

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ СОВРЕМЕННОЙ ГЕНЕТИКИ

Под редакцией и с предисловием проф. С. И. АЛИХАНИЯ

ИЗДАТЕЛЬСТВО
МОСКОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА
1966

Печатается по постановлению
Редакционно-издательского совета
Московского университета

*Н. В. ТИМОФЕЕВ-РЕСОВСКИЙ, В. И. ИВАНОВ,
Н. В. ГЛОТОВ*

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ РАДИАЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ

ВВЕДЕНИЕ

Радиационная генетика занимается изучением генетического действия излучений.

Рассмотрению некоторых проблем радиационной генетики целесообразно предпослать небольшое историческое введение.

Как известно, экспериментальная генетика стала бурно развиваться после вторичного открытия правил Менделя в 1900—1901 гг. Успех генетических исследований в значительной мере определялся выбором удобных объектов как среди растений (кукуруза, горох, львиный зев и др.), так и среди животных (в первую очередь, дрозофила). В результате обширных исследований на дрозофиле и ряде других объектов было найдено и генетически проанализировано большое число спонтанных мутаций, и к концу второго десятилетия нашего века спонтанный мутационный процесс у дрозофилы и некоторых других объектов был изучен, если и не исчерпывающе, то во всяком случае достаточно хорошо. В результате, естественно, возникли вопросы о причинах мутирования и о возможности воздействия на спонтанный мутационный процесс. При этом уже ранние исследования мутационного процесса показали, что мутационные изменения носят характер дарвиновской неопределенной изменчивости и статистичны по своей природе.

Однако открытие генетиками спонтанного мутационного процесса как общебиологического явления и основы наследственной изменчивости не сразу получило всеобщее признание. В противовес дарвиновскому эволюционному учению еще в конце XIX века стали появляться различные формы ламаркизма, т. е. попытки возрождения эволюционных представлений антидарвиновского направления, строившиеся либо на идее наследования благоприобретенных признаков, либо идущие еще дальше в этом направлении и привлекающие различные модификации телеологической немецкой натурфилософии начала XIX века. В связи с этим как представителями этих ламаркистских направлений, так и их противниками, стоявшими на дарвиновских позициях, были проведены многочисленные работы с целью либо доказать, либо опровергнуть возможность наследования благоприобретенных признаков, а также исследовать возможность экспериментального воздействия на наследственную изменчивость. Однако и те, и другие работы страдали столь серьезными методическими недостатками, что они не могли дать и не

дали никакого результата. Во-первых, объекты исследования выбирались, как правило, неудачно (например, известные камереровские саламандры). Во-вторых, объем материала был чрезвычайно малым, поскольку, исходя из представлений о стопроцентной наследственной реакции и не зная о принципиальной статистичности наследственной изменчивости, экспериментаторы не уделяли должного внимания получению достаточно больших выборок, обеспечивающих достоверность результатов. И, в-третьих, не зная генетической структуры природных популяций, что было в то время вполне извинительно, биологи пользовались генетически нечистым и к тому же неизученным исходным материалом. По этим причинам работы этого направления не дали ответа на поставленные вопросы, а лишь помогли составить некоторое суждение о генетической гетерогенности природных популяций.

Четкие результаты оказалось возможным получить, лишь преодолев эти методические трудности на основании ясных генетических представлений о статистической природе спонтанного мутационного процесса и неадекватности характера возникающих мутаций изменениям условий среды.

Кроме того, успех экспериментального получения мутаций определялся еще двумя очень важными обстоятельствами: разработкой методики объективного количественного учета вновь возникающих мутаций и выбором точно дозируемого фактора, способного воздействовать на хромосомы генеративных клеток. Уже к началу 20-х годов было известно, что мутации могут вызвать изменения любых морфологических, физиологических и химических признаков организма и проявление их может варьировать от резких патологических изменений до практически неуловимых мелких различий. А это значит, что при попытках количественного учета всех возникающих мутаций неизбежно привнесение различных субъективных ошибок наблюдения. Поэтому у ряда крупных генетиков того времени возникла идея о необходимости создания для точного количественного изучения мутационного процесса определенных типов скрещиваний с маркированными хромосомами, которые позволяли бы объективно учитывать определенные классы возникающих мутаций, например, видимые или летальные мутации в определенной хромосоме. И такие методы были разработаны.

Наконец, хорошо известно, что генеративные ткани защищены от избыточных возмущающих воздействий внешней среды целым рядом морфофизиологических и биохимических барьеров. Это обстоятельство и явилось отчасти причиной неуспеха ранних попыток экспериментального воздействия химическими и физическими агентами на мутационный процесс. В связи с этим открытие проникающей радиации и целого ряда радиобиологических эффектов привлекло внимание генетиков. Первые, правда неудачные, попытки получения радиационных мутаций были предприняты по совету Э. Бауэра его сотрудницей Э. Штайн и по совету Н. К. Кольцова его учениками Н. В. Тимофеевым-Ресовским и Д. Д. Ромашовым. В опытах Э. Штайн на львином зеве были получены интересные радиоморфозы (элокачественные опухоли растений), которые отвлекли внимание исследователя от первоначальной задачи; ее работа не стала отправным пунктом радиационной генетики. Н. В. Тимофеев-Ресовский и Д. Д. Ромашов, не располагая специальными методами для количественного учета возникающих мутаций на *Drosophila funebris*, столкнулись с высокой генетической гетерогенностью природных популяций (из которых мухи брались в опыт) и при суммарном учете радиационных мутаций, естественно, не смогли обнаружить достоверных различий между контролем и опытом. Наконец, в 1925 г. в

печати появились первые сообщения Г. А. Надсона и Г. С. Филиппова о получении в результате облучения препаратом радия стабильных форм дрожжей *Sporobolomyces* и *Nadsonia*. Однако вследствие неизученности генетики дрожжей и невозможности анализа мутационной природы полученных форм и эта работа осталась в стороне от основных путей развития генетики.

И лишь в 1927 г. Г. Мёллером были опубликованы первоклассные в методическом отношении совершенно точные опыты, объективно и однозначно показавшие чрезвычайно сильное воздействие рентгеновых лучей на мутационный процесс у дрозофилы. До этого Мёллеру удалось синтезировать очень удобную культуру дрозофилы для учета рецессивных летальных мутаций в X-хромосоме. Эта культура получила название **CIB**. У самок из этой культуры одна из X-хромосом нормальная,

а другая содержит длинную инверсию (C), или, по старой терминологии, доминантный запирающий кроссинговера, рецессивную летальную мутацию (I) и полудоминантную мутацию «Bag» (редукция числа глазных фасеток), служащую в качестве маркера. Следовательно, половина гамет, образуемых такими самками, содержит нормальную X-хромосому, а другая половина — хромосому **CIB**. При скрещивании самок **CIB** с нормальными самцами (рис. 1) образуются четыре типа зигот: оплодотворение яйцеклеток с нормальными X-хромосомами X-спермиями даст нор-

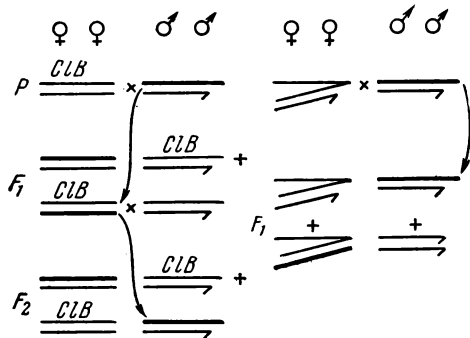


Рис. 1. Методика **CIB** и attached-X. Толстые линии — облученные хромосомы. Подробные объяснения в тексте

мальных самок, а Y-спермиями — нормальных самцов; оплодотворение яйцеклеток с **CIB**-хромосомами X-спермиями дает **CIB**-самок, а Y-спермиями — нежизнеспособных вследствие присутствия в гемизиготе рецессивной летали — самцов. Вследствие нежизнеспособности половины самцов в культурах **CIB** получается соотношение полов 2 : 1. При возникновении в X-хромосоме самца рецессивной летальной мутации **CIB**-дочери такого самца от скрещивания с самками **CIB** не будут давать жизнеспособных самцов. Таким образом, каждая рецессивная летальная мутация в X-хромосоме самца может быть учтена в индивидуальных скрещиваниях по бессамцовым культурам во втором поколении.

Кроме метода **CIB**, для учета рецессивных мутаций, возникающих в X-хромосоме самцов, может быть использован метод attached-X. Впервые культура attached-X была получена Л. Морган. Самки attached-X имеют терминально сцепленные X-хромосомы и дополнительно Y-хромосому. В гаметогенезе у таких самок образуются XX-яйцеклетки и Y-яйцеклетки. При оплодотворении возникают комбинации: XXX — нежизнеспособные «сверхсамки», XXY — attached-X самки, XY — нормальные самцы, получающие X-хромосому от отца, и YY — летальная комбинация. У нормальных самцов F₁, гемизиготных по генам отцовской X-хромосомы, могут быть выявлены возникающие у отца рецессивные сцепленные с полом мутации (рис. 1).

