

Ф. Айала, Д. Кайгер

Современная генетика

Том 3

**Москва
«Книга по Требованию»**

УДК 611
ББК 52.5
Ф11

Ф11 **Ф. Айала**
Современная генетика: Том 3 / Ф. Айала, Д. Кайгер – М.: Книга по Требованию, 2023. – 332 с.

ISBN 978-5-458-37357-9

Учебное издание по генетике, написанное известными американскими учеными на уровне современных знаний. В первом томе описаны хромосомные основы наследственности, закономерности передачи наследственной информации, структура генома про- и эукариот, приводятся сведения о методах работы с ДНК. Предназначена для генетиков, молекулярных биологов, эволюционистов, а также для студентов биологических и медицинских вузов.

ISBN 978-5-458-37357-9

© Издание на русском языке, оформление
«YOYO Media», 2023
© Издание на русском языке, оцифровка,
«Книга по Требованию», 2023

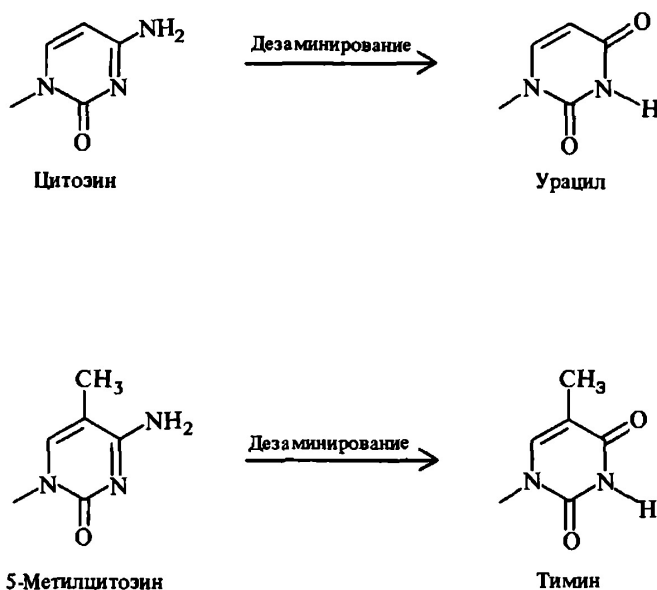
Эта книга является репринтом оригинала, который мы создали специально для Вас, используя запатентованные технологии производства репринтных книг и печати по требованию.

Сначала мы отсканировали каждую страницу оригинала этой редкой книги на профессиональном оборудовании. Затем с помощью специально разработанных программ мы произвели очистку изображения от пятен, клякс, перегибов и попытались отбелить и выровнять каждую страницу книги. К сожалению, некоторые страницы нельзя вернуть в изначальное состояние, и если их было трудно читать в оригинале, то даже при цифровой реставрации их невозможно улучшить.

Разумеется, автоматизированная программная обработка репринтных книг – не самое лучшее решение для восстановления текста в его первоизданном виде, однако, наша цель – вернуть читателю точную копию книги, которой может быть несколько веков.

Поэтому мы предупреждаем о возможных погрешностях восстановленного репринтного издания. В издании могут отсутствовать одна или несколько страниц текста, могут встретиться невыводимые пятна и кляксы, надписи на полях или подчеркивания в тексте, нечитаемые фрагменты текста или загибы страниц. Покупать или не покупать подобные издания – решать Вам, мы же делаем все возможное, чтобы редкие и ценные книги, еще недавно утраченные и несправедливо забытые, вновь стали доступными для всех читателей.

Рис. 20.1. Спонтанное дезаминирование цитозина приводит к образованию урацила; дезаминирование 5-метилцитозина приводит к образованию тимина.



(гл. 13). К иным последствиям приводит спонтанное дезаминирование 5-метилцитозина. Известно, что в результате этой реакции образуется тимин (рис. 20.1), нормальный компонент ДНК, не выявляемый механизмом репарации. Возникающие при этом ошибочные пары dG/dT репарируются менее эффективно, чем dG/dU, в результате с высокой частотой происходит замена dG/dC $\rightarrow$ dA/dT, т.е. возникает горячая точка.

