

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ В 2000 ГОДУ:
ПРОГНОЗЫ, РЕАЛЬНОСТЬ И СНОВА ПРОГНОЗЫ© 2000 г. В. Т. Иванов, Ю. А. Берлин[#]

История цивилизации – это в немалой степени история предвидений, предсказаний, пророчеств. Предсказывалось появление мессии и наступление судного дня, тысячелетнее существование третьего рейха и всемирное торжество коммунизма. Как правило, предсказания облакаются в предельно невнятную форму, однако порой обещают точные даты четко сформулированных событий. Предпочтительный стиль пророчеств – на сотни и даже тысячи лет; такие сроки даже Мафусаила способны избавить от прижизненного реприманда. Не каждый решится предсказывать на десятилетия и тем более на годы – когда час пробьет, вполне возможно, будет еще с кого спросить. На это решился Фрэнсис Крик, и, к счастью, мы все еще можем призвать к ответу нашего выдающегося современника.

Тридцать лет назад в “Nature” была опубликована его статья под интригующим названием “Молекулярная биология в 2000 году”, написанная по материалам его выступления на конференции, посвященной столетию этого всемирно известного журнала. Удивительно, что судьба выбрала для криковских пророчеств именно 1970 год. Этот год вполне можно назвать годом “великого перелома” в молекулярной биологии, по крайней мере в ее методическом оснащении. В тот момент не существовало практически ничего из того, что определяет ее нынешние возможности. Хотя некоторые успехи в секвенировании РНК уже были достигнуты, первичная структура ДНК представлялась совершенно недоступной. Лишь забрезжила заря эры направленной манипуляции с молекулами ДНК в виде первых ласточек – рестриктаз. Еще не начались опыты по молекулярному клонированию *in vivo*, а до полимеразной цепной реакции было бесконечно далеко. Словом, не было не только света в конце тоннеля – не подозревали даже о существовании самого тоннеля. Перед Криком лежала почти чистая доска.

Нужно сказать, что ретроспективно предсказания нередко вызывают у многих стоящих у истока срока острый приступ высокомерной снисходительности. Как-то забывается, на чьих плечах мы располагаемся с таким комфортом. Крик

безусловно принадлежит к тем гигантам, с плеч которых видно намного дальше, чем с земли. Слегка перефразируя слова одного неординарного политика, можно сказать: “Тридцать лет ждали мы, люди старшего поколения, этого часа”. Часа, когда можно будет оглянуться на уже прошедшее тридцатилетие, увидеть, на что способна интуиция одного из крупнейших ученых минувшего столетия, и в который раз восхититься стремительным развитием науки, опережающим самые жизнерадостные прогнозы. Это также прекрасный повод к тому, чтобы отодвинуть границу прогнозируемого развития молекулярной биологии еще на несколько десятилетий.

Наш журнал пригласил российских исследователей принять участие в таком обсуждении. В настоящем выпуске публикуются высказывания тех, кто счел возможным откликнуться на это приглашение. Как единодушно отмечают авторы, при написании этой статьи Крик, разумеется, прекрасно понимал, что от опрокинутого в будущее суждения о науке ждать достоверности можно лишь в том случае, когда это не более чем экстраполяция. И даже при этом нередки серьезные ошибки, примеры которых он приводит. Открытия же в полном смысле слова – это квинтэссенция неожиданности; они непредсказуемы в принципе, и в этом их очарование. Можно, однако, говорить о тенденциях. Именно это сделал в своей статье Крик. Именно об этом ведут речь авторы настоящего выпуска.

Обсуждая достижения молекулярной биологии, обычно говорят о структурно-аналитических аспектах исследований, забывая о синтезе. Синтезе не в логическом, а в биохимическом и даже в химическом смысле. У Крика о синтезе ни слова. Казалось бы, ничего удивительного – слишком далека органическая химия от его научных интересов. И все же это озадачивает: ему лучше, чем многим другим, была известна та важная роль, которую синтетические олиго- и полинуклеотиды сыграли в становлении и развитии молекулярной биологии. Возможно, он, как впрочем и все остальные в то время, когда создавалась его статья, был загипнотизирован труднодоступностью этих соединений и не мог вообразить того скачка

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 330-67-38; e-mail: yuber@ibch.ru).

в эффективности, который предстоял нуклеотидному синтезу.

