

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

1966

БИОФИЗИКА

ТОМ
VIII

ВЫПУСК ЧЕТВЕРТЫЙ



1963

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР

МОСКВА

П-252

Главный редактор Г. М. ФРАНК

Зам. главного редактора В. Б. ЕВСТИГНЕЕВ

Редакционная коллегия:

Н. Н. АНДРЕЕВ, Н. С. АНДРЕЕВА, Л. А. БЛЮМЕНФЕЛЬД,
И. М. ГЕЛЬФАНД, П. Г. КОСТЮК, П. О. МАКАРОВ,
Н. Д. НЮБЕРГ, Б. Н. ТАРУСОВ

Ответственный секретарь журнала Л. П. КАЮШИН

Журнал выходит 6 раз в год

п-252 | Биохимика

т. 8 в. 4

1963

29/III 63. Шведский

3/VII 64 Кошицкий

17/II 64 Жестков

9/XI 65 Вайль

А Четвериков

Воробей

577.3

РОЛЬ РНК В СИНТЕЗЕ БЕЛКА

Д. Д. УОТСОН

*Биологическая лаборатория Гарвардского университета
Кембридж 38, Массачусетс*

Введение. Стимулом к широкому исследованию биосинтеза послужили выдающиеся достижения в изучении строения биологически важных соединений. Блестящие результаты Л. Полинга в определении структуры α -спирали [1] позволили надеяться на успех в изучении строения ДНК. И действительно, в 1953 г. была найдена модель двухспиральной структуры ДНК [2], которая позволила сформулировать важнейшую гипотезу о репликации гена [3]. Еще ранее некоторые физики, пытаясь объяснить репликацию гена, привлекали гипотезу о дальнедействующих силах, возникающих на основе особых квантомеханических резонансных взаимодействий [4]. Напротив, Полинг считал, что в основе биологической репликации лежит взаимодействие комплементарных поверхностей макромолекул [5]. Более поздние исследования полностью подтвердили точку зрения Полинга.

Представление о том, что РНК участвует в биосинтезе белка, возникло около двадцати лет назад благодаря пионерским исследованиям Брашета и Касперсона [6], которые показали, что клетки, активно синтезирующие белок, богаты РНК. Позднее, когда меченые (радиоактивные) аминокислоты стали доступными, эти представления были подкреплены наблюдениями [7], свидетельствовавшими о том, что местом биосинтеза белка в клетке являются микросомы, состоящие главным образом из сферических частиц, богатых РНК. Еще более поздние эксперименты [8] показали, что именно рибонуклеиновые частицы (теперь обычно называемые рибосомами), а не липопротеидные мембраны, к которым они часто прикрепляются, являются местом синтеза полипептидных связей. Большинство рибосом находится в цитоплазме, и, соответственно, в основном клеточный белковый синтез осуществляется без непосредственного вмешательства локализованной в ядре ДНК.

Таким образом, нам представлялась реальной возможность того, что генетическая специфичность, существующая в ДНК, первоначально передается РНК-посреднику, которая затем функционирует как шаблон, контролирующей включение специфических аминокислот в белки. Эту гипотезу удалось сформулировать в более точной форме, после того как в 1953 году стала известна структура ДНК. Мы ясно



Д. Д. Уотсон

представили себе, что генетическая специфичность *ДНК* определяется последовательностями комплементарных оснований вдоль ее двух перевивающихся цепей. Одна или две из этих комплементарных цепей должны служить шаблоном для синтеза молекул специфической *РНК*, генетическая информация которой должна заключаться в специфической последовательности оснований. Мы считали тогда, что молекулы этой *РНК* должны были допускать возможность образования трехмерной конфигурации, содержащей поверхности, комплементарные к боковым группам 20 специфических аминокислот.

Рентгенографическое исследование РНК и РНК-содержащих вирусов. Прямой проверкой этой гипотезы являлось определение структуры *РНК*. Уже в 1952 году я получил несколько предварительных рентгенограмм *РНК*. Однако они были очень диффузными. Серьезные исследования *РНК* были начаты, когда я вернулся в Соединенные Штаты осенью 1953 года. А. Рич и я (тогда мы работали в Калифорнийском технологическом институте) получили образцы *РНК* из клеток различных организмов.

