



УДК 577.2

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ ОТ 1970 ДО 2000 И ДАЛЬШЕ

© 2000 г. Л. Л. Киселев

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 117984, Москва, ул. Вавилова, 32

Прежде всего хотел бы поблагодарить главного редактора журнала В.Т. Иванова за прекрасную идею сравнить то, что было в 1970 году предсказано о молекулярной биологии 2000 года, с тем, что произошло на самом деле, а затем попытаться дать новый прогноз.

Эта тема имеет как бы несколько углов зрения, или точек отсчета. Можно повторить опыт Ф. Крика и предсказать “Молекулярную биологию – 2030”, можно сравнить, в чем ошибся великий предсказатель и в чем он был прав, можно обсуждать те аспекты проблемы, которые вообще не затрагивались в статье Ф. Крика. Поскольку Ф. Крик относится к тем очень немногочисленным ученым XX века, чья гениальность никем не ставится под сомнение, то, естественно, прогноз такой незаурядной личности вызывает особенно острый интерес и повышенное внимание.

Любые прогнозы в фундаментальной науке – вещь достаточно рискованная, потому что, как правило, реальные достижения оказываются значительнее ожидаемых. Только один пример из истории отечественной науки. На Всесоюзном Менделеевском съезде в 1959 году в Москве один из основателей российской молекулярной биологии, В.А. Энгельгардт в блестящем пленарном докладе, говоря о выдающихся достижениях молодой науки, упомянул о генетическом коде и высказал мысль, что это труднейшая проблема, которая будет решена скорее всего лет через 50. Ирония судьбы состояла в том, что спустя всего 2 года (!) в том же самом Актовом зале МГУ на Ленинских (Воробьевых) горах, где проходил Менделеевский съезд, состоялся Всемирный биохимический конгресс, где Ф. Крик вне повестки дня предоставил слово М. Ниренбергу, который рассказал о том, что если к рибосомам добавить poly(U), то образуется полифенилаланин. Это было начало расшифровки кода, которая полностью завершилась буквально за 2–3 года. В то время я, молодой сотрудник Института радиационной физико-химической биологии АН СССР (ныне ИМБ РАН), работал на конгрессе синхронным переводчиком и переводил выступление М. Ниренберга на русский. Эпохальное открытие

было сделано несравненно быстрее, чем ожидалось.

В прогнозе Ф. Крика есть достаточно тривиальные утверждения, которые, вероятно, разделялись многими, например, что биологические исследования будут выполняться множеством людей в массовых масштабах. Столь же очевидно утверждение, что в молекулярной биологии будут появляться новые методы и инструменты. Некоторые предсказания не подтвердились, например, о “насыщении” финансирования биологических исследований (на самом деле идет непрерывный рост в наиболее развитых странах), не подтвердилось предположение о большом вкладе Китая в будущие исследования.

Характерно, что Ф. Крик отдельно отмечает вклад СССР и Японии в молекулярную биологию в 1970 году. За прошедшие 30 лет Япония превратилась в одного из мировых лидеров молекулярной биологии, встав в один ряд с Германией, Англией и Францией. За эти же годы СССР и Россия резко откатились назад, год за годом непрерывно утрачивая завоеванные в прошлом высокую репутацию и несомненные достижения. Вместе с тем число исследователей с российскими фамилиями, публикующиеся в международных журналах, не уменьшилось, но эти работы выполнялись уже не в России, а за ее пределами.

Пожалуй, особенно интересно посмотреть, **что не было предсказано Ф. Криком.** С моей точки зрения, самое поразительное, ни слова не говорится о выдающихся достижениях 1970–2000 годов, которые связаны с ДНК и поэтому должны были бы быть особенно близки Ф. Крику. Прерывистая структура генов – сплайсинг – один из основных процессов, изучавшихся в молекулярной биологии 70–90-х годов (отмечен Нобелевской премией), открытие обратной транскрипции (РНК → ДНК) (Нобелевская премия Д. Балтимора и Х. Темина), сделанное в том самом году, когда Ф. Крик опубликовал свой прогноз, открытие белковой наследственности (две конформации белка, передающиеся эпигенетически, минуя ДНК и РНК, из клетки в клетку при размножении прионов – Нобелевская премия С. Прузинера, 90-е годы). Наконец, самое главное, ни слова не говорится о раскрытии химической структуры

