

М. Г. ОГАНЕСЯН

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА—ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ

На долю немногих наук выпало такое стремительное, блестящее и вместе с тем трудное развитие, какое выпало на долю генетики—науки, родившейся всего семьдесят лет назад, но успевшей прочно завоевать центральное место во всей биологической науке. Проследить пятидесятилетнее развитие генетики представляется делом нелегким, и автор невольно рискует быть обвиненным в субъективизме при выборе открытий и достижений, достойных упоминания. Из этих соображений мы выбрали лишь новейшую генетику—молекулярную генетику, работы же предыдущих лет упоминаются лишь постольку, поскольку они предвосхищают последующие открытия или подготовили почву для них. При этом освещаются достижения при решении кардинальных проблем молекулярной генетики.

Во все времена развития генетики в центре ее внимания стояли и сейчас стоят три важнейшие проблемы:

1. Проблема гена.
2. Проблема мутаций.
3. Проблема рекомбинаций.

Проблема гена. Термин ген был предложен Бэтсоном в начале нашего века для обозначения элементарной единицы наследственности. Предполагалось, что ген является единицей функции (наследственности), рекомбинации и мутации (изменчивости) [2].

Представления о том, что геч биологически неделим, функционально однозначен и мутирует целиком без существенных изменений продержались до начала тридцатых годов, когда работами советских генетиков (А. С. Серебровский, Н. П. Дубинин, И. И. Агол, Б. Н. Сидоров, Г. Г. Фризен, С. Г. Левит, Л. В. Ферри, Н. О. Шапиро и др.) было открыто явление ступенчатого аллелизма и на его основе создана так называемая «центровая теория гена» [8].

Вторым открытием, пошатнувшим укоренившиеся представления о триединстве гена, было открытие эффекта положения А. Стертевантом в 1925 г., развитое затем в работах Ф. Г. Добжанского, Н. П. Дубинина, Б. Н. Сидорова и др. (1935—1940 гг.).

Позже К. Оливер, М. Грин, Д. Люис, Г. Понтекорво на «стыке» ступенчатого аллелизма и эффекта положения открыли явление псевдоаллелизма [2].

В этой серии работ было показано, что ген имеет сложное строение и может участвовать в процессах мутаций и рекомбинаций не только целиком, но и частями. Хотя эти работы явились опорой для более поздних исследований по выявлению тонкого строения гена, в них, тем не менее, ставился вопрос не о молекулярной структуре гена, а о его формальной организации. Наиболее существенный вклад в развитие молекулярных представлений о гене был сделан Н. К. Кольцовым (1929—1935 гг.), в известной работе которого «Наследственные молекулы» [4] содержались две фундаментальные идеи, получившие развитие и подтверждение в более поздних исследованиях по молекулярной генетике.

Первая из них касалась строения самой генной молекулы. В двадцатых годах, когда белковые молекулы казались необычайно сложными в противовес молекулам нуклеиновых кислот (представления о которых были весьма упрощенными), Н. К. Кольцов, как и другие генетики того времени, отдал предпочтение белковым молекулам. При этом он считал, что генома представляет собой пучок длинных белковых молекул, которые состоят из ряда белковых радикалов, связанных между собой. Эти белковые радикалы и есть гены.

Вторая идея касалась механизма самовоспроизведения (ауторедупликации) наследственного вещества. Согласно Кольцову, генная молекула «возникает из окружающего раствора только при наличии уже готовой молекулы, причем соответствующие радикалы помещаются путем аппозиции на те пункты имеющейся налицо и служащей затравкой молекулы, где лежат такие же радикалы» [4].

Хотя перечисленные работы* указывали на сложное строение гена, на те молекулы, из которых он состоит, и во многом предвосхитили последующие блестящие открытия молекулярных генетиков, однако подлинная возможность экспериментальной проверки этих предсказаний появилась только после прихода в генетические лаборатории новых объектов исследований—вначале грибов, затем бактерий и вирусов (в первую очередь—фагов). Только тогда стало возможным установление прямой связи между генетическим и молекулярным строением гена. Бензер, в серии ставших теперь классическими работ, показал, что гены бактериофагов имеют сложное строение. Бензеру удалось показать, что каждое из трех приписываемых гену качеств (мутация, рекомбинация, функция) выполняются частями гена. Так, оказалось, что область г II фага Т4, исследованная Бензером, состоит из двух функциональных единиц, которые определялись цис-транс-тестом (по Люнсу, в модификации для фагов Бензера) и поэтому были названы цистронами. Единицы рекомбинации и мутации соответственно были названы реконом и мутоном [10].