Используя методику **CIB**, Г. Мёллер установил, что рентгеновское облучение самцов дрозофилы резко повышает частоту возникновения рецессивных летальных мутаций. С помощью метода attached-X им же

было показано, что рентгеновское облучение индуцирует не только летальные, но и видимые мутации.

Немедленно после опубликования работы Мёллера на различных видах дрозофилы разными авторами (К. Оливером, Дж. Паттерсоном, А. С. Серебровским, Н. В. и Е. А. Тимофеевыми-Ресовскими, Ф. Хансоном и др.) были полностью подтверждены результаты, полученные Мёллером, а круг вопросов, связанных с вызыванием мутаций облучением, сильно расширен.

Вскоре рентгеновские мутации были получены Л. Стадлером, Т. Гудспидом, Э. Бэбкоком, Г. Штуббе и другими на различных растительных объектах. Вслед за этим распространилась целая волна радиационно-генетических исследований на самых разнообразных объектах — животных, растениях и микроорганизмах. Однозначность результатов всех этих работ показала универсальную мутагенную активность ионизирующих излучений.

Таким образом, открытие Г. Мёллера положило начало развитию радиационной генетики.

ОБЩИЕ ЧЕРТЫ МУТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА, ВЫЗВАННОГО ОБЛУЧЕНИЕМ, И ОСНОВНЫЕ РАЗДЕЛЫ РАДИАЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ

Как мы уже отмечали, первым крупным достижением радиационной генетики было установление всеобщности в природе мутагенного действия ионизирующих излучений. Действительно, на всех объектах, принадлежащих к совершенно разным группам живых организмов, были получены аналогичные генетические эффекты, что давало полное право экстраполировать полученные данные на всю живую природу. Сейчас известно, что, воздействуя на клетки ионизирующими излучениями, у любого объекта можно получить большое количество разнообразных мутаций. При этом принципиально одинаковые результаты были получены для всех типов ионизирующих излучений, обладающих достаточной проникающей способностью, чтобы достичь гамет.

Важно отметить также, что специальные опыты Г. Мёллера, Н. В. Тимофеева-Ресовского и др. показали, что мутации в гаметах возникают лишь в облученных хромосомах и не индуцируются при облучении цитоплазмы, или при облучении только соматических тканей.

Следующим важным достижением радиационной генетики было установление, как и для спонтанного мутирования, статистичности и ненаправленности мутационного процесса, вызванного ионизирующими излучениями. Понятие статистичности мутационного процесса означает, что мутационные изменения могут затрагивать любые признаки и свойства организмов, причем отклонения от исходного типа могут происходить во всех возможных направлениях. Естественно, конечно, что статистичный и ненаправленный мутационный процесс у конкретных видов живых организмов ограничен их генетическими данными, другими словами, историей вида — мутировать может лишь то, что заложено в гено tipe. Так, например, к настоящему времени генетиками рассмотрено около миллиарда экземпляров дрозофилы, при этом никогда не было найдено сине- или зеленоглазой мутации, и это объясняется тем, что в онтогенезе подсемейства дрозофил отсутствуют биохимические предпосылки для возникновения таких мутаций.

При общем сходстве спонтанного и индуцированного облучением мутационных процессов в смысле их статистичности и ненаправленности весьма сложным является вопрос о сравнении спектров спонтанных

и индуцированных мутаций. Сложность этого вопроса связана с тем, что, несмотря на обширные генетические и радиационно-генетические исследования, выборки из спонтанного и индуцированного мутационных процессов все еще остаются относительно малыми. Так, у наиболее генетически изученного объекта — дрозофилы сейчас известно порядка тысячи мутаций. По приблизительной оценке число генов у дрозофилы составляет от пяти до восьми тысяч. Если принять число аллелей в каждой серии равным 25 (что является вполне умеренной оценкой), то общее число возможных мутаций выразится огромной величиной — от 125 до 200 тысяч различных генных мутаций, не считая хромосомных и геномных мутаций. Естественно, что при такой ограниченности выборки даже для наилучшим образом изученного объекта составить точное количественное представление о соотношении спектров спонтанных и радиационных мутаций представляется довольно затруднительным. Имеющиеся данные позволяют все же сделать некоторые общие заключения, а именно: при радиационном мутагенезе возникают те же типы мутаций, которые наблюдаются и в ходе спонтанного мутационного процесса, хотя относительные частоты отдельных мутаций могут и не совпадать. В частности, весьма редкие в спонтанном мутационном процессе хромосомные мутации составляют около половины всех мутаций, учитываемых при радиационном мутагенезе.

Уже в первые годы формирования радиационной генетики в ней определились три относительно самостоятельных направления: собственно генетическое, практически-селекционное и биофизическое.

Генетическое направление характеризуется тем, что радиационный фактор используется просто как удобный способ получения большого количества разнообразных мутаций, что особенно существенно для быстрого освоения новых генетических объектов. Принципиально радиационный мутагенез не отличается в этом отношении от любых других способов экспериментального получения мутаций.

Практическое направление радиационной генетики — это радиационная селекция, которая особенно интенсивно развивается в Швеции, Канаде и Германии, хотя первые исследования по радиационной селекции были выполнены в нашей стране А. А. Сапегиним, А. Н. Лутковым, Л. Н. Делоне. Радиационная селекция принципиально не отличается от других направлений этой науки, основанных на современной генетике. Радиационное воздействие используется либо для резкого повышения изменчивости исходного материала для отбора, либо для «доводки» хороших сортов, разрушение наследственного комплекса которых дальнейшими скрещиваниями нежелательно, либо, наконец, для получения (среди многих других) каких-либо особенно желательных из практических соображений мутаций, появление которых у данного объекта можно ожидать исходя из закона гомологических рядов наследственной изменчивости Н. И. Вавилова. Особенно успешно радиационные методы применяются в селекции микроорганизмов; так, все современные высокоактивные промышленные штаммы микроорганизмов-продуцентов антибиотиков получены путем радиационной селекции.

Наконец, третье — биофизическое направление радиационной генетики занимается анализом пусковых механизмов мутационного процесса, опираясь на ряд физических представлений и количественное изучение феноменов радиационно-генетического эффекта.

К рассмотрению этого биофизического направления, которое и составляет основное содержание радиационной генетики в узком смысле слова, мы и перейдем в следующем разделе.

БИОФИЗИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МУТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА

Сперва изложим вкратце результаты некоторых основных количественных радиационно-генетических опытов. Для того чтобы биофизический анализ пусковых механизмов какой-либо индуцированной облучением реакции обещал успех, необходим выбор таких реакций, которые возникали бы более или менее непосредственно в результате прямого действия излучений. В радиобиологии известно большое число случаев косвенного действия облучения, в которых первичные изменения в одних тканях и органах на основе физиологических корреляций вызывают изменения в других, часто непосредственно не облучавшихся тканях и органах. Если изучаемая реакция является прямым ответом на облучение тех клеток, в которых она регистрируется, то далее необходимо точно количественно установить: а) кривую доза-эффект; б) зависимость или, в широких пределах, независимость от мощности дозы и в) зависимость при равных дозах от жесткости применяемых излучений.

В табл. 1 приведены результаты различных опытов на дрозофиле, показывающие, что мутации возникают лишь в хромосомах, непосредственно подвергавшихся облучению.

Таблица 1

Частота сцепленных с полом мутаций у *Dr. melanogaster*:
 1—необлученный контроль; 2—культуры, с облученными рентгеном X-хромосомами, которые не содержали мутаций непосредственно после облучения; 3—культуры с необлученными X-хромосомами в облученных рентгеном яйцеклетках; 4—культуры с непосредственно облученными X-хромосомами (доза 3000 p)

Тип культуры	Число культур	Число мутаций	% сцепленных с полом мутаций
1	3708	7	0,19±0,07
2	1431	3	0,21±0,12
3	1737	2	0,11±0,08
4	2239	198	8,84±0,59

В необлученных хромосомах, введенных путем скрещивания в яйцеклетки, подвергнутые облучению высокими дозами, процент мутаций не превышает спонтанный. Хромосомы, в первом поколении после облучения, свободные от вновь возникших мутаций, в дальнейших поколениях не дают повышенной частоты мутаций. Наконец, облучение сомы весьма высокими дозами сверхмягких рентгеновых лучей, не проникающих на глубину гонад, при облучении мух со спины не повышает процента мутаций, возникающих в гаметах (хотя столь же мягкие лучи, апплицированные с брюшной стороны мух и проникающие поэтому в гонады, вызывают процент мутаций, соответствующий локальной глубинной дозе). Таким образом, можно считать, что мутации возникают в хромосомах лишь под прямым воздействием облучения.

