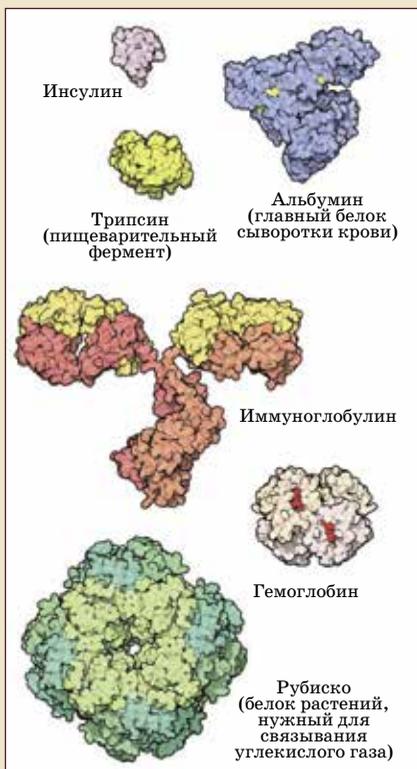


Марина Молчанова



Фредерик Сенгер
(1918–2013)



Некоторые важнейшие белки

«Жизнь есть текст». Эту фразу разные люди толкуют по-разному – например, что мы пишем свою жизнь как книгу. Но для биологов и химиков жизнь является текстом в самом конкретном смысле. Потому что основы жизни зашифрованы в строении определённых молекул, где одни и те же звенья – буквы наших текстов – располагаются одно за другим в том или ином порядке. Научившись определять последовательность звеньев, мы можем «читать» молекулы так же, как читаем последовательность букв в тексте. И, читая их, узнаём всё новые вещи о нашем здоровье и болезнях, о нашем происхождении, о наших внешних и внутренних чертах.

На звание «главных для жизни» претендуют два типа молекул.

Во-первых, это *белки*. Именно белки служат основным «строительным материалом» наших клеток. Но белки – это и ферменты, которые ускоряют процессы в организме, и иммуноглобулины, участвующие в работе иммунной системы, и сигнальные и транспортные молекулы, и многое, многое другое. Трудно представить себе такие события внутри и снаружи живых клеток, в которых не принимали бы участие белки.

Во-вторых, это *нуклеиновые кислоты* – ДНК и РНК. Хотя, может быть, всё-таки именно про ДНК надо сказать «во-первых», а про белки – уже «во-вторых». Ведь именно в ДНК записана вся наследственная информация – значит, от неё зависит, какими будут белки в каждом конкретном организме.

И белки, и ДНК – это линейные молекулы, где звенья следуют одно за другим, образуя длинную цепочку. В остальном они непохожи. И тем более удивительно, что умением «читать» и цепочки белков, и цепочки ДНК мы обязаны одному и тому же человеку. Это Фредерик Сенгер (Frederick Sanger), единственный учёный, который дважды получил Нобелевскую премию по химии: как раз за чтение белков и ДНК.

ЧЕЛОВЕК, КОТОРЫЙ НАУЧИЛ НАС ЧИТАТЬ

ВЕЛИКИЕ УМЫ

Сенгер родился в английской деревне в 1918 году. Его семья была достаточно обеспеченной и смогла дать детям образование. И поскольку Фредерик закончил школьную программу с опережением на год, в последний год у него было время для работы в лаборатории под руководством учителя химии. Именно тогда он всерьёз задумался о научной карьере. В 1936 году Сенгер поступил в один из колледжей Кембриджского университета. С математикой и физикой у него было не очень хорошо, а вот химия, биохимия и физиология увлекли его по-настоящему.

Из-за своего религиозного воспитания Сенгер был принципиальным противником войн (кстати, именно в компании антивоенных активистов он познакомился со своей будущей женой) и в 1939 году отказался от военной службы – может быть, это спасло ему жизнь, ведь Вторая мировая война была совсем близко. Так что некоторое время он занимался социальной работой и при этом готовился к будущим научным изысканиям.

