

ВЕЩЕСТВО НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

План

1. Белковая гипотеза о строении вещества наследственности.
2. Доказательство генетической роли ДНК.
3. Изучение химического состава ДНК.

1. «Белковая» гипотеза о строении генов

До середины 40-х годов XX в. о было установлено, что гены – это материальные дискретные наследственные факторы, расположенные в хромосомах в линейной последовательности.

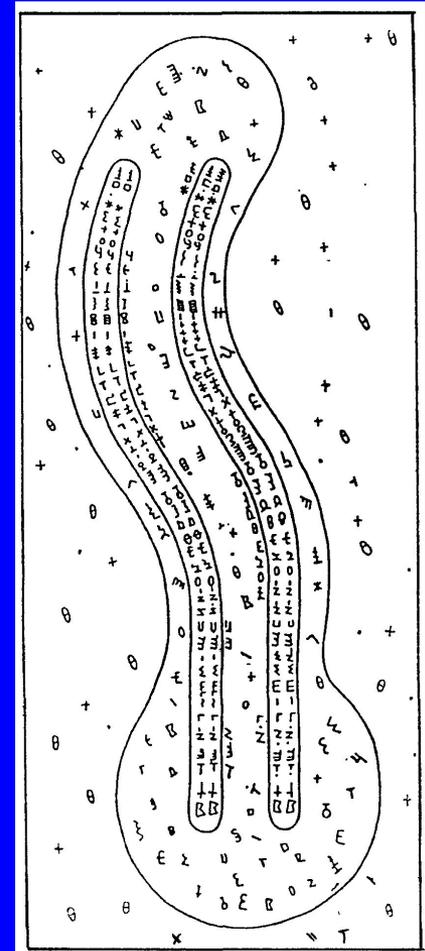
В 1927 г. Н. К. Кольцов, предложил гипотезу о белковой природе генов и хромосом. В развернутой форме гипотеза была опубликована в 1935 г.

Хромосомы — это огромные молекулы белков или пучки таких молекул. Хромосома содержит две геномы (рис.1) - два пучка одинаковых белковых молекул. Такие упорядоченные хромосомы-молекулы могут иметь огромное число комбинаторных вариантов, одинаковых по составу, но с разным расположением символов-генов.

Поскольку последовательность генов наследуется, то хромосома даже в интерфазе клеточного цикла не может распадаться на компоненты-гены, иначе они не смогут снова сложиться в прежнем порядке. Поэтому в процессе воспроизведения хромосомы последовательность генов должна сохраняться.

Рис.1. Гипотетическая схема хромосомы по Н.К. Кольцову.

Внутри хромосомы (контурная линия) — две генономы, два пучка одинаковых белковых молекул, составляющих генетический каркас хромосомы. Каждый символ обозначает отдельный ген. В некоторых местах вблизи генономы выстраиваются частичные фрагменты последовательности символов. Это отвечает идее гомологичного воспроизведения хромосомы путем «кристаллизации». Внутри и снаружи хромосомы рассеяны копии генов (или их «обломков»), которые участвуют в «кристаллизации». (Из В. А. Ратнер, 1998)



Таким образом, Кольцов первый предположил, что **генетический «каркас» хромосомы составляет гигантская линейная макромолекула, построенная из ограниченного разнообразия мономеров. Эта гипотеза оправдалась, правда, для молекул ДНК, а не белков.**

Кольцов предложил **матричный принцип воспроизведения хромосом, сохраняющий порядок генов** - он постулировал **«гомологию» отношений** между одноименными боковыми радикалами (генами). Все это хорошо согласовывалось с тогдашними представлениями генетиков о гомологичном спаривании генов в мейозе, о линейной структуре хромосом и т.д.