На рис. 2 изображена кривая доза — эффект для сцепленных с полом рецессивных леталей у дрозофилы по опытам различных авторов. Мы видим, что частота индуцированных мутаций пропорциональна дозе облучения.

На рис. 3 приведена такая же кривая для «видимых» (морфологических) сцепленных с полом мутаций у дрозофилы. Сходные результа-

ты были получены и у целого ряда других объектов, изучавшихся в этом отношении.

На рис. 4 изображено следующее. Горизонтальная прямая соответствует средней дозе (доза отложена на оси ординат в килолентгенах), вызывающей в опытах разных авторов 10% сцепленных с полом мутаций у дрозофилы. Слева направо мощность дозы снижается, т. е. возрастает время экспозиции, за которое дается эта доза (логарифмически, в порядках числа минут экспозиции). Из рисунка видно, что экспериментальные точки из опытов разных авторов случайно флюктуируют вокруг горизонтальной прямой, не давая систематических отклонений; из этого следует независимость процента индуцированных мутаций (в широких пределах) от мощности применявшихся доз.

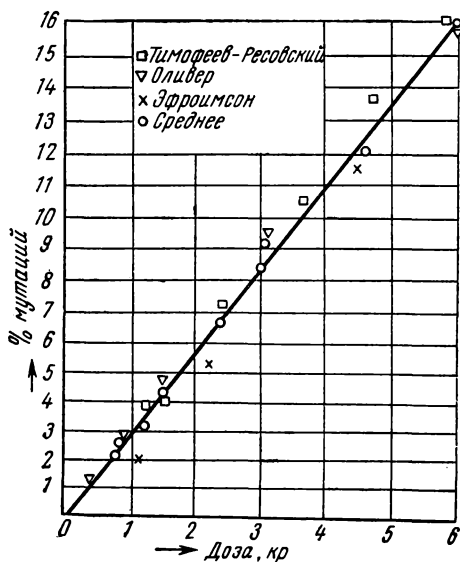


Рис. 2. Зависимость частоты рецессивных летальных мутаций в Х-хромосоме дрозофилы от дозы ионизирующих излучений (из опытов разных авторов)

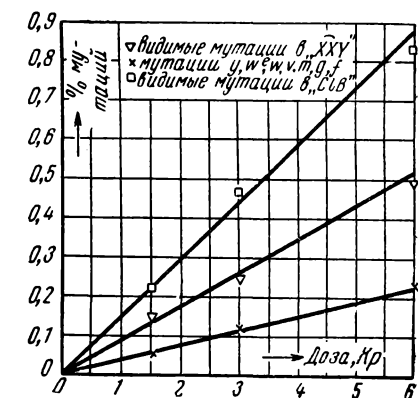


Рис. 3. Зависимость частоты некоторых рецессивных «видимых» мутаций в Х-хромосоме дрозофилы от дозы ионизирующих излучений

Наконец, на рис. 5 дана кривая доза — эффект для сцепленных с полом мутаций у дрозофилы из опытов с рентгеновскими и гамма-лучами разной жесткости и бета-частицами. Так как экспериментальные точки из опытов с излучениями разной жесткости случайно флюктуируют вокруг одной и той же кривой доза — эффект, не давая от нее статистически достоверных отклонений, то следует заключить, что процент возникающих мутаций в широких пределах не зависит от жесткости излучений и определяется лишь полученной дозой.

Все вышеприведенные опыты на дрозофиле подтверждаются и в большинстве опытов на других объектах, на которых, однако, до сих пор получены менее систематичные и более фрагментарные данные. Таким образом, процент возникающих в результате воздействия ионизирующими излучениями мутаций в основном определяется лишь полученной соответствующими клетками дозой, будучи в широких пределах независимым от мощности дозы (ее распределения во времени) и от жесткости излучений. О результатах опытов с густоионизирующими корпускулярными излучениями и опытов по вызыванию хромосомных разрывов будет сказано позже.

Теперь напомним основные черты физической природы ионизирующе-

щих излучений и первичных механизмов поглощения их энергии в облученном веществе.

К ионизирующим излучениям, как известно, относятся: электромагнитные волны с большой энергией квантов (большей, чем у самых жестких ультрафиолетовых лучей), соответственно с короткой длиной волны, т. е. рентгеновские и гамма-излучения разной жесткости, и корпускулярные излучения — быстрые электроны, т. е. катодные лучи (электроны, ускоренные в электрическом поле), бета-частицы (электроны и позитроны, выбрасываемые ядрами атомов при радиоактивных процессах), протоны, дейтроны и альфа-частицы (ускоренные в электрическом поле, выбрасываемые ядрами атомов при радиоактивных процессах).

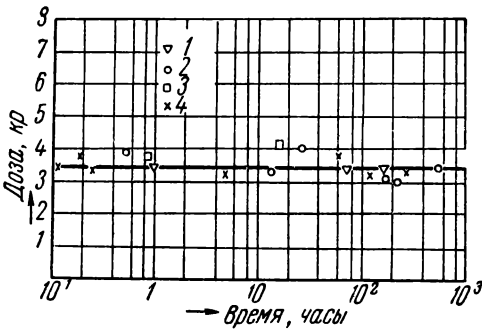


Рис. 4. Результаты опытов разных авторов, показывающие отсутствие влияния мощности дозы на процент мутаций, вызванных ионизирующими излучениями

На оси абсцисс — в логарифмическом масштабе время экспозиции, на оси ординат — величина дозы, вызывающая 10% сцепленных с полом рецессивных леталей. 1 — Хансон, 2 — Паттерсон, 3 — Пикхан, 4 — Тимофеев-Ресовский

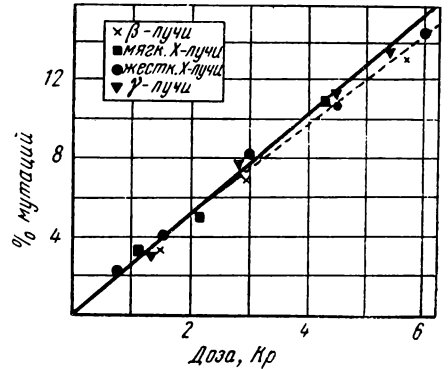


Рис. 5. Дозовая зависимость частоты индуцированных мутаций для излучений различной жесткости

или образующиеся в виде ядер отдачи под воздействием быстрых нейтронов и т. д.) разной жесткости. Характерной общей чертой для всех этих типов ионизирующих излучений является то, что при прохождении через вещество их энергия поглощается не теми или иными молекулярными структурами (как это, например, имеет место для видимого света, ультрафиолетовых и инфракрасных лучей), а непосредственно атомами, которые ионизируются или возбуждаются этими излучениями. При этом для каждого определенного типа ионизирующих излучений поглощение примерно прямо пропорционально электронной плотности вещества (т. е. его удельному весу).

Рассмотрим несколько подробнее механизм поглощения энергии веществом для разных типов ионизирующих излучений. Кванты рентгеновских и гамма-лучей обладают сравнительно очень большой способностью проникновения в вещество, причем слой половинного поглощения (т. е. тот слой, в котором поглощается половина квантов данного излучения) быстро возрастает с увеличением жесткости излучения. Поглощение энергии этих излучений происходит следующим образом. Квант ионизирует один из атомов, выбивая из его электронной оболочки один из электронов, который, получив от кванта значительную кинетическую энергию, с большой скоростью летит через вещество, постепенно отдавая небольшими порциями свою энергию путем ионизации и возбуждения ряда атомов, до тех пор, пока не растратит

всю свою энергию. Мягкие кванты (с малой энергией и большой длиной волны) отдают всю свою энергию одному электрону, который в этом случае носит название фотоэлектрона; более жесткие кванты (с большей энергией и меньшей длиной волны) обычно отдают не всю свою энергию, а лишь часть ее одному электрону (комpton-электрону), превращаясь в квант с большей длиной волны, который опять часть своей энергии или всю энергию отдаст другому электрону.

