

Тем временем

1953 г.



В 1953 году учреждена Премия Хьюго— литературная премия в области научной фантастики

В 1953 году экс-премьер-министру Великобритании Уинстону Черчиллю присуждена Нобелевская премия в области литературы. Добиться этого он сумел благодаря своим обширным способностям, а также огромному честолюбию, необыкновенному упорству и потрясающей энергии.

5 марта 1953 г. в Москве умер И.В.Сталин, руководитель Советского государства в 1922 – 1953 гг., установивший в стране тоталитарную диктатуру. Его смерть прервала очередной виток массового террора, начавшийся «делом врачей» в январе 1953 г.

На фоне смерти «вождя народов» незамеченными прошли похороны выдающегося композитора XX века С.С. Прокофьева, создателя опер «Война и мир», «Любовь к трем апельсинам», балетов «Ромео и Джульетта», «Золушка» и других произведений.

В результате второй мировой войны человечество испытало невиданные потрясения и понесло колоссальные жертвы. Более 60 миллионов человек погибли, из которых 27 миллионов – потерял Советский Союз.

Важнейшим итогом войны стало изменение мировой геополитической ситуации. На сцену мировой политики вышли две сверхдержавы – СССР и США. Они оп-

ределяли во многом послевоенное устройство мира. Также победа над фашизмом способствовала и окончательному распаду мировой колониальной системы.

Противостояние между сверхдержавами было вызвано идеологическими разногласиями и привело к началу длительного периода «холодной войны». Граница между двумя враждующими системами пролегла через Германию, на территории которой возникли два государства: в западных зонах – ФРГ, в восточной зоне – ГДР. В первое послевоенное десятилетие сложились военные блоки НАТО и ОВД, конфликтовавшие друг с другом.

Важнейшей переменной в сознании народов Европы было понимание коренного изменения роли государства в экономике и социальной жизни. Признавалась ответственность государства за поддержание высокого уровня занятости и экономического роста, за жизнеспособность и безопасность страны. Капитализм вступил в завершающую фазу зрелого индустриального общества. Главными центрами создания новой техники и технологии, научных разработок становятся США, Западная Европа, Япония, СССР. Постепенно эти процессы идут и в других регионах, распространяются по всему миру.

Основное направление развития фундаментальных наук – это проникновение в тайны микромира, в строение атома и познание возможностей использования атомной энергии, в тайны клетки, а затем и в тайны космоса. Машиностроение и автомобилестроение также оказались приоритетными сферами развития производства. Создание ракетных двигателей и полет первого космонавта Юрия Гагарина положили начало освоению космического пространства. Изобретение в 1948 г. транзистора дало толчок развитию радиотехники. Новые перспективы в научных исследованиях и разработках открыло создание в середине 40-х годов XX века американским ученым Н. Винером кибернетики – науки об обратной связи, получении, обработке и передаче информации.

Широкий доступ населения к средствам информации и разного рода развлечениям сопровождался дальнейшим распространением массовой культуры, рассчитанной на вкусы и стереотипы массового сознания. Массовая культура способствовала приобщению к плодам культуры широких слоев населения.

Портреты

Френсис Харри Комптон Крик



Фрэнсис Крик (1916–2004), Великобритания

Френсис Крик родился в Нортхемптоне (Великобритания). В 1937 году окончил Университетский колледж в Лондоне. С 1937 преподавал в Кембриджском университете. С 1939 по 1947 год работал в США. С 1977 года – в Биологическом институте в Сан-Диего (США).

Вместе с Джеймсом Уотсоном разработал знаменитую модель ДНК – двойную спираль. В опытах на фагах установил основные принципы генетического кода.

Член Лондонского королевского общества (с 1959 года), Национальной Академии наук США, Германской академии наук, почетный член Американской академии искусств и наук (с 1962 года). За расшифровку структуры ДНК в 1962 году был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине (вместе с Джеймсом Уотсоном и Морисом Уилкинсом).

Джеймс Дьюи Уотсон



Джеймс Дьюи Уотсон (род.1928), США

Джеймс Уотсон родился в Чикаго. Окончил Чикагский университет в 1947 году как зоолог. Работал в Индианском университете. Вирусолог С.Лурия посоветовал ему заняться ДНК. Уотсон поехал в Данию, и немного поработал в Копенгагенском университете, откуда переехал в Кембриджский. Там Уотсон вместе с Френсисом Криком предложил знаменитую модель ДНК – двойную спираль.

