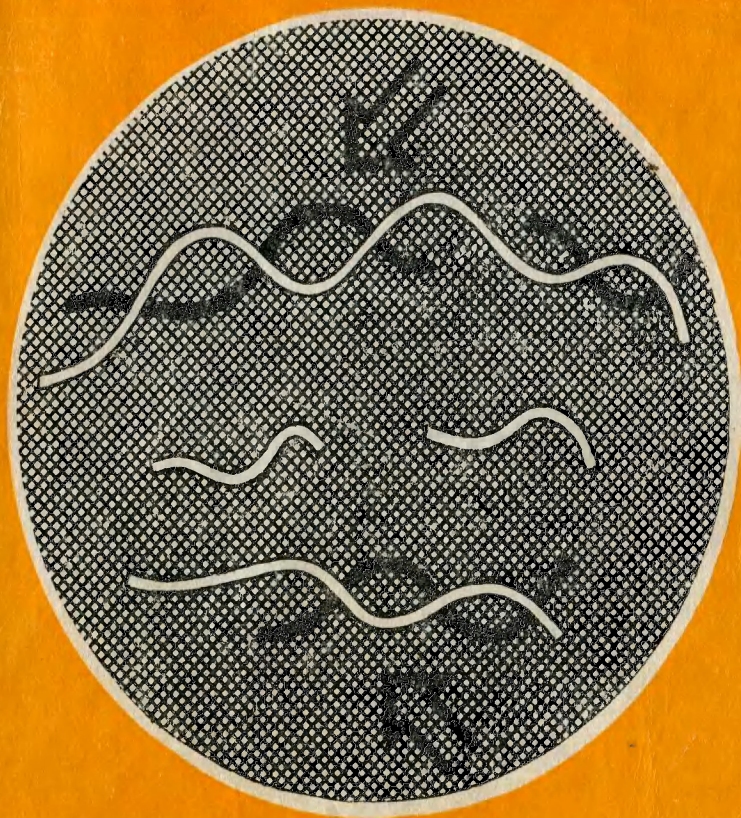


ОВОЕ
ЖИЗНИ, НАУКЕ,
ТЕХНИКЕ

ЗНАНИЕ



А. Н. Белозерский,
Б. М. Медников

НУКЛЕИНОВЫЕ
КИСЛОТЫ
И СИСТЕМАТИКА
ОРГАНИЗМОВ

СЕРИЯ
БИОЛОГИЯ

1972

А. Н. Белозерский,
академик
Б. М. Медников,
кандидат биологических наук

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И СИСТЕМАТИКА ОРГАНИЗМОВ

ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЗНАНИЕ» Москва 1972

Белозерский А. Н., Медников Б. М.

Б43 Нуклеиновые кислоты и систематика организмов. М., «Знание», 1972.

48 стр. («Новое в жизни, науке и технике», Серия «Биология», 2).

В брошюре освещены современные проблемы одной из древнейших наук биологии — систематики организмов. Авторы в живой и увлекательной форме, последовательно рассматривают создание рациональных систем исследуемых объектов: естественных, биохимических и др.

2-10-2

57.022

СОДЕРЖАНИЕ

Естественная система	3
Биохимическая систематика	7
Химический анализ генома	11
Нуклеотидный состав ДНК и макрофилогенез	20
Таксономическое значение минорных оснований	25
Изоплитный анализ ДНК	27
Метод молекулярной гибридизации	31
Анализ признаков генома	42
Заключение	47
Рекомендуемая литература	48

Андрей Николаевич БЕЛОЗЕРСКИЙ,

Борис Михайлович МЕДНИКОВ

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И СИСТЕМАТИКА ОРГАНИЗМОВ

Редактор *И. М. Тужилина*. Художник *Г. Болашенко*. Худож. редактор *Т. И. Добровольнова*. Техн. редактор *Г. И. Качалова*. Корректор *В. В. Каночкина*

А 11050. Сдано в набор 24/XI 1971 г. Подписано к печати 27/XII 1971 г. Формат бумаги 60×90/16. Бумага типографская № 3. Бум. л. 1,5. Печ. л. 3,0. Уч.-изд. л. 2,84. Тираж 63 100 экз. Издательство «Знание». Москва, Центр, Новая пл., д. 3/4. Заказ 2598, Типография Всесоюзного общества «Знание», Москва, Центр, Новая пл., д. 3/4.
Цена 9 коп.

ЕСТЕСТВЕННАЯ СИСТЕМА

*...Всякая правильная классификация
есть классификация генеалогическая...*
Ч. Дарвин. Происхождение видов.

Никакая наука не может существовать без системы. Создание рациональных систем исследуемых объектов — задача первостепенной важности для всех естественных дисциплин. Такие системы не только цель любой науки, но и средство для ее дальнейшего развития. Классическим примером может служить периодическая система элементов, созданная Д. И. Менделеевым: она явилась венцом всей химии XIX века и в то же время дала мощный толчок к развитию не только химии, но и физики. Другие примеры — кристаллографическая система Федорова, классификация звезд по спектральным классам и создаваемая в наше время система элементарных частиц.

Биология также не составляет исключения. Как наука она началась с сочинений великого древнегреческого мыслителя Аристотеля, более двух тысяч лет назад давшего первую, во многом еще несовершенную и в наше время кажущуюся порой наивной, систему животных. Следует, однако, помнить, что только в XIX веке системы стали более естественными, по сравнению с аристотелевской. Более того, многое из того, что знал Аристотель, было впоследствии забыто. В наше время даже школьники знают, что кит — не рыба, а лишь схожее с ней по внешней форме млекопитающее. Древнегреческий мудрец знал это и отделял китообразных от рыб. В XVII и даже в начале XVIII века многие крупные натуралисты считали китов рыбами.

Практически расцвет систематики мог начаться только после 1859 г. — года выхода в свет основного труда Чарлза Дарвина о естественном отборе и теории эволюции. Именно эволюционное учение явилось предпосылкой для построения естественной системы, в которой организмы группируются не только по сходству, но и по родству.

До Дарвина систематики полагали, что те группировки видов (таксоны), которые они выделяли, анализируя многообразие живой природы, или произвольно созданы ими же и потому субъективны или же созданы господом богом. Дарвин впервые показал, что таксоны не выдумываются систематиком и не имеют божественного происхождения, а просто представляют группы, происходящие от одного предка. Говоря о естественной классификации, Дарвин удачно заметил, что она не произвольна, как произвольна, например, группировка звезд в созвездия. Действительно, унаследован-

ная нами от античности группировка звезд в созвездии целиком искусственна. Звезды в них, как правило, объединяет лишь то, что они видны нам в одном участке неба. Продолжая дарвиновскую аналогию, можно заметить, что открытые В. А. Амбарцумяном звездные ассоциации — естественные группировки звезд, связанные общностью происхождения от породившего их звездного прототела. Теория эволюции необычайно стимулировала работы по филогении организмов и построению естественных систем. В этом направлении была проделана огромная работа.

В наше время можно считать близкой к завершению систему высших хордовых (позвоночных) и цветковых растений. Разумеется, это не значит, что в данных разделах систематики нет уже нерешенных проблем. В дальнейшем мы остановимся на многих темных пятнах даже в столь хорошо разработанных группах. Но еще больше таких проблем стоит перед исследователями, работающими над созданием систем низших хордовых, беспозвоночных животных, низших растений и в первую очередь микроорганизмов — бактерий и вирусов. Что касается последних, то общепринятой системы для них вообще не существует.

Наши познания систематики и филогении разных групп животных и растений удивительно неоднородны. Можно спорить, например, о количестве отрядов в классах птиц и млекопитающих, но нельзя не согласиться, что большинство этих таксонов естественны, иными словами, составляющие их организмы — потомки одного предкового вида. Систематика рыб и ракообразных перекраивается еще сейчас самым кардинальным образом, а с системами низших организмов происходят еще более удивительные изменения. Можно привести один замечательный пример: лишь в последнее время стало выкристаллизовываться понимание того, что обширная группа грибов, которую испокон веков считали бесхлорофилльными низшими растениями, на самом деле, видимо, ближе к царству животных. Грибы с животными сближают конечные продукты азотного обмена (мочевина), структурный материал клеточных оболочек (хитин); наконец, многие черты аминокислотных последовательностей в белках-ферментах и нуклеиновых последовательностей в транспортных нуклеиновых кислотах.

В чем причина столь неравномерного накопления наших знаний о филогении и системе разных групп живых организмов? Как нам кажется, причина кроется в том, что до последнего времени для изучения филогении и построения естественных систем использовались лишь классические методы, предложенные еще первыми дарвинистами-систематиками.

Это триада методов: сравнительно-морфологический, эм-

бриологический и палеонтологический Основным методом считается сравнительно-морфологический, при котором организмы объединяют в таксоны того или иного ранга исходя из степени сходства в строении их органов, тканей и клеток. Критерии для построения системы в данном случае — отобранные таксономистом морфологические признаки. Выбор их довольно сложен. Каким-либо одним признаком, как правило, руководствоваться нельзя, так как это неизбежно приводит к построению искусственной системы вроде первой системы растений Линнея, в которой самые разнородные виды объединялись в таксоны по числу тычинок. Многие признаки, которым ранее придавали большое значение, на деле оказались совершенно непригодными для таксономии. Таковы, например, многочисленные случаи редукции (утраты) органов, приводящие к вторичному упрощению. Мало пользы систематику приносят как древние предковые признаки, которые могут сохраняться независимо в неродственных группах, так и признаки, слишком тесно связанные с внешней средой (колючки пустынных растений, защитная окраска, цепкие конечности и хвосты лазающих животных). Все они могут возникать конвергентно, независимо, у совершенно разных по происхождению организмов. Особенно удивительные примеры конвергенции можно встретить у паразитических животных из таких далеко отстоящих друг от друга таксонов, как плоские черви, моллюски и ракообразные. Во взрослом состоянии все они могут выглядеть бесформенными мешками, заполненными половыми продуктами.

В спорных случаях исследователя выручает эмбриологический метод: строение личинок нередко выдает происхождение этих форм. Из яиц червеобразного паразита крабов саккулины выходят личинки — науплиусы с характерными рогаобразными выростами, во всем аналогичные личинкам усконогих ракообразных. Тем самым положение саккулины в системе определяется однозначно. Признаки яйцеклеток, характер их дробления и строение личиночных стадий нередко дают ценную информацию для построения системы, однако ограничиться данными одной эмбриологии нельзя. В истории систематики известны случаи, когда на основе эмбриологических данных строились заведомо искусственные системы, начиная с классификации Ван-Бенедена середины XIX века. В целом же эмбриологический метод принес систематике огромную пользу, если не считать ряда досадных случаев, когда чрезмерно переоценивался биогенетический закон («онтогенез есть краткое повторение филогенеза»).

Еще более близкую к естественной системе мы можем получить, дополнив морфологические и эмбриологические данные материалами, которые поставляет нам палеонтология. Нахождение остатков «недостающих звеньев» — переходных

между таксонами форм — неоднократно позволяло уточнить положение этих таксонов в системе. Однако, чем древнее и примитивнее исследуемая группа, тем более ограничена применимость классических методов. В первую очередь это относится к морфологическим признакам, которые за огромный, измеряемый уже миллиардами лет, срок их эволюции могли неузнаваемо измениться или, наоборот, дать многочисленные примеры конвергенции. Возможности палеонтологического метода еще более ограничены. Начало палеонтологической летописи приходится на кембрийский период, когда уже существовали все типы организмов, кроме хордовых и наземных растений. В предшествовавшем кембрию протерозое, несомненно, существовала уже богатая, хотя и примитивная фауна и флора, от которой остались лишь ничтожные разрозненные остатки, по которым трудно о чем-либо судить.

Особенно часто классические методы «дают осечку» в фитосистематике. По-видимому, у растений, чаще чем у животных, встречаются случаи довольно глубоко идущей конвергенции, параллельного развития и мозаичной эволюции, при которой возникают таксоны, характеризующиеся удивительной смесью разнородных признаков. Так, некоторые ископаемые палеозойские папоротники оказались совсем особой группой, получившей название семенных папоротников — листья у них были как у типичных папоротников, но размножались они не спорами, а семенами. Род вальхия из пермских отложений, ранее относимый к хвойным, оказался листостебельным мхом (об этом и других не менее любопытных случаях сообщает С. В. Мейен). О семенных папоротниках выразительно писал А. Сьюорд: «Это продукт эволюции, как будто бы нарочно созданный, чтобы служить предостережением ботаникам, которые часто наружное сходство принимают за органическое родство»¹.

Практически неприменима триада классических методов к микроорганизмам — бактериям и, в особенности, вирусам. Морфология большинства бактерий крайне проста: палочка, шарик, спираль. Эти формы в филогенезе, несомненно, неоднократно возникали и переходили друг в друга совершенно независимо и на разных путях эволюции. Поэтому укоренившиеся названия — бациллы, кокки и вибрионы не имеют систематического значения. В еще большей степени это относится к вирусам. Эмбриологический метод, естественно, в этих случаях также непригоден. Процесс деления бактерии или самосборки вирусной частицы лишь с большой натяжкой можно назвать «онтогенезом» и уже совершенно невоз-

¹ Цит. по С. В. Мейен. Из истории растительных династий. М., «Наука», 1971, стр. 50.

можно использовать в филогенетических построениях.

То же относится и к палеонтологическому методу. Корни микроорганизмов уводят нас далеко за протерозойскую эру, к моменту возникновения жизни на Земле. Судя по распределению изотопов серы в сульфидах и сульфатах осадочных пород, можно утверждать, что серобактерии уже более миллиарда лет назад были широко распространены. В это же время железобактерии создали богатейшие залежи железных руд. К сожалению, немногочисленные окаменелые остатки микроорганизмов порой невозможно не только использовать для изучения путей их филогенеза, но и просто отличить от неорганических структур. На последней международной конференции по проблеме происхождения жизни сообщалось о находках в слоях возраста 3—3,5 млрд. лет микроструктур диаметром 7—10 микрон, содержащих углерод и, по крайней мере, очень похожих на современные микроорганизмы. Некоторые остатки отождествляли также с синезелеными и зелеными водорослями. Однако судить о филогении этих форм трудно — уж очень мало от них осталось.

