

## Из истории изучения нуклеиновых кислот

*Н.А. Сивожелезова, д.с.-х.н., профессор, ФГБОУ ВПО Оренбургский ГАУ; В.Н. Мишакова, к.п.н., ИПКиППРО Оренбургский ГПУ*

Открытие двойной спирали ДНК по праву считается одним из самых важных открытий XX в. не только в биологии, но и в целом в науке. Оно предопределило дальнейшее развитие биологии и особенно таких её направлений, как молекулярная биология и биотехнология.

За выдающийся ключевой вклад в открытие структуры ДНК Фрэнсису Крику, Джеймсу Уотсону, Морису Уилкинсу в 1962 г. была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине. В 2014 г. исполняется 10 лет со дня смерти выдающихся учёных XX–XI вв. Д. Уотсона и Ф. Крика.

Д. Уотсон и Ф. Крик на пути к своему достижению опирались на экспериментальные результаты, полученные в том числе американским биохимиком Эрвином Чаргаффом. Изучая структуру и химический состав нуклеиновых кислот, он в начале 50-х гг. обнаружил одну закономерность, вошедшую в историю как правило Чаргаффа, которая позволяла говорить об эквивалентном соотношении в каждой молекуле ДНК адениновых и тиминового остатков гуаниновых и цитозинового

единиц. В последующем Чаргафф экспериментальным путём пришёл к важному выводу о том, что биологическая специфичность всего живого действительно определяется молекулами ДНК [1].

Рентгеноструктурный анализ, проведённый М. Уилкинсом и Р. Франклином, и правила Чаргаффа позволили Уотсону и Крику создать в 1953 г. двухспиральную модель ДНК, одна из цепей которой воспроизводит «самоё себя», а другая – себе подобную и-РНК, а последняя в системе полирибосом преобразуется в линейную последовательность аминокислот полипептидных цепей, причём за постановку в цепь аминокислот ответственны те или иные триплеты или кодоны. Эти процессы репликации, транскрипции и трансляции и составляют суть функционирования генетического кода:

ДНК → и РНК → белок (ферменты) → фенотип.

Начиная с 1952 г., основываясь на ранних исследованиях Чаргаффа, Уилкинса и Франклина, Крик и Уотсон решили попытаться определить химическую структуру ДНК [1–3]. Вспоминая об отношении к ДНК подавляющего большинства биологов тех дней, Уотсон писал: «После опытов Эйвери было похоже, что именно ДНК – основной генетический материал. Таким образом, выяснение химического