В начале XX в. были открыты многие свойства белков. Определены их молекулярные массы, лежащие в интервале 10—2000 тыс. дальтон. Было показано, что все белки состоят из аминокислот 20 типов. Средний линейный размер аминокислоты $\approx 0,003$ мкм. Линейная цепочка из 100 аминокислот равна $\approx 0,3$ мкм, что сопоставимо с размерами хромосом (3—10 мкм). Других длинных молекул, состоящих из гетерогенных мономеров, в клетках тогда не знали. ДНК считалась сравнительно простым соединением. Ей не отводили роль носителя наследственных свойств.

Но одно важное обстоятельство противоречило белковой гипотезе строения вещества наследственности — **у белков не была обнаружена способность к самоудвоению**, а вещество наследственности должно

2. Доказательство генетической роли ДНК

Исследования, показавшие, что генетическим материалом является ДНК, лежали в стороне от главного русла генетических исследований. В качестве экспериментальных организмов в них использовались различные штаммы патогенных бактерий. Экспериментаторы публиковали свои данные преимущественно в медицинских журналах. Большинство генетиков не знало об этих работах.

2. 1. Трансформация у бактерий

В 1928 г. Ф. Гриффит изучал вирулентные (S) и авирулентные (R) штаммы *Diplococcus pneumoniae*. Вирулентные штаммы имели полисахаридную капсулу и образовывали на агаре гладкие колонии. Клетки авирулентных штаммов не имели капсулы и образовывали шероховатые колонии. Штаммы различались по антигенным свойствам или (серотипу) (табл.1).

Вирулентность	Морфология колоний	Серотип	Обозначение
Вирулентный	Гладкие	III	III S
Авирулентный	Шероховатые	II	II R

при введении мышам бактерий II R, а также убитых нагреванием бактерий III S мыши выживают. При введении живых клеток III S мыши, конечно, гибнут. Когда же ввели смесь двух безвредных по отдельности клеток - живых II R и убитых нагреванием III S - то мыши погибли. Из погибших мышей Гриффит выделил вирулентные бактерии с серотипом III (III S). Этот факт говорит о том, что появление живых клеток III S обусловлено не методической ошибкой, а теми взаимодействиями, которые происходят в организме мышей между введенными бактериальными клетками.

Убитые нагреванием бактерии S как-то образом превращают живые клетки R в вирулентные клетки S. Гриффит назвал это явление **транс-формацией** и предположил, что трансформирующим началом служит полисахаридная оболочка вирулентных клеток или какие-то клеточные компоненты, необходимые для синтеза оболочки. Он недооценил тот факт, что трансформация вызывала **наследуемые изменения бактерий**.

Позже было показано, что трансформацию можно наблюдать в пробирке при выращивании живых клеток R в присутствии убитых нагреванием клеток S. Достаточно проинкубировать живые клетки штамма R в присутствии бесклеточного экстракта S.

В 1944 г. Эвери, Мак-Леоду и Мак-Карти осуществили химическую идентификацию трансформирующего начала. Они экстрагировали и очистили трансформирующее начало из большого количества культур *III S Diplococcus* (теперь переименованных в *Pneumococcus*). Конечный продукт давал отрицательные реакции на белок и РНК и резко положительную реакцию на ДНК. Трансформирующая активность препарата была устойчива к протеолитическим ферментам и рибонуклеазе, но разрушалась под действием ферментов, расщепляющих ДНК. С помощью этих экспериментов было твердо установлено, что ДНК способна переносить генетическую информацию от одной бактерии к другой.

После исследований Эвери, Мак-Леода и Мак-Карти ДНК привлекала внимание генетиков, биохимиков и биофизиков. Эксперименты Херши и Чейза, проведенные в 1952 г., показали, что у фагов генетическим материалом также является ДНК. Это было еще одним доводом в пользу важного биологического значения молекулы ДНК.

2.2. *Опыты Херши и Чейз (фаговая инфекция)*

Основные компоненты фага — ДНК и белок (рис. 1). Оболочка фага — капсид целиком состоит из белка. Внутри капсида находится ДНК. Белок и ДНК можно пометить по отдельности, используя радиоактивные фосфор - ^{32}P (который включается только в ДНК), и серу - ^{35}S , которая включается лишь в белок. Фаги метили путем инфицирования бактерий, выращенных в среде, содержащей ^{32}P -ортофосфат и ^{35}S -сульфат магния.