Фото- и комpton-электроны, образуемые рентгеновскими и гамма-лучами в веществе, называются вторичными электронами. Эти вторич-

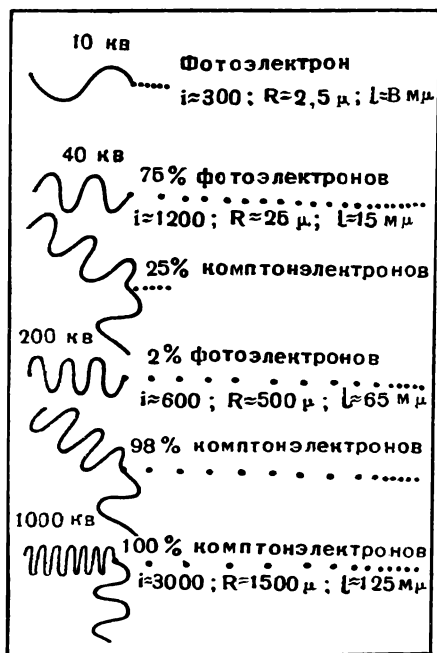


Рис. 6. Схематическое изображение процессов поглощения энергии рентгеновских и гамма-излучений веществом с малым атомным весом

i — число ионизаций на 1 квант; R — средняя длина пути пробега вторичного электрона в микронах; l — среднее расстояние между двумя ионизациями вдоль пути пробега вторичного электрона в микронах

ные электроны, как уже было сказано, имеют определенную длину пробега, вдоль которого они постепенно растрачивают свою энергию на ионизацию и возбуждение атомов; при этом средняя энергия ионизации (с сопутствующими возбуждениями) является более или менее постоянной величиной для всех ионизирующих излучений, равняясь примерно 32—36 эв. Этим механизмом поглощения в веществе объясняется химическая неспецифичность действия ионизирующих излучений, ибо энергия элементарного процесса (ионизации), превышающая, как только что упоминалось, 30 эв, значительно больше энергии активации подавляющего большинства химических реакций. Необходимо указать еще на одну важную особенность вторичных электронов. Чем больше энергия, полученная вторичным электроном, тем больше ионизаций произведет он вдоль пути своего пробега (ибо средняя энергия ионизации постоянна). Кроме того, чем больше энергия вторичного электрона, тем больше его скорость, а в связи с этим меньше вероятность взаимодействия и больше среднее расстояние между соседними ионизациями вдоль пути его пробега в веществе

одинаковой плотности. Поэтому с увеличением энергии вторичного электрона быстро увеличивается длина его пробега и уменьшается линейная плотность ионизаций. Наконец, необходимо отметить, что все вторичные электроны в конце своего пробега (когда у них остается уже мало энергии) замедляют движение и сильно повышают густоту последних ионизаций («густо ионизирующие хвосты»). Все вышесказанное о поглощении энергии рентгеновских и гамма-лучей в веществе для наглядности иллюстрируется схематически на рис. 6. Конечно, на этом рисунке, так же как и в кратком описании, мы коснулись лишь самых основных явлений, опуская многие детали и схематизируя описываемые процессы.

Быстрые электроны и бета-частицы принципиально ничем, кроме происхождения, не отличаются от вторичных электронов. Так же, как

и у последних, у них с увеличением жесткости (т. е. энергии частицы) увеличивается число производимых ими ионизаций и возбуждений атомов, резко увеличивается длина пути пробега и уменьшается средняя линейная плотность ионизации (т. е. увеличивается среднее расстояние между соседними ионизациями вдоль пути пробега частицы). Быстрые частицы большой по сравнению с электроном массы (протоны, дейтроны и альфа-частицы) несут положительный заряд и, так же как и электроны, ионизируют и возбуждают атомы вдоль пути своего пробега; при этом, так же как у электронов, с возрастанием скорости (т. е. энергии частицы при равной массе) увеличиваются число производимых ими вдоль пути пробега ионизаций и средняя длина пробега, а линейная плотность ионизации уменьшается. Но в связи с их значительно большей массой абсолютные значения линейной плотности ионизации вдоль

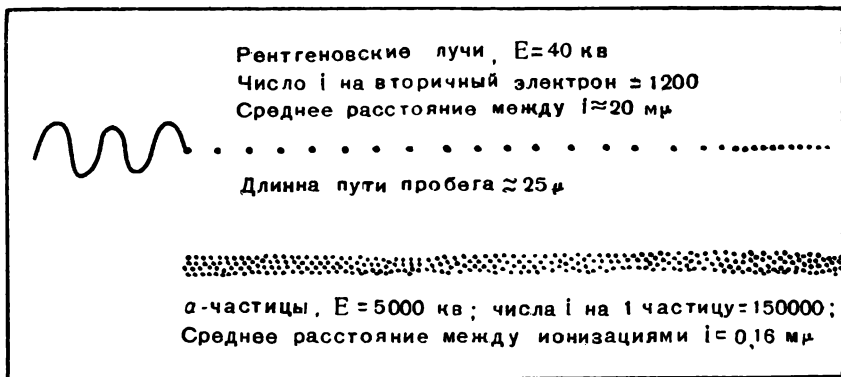


Рис. 7. Схематическое изображение вторичного электрона и альфа-частицы с примерно одинаковой длиной пути пробега в веществе, плотностью ≈ 1 .
 E — энергия частиц в квантах; i — ионизация

пути пробега частицы намного выше, чем у электронов, и, при равных энергиях, примерно пропорциональны массе частицы, т. е. наибольшей линейной плотностью ионизации обладают альфа-частицы, затем дейтроны и наименьшей — протоны. Этим объясняется то, что такие частицы даже при значительно большей по сравнению с быстрыми электронами энергии обладают весьма малой средней длиной пробега в веществе той же плотности. Только что сказанное иллюстрируется рисунком 7.

Таким образом, все типы ионизирующих излучений отдают свою энергию облученному веществу в совершенно одинаковой форме, путем ионизаций и возбуждений атомов вдоль пути пробега отрицательно или положительно заряженной частицы. В зависимости от массы и скорости частицы путь ее пробега в веществе определенной плотности будет различен и различна будет линейная плотность ионизации вдоль ее трека.

Обычной единицей дозы ионизирующих излучений является рентген, представляющий собой такое количество рентгеновского или гамма-излучения, которое производит в 1 см³ воздуха при нормальных условиях $2,1 \cdot 10^9$ пар ионов. В настоящее время широкое распространение получило измерение поглощенной дозы, единицей которой служит *рад* — количество излучений, приводящее к поглощению 100 эрг энергии на 1 г вещества. Одинаковые дозы разных типов ионизирующих излучений оставляют, следовательно, в определенном макрообъеме вещества (например, в 1 см³) примерно одинаковую энергию в виде опре-

деленного числа ионизаций и возбуждений атомов. Но в зависимости от линейной плотности ионизаций вдоль пути пробега частицы микрогеометрическое распределение ионизаций внутри объема (а вместе с тем и микрогеометрическое распределение абсорбированной энергии) при воздействии одинаковыми дозами разных типов ионизирующих излучений может быть весьма различным. В наглядной схематической форме это представлено на рис. 8. На этом рисунке, наверху, изображено распределение

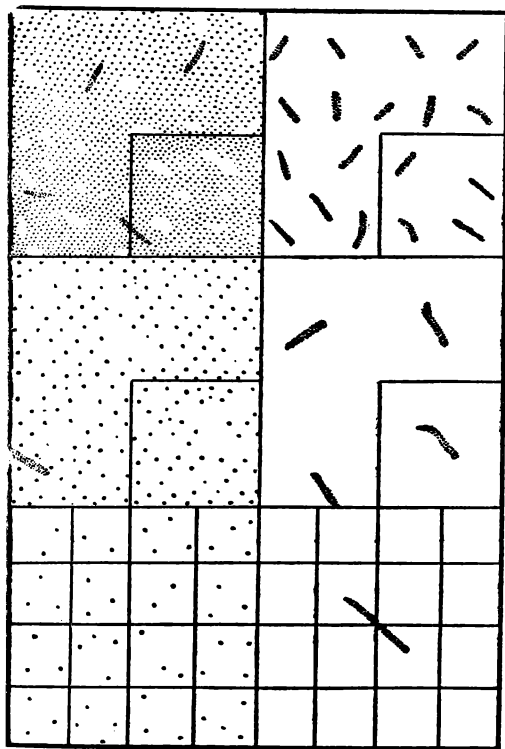


Рис. 8. Схематическое изображение микрогеометрического распределения ионизаций в облученном веществе при воздействии одинаковыми дозами бета- (слева) и альфа-излучений (справа)

деления одного и того же числа ионизаций (т. е. одной и той же физической дозы излучений) в некотором небольшом объеме при облучении вещества бета- (слева) и альфа-частицами (справа). В первом случае благодаря перекрещиванию в этом объеме многих относительно длинных путей пробега бета-частиц с редко расположенными ионизациями вдоль пути даже при относительно небольшой дозе получится статистически равномерное распределение отдельных ионизаций по всему объему (с небольшими сгустками, образующимися в конце пробега электрона); то же самое число ионизаций при применении альфа-частиц дает сравнительно небольшое число сгустков ионизаций вдоль весьма коротких путей пробега этих частиц. Во втором ряду этого рисунка в увеличенном виде изображен меньший объем (очерченный в верхнем ряду); здесь для бета-частиц сохраняется столь же равномерное распределение ионизаций, неравномерность же распределения для альфа-частиц еще

более увеличивается. Наконец, в нижнем ряду рассматривается объем, увеличенный еще в 8 раз, та же разница между бета- и альфа-частицами выражена еще более резко.

