

§ 8.1. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Молекулярная биология исследует молекулярную природу основных явлений жизни, прежде всего наследственности и изменчивости. Эти явления определяются строением и свойствами нуклеиновых кислот, и возникновение молекулярной биологии связано с открытием их биологической функциональности. Годом рождения молекулярной биологии можно считать 1944, когда Эвери, Мак-Леод и Мак-Карти [1] открыли трансформацию бактерий посредством ДНК (см. стр. 486). Молекулярная биология ищет объяснение биологических явлений в химии и молекулярной физике. Тем самым, биология включается в единую область точного естествознания. Молекулярная биология изучает не только наследственность и изменчивость, но всю совокупность жизненных процессов — ферментативный катализ, мембранный транспорт, механохимические явления и т. д. Реализуется общий атомно-молекулярный подход к биологическим проблемам.

Нельзя, конечно, провести границу между молекулярной биологией и биохимией. Тем не менее отождествление этих областей (см., например, [2]) нецелесообразно. Биохимия изучает любые химические реакции в живых организмах, биологически функциональные вещества, далеко не всегда ставя задачи, относящиеся к основным явлениям жизни. Биохимия имеет безграничное поле практических приложений в медицине, фармакологии, сельском хозяйстве. Практические применения молекулярно-биологических исследований только начинаются. В отличие от классической биохимии, молекулярная биология объединяется с физикой и ее специфика состоит прежде всего в новых аспектах исследований, в новых постановках задач.

Очевидна тавтология и, тем самым, отсутствие смысла в термине «молекулярная биохимия» [3]. Химия и биохимия имеют дело только с молекулами — «немолекулярной» биохимии не существует.

Молекулярная биофизика неотделима от молекулярной биологии. Различие здесь не в конечных целях исследований, а в характере постановки задач (ср. стр. 46).

История молекулярной биологии рассказана Уотсоном [4]. Укажем также другие книги, которые могут служить введением в эту область науки [5—11].

Из теории эволюции Дарвина следует единство основных явлений жизни во всех организмах. То же положение вытекает из клеточной теории, предложенной Шлейденом и Шванном в 1839 г. Существование одноклеточных и факт возникновения многоклеточного организма из одной клетки — зиготы показывает, что свойства живого тела присущи отдельной клетке. В клетке заложен механизм наследственности и изменчивости, ответственный за биологическую эволюцию. Дальнейшее развитие биологии локализовало этот механизм со все возрастающей точностью. Зигота, возникающая в результате слияния яйцеклетки и сперматозоида, приобретает наследственные свойства обеих клеток. Так как сперматозоид состоит в основном из ядерного материала, за наследственность ответственна не вся клетка, а ее ядро (Геккель, 1868 г.). Цитология и генетика показали, что аппарат наследственности сосредоточен в *хромосомах*, находящихся в ядре клетки.

Следующий шаг состоял в открытии *гена* и в определении положения генов в хромосомах (Морган).

Наконец, молекулярная биология установила, что гены представляют собой участки молекул ДНК, входящих в состав хромосом. Уточнение материального носителя наследственности можно представить следующей исторической схемой:

организм → клетка → ядро → хромосомы → гены → ДНК.

Ясно, что в основе молекулярной биологии лежит великое открытие Менделя (1865 г.). Смысл законов Менделя, вполне им понятый, состоит в существовании «материальных элементов» в клетке, ответственных за передачу наследственных признаков [12]. Иными словами, наличие генов прямо следует из законов Менделя. Более того, оно логически вытекает из двух очевидных и общеизвестных фактов — из того, что родительские признаки, отсутствующие в первом поколении потомства, зачастую обнаруживаются во втором и последующих поколениях, и из того, что организм возникает из одной оплодотворенной яйцеклетки.

Однако установление молекулярной структуры генов еще не означает создания молекулярной биологии. Ее обоснование требовало раскрытия молекулярного механизма функционирования генов. При каждом делении клетки происходит удвоение хромосом. Следовательно, гены (т. е. ДНК) должны обладать способностью к самокопированию, к редупликации. Существование мутаций показывает, что редупликация генов *конвариантна* [13], т. е. в копиях генов отражаются мутационные изменения, возникшие перед копированием или во время него. Молекулы ДНК