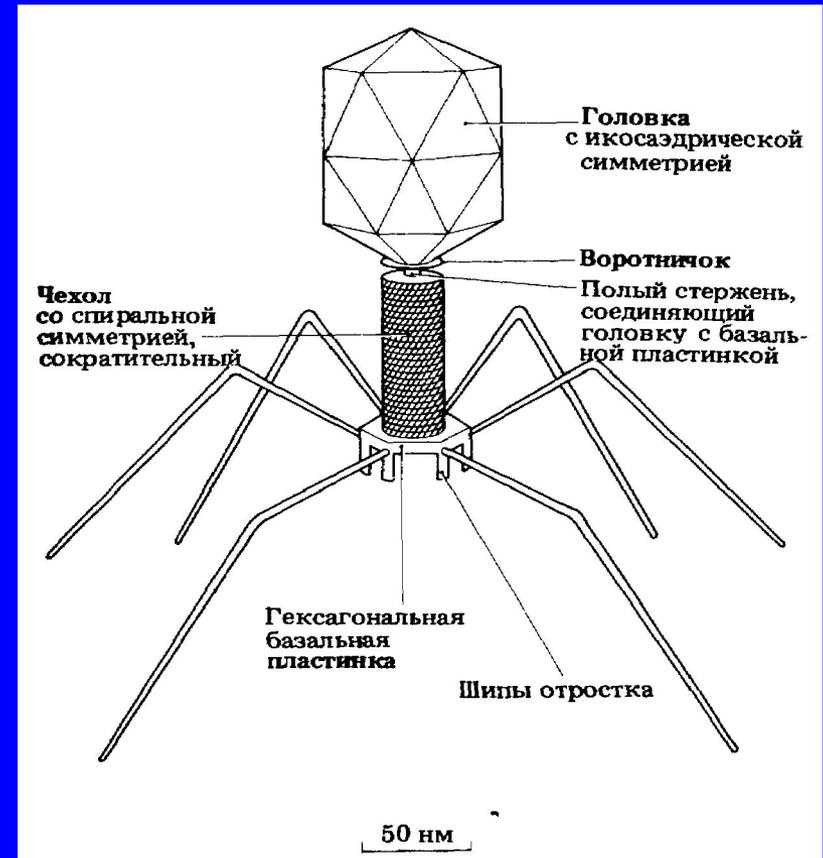


Рис. 2. Строение бактериофага

Полученные меченые фаги, использовали для заражения и лизиса бактерий (3). Авторы показали, что именно фаговая ДНК (содержащая ^{32}P) проникает в бактерию, а 87% ^{35}S (которая содержится в фаговых белках капсида) остаётся связанной с бактериальным дебрисом, (оболочками бактериальных клеток с прикрепленными капсидами). Так было показано, что материальная связь между поколениями фага осуществляется с помощью ДНК.