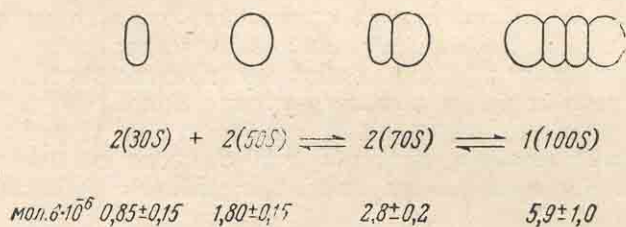
Мы [9] были очень ободрены тем, что все образцы *РНК* независимо от их природы давали сходные дифракционные картины. Следовательно, существовал общий тип структуры *РНК*. Это позволяло нам надеяться на то, что структура *РНК* окажется интересной. На наших первых рентгенограммах меридиональные рефлексы, соответствующие спиральной структуре, всегда отсутствовали. Несмотря на большое число попыток получить нативный недеградированный образец большого молекулярного веса, нам не удавалось снять ни одной удовлетворительной рентгенограммы. Рефлексы всегда были диффузными, никаких признаков кристалличности не было заметно. Хотя и наблюдалось заметное сходство с рассеянием от *ДНК*, у нас не было оснований для твердой уверенности в том, что оно возникало от спиральной молекулы, подобной *ДНК*. Проблема — состоит ли *РНК* из одной или нескольких цепей — оставалась без ответа.

Тогда мы предположили, что *РНК* может иметь регулярную структуру только в комплексе с белком. В то время (1955 г.) не было удовлетворительных доказательств существования свободной от белка *РНК*. Думали, что все рибонуклеиновые кислоты либо являются компонентами вирусов, либо встречаются в комбинации с белком в рибонуклеопротеиновых частицах. Казалось логичным исследовать рибонуклеопротеиновые частицы (рибосомы), так как на их поверхности синтезируется белок. Мы надеялись, что установление их структуры могло бы привести к обнаружению полостей, специфичных для аминокислот.

К тому же казалось удивительным морфологическое сходство между рибосомами и вирусами, содержащими малое количество *РНК* и подобными вирусу желтой мозаики репы или вирусу полиомиелита. В 1955/56 году я вернулся в Кембридж, чтобы вместе с Ф. Криком сформулировать некоторые основные принципы структуры вирусов [10]. Наша основная идея заключалась в том, что ограниченное содержание нуклеиновой кислоты в вирусах строго лимитирует количество аминокислот, которое она может кодировать. Поэтому белковая оболочка не может быть построена из очень большого числа различных белковых молекул. Наоборот, она должна быть построена из некоторого числа идентичных малых субъединиц, расположенных регулярным образом. Эта идея уже была высказана для палочкообразного вируса табачной мозаики, и мы были очень обрадованы, когда Д. Л. Д. Каспар [11], тогда работавший с нами в Кавендише, получил хорошую дифракционную картину кристаллов вируса карликовой кустистости томата и расширил таким образом круг экспериментальных данных по сферическим вирусам.

Структурные исследования рибосом. В то время не было проведено почти ни одного структурного исследования рибосом. Они характе-

ризовались главным образом своими константами седиментации: рибосомы высших организмов [12] — константой седиментации в пределах 70—80 S, бактериальные рибосомы оказались маленькими и седиментировали с двумя константами (30 и 50 S) [13]. Вследствие своих малых размеров бактериальные частицы казались более пригодными для структурных исследований. Поэтому, когда Альфред Тиссер и я пере-



Все частицы содержат 64% РНК и 36% белка

Рис. 1

шли в 1956 году в Гарвардскую биологическую лабораторию, мы приступили к исследованию рибосом обычно изучаемых бактерий *E. coli*. Мы надеялись, что в их структуре будет сходство со строением малых сферических РНК-содержащих вирусов. К тому же мы надеялись, что нам удастся кристаллизовать их и в конечном итоге применить рентгеноструктурные методы для установления их трехмерной структуры.



Рис. 2

Рибосомальные субъединицы. Однако с самого начала наших экспериментов в Гарварде стало ясно, что структура рибосом может оказаться еще более сложной, чем структура вирусной РНК. Как следовало из наших экспериментов, при разной концентрации ионов Mg существует 4 разных класса рибосом, характеризующихся константами седиментации 30, 50, 70 и 100 S. Наши первые эксперименты при концентрации Mg^{++} , равной 10^{-4} M, выявили рибосомы 30 и 50 S. В то же время Е. Т. Болтон [14] в Карнеги-институте Вашингтона, применяя более вы-

сокую концентрацию ионов Mg, заметил более тяжелые рибосомы и предположил, что они являются агрегатами частиц меньших размеров. Вскоре после этого мы [15] обнаружили, что, когда концентрация ионов Mg^{++} возрастает, одна 30-S частица и одна 50-S частица соединяются, образуя 70-S рибосому. При еще более высокой концентрации ионов Mg^{++} две 70-S рибосомы димеризуются, образуя 100-S рибосому (рис. 1 и 2).

