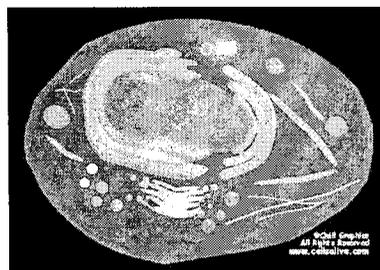


Самаркандский медицинский институт.

Реферат



На тему: *Наследственность и генные мутации.*

Выполнил: *Раббимов Дилшод.*

Проверила: *Маматкулова Д. Х.*

Самарканд-2008г.

Первые представления о наследственности

Дети похожи на родителей, и хотя это сходство далеко не абсолютно, оно тем не менее явно свидетельствует о существовании биологической наследственности. Люди давно поняли, что половой акт и у человека, и у животных связан с размножением. Следовательно, естественно было предположить, что семя самцов служит носителем наследственности, однако, как именно это происходит, оставалось не ясно. Многие века осподствовала теория пангенеза, согласно которой семя образуется во всех частях тела, а затем по кровеносным сосудам попадает через семенники в пенис.

Сходство между родителями и потомством бьяснялось тем, что семя, образуясь в различных частях тела, отражает характерные особенности каждой из них.

Теория пангенеза была известна уже Аристотелю (384-322 г. до н. э.) и другим древнегреческим философам и преобладала еще в XIX в. Жан Батист де Ламарк (1744-1829) считал пангенез основным механизмом эволюционных изменений. По Ламарку, эволюция была накоплением в чреде многих поколений благоприобретенных признаков: упражнение или неупражнение органов, по его мнению, приводят к таким изменениям в организме (например, развитие мускулатуры у спортсмена), которые могут передаваться потомству.

Теория пангенеза принималась и другими великими биологами XIX века, включая Чарлза Дарвина (1809-1882). Первый серьезный вызов теории пангенеза был брошен Августом Вейсманом (1834-1914), который противопоставил ей теорию зародышевой плазмы. Он провел различие между зародышевой плазмой, включающей половые клетки и клетки, из которых они образуются, и соматоплазмой, к которой отнес клетки остальной части организма.

По Вейсману, зародышевая плазма остается неизменной, передаваясь при размножении из поколения в поколение, тогда как соматоплазма преходяща и создается зародышевой плазмой лишь для того, чтобы защитить себя от повреждений и способствовать размножению. Эта точка зрения в корне противоречила теории пангенеза, в соответствии с которой семя слагается из частиц, выделяемых соматоплазмой и отражающих ее свойства. Вейсман подкрепил свою теорию экспериментом, который сегодня нам кажется несколько примитивным, но который, однако, оказал значительное влияние на последующее развитие представлений о наследственности.

На протяжении многих поколений он отрезал хвосты мышам и обнаружил, что длина хвоста у их потомков остается неизменной.

Из этого он заключил, что наследственные признаки хвоста определяются не частицами, формируемыми в самом хвосте; напротив, они определяются клетками зародышевой плазмы, которая при отрезании хвостов остается неизменной.

Открытие законов наследственности.

Основные законы наследственности были открыты Грегором Менделем (1822-1884), монахом августинского монастыря, жившем в австрийском городе Брюнне (ныне Брно, Чехословакия).

Примерно с 1856 г. он начал экспериментировать с горохом (*Pisum sativum*), для того чтобы узнать, как передаются по наследству индивидуальные признаки этого организма.

Опыты Менделя и по сегодняшним меркам могут служить прекрасным образцом научного исследования. Результаты экспериментов он опубликовал в Известиях общества естественной истории в Брюнне в 1866 г., но его статья не привлекла никакого внимания ученых.

Законы Менделя были вторично открыты в 1900 году тремя учеными, получившими сходные с Менделем результаты и признавшими его приоритет. Это были Гуго де Фриз из Голландии, Карл Корренс из Германии и Эрих Чермак из Австрии. С этого момента для всех стало очевидным, насколько велико значение работы Менделя: именно им был открыт путь к разгадке тайны наследственности. Многие биологизаинтересовались генетикой.

Первоочередной задачей было показать, что принципы Менделя приложимы не только к растениям, но и к животным. Это было сделано в первые же годы XX века в основном Люсьеном Кено во Франции, Вильямом Бэтсоном в Англии и Вильямом Кастлем в США. Вскоре последовали новые важные открытия.

Мутации генов.

