

Всего 350 (66,5%) правильных замен и 176 (33,5%) неправильных. К правильным заменам относятся и «тихие мутации», т. е. те случаи, в которых замена нуклеотида не сопровождается заменой остатка вследствие вырождения кода. Код устроен так, что вероятность правильной мутации вдвое больше неправильной.

Вычислим средние разности гидрофобностей остатков, отвечающие однократным замещениям нуклеотидов. Получаем

при замене x 4200, y 5370, z 1420 Дж/моль

и в среднем по всем трем нуклеотидам 3660 Дж/моль, что заметно меньше значения 5370 Дж/моль при случайном замещении аминокислот. Опыт дает среднюю разность гидрофобностей исходной и замещающей аминокислот для 70 мутантов гемоглобина человека 3500, для 6 цитохромов c — 3780 Дж/моль и т. д. Анализ 423 замещений при сопоставлении шести гомологичных белков различных видов (цитохром c , гемоглобины α и β , инсулины A и B) дает среднюю разность гидрофобностей 3240 Дж/моль.

Таким образом, код обладает высокой, хотя и не абсолютной, надежностью по отношению к правильным мутациям, обеспечивая их большую вероятность. Преимущество правильных мутаций определяется пространственным строением белка в водном окружении и, тем самым, особыми физическими свойствами воды. Корреляция кодонов с аминокислотами оказывается продиктованной физикой воды.

§ 8.7. Мутации

Мутации происходят либо спонтанно, либо под влиянием мощных внешних факторов — химических или радиационных воздействий на хромосомы и гены. Следует различать *хромосомные мутации* — перестройки хромосом, наблюдаемые под микроскопом, и *точечные*, или генные, *мутации*. Первые представляют собой изменения надмолекулярных структур, вторые — изменения последовательности нуклеотидов в ДНК и, соответственно, в мРНК. Здесь мы остановимся на точечных мутациях.

Существуют четыре типа точечных мутаций.

а) Мутации, состоящие в заменах нуклеотидов в кодонах, меняющие смысл кодона, т. е. кодируемый аминокислотный остаток в белке (*missense mutations*).

б) Такие же замены, переводящие кодон в совместно с ним вырожденный, т. е. не меняющие аминокислотный остаток в белке. Эти «тихие мутации» (*silent mutations*) фенотипически не проявляются, но имеют весьма важное значение для эволюции (см. далее, § 17.9).

в) Мутации, превращающие осмысленный кодон в *терминальный* УАА, УАГ, УГА (*nonsense mutations*). Эти мутации, приводящие к обрыву белковой цепи, особенно опасны.

г) Делеции нуклеотидов или их включения, т. е. мутации сдвига рамки (frame shift mutations, см. с. 260).

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

Включение нуклеотида, некомплементарного матричному, делеция или замена нуклеотида обычно приводят к образованию петли в двойной спирали ДНК (см. с. 230). В последующих репликациях ДНК петля исчезает вследствие полуконсервативного синтеза, но первичная структура ДНК остается измененной. Наряду с образованием петель возможно образование пары, отличной от уотсон-криковской вследствие способности азотистого основания создавать необычные водородные связи (с. 231), а также вследствие таутомерии (с. 37).

Очевидно, что замена пары АТ на ГЦ термодинамически выгодна, так как Г связывается с Ц сильнее, чем А с Т. Если бы все сводилось к термодинамике, то в ходе эволюции должно было бы увеличиваться относительное содержание ГЦ в ДНК. Это не так — у высших организмов содержание ГЦ стабилизировано на уровне 40—45%. Эволюционное образование «Г+Ц-организма» биологически бессмысленно, так как триплеты, не содержащие А и Т (А и У в мРНК), кодируют только Про, Арг, Ала и Гли, т. е. лишь $\frac{1}{3}$ всех аминокислотных остатков.