Между тем тесное взаимодействие зарождавшейся молекулярной биологии и нуклеотидного синтеза, делавшего свои первые шаги, началось еще в самом начале 60-х годов в ходе расшифровки генетического кода. Сначала любое вмешательство химического синтеза в молекулярную биологию было событием исключительным не только по эффекту, но и по трудоемкости. Созданием самой возможности искусственного синтеза олиго- и полинуклеотидов мы целиком обязаны Гобинду Коране, который на этом пути сумел преодолеть множество химических трудностей и всеобщий скептицизм. 60-е и начало 70-х годов были периодом фосфодиэфирного синтеза, который позволил взломать целину в этой области и добиться выдающихся результатов, но был непригоден для широкого использования из-за своей удручающей неторопливости: средняя скорость наращивания олигонуклеотидной цепи составляла звено в месяц. При этом олигонуклеотидный синтез был искусством, требовавшим высокой химической квалификации и почти противоестественного трудолюбия. Этот начальный период бури и натиска завершился химико-ферментативным синтезом структурного гена аланиновой тРНК дрожжей – событием, которое далеко не все тогда оценили по достоинству. Для скудных методических возможностей того времени это был феноменальный *coup de force*, потребовавший пятилетних усилий группы высококвалифицированных химиков и биохимиков под руководством Кораны, чтобы быть выполненным, и целого номера *Journal of Molecular Biology*, чтобы быть описанным. Шокированный последним обстоятельством, журнал *Nature New Biology* устами своего рецензента заявил: «Подобно проекту “Аполлон”, все это сделано лишь для того, чтобы показать, что это можно сделать, и, как и этот проект, никогда не будет повторено». Столь бездарно не пророчат даже синоптики: последующие годы принесли множество искусственных синтезов такого рода, причем во многих из них использовались основополагающие разработки Кораны. Протагонистом противоположной точки зрения явился Артур Корнберг, который сказал, обращаясь к Коране: “То, что Вы сделали, – это атомная бомба 1980 года”.

Лишь в начале 70-х, с появлением фосфиттриэфирного метода, темпы синтеза начали расти, постепенно превращая получение олигомера из экстраординарного в тривиальное событие. Принципиальное изменение химии синтеза сопровождалось еще одним изменением – инструментальным, последствия которого для общей ситуации в молекулярной биологии были огромны. Речь идет о синтезе на полимерном носителе (принцип, заимствованный из химии пептидов и

белков) и его автоматизации, что позволило почти целиком доверить его машине. На протяжении 70-х годов продолжалось совершенствование химии синтеза, которое в начале 80-х привело к революционному переходу к амидофосфитному методу, использующему высокорекреакционные соединения трехвалентного фосфора. Благодаря этому скорость синтеза и его эффективность возросли невероятно. Прежний традиционно месячный цикл превратился в несколько минут на звено, а суммарный выход олигомера приблизился к количественному. По существу синтез больше не нуждается в усовершенствованиях, исправно поставляя молекулярным биологам неограниченное число олигонуклеотидов заданной структуры. Ничто не характеризует современную ситуацию в олигонуклеотидном синтезе так ярко, как то, что его теперь в состоянии провести даже биологи, обычно мало способные к органикохимическому эксперименту. Можно сказать, что молекулярная биология прочно сидит на игле олигонуклеотидного синтеза, и лишь постоянные вливания праймеров и зондов предохраняют ее от комы.

Наступил момент, когда проблема олигонуклеотидного синтеза просто перестала существовать, что, впрочем, относится лишь к исследовательской сфере. Огромный спрос на олигонуклеотиды связан с их потенциальными фармакологическими возможностями как антисмысловых и антигенных препаратов. В этой области усилия по усовершенствованию методологии и технологии синтеза продолжают. Речь идет о совершенно иных масштабах: потребности в веществах этого класса исчисляются многими килограммами, а исходные мономеры – тоннами, что еще не так давно казалось столь же немислимым, как и путешествие к звездам. В такой ситуации каждый дополнительный процент выхода приобретает существенное значение, хотя большая часть усилий такого рода скрыта от широких химических масс в фирменных отчетах. Гигантские вложения в эту область просто не могут не привести в ближайшие годы к прорыву в фармакологии нового поколения.

Все это далеко не исчерпывает значение синтеза нуклеотидов для молекулярной биологии. Нельзя забывать, например, о том, что В-структура ДНК, сформулированная Уотсоном и Криком в 1953 г., на протяжении десятилетий оставалась на уровне полуколичественной гипотезы, пока наконец не была доказана рентгеноструктурным анализом синтетического 12-звенного дуплекса, выполненным Р. Дикерсоном с сотрудниками в конце 70-х. Отдавая должное кристаллографам, необходимо помнить и о тех, кто сделал возможным получение самого объекта, рассеявшего не только X-лучи, но и сомнения в достоверности предполагаемой структуры.