Самые крупные из существующих ныне животных - это синие киты. Длина их достигает 30 м, а вес - 13 т. Гигантские секвойи Калифорнии еще больше. Вес некоторых из них - 1,5 тыс. тонн, т.е. примерно в сто 20 миллионов триллионов раз (10¹⁰) больше веса средней бактерии. Продолжительность жизни бактерии - 30 минут. Возраст гигантских секвой и остистых сосен может исчисляться тысячелетиями. Необычайно разнообразны формы живых существ, условия их существования, а также способы добывания энергии. Разнообразие, безусловно, представляет собой наиболее характерную особенность живого мира. Источником этого разнообразия служит эволюционный процесс.

Отдаленными предками человека, жившими в кембрийский геологический период, около 600 млн. лет тому назад, были червеобразные существа, обитавшие в океанах. От них произошли и морские ежи, и форель, и крокодилы, и орлы, и коровы. Все клеточные организмы произошли от прокариотических существ, живших более трех миллиардов лет тому назад. В основе морфологических и функциональных изменений лежат изменения генетические: биологическая эволюция происходит постольку, поскольку наследственное вещество, ДНК, может изменяться от поколения к поколению.

Наследственная передача признаков от родителей потомству - процесс консервативный, но эта консервативность не является абсолютной. Иногда происходят ошибки, в результате чего количество ДНК или последовательность оснований в ДНК дочерних клеток становятся иными. Эти изменения наследственного материала называют мутациями. В настоящей главе мы обсудим генные мутации, затрагивающие один или несколько нуклеотидов внутри отдельных генов. Хромосомные мутации, которые одновременно затрагивают множество нуклеотидов или структуру хромосомы в целом, мы обсудим в следующей главе.

Молекулярные основы генных мутаций.

Как обсуждалось в гл. 13, наследственная информация, заключенная в нуклеотидной последовательности ДНК, сохраняется неизменной благодаря действию сложных метаболических механизмов, обеспечивающих осуществление репликации и репарации. Мутации могут быть результатом ошибки на любом из многочисленных последовательных этапов этих процессов. Мутагенные факторы способны изменять как непосредственно структуру ДНК, так и структуру ферментов, прямо или косвенно участвующих в соответствующих метаболических процессах. Для понимания механизмов мутаций требуется знание нуклеотидной последовательности гена дикого типа и мутантного гена. Без этого невозможно понять связь между изменениями, происходящими в структуре ДНК и действием конкретных факторов или условий среды, вызывающих мутации. Современные методы клонирования генов сделали возможным прямое определение нуклеотидной последовательности ДНК. Однако еще совсем недавно при изучении молекулярной природы мутаций приходилось анализировать аминокислотные замены в белках, синтезируемых мутантными генами, а затем с помощью таблиц генетического кода выявлять изменения в нуклеотидной последовательности.

Мутации можно разделить на два больших класса. К первому классу относятся те из них, которые связаны с заменой оснований. Мутации второго класса обусловлены сдвигом рамки считывания

Последние включают в себя вставки или делеции одной или нескольких нуклеотидных пар. Замены оснований составляют не более 20% спонтанных мутаций, большинство остальных мутаций происходит в результате делеции и вставок различной протяженности. Исключение составляют так называемые «горячие точки». Исследования нуклеотидной последовательности клонируемого гена *lac I* *E. coli* показали, что две горячие точки спонтанных мутаций расположены в сайтах, содержащих метилированное основание 5-метилцитозин, которое возникает под действием фермента модификации ДНК. Известно, что при спонтанном дезаминировании цитозина образуется урацил. Сформировавшиеся при этом ошибочные пары dG/dU узнаются системой репарации клетки. Ошибка исправляется посредством гидролиза гликозидной связи, высвобождающего урацил

Таблица 20.1. Иллюстрация смысла терминов «замена основания» и «сдвиг рамки»

Тип мутационного события

Мутация гена

Мутация гена Замена

Мутация гена Сдвиг рамки делецией

Мутация гена Сдвиг рамки вставкой

Замена пар оснований.

