репродуктивный статус самок: после облучения девственных старых самок они заводят помет меньшего размера, чем повторнородящие самки того же возраста [55].

Возрастные различия в повреждаемости хромосом выявлены и для культивируемых клеток человека [5, 60], и для клеток печени плода мышей [33].

Увеличение частоты индуцированных мутаций при старении можно объяснить нарушением репарационных процессов. Эффективность систем восстановления весьма лабильна, она различна в клетках с разным уровнем метаболизма и может быть подержана воздействием самых разнообразных факторов, с которыми соприкасается организм в течение жизни. Лохман [43] указывает, что эффективность систем репарации изменяется с возрастом, а также имеет видовую, организмовую и тканевую специфичность.

Хорошо известны и различия в работе репарационных систем у особей разного пола. Например, в сперматозоидах дрозофилы ферменты репарации отсутствуют, а повреждения, возникающие в этих клетках, репарируются после оплодотворения за счет репарационных ферментов самки. Однако различный выход структурных мутаций в клетках особей разного пола может определяться и разной чувствительностью этих клеток к облучению [4].

IV. Специфика стадий клеточного цикла и гаметогенеза. Известно, что радиочувствительность разных стадий клеточного цикла по тесту хромосомных перестроек не одинакова [50], что обусловлено это явление не различной чувствительностью самого генетического материала, а разной эффективностью репарационных процессов на этих стадиях [6].

Однако кроме различий в эффективности репарационных процессов, протекающих на разных стадиях клеточного цикла, на индукцию облучением хромосомных перестроек может влиять длительность протекания одной и той же стадии. Так, при сравнении радиочувствительности нейробластов двух линий кобылок, имеющих периоды клеточных циклов 2 и 4 часа, было показано, что значительно большее число фрагментов хромосом возникает в клетках с четырехчасовым циклом [32]. Авторы связывают это явление с тем, что при данной дозе облучения начальное индуцирование у клеток с четырехчасовым циклом выше, чем у клеток с двухчасовым циклом, хотя кривые митотического восстановления одинаковы у обеих линий.

Хорошо известна различная радиочувствительность по тесту хромосомных перестроек разных стадий гаметогенеза. Одной из причин этого явления служит большая степень селекции преимейотических клеток с нарушением хромосом по сравнению с постмейотическими [15]. Что же касается последних, то, безусловно, главную роль в изменении выхода структурных мутаций играют различия в эффективности репарационных процессов, протекающих в клетках разной степени зрелости. В экспериментах с четырьмя линиями дрозофилы, в том числе с нарушенными системами репарации ДНК, Тихомирова [20] изучала чувствительность разных стадий оогенеза к рентгеновским лучам и экспериментально показала, что работа систем репарации ДНК стадийно-специфична.

Поскольку стадии клеточного цикла и гаметогенеза имеют неодинаковую радиочувствительность по тесту перестроек хромосом, то при обработке клеток необходимо учитывать, не вызывает ли применяемый агент сдвиг стадий.

Многие физические и химические факторы вызывают изменения в скорости митотического цикла, при этом разные клетки вступают в метафазу в разное время после обработки. Это приводит к тому, что сравнение будет сделано на метафазах клеток, которые прошли разное количество делений и имеют разную частоту aberrаций, так как частота aberrаций уменьшается с каждым последующим делением.

Например, Вольфом и Арутюняном [61] при обработке лимфоцитов мутагеном и протектором с помощью метода «карлскиновой» окраски хромосом установлено, что при фиксации лимфоцитов через 54 ч от начала культивирования лишь 25,5% клеток находятся в первом митозе, а 73,5% — во втором митозе. При этом протектор не влиял на частоту aberrаций, индуцированных в клетках первого митоза, но снижал число aberrантных клеток, вступивших во второй митоз, деление которых протекает быстрее. Эксперименты с ^3H -тимидином показали, что часть клеток второго митоза во время добавления мутагена находилась в стадии клеточного цикла, а следовательно, снижение частоты aberrаций при действии протектора перед добавлением мутагена может быть аргументом клеточной селекции [61].

Установлено, что введение в организм или культуральную среду ^3H -тимидина приводит не только к задержке вступления клетки в митоз, но и «перескакиванию» из M_2 фазы в M_1 или M_0 следующего митоза.

к уменьшению периода деления клетки, гибели клеток, индукции хромосомных перестроек и т. д. [10]. Все это может привести к самым неожиданным и противоречивым результатам при исследовании выхода структурных мутаций под действием ионизирующей радиации (равно, как и любого другого мутагена), а особенно при изучении действия двух и более факторов.