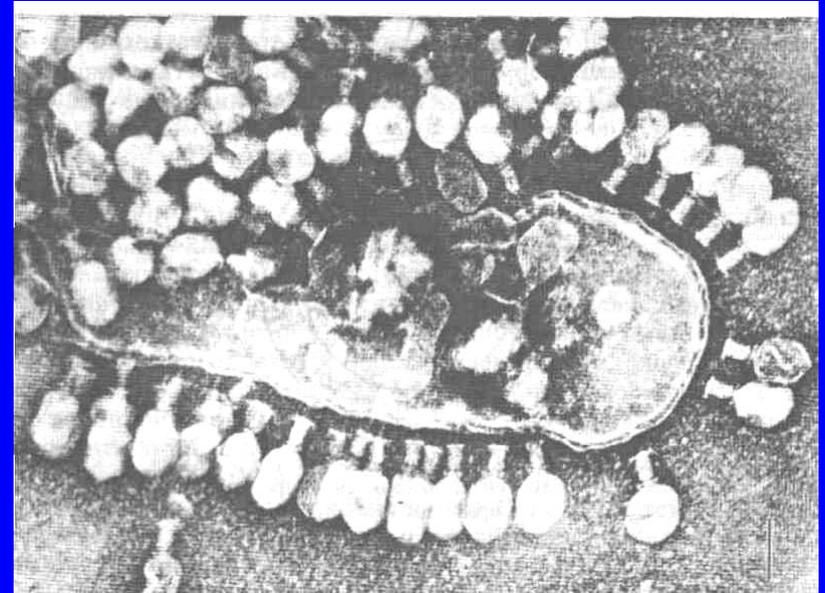


Рис. 3. Электронная микрофотография фагов Т4, адсорбированных на поверхности *E. coli* (L. D. Simon, T. F. Anderson, 1967)

3. Изучение химического состава молекулы ДНК

Впервые нуклеиновые кислоты были обнаружены в 1869 г. швейцарским биохимиком Фридрихом Мишером. Из остатков клеток, находящихся в гное, он выделил вещество, содержащее азот и фосфор. Ученый назвал это вещество **нуклеином** (от nucleus — ядро). Небелковая часть этого вещества была названа **нуклеиновой кислотой**. Компоненты ДНК были установлены в начале XX века, ими оказались: сахар дезокси-рибоза, фосфат и азотистые основания - аденин, гуанин, тимин и цитозин. Элементарная единица ДНК содержит пуриновое или пиримидиновое основание, сахарный остаток и фосфат и называется **нуклеотидом** (рис. 4). Относительное содержание каждого из четырех нуклеотидов не было исследовано, и обычно считалось, что ДНК состоит из повторяющихся структурных единиц, содержащих по четыре нуклеотида.