(нуклеотидной последовательности) наследственных аппаратов бактерий, животных, растений, человека. Между тем, 2000 год – пик достижений геномики: известны геномы сотен (!) бактерий, нематоды, арабидопсиса, дрозофилы, наполовину известен геном человека, а финиш этой программы – дело уже не лет, а месяцев. Обо всем этом в статье Ф. Крика ни слова...

Я привел только примеры, которые касались областей молекулярной биологии, близких Ф. Крику и профессионально, и по кругу научных интересов. Было бы интересно понять, почему эти предсказания (хотя бы частично) не были сделаны. Я могу предполагать две причины: Ф. Крик не хотел давать достаточно конкретных формулировок, опасаясь ошибиться и, второе, будучи в то время полностью поглощен двумя волновавшими его проблемами – происхождением жизни и принципами функционирования нервной системы он в своей “прогнозной” статье не сфокусировался, не сконцентрировался настолько, чтобы предсказать выдающиеся открытия, вскоре последовавшие за прогнозом. Непредсказание прерывистой структуры генов, мне кажется, связано с любовью Ф. Крика к прокариотам, где эти явления отсутствуют, и уверенностью, что “то, что справедливо для *E. coli*, справедливо и для слона” (афоризм, приписываемый Ж. Моно). Непредсказание обратной транскрипции, последовавшее буквально через несколько месяцев после статьи Ф. Крика, показательно, так как было достаточно экспериментальных наблюдений, которые указывали на такую возможность. Здесь, мне кажется, проблема лежит в психологической плоскости – Ф. Крик, сформулировавший центральную догму (ДНК → РНК → белок), основу всей молекулярной биологии того времени, не хотел классическую простоту этой схемы омрачать обратной стрелкой (ДНК ← РНК). После открытия обратной транскрипции Ф. Крик поспешил разъяснить, что новое открытие не подрывает центральной догмы, а просто ее расширяет. Это справедливо, но было бы намного интереснее, если бы обратная стрелка была введена Ф. Криком в формулировку центральной догмы до открытия обратной транскриптазы (ревертазы).

Непредсказание ревертазы особенно удивительно еще и потому, что именно Ф. Крик является единоличным автором адапторной и wobble-гипотез белкового синтеза, согласно которым между аминокислотами, собирающимися при биосинтезе белков в полипептидную цепь, структура которой кодирована матричной рибонуклеиновой кислотой, должна быть молекула-посредник, адаптор, который может “читать” более одного кодона. С моей точки зрения, эти гипотезы (подтвердившиеся открытием тРНК) были гораздо более неожиданными, революционными, чем предска-

ние (несостоявшееся) о переписывании линейной информации из РНК в ДНК, когда уже был хорошо известен синтез ДНК по ДНК и РНК по РНК.

Итак, в одном случае – адапторная/wobble-гипотеза – нетривиальное, неординарное, “нелогичное” пророчество, в другом – упущенная возможность логического предсказания. Логику и интуицию в науке сложно анализировать, тем более это особенно трудно, когда речь идет о гениальных ученых.

Ф. Крик отмечал, что молекулярная биология непрерывно заимствует методы физики и химии и что эти тенденции, вероятно, сохранятся. Действительно, последние 3 десятилетия ознаменованы новыми технологиями и методами, которые определили не только прогресс прошедших десятилетий, но и ближайшего десятилетия. Вспомним о наиболее поразительных методических достижениях.

Прежде всего, как это ни покажется странным, в 1970 году не существовало геной инженерии, хотя все предпосылки к ее возникновению были уже созданы. Ф. Крик ни словом не упоминает об этой методической революции, последовавшей в 70-е годы, достигшей массового распространения в 80-е годы и виртуозного совершенства и практически безграничного применения в 90-е годы. Я убежден в том, что для такой личности, как Ф. Крик, это должно было быть первым и главным предсказанием. Может быть, ослепление физическими методами (рентген, ЯМР, электронная микроскопия), а также физическое прошлое Крика помешали сформулировать этот очевидный прогноз.