Существуют два типа замен нуклеотидов - транзиции и трансверсии. Транзиции заключаются в замене одного пурина на другой пурин или одного пиримидина на другой пиримидин (AT>GC, GC>AT, TA>CG и CG>TA). При трансверсии пурин меняется на пиримидин или наоборот (AT>CG, AT>TA и т. д.). Замены оснований могут происходить различными способами. Так, например, мутация в гене ДНК-полимеразы фага T4 может привести к возникновению дефектного фермента, что в свою очередь обусловит увеличение частоты как транзиций, так и трансверсий при репликации ДНК. У многих различных организмов, в том числе у *E. coli* и у дрожжей, известны гены-мутаторы, увеличивающие частоту мутаций. У *E. coli* мутация *mut S* повышает частоту обоих типов замен, тогда как мутация *mut T* индуцирует лишь трансверсии AT>CG. Спонтанные транзиции могут происходить при репликации ДНК вследствие таутомеризации, т. е. изменения положения протона, меняющего химические свойства молекулы. Таутомеризация в нуклеотидных основаниях меняет их способность образовывать водородные связи, так что аденин приобретает свойства гуанина, гуанин-аденина, цитозин-тимина, а тимин-цитозина. Мутагенная активность 5-бромурацила, аналога тимина, в котором метиловая группа замещена атомом брома, обусловлена таутомеризацией, связанной с большим, нежели у метиловой группы, сродством к электрону атома брома по сравнению с метиловой группой. Индуцируемые 5-бромурацилом мутации могут обуславливаться либо ошибками при включении, либо при считывании, что приводит соответственно к замене GC>AT или AT>GC.

Другим мутагеном из числа химических аналогов нуклеотидных оснований является 2-аминопурин, способный спариваться либо с тимином, либо с цитозином (рис. 20.5). Так же как и 5-бромурацил, 2-аминопурин вызывает транзиции, являющиеся результатом ошибок двух типов: при включении или при считывании.

Мутации, индуцируемые такими мутагенами, могут под действием тех же мутагенов ревертировать к дикому типу. Способность ревертировать под действием аналогов оснований используется для идентификации транзиции (табл. 12.2). Азотистая кислота представляет собой мутаген, индуцирующий транзиции GC > AT и AT > CG: это происходит в результате дезаминирования цитозина и превращения его в урацил, а также при переходе аденина в гипоксантин (спаривающийся так же, как и гуанин). Возникновение реверсий под действием азотистой кислоты также используется для доказательства транзитивной природы прямых мутаций.

Поскольку 2-аминопурин, 5-бром урацил и азотистая кислота индуцируют как прямые, так и обратные мутации, с помощью этих мутагенов нельзя получить лишь транзиции GC > AT или AT > GC. Гидроксиламин, напротив, воздействует только на цитозин, переводя его в форму, способную к спариванию с аденином. Это приводит к направленным мутациям GC > AT. Гидроксиламин не способен индуцировать обратные мутации, однако такие мутации могут индуцироваться мутагенами, действующими в обоих направлениях. Описанный механизм действия 2-аминопурина подтверждает анализ аминокислотных замен белка триптофансинтетазы *E. coli*, вызываемых 2-АП индуцированными реверсиями специфических мутаций. Механизмы возникновения трансверсий менее понятны. Трансверсии можно идентифицировать по отсутствию реверсий под действием мутагенов-аналогов нормальных нуклеотидных оснований. Известно, что именно трансверсиями являются многие мутации, индуцируемые ультрафиолетовым облучением. Возможно, причина их возникновения заключена в механизме репарации, который мы вкратце обсудим в дальнейшем.

Мутации, вызывающие рамки считывания.

В главе 12 мы уже рассматривали мутации этого типа и сравнивали их с заменами оснований. Мутации со сдвигом рамки составляют значительную долю всех спонтанных мутаций. Спонтанные rII-мутации фага T4, вызывающие сдвиг рамки считывания, происходят во время репликации ДНК в клетке хозяина, но не при накоплении частиц фага. Большинство мутаций, происходящих в этот период, представляют собой транзиции (что следует из их способности к индуцированным реверсиям), которые могут происходить в результате спонтанного дезаминирования цитозина. Данные о природе мутаций со сдвигом рамки получены при анализе аминокислотной последовательности белков, которые кодируются генами, содержащими взаимно супрессирующие мутации рамки. При этом сравнивается аминокислотная последовательность лизоцима фага T4 дикого типа с соответствующими последовательностями белков фаговых мутантов, несущих две мутации со сдвигом рамки. С помощью таблиц генетического кода мы можем восстановить вероятные нуклеотидные последовательности как дикого типа, так и мутантной мРНК. Оказывается, что они отличаются друг от друга вставкой и делецией одного или нескольких нуклеотидов. На представлен пример обсуждавшегося ранее типа взаимной супрессии. Делеция одного остатка аденина в сериновом кодоне м-РНК дикого типа сдвигает рамку считывания в одном направлении, а вставка одного гуанина перед кодовым аланина сдвигает рамку в противоположном направлении. Соответственно в белке двойного мутанта оказывается измененной последовательность пяти аминокислот. иллюстрирует эффект сочетания вставки двух нуклеотидов GU (вслед за уже упоминавшимся кодовым серина) со вставкой G перед кодоном аланина. Результат состоит в сдвиге рамки на целый кодон, что приводит к появлению одной дополнительной аминокислоты в белке и замене последовательности из четырех аминокислот в белке дикого типа новой последовательностью из пяти аминокислот в белке двойного мутанта. Случай, когда двойной мутант возник в результате комбинации двух нуклеотидной реверсии и