Изучение нуклеиновых кислот до открытия структуры ДНК

Год	Учёные-исследователи	Краткие сведения
1869	Ф. Мишер	Обнаружил в лейкоцитах новое химическое соединение, которое назвал нуклеином.
1901	Г. де Фриз	Опубликована книга Г. де Фриза «Мутационная теория», в которой была дана интерпретация термина «мутация». Этот термин стали применять для обозначения внезапного изменения генетической информации. Информация о мутациях оказала большое влияние на дальнейшее развитие знаний о нуклеиновых кислотах: если происходит резкое изменение генетической информации, обнаруживающееся в появлении или исчезновении какого-либо признака, то это должно быть следствием того, что существует какой-то материальный носитель этой генетической информации и, эта информация должна меняться (спорициями)
1908	А. Гаррод	Впервые проследил на практике и описал связь между материальным носителем наследственной информации – нуклеиновой кислотой, являющейся структурной основой гена, и ферментом, кодируемым этим геном. На основании своих наблюдений и клинического материала, накопленного к тому времени другими учёными, сформулировал концепцию о врождённых болезнях, связанных с нарушением обмена веществ
С 1909	Т. Морган, К. Бриджис, Г. Меллер, А. Стертевант	На основе гидролиза нуклеиновых кислот были выделены входящие в их состав сахара: рибоза и дезоксирибоза. Расшифровку структуры мононуклеотидов следует отнести к 20-м гг., когда в результате продолжительной работы была раскрыта их структурная формула и было показано, что они являются основными составляющими единицами, из которых построены нуклеиновые кислоты. В последующем эти данные были использованы при расшифровке структуры молекулы ДНК в целом, а также для понимания механизма репродукции ДНК
1921	С. Райт	Т. Морган начал использовать плодую мушку дрозофилу как объект для изучения изменения наследственных признаков и их комбинаций. Т. Морган совместно с К. Бриджисом, Г. Меллером и А. Стертевантом разработал и экспериментально обосновал представление о генах – элементарных единицах наследственности и изменчивости. Теория Моргана получила название концепции морганизма и является теоретической основой хромосомной теории наследственности
1925	Г.А. Надсон, Т.С. Филиппов, Н.П. Дубинин, А.С. Серебровский	Ввёл понятие «давление мутаций», которым обозначается устойчивость процесса мутирования. Кроме того, он описал возникновение какого-либо признака и развитие его в процессе естественной жизни популяций организмов. Появились многочисленные методы количественного и качественного определения мутаций. Первые позволяют оценивать частоту возникновения мутаций и эффект воздействия: вызывает оно мутации или нет. Одновременно стало складываться представление об аллелях – существовании каждого гена по крайней мере в двух формах. Наши отечественные учёные также внесли свой вклад в развитие концепции материальной природы наследственности
1925	Г.А. Надсон, Т.С. Филиппов, Н.П. Дубинин, А.С. Серебровский	Большая часть открытий этого периода посвящена влиянию рентгеновских лучей на появление наследственных изменений и обоснованию формирования физиологических и биохимических подходов в трактовке понятия гена. Рентгеновское излучение было использовано для ускорения мутационного процесса. В конце 20-х – начале 30-х гг. Н.П. Дубинин, А.С. Серебровский с сотрудниками, используя данные Г.А. Надсона и Т.С. Филиппова и результаты собственных экспериментов, доказали сложное строение гена. Было опровергнуто мнение о том, что первым и главным претендентом на роль гена является белок. Химия дала новый импульс к исследованиям в биологии и генетике. Генетические соображения играли относительно малую роль в исследовании нуклеиновых кислот вплоть до работ О. Эйвери.
1926	А. Стертевант	Все проведённые выше исследования и их результаты позволяют считать, что нуклеиновые кислоты являются реально существующим субстратом, который хранит, передаёт по наследству и воспроизводит всё многообразие свойств и характеристик живых организмов. С их открытием развеялся миф об идеалистической сущности передачи наследственной информации. Было найдено конкретное химическое вещество, которое можно потрогать руками, вещество, несущее генетическую информацию. Это открытие в значительной степени стимулировало практическое использование биологических знаний, в частности для изучения наследственных заболеваний
1928	Н. К. Кольцов	Ввёл в употребление понятие инверсии. В генетических исследованиях оно имеет большое значение. Он обнаружил это явление при изучении кроссинговера у самок плодовой мушки дрозофилы. При этом А. Стертевант обнаружил, что срединный участок одной из хромосом третьей пары перевернут на 180°, т.е. поставлен в обратном направлении. Вот этот переворот участка хромосомы и стали называть инверсией
		Намного опережая открытие Д. Уотсона и Ф. Крика, высказал предположение о матричном синтезе, т.е. о том, что в настоящее время понимают под механизмом репликации и транскрипции.

