

**О ВКЛАДЕ АКАДЕМИКА НАН РК, ЛАУРЕАТА ЛЕНИНСКОЙ ПРЕМИИ М.А.АЙТХОЖИНА  
В ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСА ГРИППА ЧЕЛОВЕКА**

**Ахматуллина Н.Б.**, академик НАН РК, Лауреат Гос. Премии по науке и технике Казахстана

Я благодарна судьбе, что в моем творческом пути принимали участие такие великие ученые, как академик АН Каз.ССР Хамза Жуматович Жуматов, академик Академии медицинских наук СССР Виктор Михайлович Жданов, легендарный генетик, Лауреат Ленинской Премии Иосиф Абрамович Рапорт и академик НАН РК, также Лауреат Ленинской Премии Мурат Абеневич Айтхожин. К великому сожалению я постепенно (1972 – 1990 гг.) потеряла всех, места их остаются невосполнимыми. Общение с ними определили, что направление моего творчества связано с одной из больших, основополагающих разделов общей генетики, а именно с проблемами мутагенеза на объектах разного уровня биологической организации – от вирусов до человека. Исследования, естественно, начаты с генетики вирусов.

В начале 60-х годов Хамза Жуматович поставил перед моей группой задачу изучать «онтогенез» вируса гриппа. Он исходил из того, что решение проблем вирусных инфекций зависит от выявления поведения их возбудителей в организме или клетках больных. Такая задача требовала, прежде всего, познания структуры и функции генетического аппарата вирусов. Однако, объект, предложенный мне, оказался самым неудобным, так как молекулярная структура и функция его к началу наших исследований оставалась совершенно не изученными. Вопрос самовоспроизведения нашего вируса не вписывался в обсуждаемые в то время механизмы репликации генома РНК-содержащих вирусов, исходящие из основ изучения бактериальных и других вирусов. Прежде всего, никому не удавалось выделять из этих вирусов инфекционную, т.е. биологически активную РНК, не известна была локализация внутриклеточных процессов транскрипции вирионной РНК, ее трансляции, еще не найдены в клетке специфические транскриптивные комплексы. Без знаний этих вопросов, естественно нельзя поднимать серьезные проблемы мутагенеза.

Исследования особенностей репродукции вируса гриппа мы начали, используя вирусологические методы, с изучения динамики выявления вирусспецифических активностей в очищенных ядерных и цитоплазматических фракциях зараженных вирусом гриппа клеток. Удалось показать, что инфекционная активность выявляется уже через 1-2 часа после инфекции и связана с ядерной фракцией, в то время как гемагглютинирующая активность обнаруживается лишь через 5-6 часов после заражения, причем исключительно в цитоплазматической фракции. Это указывало, что вирионная РНК, носящая всю генетическую информацию об этом вирусе, реплицируется в ядре и опережает во времени формирование гемагглютинина. Встал вопрос, с какими внутриклеточными структурами связаны синтезы этих основных вирусспецифических компонентов, когда и где происходит их объединение в зрелую вирусную частицу. Исходя из временной и территориальной разобщенности возникновения вирусспецифических активностей в зараженных клетках, мы провели ряд попыток непосредственного выделения РНК из ядерной фракции таких клеток. Но они также не увенчались успехом.

Тогда я обратилась к молодому, но уже приобретшему известность среди биологов как преуспевающий биохимик - Мурату Абеневичу. Это было буквально в первые дни открытия специальной лаборатории биохимии белка и нуклеиновых кислот на территории ботанического сада. Я исходила с его увлечения изучением физико-химических свойств ядерных и цитоплазматических информосом, их структурно-функциональной организации в растительных клетках. Эта работа уже тогда была направлена на доказательства рибонуклеопротеидной организации и РНК и универсальности ее функции в эукариотической клетке.

Мурат Абеневич внимательно выслушал суть моего обращения, и ее связь со слабой изученностью молекулярно-биологических основ репродуцируемости вирусов гриппа в клетке. Он проявил огромный интерес к проблеме, согласился принимать всяческое участие в ее изучении. Он предложил начинать работу с повторения экспериментов по выделению вирусспецифической РНК из всех возможных ее источников – нативного аллантаоисного и культурального вируса, гомогената, а также ядерной фракции зараженных клеток в разные сроки после заражения. Проводились эти эксперименты совместно, в «две руки», в свободные от его собственных работ периоды, в основном вечерами и затягивались допоздна.