1. Размер (дифференцировки) клетки. Существуют две субпопуляции лимфоцитов — большие и малые. Лимфоциты большого размера устойчивы к облучению, а малые чувствительны. В процессе дифференцировки лимфоциты в значительной степени утрачивают способность к аксиальной репарации. Обусловлено это тем, что при дифференцировке клетки возрастает спирализация и плотность упаковки ДНК, что препятствует доступу ферментов репарации к месту повреждения. При обработке клеток ФГА, который обычно используется при культивировании лимфоцитов, происходит дедифференцировка клеток, вследствие чего возрастает и их устойчивость к облучению [21]. Лимфоциты людей, больных красной волчанкой, теряют свою суперспирализацию и поэтому в них лучше репарируются повреждения, ведущие к хромосомным перестройкам или гибели клеток. Все это приводит к различному выходу aberrаций хромосом при тестировании кластогенного действия мутагенных факторов.

2. Диаметр и специфичность хромосом. Радиочувствительности клеток, как оказалось, зависит и от диаметра хромосом промуклеуса — такой вывод был сделан на основании изучения двух популяций комаров, одна из которых живет в Альпах, а другая — в Берлине, частота перестроек различалась у этих популяций в 10—20 раз и коррелировала с числом витков и хромосомной спирали [36]. По мнению автора, повышенная радиочувствительность клеток с большим числом витков в хромосомной спирали объясняется тем, что каждый виток является единицей внутри- и межхромосомных контактов, ведущих к возникновению aberrаций хромосом. Нам представляется возможным и другое объяснение: чем более спирализована ДНК (большее число витков), тем труднее осуществляется репарация потенциальных повреждений и выше выход структурных мутаций. Интересно, что по общей радиочувствительности эти популяции различались всего лишь в 1,5 раза, что еще раз свидетельствует об отсутствии корреляции между общей и цитогенетической радиочувствительностью.

Не только величина диаметра хромосом, но и другие их характеристики влияют на индукцию хромосомных перестроек.

Существует вполне логичное мнение, что частота образования структурных мутаций в хромосомах пропорциональна их длине. Действительно, чем хромосома длиннее, тем вероятнее и ней и возникновение первичных повреждений, и формирование хромосомных перестроек. Однако Касперсон [25] обнаружил, что в разных парах хромосом частота образования aberrаций различается и при этом не соответствует длине хромосомы.

К такому же выводу пришли японские исследователи Хайата и соавт. [34] при изучении с помощью Q- и R-окрашивания хромосом.

ных перестроек, возникающих в костном мозге крыс и мышей после γ -облучения. Они показали, что частота aberrаций в индивидуальных хромосомах распределена не случайным образом. Были выделены более ранимые и более резистентные хромосомы, причем было установлено, что эти показатели не коррелируют с длиной хромосом. Особенно интересно, что среди наиболее часто поражаемых хромосом мыши и крысы три пары оказались гомологичными [34].

К выводу о неравномерности распределения хромосомных повреждений во фракциях метафазных хромосом, различающихся по размеру, пришли и другие авторы [7].

III. Чувствительность участков внутри хромосомы. Все исследователи, изучавшие локализации индуцированных хромосомных перестроек, отмечали неравномерность распределения разрывов по длине хромосомы. Это явление обычно связывают с распределением эухроматина и гетерохроматина, структурная организация и биохимическая дифференциация которых различны [17]. Показано, что при различных воздействиях (ионизирующая радиация, химические вещества, температурная обработка) повреждения хромосом локализуются преимущественно в гетерохроматиновых районах хромосомы [16, 17]. Однако, несмотря на то, что aberrации хромосом в большей степени локализованы в гетерохроматиновых участках или на стыках гетеро- и эухроматина, последний сильнее подвержен прямому действию повреждающих агентов (ионизирующая радиация, химические канцерогенные соединения, ДНК-аза I и т. д.) [7]. Такое противоречие может быть вызвано тем, что относительное количество первичных повреждений существенно выше в эухроматине, но в гетерохроматиновых участках затруднены процессы репарации [7].

