

И. А. РАПОПОРТ

ДЕЙСТВИЕ ОКСИ ЭТИЛЕНА, ГЛИЦИДА И ГЛИКОЛЕЙ
НА ГЕННЫЕ МУТАЦИИ

(Представлено академиком Л. А. Орбели 16 II 1948)

Окись этилена, одно из простейших гетероциклических соединений, замечательно благодаря многим реакциям, которым благоприятствует разрыв трехчленного цикла. Это соединение не только вступает в реакцию конденсации, но и легко полимеризуется. Оно энергично взаимодействует со многими химическими радикалами белков (1, 2) и поэтому 1 М альбумина и лактоглобулина может связать от 80 до 120 М окиси этилена (?). Окись этилена образует эфирные связи с карбоксильными группами белков, резко сдвигая реакции протеинов в щелочную сторону, но вступает в соединение также с аминогруппами, гидроксильными и сульфгидрильными радикалами.

Нам не удалось найти специфических ненаследственных изменений (морфозов) под влиянием окиси этилена, но другое соединение, аналогичное по структуре, но содержащее азот, — этиленимин — причина очень четкого морфоза rough („грубой“ структуры сложных глаз). Мутагенные свойства этиленимина, чрезвычайно сильные (9—15% летальных мутаций), разбираются нами в другой работе.

Что касается токсических свойств этиленоксида, то они общеизвестны и используются для дезинфекции, борьбы с плесенью, вредными насекомыми и т. д. Этиленоксид в газообразном состоянии убивает споры *B. anthracoides* в течение нескольких часов. При длительном воздействии он понижает всхожесть семян. Картина гибели насекомых при отравлении весьма своеобразна и не оставляет сомнения в ином токсическом механизме, чем у многих других инсектицидных средств. По Бузвин (6), слабые дозы не оказывают заметного действия на насекомых, однако через несколько дней насекомые все же погибают. Вероятно, в клетках происходят какие-то резкие химические изменения. Генетический анализ мутационной активности окиси этилена позволяет получить данные о внутреннем механизме генных изменений.

Методика и материал почти не отличаются от техники наших экспериментов, посвященных карбонильным соединениям, карбамам и кетену (4). Объект — та же линия yellow^{3P}. Окись этилена

Таблица 1

Серия	Число хромосом	Число мутаций	% мутаций
Опыт	851	17	1,99
Контроль	527	1	0,19

испытывалась в различных растворителях, но в описываемой серии экспериментов применялся 10% раствор окиси этилена в эфире. Кратковременная, вследствие особенностей точки кипения, сублетальная кон-

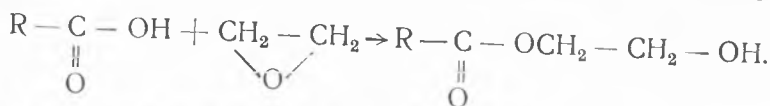
центрация раствора создавалась на поверхности питательной среды, где находились эмбрионы и молодые личинки дрозофилы. Критерием сублетальной дозы была гибель 80—90% экспериментального материала. Результаты одного из экспериментов приведены в табл. 1.

Далеко не все мутации возникли независимо. Среди 17 наследственных изменений — 2 достоверных „пучка“, 3 возможных „пучка“ (идентификация не производилась) и 5 одиночных мутаций. Не случайно значительное увеличение числа „пучков“ — результата размножения клеток, в которых мутация произошла на ранней стадии развития организма. Оно убеждает, что наследственные сдвиги следуют немедленно за химическим воздействием, также очень ранним. Повидимому, геновариация — непосредственный ответ на раздражение, а не результат последствий или функции медиаторов, более поздних промежуточных звеньев процесса.

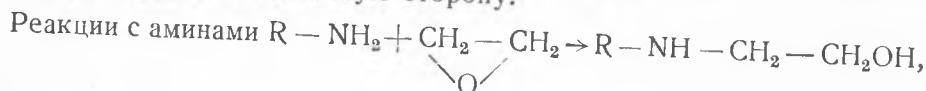
В опыте возникло любопытное семилетальное изменение: у насекомых с мутацией появляются крупные темные включения в сочленениях всех трех пар конечностей. Может быть, это меланомы. Во всяком случае, насекомые погибают очень рано.