Замены 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 $\rightarrow$ GC, GC $\rightarrow$ AT, TA $\rightarrow$ CG и CG $\rightarrow$ TA). При *трансверсии* пурин меняется на пиримидин или наоборот (AT $\rightarrow$ CG, AT $\rightarrow$ TA и т.д.). Замены оснований могут происходить различными способами. Так, например, мутация в гене ДНК-полимеразы фага Т4 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 дрозофилы, 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 $\rightarrow$ 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 (рис. 20.2). Мутагенная активность 5-бром-урацила, 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 (рис. 20.3). Индуцируемые 5-бром-урацилом мутации могут обуславливаться либо ошибками при включении,

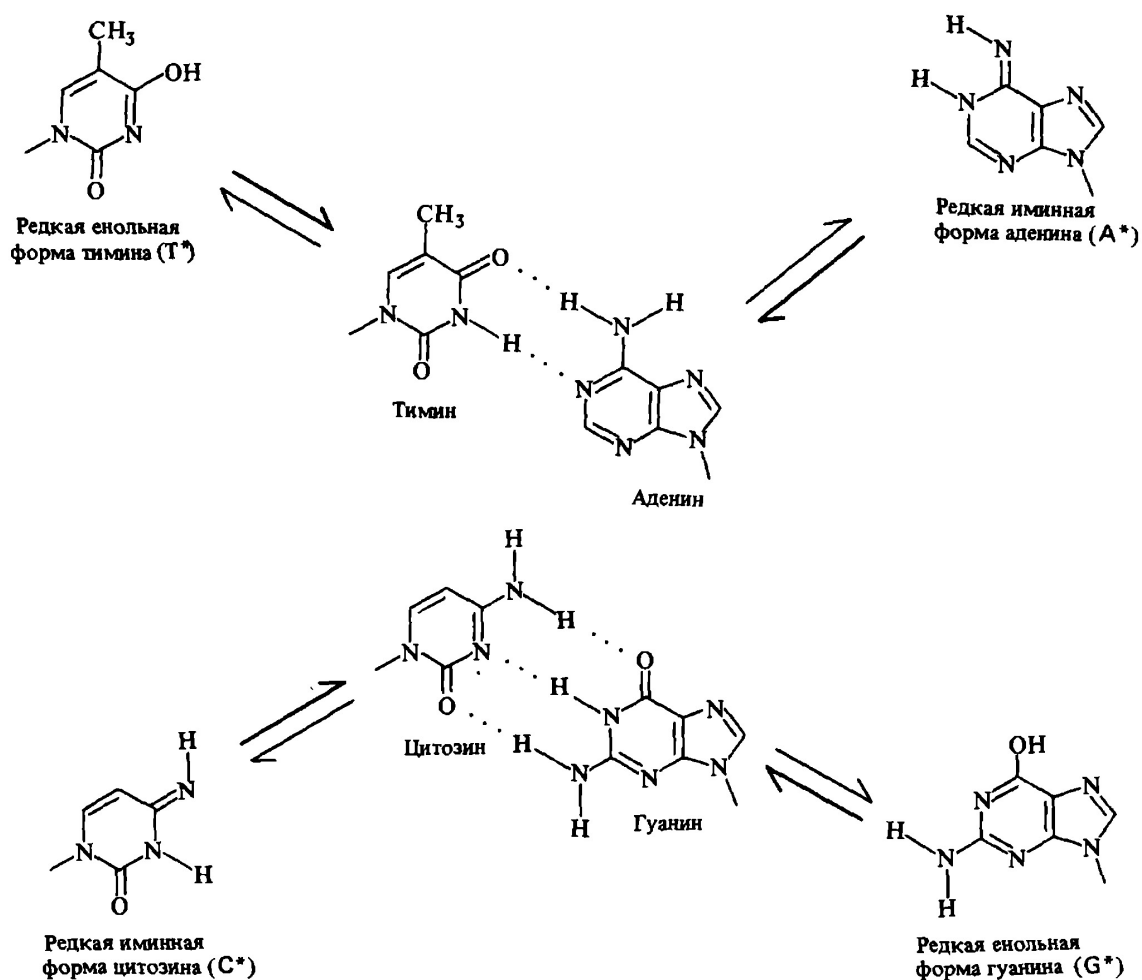


Рис. 20.2. Таутомерные формы оснований ДНК. В центре изображены наиболее распространенные формы, когда аденин образует водородную связь с тиминном, а гуанин – с цитозином. Сравнительно более ред-

