

НОВИЙ ПОГЛЯД НА РНК: ВІДКРИТТЯ СІДНІ ОЛТМЕНА І ТОМАСА ЧЕКА 1989 РОКУ

М. В. ГРИГОР'ЄВА[✉], В. М. ДАНИЛОВА, С. В. КОМІСАРЕНКО

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
✉ e-mail: mvgrigorieva@biochem.kiev.ua

Отримано: 23 червня 2020; Затверджено: 25 червня 2020

Нобелівським лауреатам із хімії 1989 р. Сідні Олтмену та Томасу Чеку належить одне з найважливіших відкриттів у молекулярній генетиці. Незалежно один від одного вони продемонстрували нові експериментальні докази того, що молекули РНК можуть не просто передавати генетичну інформацію від ДНК, але й за певних умов проявляти ензиматичні (каталітичні) властивості. Виявилось, що функції, виконання яких раніше відводили виключно протеїновим ензимам, можуть виконувати також і РНК, названі рибозимами. Згодом рибозими стали новим інструментом в генній інженерії, біохімії, біотехнології та медицині.

Ключові слова: Сідні Олтмен, Томас Чек, каталітичні властивості РНК, рибозими, сплайсінг, ендонуклеази.

Як відомо, процес передачі спадкової інформації є визначальним для існування усього живого. За спрощеною схемою реалізація цього процесу відбувається шляхом переписування інформації з ДНК на РНК і далі на протеїни, але, насправді, передавання інформації є надзвичайно складною системою і реалізується завдяки величезній кількості механізмів.

Так, раніше вважалося, що нуклеїнові кислоти ДНК і РНК є виключно носіями генетичної інформації, тоді як протеїни у формі ензимів каталізують хімічні процеси життєдіяльності. Погляди науковців на генетичну інформацію (спадковість) та функціонування (біокаталіз) в живих клітинах змінився завдяки відкриттю каталітичних властивостей РНК Сідні Олтменом і Томасом Чеком.

Далі наводимо важливі біографічні факти цих дослідників та історію їхнього відкриття.

Сідні Олтмен

Сідні Олтмен (англ. *Sidney Altman*) народився в 1939 році в Монреалі. Для Сідні та його сім'ї, бідних емігрантів із Радянського Союзу, Канада стала країною реальних можливостей



Сідні Олтмен (1939)

для покращення свого життя. Батьки Сідні вважали, що наполеглива праця в стабільних умовах завжди принесе результат, навіть якщо до нього наближаєшся невеликими кроками. Для першого покоління дітей Олтменів, народжених у Канаді, цей шлях можливостей почався з отримання освіти.

Сідні згадував, що дві незабутні події зумовили його інтерес до науки, першою з яких стала поява атомної бомби. Ця подія вразила його неймовірно. Друга подія сталася приблизно через сім років, коли до рук Сідні потрапила книга про періодичну таблицю хімічних елементів, в якій він вперше побачив «витонченість наукової теорії та її прогностичну силу» [1].

Після здобуття середньої освіти та закінчення коледжу Сідні мав намір вступити до університету Макгілла, але неочікувана серія подій привела його в Массачусетський технологічний інститут, де він почав вивчати фізику. Там він пережив «чотири роки надмірного стимулювання серед блискучих, зухвалих і завзятих однолітків та видатних учителів» [1]. Його дипломною роботою з ядерної фізики керував Лі Гродзінс, який допомагав у проведенні досліджень, а згодом їхня співпраця переросла в дружбу.

Під час свого заключного семестру в Массачусетському технологічному інституті Сідні пройшов короткий вступний курс молекулярної біології, який викладав Сайрус Левінталь. Завдяки цьому Сідні отримав базове уявлення про нуклеїнові кислоти та молекулярну генетику, тобто був вже підготовленим до майбутніх зустрічей з цією тематикою.