Наконец, следует особо подчеркнуть, что практически все типы ионизирующих излучений, получаемые даже от самых мощных источников, являющиеся излучениями очень малой плотности по сравнению, например, с видимым светом. Энергия отдельных квантов и частиц у них очень велика, но число их на единицу объема, даже при наибольших практически встречающихся дозах, очень невелико. Например, если мы сравним свет с густым туманом, состоящим из мельчайших капелек воды (соответствующих квантам света), то эквивалентную по энергии дозу рентгеновских лучей можно сравнить с первыми крупными, но очень редкими каплями начинающегося ливня.

Вышесказанным весьма схематично и кратко формулируются основ-

ные черты первичных физических процессов, имеющих место при прохождении ионизирующих излучений через вещество. По отношению к радиобиологическим реакциям из этих представлений может быть сделан целый ряд выводов, в значительной части уже подтвержденных экспериментально. Об этом мы и будем говорить ниже.

Уже первые, работавшие с использованием количественных методик, радиобиологи обратили внимание на весьма удивительное обстоятельство, получившее название основного парадокса радиобиологии и состоящее в том, что при воздействии ионизирующими излучениями на биологические объекты ничтожно малые количества энергии излучения, соответственно взаимодействующего с ничтожно малой долей атомов облучаемого объекта, приводят к серьезнейшим последствиям. Так, летальная доза рентгеновских лучей оставляет в организме человека меньше энергии, чем стакан горячего чая; а если этому облучению с неизменной интенсивностью (достаточной для того, чтобы в течение часа создать летальную дозу) подвергать вещество, по плотности соответствующее живым тканям, то половина его атомов будет ионизирована лишь примерно через тысячу лет. Из этого с полной непреложностью следует, что ярко выраженные биологические реакции на действие ионизирующих излучений связаны отнюдь не с общим количеством внешней энергии, а с узлокальными процессами, протекающими первично в микрогеометрических участках облученного вещества (это хорошо отражается в термине «точечное тепло», предложенном Дессауэром, хотя этот термин отличается скорее наглядностью, чем адекватностью). При попытках объяснения основного парадокса радиобиологии следует учитывать, с одной стороны, уже упомянутые малую плотность ионизирующих излучений и дискретный характер их взаимодействия с веществом и, с другой стороны, существенную негомогенность живой клетки. Как известно, клетка представляет собой не водный раствор органических веществ, а высокоорганизованную дифференцированную систему, содержащую как массовые, так и уникальные или почти уникальные структуры (хромосомы, молекулы редких ферментов и др.), имеющие весьма различное значение в жизни клетки. Эти обстоятельства приводят к естественному заключению, что пусковыми механизмами радиобиологических реакций должны служить поражения уникальных и важных в жизни клетки структур («мишеней») при дискретном взаимодействии излучения с веществом («попадание» в эти структуры).

Второй важной особенностью радиобиологических реакций, существенной для дальнейшего изложения биофизического анализа мутационного процесса, является характер кривых зависимости эффекта от дозы при облучении сравнительно однородных популяций клеток (культур или суспензий одноклеточных, гамет многоклеточных и т. д.); при этом регистрируемым эффектом является доля пораженных объектов.

Своеобразие этих кривых заключается в отсутствии порога и в постепенном нарастании эффекта до насыщения, начиная с самых малых доз (рис. 9). Этим они существенно отличаются от кривых доза—эффект для большинства химических токсических воздействий; в этом случае ясно выражен относительно высокий порог и быстрое нарастание эффекта до 100% при надпороговых дозах. Разница между пороговой дозой и дозой 100%-ного действия в случае химических агентов объясняется обычно неизбежным разбросом в чувствительности биологических объектов. В случае же радиобиологических кривых доза—эффект, характеризующихся, как было сказано, отсутствием порога и постепенным

нарастанием эффекта, такое объяснение становится неудовлетворительным, так как требует допущения необычайно высокой вариабильности. Следует отметить, что радиобиологические кривые доза—эффект отражают не усиление степени поражения с возрастанием дозы, а увеличение доли пораженных единиц (т. е. вероятности поражения): и самые малые дозы могут приводить к наиболее драматическим последствиям (например, смерти или инактивации клетки), но лишь у соответственно меньшего числа особей. Сказанное свидетельствует о том, что действие

ионизирующих излучений на биологические объекты носит вероятностный, статистический характер.

Исходя из характера взаимодействия ионизирующих излучений с веществом и рассмотренных особенностей радиобиологических реакций, Дессауэр в начале 20-х годов пришел к следующему заключению: изучаемая реакция осуществляется в одной из большого числа облученных единиц (клеток, гамет, хромосом и т. д.) лишь в том случае, если данная единица получила определенное число попаданий. Эта концепция известна в радиобиологии как «принцип попаданий». И нужно сказать, что этот принцип оказался весьма плодотворным и не утратил своего значения до настоящего времени, ибо этот принцип является не гипотезой или теорией, а эмпирическим обобщением твердо установленных в физике и радиобиологии фактов.

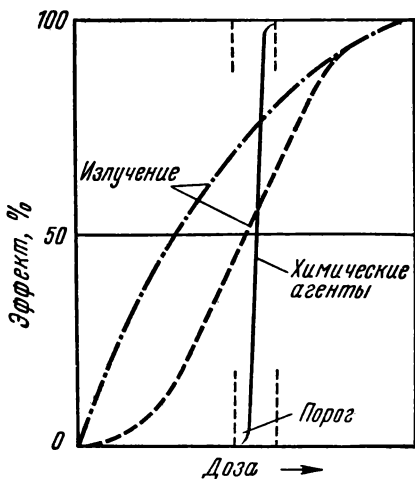


Рис. 9. Кривые доза—эффект для действия ядов и излучений (по К. Циммеру)

На основании принципа попаданий с привлечением сравнительно несложного математического аппарата можно, исходя из характера кривых доза—эффект, определять число попаданий, необходимых для вызывания изучаемой радиобиологической реакции. Если реакция вызывается одним попаданием, то зависимость эффекта от дозы выражается кривой насыщения, имеющей прямолинейный (в первом приближении) начальный участок — «одноударная кривая». Если реакция вызывается более чем одним попаданием, то зависимость эффекта от дозы выражается S-образными кривыми различной степени изогнутости — «многоударные кривые». Анализ многоударных кривых до сих пор представляет значительные трудности, однако для генных мутаций, как было показано на рис. 2 и 3 (в дальнейшем изложении мы ограничимся в основном этим случаем), во всех радиационно-генетических опытах были получены одноударные кривые.

Уже в первых опытах Мёллера было показано, что процент сцепленных с полом летальных мутаций у дрозофилы пропорционален дозе облучения. Аналогичная дозовая зависимость была получена как для сцепленных с полом леталей, так и для видимых мутаций целым рядом авторов у дрозофилы и у других животных и растительных объектов. Наблюдаемая линейность кривых доза—эффект для генных мутаций хорошо соответствует в первом приближении прямолинейному начальному участку «одноударной кривой». Следовательно, механизм возникновения генных мутаций под воздействием облучения можно считать одноударным, т. е. генная мутация есть результат одного попадания.

Когда событием попадания является отдельная ионизация, то выход реакции одного попадания зависит от дозы облучения и не зависит от мощности дозы и линейной плотности ионизации. Под мощностью дозы понимают количество излучений, воздействующее на объект в единицу времени. Понятно, что если единица реакции запускается одной ионизацией, то для выхода реакции имеет значение лишь общее число ионизаций, определяемое величиной дозы, а не их распределение во времени. Многочисленные радиационно-генетические опыты показали независимость выхода мутаций от мощности дозы, вырывавшейся в широких пределах, как это было показано на рис. 4.

Напомним, что линейной плотностью ионизации называется число ионизаций, приходящихся на единицу длины пробега частицы в веществе и что линейная плотность ионизации уменьшается с возрастанием энергии или уменьшением массы частицы. Следовательно, линейная плотность ионизации может варьировать при использовании различных источников облучения. Увеличение линейной плотности ионизации означает нарушение случайного микрогеометрического распределения энергии в облучаемом веществе, концентрацию энергии, передаваемой веществу, в «сгустки». Так как количество энергии такого сгустка, приходящейся на объем, одна ионизация в котором инициирует реакцию больше, чем ее требуется для пуска этой реакции, то происходит насыщение, т. е. остается неэффективный избыток энергии. Поэтому та же доза излучений с большей линейной плотностью не может быть более эффективна, чем излучение с меньшей линейной плотностью ионизации. В радиационно-генетических опытах было показано на огромном материале, что выход мутаций, индуцированных облучением, не зависит в широких пределах от жесткости излучений (см. рис. 5).