Как мы видим, перед систематиками низших организмов стоят трудные, быть может, вряд ли вообще решаемые при помощи классических подходов и методов задачи. Для решения этих проблем необходимо создать принципиально новые методы.

Биологи различных специальностей давно заняты поисками новых объективных критериев, с помощью которых можно было бы наиболее полно и точно устанавливать родственные взаимоотношения между организмами и пути эволюции видов.

БИОХИМИЧЕСКАЯ СИСТЕМАТИКА

...В основе всех, даже чисто морфологических признаков, на основании которых мы классифицируем растения и устанавливаем виды, лежат именно биохимические различия.

В. Л. Комаров. Учение о виде у растений

В течение многих лет систематиков привлекала проблема связи химического состава и биохимических особенностей организмов с их систематическим положением и филогенезом. Решение этого вопроса дало бы в руки биологов мощный критерий, позволяющий путем химических и биохимических исследований вскрывать родственные связи между таксонами.

Несомненно, что познание биохимической эволюции — весьма важное условие построения филогенетической систематики. Вместе с тем оно имеет значительный самостоятельный интерес, будучи важнейшей и в то же время мало разработанной частью эволюционного учения. Возможность установления связи между положением организмов в системе и их химическими и биохимическими особенностями непосредственным образом зависит от уровня развития биохимии. В этом отношении весьма показательны предпринимавшиеся ранее исследования, в которых для понимания степени филогенетического родства организмов использовались данные о составе и свойствах алкалоидов, жиров, белков и ряда других соединений.

По всей вероятности, застрельщиками нового направления были фитосистематики. Это объясняется не тягой к новым методам, а тем, что в клетках многих растений часто накапливаются вещества со сравнительно простой и характерной структурой, доступные для анализа биохимикам прошлого столетия. Анализ белков в то время ограничивался лишь приближенным измерением количества суммарного белка, а нуклеиновые кислоты только что были открыты. Первые примеры изменения химического состава растений в процессе эволюции приведены еще в трудах Дарвина. Г. Драгендорф в 1879 г. указывал, что некоторые вещества могут быть признаками, имеющими таксономическое значение (так, для сложноцветных и колокольчиков общим признаком является наличие в тканях полисахарида инулина). К концу XIX века относятся обстоятельные работы Е. А. Шацкого, рассмотревшего связи между систематическим положением растений и наличием в них алкалоидов. Впоследствии изучали также глюкозиды, флавоноиды (так называемые «вторичные» соединения); все эти исследования так или иначе были связаны с фармакологией. Однако уже в конце XIX века высказывались, в частности, А. Я. Данилевским, соображения о таксономической ценности белков. Хорошо известны работы А. В. Благовещенского, который еще в 1925 г. изложил свои взгляды по этой проблеме в статье «К вопросу о направленности процесса эволюции»¹. В этой и ряде других работ он в качестве одного из биохимических критериев систематики использовал алкалоиды, а впоследствии использовал новые критерии, такие, как «качество ферментов» и некоторые свойства белков.

Исследователи этого направления придают большое значение таким признакам, как концентрация белков и соотношение альбуминовой и глобулиновой белковых фракций.

¹ А. В. Благовещенский. К вопросу о направленности процесса эволюции. Бюллетень Средне-Азиатского гос. ун-та, 1925, в. 10.

Под «качеством фермента» А. В. Благовещенский подразумевает способность снижать энергетический порог катализируемой им реакции и оценивает его энергией активации (коэффициентом Аррениуса). Это направление кажется перспективным, хотя введение нового термина для получившей название характеристики излишне. Другие исследователи (С. Л. Иванов, А. М. Голдовский) известны интересными работами по составу и свойству жиров и входящих в них жирных кислот.

Не меньшее распространение получили так называемые серологические (иммунобиологические и иммунохимические) методы выявления межвидовых и более отдаленных родственных связей. Антигенные белки и полисахариды лучше связываются с антителами против антигенов родственного организма, чем с антителами против более далекого по родству. Однако серология не оправдала значительной части возлагавшихся на нее надежд главным образом из-за значительной сложности и многогранности серологических реакций, несмотря на то что эти реакции весьма специфичны. Первое время серологические реакции пытались использовать как некий абсолютный критерий вида. Однако сколь велико было увлечение серологией, тем горше было отрезвление, ибо она оказалась связанной с большими техническими трудностями.

Стремясь получить более однозначные данные, многие авторы пытались использовать как таксономические критерии свойства и первичную структуру индивидуальных белков. На этом пути были также получены интересные результаты. Исследовались, например, аминокислотный состав кератинов пера представителей разных семейств птиц, подвижность в электрическом поле компонентов яичного белка птиц, сывороток крови и гемолимфы различных животных и даже слизи, покрывающей чешую рыб. Наконец, большие работы проведены по изучению аминокислотных последовательностей в гемоглобинах и других белках различных животных.

Подобные исследования приносят большую пользу особенно в микросистематике, на уровне внутривидовых форм и видов (внутри рода), но попытка восстановить таким способом филогенетические отношения между человеком, человекообразными обезьянами и низшими обезьянами была неудачной.

Анализ качественного состава некоторых белков (набор изозимов ферментов, аллельные формы гемоглобинов) также применялся в качестве таксономического признака. Один из авторов этой брошюры (Б. М. Медников) совместно с Ю. К. Гореловым в свое время исследовал таким способом родственные связи дикого полуосла Средней Азии (кулан, или онагр) с ослом и лошастью. Известно, что у лошади в

эритроцитах имеются две формы гемоглобина, различающиеся по подвижности в электрическом поле, в то время как у осла только одна (гибриды лошади с ослом — мулы и лошаки — соответственно имеют три формы гемоглобина, унаследованные от обоих родителей). Опыты показали, что кулан ближе к лошади, чем к ослу (гемоглобин кулана представлен двумя формами).

Этот, далеко не полный, перечень биохимических признаков, применявшихся в качестве таксономических критериев, свидетельствует об успешном развитии биохимической систематики. Успехи ее, однако, не следует преувеличивать. Биохимические критерии обладают теми же недостатками, что и морфологические. Практически между систематикой классической и биохимической нет принципиальной разницы. В том и в другом случае мы классифицируем организмы на основании признаков фенотипа. Число щетинок на конечности рачка и число изозимов лактатдегидрогеназы в его гемолимфе — все это признаки фенотипа, и как все фенотипические (по современной терминологии фенетические) признаки, они способны давать нам все примеры конвергенции и параллельного развития. Быть может, самый любопытный пример биохимической конвергенции — независимое возникновение сильного нервного яда — тетродотоксина у некоторых представителей сростночелюстных рыб и саламандр. Однако он далеко не единственный.

Выход из создавшегося положения возможен, если мы вспомним, что организмы имеют генотип — набор наследственных факторов, определяющих все их фенотипические признаки. Наши системы только тогда станут естественными, когда мы сможем оценивать родство организмов по родству генотипов, перейдем от систематики фенетической к систематике генетической. Это принципиально новый подход, в корне отличающийся от систематики по признакам. Последняя древнее человеческого рода — ведь и животные по-своему «классифицируют» объекты живой природы. Но имеются ли у нас методические подходы к определению родства по генотипам?

ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОМА

Самое новое и наиболее интересное направление — это попытка подойти к основе основ родства, к генетической программе.

Э. Майр. Принципы зоологической систематики

Естественно, генотипная систематика не могла возникнуть сразу после того, как было сформулировано понятие «генотип» и доказано существование последнего. Необходимые предпосылки для ее создания возникли лишь после того как было установлено, что материальным субстратом наследственности являются нуклеиновые кислоты (дезоксирибонуклеиновая кислота — ДНК — для громадного большинства организмов и рибонуклеиновая кислота — РНК — для некоторых вирусов). В самом начале 50-х годов нашего столетия биохимия и биология обогатились открытием первоочередной важности — установлением видоспецифичности строения нуклеиновых кислот. Значение этого открытия нельзя переоценить. Ранее специфика живых организмов связывалась только с белками, а теперь оказалось, что она определяется и нуклеиновыми кислотами. Более того, специфичность белков — производная от специфичности нуклеиновых кислот, ибо последовательность аминокислот в белке однозначно определяется последовательностью нуклеотидов в ДНК.

После этого важнейшего открытия, приоритет которого принадлежит Э. Чаргаффу, на протяжении 20 лет накапливались самые разносторонние экспериментальные факты, свидетельствующие об одном и том же, а именно — об исключительно высокой специфичности нуклеиновых кислот. Сейчас уже никто не сомневается, что нуклеиновые кислоты — материальная форма хранения наследственной информации вида, химические структуры, обладающие свойствами матрицы и обуславливающие специфичность тех субстратов, в синтезе которых они участвуют, в первую очередь — белков. С помощью этих соединений (информационной, транспортной и рибосомной РНК) осуществляется также и реализация наследственности в процессах развития организма.

С точки зрения познания материальных основ эволюционного процесса изучение нуклеиновых кислот представляется особенно важным и перспективным. Именно эти соединения непосредственно, самым теснейшим образом связаны с наследственностью и изменчивостью.

В первую очередь речь должна идти о дезоксирибону-

кленовой кислоте, или ДНК, так как нуклеиновые кислоты именно этого типа составляют геном организма, образуя в комплексе с основными белками хромосомы клеток. Как правило, она устроена однотипно: молекулы сахаров-пентоз (2-дезоксирибоз), сшитые сложноэфирными связями остатков фосфорной кислоты, несут чередующиеся в разных комбинациях остатки азотистых оснований — два пуриновых (адениловый и гуаниловый) и два пиримидиновых (цитидиловый и тимидиловый), сокращенно А. Г. Ц. Т.

Начиная с 1955 г., на кафедре биохимии растений и в лаборатории биоорганической химии МГУ А. С. Спириным, Б. Ф. Ванюшиным, А. С. Антоновым, Г. Н. Зайцевой, Г. П. Серенковым, М. В. Пахомовой, С. О. Урысон и другими была проведена очень большая по объему работа по сравнительному изучению первичных структур ДНК нескольких сотен видов различных бактерий, актиномицетов, грибов, водорослей, высших растений и позвоночных и беспозвоночных животных. Одним из первых методов определения первичной структуры было определение концентрации всех четырех нуклеотидов в ДНК. В этом методе ДНК обычно гидролизуется сильной кислотой до свободных нуклеозидов (соединений, А, Г, Ц и Т с пентозами), подобно тому как набор книги рассыпается на составляющие его типографские литеры. Концентрация аденина, гуанина, цитозина и тимина определялась в гидролизате методами хроматографии и электрофореза на бумаге. Исходя из результатов, полученных в ходе этих исследований, был сделан ряд важных выводов, касающихся степени специфичности первичных структур ДНК у самых разнообразных организмов. Некоторые из этих данных представлены в таблице.

Первый важный вывод, являющийся сейчас аксиомой, состоит в том, что ДНК всего органического мира — от самых низших до самых высших форм — строится в основном из одних и тех же дезоксирибонуклеотидов¹ (об исключениях будет сказано особо) А, Г, Ц и Т; причем макромолекула ДНК у всех организмов построена по одному и тому же типу.

В основе ее строения лежат одни и те же закономерности нуклеотидных отношений, которые ранее были обнаружены Чаргаффом и известны в литературе как правила Чаргаффа:

1. Сумма пуриновых нуклеотидов равна сумме пиримидиновых нуклеотидов:

$$(\text{Пур.} = \text{Пир.}, \text{ или } \frac{\text{Пур.}}{\text{Пир.}} = 1).$$

¹ Нуклеотид — звено ДНК, включающее азотистое основание, пентозу и фосфорную кислоту, нуклеозид — то же без остатка фосфорной кислоты.

Нуклеотидный состав различных ДНК¹

Вид	Соотношение оснований (в %)				
	Г	А	Ц+МЦ	Т	Г+Ц
					А+Т
Человек	19,9	30,9	19,8	29,4	0,66
Жиротные					
Бык	21,2	29,0	21,2	28,7	0,75
Мышь	21,9	29,7	22,8	25,6	0,81
Курица	20,5	28,8	21,5	29,2	0,72
Осетр	22,0	29,0	20,0	27,0	0,74
Морской еж	19,1	31,2	19,2	30,5	0,62
Тутовый шелкопряд	22,5	28,6	21,9	27,2	0,79
Осьминог	17,6	33,2	17,6	31,6	0,54
Высшие растения					
Пшеница	23,8	25,6	24,6	26,0	0,94
Лук	18,4	31,8	18,2	31,3	0,58
Фасоль	20,6	29,7	20,1	29,6	0,69
Сосна	19,3	30,1	20,1	30,5	0,65
Папоротник	19,8	29,7	21,0	29,5	0,69
Водоросли					
Диатомей	19,9	30,8	19,2	30,1	0,64
Зеленая водоросль	32,9	18,7	30,9	17,5	1,76
Буряя водоросль	29,5	20,8	29,3	20,4	1,42
Грибы					
Шампиньон	22,6	28,2	21,8	27,4	1,00
Аспергилл (плесневый гриб)	25,1	25,0	25,0	24,9	0,80
Дрожжи	18,3	31,7	17,4	32,6	0,56
Актиномицеты	36,1	13,4	37,1	13,4	2,73
Бактерии					
Сарцина	36,4	13,6	35,6	14,4	2,57
Туберкулезная палочка	34,2	16,5	33,0	16,0	2,08
Дифтерийная палочка	28,2	22,5	27,3	23,0	1,20
Тифозная бактерия	26,7	23,5	26,4	23,4	1,13
Кишечная палочка	26,0	23,9	26,2	23,9	1,09
Холерный вибрион	20,0	28,8	23,3	27,9	0,76
Пневмококк	20,5	29,8	18,0	31,6	0,75
Сенная палочка	21,0	28,9	21,4	28,7	0,74
Стрептококк	16,6	33,4	17,0	33,0	0,51
Клостридий перфрин- генс (возбудитель га- зовой гангрены)	15,8	34,1	15,1	35,0	0,45

¹ А. Н. Белозерский, А. С. Спирин. Состав нуклеиновых кислот и систематика.—«Известия АН СССР». Серия биологическая, 1960, № 1.