кие таутомеры, образующие водородные связи по-другому, указаны стрелками. С* образует водородную связь с А, G* – с Т, Т* – с G, А* – с С.

либо при считывании, что приводит соответственно к замене GC → AT или AT → GC (рис. 20.4).

Другим мутагеном из числа химических аналогов нуклеотидных оснований является 2-аминопурин, способный спариваться либо с тиминном, либо с цитозином (рис. 20.5). Так же как и 5-бром урацил, 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 транзиций (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). Возникно-

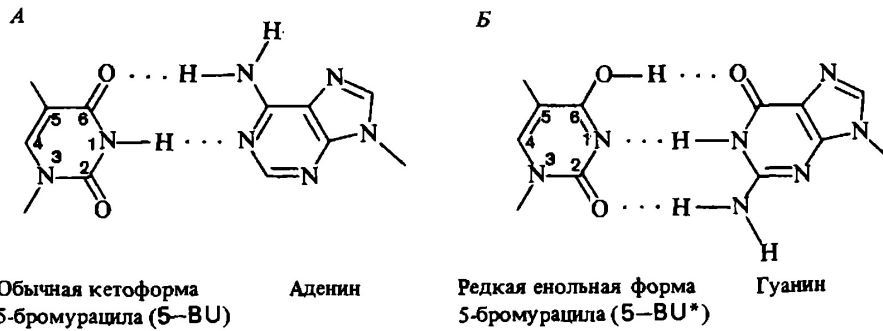


Рис. 20.3. Таутомерные формы 5-бромурацила, аналога тимина. А. Наиболее распространенный таутомер, образующий водородные связи с аденином. Б. Менее распространенный, но важный таутомер, образующий водородные связи с гуанином.