Таким образом, пропорциональность процента индуцированных мутаций дозе облучения, независимость его от мощности дозы и от жесткости излучений позволяют утверждать, что мутации, вызванные облучением, являются результатом одного попадания в форме одной ионизации.

Однако в соответствии с характером взаимодействия ионизирующих излучений с веществом можно сделать различные допущения о природе события попадания (рис. 10). Так, событие попадания можно приравнять к поглощению всей энергии быстрой частицы (рис. 10, 1). И такое допущение делалось. Однако поскольку доза измеряется числом ионизаций, или поглощенной энергией, то равное число ионизаций с сопутствующими возбуждениями будет вызвано меньшим числом жестких частиц, чем мягких. Другими словами, для передачи веществу одного и того же количества энергии в случае жестких излучений мы располагаем меньшим числом «пуль». Значит более жесткие излучения должны обладать меньшей эффективностью на единицу дозы, а это противоречит всем экспериментальным данным радиационной генетики (см. рис. 5). Кроме того, при поглощении рентгеновских и гамма-лучей большая часть энергии квантов распределяется фактически в существенно большем объеме, чем размеры элементарных биологических структур, а иногда и целых объектов. Таким образом, допущение о том, что событие

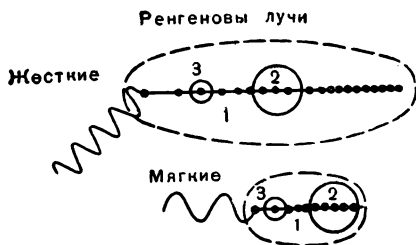


Рис. 10. Схема, иллюстрирующая различные допущения о физическом смысле события попадания. Пояснения в тексте

попадания есть поглощение всей энергии частицы, является неприемлемым.

Другим возможным допущением (рис. 10, 2) является отождествление события попадания с прохождением ионизирующей частицы через некоторый объем с оставлением в нем некоторой энергии в форме нескольких или многих ионизаций и возбуждений. Здесь возможны два случая. Во-первых, предположим, что для осуществления единицы реакции необходимо оставить в некотором объеме относительно большое количество энергии; тогда мягкие излучения с более высокой линейной плотностью ионизации будут оставлять в данном объеме достаточное количество энергии, а в случае редко ионизирующих жестких излучений потребуются несколько пробегов через тот же объем (несколько попаданий) для достижения эффекта. Таким образом, для более жестких лучей должно происходить изменение формы кривых доза—эффект на многударные S-образные, чего на самом деле не наблюдается (см. рис. 5). С другой стороны, если предположить, что для осуществления единицы реакции необходимо оставить в таком же объеме относительно малое количество энергии, то излучения с большей линейной плотностью ионизации должны быть менее эффективны вследствие эффекта насыщения, о котором говорилось выше, т. е. кривые доза—эффект для мягких лучей должны проходить под более острым углом, что также не имеет места (см. рис. 5). Отсюда следует, что событие попадания не есть пробег частицы через некоторый объем с оставлением в нем энергии нескольких ионизаций.

Наконец, можно предположить, что событию попадания соответствует отдельная ионизация с сопутствующими ей возбуждениями (рис. 10, 3). Это допущение не противоречит всей совокупности радиационно-генетических наблюдений и им удобнее пользоваться в качестве рабочей гипотезы. Нельзя также исключить, что поскольку ионизации часто происходят малыми группами, называемыми в физике «первичными ионизациями», событием попадания является целая такая группа из двух-трех тесно расположенных ионизаций. Однако различие между двумя последними предположениями для радиобиологии непринципиально. Поэтому в дальнейшем анализе мы будем исходить из того, что первоначальным физическим процессом, запускающим возникновение мутации, является одно попадание в форме одной ионизации с сопутствующими возбуждениями.

Можно попытаться конкретизировать наши представления дальше. Прежде всего, уже рассмотрение основного парадокса радиобиологии привело нас к необходимому заключению, что осуществление радиационно-генетических реакций изменения, связанных с поглощением энергии, должно затрагивать уникальные структуры клетки. Иными словами, в клетке должны существовать определенные «мишени», поражение которых ионизирующей частицей (попадание) дает наблюдаемую реакцию. Исходя из представления о мишени и ряде допущений, о которых будет сказано ниже, и используя соответствующий математический аппарат, можно вычислять так называемые эффективные объемы. Введем основные понятия. Естественно, что нас интересует лишь та часть энергии излучений, которая передается реагирующим объектам (клеткам). С реагирующим объектом не совпадает понятие **реагирующей единицы**— в нашем случае это локус хромосомы (ген), в котором происходит мутация. Возникновение интересующей реакции (мутации) в одной реагирующей единице (гене) определяется понятием **единица реакции**. В пределах реагирующей единицы следует различать тот участок в структуре молекулы или более сложного материального комплекса, изменение в

котором прямо или через цепь последующих реакций ведет к возникновению наблюдаемой единицы реакции; этот участок определяется понятием **место действия**. Наконец, совершенно необязательно, чтобы ионизация, приведшая к возникновению единицы реакции, произошла в месте действия или даже в пределах реагирующей единицы; важно лишь, чтобы энергия, оставленная ионизацией, не диссипировав ниже порога работы, тем или иным путем достигла места действия. В связи с этим необходимо ввести понятие **эффективный объем**, т. е. тот объем, из любого участка которого энергия ионизации (или достаточная ее часть) может достигнуть места действия. Таким образом, **попаданием** является лишь та ионизация, которая произошла в пределах эффективного объема.

Итак, мы определили понятия попадания, реагирующего объекта, реагирующей единицы, единицы реакции, места действия и эффективного объема. Нужно еще раз подчеркнуть пространственное несовпадение реагирующего объекта, реагирующей единицы, места действия и эффективного объема. Надо полагать, что место действия всегда меньше включающей его реагирующей единицы, а эффективный объем больше места действия. Соотношение между реагирующей единицей и эффективным объемом значительно сложнее. Эффективный объем может быть с достаточной точностью вычислен лишь в тех случаях, когда известны число единиц реакции на единицу дозы, электронная плотность (удельный вес) облученного вещества и ионный выход реакции. Число единиц реакции (мутаций) на единицу дозы определяется экспериментально из кривой доза — эффект, плотность биологических тканей несущественно отличается от единицы (плотность воды), а ионный выход реакции (число единиц реакции на одну пару ионов, т. е. в нашем случае число мутаций на одну ионизацию), вообще говоря, неизвестен, но может быть принят равным единице. Кроме того, при вычислении эффективного объема делается допущение о его сферической форме. Такие вычисления неоднократно предпринимались различными радиобиологами и для разных мутаций были получены значения размеров эффективного объема от 300 до 6000 атомов. Для примера приведем табл. 2, где указан радиус эффективного объема в долях сантиметра для различных мутационных переходов. Как видно из таблицы, во всех случаях получается один и тот же порядок величин 10^{-7} см.

Вычисленные величины эффективных объемов от 300 до 6000 атомов соответствуют размерам средних и относительно крупных молекул.

Из химии и биохимии известно, что в различных реакциях участвуют не целые такие молекулы, а одна из нескольких функциональных групп, т. е. группа 300—6000 атомов слишком велика, чтобы служить местом действия. Поскольку же осуществление реакции (мутации) равновероятно, в какой бы точке эффективного объема ни произошла передача энергии, то возникает проблема миграции (переноса) энергии к месту действия в пределах эффективного объема. В современной квантовой химии известен целый ряд механизмов интра- и интермолекулярного переноса энергии, однако химическая структура и свойства биологических макромолекул известны еще недостаточно полно, чтобы конкретизировать, какой из этих механизмов переноса энергии осуществляется при радиационном мутагенезе. Это является задачей будущих исследований.