Различные точечные мутации имеют различные вероятности. Фогель и Копун (1977) проанализировали 1293 замещения аминокислотных остатков в филогенетически связанных белках, объясняемые однократными замещениями нуклеотидов xu в кодонах xuz . Замещения z не рассматриваются, так как из $61 \cdot 3 = 183$ замещений в осмысленных кодонах 7 ведут к терминаль-

Таблица 8.6. Числа мутационных замещений $x \rightarrow x'$ и $y \rightarrow y'$ в кодонах РНК для филогенетически связанных белков

x', y'		x, y			
		А	Г	Ц	У
A	А	—	237	114	60
	Г	272	—	92	71
	Ц	96	73	—	92
	У	54	63	69	—

ным кодонам и 126 представляют собой тихие мутации. Найденные таким образом числа n_i замещений $x \rightarrow x'$ и $y \rightarrow y'$ в кодонах РНК приведены в табл. 8.6.

Для того чтобы найти относительные вероятности таких мутаций, следует учесть некоторые различия между числами нуклеотидных замещений m_i , которые могут наблюдаться в виде

замещений аминокислотных остатков, согласно коду. Получаем табл. 8.7. Относительные вероятности замещений находятся по формуле

$$p_i = \frac{n_i}{\sum_i n_i} \frac{\sum_i m_i}{m_i}. \quad (8.1)$$

Нормируя p_i к 1, получаем табл. 8.8.

Замены нуклеотидов являются *транзигциями* или *трансверсиями*. Транзигции — замещения пурина на пурин и пиримидина на пиримидин $A \rightleftharpoons G$, $C \rightleftharpoons U$, трансверсии — замещения пурина

Таблица 8.7. Числа принципиально наблюдаемых замещений m_i $x \rightarrow x'$ и $y \rightarrow y'$ в кодовах

x, y \ x', y'		x, y			
		A	Г	Ц	У
A	—	30	28	27	
Г	30	—	31	28	
Ц	28	31	—	27	
У	27	28	27	—	

на пиримидин и наоборот $A \rightleftharpoons C$, $A \rightleftharpoons U$, $G \rightleftharpoons C$, $G \rightleftharpoons U$. Согласно табл. 8.8 вероятность транзигций $p = 0,68$, трансверсий $1 - p = 0,32$. Данные, относящиеся к 198 мутантам гемоглобина человека, дают несколько иные значения: $p = 0,62$, $1 - p = 0,38$.

Эти данные характеризуют два обстоятельства: истинные вероятности замещений нуклеотидов в ДНК и РНК и выжива-

Таблица 8.8. Нормированные относительные вероятности замещений $x \rightarrow x'$, $y \rightarrow y'$ в кодовах РНК по данным для белков

x, y \ x', y'		x, y			
		A	Г	Ц	У
A	—	0,177	0,091	0,050	
Г	0,201	—	0,067	0,057	
Ц	0,076	0,053	—	0,076	
У	0,045	0,051	0,057	—	

ние соответствующих мутантных белков. В последнее время были получены данные, относящиеся непосредственно к РНК, — 247 замещений. Соответствующие нормированные относительные вероятности представлены в табл. 8.9. Превышение вероятностей транзигций над вероятностями трансверсий сохраняется, но оказывается не столь значительным: $p = 0,56$, $1 - p = 0,44$.

Имеется существенное различие в вероятностях замещений, найденных из первичных структур белков (табл. 8.8) и непосредственно из первичных структур РНК (табл. 8.9). В первом случае вероятности транзаций $A \rightleftharpoons G$ существенно превосходят вероятности трансверсий и транзаций $C \rightleftharpoons U$, во втором случае этого нет. Следовательно, замещения $A \rightleftharpoons G$ дают меньшую долю

Т а б л и ц а 8.9. Нормированные относительные вероятности замещений в РНК

x', y'	A	G	C	U
A	—	0,065	0,040	0,053
G	0,117	—	0,109	0,121
C	0,093	0,113	—	0,121
U	0,049	0,028	0,089	—

леталей, чем другие замещения. Это объясняется тем, что аминокислотные остатки, связанные переходами $A \rightleftharpoons G$, существенно ближе друг другу, чем связанные другими переходами. В самом деле, переходам $A \rightleftharpoons G$ отвечают наименьшие изменения гидрофобностей. Напротив, переходам $C \rightleftharpoons U$ отвечают вдвое большие изменения. В табл. 8.10 приведены усредненные изменения гидрофобностей аминокислотных остатков при замещениях нуклеотидов в мРНК.