С самого начала работа Сенгера касалась белков, про которые тогда знали совсем мало. И в 1943 году он начал исследования структуры инсулина, которые позже принесли ему славу и первую Нобелевскую премию.

Затем Сенгер долго занимался изучением молекул РНК. Его группа получила немало интересных результатов, но в 1970-е годы эти результаты были заслонены более поздним его достижением: изобретением метода чтения ДНК, который за считанные годы изменил весь пейзаж молекулярной биологии и генетики. Закономерно, что и за это достижение Сенгер был удостоен Нобелевской премии – в 1980 году.

Впрочем, в 1983 году Сенгер отошёл от активной научной работы и в дальнейшем жил недалеко от Кембриджского университета, возделывая свой сад. Но в нескольких милях от его дома вскоре был основан институт, названный его именем и позднее при-



Колледж Св. Иоанна
в Кембридже.
Здесь Сенгер учился.



Институт Сенгера



Сенгер в старости

нимавший активное участие в реализации проекта «Геном человека».

Сенгер умер в 2013 году, в глубокой старости. Все его коллеги говорили, что он обладал исключительной научной добросовестностью и при этом был – что сейчас нечасто встречается – равнодушен к почестям. Про себя Сенгер говорил, что он «просто парень, который возился в лаборатории» и к тому же «не отличался блестящими успехами в учёбе».

ЧТЕНИЕ БЕЛКА

Молекулы белков – цепочки, состоящие из 20 различных типов звеньев (эти звенья называются *аминокислотами*). Самых звеньев может быть от десятков до многих тысяч – всё зависит от конкретного белка. Конечно, начинать чтение имело смысл с самых простых белков. И Сенгер выбрал инсулин. Вы, наверное, слышали об этом веществе: это гормон, который важен для обмена глюкозы, и при его недостатке развивается тяжёлая болезнь – сахарный диабет.

В бычьем инсулине, который изучал Сенгер, две цепочки: в одной 21 аминокислота, в другой 30. Сенгер легко отделил эти цепочки одну от другой, но что делать дальше? Ведь не было способов «отщеплять» аминокислоты по одной с концов молекулы, чтобы узнать, что за чем следует. А если разрушить цепочку полностью, до единичных звеньев, то мы узнаем, какие аминокислоты в ней есть и в каком количестве, но не узнаем, где какая расположена.

Поэтому Сенгер действовал так. Он нашёл особый ярко-жёлтый реактив, которым можно «пометить» определённый конец любой цепочки аминокислот. Далее, он «нарезал» каждую из цепей инсулина на более короткие – то есть разрушал молекулу, но не полностью. А затем он разделял короткие фрагменты двумя разными методами в двух разных направлениях на листе фильтровальной бумаги. Разные фрагменты перемещались в разные места, создавая картину, которую Сенгер назвал «отпечатками паль-



Структура инсулина.
Видны две связанные цепи.

цев». При этом концевой фрагмент был хорошо виден по жёлтой метке. По-разному нарезая цепочки инсулина, сверяя одни «отпечатки пальцев» с другими, каждый раз определяя аминокислоты на концах фрагментов с помощью той же самой жёлтой метки, сверяя перекрывающиеся кусочки и собирая их в более длинные, Сенгер после долгой и кропотливой работы установил последовательности аминокислот в обеих цепях.

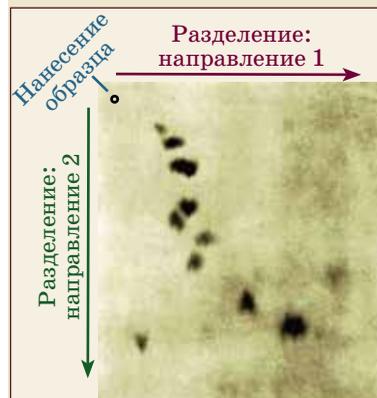
Метод был не слишком удобным. Но основная заслуга Сенгера была не в разработке метода и даже не в том, что он узнал, как устроен инсулин. Главное – он показал, что молекула белка имеет совершенно определённый состав (раньше это не всем было очевидно!), определённую последовательность аминокислот, причём для каждого белка эта последовательность уникальна. А значит, можно и нужно определять последовательности и для других белков. Более того – вскоре учёные выяснили, что эти последовательности определяются ДНК. И это стало одной из основ современной биохимии.