Продолжение таблицы

1930–1933	Д. Костов, Т. Пейнтер	Показали, что разные участки хромосомы окрашиваются неодинаково. Это дало возможность непосредственно наблюдать за изменением генетической информации в хромосомах с помощью микроскопа, в частности за протеканием хромосомных мутаций. Методы исследования хромосомных мутаций позволили окончательно закрепить материалистические позиции теории наследственности и изменчивости. Было установлено, что хромосома построена из хроматинных нитей, хорошо окрашиваемых различными красителями
1935	Х. Леман	Группа учёных под руководством Х. Лемана обнаружила, что нуклеиновые кислоты и нуклеопротеины (нуклеиновые кислоты в сочетании с окружающими их белками) обладают способностью индуцировать размножение и дифференцировку клеток. Причём, как было показано в последующие годы, такой активностью обладают любые нуклеопротеины, независимо от источника их происхождения
1936	А.Н. Белозерский	Впервые обнаружил ДНК в клетках растений. Это открытие имело принципиальное значение – ДНК стали рассматривать как универсальный биологический материал
1941	Д. Бидл, Э. Тагум	Установили, что каждый ген, структурной основой которого является нуклеиновая кислота, отвечает за синтез определённого фермента. Этот фермент участвует в биосинтезе какого-либо химического вещества. Развитие теоретических знаний о наследственности, включая и представления о нуклеиновых кислотах, послужило базой для мероприятий по практическому применению знаний о наследственности
С 1944	О. Эвери	В работах О. Эвери и его сотрудников живые клетки шероховатого штамма бактерий трансформировали в пробирке в гладкую форму, обладающую высокой болезнетворностью. На основании изучения этого явления в 1944 г. О. Эвери доказал, что трансформирующим фактором является ДНК
1945	Г. Калькар	Экспериментально обнаружил, что существует фосфоролитический механизм расщепления нуклеозидов – структурных единиц нуклеиновых кислот
1950	Л. Полине	Позднее Л. Полине показал, что полипептидные цепи имеют а-спиральную конфигурацию, на основании чего он высказал предположение, что и молекула ДНК, по-видимому, имеет спиральную структуру, закреплённую водородными связями. Это послужило ещё одним косвенным подтверждением существовавшего предположения о винтообразной структуре ДНК. Было показано, что возможно существование нескольких различных устойчивых конфигураций последовательности аминокислотных остатков в полипептидной цепи, одной из которых является а-спираль
1951	К. Картер	Выделил ферменты, гидролизующие гликозидные связи нуклеозидов. Таким образом, было показано, что существуют две системы ферментативного распада нуклеозидов: гидролитический и фосфоролитический. Этими открытиями было опровергнуто ранее существовавшее предположение, что ферментативное расщепление нуклеозидов происходит в результате прямого гидролиза их молекулы по N-гликозидным связям с образованием свободных азотистых оснований и углеводов
1950–1953	Э. Чаргафф	Проведённые исследования показали, что в состав ДНК, выделенной из ядер клеток человека, входят 30% аденина (А), 20% гуанина (Г), 20% цитозина (Ц), 30% тимина (Т). Экспериментальные наблюдения позволили сделать вывод, что в состав ДНК разных организмов входит неодинаковое количество азотистых оснований. Но для одного и того же организма соотношение между нуклеотидами сохраняется постоянным, из каких бы клеток ни выделяли ДНК. В этот же период было сделано ещё одно уникальное открытие, указавшее на важную роль нуклеиновых кислот в передаче наследственной информации. Исследования показали, что ядро любой клетки содержит примерно 6–10 мг ДНК. Только в яйцеклетках и сперматозоидах содержание ДНК было в два раза меньше, чем в клетках остальных тканей
1953	Д. Уотсон и Ф. Крик, М. Уилкинс	Впервые Д. Уотсон и Ф. Крик обосновали существование двойной спирали ДНК и впервые предложили адекватную модель молекулы ДНК, которая объяснила все факты, связанные с функционированием нуклеиновых кислот. Она показала, каким образом молекула передаёт информацию и воспроизводит сама себя. По сути дела, был открыт способ записи и воспроизведения генетической информации на молекулярном уровне. М. Уилкинс на основании проведённых рентгеноструктурных исследований указал, что молекула ДНК представляет собой закрученную нить

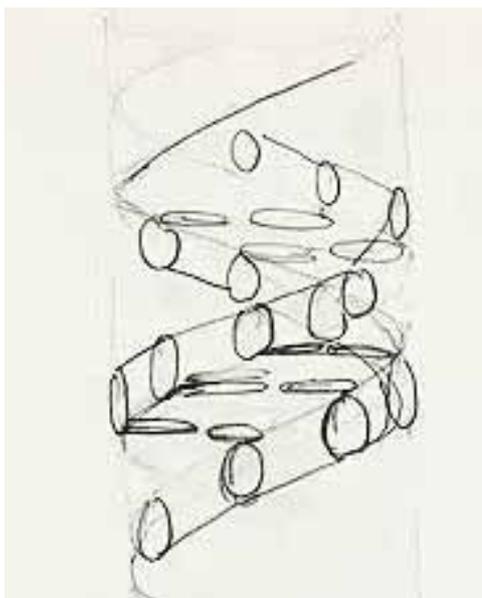


Рис. 1 – Двойная спираль ДНК (авт. Ф. Крик ) [6]

строения ДНК могло оказаться важным шагом к пониманию того, как воспроизводятся гены. Но, в отличие от белков, относительно ДНК имелось очень мало точно установленных химических сведений. Ею занимались считанные химики, и за исключением того факта, что нуклеиновые кислоты представляют собой очень большие молекулы, построенные из меньших строительных блоков – нуклеотидов, об их химии не было известно ничего такого, за что мог бы ухватиться генетик. Более того, химики-органики, работавшие с ДНК, почти никогда не интересовались генетикой» [2].