двухнуклеотидной делеции. Эти примеры показывают, что единичная мутация со сдвигом рамки может быть скорее результатом вставки двух соседних нуклеотидов, чем одного, как это предполагалось в гл. 12. Некоторые единичные мутации являются следствием одновременных изменений до пяти соседних нуклеотидов. Большая часть изученных мутаций, вызывающих сдвиг рамки, обнаружена в последовательностях, которые состоят из одинаковых оснований или пар оснований. Джордж Стрейзингер предложил гипотезу возникновения мутаций со сдвигом рамки, в соответствии с которой они происходят в результате локальной диссоциации двойной спирали и последующего неправильного ее восстановления в участках, содержащих одинаковые основания. В соответствии с этой гипотезой действие мутагенов, сдвигающих рамки считывания, должно состоять в облегчении образования таких неправильно реассоциированных участков или в их стабилизации.

Мутагенез и репарация.

Прокариотические и эукариотические клетки реагируют на повреждение ДНК синтезом множества различных ферментов, которые обеспечивают излечение клетки и устраняют повреждения ДНК. Этот ответ, называемый SOS-репарацией, наиболее тщательно исследовали у *E. coli*, у которой, как известно, поврежденная ДНК активирует протеазу Rec A, а та в свою очередь инактивирует репрессор Lex A путем протеолиза (см. гл. 14). Инактивация этого репрессора приводит к индукции множества различных генов, участвующих в SOS-репарации. Удивительным следствием включения системы SOS оказывается значительное увеличение частоты мутаций, несмотря на то что ДНК и так уже повреждена. Лучше всего это можно показать, инфицируя облученные и не облученные ультрафиолетом клетки *E. coli* частицами фага, не подвергавшимися действию ультрафиолетового излучения. Частота мутаций у потомства фагов, инфицировавших облученные клетки, по крайней мере на порядок выше, чем у инфицировавших необлученные клетки. В процессе SOS-репарации происходят как транзиции, так и трансверсии, и иногда смежные основания мутируют одновременно. У клеток, проявляющих SOS-ответ, была отмечена активность ДНК-полимеразы, вызывающая дополнительные мутации, и идентифицирован по меньшей мере один ген, а именно ити С, продукт которого необходим для индуцируемого системой SOS мутагенеза. Штаммы с инактивированным геном итиС не проявляют УФ-индуцированного мутагенеза, а их чувствительность к летальному действию ультрафиолета лишь несколько возрастает. Селективное преимущество индуцируемых систем репарации повреждений ДНК очевидно, однако роль индуцируемой системы мутагенеза не столь ясна. Возможно, что некоторые типы повреждения ДНК могут устраняться, только если пожертвовать неизменностью последовательности оснований ради сохранения неповрежденным фосфодиэфирного скелета ДНК. С другой стороны, не исключено, что подвергнутая сильному воздействию бактериальная популяция теряет сравнительно немного вследствие увеличения частоты мутаций, однако возникающие при этом некоторые новые мутации могут оказаться полезными в изменившихся условиях.

Частота мутаций.

Мутации происходят редко. Так, например, вероятность того, что
S
данная клетка *E. coli* мутирует от T1 (чувствительность к фагу T1) к
R
типу T1 (устойчивость к фагу T1), очень мала. Когда вероятность
каждого отдельно взятого события очень мала, а число испытаний, в
которых может возникнуть событие, очень велико, то частота событий

Пуассоновское распределение можно использовать для оценки

S R

частоты мутаций за поколение (m) от T1 к T1. Для этого Сальвадор Луриа и Макс Дельбрюк приготовили 20 образцов бактериальной культуры, каждый из которых содержал в 0.2 мл питательной среды

S 3

клетки E. coli типа T1 в концентрации 10 /мл. образцы инкубировали

9

до тех пор, пока титр клеток не достигал примерно 10 /мл. Для этого потребовалось около 20 генераций. В девяти из двадцати опытных

R

культур было обнаружено различное количество клеток T1, в

R

одиннадцати культурах клеток T1 не было. Нулевой член пуассоновского распределения имеет вид