2. Содержание аденина равно содержанию тимина

$$(A = T, \text{ или } \frac{A}{T} = 1).$$

3. Содержание гуанина равно содержанию цитозина

$$(G = C, \text{ или } \frac{G}{C} = 1).$$

4. Количество б-аминогрупп равно количеству б-кетогрупп, или, другими словами, $G + T = A + C$, или

$$\frac{G + T}{A + C} = 1.$$

5. ДНК различных источников могут обнаруживать в одних случаях преобладание аденина над гуанином и тимина над цитозином ($A + T > G + C$) — это так называемый АТ-тип ДНК, свойственный всем животным, высшим растениям и многим микроорганизмам; в других случаях гуанин и цитозин преобладают над аденином и тимином ($G + C > A + T$) — это так называемый ГЦ-тип ДНК. Он относительно редко встречается у животных и высших растений и широко распространен у микроорганизмов, особенно у бактерий. ДНК многих лучистых грибков-актиномицетов относится к самому высокому ГЦ-типу (резкое преобладание $G + C$ над $A + T$). В пределах каждого типа ДНК возможно также бесконечное количество вариаций по степени преобладания той или иной пары оснований.

Следовательно, нуклеотидный состав различных ДНК может варьировать только по величине отношения

$$\frac{G + C}{A + T} \text{ или } \frac{A + T}{G + C}.$$

То, что ДНК обладает видовой специфичностью, вполне понятно: ведь несомненно, что в составе и структуре этих жизненно важных для каждого организма веществ не могла не найти отражения история развития (филогения) вида.

Из сказанного очевидно, что изучение состава ДНК у различных организмов очень важно: оно говорит не только о высокой специфичности самих этих веществ, но и о несомненной прямой связи их со спецификой организма.

Несколько неожиданным является факт, что нуклеотидный состав ДНК у животных и высших растений (см. таблицу), в отличие от микроорганизмов, варьирует сравнительно мало. В самом деле, если у бактерий коэффициент специфичности ДНК, т. е. отношение $\frac{G + C}{A + T}$ изменяется в пределах от 0,45 до 2,80, т. е. в 6 раз, то у высших растений и различных

типов животных это отношение колеблется только в пределах от 0,54 до 0,94, т. е. изменяется менее чем в 2 раза. Отсюда, однако, ни в коей мере нельзя сделать вывод, что ДНК у высших растений и животных является менее специфичной, чем ДНК у микроорганизмов. ДНК у высших растений и животных, несомненно, так же специфична, как и у микроорганизмов, только здесь специфичность ее обуславливается не столько изменчивостью самого состава, сколько последовательностью расположения нуклеотидов вдоль цепи молекулы ДНК (как в белках).

Ряд убедительных экспериментальных данных свидетельствует, что это действительно так. Схематически это можно представить следующим образом:

— — — А — Г — Ц — Т — А — Т — Ц — Г — — — —

— — — Ц — Г — А — Т — Г — Ц — Т — А — — — —

Обе изображенные здесь цепи ДНК характеризуются одним и тем же нуклеотидным составом, т. е. и в ту и в другую цепь входят одни и те же нуклеотиды в одинаковом числе, однако их последовательность в цепи различна. Эти две ДНК, одинаковые по составу, будут отличаться по своим свойствам, в первую очередь по биологическим свойствам.

В данный момент нас, однако, интересуют различия в нуклеотидном составе ДНК. Второй важный вывод из анализа нуклеотидного состава ДНК был сделан в 1956—1957 гг. А. Н. Белозерским и А. С. Спириным и независимо французскими исследователями, сотрудниками Пастеровского института Ки Ионг Ли, К. Валь и Е. Барбю. Обе группы пришли к заключению, что состав ДНК у микробов имеет таксономическое значение и должен быть использован в качестве одного из важнейших признаков при построении их системы. Впоследствии возможность использования данных о нуклеотидном составе ДНК в систематике была показана в нашей и в зарубежных лабораториях на различных группах организмов растительного и животного мира. В микробиологии, в отличие от ботаники и зоологии, биохимические и физиологические признаки всегда широко использовались для построения систематики микробов. Это и понятно. Как мы уже указывали, морфология этой группы относительно бедна, и поэтому физиолого-биохимические показатели явились здесь мощным подспорьем при построении системы. Для микробиолога такой признак, как способность к анаэробному дыханию или способность сбраживать лактозу, гораздо важнее формы клетки (возможны случаи, когда один и тот же вид может быть представлен в палочковидной и в шаровидной форме). Поэтому микробиологи одни из первых стали внедрять в систематику все признаки генотипа и в

первую очередь — нуклеотидный состав ДНК. Достаточно посмотреть любой номер какого-либо микробиологического журнала, в котором часто печатают систематические обзоры (например, американский «Журнал микробиологии»), чтобы убедиться в этом.

Однако, поднимаясь по эволюционной лестнице от микробов вверх, мы замечаем, что нуклеотидный состав ДНК

(отношение $\frac{A+T}{G+C}$, или просто процент G + Ц) постепенно те-

рвет значение как таксономический признак. Дело здесь не только и не столько в консерватизме систематиков высших организмов. У микроорганизмов — бактерий, водорослей, грибов, а также у некоторых низших животных (простейших) состав ДНК имеет весомое таксономическое значение вследствие широкой амплитуды его изменчивости, начиная от ДНК сильно выраженного ГЦ-типа (с явным преобладанием гуаниновых и цитозиновых нуклеотидов) до сильно выраженного АТ-типа (с явным преобладанием адениновых и тиминового нуклеотидов). У высших организмов, как уже говорилось, ДНК более стабильна, как правило, четко выраженного АТ-типа (процент ГЦ < 50). Соответственно снижается разрешающая способность метода. Если у микроорганизмов нуклеотидный состав позволяет диагностировать род и даже в некоторых случаях виды, то у высших организмов он варьирует в пределах таксонов высокого ранга (семейства, отряды, классы).

Вот пример, когда этот таксономический признак работает «на пределе». Группа американских исследователей (Арриджи с соавторами) в течение ряда лет изучает состав ДНК у представителей разных отрядов млекопитающих. К сожалению, о проценте ГЦ они судят не по непосредственному хроматографическому определению, а по плавучей плотности молекул ДНК в растворе хлористого цезия, поэтому их данные содержат систематическую ошибку и не сравнимы с данными других авторов. Ценность их работы в другом: они характеризуют отдельные отряды средним составом ДНК по ряду представителей, что исключает случайные отклонения (известно, что средний рост женщин, например, меньше, чем средний рост мужчин, но мы можем получить обратный результат, если будем судить по единичному измерению). Оказалось, что средний процент ГЦ в ДНК не только характеризует отряд, но и позволяет наметить родственные отношения, хорошо согласующиеся с данными морфологии и палеонтологии. Так, ДНК примитивного отряда насекомоядных характеризуется 39,4% ГЦ. Ближе всего к насекомоядным в системе стоят рукокрылые (летучие мыши) — у них процент ГЦ — 39,7. По прямой линии от на-

насекомоядных выводят приматов (полуобезьяны, обезьяны, человек). ДНК приматов содержит 39,1% ГЦ. Другие отряды отошли от насекомоядных значительно дальше. Любопытно, что отряды хищных, парнокопытных и непарнокопытных характеризуются близкими значениями среднего нуклеотидного состава ДНК (38,3, 37,4, 38,4% ГЦ), и это понятно. Согласно данным палеонтологии они выводятся из общего корня, хотя непосвященному в тайны филогении покажется диким, что тигр и олень — «родственники». И однако, это так. Древнейшие копытные — кондилартры и древнейшие хищники — креодонты очень близки.

Было бы любопытно продолжить работы группы Арриджи. Возможно, подтвердится близость таких отрядов, как даманы, сирены (дюгоны, ламантины) и слоны. Будет пролит свет и на филогению китообразных, о которых до сих пор идут споры — выводить ли их от древних хищников — креодонтов или непосредственно от насекомоядных?

И тем не менее нуклеотидный состав ДНК несравненно больше информации даст систематикам низших групп организмов — именно в силу большей вариабильности этого признака у данных таксонов. В связи с этим возникает вопрос: чем объяснить снижение вариабильности в составе ДНК в ряду от бактерий до хордовых животных?

На этот счет выдвинуты разные, не взаимоисключающие друг друга предположения.

Прежде всего возникает мысль, что значительная вариабильность нуклеотидного состава ДНК у микроорганизмов объясняется полифилетическим происхождением отдельных таксонов внутри этих групп. Иными словами, таксоны эти в значительной степени искусственны и вариабильность ДНК лишней раз свидетельствует о том, что, объединяя организмы по фенетическому сходству, мы не всегда объединяем их по действительному родству.

Иное объяснение предлагает А. С. Антонов. Как он указывает, в результате ненаправленных мутаций в геномах все время происходят превращения пар АТ в ГЦ и наоборот. В результате за многие сотни и тысячи поколений накапливаются значительные различия в нуклеотидном составе ДНК у представителей данного таксона. Естественно, чем древнее таксон, тем более вероятность накопления подобных различий. Поэтому ясно, что у бактерий, например, отношение

$\frac{Г + Ц}{А + Т}$ варьирует от 2,57 до 0,45 (см. таблицу 1) — ведь бак-

терии древнейшие обитатели нашей Земли! У высших организмов, например, у хордовых животных, ДНК просто еще не успела дивергировать в пределах таксона. Конечно, возраст таксона нужно измерять не в астрономических годах, а

в количестве поколений с момента возникновения. И здесь у бактерий нет конкурентов — ведь они в благоприятных условиях могут делиться до двух раз в час. Воспользовавшись простой формулой, заимствованной из популяционной генетики, мы можем оценить скорость изменения нуклеотидного состава ДНК у разных организмов. М. Ичас¹ приводит такой пример: если отношение скоростей переходов АТ → ГЦ и ГЦ → АТ = 0,43, то для превращения ДНК с ГЦ = 30% в ДНК с ГЦ = 40% требуется $2 \cdot 10^7$ поколений. Генотип бактерий со средним периодом деления в 1 час изменится на такую величину за какие-нибудь 2000 лет (срок для эволюции ничтожный). Если же время генерации равно одному году, как для очень многих организмов наших умеренных широт, на подобное превращение уйдет двадцать миллионов лет!

Это объяснение весьма вероятно, но его нужно дополнить учетом размеров генома (количества ДНК на клетку) у разных таксонов. Геном бактерии кишечной палочки, которую мы можем считать «средней бактерией», содержит около четырех с половиной миллионов пар нуклеотидов (напомним, что спираль ДНК двойная: Г одной половины соответствует Ц другой, так же как А соответствует Т). У плесневого грибка нейроспоры геном примерно в 10 раз больше, чем у бактерии, у дрозофилы он больше уже в 100 раз, и у человека — в тысячи раз. Поэтому случайные, ненаправленные мутации не могут существенно изменить нуклеотидный состав большого генома, подобно тому как случайные флуктуации теплового движения молекул (Броуновское движение) не могут сместить достаточно массивную частицу, взвешенную в жидкости. Чем больше геном, тем менее вероятность того, что переходы пар Г — Ц в А — Т и наоборот окажутся некомпенсированными.

Вдумчивый читатель может задать вопрос: каков же предел вариаций нуклеотидного состава? Не может ли ДНК, например, полностью утратить все пары ГЦ или АТ?

На второй вопрос, по-видимому, нужно ответить отрицательно. Скорее всего колебания нуклеотидного состава ДНК в группе бактерий уже достигли значений, близких к тому пределу, за которым начинаются кодовые ограничения. Ведь ДНК, не содержащая аденина, не могла бы, например, кодировать незаменимую аминокислоту лизин; соответственно ДНК без гуанина и цитозина не могла бы кодировать пролин и глицин. К тому же вариабильность состава ДНК должна ограничиваться возникающей отрицательной обратной связью. Чем меньше в ДНК ГЦ и чем больше АТ, тем выше вероятность перехода АТ → ГЦ и тем меньше вероятность обрат-

¹ М. Ичас. Биологический код. М., «Мир», 1971, стр. 276.

ного перехода. В длинной цепи поколений, которую мы именуем эволюцией, нуклеотидный состав ДНК совершает колебания, подобно маятнику. Эти колебания не могут превысить некоего предела, но, как мы увидим из следующего раздела, по каким-то причинам они не затухают.

Все вышеизложенное не относится к так называемым сателлитным ДНК, встречающимся в качестве примеси в суммарной ДНК многих организмов. Сателлитная ДНК крабов рода канцер, например, представляет практически чистый АТ-полимер. Сомнительно, однако, чтобы она содержала информацию о синтезе какого-либо белка — белки со столь обедненным аминокислотным составом неизвестны. Приходится признать, что функции этого АТ-полимера нам пока неведомы, так же, как и функции других сателлитных ДНК. Это, впрочем, не мешает использовать состав и количество сателлитов как таксономический признак. Большие работы в этом направлении проводятся группой, возглавляемой профессором Уокером в Эдинбурге. Уже удалось показать, что близкие виды грызунов хорошо различаются по набору сателлитов. Отсюда следует, что разрешающая способность этого признака весьма велика. Последние работы в этой области показали необычайную распространенность сателлитных ДНК разного состава (от АТ-полимера до обогащенных парами ГЦ) в самых разных группах. Они обнаружены у бактерий, водорослей, простейших, беспозвоночных и позвоночных животных — вплоть до человека.

К сожалению, использовать наличие и состав сателлитной фракции в таксономических целях не так-то просто, так как для этого требуется продолжительное ультрацентрифугирование в градиенте хлористого цезия. Далеко не каждая лаборатория в настоящее время обладает подобной техникой и кадрами, но положение постепенно улучшается. Быть может, выяснение функций сателлитных ДНК прольет свет на многие темные вопросы дифференцировки и дивергенции видов, возникновения генетической несовместимости и ряд других. Решение этой проблемы — дело будущего, по всей вероятности не очень далекого. Уже есть данные, показывающие, что сателлитные ДНК как будто бы выполняют в хромосомах регулирующую и ориентирующую роль и имеют какое-то отношение к центромерам и веретену, возникающим при делении клеток. Это хороший задел для проверочных экспериментов.