действительно редуцируются (см. § 8.7), но это еще не объясняет смысла работы гена на языке химии и молекулярной физики. Еще в 1909 г. английский врач Гэррод предположил, что ген дикого типа ответствен за присутствие в организме определенного фермента. У особей, гомозиготных по соответствующему мутантному гену, этот фермент отсутствует. Так Гэррод объяснял наследственные, т. е. врожденные нарушения обмена, например фенилкетонурию — тяжелое наследственное заболевание, определяемое неспособностью организма разрушать фенилаланин (см. [14]). Таким образом, функция гена состоит в синтезе определенного белка. Попытки введения молекулярных представлений в генетику делались и ранее — видимо, первая из них была предпринята еще в 1893 г. московским химиком Колли (см. [13]). В дальнейшем биосинтетическая функция генов выявлялась со все большей определенностью. Кольцов сформулировал соответствующую гипотезу вполне отчетливо, но полагал, что вещество гена — это белок (значение нуклеиновых кислот еще не было известно) [15]. Молекулярная биология установила, что нуклеиновые кислоты ответственны за биосинтез белковых цепей. Основной тезис молекулярной биологии, сформулированный Бидлом, гласит: «один ген — один фермент» (см., например, [16]). Сейчас этот тезис формулируется более точно: «один ген — одна белковая цепь».

Таким образом, на молекулярном уровне наследственность означает воспроизведение синтеза определенных белков в последующих поколениях, запрограммированного в ДНК. Генные мутации сводятся к изменениям этой программы, т. е. к изменениям в структуре ДНК. Молекулярная природа мутаций, их соответствие законам физики были раскрыты Тимофеевым-Ресовским, Дельбрюком и Циммером (см. [17, 18]). Напротив, так называемые модификации, т. е. ненаследуемые изменения, определяются изменением структуры и функционирования белков (ферментов) в онтогенезе и не затрагивают генетическую программу, т. е. структуру ДНК.

Построение молекулярной биологии ознаменовалось крупнейшими открытиями, сделанными за сравнительно короткое время. В 1953 г. Уотсон, Крик и Уилкинз установили методом рентгенографии вторичную структуру ДНК (см. стр. 489). История этого открытия ярко описана Уотсоном [19]. Структура ДНК — двойная спираль — непосредственно объясняет способность ДНК к конвариантной редупликации. Общее понимание биосинтетической функции ДНК позволило сформулировать физическую проблему *генетического кода* (Гамов, 1954, см. гл. 9). В дальнейшем были выяснены детали процесса биосинтеза и характер участия в нем других нуклеиновых кислот — матричной и транспортной РНК — и нуклеопротеидов — рибосом. Эти успехи моле-

кулярной биологии тесно связаны с развитием генетики, физики и химии. Генетика обратилась к бактериям и вирусам, что позволило изучить химизм передачи наследственных признаков. Весьма существенным здесь оказалось открытие полового размножения у бактерий и, тем самым, возможности их гибридизации [20]. Явления, возникающие при конъюгации бактерий, изучены и описаны Жакобом и Вольманом [21]. Корнберг осуществил репликацию ДНК *in vitro* (см. стр. 537). Успехи синтеза полинуклеотидов позволили решить проблему генетического года (см. гл. 9). Корана произвел синтез гена (см. гл. 9). Таким образом, ряд основных проблем наследственности и изменчивости был не только поставлен, но и решен. Это дало возможность обратиться к более сложным вопросам, еще далеким от решения — к дифференцировке клеток, к эмбриогенезу и канцерогенезу.

Молекулярная биология тесно связала биологию с химией и физикой и полностью устранила возможности виталистического толкования явлений жизни. Построение молекулярной биологии знаменует революцию в естествознании, перестройку естественнонаучного мировоззрения на материалистической основе.

Обратимся к краткому рассмотрению биологической функциональности нуклеиновых кислот.

Доказательства генетической роли ДНК в целом неопровержимы. ДНК локализована в хромосомах, причем содержание ДНК в диплоидных (соматических) клетках разных тканей у особей одного и того же вида практически постоянно. В гаплоидных половых клетках количество ДНК вдвое меньше, чем в соматических [22]. Содержание ДНК в клетках удваивается при митозе, т. е. при удвоении хромосом.