Следующей вехой методической революции в молекулярной биологии я бы назвал создание метода размножения ДНК в пробирке с помощью цепной полимеразной реакции (PCR). Конечно не случайно, что и генетическая инженерия, и PCR вскоре после своего появления стали лауреатами Нобелевских премий, разумеется, не сами технологии, а их создатели.

1970-е годы (опять спустя всего 5–7 лет после прогноза Ф. Крика) стали эпохой еще одной методической революции – были созданы два метода секвенирования ДНК (Максам–Гилберт и Сэнгер – конечно, тоже Нобелевская премия), что, наконец, превратило ДНК и РНК из объекта биологического в объекты, имеющие точную химическую структуру – нуклеотидную последовательность.

Интересно, что все перечисленные методические прорывы были обеспечены либо чисто энзимологическими средствами (геной инженерия, синтез генов через обратную трансляцию, PCR), либо сочетанием энзимологии и химии (секвенирование ДНК). Мне кажется, что самая главная

ущербность прогноза Ф. Крика состояла именно в недооценке биолого-химических методов как решающих орудий молекулярной биологии в наступавших десятилетиях.

А что же стало с физическими методами, на которые Ф. Крик возлагал столь большие надежды? Конечно, здесь произошли фундаментальные изменения, которые логически вытекали из все возрастающего применения этих методов в молекулярной биологии. Только несколько примеров. Рентгеновское оборудование в сочетании с совершенными компьютерными программами сделали установление трехмерной структуры белков и нуклеиновых кислот рутинной задачей, доступной любой лаборатории, имеющей достаточно денег, чтобы купить соответствующие приборы. Даже в тех случаях, когда биополимер не кристаллизуется, современный ЯМР позволяет во многих случаях установить его структуру в растворе. Поразительные результаты дала криоэлектронная микроскопия – из-за дороговизны оборудования недоступная российским ученым, позволившая совершить прорыв в изучении рибосом и понимании биосинтеза белков, который происходит в этих частицах.

Фантастические возможности открывает новая масс-спектрометрия, которая оперирует с ничтожными количествами вещества и обладает невероятной точностью. Идентификация белков сейчас будет базироваться именно на этом методе.

Отдав должное новациям в физических подходах, используемых в молекулярной биологии, хочется вернуться к биохимическим технологиям. На мой вкус, самой поразительной биологической техникой последнего десятилетия стали дрожжевые и бактериальные двугибридные и трехгибридные системы, которые позволяют выявить взаимодействия между биополимерами (белки между собой, белки и нуклеиновые кислоты) *in vivo*. Применение этого метода может быть масштабировано настолько, что, например, реально просмотреть все взаимодействия между дрожжевыми белками (в дрожжах приблизительно 6000 генов кодируют белки). Такая работа уже проделана, и в ней выявлено по крайней мере 1000 межбелковых взаимодействий [1]. Возможности совершенствования этих систем и их применения к самым разным объектам и задачам еще очень и очень далеки от исчерпания.

Сейчас очевидно, что перестало быть проблемой узнать первичную структуру гена, но все еще остается проблемой, как узнать его функцию. Не случайно в расшифрованных сейчас геномах нематоды (~19 тысяч генов) или дрозофилы (~13 тысяч генов) много больше половины всех генов имеет неизвестные нам функции.

Последнее десятилетие было эрой “нокаутов” – техники, позволяющей выводить из строя заранее выбранный ген, а затем смотреть, как это скажется на организме. Хотя метод достаточно сложен для млекопитающих, тем не менее его широко применяют и большинство новых генных функций выяснено именно с помощью “нокаутов”.

