ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
Ն. Ի. ՎԱՎԻԼՈՎԻ ԱՆՎԱՆ ԳԵՆԵՏԻԿՆԵՐԻ ԵՎ ՍԵԼԵԿՑԻՈՆԵՐՆԵՐԻ
ՀԱՅԿԱԿԱՆ ԸՆԿԵՐՈՒԹՅՈՒՆ

ԸՆԹԵՐՑՈՒՄՆԵՐ ՆՎԻՐՎԱԾ Ն. Վ. ՏԻՄՈՖԵԵՎ—ՌԵՍՈՎՍԿՈՒ ՀԻՇԱՏԱԿԻՆ

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԱ ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆ 1983

АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР
АРМЯНСКОЕ ОБЩЕСТВО ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ
ИМЕНИ Н. И. ВАВИЛОВА

ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ Н. В. ТИМОФЕЕВА—РЕСОВСКОГО

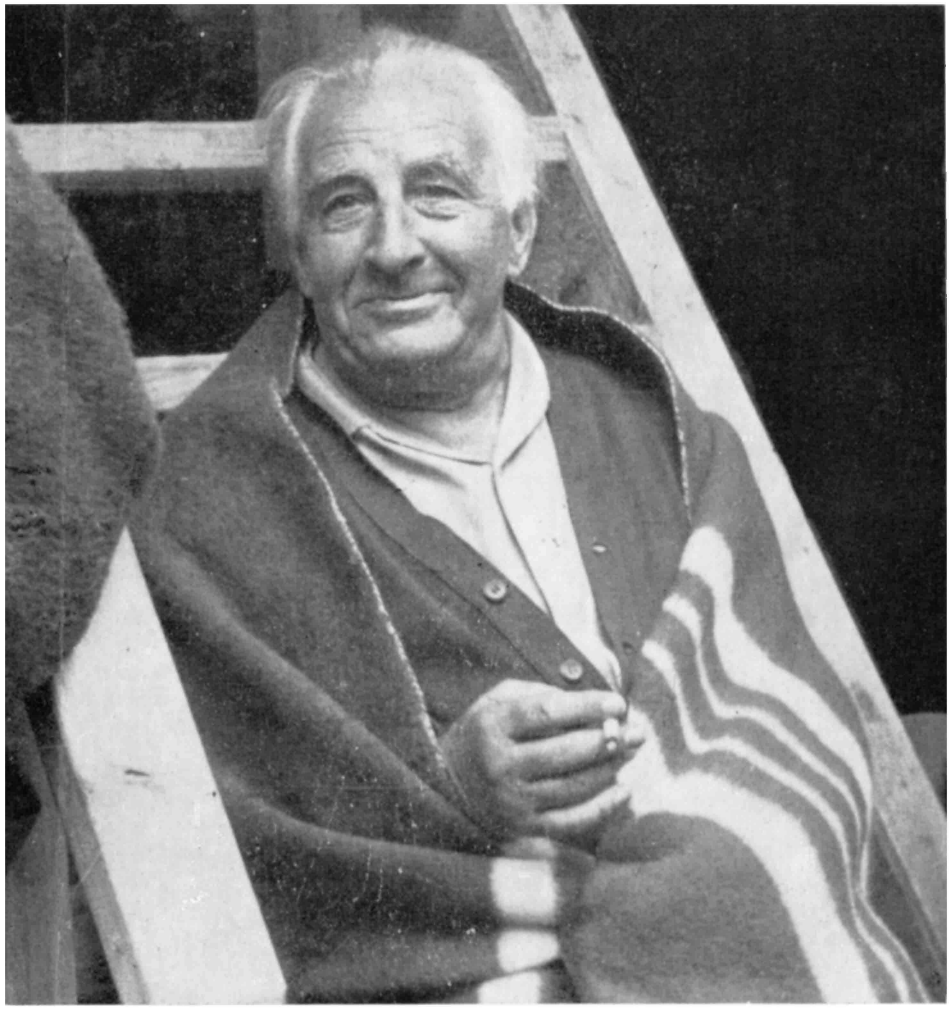
ИЗДАТЕЛЬСТВО АН АРМЯНСКОЙ ССР
ЕРЕВАН 1983

Труды Симпозиума
по современным проблемам биологии,
посвященного памяти
Н.В.Тимофеева-Ресовского

Ереван, 25-27 мая, 1983 г.

Ответственный редактор
Р.Р.Атаян

© Издательство АН Армянской ССР, 1983



Н.В.ЛУЧНИК

РАДИАЦИОННАЯ ГЕНЕТИКА: ВЧЕРА, СЕГОДНЯ И ЗАВТРА

В 1972 году Стент опубликовал широко известную статью "Преждевременность и уникальность научных открытий" /1/, в которой высказывал свое мнение о том, какую роль статья Эвери и соавт./2/ по выяснению химической природы "фактора трансформации пневмококков" и работа Уотсона и Крика по расшифровке структуры ДНК /3/ сыграли в развитии молекулярной генетики. Стент отдает должное замечательной работе Эвери, однако констатирует, что в развитии молекулярной биологии она не сыграла никакой роли, потому что была преждевременной. Он формулирует следующий критерий: "Открытие является преждевременным, если оно не может быть связано рядом логических шагов с каноническими или общепринятыми знаниями". Работу же Уотсона и Крика он считает уникальной, не имеющей реальных предшественников.

Если с первым из этих утверждений нельзя не согласиться, то второе не соответствует действительности.

К выводу о том, что в основе наследственности, а следовательно и жизни, должны лежать самовоспроизводящиеся макромолекулы, впервые пришел Н.К.Кольцов в своем докладе "Физико-химические основы морфологии" (декабрь 1927 года, опубликован на немецком языке в 1928, на русском в 1929 г. /4/). Вполне воз-

можно, что Уотсон и Крик даже не знали имени Кольцова, но от работы Кольцова к открытию Уотсона и Крика ведет непрерывная цепь логических шагов в рамках "канонической науки". Ниже будет рассмотрена эта логическая цепь, главным звеном которой являются работы Николая Владимировича Тимофеева-Ресовского. Автор также постарается показать, что тот путь, по которому развивалась молекулярная генетика, был только одним из возможных, и что та методология, основы которой были заложены Н.В., снова становится актуальной.