9 8

где N число клеток в культуре (в данном случае $0.2 \cdot 10^8 = 2 \cdot 10^7$) определяет вероятность того, что культура не содержит мутантных клеток. Логарифмируя, получаем

Поскольку 11 культур не содержали клеток типа T1, то $p_0 = 11/20 = 0.55$. Следовательно,

У бактерий и фагов оценивать частоту спонтанных мутаций довольно легко, поскольку в лабораторных условиях можно исследовать очень большие популяции. Измерение частоты мутаций у высших организмов затрудняется малочисленностью популяций, доступных изучению, и диплоидностью, скрывающей от учета рецессивные мутации. Наиболее тщательные исследования частоты мутаций в отдельных генах проводились на кукурузе и на дрозофиле. Как правило, наблюдавшиеся частоты мутаций низки, хотя некоторые гены явно превосходят по мутабельности остальные.

В большинстве исследований мутагенеза у высших организмов мутации отдельных генов не рассматриваются, поскольку они очень редки. Вместо этого оценивают частоту возникновения мутаций в хромосоме в целом. В 1927 г. Г. Мёллер разработал быстрый и простой способ выявления сцепленных с полом летальных мутаций у самцов дрозофилы. Сконструированная для этих исследований X-хромосома Мёллер-5 маркирована полудоминантным геном Bar (B), влияющим на форму глаз, а и рецессивным геном argicott (w), определяющим цвет глаз. Она содержит также инверсии, запирающие кроссинговер. Самки, гомозиготные по хромосоме Мёллер-5, скрещиваются с самцами дикого типа, спермин которых исследуются на предмет присутствия рецессивных летальных мутаций. Дочери от таких скрещиваний обладают одной хромосомой Мёллер-5 и одной исследуемой хромосомой; каждая из них скрещивается индивидуально в отдельной пробирке с самцом-носителем хромосомы Мёллер-5. Появление самцов дикого типа в поколении F2 свидетельствует о том, что в анализируемой хромосоме нет ни одной рецессивной гемизиготной летальной мутации. Напротив, отсутствие самцов дикого типа в потомстве указывает на то, что исследуемая хромосома содержит по меньшей мере одну вновь возникшую летальную мутацию. Пусть, например, в некотором эксперименте индивидуально скрещивали 6346 самок из поколения F1 и было обнаружено, что 8 из них - носители вновь возникших, сцепленных с полом деталей. Это означает, что спонтанная частота возникновения мутаций

в хромосоме составляет 0,13%. Различные линии дрозофилы *D. melanogaster* характеризуются различной частотой возникновения спонтанных сцепленных с полом летальных мутаций от 0,08% до более чем 1%. Изображенные на скрещивания позволяют «заготавливать винок» для последующих исследований X-хромосомы, которые содержат вновь возникшие летальные мутации, поскольку носителями этих хромосом являются самки, гетерозиготные по Мёллер-5, а кроссинговер в X-хромосоме «заперт» инверсиями. Этот тип скрещиваний используется также для выявления рецессивных видимых мутаций и рецессивных мутаций, обуславливающих стерильность самок и самцов. Метод Мёллер-5 оказался полезным для выявления мутагенности факторов. Мёллер первым показал, что частота возникновения мутаций сильно возрастает при облучении рентгеновскими лучами. Он обнаружил это, наблюдая потомство самцов дикого типа, подвергнутого облучению перед скрещиванием с самками, гомозиготными по хромосоме Мёллер-5. Вообще говоря, частота возникновения мутаций прямо пропорциональна дозе рентгеновского излучения, измеряемой в рентгенах. (За один рентген принимают дозу, приводящую к образованию $2,08 \cdot 10^8$ пар ионов в кубическом сантиметре воздуха.) Рентгеновские лучи вызывают мутации опосредованно. Ионизация самой молекулы ДНК или ее непосредственного окружения приводит к повреждению ДНК: это повреждение может оказаться летальным, а может быть «залечено» (репарировано). Если при репарации последовательность нуклеотидов восстановится неточно, это приведет к мутации. Мутагенная активность химического соединения была впервые обнаружена тоже с помощью метода Мёллер-5. Во время первой мировой войны в качестве химического оружия применялся горчичный газ (иприт). В годы второй мировой войны было показано, что обработка самцов дрозофилы сравнительно малыми сублетальными дозами иприта сильно увеличивает частоту летальных мутаций в X-хромосоме (до 7,3%). В настоящее время метод Мёллер-5 широко используется при проверке на мутагенность химических соединений, загрязняющих окружающую среду. 1

Мёллер описал мутагенное действие рентгеновских лучей на дрозофил в 1927 г. За два года до этого, в 1925 г., влияние рентгеновских лучей на мутагенез у низших грибов было открыто Г. А. Надсоном и Г. С. Филишовым. - Прим. перев.