Однако ни в одном из этих экспериментов не удалось получить достоверных данных о биологической активности выделяемых препаратов. Лишь окончательно убедившись в невозможности прямого выделения вирионной РНК, Мурат Абеневич вернулся к обсуждению моего замысла связывать поиск подходов к изучению синтеза вирусспецифической РНК в зараженных клетках с РНП структурами. С учетом имеющихся у нас данных, он составил план дальнейших исследований. Работа должна была состоять из двух частей: 1) сравнительного анализа физико-химических свойств различных классов РНП в ядерной и

цитоплазматической фракциях зараженных и не зараженных вирусом гриппа клеток: 2) изучения роли этих РНП в проявлении вирусспецифической активности.

Выполнение первой части работы требовало знакомства с методами молекулярно-биологических исследований и наличия соответствующего оборудования. Интерес Мурата Абеновича к проблеме был настолько высок, что он решил согласиться перевести в нашу лабораторию одного из своих учеников, участвующего в изучении физико-химических свойств РНП растений. При этом он сохранил за ним рабочее место в своей лаборатории и, тем самым, возможности пользоваться уникальным оборудованием (сверхскоростной центрифугой, фирмы Beckman), имеющимся тогда только у них. Определение же биологической активности всех выделяемых структур должно было проводиться в нашей лаборатории. Так зародилось сотрудничество двух наших лабораторий.

Для выделения РНП ядерные и цитоплазматические фракции клеток, зараженных вирусом, меченым  $^3\text{H}$ -уридином, центрифугировали в 15-30% линейном градиенте концентрации сахарозы при 18000 об/мин в течение 12 час. Вирусспецифическая радиоактивность обнаруживалась в тех же зонах, где выявлялась инфекционность, т.е. в ядерной фракции она соответствовала зоне 30-40S РНП, а в цитоплазме – 60-70S РНП. Удельная инфекционность (отношение ЭИД<sub>50</sub> к радиоактивности, имп/мин/мл) 30-40S ядерных РНП существенно не менялась в течение 2-3 часов, повышение ее в 60-70S происходило позже и было связано с появлением инфекционности в цитоплазме.

Немаловажное место в этой совместной работе занял сравнительный анализ всех выявленных РНП. Особое внимание обратило 30-40S РНП. Он: а) локализуется в ядре; б) выявляется ранее других РНП; в) синтез не ингибируется актиномицином Д и не зависит от циклогексемида; г) устойчив к обработке рибонуклеазой; д) проявляет инфекционную активность; е) имеет плавучую плотность в CsCl 1.38 – 1,40 г/см<sup>3</sup>. Сопоставляя эти свойства со свойствами других РНП, было высказано предположение, что 30-40S структура является РНК синтезирующим комплексом зараженной вирусом гриппа клетки.

Причины многих из указанных выше неудач в изучении механизмов репродукции вирусов гриппа были раскрыты значительно позже. Они связывались в основном с уникальностью организации структуры и функции РНК этой группы вирусов. Так, было установлено, что она отличалась негативной полярностью, не допускающей ее изоляции в нативном состоянии и требующей для транскрипции особых белковых молекул. Другим важным свойством РНК оказался ее фрагментарный характер. Выяснилось, что РНК вируса гриппа состоит из 8 фрагментов, кодирующих 10 белков. Предположили, что каждый из этих фрагментов транскрибируется индивидуально, хотя не известно каким образом нужное число фрагментов нужного типа упаковывается в инфекционный вирус. Все это указывает, что проблемы репликации РНК вируса гриппа и ее регуляция остаются предметом дальнейших исследований. Этими вопросами продолжают заниматься многие лаборатории.

Полагаю, что приведенный выше краткий экскурс по нашим ранним работам указывает на их определенную знаковость. Они вправе рассматриваться в ряду работ, способствующих запуску более глубоких изучений основ механизмов репродукции вирусов. Роль Мурата Абеновича в выполнении этих работ неопределима. Кроме того, участием в ней он открыл еще одну страницу в своей творческой биографии. Мурат Абенович должен быть признан исследователем не только РНП комплексов растений, но и РНП, индуцируемых в чувствительных клетках уникальным вирусом гриппа. Это еще одно доказательство разносторонности его научного мышления. Жаль, что Казахстанская наука слишком рано потеряла его!

В заключение не могу не отметить, что Мурата Абеновича отличала высокая гражданственность. В моем случае она выражалась особой отзывчивостью и уважительностью. Отзывчивостью он поразил меня уже с первого общения. Мне представилось, что эта она относилась не только большому интересу к науке, хотя он, безусловно, присутствовал, но и проявлению присущей ему уважительности к людям, особенно к старшим. Такое выражение гражданственности (азаматтык) особенно трогало меня, человека старшего по возрасту. Некоторые мои соотечественники, к сожалению, не познали это чувство. Мурат Абенович проявлял его по отношению ко всем и всю свою жизнь. Земной ему поклон!