Кроме того, были установлены и другие причины неравномерного распределения aberrаций по длине хромосом. Так, Шуберт [54], отмечая, что «горячие» точки у многих видов выявляются и познореплицирующемся гетерохроматине, указывают, что на распределение хромосомных перестроек влияют также: 1) тип используемого мутагена; 2) относительное положение участка внутри кариотипа; 3) наличие структурных перестроек хромосом до воздействия; 4) число потенциальных «горячих» сегментов на хромосоме и т. д.

Холмберг с соавт. [35] показали, что разрывы хромосом лимфоцитов человека под действием облучения возникают преимущественно в R-областях хромосом и частота разрывов в каждой хромосоме пропорциональна длине этих участков. При этом оказалось, что структурные изменения хромосом не затрагивают C-областей [7].

Интересно, что существуют отдельные особенно «ломкие» участки хромосом, причем они специфичны для разных генотипов. Например, при изучении двух инбредных генетически чистых линий мышей для одной из них были обнаружены 3 ломких участка (12A2, 15A2, 19A2), а для другой — один (19B). Частота клеток с ломкими участками 15A2 и 19B увеличивалась при добавлении ФУДР [53]. Существует мнение, что разрывы хромосом происходят в результате не только специфиче-

ского биохимического действия мутагена, но и биофизических или физико-химических напряжений [44].

VIII. Сроки воздействия и фиксации. Результаты определения уровня хромосомных перестроек в соматических клетках существенно искажаются при длительном воздействии мутагенных факторов. Одной из причин этого является элиминация короткоживущих клеток, вместе с которыми элиминируются и перестройки. Тем более, что вероятность гибели клеток с повреждениями выше. Вторая причина — это гетерогенность клеток по чувствительности к мутагенам. Так, Леонард [11] отмечает, что популяции лимфоцитов обладают разной чувствительностью, причем более чувствительная субпопуляция активно элиминируется, что приводит к снижению клеток с хромосомными нарушениями. При длительных воздействиях мутагенных агентов происходит адаптация популяций к этим мутагенам. Популяции становятся более резистентными, что также приводит к существенному занижению результатов оценки генетической опасности мутагенных факторов по сравнению с результатами исследования однократных мутагенных воздействий.

Необходимо учитывать и тот факт, что с увеличением сроков культивирования клеток в них нарастает асинхронизация. Так, даже в синхронизированной культуре лимфоцитов человека уже через 5 ч культивирования появляются клетки второго деления [11], на 48-м часу мы анализируем смесь клеток двух делений, а на 80-м — смесь клеток пяти делений [18].

При облучении гепаринизированной цельной крови индийских мушкетеров через 48 ч культивирования обнаружена разная частота хромосомных aberrаций в метафазах 1-, 2- и 3-го митозов [27]. Авторам установлено, что 50% дицентриков и 12% колец переносятся из первого цикла во второй. В первом цикле после облучения в дозе 4 Гр было найдено 94% аномальных клеток, а во втором — 73%. После третьего цикла частота хромосомных нарушений существенно снижается [27]. Эти данные неоспоримо свидетельствуют о том, что нельзя изучать количественные закономерности индуцирования цитогенетических повреждений в клетке без идентификации первого и последующих клеточных делений.

IX. Роль условий проведения опытов. На результаты цитогенетических исследований могут оказывать влияние условия проведения опыта. Например, в лимфоцитах периферической крови человека был обнаружен «эффект хранения» [28]. Для изучения его влияния на частоту aberrаций хромосом Эвансом с соавт. [28] были проведены исследования в двух вариантах: в первом обработанные мутагеном лимфоциты стимулировали к делению с помощью ФГА и БДУ в течение 0—9 дней, а во втором варианте опытов ФГА и БДУ добавляли в культуру клеток сразу же после обработки мутагеном. Оказалось, что в обоих вариантах опытов частота хромосомных перестроек хроматидного и хромосомного типа интенсивно увеличивалась вплоть до последнего срока культивирования, в то время как частота СХО возрастала постепенно, достигая максимума на 6-й день, а затем начинала снижаться.

Установлено, что на частоту aberrаций в лимфоцитах влияют не только сроки хранения, но и температура хранения, и посуда, в которой хранилась кровь перед облучением [37]. Так, в клетках крови, хранившейся при $t=5^{\circ}\text{C}$ в течение 173 ч в пластиковых сосудах после облучения, частота aberrантных клеток была в 2 раза больше, чем в лимфоцитах свежей крови. Статистически значимое увеличение уровня хромосомных перестроек наблюдалось и при хранении крови до облучения в течение 24, 48 и 72 ч при $t=5, 20$ и 37°C . Однако хранение крови в течение 48 ч при $t=20^{\circ}\text{C}$ в стеклянных сосудах не приводило к повышению частоты aberrаций по сравнению со свежей кровью. Автор делает вывод о сенсibiliзирующем действии пластмассы на наследственную структуру лимфоцитов [37].