Работал также в Калифорнийском технологическом институте в Пасадене. С 1956 года преподавал биологию в Гарвардском университете. С 1962 года консультант президента США по науке, с 1968 года – директор лаборатории в Колд-Спрингс-Харборе (штат Нью-Йорк). Изучал структуру вирусов и их роль в онкогенезе, исследовал бактериальные рибосомы и роль РНК в синтезе белка.

За расшифровку структуры ДНК в 1962 году был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине (вместе с Френсисом Криком и Морисом Уилкинсом).

Минимум знаний

1953 г.

Френсис Крик и Джеймс Уотсон предложили модель строения ДНК в виде двойной спирали

К открытию структуры ДНК привели разные по направлению и задачам работы. С одной стороны, исследование закономерностей наследования признаков (этим занимается генетика). С другой – биохимический анализ содержащихся в организме соединений. Это открытие было бы невозможно и без разработки физических методов исследования веществ (особенно – рентгеноструктурного анализа).

Современная генетика ведет отсчет примерно с 1900 года, когда Гуго де Фриз, Карл Корренс и Эрих Чермак переоткрыли законы Грегора Менделя, установленные им с 1856 по 1863 год, но не замеченные наукой. В 1927 году советский ученый Николай Константинович Кольцов предположил, что наследственные признаки могут быть записаны в структуре большой молекулы, и что они могут воспроизводиться при синтезе новой молекулы на матрице первой, как отливка повторяет форму модели. Николай Владимирович Тимофеев-

Ресовский, работавший в Германии, сообщил об этой идее Макс Дельбрюку – физику, начавшему заниматься биологией. Учеником Дельбрюка был Джеймс Уотсон, который вместе с бывшим физиком Френсисом Криком решил понять, как устроена молекула ДНК и каким образом ее структура отвечает за биологические функции.

Открытие двойной спирали ДНК стало одним из важнейших научных событий XX века. К нему привели и другие события.

В 1868–1872 годах швейцарец Фридрих Мишер открыл в ядре клеток гноя и спермы лосося новое фосфорсодержащее вещество – «нуклеин». В 1889 году Рихард Альтман разделил нуклеин на белки и кислоты, которым дал название «нуклеиновые». С 1925 по 1930 год Федор (Фебус) Левин расшифровал структуру мононуклеотидов и показал, что они являются теми единицами, из которых построены нуклеиновые кислоты. В 1938 году Уильям Астбюри и Флорин Белл провели первый рентгеноструктурный анализ ДНК. Они установили, что расстояние между нуклеотидами в ДНК равно 3,4 Å, нуклеотиды взаимодействуют друг с другом, и азотистые основания уложены стопками. В 1944 О.Эвери, К.Мак-Леод и М.Мак-Картти доказали, что введение ДНК

в клетки бактерий может изменять их свойства, причем эти изменения наследуются. В 1950–1953 годах Эрвин Чаргафф обнаружил в ДНК следующие соотношения нуклеотидов: $A=T$; $G=C$ (правила Чаргаффа).

К 1953 году было известно, что ДНК состоит из 4 нуклеотидов, а каждый из них – из одного азотистого основания, 5-углеродного сахара дезоксирибозы и остатка фосфорной кислоты. Не было понятно, как эти части соединяются в молекулы ДНК.

Из рентгенограмм, полученных английскими физиками Морисом Уилкинсом и Розалиндой Франклин, следовало, что цепь, образованная дезоксирибозой и остатком фосфорной кислоты, образует спираль. (Ранее спиральные структуры в белках были открыты знаменитым Лайнусом Полингом.) Вспомнив о данных Чаргаффа, ученые заключили, что спираль двойная, и напротив аденина всегда стоит тимин, напротив гуанина – цитозин. Тогда длина обеих пар постоянна и составляет 20 Å. При этом из структуры оснований (наличия атомов водорода, способных образовывать водородные связи) следовало, что аденин соединяется с тиминном двумя водородными связями, а гуанин с цитозином – тремя. Уотсон и Крик сделали модели нуклеотидов и попыта-

лись построить из них двойную спираль. Это получилось только после того, когда они догадались перевернуть одну из цепей, так что те шли навстречу друг другу – антипараллельно.

Такая модель показывает, как способность ДНК к воспроизводству своей структуры (свойство, лежащее в основе передачи признаков при делении клеток) объясняется ее химическим строением: при копировании ДНК порядок чередования нуклеотидов в одной цепи однозначно задает порядок чередования нуклеотидов в другой цепи, строящейся на первой, как на матрице.