Главным (и почти единственным) средством для изучения молекулярной генетики в тот период, когда этого названия еще не существовало, служил анализ результатов количественных радиационно-генетических опытов. Вместе с тем, в радиационной генетике исследование молекулярных основ наследственности было главным направлением, наряду с изучением механизма действия радиации на генетический аппарат. Можно почти не сомневаться в том, что это произошло потому, что центральной фигурой в радиационной генетике тех времен оказался Н.В.Тимофеев-Ресовский, ученик Н.К.Кольцова.

Гипотеза Н.К.Кольцова была умозрительной, не лежала в русле "канонической науки" и потому не могла бы привлечь к себе широкого внимания. Точно также, когда химик проф. Колли в своем докладе, произнесенном в 1893 году, пришел к выводу, что наследственные особенности передаются через очень небольшое число молекул, то на эту мысль обратил внимание вероятно лишь один из присутствующих, а именно Н.К.Кольцов, бывший в то время студентом. Думаю, что о гипотезе Кольцова мы знаем главным образом благодаря тем из его учеников, которые положили ее в основу своих исследований.

Наиболее последовательным из них оказался Н.В.Тимофеев-Ресовский. Ту науку, которой он посвятил свою жизнь и явился одним из ее создателей, он называл вначале биофизикой. В 40-х годах он определял ее как "математико-физический и теоретический (в смысле общей естественно-научной методологии) анализ элементарных биологических структур и процессов" /5/. В последние го-

ды он стал называть эту науку теоретической биологией и вместе со своим ближайшим другом и единомышленником А.А.Ляпуновым писал: "Вся теоретическая биология должна состоять, по нашему мнению, из двух частей: физико-химической, назначение которой состоит в том, чтобы расшифровать физико-химическую природу элементарных актов жизнедеятельности на уровне макромолекул и клеточных органелл, и кибернетической, назначение которой состоит в том, чтобы понять функционирование биологических систем, отправляясь от их структуры и сведений о свойствах элементов" (цитируется по /6/).

Н.В.считал, что эта наука может успешно развиваться только в условиях тесной кооперации биологов с представителями других наук, прежде всего с физиками и математиками. Биохимии (во всяком случае в ее "классической" форме) он всегда отводил меньшую роль. Именно в результате такой кооперации появилась работа Н.В.Тимофеева-Ресовского (генетик), Циммера (физик-экспериментатор) и Дельбрюка (физик-теоретик) "О природе генных мутаций и структуре гена", которая была опубликована в 1935 году /7/ и поистине является одним из научных шедевров.Два года спустя Н.В. издает специальную монографию о роли экспериментального мутагенеза в развитии общей генетики /8/, где та же методология применяется более широко.

Суть упомянутой работы трех авторов сводится к следующему. Н.В. провел уникальные для того времени эксперименты по изучению количественных закономерностей образования точковых мутаций у дрозофилы под действием радиации (зависимость от дозы, от ее распределения во времени, типа и энергии излучений и др.). Биофизический анализ привел к выводу о том, что гены представляют собой макромолекулы, а мутации - внутримолекулярные изменения. Для тех времен этот вывод был не только оригинальным, но просто революционным.

Здесь необходимо остановиться на методологии проводившихся исследований. Позже она стала называться методологией "черного ящика". На структуру или процесс, подлежащие исследованию, воздействуют факторами с известными свойствами,и по изменениям, наблюдаемым в объекте исследования, судят об

их строении или механизме. Радиация, как часто подчеркивал Н.В., особенно подходит для этой цели, поскольку является точно дозируемым и хорошо проникающим фактором, а механизм ее взаимодействия с веществом достаточно хорошо известен. Исследование начиналось с биологического (радиационно-генетического) факта (обнаружение нового явления, количественное исследование известного явления), строилась гипотеза о физико-химической природе исследуемого процесса или структуры, на основании гипотезы делались предсказания о ранее неизвестных явлениях или закономерностях, которые затем проверялись экспериментально. Важно отметить, что радиационно-генетические эксперименты и теоретический анализ проводились одним "невидимым коллективом". Именно таким образом и была выполнена упомянутая работа трех авторов.

В 1945 году вышла знаменитая книга Шредингера "Что такое жизнь с точки зрения физика?" /9/, которая, благодаря имени автора и увлекательности изложения, заставила физиков всерьез заинтересоваться биологией, а биологов убедила в том, что им необходимо использование физико-математических наук. Следует отметить, что в значительной своей части книга Шредингера - ничто иное, как популярное изложение "зеленой брошюры", как Циммер позже называл упомянутую статью трех авторов. Не может быть никаких сомнений в том, что работа Уотсона и Крика представляет собой плод этого начавшегося нового интереса физиков. Впрочем, автор этих строк слышал лично от Уотсона, что его и многих других "совратил" в генетику соавтор Н.В.-Дельбрюк, и он, Уотсон, считает себя научным внуком Н.В.

Сказанное выше более или менее общеизвестно. Менее известно то, что тот цикл работ, в центре которого стоит работа о природе гена и механизме генных мутаций, был только первым, хотя только он получил достаточное освещение в печати. Дело в том, что все это происходило перед самым началом войны, которая помешала как завершению работ, так и их публикации. Достаточно сказать, что из запланированного трехтомного труда Н.В.Тимофеева-Ресовского и Циммера "Биофизика" вышел только первый - "Принцип попадания в биологии", да и то лишь через несколько лет после того, как он был написан /5/.

Совершенно естественно, что после успеха в выяснении природы генных мутаций и структуры гена (на том уровне, который был возможен в те времена) появилось желание использовать тот же методологический подход для анализа других элементарных биологических структур и процессов. По инициативе Н.В.Тимофеева-Ресовского и Б.Эфрусси была создана небольшая рабочая группа, состоявшая главным образом из генетиков и физиков. Кроме организаторов, в ее состав вошли: Г.Бауэр, Бернал, Дарлингтон, Йордан, Касперсон, Меллер (живший тогда в Европе), Оже, Рапкин, Уоддингтон, Фано, А.Фишер, Циммер, Штуббе и Эстбюри. Эта группа провела две конференции (Клампенборг, 1938, Спа, 1939). Независимо от них, после того, как в 1936 году во время годичного собрания Американского генетического общества Ф.Г.Добжанский, Демерец, Кауфман, Небель и Стадлер провели несколько встреч с обсуждением вопросов, представлявших общий интерес, в США были (в 1938 и 1940 году) организованы две сходных конференции. Фано и Уоддингтон принимали участие и в европейских и в американских конференциях. Обе группы обменивались информацией, планировали объединенные конференции, но война исключила эту возможность. Материалы этих конференций, насколько мне известно, никогда не были изданы. Пока живы некоторые из их участников, было бы очень важно восстановить для истории науки этот интересный период становления теоретической биологии. Я хочу сообщить то немногое, что мне удалось в свое время узнать от Н.В. Тимофеева-Ресовского и Циммера о конференциях европейской группы.

