

Значение открытия структуры ДНК для молекулярной генетики и сельского хозяйства

*Н.А. Сивожелезова, д.с.-х.н., профессор, Оренбургский ГАУ;
В.Н. Мишакова, к.п.н., ИПКиППРО ОГПУ*

В 1953 г. Джеймс Уотсон (американский биохимик) и Френсис Крик (английский физик), опираясь на известные научные работы в области нуклеиновых кислот, предложили модель ДНК. В своих исследованиях учёные постарались свести воедино все имевшиеся сведения о ДНК, как физико-химические, так и биологические. В результате многолетней научной работы была выдвинута гипотеза, согласно которой ДНК состоит из двух полинуклеотидных нитей, соединённых водородными связями и взаимно закрученных друг относительно друга. Это было простым объяснением многих загадок функционирования ДНК как генетической матрицы.

Определение структурной модели ДНК явилось рубежом, после которого начался невиданный расцвет молекулярной генетики: синтез РНК и ДНК, расшифровка генетического кода, геномная инженерия, секвенирование геномов и, наконец, постгеномные технологии.

Открытие структуры ДНК было очень важным не только для биологов. Одно из крупнейших открытий человечества было сделано так, что совершенно невозможно сказать, какой науке оно принадлежит, — так тесно слились в нём химия, физика и биология. Этот сплав наук и есть самая яркая черта открытия Крика и Уотсона [1, 2].

В работах последователей школы А.Н. Белозерского, направленных на исследование специфичности нуклеиновых кислот, показано, насколько универсальны закономерности нуклеотидных отношений в молекуле ДНК, которые были открыты Э. Чаргаффом на основании изучения ДНК ограниченного количества представителей органического мира. Был обследован нуклеотидный состав ДНК различных бактерий, актиномицетов, грибов, водорослей, высших растений, позвоночных и беспозвоночных животных. Вывод, полученный в результате исследований, в настоящее время общепризнан: ДНК всего органического мира, всех — и низших, и высших его форм, складывается в основном из одних и тех же четырёх нуклеотидов, причём молекула ДНК у всех организмов построена по одному и тому же типу, и в основе её строения лежат одни и те же закономерности нуклеотидных отношений — так называемые правила Чаргаффа [1–4]. Специфическая, уникальная последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК лежит в основе специфичности биохимических структур, поскольку эта последовательность составляет матрицу для биосинтеза белка [5].

Описание модели ДНК предопределило дальнейшее развитие биологии и не только таких её направлений, как молекулярная биология и биотехнология. На теоретических сведениях о нуклеиновых кислотах базируются селекция, гибридизация, выведение новых пород животных, сортов растений, штаммов микроорганизмов [4].

Изучение нуклеиновых кислот имеет не только большое познавательное значение. Оно является инструментом, с помощью которого можно изменить природу, проникнуть в её самые сокровенные тайны. Знания о нуклеиновых кислотах помогают учёным решать проблемы плодородия, развития новых технологических процессов, предупреждения и лечения заболеваний. Селекция, гибридизация, отбор — эти давно знакомые нам понятия получили развитие благодаря внедрению научных методов в практику [1]. Исследования нуклеиновых кислот в организме способствовали выведению новых сортов пшеницы, овощей, фруктов, новых пород скота, позволили повысить урожайность растений и производительность животных. В настоящее время разработаны принципиально новые биотехнологические процессы для получения различных биохимических соединений, используемых в медицине, сельском хозяйстве и промышленности.

Выведение новых пород животных и сортов растений — всё это базируется на теоретических сведениях о молекуле ДНК. В области теории и практики сельского хозяйства используют методы молекулярной биологии. Знания о нуклеиновых кислотах помогают понять и сущность многих заболеваний растений, в частности вирусной этиологии, т. е. заболеваний, причиной которых является заражение растений вирусами. Это даёт возможность эффективно применять соответствующие способы действенной профилактики и лечения таких заболеваний. Одним из наиболее ярких примеров является поражение листьев табака вирусом табачной мозаики. Научный подход к проведению профилактических мероприятий, направленных на предотвращение развития вирусной инфекции и лечение вирусных болезней растений, позволяет значительно сократить потери сельскохозяйственной продукции, повысить производительность труда в сельском хозяйстве.