В последнее время стремительно растет популярность метода, называемого РНК-интерференцией, сокращенно РНК-И [2]. Суть явления, механизм которого пока изучен очень слабо, состоит в том, что двуспиральные РНК определенной структуры (например, структурно совпадающие с кодирующей частью какого-либо гена или с 3'-концом соответствующей мРНК определенного белка) ингибируют экспрессию этого гена *in vivo*, а иногда и *in vitro*. Это широко распространенное в природе явление (по-видимому, от бактерий до млекопитающих) может эффективно использоваться для идентификации новых генов и выяснения их функциональной роли. Хотелось бы подчеркнуть, что это также чисто биологический метод.

После фрагментарного обзора некоторых методических революций в молекулярной биологии последних трех десятилетий я перейду к самой трудной и опасной части этой статьи – попытке, отталкиваясь от сегодняшнего дня, прогнозировать события ближайших одного–двух десятилетий. Если попытка такой личности как Ф. Крик, опередить время на 30 лет была, как мы видим, в значительной мере неэффективной, то такая попытка будет еще более неточной сейчас, когда биология на рубеже веков меняет по существу свои основы, а не отдельные разделы.

Напомню модные слова, звучащие не только со страниц специальной, но и широкой прессы. “Геномика, протеомика, биоинформатика, биомедицина, фармакогеномика” и так далее. Речь идет о том, что благодаря расшифровке геномов множества бактерий и уже многих эукариот (на очереди человек) генетика (признак → ген) превратилась в геномику (ДНК → белок → признак). Причем именно в указанном направлении, т.е. в то, что называют обратной генетикой (об этом более подробно можно прочитать в обзорах [3, 4]).

Вопрос состоит в том, чтобы понять, как познание химического строения наследственной информации скажется на биологии в целом.

Прежде всего, я думаю, что в 2010–2020 годах закончится тот процесс, который сейчас наблюдается, а именно, слияние молекулярной биологии и клеточной биологии. Уже сейчас часто невозможно классифицировать работу и отнести ее к одной из этих ветвей биологии. Широкое хождение имеет гибридный термин “молекулярная



биология клетки". Молекулярная биология все меньше будет заниматься разрозненными генами и белками в изолированном состоянии и все больше будет характеризовать клетки глобально, интегрально, например, характеризовать весь набор белков, синтезированных в клетке на данной фазе ее жизни, или весь набор РНК на этой же фазе. Экспрессия генов будет изучаться как глобальный феномен, характеризующий клетку и ее ответы на физиологические и патологические воздействия.

Короче говоря, если вспомнить о терминологии, которую любил использовать В.А. Энгельгардт, произойдет существенный сдвиг в соотношении интегратизма и редукционизма в биологии в пользу первого. В XX веке здесь, бесспорно, доминировал редукционизм и практически все успехи, которыми так богата молекулярная биология уходящего века, достигнуты на путях предельного редукционизма, упрощения сложных явлений и систем.

Интегратизм биологии XXI века означает, что ответ на нерешенные в прошлом проблемы будут искать не путем изолированного изучения отдельных генов или генных продуктов, а через анализ интегральных ответов клетки на то или иное воздействие или состояние. Сейчас становится все яснее, что ответ клетки на сигнал (например, воздействие биорегулятора на рецептор, появление низкомолекулярного биорегулятора в окружающей клетку среде и т.д.) носит всегда многозвенный характер: отвечает не один ген, а множество, подчас самых неожиданных и внешне не связанных с исходным воздействием. Раковая клетка отличается от породившей ее нормальной клетки по огромному числу экспрессирующихся генов. Попытки понять, допустим, ответ клетки на ростовой фактор через анализ отдельных генов, как показал опыт, не ведут к полному пониманию механизма клеточного ответа. Очевидно, что многочисленные проблемы такого рода должны решаться через анализ всей совокупности работающих генов и всей совокупности функционирующих в клетке белков на данный момент времени или в данном состоянии. Раньше не существовало технологий, которые позволяли бы смотреть интегральный ответ клетки. Теперь такие технологии уже созданы и стремительно совершенствуются.