Оксид этилена также увеличивает количество мутаций в 7 раз, если применяется в эфире. Разрыв цикла окиси этилена сопряжен с присоединением двух атомов углерода к веществу, с которым взаимодействует окись этилена. Для легкости взаимодействия немаловажно, чтобы другой компонент реакции отличался хотя бы одним активированным атомом водорода. В результате конденсации с этиленоксидом часто образуются окисоединения, например амины превращаются в аминоспирты.

Реакции окиси этилена с казеином, альбумином, глобулином и другими белками нельзя свести к одной, хотя все они имеют общий механизм. Наиболее легко протекает взаимодействие с карбоксильными группами в кислотах (5) и белках. Последняя реакция протекает по схеме:

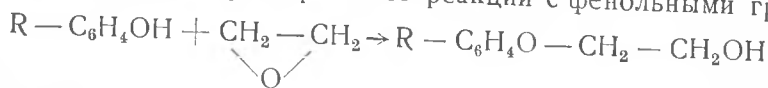


Это основной тип взаимодействия с белками и причина постоянного сдвига pH белков в щелочную сторону.

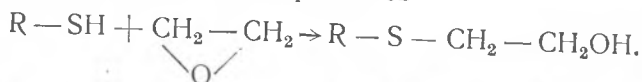


Реакции с аминами, амидами и имидами не отличаются таким же гладким течением, как этерификация карбоксильных групп, и часто необходимо повышать температуру и принимать другие меры для активации процесса.

Такой же общий характер имеют реакции с фенольными группами



и сульфгидрильными группами протеинов



Все эти новые связи диссоциируют с трудом в щелочной и в кислой средах, отличаются большой прочностью, и поэтому блокирование затронутых звеньев белкового синтеза в генах часто должно иметь необратимый характер.

Разумеется, многие из радикалов — карбоксильные, аминные и гидроксильные — имеются не только в белках, но и в рибозонуклеиновых и дезоксирибозонуклеиновых кислотах, также играющих важную роль в геномном синтезе. Определение доли участия нуклеиновых кислот в химических мутациях возможно только в специальных экспериментах. Однако нуклеиновые кислоты далеко не отличаются такой структурной дифференцировкой, как белки, и уже поэтому их значение должно быть несравненно меньшим.

Среди производных окиси этилена было изучено действие глицидного спирта $\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH}$ и эпихлоргидрина $\text{CH}_2 - \text{CH} - \text{CH}_2\text{Cl}$.



Первое из этих соединений применялось в водном растворе, а второе — в этилацетате и серном эфире. Табл. 2 показывает результаты опытов.

Таблица 2

Серия	Число хромосом	Число мутаций	% мутаций
Глицидный спирт	1566	21	1,3
Эпихлоргидрин	526	4	0,7
Контроль	887	—	—

Любопытно, что самки, гетерозиготные по одной из леталей, вызванных глицидным спиртом, имеют крыловую вырезку Notch, т. е. хромосомную нехватку на левом конце хромосомы. Это вполне согла-

суется со свойствами глицида реагировать не только с аммиаком и аминогруппами, но и иминогруппами (9). Весьма вероятно, что в результате реакций с иминогруппами (как и с кетогруппой в других случаях) разрываются пептидные связи по длине хромосомных нитей (4).

Мы не приводим экспериментов по влиянию окисей этилена и пропилена в водных растворах. Оба соединения также увеличивают частоту мутаций, но в значительно меньшей степени, чем в эфирных растворах. Зависимость быстроты реакции от концентрации водородных ионов (5) определяет более благоприятные условия проникновения окисей этилена и пропилена в клетку (до превращения в гликоли) при использовании эфирных растворов. Для эпихлоргидрина эта зависимость еще больше. Для экспериментов в водных растворах наиболее удобно пользоваться глицидным спиртом.

В связи с превращением окиси этилена в водном растворе в этиленгликоль, а окиси пропилена — в пропиленгликоль была исследована мутагенная активность пяти гликолей. В табл. 3 мы ограничимся данными об эффекте этиленгликоля и пропиленгликоля.