НУКЛЕОТИДНЫЙ СОСТАВ ДНК И МАКРОФИЛОГЕНЕЗ

Естественная система представляет генетическое распределение существ, как в родословном древе...

Ч. Дарвин. Происхождение видов

За последние 20 лет усиленного изучения нуклеиновых кислот в литературе накопился огромный материал по составу ДНК. Число организмов, у которых определен процент ГЦ, уже приближается к двум тысячам. Естественно, не все таксоны изучены равномерно, однако уже имеющихсЯ данных достаточно, чтобы судить о распределении этого признака в больших систематических категориях, ранга типа или класса. Полученная картина будет неизбежно крупномасштабной, но не исключена возможность, что при взгляде на нее нам откроются ранее незаметные закономерности макрофилогенеза — становления крупнейших таксонов.

Трудоемкая работа по сведению всех данных по проценту ГЦ в ДНК и вычислению всех статистических параметров была проведена в нашей лаборатории А. С. Антоновым. Результаты представлены на рис. 1; можно сказать, что они оказались неожиданно интересными.

В литературе (да и в этой брошюре) можно встретить выражения: «ГЦ- и АТ-тип ДНК». Под этим обычно подразумеваются крайние варианты единого распределения. Можно было ожидать, что распределение частоты встречаемости процента ГЦ следует нормальному закону: чаще всего должна встречаться ДНК, в которой ГЦ ~ 50%. Такая ДНК именуется эквимольярной. Чем больше отклоняется состав ДНК от эквимольярного, тем реже частота его встречаемости, и кривая распределения должна была иметь колоколообразную форму с максимумом на ГЦ = 50%.

Должна — но не имеет. Кривые распределения оказываются или двугорбыми (как говорят статистики — бимодальными с максимумами на 39—44% ГЦ (АТ-тип) и 52—56% ГЦ (ГЦ-тип) или же унимодальными, но со смещенным от 50% максимумом. Природа «не любит» эквимольярной ДНК — это первое, что приходит в голову при взгляде на рисунок. Поэтому ГЦ- и АТ-типы ДНК — не произвольно выделенные, а реально существующие в природе группировки. Этот вывод весьма интересен в свете теории информации, из которой следует, что наибольшая информационная нагрузка присуща коду, в котором все символы встречаются с одинаковой частотой. Эквимольярная ДНК должна была бы обладать максимально возможной информационной емкостью, и

она-то как раз реже встречается в природе. Трудно сейчас сказать, чем объясняется эта закономерность. Вспомним, однако, что все коды, применяемые человеком, также не реализуют максимально возможную для них емкость. В принципе можно представить письменность, в которой все буквы встречаются с одинаковой частотой. С точки зрения теории

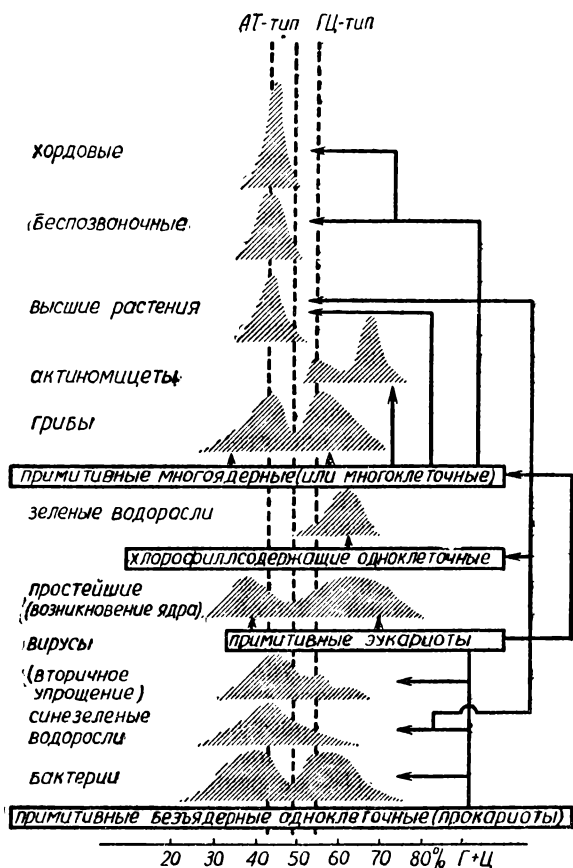


Рис. 1. Распределение частоты встречаемости нуклеотидного состава ДНК в крупных таксонах. По оси абсцисс — процентное содержание ГЦ-пар в ДНК.

информации это самый экономичный код, и если он все-таки не существует, это означает лишь одно — емкостью кода приходится поступиться ради других требований, предъявляемых к нему (устойчивость к помехам, возникающая бла-

годаря избыточности). По-видимому, и здесь мы имеем аналогичный процесс.

Как же возникла бимодальность распределения частоты встречаемости % ГЦ у некоторых групп? Прежде всего приходит в голову мысль о полифилии таких групп. Иными словами, такие группы искусственны, они возникли по меньшей мере от двух разных предков. К сожалению, это объяснение можно применить только к актиномицетам, у которых оба максимума лежат в ГЦ-области. Меньший максимум соответствует коринебактериям, хорошо отличающимся от других, собственно актиномицетов. Но в применении к другим таксонам — бактериям, простейшим, грибам это объяснение кажется простой констатацией факта. Если группа бактерий дифилетична (происходит от двух предковых групп), почему же мутационный процесс не сгладил различия между ними, не привел к возникновению форм с эквимоллярной ДНК, заполнивших бы седловину между максимумами? Потому что эквимоллярная ДНК чем-то невыгодна? Но если она невыгодна, то бимодальность распределения может возникнуть из первоначально одновыпуклой кривой, свидетельствующей о монофилетичности происхождения таксона.

Наконец, самое радикальное предположение: бимодальность может возникать как следствие чисто случайного процесса. Мы уже упоминали об отрицательной обратной связи между процентом ГЦ в ДНК и частотой мутирования в ту и в другую сторону. Известно, однако, что в некоторых случаях отрицательная обратная связь, сглаживающая колебания, может превращаться в положительную, увеличивающую амплитуду колебаний. Такой процесс осуществляется, например, в генераторах колебаний. Представляется грандиозная картина, в которой нуклеотидный состав ДНК колеблется, как маятник, частота колебаний которого примерно того же порядка, что и возраст нашей Земли. Отсюда следует, что наличие у многоклеточных животных и высших растений только АТ-типа ДНК не вечно. Просто в этих таксонах формы с ГЦ-типом ДНК еще не успели возникнуть, но когда-нибудь появятся!

Делать такие прогнозы можно, но трудно к ним отнестись серьезно. Никому из нас не прожить миллиарда лет, необходимого для колебания маятника ДНК в ГЦ-сторону; сомнительно, что и Земля просуществует столь долгий срок без существенных изменений. Поэтому поговорим лучше о филогенетических выводах из представленной схемы, ибо прошлое не столь туманно, как будущее.

По-видимому, самый любопытный вывод касается происхождения многоклеточных животных и высших растений. Первую группу по традиции обычно выводят из колониальных жгутиковых одноклеточных типа ныне живущих пандо-

рины, эвдорины и вольвокса. Некоторые ученые полагают, что развитие многоклеточного зародыша из одноклеточной зиготы, согласно биогенетическому закону, повторяет этот процесс.

Однако нуклеотидный состав ДНК жгутиконосцев в среднем 58,8% ГЦ; для многоклеточных животных та же величина 40,1—41,9%. Столь сильное различие максимумов распределения весьма существенно. Мало вероятно, что животные произошли от колониальных жгутиконосцев. Вторая модальная группа простейших имеет АТ-тип ДНК, но это инфузории, с которыми многоклеточных животных уже никто не связывает. Инфузории — тупик эволюции, направленный в сторону максимального усложнения организма на уровне одноклеточности. Достаточно одного примера — у всех животных половой процесс происходит как копуляция (слияние половых клеток в зиготу и их гаплоидных ядер в диплоидное ядро). Инфузории в течение полового процесса не сливаются, а лишь обмениваются ядрами. Этот процесс, именуемый конъюгацией, не имеет аналогии в мире животных (нечто подобное, впрочем, наблюдается у бактерий).

Можно, конечно, полагать, что в протерозойскую эру существовали некие жгутиконосцы с АТ-типом ДНК. Логичнее, однако, вспомнить о существовании других организмов, очень рано ставших многоядерными и многоклеточными с ДНК АТ-типа и многими чертами «животного» обмена. Эти организмы — грибы. Разумеется, нельзя выводить животных из высокоспециализированных грибов типа мухомора или опенка. Речь может идти лишь о крайне примитивных грибообразных организмах, ставших предками не только грибов, но и примитивных многоклеточных животных.

Поспешим оговориться, что мы не одиноки в столь кардинальном изменении филемы (родословного древа) животного мира. Многие систематики пришли к близким выводам, анализируя фенотипические признаки грибов и животных, и биохимический анализ генотипа лишь подтверждает эту точку зрения¹.

Не менее интересная картина получится, если мы с этой же точки зрения рассмотрим пути филогенеза высших растений. Эту группу по традиции выводят от зеленых водорослей, с которыми высшие растения сближает в первую очередь набор фотосинтезирующих пигментов. Такое предположение, однако, может вызывать сомнение, так как ДНК высших растений АТ-типа (42% ГЦ), а ДНК зеленых водорослей ГЦ-

¹ См., например, филему органического мира по Уиттакеру, приведенную в книге Н. В. Тимофеева-Ресовского, Н. Н. Воронцова и А. В. Яблокова. «Краткий очерк теории эволюции». Грибы, животные и простейшие в ней выводятся из одного корня.

типа (61,3% ГЦ). Крайне маловероятно, чтобы в процессе эволюции возникла разница более чем в 19 молярных процентов. Как нам кажется, разумнее предположить иное. Еще в конце прошлого века высказывались гипотезы, что так называемые хлорофилловые зерна (хлоропласты) — фотосинтезирующий аппарат растительной клетки — симбиотического происхождения и представляют значительно упрощенных и видоизмененных потомков некогда свободноживущих организмов, приспособившихся к внутриклеточному симбиозу. В последнее время в пользу этой гипотезы накопилось немало данных.

Во-первых, хлоропласты оказались достаточно автономными органеллами. Они размножаются сами и никогда не возникают заново. Автономность их объясняется тем, что у хлоропластов имеется собственная ДНК, по составу отличная от геномной.

Во-вторых, ДНК хлоропластов и ряд других черт их организации удивительно напоминают аналогичные признаки у одноклеточных синезеленых водорослей. Есть у хлоропластов и свои специфические рибосомы.

В-третьих, описаны удачные опыты, когда хлоропласты хорошо себя чувствовали в синтетической среде. В опытах М. М. К. Насса (США) хлоропласты, выделенные из шпината и фиалки, добавлялись к культуре клеток (фибробластов) мыши. Оказалось, что мышинные фибробласты активно захватывают хлоропласты, причем предварительно убитые хлоропласты перевариваются, а живые чувствуют себя вполне нормально и продолжают ассимилировать углекислый газ. Подобный процесс наблюдался и в природных условиях: некоторые голожаберные моллюски сохраняют в своих тканях активные хлоропласты съеденных ими водорослей. Все это напоминает классический опыт Фаминцына и Баранецкого, доказавший симбиотическую природу лишайника.

Можно предположить, что возникновение внутриклеточного симбиоза с предками хлоропластов возникло у предковых форм зеленых водорослей и высших растений совершенно независимо. У других водорослей — красных и бурых — хлоропласты другие и, вероятно, возникли от других предков.

Аналогию этого процесса легко найти в царстве животных. Здесь мы видим как бы вторую волну симбиоза — одноклеточные водоросли — зоохлореллы и зооксантеллы (сами, по нашим представлениям, являющиеся организмами двойственной природы) поселяются в цитоплазме одноклеточных (корненожки, инфузории), губок, кишечнополостных (гидры, рифообразующие кораллы), а также в червях (планарии) и моллюсках (включая самых больших двустворчатых моллюсков — тридакн). Крайне близкие виды водорослей-зооксан-

тепл живут в симбиозе со столь разнородными организмами, как моллюски и радиолярии, однако никому в голову не приходит сблизать их хозяев. Не исключена возможность, что в случае с зелеными водорослями и высшими растениями дело обстоит примерно так же.

В правой части рис. 1, иллюстрирующего частоту встречаемости различного нуклеотидного состава ДНК, показано родословное древо высших таксонов так, как мы его сейчас представляем. В соответствии с веяниями времени оно больше похоже на радиосхему. Из него следует, что возникновение новых таксонов возможно не только путем дивергенции, расхождения ветвей, но и путем их слияния за счет возникновения организмов симбиотической, двойственной природы.

Разумеется, эта схема гипотетична, но, по-видимому, такова судьба всех родословных деревьев животного и растительного мира. Достоверность первых филем Э. Геккеля сравнивали с достоверностью родословных гомеровских героев. Но вслед за античным философом Секстом-Эмпириком мы можем сказать «ни про что, из того, о чем здесь говорится, мы не утверждаем, что так было на самом деле, но излагаем этот вопрос так, как нам сейчас это кажется».

Таксономическое значение минорных оснований

Говоря о систематическом значении нуклеотидного состава ДНК, необходимо остановиться на так называемых минорных или дополнительных основаниях, которые, как правило, являются метилированными и содержатся в составе тех или иных ДНК в очень малых количествах в сравнении с обычными, шаблонными четырьмя видами дезоксирибонуклеотидов, входящих в состав всех ДНК. Таких оснований для ДНК известно 2: 5-метилцитозин (2-окси-4-аминопиридин, метилированный по пятому атому углерода) и 6-метиламинопурин (метилированный аденин, в котором метильная группа замещает атом водорода в аминогруппе).

На первый взгляд казалось бы странным придавать большое значение основаниям, содержащимся в составе ДНК в очень малых количествах, да еще приписывать им большую специфику и связь с филогенией организмов. Между тем для таких представлений имеются определенные предпосылки.