У 1960 році Сідні Олтмен отримав ступінь бакалавра з фізики в Массачусетському технологічному інституті. Далі, як аспірант із фізики, він провів вісімнадцять місяців у Колумбійському університеті в Нью Йорку (1960–1962 рр.), чекаючи можливості попрацювати в лабораторії і розмірковуючи над тим, чи варто взагалі продовжувати вивчати фізику. Після марних пошуків наукової роботи в Колумбійському університеті, а потім – в Колорадо, Олтмен зустрівся з відомим фізиком Георгієм Гамовим (1904–1968), який першим зробив розрахунок генетичного коду. Останній познайомив його з Л. Лерманом, який займався в Медичному центрі університету Колорадо інтеркаляцією (вбудовуванням) молекул акридинів в молекулу ДНК. Так сталося посвячення Сідні в біохіміки/біофізики. Після роботи в літній програмі в Колорадо він починає працювати під керівництвом Леонарда Лермана над інтеркаляцією акридинів у ДНК вже як біофізик в Медичному центрі університету Колорадо в Боулдері, де в 1967 році захищає дисертацію та отримує науковий ступінь з біофізики.

Після роботи з вивчення впливу акридинів на реплікацію ДНК бактеріофага T4 Олт-

мен перейшов працювати в лабораторію Метью Месельсона в Гарвардському університеті, де протягом 1967–1969 рр. вивчає участь ДНК-ендонуклеази в процесах реплікації та рекомбінації ДНК бактеріофага T4.

Два роки потому він стає членом групи, на чолі якої були Сідні Бренер (Нобелівська премія з фізіології і медицини, 2002) і Френсіс Крік (Нобелівська премія з фізіології і медицини, 1962) [2] в Медичній дослідницькій раді Лабораторії молекулярної біології в Кембриджі (Велика Британія). Це місце здалося Олтмену науковим раєм, з приводу чого він писав, що цей період у його житті був неймовірним. Як колишній фізик, він порівняв його з відчуттям еквівалентним тому, як нібито він міг приєднатися до групи Бора в Копенгагені в 1920-х [1] або поспілкуватися з Е. Шредінгером, який у своїй блискучій книзі «Що таке життя? Фізичний аспект живої клітини» зробив вдалу спробу усунути розрив між фізикою і біологією [3].

Олтмен згадував: «Бреннер і Крік зробили щось дуже незвичне в Кембриджі. Вони працювали разом в одному офісі. Я не знаю жодного викладача в США чи Канаді, який би ділився офісом із колегою. У них весь час було бажання спілкуватися між собою та ділитися ідеями. Більшість моїх детальних розмов про науку відбулася із Сідні Бреннером. Він насправді заслужив свого Нобеля ще за кілька десятиліть до того, як був нагороджений» [1].

У лабораторії молекулярної біології Кембриджського університету Сідні розпочав роботу, яка й привела його до відкриття ензиму *рибонуклеази Р* (РНКаза Р) та ензиматичних властивостей РНК-субодиниці цього ензиму.

РНКаза Р – *рибозим* з особливою структурою молекули РНК, що діє в такий самий спосіб, як ензим протеїнової природи. РНКаза Р гідролізує певні послідовності в молекулах РНК, а каталітичною субодиницею цього ензиму є РНК M1.

Робота над РНК почалася як вивчення певних мутантів, які порушували здатність молекул тРНК нормально функціонувати під час трансляції [4]. Це дослідження, в свою чергу, привело до ідентифікації ще однієї стійкої молекули РНК, яка несподівано мала всі властивості ензиму. Вивчаючи каталітичні властивості РНКази Р, Олтмен встановив, що ензим складається зі структурної молекули РНК й одного (в прокариот)

або декількох (в евкаріот) протеїнів. Вважалося, що каталітична активність бактеріальної рибонуклеази, що бере участь в процесі дозрівання транспортних РНК, визначається протеїновою субодиницею. Однак Олтмен і співробітники його лабораторії виявили, що однієї молекули РНК, що входить до складу рибонуклеази, достатньо для здійснення каталітичної активності [5]. Таким чином, було встановлено, що не тільки ензими, але і молекули РНК можуть каталізувати хімічні реакції. Пізніше Олтмен виявив, що в евкаріотичному комплексі РНКаз Р, на відміну від бактеріальної рибонуклеази, протеїнова частина необхідна для каталізу і, що ця протеїнова субодиниця РНКаз Р може змінювати місце розщеплення і впливати на швидкість реакції способом, залежним від природи конкретного субстрату [6, 7].