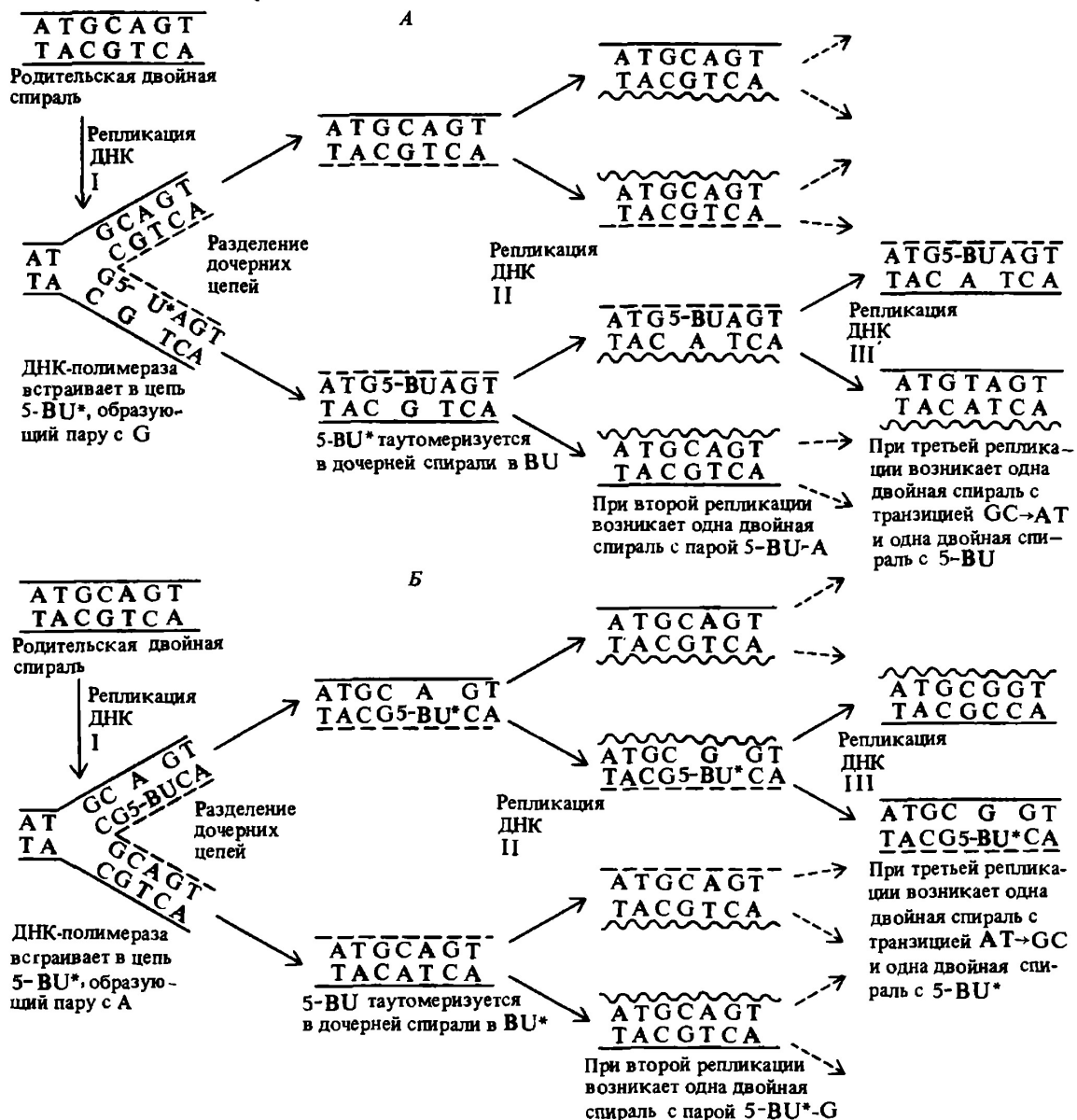


Рис. 20.4. Индукция транзиций 5-бромурацилом. А. Ошибка при включении приводит к транзиции GC→AT. Б. Ошибка при считывании приводит к транзиции AT→GC. (По U. Goodenough, R. P. Levine, Genetics, Holt, Rinehart and Winston, New York, 1974.)

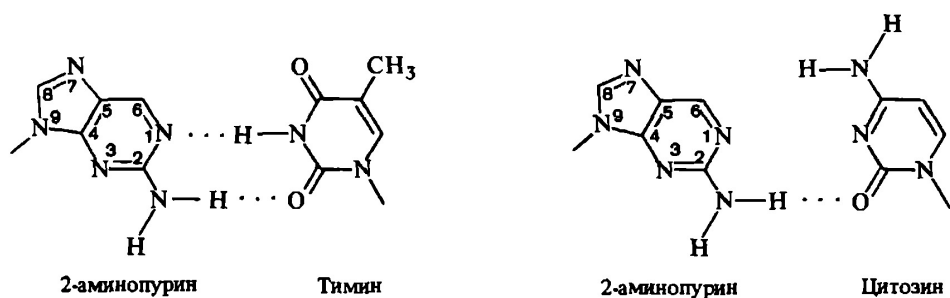


Рис. 20.5. 2-Аминопурин (2-АП), аналог аденина, образует водородные связи с тиминном и цитозинном.

