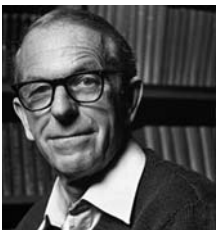


ФРЕДЕРІК СЕНГЕР — ОДИН ІЗ ЗАСНОВНИКІВ СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Є. Л. Левицький
Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна
НАН України, Київ



Започатковуючи рубрику про видатних біотехнологів світу, слід зазначити, що серед цієї славної когорти дослідників найвизначніше місце посідає один із засновників нашої науки — британський біохімік та молекулярний біолог *Фредерік Сенгер*.

Фредерік Сенгер — двічі лауреат *Нобелівської премії з хімії* (1958 та 1980 рр.). Він є одним із чотирьох дослідників у світі (разом з Лайнусом Полінгом, Марією Кюрі та Джоном Бардіном), які отримали Нобелівську премію двічі. Серед інших нагород Сенгера варто відзначити також *премію Альберта Лескера за фундаментальні дослідження у галузі медицини* (1979 р.).

Фредерік Сенгер народився 13 серпня 1918 року в селищі Рендкомб графства Глостершир. Він був другим сином у родині Фредеріка Сенгера та його дружини Цецилії. Батько був практикуючим лікарем. Під його впливом та, навіть більше, під впливом свого старшого брата Теодора Фредерік рано почав цікавитися біологією, сповнився поваги до цієї науки і її наукових методів дослідження. Початкову та середню освіту Фредерік здобув у школі в Брайнстоні та коледжі Святого Джона у Кембриджі. За власною оцінкою, він належав до категорії учнів «вище середнього, але не найвищого рівня». Розпочинаючи навчання в коледжі, Фредерік мав намір присвятити себе вивченню медицини, однак перед вступом до університету вирішив за краще сконцентрувати свої зусилля і здібності на досягненні ширшої мети, ніж та, що була пов'язана з професією

батька. Тож вирішивши присвятити себе науковій діяльності, він вступив до Кембриджа, де почав виявляти неабиякий інтерес до біохімії, уперше почувши про цю науку від Ернеста Болдвіна та інших співробітників відділу біохімії, нещодавно створеного Ф. Хопкінсом. Як сподівався Сенгер, саме тут він мав здобути необхідні фундаментальні знання, що слугуватимуть йому науковою основою для розуміння суті живої матерії та подальшого вирішення багатьох проблем у галузі медицини.

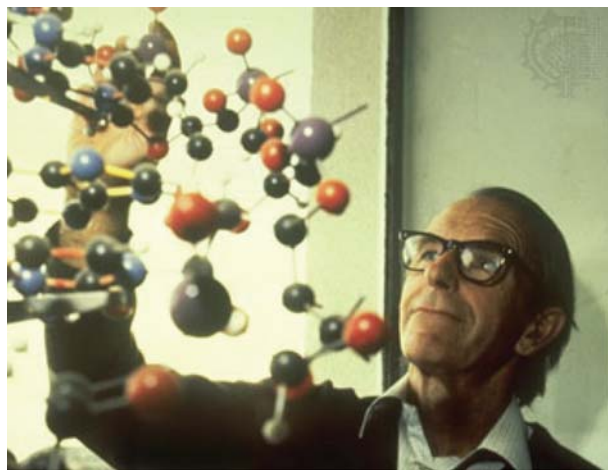
Після отримання у 1939 році ступеня Британської академії, він залишився в університеті ще на один рік для подальшого поглибленого вивчення курсу біохімії, вразивши своїх учителів (та й самого себе) тим, що одержав найвищі бали на іспитах. Під час другої світової війни Фредерік відмовився від проходження служби в діючій армії з політичних та релігійно-етичних мотивів, і йому було дозволено продовжити навчання для здобуття ступеня доктора філософії, який він дістав у відділі біохімії разом із А. Ньюбергером за вивчення метаболізму лізину та вирішення більш практичної проблеми, що стосувалася ролі азоту в клітинах томата. Сенгер наголошував, що саме А. Ньюбергер був першим, хто навчив його дослідницькій роботі, і не тільки в технічному плані, а взагалі визначивши її як життєвий шлях, і цій людині він багато чим завдячує.

У 1940 році Фредерік Сенгер одружився з Маргарет Джоан Гау. Хоча дружина дослідника не займалася науковою діяльністю, вона справляла на його роботу більший вплив, ніж будь-хто, забезпечуючи мир та злагоду в родині. У 1943 та 1946 рр. у них народилося двоє синів — Робін та Пітер, а в 1960 році — донька Саллі Джоан. Окрім своєї основної роботи Сенгер виявляв неабиякий інтерес до садівництва, а також до веслування в затишних водоймах.

Свою першу Нобелівську премію Ф. Сенгер отримав у 1958 році за цикл робіт з визначення структури молекули інсуліну.