В результате исследований, проведенных в нашей лаборатории Ванюшиным, Антоновым и Пахомовой, а также и в ряде зарубежных лабораторий, был сделан существенный вывод о том, что существуют четкие качественные и количественные различия в содержании таких метилированных, минорных оснований в ДНК организмов, относимых к различным естественным группам.

Так, доказано, что одно из этих метилированных основа-

ний, 5-метилцитозин, в больших количествах (2—10 молярных процента) содержится в ДНК высших растений и в несколько меньших количествах — в ДНК многоклеточных животных (0,1—2,0 молярных процента). Недавно Пахомова установила, что это основание в достаточно больших количествах встречается и в составе ДНК водорослей, а Ванюшин определил его количественное содержание в ДНК самых разнообразных микроорганизмов. Оказалось, что количественное содержание 5-метилцитозина в ДНК бактерий очень невелико, но что они содержат в основном другое метилированное основание — 6-метиламинопурин. Количественное содержание 6-метиламинопурина в ДНК различных организмов также оказалось неодинаковым. Кроме бактерий, он есть в ДНК водорослей и, видимо, в ничтожно малых количествах в ДНК высших растений, но совершенно отсутствует в ДНК животных. Быть может, 6-метиламинопурин содержится в ДНК хлоропластов: напомним, что происхождение хлоропластов от свободноживущих организмов типа синезеленых водорослей весьма вероятно.

Доказано, что наличие и количественное содержание 6-метиламинопурина и 5-метилцитозина в бактериальных ДНК не зависит от их суммарного состава и может иногда служить отличительным признаком вида и даже штамма. В результате этих наших исследований окончательно рухнуло устоявшееся представление о качественном отличии ДНК высших форм, согласно которому считалось, что специфическим «минорным» основанием бактериальных ДНК является 6-метиламинопурин, а животных и растительных ДНК — 5-метилцитозин.

Интересно, что синтез этих оснований путем метилирования аденина и цитозина осуществляется с помощью особых ферментов — метилаз на полимерном уровне в уже сформировавшихся молекулах ДНК, причем весьма точно и в строго определенных местах молекулы. Сам по себе этот факт указывает на большую специфику этого процесса, а следовательно, и несомненную его связь с филогенией организмов. Спрашивается, с помощью каких механизмов осуществляется такое точное метилирование только строго определенных оснований, расположенных в строго фиксированных местах цепи молекулы? Это до сих пор остается загадкой, представляющей весьма существенный интерес. Точно так же не совсем ясно и значение этих минорных оснований, так точно встроенных в молекулярную цепочку ДНК. Во всяком случае, выяснение этих вопросов весьма существенно для решения общей проблемы специфики ДНК и ее отношения к филогении организмов и реализации наследственности в процессах роста, развития и размножения.

Для понимания функциональной роли метилирования

ДНК, выяснения механизма и специфичности действия соответствующих ДНК-метилаз необходимо тонкое изучение всей нуклеотидной последовательности ДНК или, по крайней мере, тех участков ДНК, в которых происходит метилирование.

Попытка такого рода исследования была осуществлена в нашей лаборатории Б. Ф. Ванюшиным и В. А. Бурьяновым. На основании изучения распределения 6-метиламинопурина в цепи ДНК кишечной палочки и фага T2 и детального анализа полученного экспериментального материала представляется вполне вероятным высказанное нами ранее предположение о том, что 6-метиламинопурин может как бы размыкать отдельные цистроны или гены в ДНК, находясь в точках конца (или начала) считывания определенной логической информации с цепи ДНК.

Вероятно, показателем связи метилированных оснований с активным функционированием ДНК в процессах жизнедеятельности является и то наблюдение, которое было сделано в последнее время в нашей лаборатории и свидетельствующее о том, что при старении организма в ДНК существенно уменьшается количество метилированных оснований.

Таким образом, весьма вероятно, что метилирование является специфической модификацией нуклеиновых кислот, которая сопровождается серьезными изменениями их структуры, физико-химических и биологических свойств. Наличие, природа и характер распределения минорных метилированных оснований в ДНК разного происхождения являются дополнительными специфическими чертами генетического материала клетки и могут иметь определенное таксономическое значение. Видимо, само происхождение ДНК-метилаз связано со специализированным и заключительным этапом биосинтеза ДНК в клетке, который придает ей уникальные индивидуальные особенности и поэтому играет важную роль при видообразовании и эволюции различных организмов.

Изоплитный анализ ДНК

Нуклеотидный состав ДНК много дал, дает и в будущем будет являться необходимым атрибутом в систематике всех групп организмов. Однако его возможности ограничены (мала разрешающая способность). Мы уже указывали, что специфичность ДНК может реализоваться не по составу, а по нуклеотидной последовательности, которая «рассыпается» в процессе гидролиза. Можно ли различить книги по рассыпанным и перемешанным типографским наборам?

В идеале геносистематика дойдет до того, что мы сможем различать виды по нуклеотидным различиям в последовательностях отдельных генов. К сожалению, до этого еще

очень далеко. Мы еще не умеем выделять отдельные гены, В геноме участки ДНК, соответствующие отдельным цистронам, стыкуются с помощью так называемых терминальных кодонов, не кодирующих никаких аминокислот (ТАА, ТАГ и ТГА). Выделяемые мынами препараты ДНК представляют хаотически перемешанные фрагменты генома, в которых части цистронов соединяются случайным образом, как части слов в начале этого предложения.

До самого последнего времени мысль о возможности выделения отдельных генов и проведении исследований на генном уровне казалась делом далекого будущего и даже просто фантастической. Однако в самом конце 1969 г. группа ученых Гарвардского университета выделила из ДНК кишечной палочки участок ДНК, который соответствовал всего трем генам. Этот успех обнадеживает, но его не следует преувеличивать. Напомним, что в геноме кишечной палочки «всего лишь» четыре с половиной миллиона пар оснований, образующих по разным оценкам от 5 до 15 тыс. генов. Соответствующие цифры у высших организмов возрастают на три порядка: здесь количественные трудности явно перерастают в качественные.

Мы убеждены, что препятствия, поставленные природой, будут в конце концов преодолены, быть может, в не столь отдаленном будущем. Но мы-то живем в настоящем. Нельзя ли в таксономических целях сопоставлять неизвестные нам нуклеотидные последовательности?

Вопрос кажется парадоксальным, однако есть уже два метода, позволяющие подойти к его разрешению. Их мы рассмотрим в этой и последующей главах. Первый метод легче понять по аналогии, почерпнутой из сравнительного языкознания.

Письменность древнего населения острова Крит (так называемое линейное письмо А) не расшифрована до конца. Мы умеем читать письма поданных царя Миноса, но понять их не можем, так как не знаем языка, на котором они написаны. Однако о родственных связях этого, ныне мертвого, языка мы что-то сказать можем, хотя и не знаем значения ни одного слова. Можно утверждать, что линейное письмо А отражает особенности языка, в котором гласные буквы чередовались с согласными, не было скопления двух или более согласных рядом и слоги не были закрытыми (типа наших слогов *дом, рот, кол*). Отсюда следует, что язык создателей древней минойской цивилизации не был индоевропейским (семья языков, куда входят и наш русский, и древнегреческий) — ведь в русском языке возможны такие буквосочетания, как *взвод, встреча*. Из живых языков к минойскому, пожалуй, ближе японский и полинезийский, где гласные и согласные строго чередуются. Статистический анализ ча-

стоты встречаемости комбинаций гласных и согласных — вот с чего начинается обычно расшифровка мертвого языка. Нечто подобное можно проделать и с первичной структурой ДНК. Как мы знаем, в цепи ДНК чередуются пурины (А и Г) и пиримидины (Т и Ц), причем пурину в одной цепочке соответствует пиримидин в комплементарной. В последовательности пурины и пиримидины («гласные и согласные» генетического языка) могут повторяться разное число раз. Такие фрагменты, содержащие только пурины или только пиримидины, называются соответственно пуриновыми и пиримидиновыми изоплитами или блоками.

За последние годы в лаборатории биоорганической химии МГУ А. Л. Мазин и Б. Ф. Ванюшин разработали новый методический прием фракционирования пиримидиновых фрагментов (моно-, ди-, три-, тетра-, пента- и гексапиримидиновых изоплит), образующихся из ДНК в результате ее гидролиза по методу Бартона. Пурины при этом разрушаются и выщепляются из цепи; участки последовательности, состоящей из одних пиримидиновых нуклеотидов, остаются целыми и могут быть разделены при помощи хроматографии на ионообменнике (ДЭАЭ-сефадекс). Чем больше количество длинных (тетра-, пента- и гексапиримидиновых) нуклеотидов, тем выше сблоченность ДНК. Любопытно, что ДНК, практически неотличимые по нуклеотидному составу, могут резко отличаться по сблоченности.

Показателем сблоченности может быть отношение высокополимерных изоплит ($n \geq 4$) к низкополимерным ($n \leq 3$). Анализ этого показателя у ДНК организмов, относящихся к разным систематическим группировкам, дал интересные результаты (рис. 2). Оказалось, что сблоченность пиримидинов в ДНК закономерно возрастает с усложнением организации — в ряду от беспозвоночных к млекопитающим и от микроорганизмов к высшим растениям. Видимо, имеется определенная связь между степенью сблоченности и эволюционным возрастом сравниваемых групп, что согласуется с высказанной А. С. Антоновым гипотезой о существовании связи между степенью вариабельности первичных структур ДНК и эволюционным возрастом таксонов.

Интересно, что наибольшую информационную нагрузку на нуклеотид имела бы ДНК эквимолярного состава с нулевым коэффициентом сблоченности, т. е. полностью случайным распределением нуклеотидов. Мы уже видели, что эквимолярная ДНК в природе практически мало реализуется, а коэффициент сблоченности в процессе эволюции возрастает, иными словами, наряду с огромным возрастанием общего количества генетической информации происходит снижение информации, приходящейся на отдельный нуклеотид (снижение энтропии на символ).

В последнее время А. Л. Мазин заменил коэффициент сблоченности более информативным показателем. Кривая распределения частот встречаемости изоплит по возрастанию полимерности, как правило, имеет S-образную форму и специфична для данного таксона. Уже анализ этих кривых позволяет оценивать родственные связи систематических групп

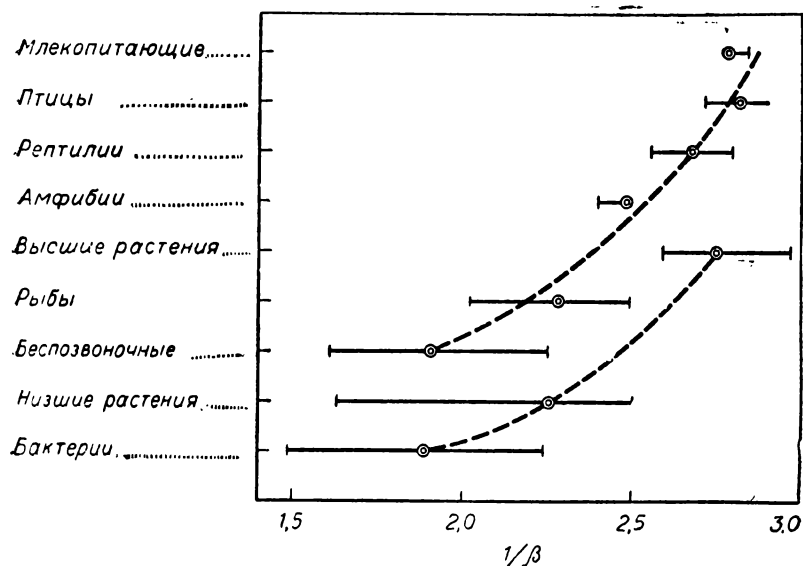


Рис. 2. Увеличение сблоченности пиримидинов в ДНК в процессе эволюции животных и растений. По оси абсцисс — обратная величина степени сблоченности пиримидинов в ДНК.

пировок. Если же мы опишем кривую подходящим уравнением, коэффициенты этого уравнения также могут служить таксономическими параметрами.

Аналогичные сведения могут быть получены и в результате определения частоты встречаемости пуриновых изоплит в ДНК. Методические приемы, позволяющие получить такого рода данные, разработаны Б. Ф. Ванюшиным и В. А. Бурьяновым. Оба метода дают возможность исследовать не только характер распределения обычных, но и мнорных, метилированных нуклеотидов. Информация об особенностях первичных структур ДНК различных организмов, получаемая при помощи этих методов, весьма обширна, причем это только начало. Разрешающую способность методов можно повысить путем фракционирования каждого пуринового или пиримидинового фрагмента. Так, во фракции пиримидиновых динуклеотидов могут быть представлены следующие

щие изоплиты: ТТ, ЦЦ, ТЦ и ЦТ. Анализ частот их встречаемости позволит получить весьма ценные данные о структуре генома; намечаются и конкретные пути для осуществления подобной процедуры.

МЕТОД МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ

В принципе наиболее перспективным биохимическим подходом к классификации высших таксонов является сопоставление ДНК...

Э. Майр. Принципы зоологической систематики

Быть может, наиболее важен для целей таксономии так называемый метод молекулярной гибридизации. Дело в том, что все описанные нами выше методы имеют один недостаток: они могут свидетельствовать о различиях, а не о родстве. Если две формы (или группы форм) характеризуются, например, резко различным нуклеотидным составом ДНК, ясно, что они связаны довольно отдаленным родством. Сходство же по этому признаку еще ни о чем не говорит, так как иногда возможно случайное совпадение состава у форм, крайне удаленных друг от друга в систематическом отношении. Например, ДНК кишечнополостного (актиния), двустворчатого моллюска (пектен) и голубя практически идентичны по составу (ГЦ = 39,6%). Метод молекулярной гибридизации позволяет судить о проценте сходных нуклеотидных последовательностей, а эта величина непосредственно свидетельствует о родстве.