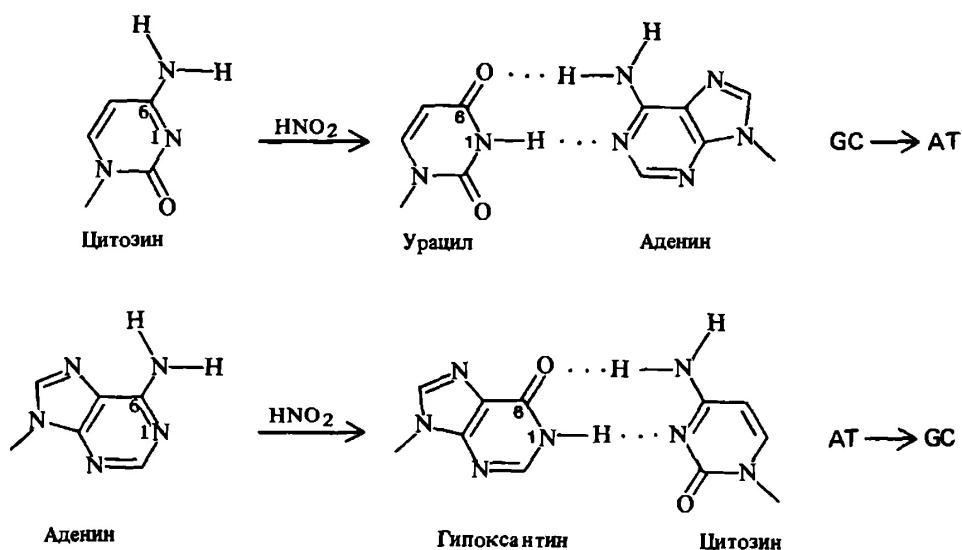


Рис. 20.6. Азотистая кислота индуцирует транзисии $\text{GC} \rightarrow \text{AT}$ путем дезаминирования цитозина в урацил и транзисии $\text{AT} \rightarrow \text{GC}$ при дезаминировании аденина с образованием гипоксантина.

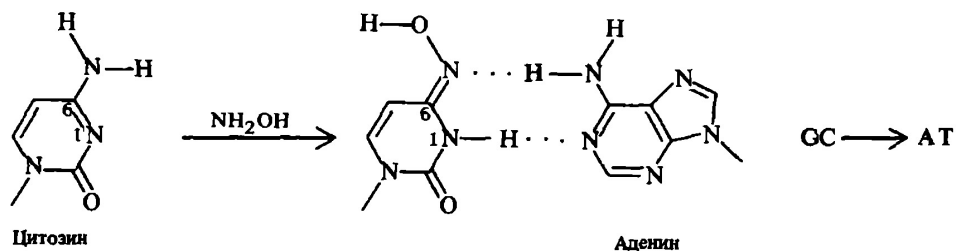


Рис. 20.7. Цитозин, реагируя специфически с гидроксиламином, переходит в форму, образующую водородные связи с аденином. Гидроксилламин обуславливает транзисии только в направлении $\text{GC} \rightarrow \text{AT}$.