Строение ДНК

Молекула ДНК образована двумя полимерными цепями, расположенными спирально вокруг одной оси. Остов обеих цепей – половинок ДНК – составляют чередующиеся остатки сахара дезоксирибозы и фосфорной кислоты (фосфаты). При этом фосфаты присоединяются к 3' (читается: «три-штрих») и 5' атомам сахара, а основания – к 1'. (Атомы сахара обозначаются номерами со штрихами, поскольку номерами без штрихов обозначают атомы углерода в азотистых основаниях). Направление цепи обозначают $5' \rightarrow 3'$.

Азотистые основания направлены от цепей внутрь, к оси. Напротив А расположен Т, напротив Г – Ц. Пары оснований образуют плоские структуры, параллельные между собой, как монеты или карточки в стопке. Каждая пара оснований связаны двумя (А-Т) или тремя (Г-Ц) слабыми водородными связями, однако в одну молекулу ДНК входят миллионы нуклеотидов, и связей получается очень много. Они делают молекулу ДНК стабильной, что необходимо для хранения наследственной информации.

Такое строение ДНК позволило понять, каким образом происходит ее точное копирование (репликация). Цепи расплетаются, и на них достраиваются комплементарные цепи. Получаются две одинаковые молекулы ДНК, которые могут в составе хромосом разойтись в две дочерние клетки. (В этом процессе участвуют ферменты, которые позднее были открыты).

Методические рекомендации

Материалы этой карточки можно использовать при подготовке уроков по органической химии по теме «Нуклеиновые кислоты», по биологии по теме «Клетка. Биополимеры. Нуклеиновые кислоты».

Портреты Уотсона и Крика можно демонстрировать на уроках биологии по теме «Клетка. Биополимеры. Нуклеиновые кислоты». Там же можно демонстрировать снимок раздела «Лаборатории».

Задачи из раздела «Сделай сам» можно решить дома или в классе самостоятельно, а опыт по выделению ДНК проделать на занятиях кружка, демонстрационно или самостоятельно.

Материалы раздела «Что ещё можно прочитать» по возможности могут использоваться на уроках обобщения знаний по «Наследственность», при написании рефератов по этой теме.

Сделай сам

Решите задачи

1. В молекуле ДНК на аденины приходится 24% от общего числа азотистых оснований. Рассчитайте количество других оснований.

2. Ниже приведена последовательность нуклеотидов в одной из цепей ДНК. Напишите последовательность нуклеотидов для другой цепи.

АТГАЦЦГАТГГАЦТЦ.

Прочитайте статью и попробуйте выделить ДНК по приведенной инструкции.

Как увидеть ДНК?

Наследственность, гены, ДНК... Кажется, эти слова уже давно перестали быть научными терминами, вошли в повседневную жизнь и знакомы теперь каждому старшекласснику, не говоря уж о студентах. Но никакой ДНК большинство из нас никогда не видело, хотя увидеть ее – дело вполне реальное даже в домашних условиях.

В одной из генетических лабораторий на стене висит, к примеру, вот такая инструкция:

Как самому выделить ДНК

1. Найдите что-то, что содержит много ДНК. Например, зеленый горошек (но можно куриную печенку, селедочные молоки или лук).
2. Положите в миксер около 100 мл (полстакана) этого продукта, добавьте 1/8 чайной ложки соли и 200 мл (стакан) холодной воды. Взбивайте в течение 15 секунд. Миксер «сварит» вам горохово-клеточный суп.
3. Процедите смесь через ситечко или кусок капрона (чулок вполне подойдет). В полученную мякоть добавьте 1/6 от ее количества (это будет примерно 2 столовые ложки) жидкого моющего средства (для посуды, например) и хорошо размешайте. Оставьте на 5–10 минут.
4. Разлейте жидкость по пробиркам или другим стеклянным посудинам, чтобы в каждой было заполнено не больше трети объема.
5. Добавьте в каждую пробирку по чуть-чуть либо сока, выжатого из ананаса, либо раствора для контактных линз и осторожно встряхните, переворачивая и наклоняя пробирку (если будете трясти слишком рьяно, разломаете ДНК и ничего не увидите).
6. Наклоните пробирку и медленно влейте в нее немного этилового спирта, чтобы он образовал слой поверх

гороховой смеси. Лейте, пока спирта и смеси не окажется поровну. ДНК всплывет наверх в виде хлопьев.

7. Деревянной палочкой (карандашом) выловите их и рассмотрите под микроскопом.

Конечно, для научных работников эта инструкция в какой-то степени шутка и никто из них ДНК таким способом не выделяет, а между тем если и вправду воспользоваться ею, то все получится! Выход ДНК будет, правда, невелик, а вещество не особенно чистым, но увидеть в микроскоп длинные тонкие нити – кристаллы ДНК – вполне возможно.