Эти конференции явились одной из первых попыток решения трудных проблем методом "мозгового штурма". На них делалось небольшое число докладов, вслед за которыми происходила дискуссия за "круглым столом", составлявшая большую часть заседаний. Стенограммы рассылались участникам для исправлений и дополнений, причем во время этой переписки обсуждение продолжалось. Интересно, что именно таким образом, уже в наше время, Уоддингтон организовывал свои конференции по теоретической биологии, которые известны по изданным у нас "Пролегоменам" /10/.

На этих конференциях обсуждался ряд новых проблем. В связи с их постановкой в лаборатории Н.В. началось широкое изучение структурных мутаций (аберраций хромосом). Сам Н.В.Тимофеев-Ресовский опубликовал только одну работу в этой области /II/ но широкие исследования по общему плану вели А.З.Кач, И.Б.Паншин, Раду, Канеллис, Петер, Вельт. Было опубликовано несколько кратких сообщений /I2-I5/. Большая статья А.З.Кача и И.Б.Паншина /I6/ существовала только в корректурном экземпляре, и неизвестно, сохранился ли он. Из-за условий военного времени эти исследования были прерваны в самом разгаре.

Поскольку вопрос о химической природе генов и механизме генных мутаций был на доступном в те времена уровне решен, участников европейских конференций в первую очередь интересовала проблема молекулярного строения хромосомы и механизм ее репликации. Начиналось обсуждение и дальнейших вопросов, таких как механизм митоза и морфогенез. Продолжалось и обсуждение проблемы генных мутаций; в частности, рассматривалось явление генной конверсии и влияние физиологических условий на темпы мутирования.

Представляется интересным и поучительным хотя бы беглое перечисление вопросов из области "хромосомологии", занимавших участников конференций. Вполне естественно, что обсуждались закономерности и механизм образования структурных мутаций под действием радиации, но в связи с рассмотрением истории молекулярной генетики это представляет второстепенный интерес.Что же касается таких вопросов, как молекулярная организация хромосомы, то, как мы увидим, это те же проблемы, которые были снова поставлены спустя несколько десятилетий и частично не разрешены до сих пор. Обсуждался вопрос о том, сколько "хромонем" содержится в поперечном сечении хроматиды (проблема "нитчатости"), причем принимались во внимание факты, убедительно говорившие как за, так и против постулата об унинемии. Большой интерес вызывали хромомерное (по сегодняшней терминологии - нуклеосомное) строение хромосомы и способ укладки элементарной нити. Несмотря на то, что в те годы господствовала тетрануклеотидная гипотеза строения ДНК, а хранителем наследственной информации счи-

тали белок, обсуждался вопрос о химической природе непрерывности хромосомы и приводились факты, говорившие в пользу того, что непрерывность обусловлена ДНК. Рассматривались природа гетерохроматина, неспецифическое "сродство" теломерных райнов хромосом.

Современного молекулярного биолога может удивить то, что участники европейских конференций вплотную подошли к выводу о том, что нуклеиновые кислоты участвуют в синтезе белка. Для аргументации этого положения служили не только данные о том, что синтез РНК предшествует белковому синтезу, полученные с помощью ультрафиолетовой микроскопии (Касперсон), но и результаты рентгеноструктурного анализа, согласно которым (как это теперь хорошо известно) повторяющиеся единицы молекул ДНК и полипептидной цепи равны примерно 3,4 А. А на основании анализа результатов радиационно-генетических опытов делался вывод о том, что хроматида состоит из двух субъединиц противоположной полярности!

Как видим, Н.В. и группировавшиеся вокруг него ученые приходили к тем же самым выводам, к которым пришла молекулярная генетика спустя 15-20 и более лет, а известная часть из обсуждавшихся тогда вопросов до сих пор не решена. Можно не сомневаться в том, что если бы не разразившаяся война, то молекулярная генетика родилась бы раньше, но она была бы тогда создана радиационными генетиками и биофизиками, а не микробиологами и биохимиками.

"Вчерашний" период развития радиационной генетики закончился с началом войны. А после ее окончания она пошла совсем другим путем, по которому движется и сегодня. Что же касается молекулярной генетики, то те аспекты ее истории, которые известны современной молодежи, развивались вне связи с радиационной генетикой.

Новое лицо "сегодняшней" радиационной генетики в первую очередь обусловлено сильно возросшим значением прикладных аспек-

тов радиобиологии, в связи с наступившим "атомным веком". Этими аспектами занимались не только "пришельцы", в основном люди иного склада, но и радиобиологи старшего поколения. В этом плане и в лаборатории Н.В. велись широкие исследования по стимулирующему действию малых доз радиации и по изучению судьбы радионуклидов в биосфере. Другим важным фактором явилось рождение и победоносное развитие молекулярной биологии, причем в ее распоряжении имелся новый и настолько мощный арсенал средств, что в использовании довоенной методологии просто не оказывалось надобности.

В послевоенные годы, после возвращения на родину, Н.В. продолжал осуществление своих планов. В конце 40-х годов были возобновлены исследования по радиационной генетике дрозофилы и начаты опыты на клетках высших растений, причем предметом изучения были не точковые, а структурные мутации. Вскоре, однако, события, последовавшие в биологии после сессии ВАСХНИЛ в 1948 году, заставили полностью прекратить развитие этого направления. Как только появилась возможность, эти исследования были продолжены: сначала на Урале, а затем в Обнинске. Здесь нужно отметить ту большую роль, которую сыграл Н.В. в возрождении генетики в нашей стране. Многим памятны блестящие лекции, которые он читал в те годы в ряде городов. Одновременно с этим он отдал много сил подготовке специалистов, причем большая часть их занималась изучением структурных мутаций. В настоящее время многие из бывших сотрудников и аспирантов Н.В. успешно руководят исследованиями по мутагенезу, в частности по радиационной генетике, с использованием разнообразных объектов, в ряде научных учреждений. О той огромной работе, которая была сделана и продолжается этими коллективами, здесь нет возможности рассказывать. Это могло бы быть предметом специального совещания.