Этот метод разработан в США в лаборатории Роберта Хойером, Мак-Карти и Болтоном, имевшим в свою очередь предшественника — Мармюра, заложившего основы метода еще в начале 60-х годов в лаборатории Доти. Принцип его сравнительно несложен. Известно, что ДНК в норме состоит из двух комплементарных цепей, соединенных водородными связями между аденином и тиминном и гуанином и цитозинном. Водородные связи гораздо слабее ковалентных (3—5 килокалорий на моль) и не могли бы существовать при комнатной температуре. Однако в длинной молекуле ДНК сотни и тысячи водородных связей. Разрыв нескольких из них не влияет на целостность молекулы. Но если мы повысим температуру, особенно в условиях низкой ионной силы, водородные связи рвутся и двойная спираль распадается на две комплементарные половинки. Температура, при которой происходит этот процесс, называемый денатурацией ДНК, за-

висит от ее нуклеотидного состава. ДНК ГЦ-типа денатурируется при более высокой температуре, чем АТ-типа, так как пара Г—Ц скреплена тремя водородными связями (а не двумя, как пара аденин—тимин).

Что произойдет, если мы медленно охладим раствор денатурированной ДНК? При этой процедуре, именуемой отжигом, начинается процесс ренатурации, воссоединения комплементарных цепей. Естественно, каждая цепь должна в результате хаотического теплового движения найти себе комплементарную половину, иначе ренатурации не произойдет, двойная спираль не восстановится (рис. 3). Гомогенная ДНК вирусов и фагов (геном вируса состоит из одной молекулы) ренатурируется быстро и на 100%. Но уже у бактерий геном настолько неоднороден (единственная бактериальная хромосома к тому же ломается в процессе выделения ДНК), что 100% воссоединение комплементарных цепей невозможно в более или менее обозримые сроки.

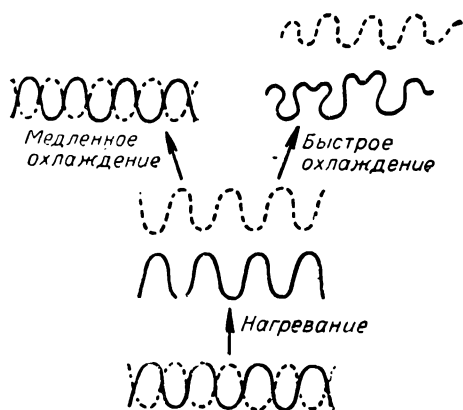


Рис. 3. Денатурация ДНК нагреванием, вызывающим расхождение цепей. Видно, что при медленном охлаждении происходит ренатурация цепей, а при быстром охлаждении они остаются разделенными.

Мак-Карти и Болтов денатурировали ДНК в буферном растворе с примесью нескольких процентов агара. При охлаждении раствора агар превращался в плотный гель, в который была «вплавлена» денатурированная ДНК. Молекулы ДНК при этом фиксированы, или, как говорят, иммобилизованы (обездвижены) в геле; тепловое движение их не может перемещать и ренатурации не происходит. Агар, кстати, при этом необязателен. Впоследствии иммобилизацию с успехом стали проводить в полиакриламидном геле или на фильтре из нитроцеллюлозы. Далее через колонку с гранулами такого геля, или через фильтр, пропускают раствор ДНК, также денатурированной, но подвергнутой перед этим большей деградации (двойная спираль ДНК жестка, как палочка, и легко ломается ультразвуком или простым перемешиванием раствора; такой процесс называется деградацией).

Короткие фрагменты деградированной ДНК легко проходят через поры геля и взаимодействуют с иммобилизированной

ной ДНК. Если они найдут себе комплементарные пары, то возникают реассоциированные (восстановившие структуру) двойные цепи.

Низкомолекулярную ДНК метят радиоактивными фосфором, углеродом или тритием. В дальнейшем нужно вымыть из колонки с гелем неприсоединившуюся меченую ДНК. Здесь весьма полезен прием, заключающийся в том, что препарат обрабатывают специфическим ферментом — дезоксирибонуклеазой, расщепляющей одноцепочечную ДНК до мононуклеотидов, но не трогающей двухцепочечной. Мононуклеотиды вымываются из колонки буферным раствором; в результате остается только реассоциированная ДНК, о количестве которой мы можем судить по радиоактивности конечного продукта (рис. 4).

А теперь самое важное: если иммобилизованная и фрагментированная, меченая ДНК выделена из разных организмов, мы получаем гибридные цепи. Процент гибридизации фактически должен доказать нам прямое родство сопоставляемых форм, выраженное в количестве сходных генов.

Пионеры работ в этой области — Хойер, Болтон и Мак-Карти — прекрасно отдавали отчет в том, насколько разработанный ими метод может быть полезным именно для систематики. Ибо в конечном счете это прямое определение близости геномов друг к другу, заветный критерий родства. По ряду причин методу молекулярной гибридизации «не страшны» конвергенция и параллельное развитие — проклятие всех ныне существующих систем. У животных и растений, не происходящих от одного предка, в результате адаптации к одному и тому же образу жизни возникают удивительно сходные приспособления. Вспомним хотя бы сумчатого крота и обыкновенного крота. Очень сходны американские кактусы и африканские засухоустойчивые молочаи. Число таких примеров можно многократно умножить. Правда, конвергенция не идет далеко «вглубь», и если мы перейдем от внешнего вида животного или растения к его анатомии и гистологии, у нас больше шансов найти реальные различия между кажущимися родственниками. Однако это бывает далеко не всегда, особенно у растений. В настоящее время считается доказанным, что многие элементы их микроструктуры (например, стенки проводящих клеток — трахей) эволюционировали совершенно сходным путем в разных группах, и этот процесс привел к возникновению одинаковых признаков. Аналогичные примеры известны и у животных. Насекомые, в частности, характеризуются дыхательной системой из тонких трубочек — трахей, пронизывающих все их тело. Но трахейная система совершенно независимо возникает у паукообразных (древние и примитивные паукообразные — скорпионы — ее еще не имеют и дышат жабрами,

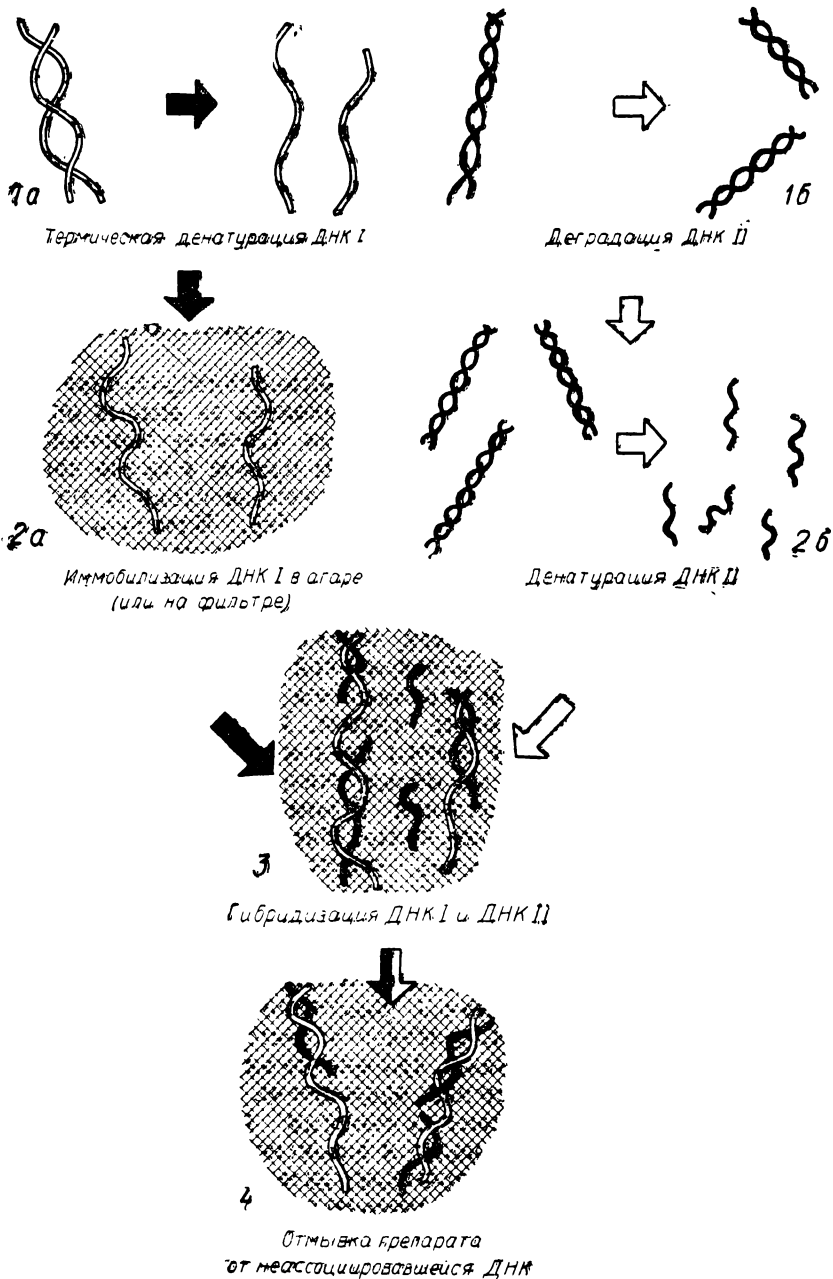


Рис. 4. Схема процесса молекулярной гибридизации.

углубленными под поверхность тела). Класс паукообразных вообще дает нам примеры весьма далеко заходящей конвергенции. Лишь в последнее время появились убедительные данные, свидетельствующие о том, что огромная и чрезвычайно важная в практическом отношении группа клещей сборная: она состоит по меньшей мере из трех самостоятельных отрядов, ведущих начало от разных предков. Наиболее убедительный довод в пользу этой точки зрения — это то, что примитивные формы в каждом отряде более разнятся, чем эволюционно подвинутые. Иными словами, мы имеем в процессе эволюции сближение форм по многим признакам, т. е. конвергенцию.

Второй пример независимо возникающих признаков — тип онихофор, или первичнотрахейных. Эти маленькие червеобразные животные, обитающие во влажной подстилке тропических лесов, имеют трахейную систему и раньше считались предками насекомых. Теперь же систематики склоняются к мысли, что первичнотрахейные, или, как их еще называют, перипаты, приобрели трахейную систему независимо от насекомых, так же как и паукообразные. У перипатов есть оригинальное свойство защиты и нападения — хищника или жертву они обездвиживают, выбрасывая струю крайне липкой и тягучей слизи. Аналогичное средство защиты возникло (разумеется, совершенно независимо от перипатов) у некоторых насекомых (термиты-носачи). Таких примеров можно привести немало. Так что исследование микроструктур — еще не панацея от ошибок, обусловленных конвергенцией.

Весьма часто в процессе эволюции возникают конвергентно и функционально сходные белки (гемоглобины дождевых червей и позвоночных, лизоцимы фагов и высших организмов). Однако конвергентное возникновение идентичных аминокислотных последовательностей уже маловероятно. Еще менее вероятно подобное возникновение идентичных цепей ДНК, даже если они кодируют идентичные аминокислотные последовательности. Ведь генетический код вырожден, т. е. большинству аминокислот может соответствовать несколько триплетов.

Поэтому молекулярная гибридизация — весьма многообещающий метод для выявления полифилетических, неестественных таксонов. А число их не так уж мало даже в таких хорошо исследованных группах, как млекопитающие и птицы. Сравнительно недавно установлена полифилия отряда грызунов, ныне разделяемого на два самостоятельных отряда — зайцеобразных (двупарнорезцовых) и двурезцовых. Метод молекулярной гибридизации хорошо подтвердил этот вывод — в ДНК крысы и кролика мало сходных последовательностей. Дискутируется вопрос о разделении на само-

стоятельные отряды зубатых и беззубых китов. Наконец, есть предположения, что отряд ластоногих сборный — отдельные их семейства произошли от разных семейств отряда хищных. Метод молекулярной гибридизации мог бы здесь оказать немалые услуги.

Естественно, первые работы лаборатории Робертса в этом направлении не могли не вызвать у профессиональных систематиков снисходительной усмешки: их не могло удивить то, что процент гибридизации ДНК человека и обезьяны высок, человека и лосося гораздо ниже, а у человека и бактерий — нулевой. Но первые работы, имеющие целью обоснование метода, должны быть выполнены на уже изученном материале и дать тривиальные результаты. Все же перед внедрением метода в систематику стояли вполне объективные трудности.

Первая из них заключалась в невозможности получить препараты меченой ДНК для многих организмов, не растущих в контролируемых человеком условиях. Это значительно сужало сферу применения метода. Недаром первые успешные работы в этом направлении выполнены на микроорганизмах, которые легко вырастить на среде с мечеными предшественниками ДНК. Но как пометить ДНК кита или глубоководной рыбы?

Трудности этого рода, однако, успешно преодолеваются, причем разными способами. Разработаны способы мечения ДНК *in vitro*. Наиболее освоен метод тритирования, когда выделенная ДНК при высокой температуре инкубируется в буфере с добавкой тритиевой воды (T_2O). При этом часть водорода в молекуле ДНК замещается на тритий. Так как последующие манипуляции (гибридизация и отмывка) производятся при более низкой температуре, потеря метки незначительна. ДНК можно также дейтерировать, заменив водород тяжелым водородом — дейтерием. Правда, этот изотоп верадиоактивен, но примесь его легко обнаружить при помощи специальной аппаратуры, к сожалению, еще слабо распространенной в биохимических лабораториях. Метку можно присоединить к ДНК химически, в составе метильных групп, переносом с метанола или diaзометана. Наконец, реальна активация фосфора в ДНК в ядерном реакторе, но малый период полураспада изотопа фосфора накладывает на этот метод жесткие ограничения по времени.

Открыты также способы определения процента гибридизации без метки. Один из них, основанный на определении скорости ренатурации ДНК в растворе, описан бельгийским исследователем Де-Леєм. Применив его на практике, Де-Лей произвел полный переворот в систематике многих родов микроорганизмов. Однако метод Де-Лея применим не везде. Наилучшие результаты он дает именно при гибридизации

геномов малой сложности, реассоциирующихся в обозримые сроки.

Второй, принципиально новый метод, успешно разрабатывается в лаборатории биоорганической химии МГУ А. С. Антоновым. Он основан на том, что комплексы односпиральной и двуспиральной ДНК с красителями акридинового ряда дают разную по длине волны и времени возбуждения флуоресценцию. Для подобных измерений нужна, однако, весьма сложная и уникальная аппаратура.

