

Эта стохастическая теория не исчерпывает проблемы. Необходимо установить молекулярные механизмы работы рибосом, действия макроэргов (ГТФ), работы экзонуклеаз (дальнейшие подробности, относящиеся к механизму трансляции, см. в работе [14]).

### § 9.9. МУТАЦИИ

Изменения наследственной программы — мутации происходят либо спонтанно, либо под влиянием мощных внешних факторов: химических или радиационных воздействий, на хромосомы. Видимые под микроскопом хромосомные мутации, т. е. перестройки хромосом, означают изменение надмолекулярных структур, точечные или генные мутации в ДНК означают изменение молекулярной первичной структуры.

Вопросы мутагенеза уже не раз затрагивались в предыдущем изложении.

Сейчас изучен ряд мутационно измененных белков, в частности мутанты белка ВТМ, щелочной фосфатазы *E. coli*, триптофансинтетазы *E. coli* и т. д. [107]. В ряде случаев удалось установить прямую корреляцию между изменениями нуклеотидов и соответствующими изменениями аминокислотных остатков. Разумно различать три типа точечных мутаций: а) мутации, изменяющие смысл кодона (missense mutations) и вызывающие поэтому замену аминокислотного остатка в белке, б) мутации, превращающие осмысленный кодон в бессмысленный УАА, УАГ, УГА (nonsense mutations) и обрывающие белковую цепь; в) делеции и включения, т. е. мутации сдвига рамки (см. стр. 557).

Спонтанные генные мутации определяются ошибками, возникающими вследствие теплового движения атомов и молекул при редупликации ДНК. Очевидно, что ошибки при транскрипции и трансляции не наследуются.

Редупликация ДНК — стохастический процесс, в котором не могут быть полностью исключены шумы.

Включение некомплементарного матричному нуклеотида или делеция приводит, по-видимому, к образованию петли (см. стр. 499). В последующих поколениях вследствие полуконсервативного синтеза петля исчезает, но первичная структура ДНК остается измененной. Главная трудность при физико-химической трактовке таких ошибок связана с необходимостью выявить относительную роль термодинамических и кинетических факторов.

Из элементарных соображений следует, что замена пары А — Т на Г — Ц термодинамически выгодна. Можно рассчитать термодинамическую вероятность такой замены [139]. Если бы все сводилось к термодинамике, то в ходе эволюции должно было бы увеличиваться относительное содержание Г — Ц в ДНК.

Это противоречит опыту — у высших организмов содержание Г + Ц стабилизировано на уровне 40—45%. Вычисленные термодинамические вероятности образования различного рода петель ( $10^{-2}$ — $10^{-4}$ ) значительно больше опытных (у бактерий число мутаций на ген на поколение не превышает  $10^{-5}$ — $10^{-7}$ ).

Для редупликации существенна как термодинамика, так и кинетика матричного синтеза. Появление ошибочного нуклеотида в цепи в результате добавления, замены или делеции определяются и темпом процесса, т. е. в конечном счете поведением ДНК-полимеразы, катализирующей редупликационный синтез ДНК. Если синтез идет прерывно, согласно Оказаки (см. стр. 547), то существенны кинетические условия и при репликации отрезков ДНК, и при их объединении в общую цепь.

Результаты мутационных шумов дают материал для естественного отбора на молекулярном и организменном уровне и, тем самым, находятся под мощным воздействием отбора. Отбор создал современный генетический код с его вырождением, сильно уменьшающим опасность ошибок, т. е. уменьшающим вероятность мутации белка. Особенности кода в смысле его помехоустойчивости к наиболее опасным мутациям, рассмотрены выше.

Очевидно, что эволюционное образование «Г + Ц-организма», выгодное с точки зрения термодинамики, невозможно, так как триплеты, не содержащие А и Т (А и У в мРНК), кодируют только Про, Арг, Ала и Гли, т. е. лишь  $\frac{1}{5}$  всех аминокислот. Естественный отбор — биологический фактор, и он существенно ограничивает мутации, совместимые с жизнью, ограничивает роль термодинамических и кинетических факторов.

Возможность включения ошибочного нуклеотида в растущую цепь ДНК определяется прежде всего его связыванием данным локусом матрицы. Образование пары, отличной от уотсон-криковской, может в свою очередь определяться таутомерией нуклеотида и его способностью создавать необычные водородные связи (см. стр. 502). Фриз считал таутомерию главной причиной мутаций [140].

Некоторые производные азотистых оснований обладают высокой мутагенной активностью (химический мутагенез). Таковы, в частности, 5-бромурацил (БУ) и 2-аминопурин (АП). При синтезе ДНК *in vitro* БУ включается вместо Т. По-видимому, БУ может образовать пару с А, если он фигурирует в обычной кето-форме, а в более редкой енольной форме БУ имитирует Ц и образует пару с Г (рис. 9.15). В первом случае происходит ошибка включения во время редупликации. Во втором случае происходит ошибка редупликации — цепь ДНК, уже содержащая БУ, образует в этом месте не пару БУ—А (что исправило бы ошибку включения: А—БУ→А, БУ→А—Т, БУ—А→А—Т, БУ, А→А—Т, БУ—А, А—Т и т. д.), но пару

БУ — Г вследствие таутомерного превращения БУ [141]. Вероятность такого превращения в присутствии атома Вг увеличена.

Очевидна важность квантовохимических расчетов таутомерии азотистых оснований. Наряду с таутомерией существенное значение для мутагенеза может иметь образование пар, отличных от уотсон-криковских вследствие иного расположения водородных связей (см. стр. 502).