Ко времени работ Бензера было сделано крупнейшее открытие в области не только молекулярной генетики, но и всей молекулярной биоло-

* См. обзор ранних работ в этой области в книге Goldschmidt R. B. „Theoretische Genetik“ Academie—Verlag. Berlin, 1961.

гии в целом—Уотсон и Крик предложили модель строения и редупликации ДНК [11]. Это было существенно, ибо к началу пятидесятых годов было доказано, что молекулами наследственности являются нуклеиновые кислоты, а не белки. В модели ДНК, предложенной Уотсоном и Криком, мы находим подтверждение обеих идей Кольцова: оказалось, что, хотя генома состоит из цепочки нуклеиновой кислоты, а не белка, это действительно цепочка, состоящая из связанных между собой «радикалов»—генов, и способ редупликации действительно матричный; при этом синтез новых молекул идет путем «аппозиции» (комплементарный, матричный, полуконсервативный синтез) на поверхности исходной молекулы-затравки [1].

Естественно поэтому, что Бензер попытался выразить генетические единицы в молекулярных размерах. Согласно проведенным Бензером расчетам, единица функции—цистрон—состоит приблизительно из 1000 нуклеотидных пар. Рекон состоит из 2—5 нуклеотидных пар, а мутон, очевидно, что может иметь такую же верхнюю границу (поскольку единственный способ разделения мутаций—это рекомбинация). Однако позже Тесман разработал метод ультратонкого генетического анализа, который показал, что и мутации и рекомбинации могут происходить между соседними нуклеотидными парами, иными словами, и рекон, и мутон состоят из одной пары нуклеотидов.

Таким образом, за прошедшие пятьдесят лет в генетике произошел пересмотр представлений о структурной и функциональной неделимости гена, подобно тому как ранее это было сделано с атомом в физике.

Однако работы с микроорганизмами позволили не только дробить ген, но и привели к открытию нового типа генетических единиц—сообществ генов, объединенных в функциональные структуры (опероны). Выяснилось, что гены, контролирующие синтез ферментов, которые катализируют единые биосинтетические цепи, функционируют согласованно (координированно). Оказалось, что такая координация возможна благодаря специальной системе организации и регуляции активности генов. Как удалось показать создателям гипотезы оперона Жакобу и Моно, структурные гены (гены, контролирующие биосинтез ферментов) объединены в опероны и находятся под контролем регулирующих генов (ген-оператор, ген-регулятор), которые в зависимости от «сигналов», поступающих из внутри или околоклеточной среды, «запирают» или «отпирают» работу структурных генов, входящих в данный оперон [3].

Прошедшие годы были годами развития наших представлений не только о структуре, но и функции гена. После гипотезы Бидла и Татума «один ген—один фермент» генетика перешла от наивных представлений о генах-ферментах [1], непосредственно катализирующих биохимические реакции, к полной расшифровке генетического кода и механизмов генетического контроля биосинтеза белков, когда ген служит лишь матрицей, с которой считывается информация о составе и последовательности аминокислот в молекуле соответствующего белка-фермента, биосинтез кото-

рого осуществляется сложным аппаратом белоксинтезирующей системы клетки [6].

Таким образом, в настоящее время мы знаем общие молекулярные основы строения и действия гена.

Проблема мутаций. Второй важной проблемой генетики была и остается проблема мутаций, наследственных изменений, обеспечивших эволюцию живых систем на нашей планете. Термин «мутация» был предложен Де Фризом в 1902 г. для обозначения любых наследуемых изменений организмов [5]. За прошедшие полвека наши представления о характере и механизмах мутаций существенно развились.

По мере изменений наших представлений о генетическом материале менялись и представления о механизмах мутаций. С самого начала было очевидно, что мутации это какие-то необратимые изменения структуры гена [4, 5, 7].

Однако до тех пор, пока генетикам приходилось довольствоваться спонтанными мутациями, трудно было ожидать существенных успехов в этой области. Положение в корне изменилось после того, как были получены первые «искусственные» мутации. В 1927 г. на Берлинском конгрессе генетиков Г. Меллер сделал сообщение о мутагенном действии рентгеновских лучей. Несколькими годами позже В. В. Сахаров сообщил о получении мутаций под действием химических соединений. Генетики получили не только орудие изменения гена, но и средство познания самого генетического материала и механизмов его мутирования. Так, например, одним из первых доказательств генетической роли ДНК явилось то, что наибольший мутагенный эффект вызывали ультрафиолетовые лучи с длиной волн, совпадающей с максимумом поглощения ДНК. Использование химических мутагенов позволило, с одной стороны, подтвердить генетическую роль ДНК (например, включение аналогов оснований ДНК вызывало мутации), с другой стороны, расшифровать молекулярные механизмы мутаций [9].