Дополнение 20.1. Система выявления мутагенов

Вновь возникающие мутации, как генность. Эта система оказалась более правило, вредны. Влияние новой мутации дешевой и оперативной, чем те, в на жизнеспособность ее носителя может которых используются лабораторные быть как едва заметным, так и млекопитающие. В данном случае катастрофическим. Вредные мутации, выясняют способность различных возникающие в человеческой популяции, химических соединений индуцировать усугубляют беды человечества. реверсии известных мутаций со сдвигом В настоящее время ясно, что многие рамки к гену *his D* дикого типа, химические соединения, синтезированные

Проводится эта проверка довольно для различных промышленных целей, просто: ревертанты дикого типа мутагенны. Для того чтобы свести к образуют колонии на среде, в которой минимуму воздействие мутагенных отсутствует гистидин. Тестерные факторов на людей, необходимо уметь их штаммы более чувствительны к быстро идентифицировать. Оказалось, мутагенезу, если их клетки содержат что многие химические канцерогены мутации, инактивирующие систему вызывают мутации со сдвигом рамки эксцизионной репарации. Поскольку сами по себе или преобразуются в многие соединения проявляют клетке в формы, вызывающие такие мутагенную или канцерогенную мутации. В настоящее время активно активность лишь при активации обсуждается гипотеза, согласно которой ферментами млекопитающих, то область канцерогены индуцируют мутации. применения метода, использующего которые и служат причиной образования сальмонеллу, расширяется при злокачественных опухолей, добавлении в культуральную среду

Брюс Эйме использовал хорошо экстракта крысиной печени. Для контроля

изученные мутации, вызывающие химических соединений, используемых сдвиг рамки в гене *his D* у *Salmonella* при консервировании пищевых продуктов, typhimurium (рис. 20.10), для оценки изготовлении косметических препаратов, химических соединений на мутагенность соединений, придающих огнеупорность и и канцеро- т.п., широко применяют тестирование по Эймеу и метод Мёллер-5.

Мутации как случайный процесс.

Часто мутации характеризуют как редкие случайные,

ненаправленные события. Эти термины используют как синонимы, но существует по крайней мере три различных смысла, которые могут вкладываться в эти слова:

1. Мутации представляют собой редкие случайные события, прежде всего в том смысле, что они являются редкими исключениями в нормальном регулярном процессе репликации ДНК, при котором обычно происходит точное копирование наследственной информации, закодированной в последовательности нуклеотидов.

2. Мутации - это редкие, случайные события также и потому, что невозможно узнать, возникнет ли мутация в данном гене в конкретной клетке или в конкретном поколении. Мы не можем предсказать в отношении определенного генного локуса, в каком из организмов возникнет новая мутация, а в каком - нет; мы не можем также предсказать, какой из генов подвергнется мутации в данном организме. Однако это не означает, что в мутационном процессе не существует никаких закономерностей. Закономерности характерны для тех стохастических процессов, которым можно приписать определенные вероятности. Существует определенная вероятность (хотя мы можем ее и не знать) того, что данный ген мутирует в некий определенный другой, и существует также определенная вероятность того, что в популяции определенного размера возникнет новая мутация. Из этого не следует, однако, что возникновение любой мутации одинаково вероятно. Например, различны вероятности возникновения транзиций и трансверсий, а вероятность замен оснований отлична от вероятностей мутации со сдвигом рамки.

3. Мутации - это редкие, случайные и ненаправленные события и еще в одном смысле, очень важном для эволюции. Они не обязательно адаптивны, т.е. не обязательно увеличивают приспособленность организма к условиям его обитания. У человека известны мутации около 2,5 тыс. генных локусов. Большая часть этих мутаций приводит к различным нарушениям нормального развития от едва заметных до летальных. Мутантные гены могут быть летальными или вызывать стерильность, могут также понижать жизнеспособность. Такие мутации хорошо известны у многих организмов. Например, в природных популяциях дрозофилы около 20% или даже более всех хромосом несут по крайней мере по одной мутации, летальной в гомозиготном состоянии. Летальные и другие мутации могут проявляться на разных стадиях развития, начиная с раннего эмбриогенеза и далее на протяжении всей жизни особи. Они могут затрагивать различные ткани, системы органов, особенности поведения или метаболические процессы. Таким образом, даже беглый перечень особенностей большинства мутаций, наблюдаемых у человека, и у других хорошо известных видов, таких, как дрозофила, обнаруживает их неадаптивный характер. Мутации возникают не для того, чтобы обеспечить лучшую приспособленность организмов к условиям их обитания. Этот факт, уже давно очевидный генетикам, изучающим высшие организмы, не признавался бактериологами до конца 40-х годов. Большинство ученых, изучавших мутации бактерий, считали, что мутации происходят в бактериальных популяциях в ответ на возникновение новых селективных условий. Например, когда в чашку Петри со средой, содержащей пенициллин, высевают чувствительные к пенициллину бактерии, на поверхности агара появляется несколько устойчивых к этому антибиотику колоний, причем их стойкость наследуется. Данный факт объясняли тем, что устойчивость к пенициллину индуцируется