У 1971 р., після відкриття радіохімічно чистого попередника молекули тРНК, Сідней влаштувався на роботу доцентом Єльського університету в Нью-Хейвені (штат Коннектикут). Згодом, у 1980 р. він обіймає посаду професора, через три роки очолює кафедру (1983–1985 рр.), а потім з 1985 до 1989 р. працює деканом Єльського коледжу. За чотири роки роботи на посаді декана він, за його висловлюванням, набув досвіду, побачив повну панораму людських та академічних проблем, які існують в університетській спільноті, знайшов багато нових друзів. 1 липня 1989 р. Олтмен повернувся до роботи на посаді професора на денній основі.

У 1984 р. Сідні Олтмен отримав громадянство Сполучених Штатів, при цьому зберіг і громадянство Канади.

У 1989 р. за дослідження каталітичної активності РНК Сідні Олтмен отримав Нобелівську премію з хімії, розділивши її з *Томасом Чеком*.

У своїй промові під час вручення Нобелівської премії Сідні Олтмен подякував своїм наставникам і особистим друзям, серед яких перерахував *Леонарда Лермана, Метью Месельсона, Сідні Бреннера та Лі Гродзінса*. Сідні Олтмен також зауважив, що його життя було надзвичай-

но збагачене шлюбом із *Енн Корнер* (вони побралися в 1972 р.). «*Моя дружина – моя колега, наставник і друг у будь-якому відношенні. Вона і наші двоє чудових дітей: Даніель, 1974 р. народження, та Лія, 1977 р. народження, зробили незамінний внесок у будь-який успіх, якого я досяг*» [8].

А наукова і суспільна діяльність Сідні Олтмена продовжуються й дотепер. Так, у 2013 р. його заявка одержала мегагрант у третьому конкурсі мегагрантів. Дослідження на тему «*РНК-спрямовані антибактерійні та антивірусні препарати на основі олігонуклеотидів*» було заплановано провести в Інституті хімічної біології і фундаментальної медицини Сибірського відділення РАН, що й було з успіхом реалізовано.

У 2016 р. він підписав лист із закликом до Greenpeace, Організації Об'єднаних Націй та урядів всього світу припинити боротьбу з генетично модифікованими організмами (ГМО).

С. Олтмен є членом Національної академії наук США, Американської академії наук і мистецтв, Американського філософського товариства і Американської асоціації сприяння розвитку науки (AAAS) тощо.

Підсумовуючи, слід ще раз наголосити, що Сідні Олтмену належить одне з найважливіших відкриттів в молекулярній генетиці. На початку 80-х років *Олтмен і очолювана ним група дослідників вперше довели, що за певних умов молекули РНК виявляють ензиматичні (каталітичні) властивості*. Одночасно ним було одержано нові експериментальні докази того, що *молекули РНК можуть бути носіями генетичної інформації, а не тільки пасивними передавачами її від ДНК*. Відкриття С. Олтмена остаточно затвердило в науці запропоноване ще *Девідом Балтімором* (Нобелівська премія з медицини та фізіології за 1975 рік) нове розуміння механізму спадковості й знайшло практичне застосування в цілому ряді галузей біотехнології. Поряд із цим одержані ним *результати закріпили позиції прибічників концепції природного виникнення життя на Землі, вказавши на молекулу РНК як на першоджерело живої матерії* [9].

Томас Роберт Чек

Томас Роберт Чек (англ. *Thomas Robert Cech*) – американський біохімік народився в Чикаго 8 грудня 1947 р. Його дід Йозеф іммігрував до США з Богемії в 1913 р. Інші його бабусі та дідусі, також чеського походження, були американцями першого покоління. Його батько був і є лікарем, а мати – домашньою господинею.