Что же происходит с зеленым горошком или куриной печенкой в процессе описанных манипуляций и почему в конечном счете ДНК оказывается отделенной от всех остальных веществ, которых в клетке великое множество?

1. Выбор объекта

ДНК, как известно, есть в каждой клетке, а значит, выделить ее можно из любой ткани – даже из костей животных, чешуи рыб или древесины, где клеток не так уж много по сравнению с объемом внеклеточного вещества.

Во всех тканях организма, как животного, так и растения, ДНК, как правило, одинакова. Отличаются эти ткани тем, что в одних из них помимо вещества наследственности больше почти ничего нет (молоки селедки), а в других, таких, как костная ткань, содержание ДНК относительно невелико. Кроме того, существуют ткани, в клетках которых имеется удвоенный набор хромосом (к тетраплоидным относятся, в частности, клетки печени), а потому и ДНК в них в два раза больше, чем во всех остальных. В семенах растений относительное содержание ДНК выше, чем в стебле, а из молодых растущих побегов ее можно выделить существенно больше, чем из такого же по объему куска одревесневшего ствола.

В общем, если перед исследователем не стоит какой-то специальной задачи, он старается выбрать для работы ткань, в которой мало межклеточного вещества и много самих клеток. Причем желательно, чтобы ткань легко распадалась на эти составляющие, а клетки не были перегружены белками (как мышечные), липидами (как жировые) или полисахаридами (как клетки мозга).

2. Дробим ткань на клетки

В миксере ткань, из которой мы собираемся добыть вещество наследственности, распадается на отдельные клетки: чтобы механически разорвать связи между ними требуется, как правило, гораздо меньше усилий, чем для того, чтобы повредить саму клетку. И поскольку при нашем способе выделения ДНК требуются более или менее целые, неповрежденные клетки, ясно, что консервированный горошек или соленая селедка для такого эксперимента не годятся, – лучше уж взять что-нибудь свежзамороженное, если вы уверены, что продукт не размораживали в процессе хранения несколько раз.

А немного соли нужно добавить в раствор для того, чтобы клетки не полопались раньше времени: давление внутреннего содержимого на клеточную мембрану изнутри уравновешивают давлением соляного раствора снаружи.

3. Высвобождаем макромолекулу

Что касается фильтрации, то она нужна для того, чтобы механически удалить из клеточной суспензии всевозможные примеси, в том числе, крупные куски ткани – все равно те вещества, которыми мы собираемся обрабатывать смесь, не смогут проникнуть глубоко

внутри таких конгломератов, и для выделения ДНК они окажутся бесполезными.

А обработать полученные клетки следует, в первую очередь, каким-нибудь детергентом. Средство «Ферри», способное, согласно рекламе, легко отмыть самую жирную посуду, годится и для того, чтобы сделать больших дырок в липидной мембране как самой клетки, так и ее ядра. Если нет жидкого моющего средства, можно сделать концентрированный раствор стирального порошка – тоже подойдет.

В результате такой обработки все клеточное содержимое вывалится наружу и окажется в растворе, который сделается при этом очень вязким, тягучим и существенно более прозрачным, чем была клеточная суспензия.

Изменение консистенции раствора – верный знак того, что лизис прошел успешно.

4. Тут все ясно и без комментариев – не наливайте слишком много раствора в емкость, туда предстоит еще много чего налить, к тому же, если смеси будет в избытке, ее будет трудно перемешать.

5. Освобождаемся от белков

Чего только нет в нашей смеси! Однако белков здесь – больше всего, причем именно они образуют самые прочные комплексы с ДНК. Существуют методики, когда белки удаляют из раствора в несколько этапов. Например, часть из них легко денатурирует и выпадает в осадок при добавлении концентрированных растворов солей.

В лабораторных условиях такие приемы прекрасно работают, а от осадка исследователи освобождаются, помещая пробирки на несколько минут в центрифугу. После этого все более или менее крупные клеточные обломки, денатурированные белки и другие примеси оказываются на дне, образуя очень плотный осадок, и перелить в другую пробирку надосадочную жидкость, содержащую в основном нуклеиновые кислоты – ДНК и РНК, – труда не составляет. Однако в домашних условиях этот этап очистки нам придется пропустить, пожертвовав частью интересующего нас вещества, – оно так и останется «в белковом плену».