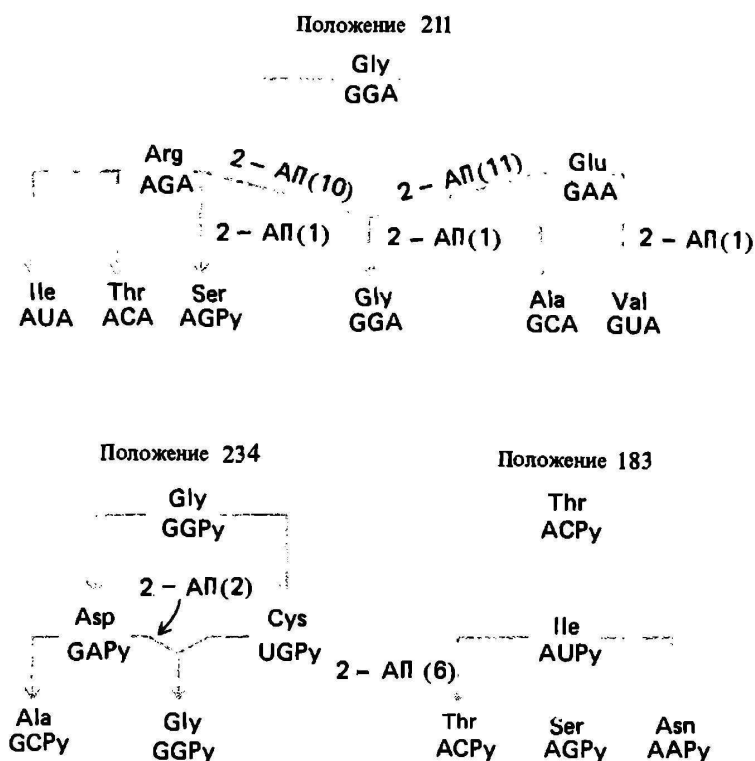


Рис. 20.8. Замены аминокислот, наблюдавшиеся в трех положениях триптофан-синтазы А *E. coli*. В скобках после символа 2-АП каждый раз указывается число наблюдавшихся независимых замен. Из 32 реверсий, зарегистрированных в присутствии 2-АП, 29 были транзициями, остальные три – трансверсиями, но

скорее всего это результаты спонтанных реверсий, а не реверсий, индуцированных 2-аминопурином. Последовательность оснований в кодонах, выписанных под каждой аминокислотой, установлена по наблюдавшимся заменам; Py означает пиримидин (урацил или цитозин).

вание реверсий под действием азотистой кислоты также используется для доказательства транзиционной природы прямых мутаций (рис. 20.6).

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 (рис. 20.7). 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 А *E. coli*, вызываемых 2-АП-индуцированными реверсиями специфических мутаций (рис. 20.8).

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 ультра-

Рис. 20.10. Индукция сдвига рамки считывания у бактерий. Изображены изменения, происходящие в результате различных мутаций сдвига рамки у *E. coli* и *S. typhimurium*. Представлены изменения в нуклеотидной последовательности мРНК. (По J. Roth, 1974, Annu. Rev. Genet., 8, 319.)

<i>trpA9813</i> ICR13 (+ 1)	<i>trpA21</i> ICR PR3 (– 1)
CACGAGCAGG•GU•	AG U AU•UCUGCCCCCGAC
CACGAGCAGGG•GU•	AU•UCUGCCCCCGAC U AG
<i>hisD3018</i> (+ 1)	<i>hisD2565</i> (+ 1)
GUCACCCCUGAGG A	GU•ACGCGUCC•GU•
GUCACCCCUGAGG A	GU•ACGCGUCCC•GU•
<i>hisD3749</i> (+ 1)	<i>hisD2578</i> (+ 1)
CUGUAGCCC•GAG A	GC•CU•
CUGUAGCCC•GAG A	GC•CCU•
<i>hisD3068</i> (+ 1)	<i>hisD3052</i> (– 1)
CAGUAUGG•CCC•	GACACCGC•CGGCAG A
CAGUAUGGG•CCC•	GACACCGCCCGGCAG A
<i>hisD3052</i> R14 (– 2)	
GAACUGCCGCGCGCGGACACCGCCG A	
UGCCGCGCGGACACC	

роятные нуклеотидные последовательности как дикого типа, так и мутантной мРНК. Оказывается, что они отличаются друг от друга вставкой и делецией одного или нескольких нуклеотидов. На рис. 20.9А 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 кодоном аланина сдвигает рамку в противоположном направлении. Соответственно в белке двойного мутанта оказывается измененной последовательность пяти аминокислот. Рис. 20.9Б иллюстрирует эффект сочетания вставки двух нуклеотидов GU (вслед за уже упоминавшимся кодоном 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. На рис. 20.9В изображен случай, когда двойной мутант возник в результате комбинации двухнуклеотидной вставки 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.