Шредингер поставил вопрос о причинах поразительной стабильности наследственного вещества, построенного из легких атомов, в ряде поколений [18]. ДНК действительно обладает высокой метаболической стабильностью. Меченный P^{32} аденин не включается в ДНК неделящихся клеток. При делении клеток в среде, содержащей меченые атомы, последние включаются во вновь образуемую ДНК, но в дальнейшем сохраняются в ней, не участвуя более в метаболизме. Высокая стабильность ДНК определяется ее специфической вторичной структурой (см. § 8.2). Сегодня вопрос, поставленный Шредингером, решен. Вместе с тем доказано участие ДНК в мутагенезе. Установлены изменения ДНК, вызываемые радиацией. Выявлены изменения азотистых оснований при химическом мутагенезе (см. § 9.9).

ДНК определяет *трансформацию* бактерий, открытую в 1928 г. Гриффитом [23]. Мутантные штаммы пневмококков (*Diplococcus pneumoniae*) различаются характером своих полисахаридных клеточных оболочек. Эти различия обнаруживаются иммунологически и непосредственно по виду колоний. Штамм S обра-

зует «гладкие» блестящие колонии — клетки имеют прочные капсульные оболочки. Штамм *R* состоит из клеток, лишенных способности вырабатывать необходимый для таких капсул полисахарид — колонии являются «шероховатыми». Если живая культура типа *R* вводилась в организм мыши вместе с убитыми пневмококками типа *S*, то мышь заболела пневмонией и посев размножившихся в ней бактерий давал живую культуру вирулентных пневмококков типа *S*. Следовательно, мертвые бактерии *S* содержат некий трансформирующий фактор, способный превращать штамм *R* в штамм *S*. Аналогичные явления были обнаружены и у других видов бактерий, причем не только *in vivo*, но и *in vitro*.

В дальнейшем было установлено, что трансформирующим фактором служат ДНК [1], и показано, что чистые препараты ДНК, выделенные из определенных штаммов, вызывают соответствующие наследуемые изменения других штаммов.

Фермент дезоксирибонуклеаза (ДНКаза), расщепляющий ДНК, прекращает трансформацию. ДНК может переносить несколько генетических признаков сразу — устойчивость к антибиотикам, способность образовывать капсулы и т. д.

В исходной культуре пневмококков содержатся мутанты, устойчивые к пенициллину. При воздействии на культуру этим антибиотиком гибнут все клетки, кроме мутантных; последние после размножения образуют культуру *R*. Из нее извлекается ДНК. При добавлении этой ДНК к исходной культуре в ней возникает значительно больше *R*-мутантов, чем в отсутствие трансформирующего фактора. Если число спонтанных *R*-мутантов составляло 1 на 10^7 клеток, то в результате трансформации оно увеличивалось на 4—5 порядков.

Бактериофаги, т. е. вирусы, размножающиеся в бактериях, состоят из белковой оболочки и содержащейся внутри нее ДНК или РНК. С помощью меченых атомов S^{35} и P^{32} установлено, что при заражении бактериальной клетки фагом в нее не входит белок (метка по сере), но входит ДНК (метка по фосфору). Частица бактериофага «вспрыскивает» свою ДНК в клетку. Размножение частиц фага в клетке показывает, что ДНК ответственна за синтез своих копий и белковых оболочек, т. е. она является генетическим веществом фага.

В частицах ряда вирусов роль ДНК играет РНК. Установлено, что РНК, выделенная из вируса табачной мозаики (ВТМ), обладает инфицирующим действием [3, 24, 25]. Это означает, что молекулы вирусной РНК, попадая в клетку, организуют синтез белков новых вирусных частиц. Вирусная РНК ВТМ с белком последнего образует частицы, обладающие свойствами исходного вируса. Удалось получить также гибридные вирусы путем комбинирования РНК одного штамма с белком другого штамма. В белке потомства гибридного вируса содержались аминокислот-

ные остатки, характерные для белка вируса-донора РНК, но отсутствующие в белке второго штамма. Эти результаты также свидетельствуют о генетической роли вирусной РНК [26].

Еще одним доказательством генетической роли фаговой ДНК служит явление *трансдукции*. Некоторые фаги способны переносить генетический материал от бактерии-донора, в которой фаг размножался, к бактерии-реципиенту, инфицируемой данным фагом. Трансдукция есть перенос генетических признаков бактерии, т. е. фаг переносит как свой собственный генетический материал, так и часть генетического материала бактерии-донора. Этим материалом опять-таки служит ДНК [27, 28].