Возможны и другие артефакты, влияющие на результаты генетических исследований. Так, Митчел [45] указывает, что размер проб, количество повторностей, выбор метода статистической обработки данных а также экспериментальные артефакты и случайные ошибки могут быть причинами противоречивости данных, получаемых в разных лабораториях при исследовании одного и того же генотоксического агента. Например, к артефактам может привести также отсутствие тщательной отмывки культуры [56]. В некоторых опытах даже показатели осмотического давления, концентрация ионов и pH среды влияли на результаты цитогенетических исследований [58].

Таким образом, на индукцию хромосомных перестроек в отличие от точковых мутаций, влияют самые разнообразные факторы. Зависимость уровня структурных мутаций от многообразных клеточных характеристик свидетельствует о том, что образование aberrаций тесно связано с метаболическими процессами в клетке, в частности, с репарационными.

Различия в индукции хромосомных и точковых мутаций, очевидно, связаны с их разной природой и разными путями становления. Так как точковые мутации — это изменения на уровне нуклеотидов ДНК, не затрагивающие белковый компонент нуклеопротеида не нарушающие в процессе своего формирования целостность хромосомы, а для образования структурных перестроек обязательны разрыв в сахарофосфате и участие белкового компонента, то возможности для репарации предмутационных повреждений при образовании точковых и структурных мутаций различны.

Значение белково-нуклеиновых взаимодействий для репарации ДНК в клетках эукариот не вызывает сомнений, так как плотная упаковка хроматина препятствует репарации радиационных повреждений.

Следовательно, повреждения на уровне нуклеотидов могут быть недоступны для ферментов репарации, так как защищены «белковым футляром». Повреждения реparableны или нереparableны в зависимости от их локализации [22]. Очевидно, часть изменений нуклеотидов ускользает от репарации: либо не узнаются репарационными ферментами, так как не нарушают вторичную структуру молекулы, либо прикрыты белком и недоступны для репарационных ферментов.

Нереparableные или нерепарированные повреждения доживают

до синтеза ДНК и фиксируются в точковые мутации репликационным механизмом [9].

Механизмы образования замены пар оснований путем неправильного спаривания описаны в ряде работ [9, 19, 39].

Различие в путях становления точковых и хромосомных мутаций очевидно. В то же время многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют об общности первичных повреждений, приводящих к различным генетическим эффектам. Например, не только точковые, но и хромосомные мутации возникают под действием ионизирующих излучений, неспособных вызвать разрывы ДНК, при введении в пиримидиновое ядро заместителей Вг, С1 и при включении в ДНК бромдезоксипридина, а также при встраивании транспозонов, меняющих порядок нуклеотидов. При реплицирующейся нестабильности хромосом перестройки возникают спустя десятки клеточных поколений после воздействия мутагеном. Поскольку реплицироваться могут лишь изменения нуклеотидной последовательности, следовательно, такие изменения способны привести к абберации хромосом. В работе Ли с соавт. [42] наглядно продемонстрировано, что вполне определенные повреждения ДНК—межнитевые сшивки типа димеров тимина—служат причиной образования перестроек хромосом.

В 1980 г. Престон [52] выдвинул гипотезу, согласно которой в основе инициации хромосомных перестроек лежат нарушения оснований ДНК: при действии репарационных ферментов на поврежденные основания ДНК образуются одиночные разрывы хромосом, которые в свою очередь ферментативно преобразуются в двойные разрывы, дающие начало структурным мутациям.