Уотсон и Крик предложили гипотезу о строении ДНК, основанную на рентгеноструктурных данных. Структура ДНК такова, что две полинуклеотидные цепи могут быть разделены только в результате раскручивания спиралей путём внутреннего вращения групп молекулы по простым связям. Пуриновые и пиримидиновые основания в двойной спирали расположены как бы стопкой, в которой плоскости циклических молекул нуклеотидов параллельны друг другу и перпендикулярны оси спирали. Каждое основание одной цепи образует водородные связи только с определённым основанием другой цепи. Геометрическое строение молекул нуклеотидов такое, что разрешёнными оказываются только взаимодействия А-Т и Г-Ц, т.е. межвитковые водородные связи возможны только между различными пуриновыми и пиримидиновыми основаниями.

В феврале 1953 г. Крик и Уотсон сделали сообщение о структуре ДНК. Месяцем позже они создали трёхмерную модель молекулы ДНК, сделанную из шариков, кусочков картона и проволоки. «Наша структура, – писали Уотсон и Крик, – состоит, таким образом, из двух цепочек, каждая из которых является комплементарной по отношению к другой» [4].

Крик рассуждал об открытии структуры ДНК так: «Я думаю, что не Уотсон и Крик сделали структуру ДНК, но скорее структура ДНК сделала Уотсона и Крика. Ведь, кроме всего прочего, я был тогда совершенно неизвестен в широких научных кругах, а Уотсона считали слишком оригинальной личностью, чтобы предполагать в нём что-нибудь по-настоящему основательное...» [5].

Нет сведений о том, когда Крик сделал данный карандашный набросок (рис. 1) – до или после того, как он и Уотсон создали знаменитую модель ДНК-молекулы, но в любом случае данный рисунок свидетельствует о том, какую важную роль играют простейшие иллюстрации при работе над составлением концепции разрешения проблем высокой сложности. Сейчас часто в учебниках и статьях ДНК рисуют просто в виде двух параллельных прямых, соединённых перпендикулярными им перемиками, т.е. в виде лестницы, что отражает самое существенное в её строении.

Модель Уотсона и Крика позволяет объяснить механизм точного воспроизведения последовательной (генетической) информации. При разделении первичной двойной цепи на каждой дочерней цепи происходит синтез новой полинуклеотидной цепи и в результате возникают две двуспиральные молекулы ДНК, идентичные исходной молекуле.

Изучение нуклеиновых кислот даёт возможность углубить биологические знания и формировать молекулярно-генетическую грамотность. Это инструмент, с помощью которого можно изменить природу, проникнуть в её самые сокровенные тайны. Знания о нуклеиновых кислотах помогают учёным решать проблемы плодородия, развития новых технологических процессов, предупреждения и лечения заболеваний. Селекция, гибридизация, отбор – эти давно знакомые нам понятия получили развитие благодаря внедрению научных методов в практику. Исследования нуклеиновых кислот в организме способствовали выведению новых сортов пшеницы, овощей, фруктов, новых пород скота, позволили повысить урожайность растений и производительность животных. В настоящее время разработаны принципиально новые биотехнологические процессы для получения различных биохимических соединений, используемых в медицине, сельском хозяйстве и промышленности.

### Литература

- Капица С.П., Курдюмов С.П., Малинецкий Г.Г. Синергетика и прогнозы будущего. М., 2001. С. 97.
- Белозерский А.Н. Нуклеиновые кислоты // Второй Всесоюзный биохимический съезд. Ташкент, 1969.
- История биологии с начала XX в. до наших дней. М.: Наука, 1975. 659 с.
- Уотсон Д. Молекулярная биология гена. М.: Мир, 1978.
- Коничев А.С., Севастьянова Г.А. Молекулярная биология: учеб. пособие. 2-е изд., испр. М.: Академия, 2005. 400 с.
- Уотсон Дж.Д. Двойная спираль: воспоминания об открытии структуры ДНК. М.: Мир, 1969. 152 с.