ЧТЕНИЕ ДНК

Молекулы ДНК построены совсем не так, как молекулы белков. В «алфавите» ДНК не 20, как у белков, а всего четыре буквы: А (аденин), Г (гуанин), Ц (цитозин) и Т (тимин). И всё разнообразие жизни закодировано различными последовательностями этих четырёх букв¹.

При этом в каждую молекулу ДНК входит не одна, а две нити, но одна из них полностью определяет другую: напротив Г в одной цепочке всегда стоит Ц в другой (и наоборот), а напротив А стоит Т (и наоборот). Это нужно для того, чтобы при делении клетки можно

¹ Задумав эту статью, автор предложила своим друзьям задачу: попробуйте составить какую-то осмысленную фразу на русском языке, где было бы всего четыре различные буквы (не считая пробелов и знаков препинания). Достаточно длинной и складной фразы ни у кого не получилось, но были удачные примеры: скажем, «пила пилила-пилила, и липа пала» или «о нет, не тонет енот». Попробуйте и вы! К счастью, словарь природы богаче нашего.



«Отпечатки пальцев»



Молекула ДНК имеет структуру двойной спирали

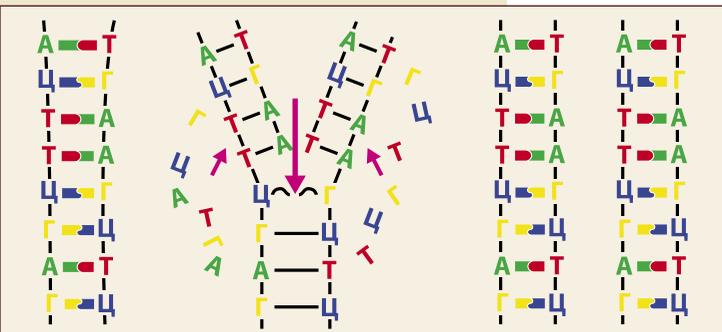


Рис. 1. Так ДНК при делении клетки копирует сама себя.

было легко получить точную копию любой молекулы ДНК: она разделяется на две нити, и на каждой однозначно достраивается вторая (рис. 1).

Как и в случае с белками, для чтения ДНК хотелось бы отщеплять по одной или по несколько «букв» с конца и анализировать, какую же букву мы отделили. Но опять-таки не было способа эффективно это сделать. Зато химики уже умели,

имея одну нить ДНК, синтезировать на ней вторую. И гениальная идея Сенгера заключалась в том, что для чтения не надо разрушать – надо строить! Мы будем на одной нити ДНК строить вторую и на разных этапах смотреть, что же мы такое построили.

Итак, берём четыре пробирки. Помещаем в них одну и ту же нить ДНК и строим на ней вторую. Для этого в каждую пробирку подливаем смесь «букв» А, Г, Ц и Т. Но, чтобы останавливать этот процесс на промежуточных стадиях, добавляем туда ещё и немножко изменённые «буквы» – изменённые так, чтобы после них цепочка ДНК уже не могла наращиваться. Изменённую букву А' добавим в первую пробирку, Г' – во вторую, Ц' – в третью, Т' – в четвёртую.

Что же мы получим? В каждой пробирке будет смесь из недостроенных молекул ДНК. Но в первой пробирке будут все возможные варианты «недостроя», которые кончаются на А (точнее, на А'). Во второй – на Г, в третьей – на Ц, в четвёртой – на Т.