Все, что мы знаем о ДНК, заставляет думать о кооперативной природе мутагенеза. Азотистые основания взаимодействуют

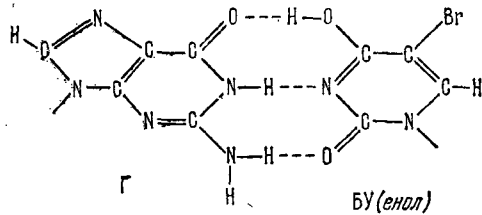
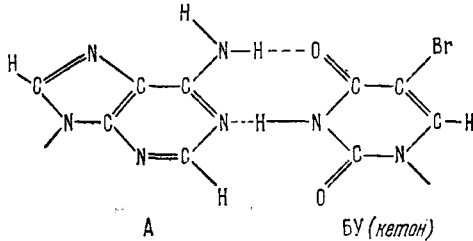


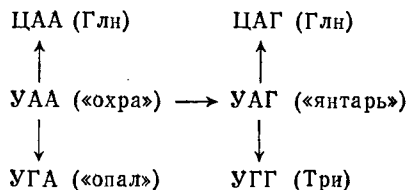
Рис. 9.15. Пары БУ—А и БУ—Г.

и «горизонтально» и «вертикально». Любая ошибка при редупликации означает изменение этих взаимодействий. Следовательно, вероятность мутации в данном локусе ДНК должна зависеть от соседних пар оснований. Эта идея была выдвинута для объяснения «горячих точек», наблюдавшихся при изучении мутабельности локуса *r* II фага Т4 [141, 142]. Главная трудность при трактовке частот прямых и обратных мутаций связана с тем, что мы не знаем, какой вырожденный кодон

находится в данном месте ДНК. Однако определение аминокислотного состава ряда ревертантов «амбер-мутантов» (т. е. результатов мутаций, приводящих к бессмысленному кодону УАГ) в белке головки фага Т4 показало, что замены пар оснований в различных локусах цистрона происходят с разными вероятностями [143]. Мутации ЦАА → УАА в локусе *r* II фага Т4 индуцируются NH<sub>2</sub>ОН с частотами, меняющимися в 20 раз в зависимости от локуса ДНК [144]. Сходные факты обнаружены при ультрафиолетовой реверсии этих мутаций [145]. Все приведенные выше факты могут объясняться и тем, что вероятности мутаций внутри цистрона зависят от направления репликации гена, близости контрольных, регулирующих элементов и т. д. Однако Кох получил прямые доказательства влияния соседних пар оснований на мутагенез [146].

Обрывающие цепь кодоны «янтарь» УАГ и «охра» УАА превращаются друг в друга при замене третьего нуклеотида. Частоты мутаций первых двух нуклеотидов УАА и УАГ можно из-

мерить в локусе *r* II фага Т4. Мутаген А II вызывает *транзиции* (т. е. замены пурина на пурин или пиримидина на пиримидин), но не *трансверсии* (т. е. замены пурина на пиримидин и наоборот) [147]. Кох идентифицировал генотипы ревертантов, возникающих в локусе *r* II фага Т4 под действием АП. Схему этих мутаций можно записать следующим образом:



Оказалось, что частоты транзиций первых двух нуклеотидов кодона зависят от природы третьего нуклеотида и резко возрастают при замене пары А — Т на Г — Ц.

Механизм этой кооперативности еще совершенно не изучен. Физика спонтанного и химического мутагенеза не развита, ее построение требует детальной расшифровки структуры ДНК-полимеразы и выяснения механизма ее действия. Богатый материал, относящийся к молекулярному механизму мутаций, приведен в обзоре [148] и в монографии [147].

Наряду с аналогами азотистых оснований сильными химическими мутагенами являются азотистая кислота (см. стр. 558), диэтилсульфат  $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{SO}_4$ , вызывающий этилирование Г и его последующее удаление из ДНК, гидроксилламин  $\text{NH}_2\text{OH}$ , взаимодействующий с Ц с образованием соединения, имитирующего Т. Найдены особо сильные мутагены —  $\text{NN}'$ -нитрозонитрогуанидин, акридиновые соединения азотистого аналога иприта и т. д.

Ряд веществ, в частности антибиотиков, оказывает сильное влияние на трансляцию кода. Речь идет не о мутагенах в собственном смысле слова. Изучение их действия важно в связи с проблемами молекулярной регуляции биологических процессов.

## Литература

1. М. В. Волькенштейн, Молекулы и жизнь, «Наука», 1965.
2. Д. Уотсон, Молекулярная биология гена, «Мир», 1967.
3. J. Gamow, Nature 173, 318 (1954); Kgl. Dansk. Videnskab. Selskab. Biol. Medd. 22, 1 (1954).
4. Г. Гамов, А. Рич, М. Икас, в сб. «Вопросы биофизики», ИЛ, 1957.
5. М. Икас, Генетический код, «Мир», 1971.
6. R. Wall, Nature 193, 1268 (1962).
7. C. Woese, The genetic code, Harper a. Row, 1967.
8. F. H. C. Crick, L. Barnett, S. Brenner, R. Watts-Tobin, Nature 192, 1227 (1961).
9. S. Benzer, Proc. Nat. Acad. Sci. US 45, 1607 (1959); 47, 403 (1961).
10. E. Terzaghi a. o., Proc. Nat. Acad. Sci. US 56, 500 (1966).