самым пенициллином. Методология, применявшаяся бактериологами, когда они использовали селективные среды для выделения мутантных штаммов, не позволяла ответить на вопрос, отбираются ли при этом мутанты, уже ранее существовавшие в популяции, или само их возникновение индуцируется фактором отбора. Мало того, некоторые микробиологи вообще подвергали сомнению факт существования генов в бактериях! По их мнению, отбираемые колонии могут состоять из бактерий, приобретших новое физиологическое состояние, позволяющее им приспособиться к жизни в новых условиях. Фактически такие взгляды тормозили признание идеи о том, что ДНК представляет собой наследственное вещество, хотя на это однозначно указывала трансформирующая активность ДНК, выделенной из пневмококка.

Спонтанная природа мутаций и неадаптивность были признаны все-ми благодаря работе Лурия и Дельбрюка, изучивших возникновение у *E. coli* мутаций устойчивости к фагу T1. В их эксперименте, получившем название флуктуационного теста, сравнивалось число T1-мутантов, возникающих в «маленьких» культурах T1-клеток, с числом мутантов в «большой» культуре. Эта работа опубликованная в 1943г., ознаменовала рождение бактериальной генетики. Суть опыта заключалась в следующем. В 20 маленьких пробирок («маленькие» культуры) вносили по 0,2 мл суспензии S бактериальных клеток T1 и инкубировали на качалке до тех пор, пока 9титр суспензии не достигал 10⁸ клеток в 1 мл. Одновременно в большой пробирке («большая» культура) суспензию тех же клеток выращивали примерно до той же плотности. Затем содержимое каждой маленькой пробирки высевали на чашку, зараженную фагом T1, и подсчитывали Rчисло T1-колоний. Бактериальную суспензию из большой пробирки рассеивали (по 0,2 мл) на чашки с фагом T1 и затем подсчитывали Rчисло T1-колоний (табл. 20.3). При такой постановке опыта в обоих 8 вариантах на каждую чашку попадало по 2 · 10⁸ клеток (0,2 мл · 10⁸ клеток/мл), так что число фагоустойчивых колоний, образовавшихся на каждой чашке, зависело лишь от того, взяты ли эти клетки из маленьких пробирок или из большой. При посеве T1 из 20 культур из маленьких Rпробирок T1-колоний не обнаружено, а в тех 9 культурах, где колонии возникли, число их сильно варьировало: от одной до 107. Напротив, все пробы, взятые из большой культуры, дали примерно по одинаковому числу фагоустойчивых колоний (в среднем 16,7). REсли бы T1-колонии возникали в результате действия фага T1 на чувствительные клетки (то есть каждая клетка обладала некоторой Rмалой вероятностью превратиться под действием фага T1 в T1-клетку), то все чашки должны были бы содержать одинаковое число T1-колоний. Оказалось, однако, что количество устойчивых колоний сильно зависит от объема, в котором культивировались клетки, а это Rсвидетельствует о том, что клетки T1 возникли до посева на чашки и, следовательно, независимо от действия на них фага T1. Вывод, к которому пришли Лурия и Дельбрюк, состоял в том, что кT1-клетки возникли спонтанно в отсутствие селективного фактора (фага T1). Этот вывод основывался на статистических аргументах-Rбольшой изменчивости числа T1 колоний среди чашек, засеянных клетками из малых пробирок, по сравнению с теми, на которые высевали пробы большой пробирки. Прямое доказательство Rспонтанной природы T1-клеток были получены Джошуа RЛедерберг и Эстер Ледерберг в 1952 г. (см. рис. 8.1). Около 10 клеток чувствительного к фагу T1 штамма *E. coli* высевали на чашку с питательной средой и культивировали в течение нескольких часов до появления бактериальных колоний. Эти колонии перепечатывали на бархат, а с него на 3 чашки, предварительно засеянные фагом T1. Тот факт, что T1-колонии появлялись на всех трех чашках в одних и тех же точках, указывал на то, что эти колонии происходят от конкретных колоний на исходной чашке и что фагоустойчивость Rвозникла до контакта с этим фагом. Если бы появление T1-колоний было индуцировано фагом T1, то такие колонии располагались бы на разных чашках в разных точках. Этот эксперимент окончательно убедил биологов в том, что бактерии содержат спонтанно мутирующие гены, подобно всем другим