Мы сразу же перейдем к очистке ДНК от остаточных белков с помощью специальных ферментов, способных разрушать эти молекулы. Именно такие вещества содержит сок ананаса. Сами они – тоже белки, по-

этому ананас, из которого выжимают сок, должен быть свежим: у ферментов нет ни малейшего шанса сохраниться неизменными в компоте или в консервированном продукте. Что же касается раствора для очистки линз, то если вы собираетесь использовать его – не забудьте положить таблетку для удаления белковых отложений! Сами по себе растворы для хранения контактных линз никаких активных веществ не содержат – иначе и нашим глазам не поздоровилось бы.

О том, что ферменты сработали, можно судить по уменьшению вязкости раствора. Если этого не происходит, поместите смесь в теплое место (примерно 37°C) на полчаса, иногда может потребоваться добавить больше ананасового сока или раствора для очистки линз.

6. Осаждаем ДНК из раствора.

Теперь ДНК плавает в растворе сама по себе. Белки больше не цепляются за нее, хотя обломков всевозможных молекул в смеси по-прежнему много. В лабораторных условиях эти ненужные фрагменты убирают, тщательно перемешивая раствор с фенолом и/или хлороформом. Органические растворители, способные забирать белки «на себя», тяжелее воды, а потому при

последующем расслоении смеси в центрифуге они опускаются на дно. После центрифугирования внизу пробирки оказываются фенол и/или хлороформ с растворенными в них белками, а сверху – водная фаза, содержащая ДНК. Водную фазу собирают в отдельную пробирку и дальше работают уже с относительно чистым раствором.

За неимением центрифуги и органических растворителей, работа с которыми требует к тому же специальных мер безопасности, этот этап очистки в домашних условиях приходится пропустить и осадить ДНК прямо из «грязного» раствора. Заметим сразу – заменить этиловый спирт водкой или духами нельзя: если концентрация спирта будет низкой и упадет при смешивании с водной фазой до 60–65%, ДНК в кристаллическое состояние не перейдет.

Отчасти именно по этой причине наливать спирт в пробирку с ДНК-содержащей смесью следует осторожно, наслаивая его сверху. Тогда нижние слои спирта частично смешаются с раствором ДНК, начнется процесс кристаллизации нуклеиновых кислот, и они всплывут на поверхность (где спирт более концентрированный) в виде хлопьев.

Если же налить спирт сверху не получится и все безнадежно перемешается, то при малом количестве этанола у вас вообще ничего не получится, а при большом начнет кристаллизоваться не только ДНК: в осадок выпадут и остатки белков, и кое-что еще из исходного содержимого клеток.

7. Что же мы получили?

Чистые кристаллы ДНК похожи на клубки спутанных нитей, но не надо забывать, что вы видите именно кристаллы вещества, а не его макромолекулы, и сказать по их внешнему виду, какие гены содержит выделенная вами нуклеиновая кислота, конечно, невозможно. Чтобы узнать это, придется снова растворять ДНК. Впрочем, «прочитать» последовательность нуклеотидов в домашних условиях, увы, невозможно: для этого нужны не только специальные приборы, но и дорогие реактивы.

Однако если вы уже хорошо рассмотрели кристаллы и они успели подсохнуть, можете понаблюдать за тем, как ДНК растворяется. Она вначале набухает, становясь похожей на студенистую медузу, и лишь спустя несколько дней раствор делается однородным. Процесс можно ускорить, если пробирку почаще встряхивать.

Желаем успехов начинающим генетикам и молекулярным биологам!

В.Артамонова

Что еще можно прочитать

Джеймс Д. Уотсон. Двойная спираль. «Химия и жизнь», 1968, № 7, с. 77–85.

Джеймс Д. Уотсон. Двойная спираль. «Химия и жизнь», 1968, № 8, с. 71–78.

Джеймс Д. Уотсон. Двойная спираль. «Химия и жизнь», 1968, № 9, с. 60–66.

Джеймс Д. Уотсон. Двойная спираль. «Химия и жизнь», 1968, № 10, с. 62–67.

Джеймс Д. Уотсон. Двойная спираль. «Химия и жизнь», 1969, № 1, с. 69–79.

Джеймс Д. Уотсон. Двойная спираль. «Химия и жизнь», 1969, № 2, с. 78–85.

Джеймс Д. Уотсон. Двойная спираль. «Химия и жизнь», 1969, № 3, с. 61–70.

Джеймс Д. Уотсон. Двойная спираль. «Химия и жизнь», 1969, № 4, с. 66–73.

Иванов П. Джим Уотсон – четверть века спустя. «Химия и жизнь», 1979, № 9, с. 32–34.

Франк-Каменецкий М.Д. ДНК глазами физика. «Химия и жизнь», 1982, № 6, с. 34–43.

Джон Мэддокс. Тернистая дорога к ДНК. «Химия и жизнь», 2002, № 9, с. 58–60.