То обстоятельство, что успехи молекулярной биологии не столь решительно сказались в таких областях, как, например, биология развития, во многом связано именно с тем, что только интегральный подход – анализ тысяч генов, а не единиц – действительно ведет к пониманию закономерностей эмбриогенеза, дифференцировки и других составляющих биологии развития. Путь от оплодотворенной яйцеклетки до взрослого организма –

это непрерывная смена программ, где работа одних генов сменяет работу других, и параллельно этому непрерывно меняется набор белков. Конечно, счет идет на тысячи, и методы классической молекулярной биологии здесь бессильны. Однако новые технологии дают возможность получать картины, где можно следить за одновременными изменениями в активности тысяч генов и следить за присутствием или отсутствием в клетке тысяч белков [5].

Переход в рамках эукариот от одноклеточности (дрожжи) к многоклеточности (нематода, дрозофила) сопровождается увеличением числа генов в 2–3 раза (от 6 тыс. до 13 тыс. (*D. melanogaster*) и 19 тыс. (*C. elegans*)). Это в первом приближении означает, что для обеспечения “правильных” межклеточных взаимодействий требуется намного больше генов, чем для жизни одиночной эукариотической клетки. Естественно, что в рамках классической молекулярной биологии проблема не поддается решению, но в ближайшие годы молекулярные основы межклеточных коммуникаций в процессе развития станут объектом интегрального подхода.

Многие проблемы вирусологии, особенно в случае крупных вирусов животных, остались нерешенными прежде всего потому, что вирусная инфекция затрагивала такое количество генов животной клетки, которое не могло быть охарактеризовано. Интегральный подход (анализ всей совокупности и клеточных и вирусных генов) и здесь радикально изменит уровень понимания взаимодействия вирус–клетка.

В развитии интегратизма, который идет на смену редукционизму, огромную роль призвана сыграть новая технология – биологические микрочипы – позволяющая на ничтожном пространстве в несколько квадратных сантиметров анализировать тысячи молекул, например, функционирование тысяч генов [6, 7].

Неузнаваемо изменится теория эволюции. Если в XIX веке она основывалась главным образом на анатомо-морфологических признаках, а в уходящем веке произошел переход к геносистематике, то наступающий век принесет с собой новую теорию эволюции, основанную на прямом сопоставлении геномов разных групп организмов и их протеомов. Исходный материал для такой теории стремительно накапливает биоинформатика.

Биомедицина – продукт интеграции новой биологии и нерешенных проблем медицины – станет одной из основных ветвей естествознания будущего века, где теоретические представления будут наиболее тесно смыкаться с практическими приложениями. Биомедицина станет одной из основ будущей биотехнологии, которая заменит со-

бой многие отрасли химической, пищевой и фармацевтической промышленности.

Заканчивая эти заметки, хочется напомнить, что главная прелесть и главная притягательная сила подлинной науки – в ее непредсказуемости, в ее неожиданности. Подлинно крупные открытия всегда внезапны, их можно предчувствовать, но нельзя предвидеть. В 70-х годах казалось, что молекулярная биология стала классической наукой с определившейся основой. Сейчас, спустя 30 лет, нам этого уже не кажется. Напротив, ожидание неожиданностей стало еще острее, чем было в ушедшие 30 лет. Сюрпризы обязательно будут продолжаться, и это не может не радовать всех нас.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Uetz P., Giot L., Mansfield T. et al.* // Nature. 2000. V. 403. P. 623–627.
2. *Bosher J.M., Labouesse M.* // Nature Cell Biol. 2000. P. E31–E36.
3. *Свердлов Е.Д.* // Молекул. биология. 1999. V. 33. P. 917–940.
4. *Киселев Л.Л.* // Вестник РАН. 2000. V. 70. P. 412–424.
5. *Громов П.С., Целис Х.* // Молекул. биология. 2000. Т. 34 (в печати).
6. *Mirzabekov A.* // Trends Biotechnol. 1994. V. 12. P. 27–32.
7. *Drmanac S., Kita D., Labat I. et al.* // Nature Biotechnol. 1998. V. 16. P. 54–58.