Есть возможность экспериментально проверить развитые выше представления. Если радиус эффективного объема порядка 10^{-7} см, то густо ионизирующие излучения с такой линейной плотностью ионизации, что на пробеге 10^{-7} см происходит более одной ионизации, будут

оставлять в пределах эффективного объема избыточную энергию. При этом должен сказаться эффект насыщения с соответствующим снижением эффективности таких излучений на единицу дозы. Из различных типов излучений для таких опытов пригодны быстрые нейтроны. Нейтроны обладают достаточной проникающей способностью вследствие отсутствия у них заряда, а образуемые ими ядра отдачи (в биологическом материале, в основном, ядра водорода — протоны) обладают достаточно высокой плотностью ионизации. Кроме того, водород наиболее

Таблица 2

Радиусы мишеней, вычисленные для различных мутационных переходов (по Н. В. Тимофееву-Ресовскому и К. Циммеру)

Мутационные переходы	Частота мутаций на 1 кр	Радиус мишени в см
$+ \rightarrow w^e$	$2,6 \cdot 10^{-5}$	$1,57 \cdot 10^{-7}$
$w \rightarrow w^e$	$0,3 \cdot 10^{-5}$	$0,77 \cdot 10^{-7}$
$w^e \rightarrow +$	$0,8 \cdot 10^{-5}$	$1,06 \cdot 10^{-7}$
$+ \rightarrow m$	$2,4 \cdot 10^{-5}$	$1,53 \cdot 10^{-7}$
$m \rightarrow +$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	$1,14 \cdot 10^{-7}$
$+ \rightarrow f$	$6,6 \cdot 10^{-5}$	$2,14 \cdot 10^{-7}$
$f \rightarrow +$	$2,4 \cdot 10^{-5}$	$1,53 \cdot 10^{-7}$
Среднее значение радиуса	—	$1,39 \cdot 10^{-7}$

равномерно распределен в тканях живого организма, благодаря чему вторичное протонное излучение также оказывается равномерным. Основная трудность в опытах с нейтронами — проблема точной дозиметрии. К. Циммером для дозиметрии быстрых нейтронов в рентген-эквивалентах были предложены малые ионизационные камеры, стенки которых изготовляются из материала, эквивалентного тканям по содержанию водорода, а объем воздуха в камере выбирается достаточно малым, чтобы считать регистрируемую интенсивность протонного излучения соответствующей тканевой интенсивности. Этот метод дозиметрии нейтронов является одним из самых точных. С его помощью Н. В. Тимофеевым-Ресовским и К. Циммером было проведено сравнение относительной эффективности различных типов излучений, включая $Li + D$ -нейтроны, рентгеновские и гамма-лучи. Действительно, было получено насыщение: нейтроны оказались менее эффективными на единицу дозы. Результаты этих опытов изображены на рис. 11. Эффект насыщения наблюдался при той линейной плотности ионизации, при которой его и следовало ожидать, исходя из вычисленного ранее на основании экспериментальных данных радиуса эффективного объема порядка 10^{-7} см.

Впоследствии Д. Ли, разработав математический аппарат для сравнительного анализа кривых доза — эффект, имеющих разный угол наклона, выполнил независимые расчеты величины эффективных объемов и получил удивительное совпадение с результатами Н. В. Тимофеева-Ресовского и К. Циммера, а именно: по Н. В. Тимофееву-Ресовскому и

К. Циммеру среднее значение радиуса эффективного объема для 25 различных мутационных изменений составляло $1,95 \cdot 10^{-7}$ см, а по расчетам Д. Ли — $1,83 \cdot 10^{-7}$ см. Такое весьма близкое совпадение результатов, полученных двумя независимыми методами, является, конечно, существенным аргументом в пользу развитых выше представлений о природе пускового механизма генных мутаций, вызываемых ионизирующими излучениями.

Итак, в результате биофизического анализа мутационного процесса, вызванного ионизирующими излучениями, было составлено представление о том, что первичным физическим пусковым механизмом генных мутаций является одно попадание в форме одиночной (или первичной) ионизации в эффективный объем радиусом порядка 10^{-7} см; в пределах этого объема возможен перенос энергии к месту действия без диссипации ее ниже порога работы. Эти представления о радиационном мутационном процессе окончательно сложились в 40-х годах и явились завершением первого, плодотворного, этапа количественного биофизического анализа проблемы. Накопленный за последующие годы материал показывает, что разработанная система представлений о радиационном мутагенезе встречает некоторые затруднения в объяснении ряда фактов. Однако новой системы представлений мы пока не имеем, но, несомненно, что для разработки любой системы представлений о радиационном мутагенезе огромное значение имеет методологически совершенно правильный подход к проблеме, кратко описанный нами и заключающийся в тесном содружестве физиков и генетиков, сборе огромного феноменологического материала и разработке четкой системы определений основных понятий.

Для завершения картины радиационного мутагенеза следует отметить одно нами еще не затрагивавшееся, но весьма существенное обстоятельство. Дело в том, что изложенные выше особенности радиационно-генетических реакций приводят к заключению, что возникновение мутаций под действием излучения является реакцией первого порядка, аналогичной соответствующим фотохимическим и радиационно-химическим реакциям. А это, в свою очередь, привело к выводу о том, что ген должен быть представлен макромолекулой, мицеллой или автономной частью мицеллы, т. е. физико-химической единицей. Вначале это представление о макромолекулярной природе генов было лишь логическим следствием биофизического анализа радиационного мутационного процесса. Теперь же в результате многочисленных биохимических исследований, начало которым было положено работой Т. Касперсона, показавшего, что хромосомы состоят из нуклеопротеидов, это стало общеизвестным фактом. Мы не будем рассматривать вопрос о молекулярной структуре гена, поскольку этому посвящены специальные главы.

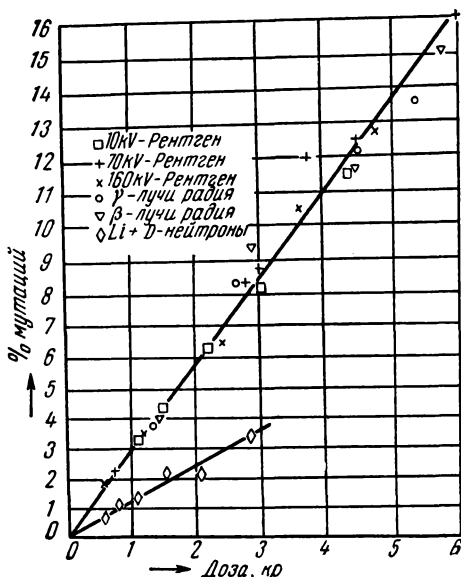


Рис. 11. Относительная мутагенная эффективность гамма-, рентгеновских, бета-лучей и Li+D нейтронов

В заключение рассмотрим вопрос о пусковых механизмах спонтанного мутационного процесса, поставленный в самом начале наших рассуждений. В связи с открытием мутагенного действия ионизирующих излучений появились попытки объяснить спонтанное мутирование действием космических лучей и естественного радиоактивного фона. Однако независимые расчеты Н. В. Тимофеева-Ресовского, В. П. Эфроимсона и Г. Мёллера показали, что естественные дозы радиации могут объяснить возникновение лишь примерно $\frac{1}{1200} - \frac{1}{500}$ доли всех спонтанных мутаций.

Пример вычисления дозы «естественных ионизирующих излучений», необходимой для вызывания спонтанной частоты мутаций у дрозофилы (по Н. В. Тимофееву-Ресовскому)

m — мутация;

i — пара ионов.

Принимается, что:

- 3000 p вызывают 10% сцепленных с полом m ,
- спонтанно возникают 0,1% сцепленных с полом m ,
- 1 p производит в воздухе 2×10^9 i/cm^3 ,
- «Естественное ионизирующее излучение» производит в воздухе 50 i/cm^3 в сек,
- дрозофила экспонируется излучению в природе 15 дней, т. е. $1,3 \times 10^6$ сек,
- процент m прямо пропорционален дозе.

Строим пропорции

$$3000 p - 10\% m \qquad 10\% m - 6 \times 10^{12} i$$

или

$$x p - 0,1\% m \qquad 0,1\% m - xi$$

Отсюда:

$$x = \frac{6 \times 10^{12}}{100} = 6 \times 10^{10} = \text{дозе, необходимой для вызывания спонтанной частоты мутаций.}$$

Но так как:

$50i \times 1,3 \times 10^6 = 7 \times 10^7 =$ дозе «естественного ионизирующего излучения», действующей на дрозофилу, то:

$$\frac{6 \times 10^{10}}{7 \times 10^7} = 800, \text{ т. е. доза «естественного ионизирующего излучения» примерно в 800}$$

раз меньше дозы, необходимой для вызывания спонтанной частоты мутаций у дрозофилы.

Недостаточность интенсивности естественной радиации для вызывания спонтанной частоты мутаций была подтверждена также экспериментально. Б. Н. Раевским и Н. В. Тимофеевым-Ресовским были проделаны опыты, которые показали, что частота спонтанных мутаций у дрозофилы была одинаковой как в контроле, так и в двух вариантах опыта, в одном из которых интенсивность космических излучений была заметно снижена толстыми свинцовыми экранами, а в другом повышена (за счет вторичных излучений) тонкими свинцовыми экранами.

Таким образом, было показано, что естественная радиация не может быть основным фактором, определяющим частоту спонтанного мутирования. Итак, вопрос о причинах возникновения спонтанных мутаций оставался нерешенным.