И дальше можно просто разделить получившиеся молекулы и сравнить их длины одновременно по всем четырём пробиркам. Например, если самая длинная молекула получилась в пробирке с А', следующая по длине – в пробирке с Т', а две следующие за ней – в пробирке с Ц', то это значит, что в конце у нас есть последовательность букв ...ЦЦТА. Так мы, двигаясь от самых длинных недостроенных цепей к самым коротким, находим всю последовательность букв. Оста-



Первая бумажная распечатка человеческого генома (Лондон, Wellcome Collection)

ЧЕЛОВЕК, КОТОРЫЙ НАУЧИЛ НАС ЧИТАТЬ

ВЕЛИКИЕ УМЫ

ётся только получить исходную последовательность ДНК, везде заменив Г на Ц, а А – на Т (и наоборот).

Молекулы ДНК разделяют по длине с помощью метода, который называется *гель-электрофорезом*. Длинные молекулы медленнее движутся в электрическом поле (им труднее «протиснуться» через гель), короткие – быстрее. А если пометить конец молекулы светящейся группой или радиоактивным атомом и нанести содержимое четырёх пробирок на четыре разные дорожки, то легко видеть положение разных кусочков ДНК после электрофореза – это будет «лессенка» типа изображённой на рисунке 2.

Фрагмент молекулы, который здесь проанализирован, имеет последовательность (от конца к началу)

...АТААААААЦТЦАГААЦГГЦТТЦГТА...

А значит, «парная» нить, на которой мы строили этот фрагмент, имеет последовательность

...ТАТТТТТТГАГТЦТТГЦЦГААГЦАТ...

Всё!!!

Конечно, остаются технические сложности. Но в целом метод Сенгера оказался таким эффективным и изящным, что сохранил своё значение до наших дней.

А если нам нужно определить последовательность очень-очень длинного куска ДНК, то и здесь выход есть: нарезаем его на куски особыми ферментами (эти ферменты называются *рестриктазами*) и каждый кусок анализируем по Сенгеру. Потом, чтобы понять, какой кусок следует за каким, нарезаем другой рестриктазой в других местах и смотрим, как именно наши куски перекрываются. Не так и сложно.

Сейчас амбиции молекулярных биологов велики как никогда (вспомним хотя бы о проекте «Геном человека»), поэтому методы определения последовательностей ДНК постоянно совершенствуются и автоматизируются. Но мы всегда будем помнить, сколь многим нынешние успехи генетики обязаны скромному английскому гению, который «просто возился в лаборатории».

Фото предоставлены автором

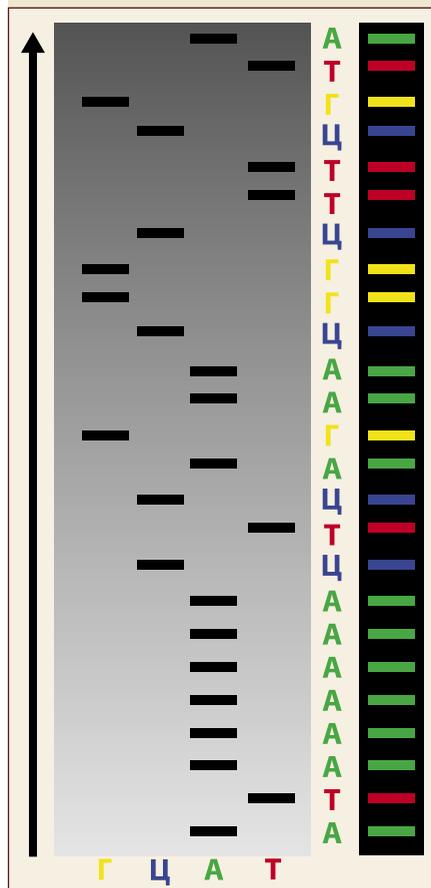


Рис. 2



Современный автоматизированный прибор для чтения ДНК