Появление работ Уотсона и Крика /3/ и Гамова /17/ произвело на Н.В. большое впечатление. Он раньше других биологов оценил их значение потому, что видел в них путь для решения проблем, которые его волновали давно. Началось оживленное творческое обсуждение проблем молекулярной биологии, в котором кро-

ме сотрудников лаборатории Н.В. принимали активное участие физики-теоретики и математики, в первую очередь из числа учеников и сотрудников академика С.В.Вонсовского. В конце 50-х - начале 60-х годов этой группой было опубликовано несколько работ, посвященных механизму репликации генетического материала и исследованию генетического кода /18-25/. К сожалению, для дальнейшего прогресса тогда были уже необходимы молекулярные биологи экспериментаторы. Но в нашей стране их в то время еще не было.

В последующие годы Н.В. осуществлял свою программу создания теоретической биологии в основном в других областях. Мне нет необходимости останавливаться на них, т.к. эти работы достаточно хорошо известны и о них подробно говорится в других статьях, опубликованных в настоящем сборнике. Хочу только отметить, что хотя в публикациях этого периода большее отражение нашли работы этих новых направлений, но интерес к радиационной и молекулярной генетике у Н.В. всегда был едва ли не на первом месте.

При обсуждении истории молекулярной генетики обычно совершенно упускают из вида одно важное обстоятельство. В том, что ключевую роль в рождении молекулярной генетики сыграло открытие Уотсона и Крика, единогласны все. Однако, в отношении роли других открытий такого единогласия нет. Вряд ли можно сомневаться в том, что без установления в работах А.Н.Белозерского и А.С.Спирина /26/ и Чаргафа /27/ биологической специфичности ДНК, молекулярная биология не могла бы появиться. Однако, после открытия Уотсона и Крика подобные работы наверняка были бы проведены. Что касается обоснования теории "один ген - один фермент" /28-29/, то она произвела впечатление только на биохимиков. Для генетиков это не только было очевидно, но давно имелись некоторые данные о менделировании биохимических признаков. К тому, что уже говорилось о работе Эвери, следует добавить, что она была выполнена в те времена, когда в микробиологии господствовали совершенно фантастические представления о наследственности, причем и многие генетики считали, что для бактерий законы генетики не писаны. Именно поэтому генетики

и не оценили сразу эту работу. Однако, почти одновременно с этой работой, а именно в 1943 году, вышла в свет исключительно важная работа Лурии и Дельбрюка /30/, в которой было представлено безупречное доказательство того, что мутации у бактерий возникают по тем же законам, что и у высших организмов. А не нужно забывать того факта, что большая часть здания молекулярной биологии была построена с помощью опытов на микроорганизмах. Если бы открытие Лурии и Дельбрюка произошло позже, что вполне могло случиться, то история молекулярной генетики была бы иной, поскольку нельзя было бы использовать тех возможностей, которые дают микробиологические методы. Не исключено, что в таком случае между молекулярной и радиационной генетикой существовала бы гораздо более тесная связь, и в сегодняшней радиационной генетике не в столь сильной степени преобладали прикладные и феноменологические аспекты. Но то, что одним из авторов работы, объединившей генетику микро- и макроорганизмов, оказался Дельбрюк, ближайший сотрудник и единомышленник Н.В., вряд ли может быть чистой случайностью.

Мощный арсенал молекулярной биологии давал возможность получать ответы на те же вопросы более прямыми, наглядными и, главное, более легкими методами (если не с точки зрения меньших материальных затрат, то меньшей необходимости в продуманном планировании эксперимента и глубине анализа; достаточно сказать, что молекулярная генетика до сих пор почти обходилась даже без элементарной статистической обработки результатов). Нельзя сказать, что работ по применению радиационной генетики для исследования элементарных биологических структур и процессов не выходило. Время от времени такие исследования появлялись, но они тонули в океане статей по прикладной радиобиологии.

Современная молекулярная генетика при своем рождении оказалась в исключительно благоприятной ситуации: ей не приходилось трудиться над постановкой вопросов, так как они уже существовали, и ученые давно ждали на них ответа. Достаточно вспомнить, какие проблемы занимали еще в предвоенные годы Н.В. и сотрудничавших с ним ученых. Это было важно не только потому, что перед

молекулярными генетиками уже было широкое поле деятельности, но и потому, что каждый новый результат сразу привлекал к себе внимание научной общественности. Число накопившихся вопросов было так велико, что их хватило для того, чтобы обеспечить молекулярных генетиков биологически актуальной тематикой вплоть до настоящего времени.

Конечно, было бы неправильно утверждать, что молекулярные генетики занимались только поисками ответов на вопросы, поставленные до ее рождения. Некоторые новые важные вопросы появлялись в биологии и позже, но их было не так много. В качестве одного из таких новых вопросов, открывших перед молекулярными генетиками широчайшее поле деятельности, можно назвать открытие явления репарации. Другие вопросы возникали сами собой. Так, после установления того факта, что генетическая информация записана не в белках, а в ДНК, почти автоматически возникла проблема генетического кода, потребовавшая целого комплекса молекулярных исследований. Отсутствие необходимости в кооперации молекулярных генетиков и биологов, в частности радиационных генетиков, работавших с помощью более традиционных методов, породило у известной части молекулярных генетиков высокомерное отношение к "феноменологии" /31/.

Вместе с тем, молекулярная биология, так же, впрочем, как и биохимия, при огромных аналитических возможностях, гораздо слабее в постановке новых вопросов. Так, если бы цитологи не наблюдали митоз, то вряд ли биохимики и молекулярные биологии могли его открыть своими методами.