В животноводстве и ветеринарии используются все те же принципы и приёмы, основанные на применении знаний о нуклеиновых кислотах, как и при расшифровке причин болезней человека, диагностике и лечении их. В последнее время появилось новое направление науки, которое даст возможность непосредственно вмешиваться в генетический аппарат клетки и эффективно на него влиять. Это направление называется генной инженерией. Генная инженерия — новое направление науки, имеющее приложение как в медицине [4], так и в сельском хозяйстве. Применение методов генной инженерии, по-видимому, заключается в улучшении традиционных микробиологических процессов создания принципиально новых микробиологических соединений. Оно делает возможным не только быстрое создание новых сортов растений и пород животных, но и в некотором роде их замену [1].

Генная инженерия — это искусственное создание нового генетического аппарата клетки,

имеющего нужные для человека свойства. Она включает систему методов, с помощью которых создаются рекомбинантные молекулы ДНК, представляющие собой искусственные генные структуры, что даёт возможность передавать генетическую информацию от одного организма другому, не родственному ему по генетическим свойствам. Это, по существу, разработка технологии рекомбинантных ДНК. 1972 г. считается годом рождения генной инженерии. В этом году П. Берг, впоследствии удостоенный звания лауреата Нобелевской премии, вместе с сотрудниками в Стэнфордском университете (США) впервые получил гибридную молекулу ДНК. В 1973 г. Э. Чанг и С. Коэн (Великобритания), а также Х. Бойер и Р. Хеллинг (США) впервые получили в пробирке биологически функциональные молекулы ДНК, содержащие генетическую информацию из двух разных источников.

Передача участка ДНК из одного генома микроорганизмов в другой с участием плазмид в качестве переносчиков состоит из расщепления ДНК и включения части её в молекулу ДНК-носитель. Расщепление и включение генетического материала в ДНК осуществляется за счёт применения рестриктаз и лигаз, ферментов, фрагментирующих и сшивающих нуклеиновые кислоты. Функция лигаза заключается в синтезе фосфодиэфирной связи между соседними нуклеотидами. ДНК-лигаза не может соединить две молекулы одноцепочечной ДНК. Нити ДНК, соединяемые ДНК-лигазой, должны быть частью двухцепочечной молекулы ДНК. Она образует связь только в том случае, если вблизи от места разрыва имеется хотя бы несколько пар оснований. Известно, что концы молекул ДНК у некоторых бактериальных вирусов могут соединяться путём образования пар оснований между комплементарными последовательностями нуклеотидов, которые находятся на концах одноцепочечных участков: аденин соединяется с тиминном, а гуанин — с цитозином, и молекулы удерживаются вместе водородными связями между парами нуклеотидов. Фермент концевая трансфераза катализирует присоединение ряда идентичных нуклеотидов специфически на 3'-концах одиночных цепей ДНК. Использование комплементарных соединений оснований и концевой трансферазы позволило соединить концы ДНК с помощью ДНК-лигазы. Попадая в организм-носитель, чужеродная молекула ДНК начинает реплицироваться так же, как и ДНК клетки-хозяина.

Например, с помощью плазмид можно вводить фрагмент ДНК одного вида бактерий (золотистого стафилококка) в ДНК другого вида (кишечной палочки). После этого введения гены плазмид от неродственного вида бактерий (золотистого стафилококка) находятся в клетке кишечной палочки, где они проявляют биологические свойства исходного вида.

Проведены были также эксперименты с введением в кишечную палочку некоторых генов лягушки. Это означает, что ДНК прокариот можно комбинировать с ДНК эукариот. Учёные выделяют четыре основных условия проведения генно-инженерных исследований:

1. Расщепление и соединение молекул ДНК, полученных из разных источников.
2. Наличие удобного носителя генов, который может реплицировать как себя самого, так и связанный с ним участок чужеродной ДНК.
3. Наличие удобного введения комбинированной молекулы ДНК в живую бактериальную клетку.
4. Наличие отбора из большой популяции клеток тех из них, в которых прижилась комбинированная молекула ДНК.