Т а б л и ц а 8.10. Средние разности гидрофобностей аминокислотных остатков (в кДж/моль) при замещениях $x \rightarrow x', y \rightarrow y'$ в кодонах мРНК

x', y'	A	G	C	U
A	—	2,94	4,97	5,10
G	2,94	—	4,35	6,24
C	4,97	4,35	—	5,69
U	5,10	6,24	5,68	—

Таким образом, мутации $A \rightleftharpoons G$ наименее опасны для структуры и функции белка и им должен отвечать наименьший процент леталей. Истинные вероятности замещений характеризуются табл. 8.9. Они согласуются с квантовомеханическими расчетами энергий взаимодействия в разных парах азотистых оснований.

Мы рассмотрели мутации класса а (с. 282), приводящие к замене аминокислотного остатка. Обратимся к мутациям класса б, приводящим к обрыву белковой цепи. Таких мутаций, определяемых единичными замещениями нуклеотидов в кодонах xuz , всего 23—9 замещений в x , 7—в y и 7—в z . Из 23 му-

тадий 18 являются трансверсиями и лишь 5 — транзициями. Меньшая вероятность трансверсий до некоторой степени снижает вероятность гибельной терминальной мутации.

Значения вероятностей точечных замещений в кодонах, приведенные в табл. 8.9, позволяют вычислить относительные вероятности терминальных мутаций. Эти значения приведены в табл. 8.11.

Таким образом, наиболее вероятны терминальные мутации в кодоне УГГ, кодирующем Трп. Из 9 мутаций этого кодона 2

Т а б л и ц а 8.11. Относительные вероятности мутаций, ведущих к терминальным кодонам УАА, УАГ, УГА

У → А в кодонах УУГ, УГУ	0,049
А → У в кодонах ААА, ААГ, АГА	0,053
У → Г + У → А в кодонах УУА, УАУ	0,077
Ц → А в кодонах УЦГ, УГЦ	0,093
Г → У в кодонах ГАА, ГАГ, ГГА	0,121
Ц → У в кодонах ЦАА, ЦАГ, ЦГА	0,121
Ц → Г + Ц → А в кодонах УЦА, УАЦ	0,206
2 мутации Г → А в кодонах УГГ	0,234

являются терминальными, происходящими с повышенной вероятностью. Можно думать, что с этим обстоятельством связано то, что в гене, кодирующем Трп-тРНК, зачастую происходят мутации, превращающие эту тРНК в супрессорную. Сохранность кодона УГГ особенно существенна.

Что касается «тихих» мутаций класса б, то они играют существенную роль в эволюции. Кодирование одной и той же аминокислоты разными кодонами оказывается свойственным не только разным организмам, но и разным клеткам одного и того же организма. Это определяется, по-видимому, различиями в количествах соответствующих тРНК. Тем самым такие мутации имеют регуляторное значение. Совместно вырожденные кодоны могут мутировать по-разному. Так, например, мутация УУГ (Лей) → УУА (Лей) не меняет остатка. Но вероятность терминальной мутации УУА равна 0,077, а для УУГ равна 0,049 (табл. 8.11).

В то же время, по-видимому, кодоны не независимы друг от друга — мутации в соседних кодонах влияют на поведение данного кодона при биосинтезе белка. Вопросы эти еще недостаточно исследованы.

Мы рассмотрели точечные мутации структурных генов. Для онтогенеза и эволюции не менее, если не более существенны мутации регуляторных генов.