Ряд областей в молекулярной биологии возник самостоятельно, в основном, в связи с появлением новых объектов и методов, вне связи с ранее наблюдавшимися биологическими фактами. Из таких направлений можно назвать изучение конформационных переходов в макромолекулах, изучение биомембран, нуклеосом. Хотя накопленный материал очень интересен сам по себе, т.е. в рамках физической химии макромолекул и внутриклеточных структур, но к важным биологическим выводам он приводит редко.

Кроме того, следует отметить, что некоторые вопросы, которые существовали в генетике давно, но касались явлений, не наблюдавшихся у бактерий, не привлекали широкого внимания. Это касается, например, вопроса о силах, действующих между хромосомами. С другой стороны, при попытке решить вопросы, для которых исследования макромолекул и бактерий недостаточно, как например, при выяснении молекулярной организации хромосом высших эукариот, успехи оставались довольно скромными.

Если у молекулярных генетиков, как уже говорилось, не было интереса к результатам радиационных генетиков и вообще генетиков,применявших в своих исследованиях более традиционные методы, то последние, наоборот, проявляли к молекулярной генетике повышенный интерес, не будучи в ней настоящими специалистами, и они подчиняли собственную методологию "молекулярным" канонам. Например, многие авторы, обсуждая возможные механизмы обменов, считают аксиомой, что в них должно принимать участие образование водородных связей между комплементарными последовательностями только потому, что такое явление описано в молекулярной биологии, но не потому, что к этому приводят их собственные экспериментальные данные. Я нахожу, что в этой ситуации терпели ущерб "обе стороны": радиационные генетики, добровольно ставшие только прилежными учениками молекулярных генетиков (оставаясь при этом как правило, "троечниками"), сильно ограничили себя не только в аналитических возможностях, но и в планировании оригинальных экспериментов. Молекулярные генетики, в свою очередь, понесли ущерб, поскольку радиационные генетики перестали ставить перед ними вопросы в виде новых фактов, закономерностей и парадоксов, требующих физико-химической интерпретации. Должен признаться, что я несколько утрировал ситуацию. Но это сделано только для того, чтобы пояснить основной тезис, который я собираюсь отстаивать.

Прежде чем обсуждать завтрашний день радиационной генетики, следует хотя бы фрагментарно остановиться на сегодняшней молекулярной генетике. Для нее характерно, что одни важные вопросы, которые уже давно ставятся, не находят решения, а другие вообще не ставятся. Отнюдь не претендуя на полноту, только в качестве примера, назовем несколько таких вопросов:

- Молекулярная организация эукариотической хромосомы.
- Изменения, происходящие в генетическом аппарате эукариотической клетки.
- Взаимодействие между хромосомами и их субединицами.
- Связь между процессами репарации на молекулярном, генетическом и клеточном уровне.
- Строение теломеры.
- Природа сил отталкивания между хромосомами и дальнодействующих сил притяжения.

Нетрудно заметить, что все перечисленные вопросы касаются молекулярной генетики эукариот. Можно не сомневаться в том, что прогресс при решении подобных вопросов может быть достигнут при использовании новых средств исследования. Автор этих строк считает, что одним из таких средств (разумеется, не единственным) может оказаться радиационная генетика эукариот с использованием тех методологических подходов, о которых говорилось выше. Поэтому, основной тезис отстаиваемый в настоящей статье можно сформулировать так:

"Вперед, за Николаем Владимировичем Тимофеевым-Ресовским тридцатых-сороковых годов!"

Прогнозирование развития науки-задача довольно неблагодарная, так как оно зависит от ряда непредсказуемых факторов, как это ясно даже из тех фактов, которые приводились в этой статье. Например, быстрому развитию молекулярной генетики способствовало то, что открытию Уотсона и Крика непосредственно предшествовали открытие видовой специфичности ДНК и рождение научной генетики микроорганизмов. На развитии науки сказываются не только общие катаклизмы вроде войн, но и детали биографии отдельных лиц (вспомним, что Н.В. был учеником Н.К.Кольцова, а Дельбрюк заинтересовался биологией под влиянием Н.В.).

Поэтому автор не рискует брать на себя роль пророка. Однако, то, о чем пойдет речь, безусловно один из тех путей, которые может избрать завтрашняя молекулярная биология. А что будет на самом деле, сегодня никому не дано знать.

Почему молекулярная генетика, начиная с 50-х годов, шла не по тому направлению, которое в свое время начал и возглавлял Н.В., я уже говорил и сейчас повторять не буду. Повторю лишь, что до недавнего времени молекулярная биология сводилась в первую очередь и в основном к молекулярной микробиологии.И в этой области имела место вполне нормальная связь между исследованиями макромолекул, микробиологическим экспериментом и теоретическим анализом.

Здесь необходимо указать на существенное различие между экспериментальными работами в области микробиологии и генетики высших организмов. Совершенно несоизмерима трудоемкость опытов. Микробиолог имеет возможность за неделю получить такое количество цифр, для которого "макробиологу" потребовались бы годы кропотливого и утомительного труда. Результаты, получаемые в разных вариантах микробиологического опыта, обычно так ясно различаются, что не требуют серьезной статистической обработки. Наконец, у бактерий имеется такая обширная коллекция мутантов с измененными молекулярными механизмами, какую вероятно невозможно получить, скажем, для дрозофилы или традесканции.

Известны случаи, когда молекулярные биологи пытались ставить "макробиологические" опыты. Но чаще всего оказывалось одно из двух: либо такой опыт вообще невозможно было поставить из-за особенностей объекта, либо запланированный опыт, хотя и был возможен, но оказывался столь трудоемким, что от него отказывались. Поэтому в работах по молекулярной генетике эукариот как правило ограничиваются физико-химическим исследованием макромолекул или клеточных структур или же сопоставлением независимых и потому несравнимых литературных данных.

Возвращаясь к своему тезису, автор хочет подчеркнуть, что речь идет не просто о необходимости проведения радиационно-генетических опытов (в этом как раз нет недостатка), а об ис-

пользовании при планировании и анализе результатов этих опытов той методологии, о которой шла речь. Напомним, что суть ее сводится к последовательности: биологический факт - молекулярная гипотеза - экспериментальная проверка гипотезы. На это можно возразить, что сказанное - логика любой разумной научной работы, в частности многих работ, которые велись молекулярными генетиками. Это не совсем так. У бактерий одна молекула ДНК представляет собой весь ее генетический аппарат, а у вирусов на определенной стадии вообще весь организм. У высших эукариот это разные уровни, к тому же заключенные в "черный ящик". А это - разница принципиальная.