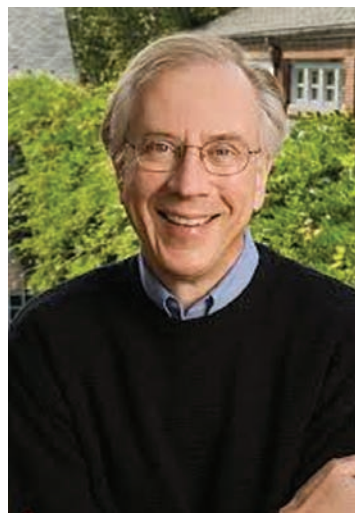
Дитячі роки Томаса Чека, його сестри Барбари і брата Річарда пройшли в школі Айова-Сіті, штат Айова. У четвертому класі Том захопився збиранням гірських порід і корисних копалин, зацікавився процесом їх формування. Він був готовий годинами вивчати кристалічні структури, обговорювати метеорити та скам'янілості, словом, мріяв займатися геологією.

У 1966 р. Томас вступив до приватного Гріннелльського коледжу, відомого своїм серйозним ставленням до науки, новаторською педагогікою та відданістю соціальній справедливості. Там, як він пізніше згадував, він із задоволенням поряд з хімією вивчав «Одіссею» Гомера, «Пекло» Данте та історію конституції Америки. У коледжі він зустрів Керрол Мартинсон, з якою він познайомився «*буквально над апаратом температури плавлення в лабораторії органічної хімії*» [10]. Згодом Керрол стала його дружиною; у шлюбі в них народилися дві доньки – Еллісон (1982 р.) і Дженніфер (1986 р.).

Навчаючись хімії у коледжі, Томас спочатку віддавав перевагу фізичній хімії, але під час виконання бакалаврської роботи в лабораторії Лоуренса Берклі, він переконався, що не виявляє достатньо тривалої уваги до вивчення динаміки та швидкості хімічних процесів газової фази. Пізніше його «*зацікавила біологічна хімія завдяки майже щоденній взаємодії в дослідженнях експериментального дизайну, спостереження та інтерпретації*» [10].

У 1970 р. Томас Чек разом із дружиною працювали на кафедрі хімії у Каліфорнійському університеті (Берклі). Керівник його дисертаційної роботи – Джон Херст – у той час захоплювався дослідженнями структури та функції хромосом. Як зазначив пізніше в своїй лекції Томас Чек, «*ці хромосоми виявилися інфекційними; я від них ще не одужав і не хочу одужувати*» [10].

У 1975 р. Т. Чек і його дружина отримали ступінь доктора наук і перейшли на докторські



Томас Чек (1947)

посади в Кембриджі (штат Массачусетс): Керрол – у Гарварді, а Томас – у Массачусетському технологічному інституті, де зміцнив свої знання з біології в лабораторії *Мері Лу Парду*. У 1978 р. Томас Чек отримав свою першу посаду викладача в університеті Колорадо (Боулдер), де викладав хімію та біохімію і де працює дотепер на кафедрі хімії та біохімії як заслужений професор.

У 2000 р. Т. Чек змінив Пеннела Чоппіна на посаді президента Медичного інституту Говарда Х'юза (Howard Hughes Medical Institute (ННМІ)) в Мериленді. Він також продовжував очолювати свою біохімічну лабораторію – в університеті Колорадо і викладати в ньому. Весною 2009 р. він пішов з посади президента ННМІ, щоб повернутись лише до викладання і досліджень [11].

Основним напрямом досліджень Томаса Чека є *процес транскрипції в ядрі клітин*. Він також вивчав *структуру і функцію хромосом, механізм переносу генетичного коду від ДНК до РНК*. У 1970-ті досліджував мозаїчну структуру генів, в яких кодуючі частини (*екзони*) чергуються з некодуючими вставками (*інтронами*). У 1980 р. встановив, що виділений із рибосом одноклітинного організму *Tetrahymena thermophila* ген, який кодує 265 рибосомних РНК, складається з двох екзонів, розділених одним інтроном. У пошуках протейнового ензиму для реакції *сплайсингу* (видалення інтрону і зшивання екзонів) Т. Чек (1982 р.) виявив, що ця реакція перебігає без будь-яких ензимів, тобто вперше показав, що молекули РНК не тільки є пасивними носія-

ми генетичної інформації – вони можуть виконувати каталітичні функції і брати участь у клітинних реакціях. У 1983–1985 рр. він встановив, що каталізатором самосплайсингу є інтронна ділянка РНК – *рибозим* (у 1983 р. незалежно від Чека каталітичну активність РНК виявив Сідні Олтмен, про що йшлося вище). У подальшому Чек встановив, що шляхом зміни нуклеотидної послідовності рибозиму можна створювати *ендонуклеази*, специфічні до будь-якої заданої ділянки іншої РНК. Показав, що *каталітична активність молекул РНК*, як і в разі протеїнових ензимів, залежить від *тривимірної структури*.