Мутации возникают независимо от того, полезны они или вредны для своих носителей. Более того, вновь возникающие мутации гораздо чаще бывают вредными, чем полезными. Легко понять, почему иначе и быть не может. Присутствующие в популяции гены подвержены действию естественного отбора, следовательно, аллели, более или менее часто встречающиеся в популяции, адаптивны: они именно потому широко распространены, что являются селективно предпочтительными. Любая вновь возникшая мутация скорее всего уже встречалась в истории популяции, и если такая мутация не распространилась в популяции, то это произошло потому, что она элиминируется естественным отбором или поддерживается им при низкой частоте, поскольку оказывает вредное воздействие на организм. Важно отдавать себе отчет в том, что мутации полезны или вредны не сами по себе, но лишь в некоторых определенных условиях существования. Мутация, увеличивающая плотность волосяного покрова, может быть адаптивна в популяции млекопитающих Аляски, но скорее Флориды. Усиление пигментации может быть полезно людям в тропической Африке, где темная кожа защищает от ультрафиолетового излучения Солнца, но не в Скандинавии, где светлая кожа благоприятствует индуцируемому солнечным светом синтезу витамина D.

Адаптивная ценность мутаций аутокотрофности и устойчивости микроорганизмов к различным препаратам полностью определяется условиями их обитания. Аутокотрофы способны к росту на обогащенной среде, но не могут развиваться на минимальной среде. Мутации, вызывающие устойчивость к стрептомицину, полезны бактериям лишь в присутствии стрептомицина. Хорошо изученным примером зависимости адаптивных свойств высших организмов от условий обитания могут служить температурочувствительные летальные мутации у дрозофилы. При температурах ниже определенной критической гомозиготные по этим аллелям мухи живут и размножаются более или менее нормально, но при повышении температуры эти мухи погибают, тогда как мухи дикого типа способны нормально существовать. Поскольку адаптивность мутаций зависит от условий существования, вероятность того, что вновь возникшая мутация увеличит приспособленность особи, выше у организмов, осваивающих новое местообитание, и в случаях, когда изменившиеся условия обитания предъявляют популяции новые требования. В этих случаях приспособленность популяции ниже оптимальной, и новым мутациям предоставляется больше возможностей оказаться адаптивными. Эволюционная летопись свидетельствует о том, что крупные эволюционные изменения, такие, как возникновение наземных позвоночных, часто были связаны с освоением новых мест обитания.

Думератупра

Ames B. N., Durston W. E., Yamasaki E., Lee F.D. (1973). Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70, 2281-2285. Ames B. N., McCann J., Yamasaki E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mut. Res.*, 31, 347-364. Coulondre C., Miller J.H., Famburgh P.J., Gilbert W. (1978). Molecular basis of base substitution hotspots in *Escherichia coli*. *Nature*, 274, 775-780. Drake J. W., 1970. *The Molecular Basis of Mutation*, Holden-Day, San Francisco. Fersht A.R., Knill-Jones J.W. (1981). DNA polymerase accuracy and spontaneous mutation rates: frequencies of purine · purine, purine · pyrimidine, and pyrimidine · pyrimidine

mismatches during DNA replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78, 4251-4255. Lindahl T. (1974). An N-glycosidase from *Escherichia coli* that releases free uracil from DNA containing deaminated cytosine residues. *Proc.*

Natl. Acad. Sci. USA, 71, 3649-3653. Little J. W., Mount D.W. (1982). The SOSRegulatory

System of *Escherichia coli*. *Cell*, 29, 11-22. Livneh Z., Elad D., Sperling J. (1979). Enzymatic insertion of purine bases into depurinated DNA in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 1089-1093. Luria S. E., Delbruck M. (1943). Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics*, 28, 491-511. Miller J.H., Coulondre C., Faraburgh P.J. (1978). Correlation of nonsense sites in the lac I gene with specific codons in the nucleotide sequence. *Nature*, 274, 770-775.