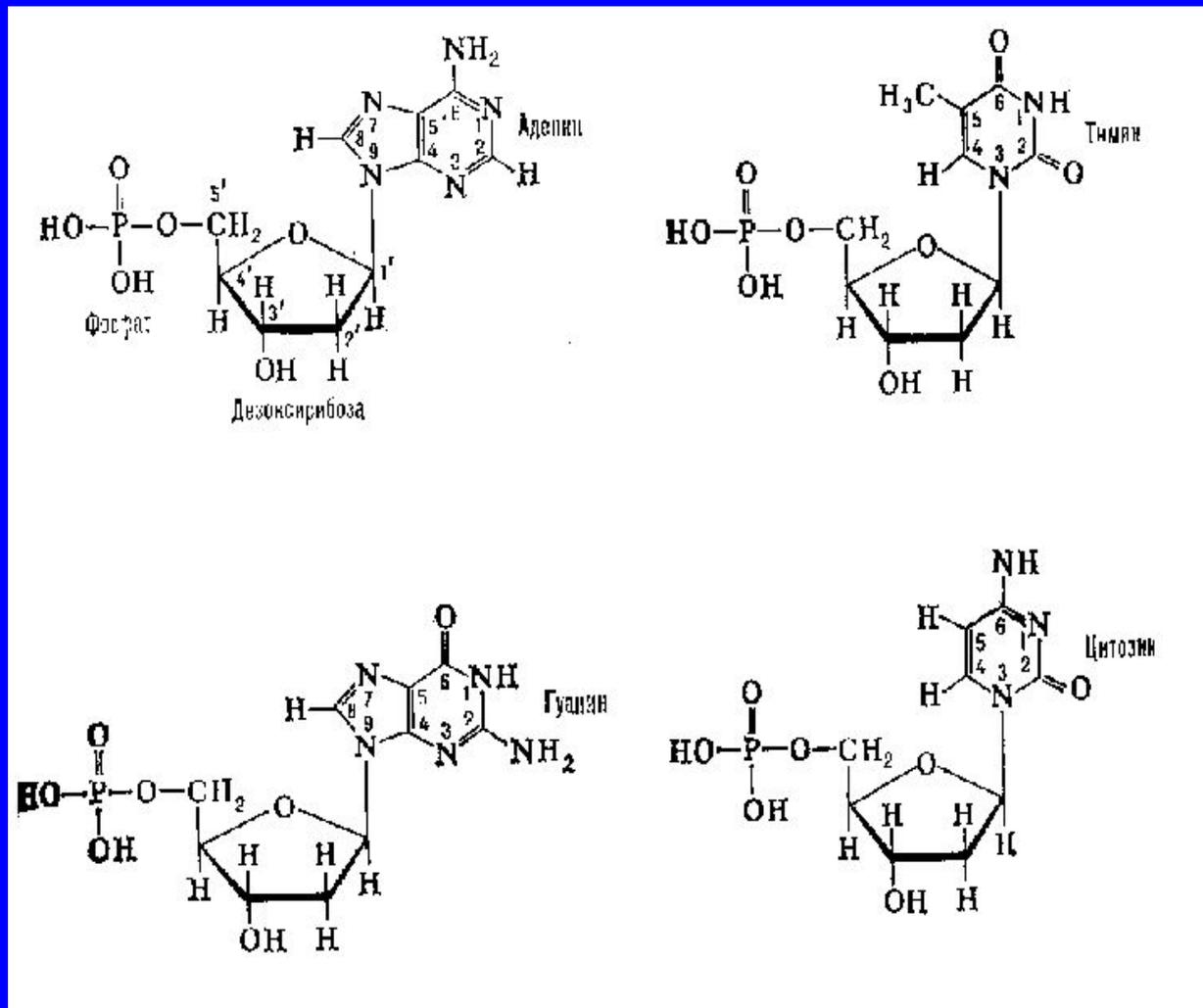


Рис. 4. Структура нуклеотидов ДНК

Э. Чаргафф в 1950 г. выделил высокоочищенную ДНК из разных тканей различных организмов. Образцы ДНК гидролизовались кислотой для отщепления пуриновых и пиримидиновых оснований, которые затем разделялись с помощью хроматографии на бумаге.. Пятна, соответствующие различным основаниям, идентифицировали и определяли количество оснований методом ультрафиолетовой спектрофотометрии. Чаргафф обнаружил, что

- 1. Относительное содержание пуринов и пиримидинов видоспецифично, но не тканеспецифично (табл.2).**
- 2. Молярное соотношение общего количества пуринов и пиримидинов равно примерно единице; причём молярное содержание аденина примерно равно содержанию тимина, а гуанина—цитозину.**
3. На каждый остаток аденина в ДНК приходится один остаток тимина, и на каждый остаток гуанина — один цитозин. Это явление равного молярного содержания оснований часто называют «правилом Чаргаффа».

Таблица 3
Относительное содержание пуринов и пиримидинов в
ДНК (поданным Э.Чаргаффа)

Организм	Ткани	Аденин	Тимин	Гуанин	Цитозин
Человек	Сперма	1,00	1,07	0,62	0,62
	Тимус	1,00	1,00	0,68	0,57
Бык	Тимус	1,00	0,83	0,72	0,61
	Селезёнка	1,00	0,92	0,81	0,65
Дрожжи		1,00	0,97	0,60	0,50
Туберкулёз ная палочка птиц		1,00	0,92	2,32	2,16

Вопросы и задания

1. Почему до 40-х гг. господствовала «белковая гипотеза» вещества наследственности?
2. Какие положения гипотезы Н. К. Кольцова о строении хромосом являются правильными, а какие – нет?
3. Каким требованиям должно обладать вещество наследственности? Какому из них не удовлетворяют белки?
4. Изобразите схему экспериментов Гриффита. Какой факт был установлен в этих экспериментах?
5. Для чего в экспериментах Херши и Чейз использовались радиоактивные изотопы ^{32}P и ^{35}S ? Что подтвердили эти эксперименты?
6. Какие важные выводы о строении ДНК вытекают из правил Чаргаффа?