Ранние соображения о молекулярных основах мутаций утратили свое значение, поскольку они исходили из неверной предпосылки—белковой природы генетического материала. Первыми указаниями относительно молекулярной природы мутаций, не утратившими своего значения, следует считать соображения Уотсона и Крика о том, что в основе мутаций могут лежать таутомерные переходы азотистых оснований ДНК с последующей их заменой, что приведет к искажению исходной генетической информации [11].

Современная теория мутаций была создана Э. Фризом в 1959—61 гг. Согласно Фризу, в основе мутаций лежат замены оснований, вставка или выпадение одного или нескольких оснований. Так или иначе, в результате мутации меняется порядок чередования оснований в ДНК (детальное рассмотрение этого вопроса см. [9]). Последующие десять лет подтвердили принципиальную верность теории Фриза [9].

Вторым существенным вкладом в современную мутационную теорию явилось открытие того факта, что в процессе становления мутаций

существенную роль играют специальные ферменты. Вопреки прежним нашим представлениям, за последние пять лет накоплены данные о том, что, с одной стороны, нам удастся выделить лишь ту часть мутаций, которая минует ферментативную систему клетки, с другой стороны, возможно, по крайней мере часть мутантов возникает как следствие «ошибок» этой системы. Пока трудно сказать, каков истинный вклад этой системы в мутационный процесс, однако он, несомненно, существует.

Проблема рекомбинаций. Основным генетическим методом является рекомбинационный анализ, которому обязана генетика почти всеми своими достижениями. Но как это не парадоксально мы хуже всего знаем молекулярные механизмы именно рекомбинаций.

Значительность роли рекомбинационного анализа в развитии учения о наследственности всегда привлекала к нему пристальное внимание генетиков. Однако до настоящего времени нет сколько-нибудь разработанной гипотезы механизма рекомбинации.

Тем не менее мы имеем несколько положений, которые могут лечь в основу будущих разработок этой проблемы. Не вызывает сомнений прежде всего тот факт, что при рекомбинации две хромосомы обмениваются генетическим материалом независимо от его химической природы (чистая ДНК или ДНК в комплексе с другими макромолекулами). Более того, по-видимому, этот обмен происходит по одной из двух существующих гипотез, либо по обеим—одновременно. Первая из этих гипотез (она же первая и по времени предложения) известна под названием «гипотеза разрыв-воссоединение», согласно которой перед рекомбинацией происходит разрыв обеих хромосом, затем они воссоединяются, при этом обмениваясь участками. Слабые стороны этой гипотезы: во-первых, она не объясняет причин разрывов и не дает его механизма, во-вторых, нет и конкретного механизма воссоединения. Однако существует ряд доказательств того, что такие разрывы и воссоединения действительно происходят.

Вторая гипотеза известна под названием «гипотезы выборочного копирования», согласно которой рекомбинационный акт происходит только в момент редупликации ДНК, и при этом синтез дочерней молекулы начинается на матрице одной молекулы, затем перекидывается на вторую. В результате, дочерняя молекула оказывается копированной частью на одной молекуле, частью—на другой. Эта гипотеза не объясняет причин, побуждающих перенос синтеза дочерней молекулы с одной матрицы на другую, хотя механизм образования этой молекулы легко воспроизвести в обычных молекулярных терминах. В пользу этой гипотезы также имеется ряд экспериментальных подтверждений.

Однако в настоящее время все больше накапливается данных в пользу третьей точки зрения. Возможно, как часто это бывает, в действительности рекомбинация протекает с использованием обоих механизмов; сначала происходит разрыв двух хромосом, затем—выборочное копирование образовавшихся фрагментов.

За последние несколько лет сделан существенный вклад в выяснение

молекулярных механизмов рекомбинации—показано, что в этом процессе также принимает участие особый фермент или даже целая система ферментов. Пока трудно сказать, обуславливают ли они рекомбинацию, но участие их в самом процессе рекомбинаций не вызывает сомнений.