С помощью генной инженерии, позволяющей нарабатывать в бактериальной клетке индивидуальные фрагменты любой чужеродной ДНК, в частности ДНК из животных клеток, можно выделить, накопить и исследовать индивидуальные гены.

Технология рекомбинантных молекул ДНК позволяет выделять сегменты ДНК и воспроизводить их в бактериях. Это даёт возможность получить требуемые сегменты ДНК в количествах, достаточных для детального их изучения и практического использования. Такой подход даёт возможность встраивать ДНК и добиваться синтеза белка, кодируемого данной ДНК, в промышленных количествах.

С помощью методов генной инженерии синтезирован ген, кодирующий лимфотоксин — белок, убивающий опухолевые клетки и при этом не оказывающий вредного воздействия на нормальные клетки. Для промышленного производства лимфотоксина кодирующий его ген вводят в бактериальную клетку кишечной палочки. Скорость продуцирования клеткой кишечной палочки в 500 раз выше, чем культурой лимфоцитов.

Возможность встраивания участка ДНК млекопитающих в ДНК бактерии кишечной палочки была использована для промышленного синтеза гормона поджелудочной железы инсулина. Инсулин применяется в медицине для лечения сахарного диабета. Раньше инсулин, применявшийся для медицинских целей, получали из поджелудочной железы животных. Сейчас источником получения инсулина выступает кишечная палочка. Отправной точкой этого исследования стала опухоль поджелудочной железы, выделяющая большое количество инсулина.

Ещё одним примером практического применения генной инженерии является химически синтезированный ген пептидного гормона соматостатина, выраженный также в клетках кишечной палочки. Учеными-биологами была получена последовательность молекулы ДНК, кодирующей овальбумин куриного яйца, которую экспрессировали в клетках кишечной палочки.

В настоящее время ещё сохраняется большая потребность в недорогих и безопасных вакцинах, которые представляют собой, по сути дела, белок. Именно с помощью генной инженерии инфекционные агенты, способные использовать в качестве носителей молекулы ДНК, кодирующей другие антигены, можно так изменить, чтобы свести к минимуму случаи осложнений. Вакцинация необходима для профилактики многих заболеваний. Применение генной инженерии при разработке вакцин является перспективным, так как даёт возможность бороться со многими ещё распространёнными сейчас инфекциями.

Использование таких вакцин в борьбе с оспой при массовой вакцинации населения в развивающихся странах принесло огромный успех. Частота развития осложнений при вакцинации не превышала 1 человека на 300 000 вакцинированных, что гораздо меньше, чем при использовании обычных вакцин. Потенциальная выгода, которую даёт такой подход в вакцинации, несоизмеримо больше по сравнению с отмеченным недостатком и гораздо выше, чем при вакцинации обычными вакцинами. Тем не менее, совершенствуя препарат, учёные работают над повышением его безопасности, чтобы свести к нулю риск возникновения осложнений. Используются генно-инженерные вакцины и в ветеринарии. Например, в бактерии кишечной палочки была внесена молекула ДНК, кодирующая белок вируса ящура, — болезни, поражающей крупный рогатый скот и приносящей огромные убытки животноводам. Однако вакцинация вирусами с пониженной активностью часто сопровождается развитием различных осложнений, например развитием инфекционного заболевания в тяжелой форме.