Необходимо сказать и о модифицированных олигонуклеотидах. Именно соединения этого класса произвели переворот в секвенировании нуклеиновых кислот. С ними связана реализация общей концепции терминаторов полимеризации, лежащей в основе метода Сэнгера, и использование флуоресцентно меченных терминаторов и праймеров, что сделало возможным электрофоретическое разделение продуктов полимеризации в протоке и в результате коренным образом преобразовало технологию и темпы секвенирования. Первое же десятилетие века станет свидетелем такого прогресса в секвенировании ДНК, который закроет и эту проблему. Высокоэффективные методы разделения в сочетании с экспресс-методами секвенирования (наибольшие надежды связываются с масс-спектрометрией) ускорят процесс секвенирования еще порядка на два, что позволит сводить счета со средним эукариотическим геномом в течение недель.

Говоря о роли химического синтеза в развитии молекулярной биологии, было бы несправедливо обойти молчанием прогресс в области синтеза пептидов и белков. И хотя прошли те времена, когда в начале века под впечатлением пионерских работ Эмиля Фишера Геккель на собрании Немецкого общества естествоиспытателей воскликнул: "Когда вы, химики, сделаете правильный белок, то он закопошится", а газеты того времени публиковали дружеские шаржи с сосисками и колбасами, выскакивающими из реторт и колб, возможность искусственного получения сложных пептидно-белковых субстанций и их аналогов служила и служит мощным инструментом для изучения молекулярных механизмов работы живых систем. К 1970 г. уже не был новинкой синтез пептидных гормонов, состоящих из 30 и даже 50 а. о. (например, 39-членный кортикотропин или 51-членный инсулин), и уже взорвал размеренный ритм развития классического пептидного синтеза Меррифилд своим твердофазным методом, за что получил в 1984 г. Нобелевскую премию. Быстро становился реальной задачей синтез пептидов с любой аминокислотной последовательностью, тем более что уже вошла в обиход высокоэффективная жидкостная хроматография, позволяющая выделять целевой продукт из сложных реакционных смесей. Крик об этом не говорит, поскольку, как уже упоминалось, вопросы синтеза были далеки от его научных интересов. Но сегодня, когда все без исключения компоненты живой клетки в принципе подвластны синтезу, вполне правомерна постановка задачи искусственного создания, т.е. химического синтеза не веществ, а существ – для начала простейших вирусов, а там, если потребуется, то и бактерий.

Правда, для этого потребуется преодолеть серьезный барьер, о котором не упоминают ни Крик, ни авторы настоящего выпуска. Речь идет

о формировании пространственной структуры белков независимо от способа их получения – матричным рибосомальным синтезом или по Меррифилду. К 1970 г. Анфинсеном и его последователями было показано, что первичная структура белка каким-то образом предопределяет, кодирует его пространственную структуру, которая обеспечивает разнообразие свойств белка, в том числе и его биологическую функцию. Однако законы, описывающие связь между первичной и пространственной структурой, т.е. законы сворачивания, фолдинга, оставались за кадром. Не установлены они и по сей день, несмотря на огромное число работ в этой области. Более того, все чаще слышатся предположения, что сама по себе первичная структура белка – необходимое, но не всегда достаточное условие для его правильного сворачивания. В фолдинге могут решающим образом принимать участие все компоненты, включенные в процесс и находящиеся вблизи сходящего с рибосомы полипептида – и мембрана саркоплазматического ретикулума, и лидерные участки белка, и помощники – шапероны. Позволим себе высказать предположение, переходящее в уверенность, что проблема фолдинга уже созрела настолько, что для ее решения не потребуется и половины следующего 30-летнего срока.

Из методических прорывов минувших десятилетий наиболее плейотропна полимеразная цепная реакция, справедливо отмечаемая многими авторами этого выпуска. Формулируя на грани богохульства, можно сказать, что эта реакция обладает двумя божественными свойствами: она вездесуща и всемогуща. Характерно, что фактически она была разработана еще в 60-е гг., но, подобно законам Менделя, оставалась не востребованной из-за отсутствия соответствующих условий. И лишь в 80-е гг., после того как проблема олигонуклеотидного синтеза была окончательно решена, наступил подходящий момент для вторичного открытия этой реакции, быстро завоевавшей молекулярную биологию, генетику и медицину.