Для того, чтобы аргументировать свой тезис, я рассмотрю результаты трех групп опытов, в которых, как я считаю, была использована такая методология, и информативность которых оказалась достаточно высокой. Речь будет итти о работах, проведенных в моей лаборатории. Это вовсе не значит, что аналогичных примеров нельзя было найти в литературе (хотя их не так уж много). Просто эти результаты я знаю лучше и, самое главное, знаю, какая дорога к ним привела.

Когда автор этих строк начал работать в лаборатории Н.В., то он поручил ему заняться изучением структурных мутаций, образующихся под действием радиации. Этой проблемой я продолжаю заниматься до сих пор. Кроме того, Н.В. увлек меня той программой исследования элементарных биологических структур и процессов, которая была начата им в 30-х годах, причем это увлечение началось задолго до того, как в литературе стало появляться слово молекулярная генетика. Поэтому логика развития тех направлений (далеко не законченных), о которых речь пойдет ниже, одна и та же: факты, полученные в радиационно-генетических опытах - молекулярные гипотезы для их интерпретации - экспериментальная проверка гипотез. Все эти исследования касаются тех нерешенных на сегодняшний день проблем молекулярной генетики, о которых говорилось выше.

Молекулярная организация хромосомы. До сих пор не решен важный вопрос о том, сколько молекул ДНК содержится в поперечном сечении хроматиды (т. наз. "проблема нитчатости"). Вскоре после рождения молекулярной генетики гипотеза однонитчатости стала почти аксиомой. Данные радиационно-генетических опытов скорее говорили против этой догмы. В частности, для интерпретации некоторых результатов приходилось допустить, что облучение влияет на характер распределения молекул ДНК по хроматидам (впервые эта гипотеза была высказана в печати еще в 1959 г /32/).

Одним из доводов в пользу многонитчатой модели были результаты опытов по авторадиографии хромосом: нередко наблюдались т.наз. изометки; в некоторых участках хромосом радиоактивная метка наблюдалась в обеих хроматидах. Это резко противоречило однонитчатой модели, согласно которой во всей хромосоме при стандартной постановке опытов, должна была быть только одна меченая полинуклеотидная нить. Однако разрешающая способность метода была невелика и изометки вполне могли быть артефактами. В середине 70-х годов была разработана гораздо более точная методика дифференциальной окраски хроматид с использованием инкорпорации 5-бромдезоксиуридина (БДУ). С этой методикой изометки не наблюдались и вопрос был объявлен окончательно закрытым.

Нужно заметить, что при применении авторадиографии неизбежно облучение хромосом. Поэтому результаты упомянутых выше опытов по изучению структурных мутаций позволяли высказать предположение, что в клетках существует очень точный механизм, обеспечивающий закономерное распределение молекул ДНК по хроматидам, который повреждается радиацией. Для проверки этой гипотезы Н.А.Порядковой были поставлены опыты по облучению БДУ-замещенных хромосом. При этом важно подчеркнуть, что из результатов опытов по исследованию аберраций хромосом можно было предсказать, что изометки, в случае правильности нашей гипотезы, должны возникать при облучении клеток на стадии G_2, а также указать дозы, доста-

точные для вызывания эффекта. Вначале были поставлены опыты на лимфоцитах человека с небольшим числом вариантов и сразу же был обнаружен ожидаемый эффект. В необлученных хромосомах, в полном соответствии с данными других авторов, изометок не наблюдалось. Число сестринских хроматидных обменов (СХО) на клетку составляло 10,60±0,49. После облучения в дозе 0,5 Гр за 1,5 часа до фиксации наблюдались изометки с частотой 2,18±0,10, а число СХО снижалось до 8,22±0,37, что достоверно отличается от необлученного контроля ($P < 0,001$). Интересно отметить, что суммарная частота СХО и изометок в варианте с облучением была 10,40±0,42, т. е. практически не отличалась от частоты СХО в контроле. Таким образом, напрашивался вывод о том, что изометки в облученных клетках образуются вместо СХО. В первой же публикации в 1977 г /33/ были приведены результаты исследования количественных закономерностей, которые исключали все объяснения появления изометок в рамках гипотезы однонитчатости, когда либо предлагавшиеся раньше, и хорошо объяснялись гипотезой, согласно которой хроматида содержит в своем сечении по меньшей мере две молекулы ДНК ("бинемная модель"), а облучение повреждает закономерное распределение молекул ДНК по хроматидам. В дальнейших исследованиях эти результаты были многократно воспроизведены, в том числе и на другом объекте (клетки хомячка); продолжается изучение закономерностей образования изометок.

Эта работа не осталась незамеченной. Одни авторы соглашались с нами, в то время как другие объясняли полученные результаты в рамках однонитчатой модели. Эти же объяснения уже предлагались раньше и, как было сказано, не согласовывались с нашими результатами. Характерно, что все критики обсуждали только сам факт наблюдения изометок. Никто не попытался объяснить даже самого важного результата: почему изометки наблюдались только после облучения, не говоря уже о таких "сложных" (а на самом деле простых и убедительных) доводах, как, например, анализ распределе-

ния СХО и изометок по клеткам и хромосомам. Я специально подчеркиваю это обстоятельство, чтобы показать, что сам способ мышления многих современных генетиков сильно отличается от того, который необходим не только для проведения, но даже для понимания работ, относящихся к области теоретической биологии в смысле Н.В.Тимофеева-Ресовского и А.А.Ляпунова. Поэтому, хотя логика развития молекулярной генетики на ее сегодняшнем этапе требует использования методов теоретической биологии, но осуществление этого неизбежно должно натолкнуться на чисто психологические трудности. Заканчивая краткое рассмотрение этого цикла работ, нужно сказать, что использованный нами радиационно-генетический метод исследования изометок не просто увеличивает число противоречивых данных (в которых нет недостатка), но, наоборот, дает в руки исследователя метод для ликвидации существующих противоречий и для серьезного анализа проблемы "нитчатости".