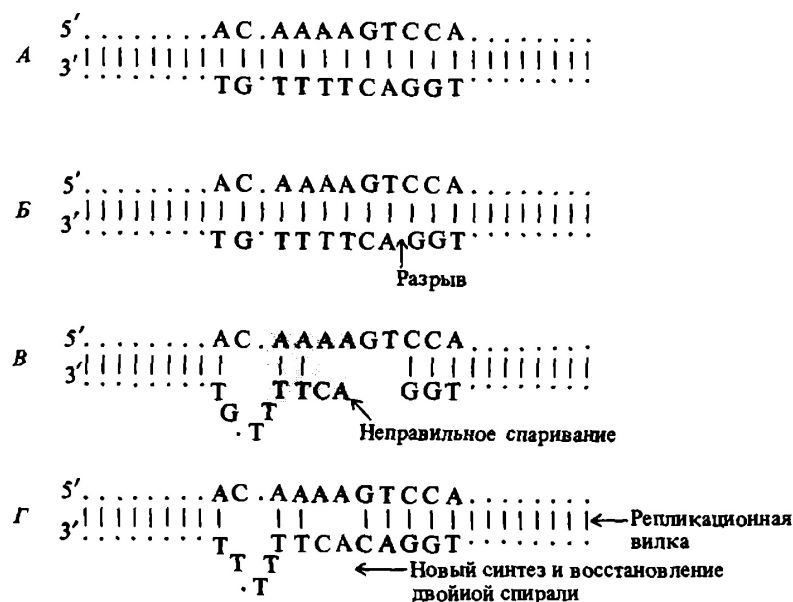


Рис. 20.11. Несколько модифицированная модель мутации сдвига рамки Стрейзингера. А. Исходная молекула ДНК. Б. Возникновение разрыва. В. Раскручивающий двойную спи-

раль белок вызывает расхождение цепей и их неправильное воссоединение. Г. Репаративный синтез заполняет брешь, возникшую на стадии В.

Большая часть изученных мутаций, вызывающих сдвиг рамки, обнаружена в последовательностях, которые состоят из одинаковых оснований или пар оснований (рис. 20.10). 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 (рис. 20.11). 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 жизнеспособность 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