Экспоненциальный рост объема информации о клеточных структурах, прежде всего о первичной структуре нуклеиновых кислот и белков, ничего не дал бы страждущему человечеству, если бы не компьютерные способы ее обработки. Миллиарды бит, с которыми приходится оперировать на уровне первичной структуры эукариотических геномов, составляют величину, с которой невооруженный человеческий мозг не в состоянии справиться даже в варианте простого перечисления (достаточно вспомнить, что миллиард секунд, который потребовался бы для считывания последовательности одного из геномов, составляет 70 лет).

Однако простое хранение информации далеко не исчерпывает возможности и функции биоинформатики. Большое развитие получила сравнительная геномика, хотя при этом не обходится без издержек. Огромные возможности секвенирования и доступность экспериментальных данных во всемирном масштабе породили массу комфортабельных экологических ниш. В основе этой стратегии лежит уже известная (полностью или частично) нуклеотидная последовательность какого-либо генома и стандартное представление о взаимосвязи структурного и функционального родства генов у филогенетически близких и даже далеких организмов. Существующие методические возможности позволяют выбрать любой ген в известном геноме и с помощью ПЦР-анализа безболезненно перейти от него к структуре ортологичного гена в другом (чаще всего, родственном) организме. Сама ортологичность обычно просто постулируется, но при искусном изложении требуются усилия, чтобы это обнаружить. Поскольку число видов флоры и фауны, несмотря на все усилия человечества, все еще исчисляется многими миллионами, фронт работ “по аналогии” обеспечен на тысячелетия.

Пока что сравнительная геномика пребывает в состоянии эйфории от обрушившихся на нее возможностей. Это выражается прежде всего в высоком уровне шума – обилии мало обоснованных структурных и функциональных аналогий, не имеющих гносеологической ценности. По всей вероятности, этот аналог кори будет недолговечным, и научное сообщество снова вспомнит о старинном наставлении “*In dubio abstine*” (“При сомнении воздержись”). Будучи свидетелями тех темпов, которыми развивается компьютерная техника и ее программное обеспечение, можно с уверенностью сказать, что это не станет узким местом в прогрессе науки.

Своей высокой эффективностью молекулярно-биологические исследования в немалой степени обязаны ее “китизации”. Еще в 70-е годы, не говоря уже о более ранней эпохе, почти все, в чем нуждались биохимики, производилось тут же, в лаборатории, прежде всего ферменты и субстраты, включая меченые. Выбор коммерчески до-

ступных материалов сводился в основном к узкому кругу носителей для хроматографии и электрофореза. В последующие годы блестящие разработки в изобилии возникших мелких и крупных компаний обрушили на исследователей лавину возможностей – бездну новых методов и методик, позволили стандартизовать буквально все разнообразие процедур, так что необходимым и достаточным условием успешного выполнения эксперимента оказывается, помимо необходимых наборов, наличие микропипетки, функционально активного большого пальца одной из рук и умения извлечь из набора пробирку с нужным номером. Коммерчески доступными становятся не просто любые вещества, материалы и их полностью готовые разнообразные комбинации, но и сами методы – выделим, проанализируем, компьютерно обрабатываем. Кстати, в дидактическом плане все это червато издержками: уже сейчас многие плохо представляют себе проводимые ими реакции и даже просто состав реакционной смеси. Однако эффективность важнее, и такая тенденция будет только усиливаться. Впереди у нас возможность провести огромное экспериментальное исследование полностью чужими руками, а может быть и головами – так сказать, предельная экстраполяция благодарности за техническое содействие и полезное обсуждение.

Редакция благодарна авторам выпуска за участие в его создании. Не сговариваясь, они удивительным образом избежали одних и тех же, пусть даже вполне очевидных суждений по поводу обсуждаемой статьи Крика. Более того, как читатель увидит, даже общая оценка достоверности предсказаний варьирует от явного скепсиса до почти восторженного признания пророческого дара Нобелевского лауреата. Не менее разнообразны и – пусть достаточно робкие, но все же вполне убежденные – суждения авторов о развитии нашей науки в ближайшие десятилетия.

Науку двигают методы и увенчивают теории. Прорывы минувших десятилетий сделали молекулярную биологию методически почти всемогущей. Будущее покажет, достаточно ли этого, чтобы сбросить покровы с тайны живого.