Хромосомный цикл ДНК. Традиционное объяснение образования аберраций хромосомного и хроматидного типа (т.е. затрагивающих полное сечение хромосомы или только одну хроматиду) связывает их с тем, облучаются ли хромосомы в "нерасщепленном" или в "расщепленном" состоянии, т.е. с разным типом первичных повреждений. В 1971 г мы, на основании накопившихся экспериментальных данных предложили альтернативную гипотезу, согласно которой в основе всех структурных мутаций лежат одни и те же первичные изменения, а разные типы аберраций образуются в результате разных условий распространения повреждения по поперечному сечению хромосомы /34/. (Нетрудно заметить, что эта гипотеза логически связана с только что обсуждавшейся проблемой "нитчатости"). Предполагаемый молекулярный механизм заключается в том, что на определенных стадиях митотического цикла (а именно во второй половине предсинтетической стадии и незадолго до митоза) происходит взаимная коррекция молекул ДНК путем образования гибридных молекул. В случае же мискоррекции первичное повреждение распространяется на большую или

меньшую часть сечения хромосомы. Хотя против этой гипотезы не выдвигалось никаких возражений, но заинтересовать молекулярных биологов ее проверкой нам не удалось. В настоящее время это начато в нашей лаборатории. Очевидно, что в процессе гибридизации молекул ДНК должны временно возникать однонитевые участки. Т.В.Кондрашова исследует появление однонитевых участков в разных точках митотического цикла лимфоцитов человека с помощью цитоиммунофлюоресцентного метода. Предварительные результаты показали, что однонитевые участки появляются на стадии репликативного синтеза (этот результат тривиален, но важен для контроля адекватности и чувствительности методики). Однако, кроме этого, наблюдался выраженный пик однонитевых участков в предсинтетической стадии, появление которого коррелировало с максимальным выходом аберраций хромосомного типа. Облучение полностью снимало этот пик, но не влияло существенно на появление однонитевых участков во время репликативного синтеза. Предположительно последний результат можно объяснить тем, что однонитевые разрывы в однонитевых участках приводят к фрагментации молекул ДНК, благодаря чему эти участки исчезают. Это согласуется с упомянутым фактом о максимальной чувствительности хромосом на этой стадии. Очевидно, что при облучении в это время к аберрациям приводят не только двойные, но и одиночные разрывы молекул ДНК. Так или иначе, обнаружено ранее неизвестное явление, относящееся к категории таких, которые открывают перед молекулярными генетиками новое поле исследований.

Взаимодействие между субъединицами хромосомы. Инкорпорация БДУ, которую используют для получения дифференциальной окраски хроматид, изменяет радиочувствительность, что дает в руки исследователя дополнительное средство. В опытах с рентгеновскими лучами мы обнаружили, что число хроматидных разрывов зависит не только от содержания БДУ в данной хроматиде, но и от его содержания во второй хроматиде той же хро-

мосомы, однако различие было незначительным. Для исследования этого эффекта М.М.Антощина провела опыты по УФ облучению хромосом с разными вариантами замещения тимидина на БДУ, используя то известное обстоятельство, что ультрафиолет вызывает разрывы в БДУ-замещенной ДНК, но не вызывает их в обычной ДНК. Поскольку при облучении нормальной ДНК, пиримидиновые димеры приводят, в результате прохождения через стадию синтеза, к вторичным разрывам, облучение проводили на стадии G_2. В необлученном контроле частота разрывов не зависела от состава хромосом и составляла в среднем I,33±0,47 на I00 клеток. При облучении ультрафиолетом были получены следующие результаты. (Тимидин-содержащая нить обозначается буквой Т, БДУ-замещенная - буквой В. Так, ТТ-ТВ означает хромосому, одна хроматида которой нормальная, а другая состоит из молекул, в которых БДУ замещенной является одна нить).

ТТ-ТТ	2,57 ± 0,6I разрывов на I00 клеток
ТТ-ТВ	I6,86 ± I,8I
ТВ-ТВ	26,25 ± 2,56
ТВ-ВВ	44,95 ± 3,37

Если бы не применялась дифференциальная окраска, то результаты показались тривиальными: в хромосомах состава ТТ-ТТ, как и следовало ожидать, частота разрывов не отличалась достоверно от контроля, в остальных вариантах их частота была приблизительно пропорциональна содержанию БДУ в хромосоме. В дифференциально окрашенных хромосомах обнаружились следующие закономерности. В хромосомах состава ТТ-ТВ, как и следовало ожидать, почти все разрывы (9I,9%) были в хроматиде ТВ, частота их в хроматиде ТТ (I,36±0,5I) не отличалась от контроля. Но в хромосомах состава ТВ-ВВ результат оказался парадоксальным: почти все разрывы (93,2%) были в хроматиде ВВ, в хроматиде ТВ их частота (3,03±0,44) лишь незначительно превышала контрольный уровень. Между тем, при облучении таких же самых хроматид в составе хромосом ТВ-ТВ на каждую приходилось 26,25 : 2 = I3,2 разрыва. Опыты были повторены несколько раз и дали воспроизводимые результаты.

Совершенно очевидно, что результаты этих опытов доказывают существование молекулярного взаимодействия между хроматидами, хотя о молекулярном механизме этого процесса пока ничего нельзя сказать. Очевидно также и то, что эти результаты связаны с рассмотренными выше.

Мы считаем, что в основе рассмотренных опытов лежит как раз та методология, о которой говорилось выше. Результаты количественных радиационно-генетических опытов приводили к необходимости новых молекулярных гипотез, а проведенные дальнейшие опыты (о некоторых из них было рассказано выше) в какой-то степени их подтвердили.

Разумеется, автор далек от того, чтобы утверждать, что только это направление исследований может обогатить молекулярную генетику эукариот. Но мы хотим настаивать на том, что это направление дает богатые возможности. Однако, у нас нет иллюзий, что многие современные генетики легко обратятся в "новую веру" (которая на самом деле является не новой, а только основательно забытой), поскольку им, как правило, физико-химические науки гораздо роднее физико-математических.

Недавно вышла в свет посмертная статья Н.В.Тимофеева-Ресовского (в соавторстве с А.Маленковым), посвященная его другу и соратнику А.А.Ляпунову, озаглавленная "Наследие, ждущее наследников". Эти слова в полной мере относятся и к тому наследию, которое Н.В. оставил в области радиационно-генетического раздела теоретической биологии.