Трудности второго рода оказались более серьезными, но после их преодоления возможности метода необычайно расширились. Речь идет о сложной структуре генома. Мы уже упоминали о так называемых сателлитных фракциях ядерной ДНК. Сателлитная ДНК весьма гомогенна, представлена, по всей вероятности, сходными повторяющимися последовательностями и легко реассоциируется после плавления (легче, чем фаговая и бактериальная).

Дальнейшие исследования показали, что не только в сателлитной, но и в основной фракции ДНК позвоночных имеются многократно, до 100 000 раз повторяющиеся последовательности (в геноме мыши их, например, 15—20% от всей ДНК). Фракция повторяющихся последовательностей очень быстро реассоциируется после денатурации и гибридизация идет главным образом в ней. Поэтому результаты, полученные по классической методике Болтона и Мак-Картни, характеризуют, строго говоря, родство не всей ДНК, а лишь быстро реассоциирующейся фракции.

В настоящее время разработаны методы фракционирования ДНК по скорости реассоциации на колонках с гелем фосфата кальция (гидроксиапатитом). Эта методика дает четкие и хорошо воспроизводимые результаты, но весьма трудоемка. Пользуясь ею, многие исследователи обнаружили фракции многократно повторяющихся последовательностей в ДНК хордовых (включая человека), беспозвоночных, растений и простейших. ДНК бактерий и фагов этой фракции, по-видимому, не содержит.

Не совсем ясно, для чего организмам нужно тысячекратно дублировать некоторые участки генома. Напрашивается вывод, что это нужно для помехоустойчивости наследственной информации. Отдельные мутации не могут повредить многократно дублированные участки генома, но столь высокая избыточность, по-видимому, не нужна. Есть предположения, что многократные последовательности играют регуляторную или структурную роль или же обеспечивают «массированный», быстрый синтез большого количества белков (например, гамма-глобулинов, обеспечивающих иммунитет при заражении организма). К сожалению, экспериментальные работы, подтверждающие эти гипотезы, пока отсутствуют.

Остальная часть генома представлена уникальными последовательностями, которые не дублированы или же дублируются незначительное число раз. Эта фракция реассоциирует очень медленно, гибридизация весьма невелика (3—5%) и идет только у очень близких форм, на уровне видов и родов.

Таким образом, затруднения, обусловленные сложным составом генома, в конце концов оборачиваются благом. Распределение в геноме фракций, различающихся по скорости реассоциации (так называемый геноспектр), — весьма надежный таксономический признак. Гибридизация во фракции повторяющихся последовательностей дает материал для макросистематики, та же процедура для уникальной ДНК — для микросистематики. Комбинируя условия выделения, фракционирования и гибридизации ДНК, мы в принципе можем сравнивать родство геномов в пределах таксонов любого ранга — вплоть до вида — и получить несравненно большую информацию, чем та, что дала бы методика Хойера, Болтона и Мак-Карти.

Единственное затруднение заключается в том, что все эти методики, хотя и не представляют ничего сложного, чрезвычайно трудоемки. Однако они поддаются автоматизации; появились уже первые, во многом еще несовершенные образцы полуавтоматических установок для гибридизации нуклеиновых кислот. Мы убеждены, что в ближайшем будущем они станут неотъемлемыми атрибутами учреждений, занимающихся систематикой растений, животных и микроорганизмов.

Работы по молекулярной гибридизации позволяют сделать ряд важных выводов. Остановимся на одном из них, имеющем, как нам кажется, принципиальное значение. Речь идет о разномасштабности таксонов одного ранга в разных систематических группах. Известно, что все системы построены по иерархическому принципу: виды объединяются в роды, роды в семейства, семейства в отряды (или порядки в фитосистематике) и т. д. Вплоть до царств живой природы. Вот как выглядит, например, положение в системе домашней собаки:

- царство Animalia (животные)
- тип Chordata (хордовые)
- класс Mammalia (млекопитающие)
- отряд Carnivora (хищные)
- семейство Canidae (собачьи)
- род Canis (собака)
- вид Canis familiaris (собака домашняя)

Чаще, однако, первоначальные категории дробятся и система становится значительно более сложной. Более или ме-

нее распространенными являются следующие категории (в порядке убывания ранга): царство, тип, подтип, надкласс, класс, подкласс, когорта, надотряд, отряд, подотряд, надсемейство, семейство, подсемейство, триба, род, подрод, вид, подвид. Как видно, биологический «табель о рангах» довольно сложен. В фитосистематике применяются иные обозначения, но принцип иерархии соблюдается и там. Попытки заменить его чем-либо иным, например числовыми схемами, не встретили поддержки.

Работа систематика, после того как он идентифицирует виды и объединит их в более или менее естественную группу, на этом не заканчивается. Остается выполнить еще одну процедуру, а именно — присвоить созданному таксону какой-то ранг в классификации. Процедура эта по настоящее время остается крайне субъективной. Один и тот же таксон в разных классификациях может быть назван родом или семейством, отрядом или классом. Любопытно, что большинство имеющихся в настоящее время таксонов высших организмов не вызывает сомнения в естественности — споры идут главным образом из-за того, какие ранги им присвоить. Можно подметить два основных источника разногласий:

1. Дробность классификации определяется в первую очередь изученностью группы. Линней выделил в своей системе много родов, большинство которых сейчас, когда наши знания неоднократно возросли, подняты в ранге до семейств или даже еще более высоких категорий. Есть и более разительные примеры. Первый открытый представитель нового таксона погонофор — глубоководных червеобразных животных с венцом шупалец на переднем конце тела был «зачислен» в одно из семейств, живущих в трубках кольчатых червей. Однако погонофор можно было уподобить тому наполеоновскому солдату, у которого в ранце был маршальский жезл. После того как были открыты десятки видов погонофор, оказалось, что они сродни отнюдь не червям, а хордовым животным и имеют совершенно своеобразное строение (например, полную редукцию пищеварительной системы), их пришлось поднять в ранге до типа.

2. Отчасти по этой же причине (неравномерная изученность) у систематиков, занимающихся изучением разных ветвей животного и растительного мира, есть разные критерии к рангам таксонов. Чем более высокоорганизована группа, тем более дробной оказывается ее классификация. Птицы, например, считаются одной из наиболее разработанных групп. Поэтому в классе птиц некоторые орнитологи насчитывают до 50 (!) отрядов, различия между которыми гораздо меньше, чем между разными семействами рыб и родами, а то и видами ракообразных. Некоторые эти отряды включают лишь немного видов (трехперстки, пастушковые

куропатки, лапчатопюги) или даже один вид (отряд кагу, состоящий из одного вида, населяющего Новую Каледонию, или отряд солнечных цапель, также монотипичный). Быть может, мы здесь имеем дело со сверхспециализацией, когда незначительные изменения в геноме приводят к весьма заметному для глаз систематика изменению фенотипа. Это, впрочем, характерно не только для птиц. Эндемичных рыб Байкала — голомянок — долгое время отделяли от прочих байкальских бычков на том основании, что у них не могли найти в черепе одной косточки. Когда эта кость нашлась, противопоставлять голомянок и их ближайших родственников уже явно нецелесообразно. И таких случаев, когда отклонившуюся, абберрантную форму спешили выделить в новую группу, очень много.

Некоторые биологи принимают это положение как должное и считают вполне естественным, что, например, семейство в одной группе соответствует классу в другой. Вряд ли, однако, столь субъективистская точка зрения может считаться правильной, хотя бы потому, что приводит к неверным выводам о темпах эволюции в разных группах. Указания о бурной эволюции птиц по сравнению с низшими таксонами основаны не столько на действительном положении вещей, сколько на чересчур дробной системе птиц. Поэтому правы те исследователи (например, Э. Майр), которые постулируют необходимость одномасштабности рангов таксонов, хотя бы в пределах одной ветви растительного и животного мира.

До сих пор применявшиеся критерии ранга таксона нельзя считать удовлетворительными. Часто руководствуются величиной таксона — чем больше в нем группируется видов, тем более велико желание присвоить ему высший ранг. Доводы, которые при желании можно счесть объективными, всегда найдутся. Ведь в большом скоплении видов разнообразие больше, чем в малом — так обширный род дробится на роды поменьше и вся эта совокупность выделяется в новое семейство. Иные полагают, что главное в оценке ранга — не размер таксона, а степень его обособленности от прочих группировок. Если группа А четко отличается по какому-либо признаку от групп Б, В, Г и Д (по этому же признаку сходных), то ее надо повысить в ранге. Однако эволюция, создавая виды и группы видов, к сожалению, не заботилась об удобствах для систематиков, и открытие переходных форм между группами сразу уничтожает разрыв и воскрешает угасшие споры. Правомочно ли, например, выделять для человека отдельное семейство людей, хотя по многим признакам человек крайне близок африканским человекообразным обезьянам — шимпанзе и горилле (гемоглобины гориллы и человека практически идентичны).

Быть может, правильнее всего присваивать таксонам ран-

ги на основании принципа, который Э. Майр назвал эквивалентностью распределения по рангам. Суть этого метода сводится к следующему. Если в группировке есть таксоны А, Б, В и Г, то таксону А придается роль эквивалента. Прочие удаляются того же ранга, если совокупность признаков, по которым они выделяются, того же порядка, что и у таксона А. К сожалению, безупречный теоретически метод наталкивается на чрезвычайные практические трудности. Вот простой пример. Отряды млекопитающих разделяются главным образом по строению зубной системы. Можно ли считать степень дифференцировки одного порядка развитие одних зубов и редукцию других (отряды хищных и копытных), кардинальную перестройку зубов (отряд трубкозубых) и полное их исчезновение (усатые киты)?

Выход, по-видимому, один. Необходимо оценивать ранг таксона с количественных позиций. Анализ данных о степени сходства первичных структур ДНК может принести здесь неоценимую помощь. Если, например, ДНК представителей отряда А гомологична с ДНК представителей отряда Б на 10%; и если ДНК группировки В показывает ту же степень гомологии, то таксону В также надо присвоить ранг отряда. Такой подход может быть обвинен в некоторой условности, потому что мы заранее договариваемся о «правилах игры» — степени гомологии ДНК, характеризующей тот или иной ранг таксона. Но это условность того же сорта, что и выбор нулевой точки для термометрической шкалы. Без подобных условностей любое измерение было бы невозможным.

Уже первые оценки ранга таксонов методом молекулярной гибридизации дали интересные результаты. Так, в лаборатории биоорганической химии МГУ О. Е. Петровым под руководством А. С. Антонова была выполнена работа по гибридизации ДНК птиц. Выбор объекта был не случаен. Класс птиц, по всей вероятности, один из наиболее разработанных систематически таксонов. Естественно, как мы уже упоминали, орнитологи раздробили его на чрезмерно большое количество отрядов (до 50). ДНК птиц, кроме того, легко пометить введением меченого радиоактивным углеродом или тритием тимина или тимидина в яйца, содержащие развивающиеся эмбрионы. Был избран так называемый «реперный» вид — домашняя курица. Оказалось, что в пределах отряда степень гомологичности варьирует от 75 до 100% (речь идет о гибридизации повторяющихся последовательностей). Межотрядная степень гомологии ДНК, естественно, значительно ниже — 25—38%. При этом исследовались ДНК представителей «хороших» отрядов, признаваемых всеми систематиками, таких, как воробьиные, трубконосые, попугаи, голуби и дневные хищники. Эта работа, в значительной части методическая, дает хорошую основу для анализа система-

тической принадлежности представителей спорных отрядов. В частности, таким способом, быть может, удастся разобраться в систематике журавлей; об этом отряде один орнитолог как-то сказал, что «к журавлям принято относить всех птиц, имеющих довольно крупные размеры, сколько-нибудь необычный облик и неизвестное систематическое положение». Действительно, журавлеобразных иногда разбивают на 8—9 отрядов.

Интересно, что межотрядная степень гомологии ДНК того же порядка установлена Мак-Карти и Болтоном для класса млекопитающих. ДНК представителей разных классов дает, соответственно, низкий процент гомологии (между ДНК курицы и варана, например, 10,5%). Эти, общие у столь разнородных животных участки генома, по всей вероятности, кодируют наиболее общие признаки, присущие всем хордовым.

Совсем иную картину мы наблюдаем в царстве растений. Работы, выполненные Е. И. Мариновой в лаборатории биорганической химии МГУ, а также исследования группы Болтона показывают, что высокий процент гомологии ДНК наблюдается только в пределах семейства (50—80%). Виды, относимые к разным семействам одного порядка (таксон, соответствующий отряду в систематике животных), имеют лишь до 10% гомологичных структур ДНК. Межпорядковая степень гомологии еще меньше (например, между лилиецветными и злаками или лилиецветными и орхидными) и того меньше (2—6%), а между ДНК однодольных и двудольных растений гибридизации иногда получить не удавалось вообще, во всяком случае она находилась в пределах ошибки опыта.

Иными словами, семейство в группе однодольных растений по рангу должно быть приравнено к классу хордовых животных! Эти данные убедительно свидетельствуют о различиях кардинального свойства в путях эволюции геномов растений и животных. Нет сомнения, что исследователя в этой области ожидают значительные открытия.

Анализ признаков генома

Мы рассмотрели ряд признаков первичной структуры генома, которые может использовать в таксономических целях систематик. Хотя геносистематика еще очень молода, список их получается внушительным:

- 1) Нуклеотидный состав суммарной ДНК.
- 2) Количество минорных оснований (5-МЦ и 6-МАП).
- 3) Наличие и состав сателлитной фракции ДНК.
- 4) Изоплитный анализ (дает до шести признаков — по числу выделенных изоплит).

5) Геноспектр (распределение фракций ДНК по скорости реассоциации).

6) Процент гомологических последовательностей в быстро реассоциирующей фракции ДНК.

7) То же для медленно ассоциирующей фракции (уникальные последовательности).

Нет сомнения, что в будущем, с развитием новых методов, этот список значительно увеличится. Однако и того, что мы имеем в настоящее время, вполне достаточно, чтобы систематик, решивший применить в своей работе анализ первичной структуры генома, задался вопросом: какие признаки использовать, каким отдать предпочтение, можем ли мы считать их принципиально равноценными?