Ензими РНК, відомі як *рибозими*, стали новим інструментом в *генній інженерії*. Вони також мають потенціал для надання таких *терапевтичних ефектів*, як, наприклад, *здатність руйнувати і розщеплювати вірусні РНК*, які потрапляють в організм.

Саме «за відкриття каталітичної активності рибонуклеїнових кислот» Томас Роберт Чек разом з Сідні Олтменом у 1989 р. отримав Нобелівську премію з хімії. З цього приводу Чек писав: «*Не так давно більшість людей вважали РНК просто одноразовою копією дійсно важливої нуклеїнової кислоти – ДНК. Адже саме подвійна спіраль ДНК з'являється на обкладинках журналів та телеекранів; ДНК – це матеріал наших генів і хромосом, той матеріал, який визначає нашу генетичну спадковість. РНК – це копія інструкції ДНК, яка слугує месенджером для прямого синтезу протеїну, який руйнується після виконання своєї функції.*

Моя дослідницька група в Колорадо на початку 1980-х зіграла певну роль у відкритті нових видів діяльності РНК. Сідні Олтмен з Єльського університету, який розділив зі мною Нобелівську премію з хімії в 1989 році, зробив незалежне відкриття. Ми обидва виявили, що РНК може скластись у складні форми і каталізувати біохімічні реакції, тобто виконувати ті функції, які, як вважалося раніше, були обмежені протеїновими ензимами. Ми зробили висновки, що РНК іноді буває активним учасником хімії життя, а не просто пасивним месенджером і ми назвали ці РНК-рибозимами» [12].

Інша галузь досліджень Томаса Чека – *теломери*, структура, яка захищає кінці хромосом. Теломери скорочуються з кожним дублюванням ДНК і мають подовжуватися кожного разу. У полі зору Т. Чека – ензим *теломераза*, що копі-

ює теломерні послідовності і подовжує їх. Субодиниці протеїну активного сайту *теломерази* належать до нового класу *транскриптаз* – ензимів, які, як вважалося раніше, були транспортвальними елементами і обмежувалися вірусами. Нині встановлено, що *теломераза* активується у 90% випадків раку людини. Тому препарат, який інгібує його активність, може бути корисним для лікування раку.

Томас Чек отримав понад десяток національних та міжнародних нагород, які передували Нобелівській премії з хімії в 1989 році. Серед них були премія Pfizer в галузі хімії ензимів (Американське хімічне товариство), премія з молекулярної біології (Національна академія наук США), премія Хайнекена (Королівська нідерландська академія наук і мистецтв) та премія Ласкера. Він отримав почесний ступінь доктора наук в Гріннелльському коледжі в 1987 році і в Чиказькому університеті в 1991 році. Його обрали в Національну академію наук США (1987) і в Американську академію наук і мистецтв (1988). У 1987 р. Томасу Чеку було присвоєно довічне професорство Американського товариства раку, а в 1988 р. він став дослідником Медичного інституту Говарда Х'юза. З 2009 р. – почесний доктор Рокфеллеровського університету, а з 2010 р. – Гарварда. Він є членом редколегії журналу *Genes & Development* [13].

Для Томаса Чека характерним є активна громадянська позиція. У 2016 р. він підписав лист із закликом до Greenpeace, Організації Об'єднаних Націй і урядам всього світу припинити боротьбу з генетично модифікованими організмами (ГМО) [14].

Насамкінець, слід ще раз підкреслити, що відкриття *каталітичної активності рибонуклеїнових кислот* Т. Чеком і С. Олтменом важко переоцінити, адже воно має надзвичайне значення не тільки для генної інженерії, біохімії, біотехнології і медицини, але й для розуміння біохімічного механізму виникнення життя на Землі [12].