У 1943 році А. Чібнол заступив Ф. Хопкінса на посаді професора біохімії у Кембриджі і об'єднав керовану ним дослідницьку групу, що працювала з білками, зокрема з інсуліном. Сенгер, починаючи працювати разом з Чібнолом, займався ідентифікацією

вільних аміногруп в інсуліні. Цей час був особливо успішний для хімії білків. Було розроблено нові методики фракціонування цих біомолекул, зокрема дослідницькою групою А. Мартіна та його співробітників, з'явилась реальна можливість визначити точну хімічну структуру цих фундаментальних компонентів живої матерії. Визначаючи аміногрупи у білках, Сенгер уперше припустив наявність упорядкованості у структурі молекул білків. Він був першим серед дослідників, хто визначив первинну амінокислотну послідовність білка. При цьому Сенгер довів, що впорядкованість структури білка має аналогію з послідовністю генів у ДНК, і тому вона має бути підпорядкована тим самим законамірностям. Він також досяг вагомих результатів у розробленні нових методів визначення лінійної послідовності амінокислот у білках, які згодом використав для встановлення повної амінокислотної послідовності двох поліпептидних ланцюгів А та В інсуліну (1955 р.), за що був удостоєний *у 1958 році Нобелівської премії з хімії*.



Розпочати цю роботу спонукав інтерес Сенгера до визначення білкової структури за допомогою методів хроматографії (аналітичних методів, що застосовуються для розділення речовин), які були розроблені британськими біохіміками Арчером Мартіном та Річардом Сайнжом. Використовуючи як модель дослідження білок інсулін, що є відносно малою за розміром молекулою і який можна одержати у великих кількостях, Сенгер розробив новий метод аналізу структури білка, показавши, що молекула інсуліну складається з двох поліпептидних ланцюгів, побудованих із двох або більше амінокислот (20 та 30), які з'єднані в одній молекулі двома дисульфідними зв'язками. Йому знадобилося більше восьми років для того,

щоб остаточно ідентифікувати 51 амінокислоту в молекулі цього білкового гормону. Ці дослідження Сенгера було значною мірою полегшено завдяки подальшим успіхам у біохімії білків, що їх досягли британські біохіміки Джон Кендрю та Макс Перутц, які в 1960 році створили тривимірну просторову модель молекули інсуліну.

Нобелівська премія мала дуже важливе значення для всієї подальшої наукової кар'єри Сенгера. Його залишили у Кембриджі, де він сконцентрував свою діяльність на суто фундаментальних дослідженнях, уникаючи, як тільки було можливо, викладацької та адміністративної роботи. Такий напрям професійної діяльності дозволив Сенгеру повірити у свої сили та з подвоєною енергією розпочати наступну роботу, остаточно ствердивши себе на обраному ним самим життєвому шляху. Цей успіх дозволив йому також отримати краще експериментальне обладнання і, що ще важливіше, залучити до своєї роботи багатьох здібних колег.

До 1943 року Сенгер не отримував жодної платні. Він мав можливість утримувати себе за рахунок того, що його мати була дочкою досить багатого промисловця, який займався виробництвом бавовни. З 1944 до 1951 року Сенгер обіймав посаду, яка давала йому змогу проводити досліді з експериментальної медицини, а з 1951 року його було зараховано у штат Медичної вченої ради Кембриджа.

За цикл фундаментальних досліджень з біохімії нуклеїнових кислот, особливо стосовно рекомбінантної ДНК, у 1980 році Ф. Сенгер отримав свою другу Нобелівську премію (разом з Паулем Бергом та Уолтером Гілбертом, США).

Першим автором у цьому списку нобелівських лауреатів був Берг. Внесок Гілберта та Сенгера визначався циклом робіт з визначення послідовності нуклеотидів ДНК вірусу.

Цю роботу було розпочато в 1962 році, коли Сенгер перейшов до новоствореної лабораторії молекулярної біології в Кембриджі, разом з дослідницькою групою Макса Перутца з Кевендиської лабораторії, до якої входили такі видатні вчені, як Ф. Крік, Дж. Кендрю, Г. Хакслі та А. Клаг. В оточенні цих дослідників Сенгер почав виявляти активний інтерес до вивчення нуклеїнових кислот. Хоча він відчував труднощі у зв'язку з різкою зміною наукової тематики від білків до нуклеїнових кислот, однак його інтерес до проблеми визначення первинної послідовності біомолекул — *секвенування (sequencing)* залишився незмінним. Справді, ця проблема була у центрі його професійної діяльності починаючи ще з 1943 року внаслідок її актуальності, наукової привабливості та впевненості в тому, що знання

у цій галузі можуть дати більше інформації, необхідної для розуміння основ структури та функціонування живої матерії. Суть його роботи з вивчення нуклеїнових кислот у цей період резюмована у Нобелівській лекції. Сенгер не раз наголошував, що успіхові в цій роботі він завдячує не стільки самому собі, скільки своїм висококваліфікованим співробітникам. Більшість із них були студентами та аспірантами, що працювали в лабораторії протягом кількох років; з ними Фредерік набував необхідного наукового досвіду й ідей, однак з особливою пошаною ставився він до своїх постійних колег — Б. Бареля, А. Каулсона та Г. Броунлі завдяки їхньому внеску в розроблення нових методів дослідження.