Сегменты ДНК, введённые в бактерию кишечной палочки, стали в огромных количествах продуцировать белок вируса ящура, который используют для иммунизации животных. С применением такого белка удалось защитить крупный рогатый скот от заболевания ящуром. Использование этого препарата вместо вакцины имеет много преимуществ. В нём не содержатся вирусные частицы, которые способны вызвать инфекцию, он практически безвреден. Сейчас существует возможность внесения участков ДНК, кодирующих несколько различных антигенов, в бактериальный геном с последующим проявлением действия внесённого участка ДНК. Получены штаммы некоторых бактерий, которые при приёме их в виде микстуры или капсул могут размножаться в кишечнике и образовывать колонии. Если ввести в такие бактерии молекулы ДНК, кодирующие чужеродные антигены, то такой подход будет чрезвычайно перспективен в борьбе с кишечными инфекциями типа холеры [2]. Огромное преимущество использования вирусов и бактерий заключается в возможности однократного их применения. Затем они будут самостоятельно размножаться в кишечнике боль-

ного до полного его выздоровления. Благодаря применению таких препаратов можно будет путём одноразового введения вакцины обеспечить длительный иммунитет. Кроме того, эти препараты отличаются высокой стабильностью и стоимость их производства невелика.

Теория нуклеиновых кислот позволила на практике управлять геномным аппаратом на уровне молекул, на уровне клеток, организма и популяции в целом. Человек приобретает могущественный способ воздействия на природу, по своим социально-экономическим последствиям сравнимый с последствиями приручения силы атомной энергии.

С развитием генной инженерии коренным образом изменилась возможность проникновения в глубь биологических, и в частности генетических, явлений. Открытие перспектив управления наследственным материалом, манипулирования генетическими молекулами явилось важнейшим следствием, а теперь уже и целью изучения строения и функционирования нуклеиновых кислот. Это открытие привело к тому, что биология, вслед за химией и физикой, оказалась включённой в научно-технический прогресс.

Достижения генной инженерии используются в новой отрасли промышленности — биотехнологии. В перспективе возможно создание организмов с совершенно новыми генетическими качествами, ранее не встречавшимися на Земле и эволюционно не обусловленными [2, 4, 6]. В этом таится и опасность генной инженерии, так как последствия такого рода экспериментов предсказать чрезвычайно трудно. Поэтому развитие ряда сфер генной инженерии временно даже приостановлено. Например, в своё время намечались эксперименты по введению специфических раковых вирусов, вызывающих опухоли у мышей и хомяков, в бак-

териальные клетки кишечной палочки. Кишечная палочка постоянно обитает в кишечнике человека в нормальных условиях. В естественном виде и этот вирус, и бактерии безвредны для человека. Однако вызывает беспокойство то, что с течением времени гибридная бактерия может оказаться за пределами экспериментальной среды и внести раковый вирус в живую клетку человека. Поэтому П. Берг, в лаборатории которого должны были проводиться эти эксперименты, решил временно отказаться от них [2, 4].

Генная инженерия открывает широкие перспективы изменения наследственных свойств различных организмов: бактерий, вирусов, растений, животных. Эти организмы приобретают свойства, которые можно эффективно использовать в медицине [5], сельском хозяйстве и других сферах народного хозяйства. Однако достижения генной инженерии, как утверждают учёные, следует использовать разумно, не нарушая экологического равновесия в природе. Произвольное изменение генетического материала способно так нарушить взаимоотношения видов животных, растений, микроорганизмов, что последствия этого вмешательства станут катастрофой для человечества [2].

Литература

1. Капица С.П., Курдюмов С.П., Малинецкий Г.Г. Синергетика и прогнозы будущего. М., 2001. С. 97.
2. Коницев А.С., Севастьянова Г.А. Молекулярная биология: учеб. пособие. 2-е изд., испр. М.: Академия, 2005. 400 с.
3. Белозерский А.Н.. Нуклеиновые кислоты // Второй Всесоюзный биохимический съезд. Ташкент, 1969.
4. Мишакова В.Н., Раимова Е.К., Нефедова В.Н. Генотипический и фенотипический полиморфизм // Биология в школе. 2011. № 8. С. 14–25.
5. Уотсон Дж. Д. Двойная спираль: воспоминания об открытии структуры ДНК. М.: Мир, 1969. 152 с.
6. Агол В.И., Богданов А.А., Гвоздев В.А. Молекулярная биология: структура и биосинтез нуклеиновых кислот: учеб. для вузов по спец. «Биология» / под ред. А.С. Спирина. М.: Высш. школа, 1990. 351с.