Впродовж останніх двох десятиліть дослідження РНК досягли нового рівня. Нове розуміння ролі молекул РНК має не тільки загальнонаукове, але й практичне значення. Зараз зрозуміло, що РНК відіграють значно вагомішу роль у біології, ніж багато хто здогадувався. Крім того, що РНК є необхідною для запуску процесу реплікації молекул ДНК, вона виконує роль матриці в оборотній транскрипції, бере участь у синте-

зі протеїну (всі три типи РНК – мРНК, тРНК і рРНК) – у побудові рибосом, у нарощуванні теломерних кінців хромосом, виявляє здатність до самосплайсингу, має каталітичну активність тощо. Наразі вже відомо, що РНК виконує й роль геному у вірусів і віроїдів, а нещодавно подібні гени знайдено в ракових клітинах. А це означає, що можлива розробка лікарських препаратів для дії на ці гени або на відповідні РНК.

Розкриття нових функцій РНК тільки починається. Можна з впевненістю стверджувати, що інформація, яка міститься в ядрі клітини, не є «пупом землі», і багато компонентів клітини поза ядром відіграють таку саму важливу роль, як і ДНК, що ми й намагалися показати у нашому короткому нарисі про відкриття нобелівських лауреатів – Сідні Олтмена і Томаса Чека.

A NEW VIEW OF RNA: THE 1989 DISCOVERY BY SIDNEY ALTMAN AND THOMAS CECH

M. V. Grigorieva[✉], V. M. Danilova,
S. V. Komisarenko

Palladin Biochemistry Institute, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
[✉]e-mail: mvgrigorieva@biochem.kiev.ua

The 1989 Nobel Prize Laureates in Chemistry Sidney Altman and Thomas Robert Cech made one of the most important discoveries in molecular genetics. Independently of each other, they demonstrated new experimental evidence that RNA molecules can not only transmit information from DNA but, in certain conditions, have the enzymatic (catalytic) properties too. As it turned out, the functions previously attributed exclusively to protein enzymes can be also performed by RNA called ribozymes. Later, ribozymes became a new tool in genetic engineering, biochemistry, biotechnology and medicine.

Key words: Sidney Altman, Thomas R. Cech, RNA catalytic properties, ribozymes, splicing, endonucleases.

References

1. Regime of access : <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1989/altman/biographical/>
2. Danylova TV, Komisarenko SV. Standing on the shoulders of giants: James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin and the birth of molecular biology. *Ukr Biochem J.* 2020; 92(4): 154-165.
3. Danylova TV, Komisarenko SV. Nobel prize winner Erwin Schrödinger: the physicist, philosopher, and godfather of molecular biology and genetics. *Ukr Biochem J.* 2020; 92(3): 93-100.
4. Altman S. Isolation of tyrosine tRNA precursor molecules. *Nat New Biol.* 1971; 229(1): 19-21.
5. Guerrier-Takada C, Gardiner K, Marsh T, Pace N, Altman S. The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme. *Cell.* 1983; 35(3 Pt 2): 849-857.
6. Guerrier-Takada C, van Belkum A, Pleij CW, Altman S. Novel reactions of RNAase P with a tRNA-like structure in turnip yellow mosaic virus RNA. *Cell.* 1988; 53(2): 267-272.
7. Guerrier-Takada C, Lumelsky N, Altman S. Specific interactions in RNA enzyme-substrate complexes. *Science.* 1989; 246(4937): 1578-1584.
8. Altman S, Baer MF, Bartkiewicz M, Gold H, Guerrier-Takada C, Kirsebom LA, Lumelsky N, Peck K. Catalysis by the RNA subunit of RNase P – a minireview. *Gene.* 1989;82(1):63-64.
9. Regime of access : http://cyclowiki.org/w/index.php?title=Сидни_Олтмен.
10. Regime of access : <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1989/cech/article/>
11. HHMI News: Thomas R. Cech to Step Down as HHMI President. Regime of access : <https://www.hhmi.org/news/thomas-r-cech-step-down-hhmi-president>.
12. From Les Prix Nobel. The Nobel Prizes 1989, Editor Tore Frängsmyr, [Nobel Foundation], Stockholm, 1990.
13. Regime of access : <http://genesdev.cshlp.org/site/misc/about.xhtml>.
14. Laureates Letter Supporting Precision Agriculture (GMOs).