Отже, після завершення роботи з інсуліном Сенгер послідовно розробляв інші методи дослідження білків і, особливо, активних центрів деяких ферментів. Приблизно на початку 60-х років минулого століття він зацікавився вивченням нуклеїнових кислот — РНК та ДНК, зокрема розробив методи визначення невеликих послідовностей РНК. Кульмінацією цієї роботи стало створення в 1975 році дидеоксиметодики для секвенування ДНК. Цей відносно швидкий метод був застосований для визначення послідовності ДНК бактеріофага *φx174*, що складається із 5 375 нуклеотидів (1977 р.), мітохондріальної ДНК людини (16 338 нуклеотидів) і бактеріофага λ (48 500 нуклеотидів). У подальшому його було вдосконалено та автоматизовано для визначення інших послідовностей генома людини (3 біліони нуклеотидів).

Ця робота Сенгера мала вирішальне значення для виникнення та подальшого розвитку молекулярної біотехнології.

Як відомо, створення нових методів є необхідною передумовою для розвитку будь-якої галузі науки. Вони дозволяють отримувати нову, недоступну раніше інформацію, що, у свою чергу, сприяє глибшому розумінню сутності спостережуваних явищ, і спонукають до подальших досліджень, які породжують нові відкриття. Що стосується молекулярної біотехнології, то рушійною силою її бурхливого розвитку стали нові потужні методи, серед яких передусім слід назвати саме метод секвенування ДНК Сенгера.

Цей метод визначення нуклеотидної послідовності ДНК за допомогою ферментативного копіювання із зупинкою подовження ланцюга, що здійснюється ДНК-полімеразою, є швидким, відносно простим, недорогим та надійним. Окрім того, що нуклеотидна послідовність фрагмента ДНК є його вичерпною характеристикою на молекулярному рівні, вона дозволяє також ідентифікувати кодувальну ділянку, підібрати потенційні праймери для полімеразної ланцюгової

реакції, виявити мутаційні зміни в гені. До появи у 1977 році дидеоксиметоду Сенгера (F. Sanger, S. Nicklen, A. R. Coulson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74: 5463–5467, 1977) для секвенування ДНК застосовували метод сайтспецифічного хімічного розщеплення ланцюга (A. M. Maxam, W. Gilbert, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74: 560–564, 1977). А ще раніше секвенування нуклеїнових кислот зводилося до визначення нуклеотидних послідовностей РНК. Для цього потрібний фрагмент ДНК спочатку транскрибували в РНК за допомогою РНК-полімерази, а потім визначали нуклеотидну послідовність останньої. Ця процедура була досить складною та довготривалою: спочатку радіоактивно мічену РНК обробляли різними рибонуклеазами, потім здійснювали хроматографічне розділення продуктів, що утворилися, повторно обробляли їх ферментами, проводили лужний гідроліз продуктів другого розщеплення, здійснювали хроматографічний розподіл продуктів гідролізу, визначали черговість олігонуклеотидів шляхом перекриття їхніх кінцевих ділянок та відтворювали вихідну молекулу. З появою дидеоксиметоду цю процедуру практично перестали використовувати. Тепер секвенують не саму РНК, а ДНК, що синтезована на РНК як матриця за допомогою зворотної транскриптази, і застосовують не метод Максама та Гілберта, а метод Сенгера, який з'явився після того, як було створено систему клонування на основі фага M13. Можливість прямого секвенування стала справжньою революцією у дослідженні молекулярних основ різних хвороб людини, а також у розробленні методів їх діагностики та лікування.

Після завершення у 1983 році наукової кар'єри більшість часу Фредерік Сенгер проводить у своєму саду. Вірним другом та помічником у частині його життя, що не пов'язана з наукою, залишається його дружина Маргарет Джоан. У 1992 році організація Wellcome Trust створила Сенгерівський центр (Sanger Center), який займається розвитком досліджень генома. Це один із найбільших наукових центрів, що здійснюють наукові розробки у проекті секвенування генома людини та в інших проектах, пов'язаних з подібними дослідженнями на геномах інших організмів.

За відгуками більшості осіб, що особисто знайомі з Фредеріком Сенгером, він завжди був і залишається істинним джентльменом, винятково ввічливою, привітною, люб'язною та чарівною людиною.

*За матеріалами сайтів
Nobelprize.org та The Nobel Prize
Internet Archive*