Таблица 3

Серия	Число хромосом	Число мутаций	% мутаций
Этиленгликоль	790	6	0,8
Пропиленгликоль	533	6	1,1
Контроль	482	—	—

Если учесть, что гликоли применялись в концентрациях в 15—20 раз больших, чем соответствующие окиси, то мутационный эффект окисей невозможно объяснить за счет образования гликолей. Вме-

сте с тем, возможность взаимодействия не по одной, а по двум гидроксильным группам сообщает гликолям несравненно большую мутагенную активность, чем у одноатомных спиртов. Амиловый и метиловый спирты активнее других одноатомных спиртов, но они сильно отстают от гликолей, так как вызывают не более 0,3% летальных мутаций. Можно предполагать, что и гликоли чаще всего взаимодействуют с карбоксильными группами белков.

Из приведенного нами ранее (4) анализа мутационного действия формальдегида и кетена ясно, что в тех случаях главную роль играют свободные аминогруппы белков. Органических реактивов, способных к избирательным необратимым реакциям с карбоксильными группами, гораздо меньше, особенно в условиях прижизненного биохимического эксперимента. Однако, такие реактивы, если они применяются, также должны вызвать много мутаций. В генных белках много дикарбоксильных аминокислотных единиц (с одной свободной карбоксильной группой), а также есть некоторое количество свободных концевых карбоксильных радикалов. Окись этилена, с этой точки зрения, по силе и особенностям мутационных изменений вполне соответствует тем теоретическим ожиданиям, которые на нее можно возлагать как на способ блокирования карбоксильных групп в генных белках.

Нортроп (8) и другие энзимологи представили убедительные доказательства значения аминокислотного состава и группировки в структуре ферментов для характера и специфики энзиматического действия. Было бы странно ожидать, что аминокислотный состав и группировка менее существенны для структуры и особенностей генов, чем уже бесспорно доказанная белковая специфика энзимов. Исследования по химическим фенокопиям (3) показали аналогию, существующую между единичным морфогенным действием генов и влиянием ферментных ядов на определенные морфогенные, несомненно энзиматические продукты. Хотя в тех же экспериментах показана неидентичность обоим классам химических тел, детерминирующих биологические синтезы, но вне сомнения общность в них многих важных, и именно белковых, компонентов.

Уже упоминавшиеся специфические реактивы на аминогруппы (формальдегид и кетен) и реакции этиленоксида и этиленмина с карбоксильными группами — в отдельности только намеки на белковую структуру преобладающей части генной молекулы, но в совокупности они превращаются из намеков в доказательство. Появление мутаций десятков и сотен различных генов под влиянием этих соединений бесспорно доказывает, что обязательные белковые компоненты имеются в преобладающей части генов, а может быть, и во всех наследственных единицах. Вероятно, естественная эволюция генов, столь важная для видообразования как источник стойких внешних различий и материал для естественного отбора, гораздо больше зависит от широких возможностей химических превращений белков, чем от превращений других и, в частности, нуклеиновых элементов в генах.

Сходные реакции преобладающего количества наследственных единиц на специфические и ограниченные определенным диапазоном химические раздражения указывают, что у данного живого существа разные гены связаны по происхождению друг с другом. При сравнении мутаций разных организмов это еще одно доказательство монофилетического их происхождения или, во всяком случае, указание на сходные первичные аутокаталитические белковые синтезы.

Приношу благодарность П. В. Зимакову и А. И. Королеву, любезно предоставившим многие соединения для описанных опытов.

Институт цитологии, гистологии и эмбриологии
Академии Наук СССР

Поступило
7 II 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. И. Киприанов, Укр. хем. журн., 2, 236 (1926); 4, 215 (1929). ² А. И. Киприанов и Г. И. Киприанов, там же, 6, 93 (1931). ³ И. А. Рапопорт, Бюлл. эксп. биол. и мед., 7, 424 (1939); Журн. общ. биол., 2, 431 (1941). ⁴ И. А. Рапопорт, ДАН, 54, 65 (1946); Журн. общ. биол., 8, 359 (1947); ДАН, 58, 119 (1947). ⁵ J. N. Brönsted, M. Kilpatrick and M. Kilpatrick, J. Am. Chem. Soc., 51, 428 (1929). ⁶ J. R. Busvine, Ann. Appl. Biol., 25, 605 (1938). ⁷ H. L. Fraenkel-Conrat, J. Biol. Chem., 154, 227 (1944). ⁸ J. Northrop, Crystalline Enzymes, 1939. ⁹ T. H. Rider and A. J. Hill, J. Am. Chem. Soc., 52, 1528 (1930).