Таким образом, можно сделать следующий вывод. Если первичные повреждения азотистых оснований не подвергаются воздействию репарационных ферментов (из-за нерепарабельности или недоступности для этих ферментов), то повреждения фиксируются в виде точковых мутаций. Если же системы восстановления узнают измененное основание и взаимодействуют с ним, то повреждение либо восстанавливается к норме, либо дает начало формированию хромосомной перестройки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров И. Д. Докл. АН СССР, 275, 2, 483—486, 1984.
2. Александров И. Д. В кн.: Молекулярные механизмы генетических процессов, 68—75, М., 1976.
3. Ауэрбах III. Проблемы мутагенеза. 458, М., 1978.
4. Ватти К. В. 14 Ежегод. конф. Европ. об-ва по мутагенам внешней среды. М., 11—14 сентября 1984. 546—547, М., 1984.
5. Вилекчих М. М., Хохлов А. Н., Аксюткина М. С., Обухова Л. К., Мамаев В. Б. В сб.: Повреждение и репарация ДНК. 56—67, Пушкино, 1980.
6. Ганасса Е. Э. Радиационное повреждение и репарация хромосом. 103, М., 1976.
7. Горин А. И., Ермаков А. В., Спитковский Д. М. Бюлл. exper. биол. и мед. 109, 9, 279—281, 1986.
8. Домарева О. П., Дмитриева Т. Н. Радиобиология, 13, 1, 61—65, 1973.
9. Дубинин Н. П. Потенциальные изменения в ДНК и мутации. 242, М., 1978.
10. Козлов А. А., Туманишвили Г. Д. Изв. АН ГрузССР. Сер. биол. 7, 3, 277—279, 1980.

11. Леонард А. Цитол. и генет., 20, 2, 115—121, 1986.
12. Моссэ Н. Б. Проблемы химической защиты в радиационной генетике 152, Минск, 1974.
13. Нахаш С., Матида Н., Сээки Т. XIV МКГ. Секц. заседания. Тез. докл., 1, 211, М., 1978.
14. Петин В. Г. XIV МКГ, Секц. заседания. Тез. докл., 1, 211, М., 1978.
15. Пожеранцева М. Д. 5 Съезд Всесоюз. об-ва генет. и селекционеров им. Н. И. Вавилова, М., 24—28 нояб., 1978. 1. Общ. и молекул. генет. Тез. докл., 219, М., 1987.
16. Прокофьева-Бельговская А. А. Гетерохроматические районы хромосом 431, М., 1986.
17. Прокофьева-Бельговская А. А. В сб.: Ионизирующие излучения и наследственность. 7, М., 1960.
18. Салачева В. А. Цитол. и генет., 20, 2, 97—102, 1986.
19. Тарасов В. А. Молекулярные механизмы репарации и мутагенеза. 226, М., 1982.
20. Тихомиров М. М. Генетика, 20, 12, 1981—1985, 1984.
21. Филиппович И. В., Сорокина Н. И., Сидитенков В. А., Романцев Е. Ф. И. с по пробл. радиобиологии, 27, 31—35, 1983.
22. Abel H. Stud. biophys., 76, 1, 3—7, 1979.
23. Binz P., Buechi C., Cordt L., Fritz-Kiggli H., Schäppli K. Jahresber. 1981. Schweiz. Inst. Nuclearforsch. Appendices. Sin. Newslett. 14 Sin. Med. Newslett. 3 Villigen s. a. NL. 112.
24. Baul P. P. W., van, Hoer de P., Zwanenburg S., Richardson F. Mutat. Res., 73, 1, 221—226, 1980.
25. Carpersson T., Haglung Ulla, Lindel B. Zech Lore Exp. Cell Res., 75, 2, 541—543, 1972.
26. Cattanach B. M., Kirk M. J. Mutat. Res., 176, 1, 69—79, 1978.
27. Das B. C., Sharma T. Mutat. Res., 176, 1, 93—104, 1987.
28. Evans H. J., Vijayalaxmi A. Nature, 234, 5754, 370—372, 1980.
29. Fujikawa K., Inagaki E. Mutat. Res., 63, 139—146, 1979.
30. Fujikawa K. Jap. J. Genetics, 55, 5, 409—413, 1980.
31. Fujiwara Y. Mutat. Res., 46, 119—120, 1977.
32. Gauden M. E., Weber N. B., Setbert G. B. Environ. Mutagenes., 6, 3, 441, 1984.
33. Harper B. L., Legator M. S. Environ. Mutagenes., 9, 8, 46, 1987.
34. Hayata Isamu, Dutrillaux Bernard Proc. Jap. Acad. 61, 5, 180—182, 1985.
35. Holmberg Mats, Jonasson Jon. Hereditas., 74 1, 57—67, 1973.
36. Israelski N. Chromosome, 70, 2, 263—276, 1979.
37. Ivanov B. A. Acta med. bulg., 4, 1, 63—67, 1979.
38. Iwata P. T. Genetics, 48, 8, 981—982, 1963.
39. Janlon Acta biochim. pol., 31, 1, 183—192, 1984.
40. Inagaki E., Sobels F. H. Mutat. Res., 15, 2, 229—232, 1972.
41. Lefevre G. J. Genetics., 55, 2, 263—268, 1967.
42. Liu V. W., Heddle J. H. Environ. Mutagenes., 3, 3, 314, 1981.
43. Lohman P. H. M., Vijg J., Oitterlinden A. G., Slagboom P., Gossen J. A., Berends F. Mutat. Res., 181, 2, 227—234, 1987.
44. Manna G. K. Symp. Struct. and Funct. Aspects Chromosomes, 1, 2, Bombay, 1975.
45. Mitchell I. de G. Mutagenesis, 2, 2, 141—145, 1987.
46. Miyamoto E. Genetics, 102, 4, 783—794, 1982.
47. Miyamoto T., Ikebuchi M., Terahtski J. Jap. J. Genet., 56, 3, 301—308, 1981.
48. Miyamoto T., Nakao J. Jap. J. Genet., 53, 3, 175—181, 1978.
49. Miyamoto Tomio Mutat. Res., 120, 1, 27—36, 1983.
50. Okada S., Ono T. Mutat. Res., 46, 145, 1977.
51. Pacchierotti Francesca, Quaggia Sandro, Russo Antonella. Atti Assoc. genet. ital., 30, 165, 1984.
52. Preston R. J. Mutat. Res., 69, 71—79, 1980.
53. Sanz M., Jenkins E., Brown T., Davidsson M., Kevin M., Roderick T., Wisniewski H. Amer. J. Hum. Genet., 36, 4, 111, 1984.
54. Schubert J. Clin. Genet., 28, 5, 463, 1985.