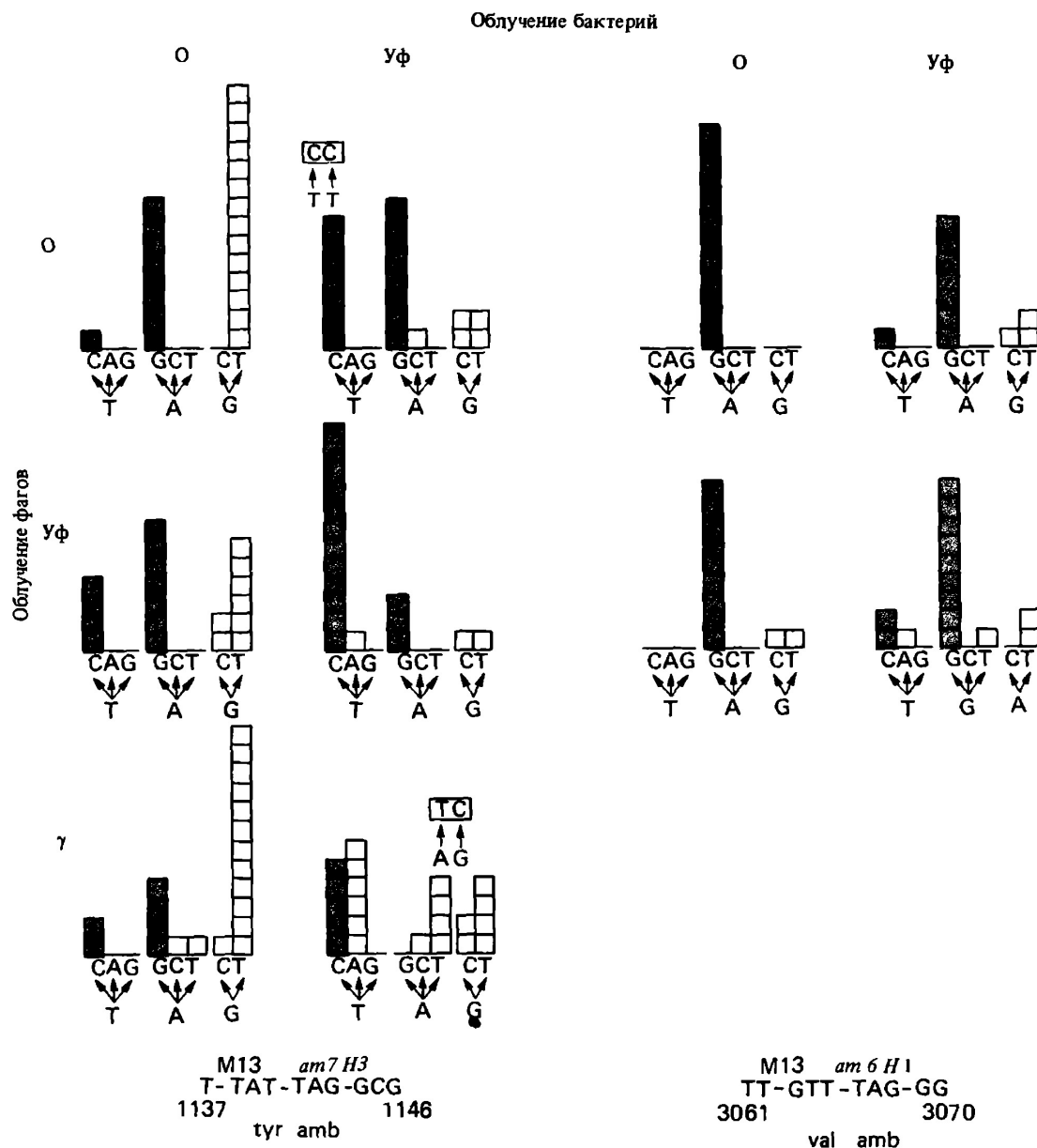


Рис. 20.12. Сравнение спонтанных и индуцированных ультрафиолетовым облучением мутационных изменений путем анализа нуклеотидной последовательности ревертантов двух *amber*-мутантов фага M13. Две мутантные последовательности изображены в нижней части рисунка. В опытах использовали фаги, облученные или ультрафиолетом или гамма-лучами или не подвергавшиеся облучению. Этими фагами инфицировали облученные или необлученные бактерии. На рисунке изображены спектры замен оснований, приво-

дившие к реверсии. Обратите внимание на то, что спектры спонтанных замен и замен, индуцированных ультрафиолетом, в трех положениях *amber*-кодона различны. Белыми квадратиками изображены транзиции, цветными – трансверсии. Обратите внимание на две tandemные замены: TT → CC и AG → TC. (По A. Brandenburger et al. Nature, 294, 180, 1981. Reprinted by permission. Copyright © 1981 – Macmillan Journals Limited.)

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 (рис. 20.12). У клеток, проявляющих SOS-ответ, была отмечена активность ДНК-полимеразы, вызывающая дополнительные мутации, и идентифицирован по меньшей мере один ген, а именно *umiC*, продукт которого необходим для индуцируемого системой SOS мутагенеза. Штаммы с инактивированным геном *umiC* 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 данная клетка *E. coli* мутирует от $T1^S$ (чувствительность к фагу $T1$) к типу $T1^R$ (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 подчиняется *распределению Пуассона* (см. приложение П.IV).

Пуассоновское распределение можно использовать для оценки частоты мутаций за поколение (m) от $T1^S$ к $T1^R$. Для этого Сальвадор Луриа и Макс Дельбрюк приготовили 20 образцов бактериальной культуры, каждый из которых содержал в 0,2 мл питательной среды клетки *E. coli* типа $T1^S$ в концентрации 10^3 /мл, образцы инкубировали до тех пор, пока титр клеток не достигал примерно 10^9 /мл. Для этого потребовалось около 20 генераций. В девяти из двадцати опытных культур было обнаружено различное количество клеток $T1^R$, в одиннадцати культурах клеток $T1^R$ не было. Нулевой член пуассоновского распределения имеет вид

$$P_0 = e^{-mN},$$

где N число клеток в культуре (в данном случае $0,2 \cdot 10^9 = 2 \cdot 10^8$) определяет вероятность того, что культура не содержит мутантных клеток. Логарифмируя, получаем

$$\ln p_0 = -mN, \quad m = -\ln p_0 / N.$$

Поскольку 11 культур не содержали клеток типа $T1^R$, то $p_0 = 11/20 = 0,55$. Следовательно,

$$m = \frac{-\ln 0,55}{2 \cdot 10^8} = \frac{0,598}{2 \cdot 10^8} = 3 \cdot 10^{-9}.$$