В значительной степени выбор метода зависит от возможностей исследователя. Методически наиболее прост анализ нуклеотидного состава суммарной ДНК, так как он не требует особых навыков и сложной аппаратуры. Центрифуга, хроматографическая камера и ультрафиолетовый спектрофотометр — все, что для него нужно. Напротив, метод молекулярной гибридизации предполагает уже немалую искусственность исследователя в биохимических методиках, а для работы с сателлитными фракциями ДНК нужна аналитическая ультрацентрифуга. В конечном счете эти трудности преодолимы при обязательном условии содружества систематиков и молекулярных биологов. Люди, одинаково эрудированные в обеих областях (и главное, одинаково интересующиеся той и другой), пока еще редки. «Молекулярных систематиков» в настоящее время не выпускает ни один вуз в стране (как, впрочем, и во всем мире), но мы надеемся, что это положение не вечно.

Естественно, задача, поставленная перед исследователем, также сужает выбор методики. Макросистематик, занимающийся построением «большой системы» и оперирующий таксонами порядка отряда или класса, в первую очередь обратит свои взоры на нуклеотидный состав ДНК с учетом минопов, а также на молекулярную гибридизацию многократно повторяющихся последовательностей.

Микросистематик, работающий с таксонами низшего ранга (род, вид, подвидовые группировки), заинтересуется такими параметрами, как количество и состав сателлитной ДНК, геноспектр и процент гомологии в уникальных последовательностях. Но даже и при таком сужении круга методик возникает вопрос: как оценивать в комплексе таксономическое значение того или иного признака?

Для того чтобы его решить, вспомним направление в систематике, созданное еще в XVIII веке Адансогом и получившее новую жизнь с изобретением электронных счетных

машин под названием нумерической, или фенетической, таксономии.

Фенетическая таксономия возникла как своего рода протест против субъективного использования признаков. Если один таксономист положит в основу своей системы один признак, а второй таксономист — другой, то созданные ими системы будут резко отличаться друг от друга (и от естественной системы).

Фенетики полагают, что если отдельные признаки ненадежны, то в основу классификации нужно положить максимально большее их число и всем придать равную цену. Данные о всех этих признаках вводятся в электронную вычислительную машину, и ЭВМ, согласно заданной программе, определяет степень сходства между таксонами. Как всегда бывает, молодость этого метода омрачена ошибками тех, которые, по саркастическому замечанию Майра, «полагали, что при этом интеллект и теория становятся необязательными и мы можем просто довериться вычислительной машине».

Сейчас, когда наступило время трезвых оценок, мы можем заключить, что самое худшее в нумерической таксономии — это отказ от взвешивания признаков. Уравниловка не лучший способ борьбы с несправедливым распределением. Прежде всего, признак признаку рознь. Успехи фенетиков в систематике микробов объясняются в первую очередь тем, что там используются чаще всего признаки, определяемые одним геном — способность использовать тот или иной субстрат, синтезировать тот или иной метаболит. Все эти признаки в конечном счете определяются активностью того или иного фермента. Недаром в микробиологической генетике возникла крылатая фраза: «Один ген — один фермент».

Признаки высших организмов, как правило, полигенны. Даже окраска одного лепестка цветка контролируется несколькими генами. Поэтому ничтожное, с точки зрения генетики, изменение признака может быть свидетелем глубоких перестроек в геноме.

Мы опять убеждаемся в том, что сходство — это еще не родство. Самое неприятное обстоятельство — то, что нет прямолинейной зависимости между таксономическим значением признака и числом генов, его определяющих. Есть поразительные примеры, подтверждающие это. Одна-единственная мутация у дрозофилы приводит к тому, что у нее возникает из жужжалец (галтеров) вторая пара крыльев (т. е. меняется признак, характерный для отряда). У представителей отряда приматов конечным продуктом пуринового обмена является мочевая кислота, у всех прочих млекопитающих — аллантоин, однако есть исключение — порода собак (далматские доги), которых называют в шутку «собаками, которые мочатся, как человек».

По-видимому, нумерическую таксономию необходимо дополнить взвешиванием признаков, и это касается как признаков фенотипа, так и генотипа. Особенности первичной структуры генома коррелируют друг с другом, поэтому значительная часть получаемой информации оказывается избыточной, ненужной при построении системы. Конкретно это выражается вот в чем: известно, что процент 5-метилцитозина положительно коррелирует с процентом ГЦ, поэтому, зная нуклеотидный состав ДНК, мы можем предсказать с достаточной долей вероятности процент этого минорного основания. Если у двух форм ДНК значительно различается по нуклеотидному составу, нет основания ожидать высокого процента гомологии последовательностей. В общем, если признак *a* коррелирует с признаком *b*, и коэффициент корреляции, отражающей тесноту связи $r=0,5$, то информация, доставляемая признаком *b*, должна уменьшиться на (r^2) , т. е. на 25%. Мы приходим к довольно тривиальному выводу — признаками генотипа, так же, как и признаками фенотипа, нужно уметь пользоваться; в противном случае ошибки при построении системы неизбежны. Само по себе знание первичной структуры ДНК еще не гарантия для построения естественной системы. Это заключение звучит несколько разочаровывающе; однако всегда полезно уяснить пределы возможностей нового метода и возможные ошибки при его использовании до того, как эти ошибки совершены.

Анализ признаков ДНК может быть дополнен анализом некоторых генопродуктов — в первую очередь рибосомных и транспортных РНК. Эти соединения, строго говоря, относятся к фенотипу, однако к ним в принципе применимы все методы, описанные нами для ДНК: нуклеотидный состав с учетом минорных оснований, изоплитный анализ и метод молекулярной гибридизации.

Исследования РНК насекомых, проведенные в лаборатории биоорганической химии МГУ Б. М. Медниковым и В. А. Носковым, показали, что в этой группе рибосомная РНК несравненно более вариабильна по составу, чем ДНК. Состав ее может быть таксономическим признаком отряда. Примитивные древние отряды насекомых (таракановые, вислокрылки, цикады) характеризуются преобладанием в рибосомной РНК гуанина и цитозина. Наоборот, молодая группа двукрылых имеет рибосомную РНК с фактором специфичности меньше единицы (преобладают аденин и урацил). Отряды промежуточного возраста — жесткокрылые, чешуекрылые в среднем имеют 50% ГЦ. Как отмечает Н. А. Гумилевская, для некоторых насекомых характерно также низкое содержание пуринов; по нашим данным, этот показатель также варьирует.

Не менее изменчив нуклеотидный состав рибосомной РНК

простейших. У споровиков и инфузорий отмечен АУ-тип, у жгутиковых — ГЦ-тип.

Специфичность состава рибосомной РНК, связанная с положением на эволюционной лестнице, установлена нами также у низших хордовых — круглоротых (миноги) и рыб. У высших хордовых зависимость, по-видимому, обратная. У млекопитающих наиболее продвинутые по эволюционной лестнице формы имеют ГЦ-тип РНК (у человека, например, фактор специфичности приближается к двум).

В отличие от генов выделение молекул РНК в чистом виде не представляет особой трудности. Поэтому в настоящее время практически завершена расшифровка нуклеотидной последовательности всех трех молекул РНК, входящих в состав рибосом бактерии кишечной палочки. Вряд ли, однако, сопоставление последовательностей рибосомной РНК будет широко применяться в систематике, так как молекулярный вес двух главных молекул огромен (500 000 и более миллиона дальтон). Расшифровка столь длинной последовательности методически весьма сложна. Наоборот, изоплитный анализ рибосомной РНК для систематики обещает многое. Первые опыты в этом направлении уже проводятся, в том числе и в нашей лаборатории.

Уже известная нам группа Мак-Карти в США успешно разрабатывает методы молекулярной гибридизации рибосомных РНК из одного организма с ДНК другого. При этом образуются гибридные комплексы РНК — ДНК, отличающиеся разной степенью стойкости к тепловой денатурации. Чем более гомологичны нуклеотидные последовательности РНК и ДНК, тем при более высокой температуре разрушается комплекс. Авторы полагают, что таким путем они оценивают генетическое сродство разных видов. К сожалению, это весьма распространенная ошибка. На самом деле, конечно, оценивается сродство не видов, а цистронов, кодирующих рибосомную РНК. Это далеко не синонимы. Нельзя считать, что все структуры организмов эволюируют с одинаковой скоростью. Мы уже упоминали, что гемоглобины человека и гориллы практически идентичны, а значит, почти на 100% гомологичны цистроны гемоглобина. Однако по другим признакам человек и горилла отличаются крайне резко.

Этот пример показывает, что систему нельзя строить по отдельно взятому признаку. Молекулярная гибридизация ДНК — ДНК лишена этого недостатка, так как здесь мы получаем осредненный показатель гомологии всех генов.

Широко внедряется в систематику также анализ транспортных РНК. Молекулы этих РНК, переносящих аминокислоты к рибосомам, довольно короткие (70—80 нуклеотидных остатков), хорошо разделяются различными методами (например, методом противотока) и обогащены минорными ос-

нованиями. Все это облегчает расшифровку их нуклеотидных последовательностей. В настоящее время число полностью или частично «прочтенных» транспортных РНК приближается к нескольким десяткам. На основании анализа нуклеотидных замен в родственных РНК сделаны уже многие важные выводы. Мы уже упоминали о близости транспортных РНК грибов и РНК животных. Сравнивали также транспортные РНК организмов с неоформленным ядром (прокариот), таких, как бактерии и синезеленые водоросли, с РНК ядерных организмов — грибов, растений и животных. По-видимому, можно говорить о наличии двух резко различающихся ветвей органического мира — прокариот и эукариот, которые разошлись на заре времен, не менее двух миллиардов лет назад.

Однако пользоваться этим признаком (как и любым отдельно взятым признаком фенотипа) нужно осторожно. Группа американских исследователей попыталась таким способом оценить степень расхождения низших обезьян, человекообразных обезьян и человека. При этом они исходили из уже упомянутого нами порочного принципа «гармоничной эволюции структур», в данном случае нуклеотидных последовательностей транспортных РНК и аминокислотных последовательностей цитохромов и гемоглобинов. Результаты настолько вопиюще противоречили данным палеонтологии, что их нельзя было принимать всерьез.

Мы можем заключить, что анализ структуры РНК (а также белков) можно и должно применять в систематике, но ограничиться им, если мы желаем построить естественную систему, нельзя. Основой наших построений должен быть анализ ДНК, анализ генома, дополненный комплексом фенотипических признаков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Не следует думать, что на пути к построению системы по генотипам, на пути развития молекулярной систематики нет препятствий. Науку делают люди, а людям свойственно ошибаться. Скептические замечания в адрес молекулярной систематики приходят с двух сторон.

С одной стороны, это часть биохимиков и молекулярных биологов, те, которые считают, что успехи систематики уже в прошлом, что фронт науки переместился сейчас в другие, более современные отрасли биологии, а систематика стала уделом чудаков и неудачников. Этот взгляд далеко не нов. Рассказывают, что когда одного известного биохимика упрекнули в том, что он не различает объектов, с которыми работает, он ответил: «Мне незачем их различать. В гомогенизаторе Уоринга все они выглядят одинаково». Подобный «биохимический нигилизм» в настоящее время выглядит нелепостью. Теперь известны различия во многих биохимических механизмах, нередко довольно кардинального свойства и проявляющиеся даже у близких организмов. Приходится не

только учитывать положение организмов в системе. Биохимики, прежде высокомерно третировавшие систематику, сами пытаются говорить об эволюции тех или иных путей метаболизма. Однако в ряде случаев лучше бы они этого не делали. Сказывается многолетнее пренебрежение вопросами общей биологии: в результате исследуют обычно не эволюционный ряд, а представителей разных таксонов в том порядке, в каком они располагаются в учебниках (например, карп — лягушка — черепаха — голубь — кролик). Тем самым многомерное древо эволюции превращается в некое подобие давно отброшенной за несостоятельностью лестницы Бонне. Учиться, однако, никогда не поздно. Недооценка таких отраслей биологии, как систематика, филогения и общие вопросы теории эволюции,— это болезнь роста, которая, будем надеяться, пройдет со временем.

Это, если можно так выразиться, критика слева. Но молекулярную систематику критикуют и справа. Классические систематики выражают опасения, что претензии молекулярной биологии слишком велики, что она претендует подменить старейшую из биологических дисциплин и тем самым уничтожить ее.

Вряд ли это правильно. Внедрение в науку новых методов во все времена вызывало у части ученых сходную отрицательную реакцию. Систематика также не представляет исключения. Современник Линнея Якоб Клейн, например, категорически возражал против применения в систематике элементарных сведений по анатомии. Так, он считал признаком, которым Линней охарактеризовал амфибий (зубы без корней), непригодным, ибо для того, чтобы им воспользоваться, надо открыть животному рот и применить скальпель, «а это совершенно противно зоологическим методам».

Мы не знаем ни одного случая, чтобы настоящие науки терпели ущерб от внедрения точных, свободных от субъективизма методов. Наоборот, науки (в отличие от лженаук) расцветают от подобного вмешательства. Хороший пример: открытие датировки ископаемых органических остатков по радиоактивному углероду не подменило археологию, а, наоборот, принесло ей огромную пользу.

Не следует и переоценивать консерватизм «классических» систематиков. Мы уже неоднократно цитировали одного из наиболее компетентных современных систематиков и эволюционистов — Эрнста Майра. Среди микробиологов, ботаников и зоологов нашей страны также уже имеются деятельные сторонники нового направления. Поэтому мы считаем, что в ближайшем будущем систематике предстоит небывалый со времен Линнея расцвет и убеждены, что немалую роль в этом сыграет, наряду с другими методами, биохимический анализ генома.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Белозерский А. Н. Молекулярная биология — новая ступень познания природы. М., «Советская Россия», 1970.

Благовещенский А. В. Биохимические основы эволюционного процесса у растений. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1950.

Майр Э. Принципы зоологической систематики. М., «Мир», 1971.

Проблемы эволюции Т. I. Новосибирск. «Наука», Сиб. отд-ние, 1968.