НИИ медицинской радиологии,
Академия медицинских наук СССР,
Обнинск

Литература

1. Stent G.S. Prematurity and uniqueness in scientific discovery. - Scientific American, 1972, v. 227, p. 84.
2. Avery O.T., MacLeod C.M., McCarty M. Studies on the chemical nature of substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a deoxyribonucleic acid fraction isolated from Pneumococcus Type III. - J. Exptl. Med., 1944, v. 79, p. 137.
3. Watson J.D., Crick F.H.C,,Molecular stru ture of nucleic acids. A structure of deoxyribose nucleic acid. - Nature, 1953, v. 171, p. 737.
4. Кольцов Н.К. Физико-химические основы морфологии. - "Новейшие течения научной мысли" № I2, Госиздат, М. I929.
5. Timofeeff-Ressovsky N.W., Zimmer K.G. Biophysik. Band I: Das Trefferprinzip in der Biologie. Leipzig, S. Hirzel.1947.
6. Тимофеев-Ресовский Н., Маленков А. Наследие, ждущее наследников. - Знание-Сила, I983, № 2, с. 38.
7. Timoféeff-Ressovsky N.W., Zimmer K.G., Delbrück M. Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. Nachr. Ges. Wiss. Gottingen, 1935, VI. N.F. I, p. 189.
8. Timoféeff-Ressovsky N.W. Experimentelle Mutationsforschung in der Vererbungslehre. Leipzig, S. Hirzel. 1937.
9. Schrödinger E. What is life? The physical aspect of the living cell. Cambridge Univ. Press, NY, 1945.
10. На пути к теоретической биологии. I. Пролегомены. (пер. с англ.). Мир, М., I970.
11. Timoféeff-Ressovsky N.W. Zur Frage der Beziehung zwischen strahlenausgelösten Punkt- und Chromosomenmutationen bei Drosophila. - Chromosoma, 1939, 1, p. 310.
12. Catsch A., Radu G. Über die Abhängigkeit der röntgeninduzierten Translokationsrate vom Reifezustand der bestrahlten Gameten bei Drosophila melanogaster. Die Naturwissenschaften, 1943, 31, p. 368.
13. Catsch A., Peter O., Welt P. Vergleich der chromosomenmutationsauslösende Wirkung von Röntgenstrahlen und schnellen Neutronen bei Drosophila melanogaster. Die Naturwissenschaften, 1944, v. 32, p. 230.

14. Catsgh A., Kanellis A., Radu G., Welt P. Über die Auslösung von Chromosomenmutationen bei Drosophila melanogaster mit Röntgenstrahlen verschiedener Wellenlänge. - Die Naturwissens haften, 1944, v. 32, p. 228.
15. Catsch A. Versuche an Drosophila über die Dosisabhängigkeit strahleninduzierter Chromosomenmutationen. - Zeitschrift für Vererbungslehre, 1948, v. 82, p. 155.
16. Catsch A., Panschin I.B. Uber die Entstehung der Chromosomenmutationen. - Zeitschrift für Vererbungslehre (nicht veroffentlicht).
17. Gamow G. Possible mathematical relation between deoxyribonucleic acid and protein structure. - Kgl. Dansk. Videnskab. Selskab. Biol. Medd., 1954,v. 22, p. 1.
18. Плишкин Ю.М., Лучник Н.В., Талуц Г.Г. К вопросу о спиральном строении молекул дезоксирибонуклеиновой кислоты и механизме их самовоспроизведения. - Биофизика, 1959, т. 4, с. 275.
19. Тимофеев-Ресовский Н.В. О механизмах авторепродукции элементарных клеточных структур. I. Из истории вопроса. - Цитология, 1960, т.2, с. 45.
20. Лучник Н.В., Плишкин Ю.М., Талуц Г.Г. О механизмах авторепродукции элементарных клеточных структур. II. Физические основы спиралевидной формы некоторых макромолекул и возможный механизм авторепродукции дезоксирибонуклеиновой кислоты.-Цитология, 1960, т.2, с. 57.
21. Зырянов П.С. О механизмах самовоспроизведения элементарных клеточных структур. III. О природе сил взаимодействия между хромосомами.-Цитология, 1960, т.2, с. 62.
22. Орлов А.Н., Фишман С.Н. О механизме авторепродукции элементарных клеточных структур. IУ. Об одном возможном механизме репликации цепочечных молекул. - Цитология, 1960, т. 2, с. 68.
23. Зырянов П.С. О природе сил взаимодействия между хромосомами. - Биофизика, 1961, т.6, с. 495.
24. Лучник Н.В. О последовательности нуклеотидов в триплетах рибонуклеиновой кислоты, определяющих включение аминокислот в белки. - Биохимия, 1962, т.27, с. 1032.

25. Лучник Н.В. Статистический анализ проблемы аминокислотного кода. - Труды Института биологии УФАН СССР, Свердловск, 1963, вып. 37.

26. Belozersky A.N., Spirin A.S. A correlation between the composition of deoxyribonucleic and ribonucleic acids. - Nature, 1960, v. 182, p. 111.

27. Chargaff E. Isolation and composition of the deoxypentose nucleic acids and of the corresponding nucleoproteins. - In: The nucleic acids, Chargaff and Davidson. v. I, p. 307, Academic press, NY, 1955.

28. Beadle G.W., Tatum E.L. Genetic control of biochemical reactions in Neurospora. - Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 1941, v. 27, p. 499.

29. Horowitz N.H., Leupold U. Some recent studies bearing on the one gene - one enzyme hypothesis. - Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1951, v. 16, p. 65.

30. Luria S.E., Delbrück M. Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. - Genetics, 1943, v. 28, p. 491.

31. Александров В.Я. Несколько слов в пользу добрососедских отношений или что такое феноменология. - Цитология, 1981, т. 23, с. 965.

32. Лучник Н.В. Природа первичных цитогенетических лучевых повреждений и каталитическая активность хромосом. - Доклады АН СССР, 1959, т. 126, с. 1168.

32. Luchnik N.V., Porjadkova N.A. Isolabelling is a radiation-induced phenomenon. - Chromosoma, 1977, v. 63, p. p. 11.

34. Luchnik N.V. The chromosome cycle of DNA. -Studia Biophysica, 1971, v. 27, p. 157.