В заключение можно сказать, что отсутствие единой теории механизмов рекомбинации приводит к созданию большого количества схем и гипотез, а вопрос и поныне остается нерешенным. Гипотезы в этой области теряют актуальность, еще находясь в редакции.

Таким образом, даже краткое изложение исследований по трем основным проблемам генетики приводит к заключению о несомненных успехах в выяснении их молекулярных основ. Однако нам бы не хотелось создавать иллюзию «всеядности». В действительности мы еще далеки от окончательного решения этих проблем и ближайшее развитие молекулярной генетики должно ответить на ряд вопросов.

Важнейшими из этих вопросов, с нашей точки зрения, являются:

1. Последняя четверть века характеризовалась преобладанием аналитического метода в генетике, когда генетики шли от сложного к простейшему. В настоящее время задача заключается в том, чтобы пройти обратный путь, от простейших молекул и вирусов к надмолекулярным структурам, а затем через клетку к многоклеточным организмам. При этом важнейшими вопросами являются выяснение структуры и механизмов функционирования хромосом, а также строение клеточных мембран, которые, по-видимому, играют большую, чем мы до сих пор предполагали, роль в живых системах.

2. Хотя в общих чертах механизм действия генов выяснен (механизм биосинтеза белка [1]), однако пока остается невыясненным ряд важных сторон этого вопроса. Во-первых, еще не уточнены некоторые детали механизма биосинтеза белков (роль белоксинтезирующего аппарата клетки в однозначном считывании генетической информации, роль РНК-рибосом в синтезе белка и др.).

Во-вторых, несмотря на схему регуляции активности генов Жакоба и Моно, проблема регуляции этим не исчерпывается.

В-третьих, путь от гена до признака лишь в самом простом случае сводится к синтезу белка, под контролем гена. В этой связи важнейшей проблемой дня становится взаимодействие (аллельные, и особенно неаллельные) генов и множественное (плейотропное) действие отдельных генов.

В-четвертых, наименее решенной и наиболее многообещающей является проблема дифференциации. Значительные успехи, достигнутые в области морфопоза фагов, и некоторый сдвиг в молекулярной эмбриологии дают основание надеяться, что полувековому застою в этой области будет положен конец.

3. Неотложной задачей является развертывание систематических работ по исследованию молекулярных основ эволюции. Одной из главных целей в этой области является выяснение молекулярной природы и механизмов доминирования,

4. В области мутагенеза стоит ряд задач: расшифровка молекулярных основ процесса мутагенеза, поскольку, как выясняется вопреки нашим упрощенным представлениям, возникновение и «становление» мутаций является сложным многоэтапным процессом [6], новая постановка и решение проблемы специфичности мутагенеза [6], необходимость оценки степени действительного вклада ферментативных систем в становление или восстановление мутационных повреждений. Наконец, необходимо углубить наши представления о молекулярных основах первичных мутационных повреждений гена, например, оценить роль редупликации ДНК в этих процессах и другие стороны этой задачи.

5. В области рекомбинаций неотложной задачей является создание удовлетворительной теории рекомбинации и оценка реального вклада ферментативных систем в процесс рекомбинации.

Следует отметить, что каждая из перечисленных проблем содержит в себе ряд других задач, перечислить которые было бы делом нелегким, еще сложнее была бы попытка перечислить практическое значение всех проблем.

Оглядываясь на пройденный путь молекулярной генетики, у нас есть все основания надеяться, что отечественные, в том числе и армянские, генетики внесут посильный вклад в решение этих проблем.

Ереванский государственный
университет

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бидл Дж. В книге: Химические основы наследственности, М., ИЛ, 1960.
2. Дубинин Н. П. Бюллетень МОИП, отдел биологический, XIX, вып. 1, 1964.
3. Жакоб Ф., Вольман И. Пол и генетика бактерий, М., ИЛ, 1962.
4. Кольцов Н. К. Сб. Классики советской генетики, изд. Наука, Л., 1966.
5. Морган Т. Теория гена, М., 1927.
6. Оганесян М. Г. Биологический журнал Армении, XXII, 12, 27, 1969.
7. Сахаров В. В. Организм и среда. «Знание», М., 1968.
8. Серебровский А. С., Дубинин Н. П. Сб. Классики советской генетики, изд. Наука, Л., 1966.
9. Фриз Э. Сб. Молекулярная генетика, т. I, М., Мир, 226, 1964.
10. Benzer S. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 41, 344, 1955.
11. Watson I. D., Crick F. H. C. Nature, 171, 737, 1953.