О том же свидетельствует явление *лизогении*. Так называемые умеренные, или *лизогенные фаги* могут сохраняться в бактериальных клетках в виде безвредного для них *профага*. В течение ряда поколений клетки нормально размножаются, причем воспроизводится и профаг. Если на такую клетку подействовать индуктором, например ультрафиолетовыми лучами, она начнет продуцировать фаг и погибнет. Лизогения — наследственное свойство бактерии, приобретаемое при заражении фагом. ДНК фага объединяется с ДНК бактериальной клетки [28].

Приведенные выше факты и ряд других однозначно доказывают, что гены — это ДНК. В молекулах ДНК заложена наследственная информация, т. е. программа синтеза белков.

Рибонуклеиновые кислоты также являются непременимыми участниками биосинтеза белка.

Как уже сказано, РНК ряда вирусов играет роль, подобную роли ДНК. Высокомолекулярная информационная, или *матричная*, РНК (мРНК) переносит генетическую информацию от ДНК хромосомы к органоидам клетки, в которых реализуется синтез белка. Эти органоиды — рибосомы, построенные из *рибосомальной* РНК (рРНК) и белков. Низкомолекулярные *транспортные* РНК (тРНК) служат веществами, с которыми непосредственно взаимодействуют аминокислоты, собираемые в белковую цепь. На ДНК синтезируются (с участием ферментов) все три вида РНК — м-, р- и тРНК; далее они организуют белковый синтез [4—11] (см. гл. 9).

Ряд физических проблем возникает в связи с функциональностью нуклеиновых кислот. Необходимо установить механизм конвариантной редупликации ДНК, механизм матричного синтеза РНК на ДНК и полипептидных цепей на комплексах мРНК с рибосомами. Необходимо решить проблему генетического кода — соответствия между первичной структурой ДНК (и, значит, мРНК) и первичной структурой белковой цепи. Недостаточно описать химизм биосинтеза белка, но следует выяснить физические и физико-химические механизмы и условия этого синтеза, в частности механизмы действия ферментов. Биофизика должна

исследовать термодинамику и кинетику редупликационных и биосинтетических процессов, а также термодинамику и кинетику денатурации нуклеиновых кислот. Важным разделом биофизики является физика мутагенеза — спонтанного, химического и радиационного.

§ 8.2. СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Далеко не всегда связь между структурой молекулы и ее функцией проста и очевидна. Мы видели, что для белков проблему установления такой связи еще никак нельзя считать решенной. Иначе обстоит дело с нуклеиновыми кислотами, в частности с ДНК. Здесь по крайней мере одна важнейшая функция — *редупликация* ДНК была качественно объяснена сразу же после открытия вторичной структуры.

Вторичная структура ДНК была установлена методом рентгенографии в работах Франклин, Крика, Уотсона и Уилкинза [29—32]. Ориентированные волокна литиевой соли

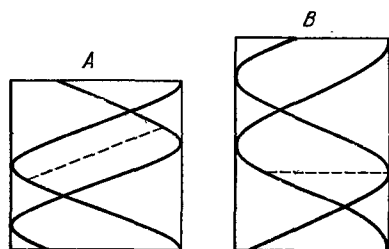


Рис. 8.1. Схема строения А- и В-форм ДНК.

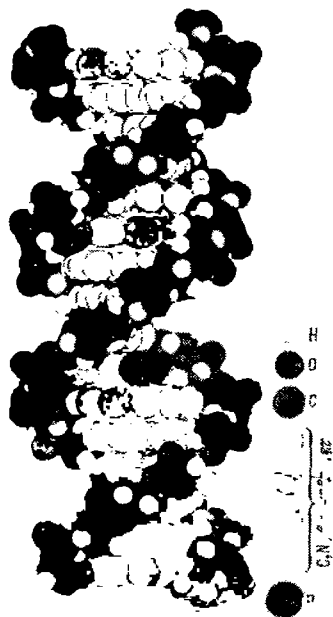


Рис. 8.2. Молекулярная модель В-формы ДНК.

нативной ДНК дали рентгенограммы, содержащие до 100 рефлексов (см. рис. 5.8). Крестообразное расположение рефлексов показывает, что структура является спиральной.

Расшифровка рентгенограмм и применение молекулярных моделей раскрыли двуспиральную структуру ДНК. Дезоксирибонуклеиновая кислота может кристаллизоваться в различных двуспиральных формах. При низкой относительной влажности (до 70%) ДНК кристаллизуется в моноклинной А-форме с параметрами решетки $a = 40,4 \text{ \AA}$, $b = 22,07 \text{ \AA}$, $\beta = 97,1^\circ$. При