55. Searle A. G., Beechey C. V. *Mutat. Res.*, 147, 6, 357—362, 1985.
56. Shore Julie A., Wong Teresa K., Evans Bettie L. B., Cody David B. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Test.*, 172, 1, 77—87, 1986.
57. Sobels F. H. In: *Repair from Genetic Radiation Damage*. Oxl.—L.—N.—Y—Paris, 179—185, 1963.
58. Stankowski L. F., Gudek E. U., Luwan W. G., Bieszczyk M. J., Stec E. E., Polesny T., Mathews R. J., Naismith R. W. *Environ. Mutagenes.*, 9, 8, 101, 1987.
59. Valencia R. M., Valencia J. I. *Radiation Res.*, 14, 513—517, 1961.
60. Waller Horst, Waller Margarete *Eur. J. Cell Biol. Suppl.*, 42, 15, 34, 1986.
61. Wolff J., Arutyunyan R. *Environ. Mutagenes.*, 1, 1, 5—13, 1979.

Поступило 26.VI 1989.

Биол. ж. Армении, № 9—10, (42), 1989

УДК 581.167:581.132.1

МУТАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ПИГМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

Ю. Е. ГИЛДЕР

Институт физиологии и биофизики растений
АН Таджикской ССР, г. Душанбе

Пигментная система (содержание и распределение пигментов, взаимодействие донора и акцептора энергии во время переноса энергии) изучалась в хлоропластах мутантных форм одноклеточных зеленых водорослей и высших растений. Было показано, что мутационная изменчивость этих характеристик не выходит за пределы филогенетической и онтогенетической изменчивости. Полученные данные обсуждаются в свете эволюционных концепций Н. В. Гималева-Резовского.

The chlorophylls state (content of native forms, distribution of the pigment between the forms and their donor—acceptor interaction during energy transfer) was studied in chloroplasts of mutant strains of unicellular green algae and higher plants. It was shown that mutation variability of these characteristics did not overstep the limits of its phylogenetic and ontogenetic variety. Obtained data are discussed in the light of N. V. Gimalev—Resovskii evolutionary concepts.

Конверсия световой энергии в энергию химических связей при фотосинтезе представляет собой сенсibilизированный хлорофиллом окислительно-восстановительный процесс, протекающий в специализированных мембранных структурах хлоропластов высших растений и хлоропластов и хромофоров бактерий. Целенаправленное управление фотосинтезом, как одно из важнейших условий получения высоких и устойчивых урожаев и поиска путей осуществления этого процесса в искусственных системах невозможны без ясного понимания принципов эндогенного управления молекулярной организацией фотосинтетического аппарата в растительном организме. Одно из центральных мест в этой проблеме занимает вопрос о приходе нативного состояния хлорофилла, обеспечивающего его функциональную активность в процессе фотосинтеза.