Обсуждение этой проблемы биологами и физиками (Н. В. Тимофеев-Ресовский, Г. Штуббе, М. Дельбрюк, К. Циммер, П. Йордан, У. Фано и др.) привело к мысли, которая может быть выражена известным философским афоризмом «ничто не вечно под луной». Применительно к реакциям первого порядка этот афоризм может служить выражением хорошо известного факта спонтанного изменения молекул, характеризующегося периодом полуреакции, т. е. временем, за которое происходит изменение половины исходного числа молекул. Естественно, чем больше период полуреакции, тем стабильнее данное вещество и соответственно

выше энергия активации (т. е. энергия, необходимая для преодоления энергетического барьера при переходе из одного стабильного состояния в другое).

Таким образом, по самой природе вещей, даже при допущении абсолютного отсутствия возмущений извне, гены (макромолекулы) должны спонтанно претерпевать изменения с частотой, отвечающей уровню их стабильности. Эти изменения обусловлены неизбежными локальными флюктуациями теплового движения атомов. Существует возможность экспериментально оценить энергию активации мутационных переходов по температурным коэффициентам Аррениуса — Вант-Гоффа, полученным для спонтанных мутаций. Температурный коэффициент показывает, как известно, во сколько раз изменяется скорость реакции при изменении температуры на 10°C . Для реакций первого порядка известны количественные соотношения между энергией активации, полупериодом реакции и температурными коэффициентами. Так, если энергия активации изменяется от 0,5 до 6 эв, то полупериод реакции изменяется соответственно от долей секунд до $3 \cdot 10^4$ лет, а температурный коэффициент изменяется от 1,2 до примерно 6—7.

Следует отметить еще одну особенность реакций первого порядка, а именно, что их временная зависимость следует экспоненциальному закону, т. е. логарифм приращения доли изменившихся молекул пропорционален времени. Поэтому следует ожидать, что при старении клеток в них должны накапливаться мутационные изменения. Соответствующие опыты были проведены Г. Штуббе на львином зеве и Н. В. Тимофеевым-Ресовским на дрозофиле. Г. Штуббе обнаружил, что при хранении пыльцы львиного зева частота спонтанных мутаций возрастает пропорционально времени, что соответствует начальному участку экспоненты. Аналогичные результаты были получены Н. В. Тимофеевым-Ресовским как при выдерживании оплодотворенных самок дрозофилы без откладки яиц в течение двух-трех недель, так и при скрещивании старых самцов. Н. В. Тимофеевым-Ресовским были выполнены также опыты, в которых сравнивались частоты спонтанных мутаций у дрозофил, культивирувавшихся при различных температурах в пределах от 15 до 30°C . По результатам этих опытов с учетом различий скорости развития при разных температурах был определен температурный коэффициент спонтанного мутационного процесса, который оказался равным примерно пяти. Такое значение температурного коэффициента, с одной стороны, свидетельствует об относительно высокой стабильности генов, а с другой — хорошо соответствует, как показали расчеты Д. Ли и П. Йордана, уровню их спонтанной мутабельности. Из температурных опытов вытекают еще два важных следствия. Во-первых, поскольку температурному коэффициенту около пяти соответствует энергия активации порядка 2,5—3 эв, то мутации могут индуцироваться лишь излучениями с энергией квантов не ниже той величины, которая соответствует ультрафиолетовому свету. И, действительно, как известно, электромагнитные излучения, более мягкие, чем ультрафиолет (видимый свет и инфракрасное излучение), не являются мутагенными. Во-вторых, известно, что среди мутантных аллелей изредка встречаются весьма высокомутабильные («лабильные гены»). Согласно правилу Аррениуса — Вант-Гоффа, их мутирование должно характеризоваться более низкими температурными коэффициентами. Это также было подтверждено экспериментально: для высокомутабильной аллели *bobbed* был получен температурный коэффициент около трех. Таким образом, все вышесказанное хорошо согласуется с представлением о пусковых механизмах спонтанных генных мутаций, как q реакциях первого порядка.

Все вышеизложенное касается в основном так называемых «точковых» мутаций. В мутационном процессе, вызванном радиацией, особенно часто возникают хромосомные мутации, первично основанные на разломах хромосом. Не имея времени и места для подробного изложения всей проблемы возникновения хромосомных мутаций, вкратце отметим лишь следующее.

У всех изученных организмов одиночные разрывы хромосом следуют также одноударной кривой доза—эффект. Однако при этом имеется существенная разница по сравнению с точковыми мутациями: во-первых, кривые доза-эффекта при хромосомных разрывах возрастают круче таковых для точковых (генных) мутаций, а, во-вторых, излучения с высокой линейной плотностью ионизации обладают не меньшей, а большей эффективностью на единицу дозы. В ряде случаев при возникновении хромосомных разрывов следует различать первичное, частично обратимое, повреждение хромосом и окончательное формирование разрыва; эта проблема «пострадиационного восстановления хромосом» и воздействие на это восстановление различных факторов интенсивно разрабатывается в самые последние годы. Наконец, в связи со значительно большей, по сравнению со спонтанной, относительной частотой хромосомных мутаций в радиационном мутационном процессе и, по-видимому, большей энергией, требуемой для хромосомного разрыва по сравнению с генной мутацией, можно полагать, что (опять-таки, в отличие от точковых мутаций) значительная часть «спонтанных» хромосомных разрывов обязана естественному фону ионизирующих излучений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Радиационная генетика, начало которой было положено работой Г. Мёллера, развилась к настоящему времени в обширную область. В кратком изложении некоторых вопросов радиационной генетики мы сознательно, чтобы не рассеивать внимания, ограничились рассмотрением в основном одной, но, пожалуй, наиболее интересной проблемы — биофизического анализа пусковых механизмов генных мутаций, привлекая по мере необходимости некоторые физические представления и данные о спонтанном мутационном процессе. Мы, разумеется, совершенно отчетливо сознаем, что развитая выше система представлений о механизмах возникновения генных мутаций при облучении является лишь первым этапом анализа проблемы. Построение этой системы было завершено еще в 40-х годах. С тех пор накоплен очень большой новый фактический материал, порой не укладывающийся в эти представления. Однако новой, столь же стройной, системы представлений о радиационном мутагенезе пока не создано. И нам кажется, что методологически совершенно правильный подход к проблеме и путь анализа, которые мы пытались выше показать, должны обязательно учитываться при построении любой новой системы представлений о радиационном мутагенезе. Мы, несомненно, не сумели бы дать никакой целостной картины, а лишь фрагментарный перечень множества фактов и гипотез, если бы пытались включить в наше краткое изложение проблемы новые данные по таким вопросам, как дифференциальная радиочувствительность разных фаз клеточного цикла, дифференциальная радиочувствительность разных стадий гаметогенеза, защита и восстановление клеток от радиационных повреждений, гипотеза о предмутационных состояниях, анализ дозовых кривых и др., а также анализ других типов радиационных мутаций.

Следует отметить также, что в последние годы довольно часто про-

является тенденция к отрицанию всех прежних достижений радиационной генетики. И это, конечно, глубоко неправильно. Так, принцип попадания, основанный на физической природе взаимодействия ионизирующих излучений с веществом, был и остается важнейшим обобщением, лежащим в основе любых радиационно-генетических построений. Кроме того, принцип мишени оказывается не только зачастую полезным инструментом исследований (например, определение размеров каппа-частиц у инфузорий), но и находит подтверждение в опытах по определению радиочувствительности различным образом ориентированных вирусов.

В заключение нам хочется выразить надежду, что избранный нами способ изложения — показ не столько того, что создано, сколько, как это создавалось — окажется полезным и что это представит интерес для неспециалиста в качестве введения в проблематику радиационной генетики.

ЛИТЕРАТУРА

- Дубинин Н. П. Проблемы радиационной генетики. М., Госатомиздат, 1961.
Ли Д. Е. Действие радиации на живые клетки. М., Госатомиздат, 1963.
Лобашев М. Е. Генетика. Изд-во ЛГУ, 1963.
Мюнтцинг А. Генетические исследования. М., ИЛ, 1963.
Тимофеев-Ресовский Н. В. Развитие и современное состояние радиационной генетики. Сб. работ лаборатории биофизики, III. «Тр. Ин-та биологии», Ур. филиал АН СССР, 1960, вып. 13.
Тимофеев-Ресовский Н. В. О возможном действии повышенного фона ионизирующих излучений на генетический состав популяции человека. Сб. работ лаборатории биофизики, IV. «Тр. Ин-та биологии». Ур. филиал АН СССР, 1962, вып. 22.
Фриц-Ниггли Х. Радиобиология, ее основы и достижения. М., Госатомиздат, 1961.
Циммер К. Г. Проблемы количественной радиобиологии. М., Госатомиздат, 1962.
Timofeeff-Ressovsky N. W., Zimmer K. G. Biophysik B. I. Das Trefferprinzip in der Biologie. Leipzig, 1947.