Рибосомы из клеток любых организмов характеризуются субъединичным строением. Во всех случаях уровень содержания двухвалентных катионов определяет, какие рибосомы превалируют. Бактериальные рибосомы требуют более высокого уровня ионов Mg^{++} , чтобы агрегироваться до больших размеров. И, наоборот, они разрушаются намного быстрее до образования частиц 30 и 50 S, когда содержание ионов Mg понижается. Часто бывает удобным при работе с рибосомами млекопитающих

Рибосомы

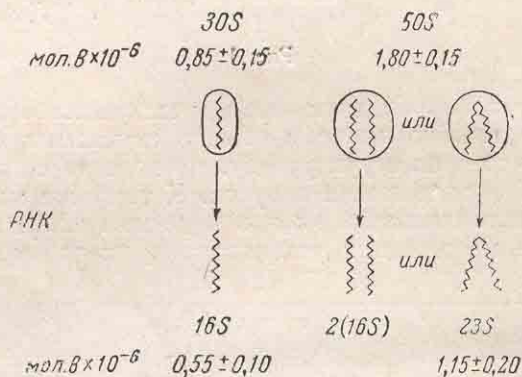


Рис. 3

тающих добавлять хелатные агенты [16] с тем, чтобы быстро разрывать 80-S рибосомы (гомологичные 70-S рибосомам бактерий) до их 40-S и 60-S субъединиц. Таким образом, бактериальные рибосомы незначительно меньше рибосом млекопитающих. Наблюдать более мелкие субъединицы легче в бактериальных системах.

Рибосомальная РНК. Уже в 1958 году имелись некоторые сообщения [17] о том, что рибосомальная РНК седиментирует как две отличные компоненты (18 S и 28 S). Казалось вероятным, что меньшей компоненте соответствует меньшая субъединица, в то время как компоненте с большой константой седиментации соответствует более крупная субъединица. Исследования Мр. Ц. Дж. Курлянда [18] скоро подтвердили это предположение. Было найдено, что 30-S рибосома *E. coli* содержит одну цепь РНК [16] с молекулярным весом $5,5 \cdot 10^5$. Соответственно РНК (23 S) с большим молекулярным весом ($1,1 \cdot 10^6$) была найдена в основном в 50-S рибосомах (рис. 3).

Рибосомальные белки. При анализе белкового компонента обнаружилась более сложная картина. В противоположность малым вирусам, оболочка которых состоит из большого числа правильно упакованных идентичных белковых молекул, каждая рибосома, по-видимому, содержит большое число различных полипептидных цепей. Вначале, когда доктора Дж. П. Уоллер и Дж. И. Харрис начинали анализировать концевые группы аминокислот рибосом, мы предложили простую схему. В самом деле, только аланин и метионин с малыми примесями серина были представлены в заметных количествах. Это наводило на мысль, что только некоторые типы белковых молекул были использованы для

построения рибосом. Однако дальнейшие эксперименты показали обратное [19].

Когда фракции рибосомальных белков были исследованы электрофоретически в крахмальном геле, обнаружилось более чем 20 различных полос. Почти все эти белки при рН 7 мигрировали к аноду, подтверждая представление об отрицательной основной зарядности рибосомального белка [20]. Различные контрольные опыты позволили предположить, что этим полосам соответствуют разные полипептидные цепи, а не просто различные агрегаты некоторых основных субъединиц. Более того, картина полос от 30-S рибосом существенно отличается от того, что имеет место для белков 50-S рибосом.

До сих пор еще у нас нет твердых доказательств того, что каждая 70-S рибосома содержит все те белковые компоненты, которые найдены в 30- и 50-S рибосомах. Пока все попытки доктора Дж. П. Уоллера хроматографически разделить интактные рибосомы на фракции оказывались неудачными. Общий белковый компонент 70-S рибосом составляет около $9 \cdot 10^5$ дальтон. Так как по концевому анализу аминокислотных остатков средней молекулярный вес пептидов равен примерно 30 000, около 20 полипептидных цепей приходится на 50-S и 10 на 30-S рибосомы. Возможно, что все полипептидные цепи в 30-S частице различны. Дж. П. Уоллер уже имеет доказательства наличия 10 различных цепей в 30-S рибосоме. Неудачи в попытке наблюдать большее число компонент в 50-S рибосоме, возможно, обусловлены тем, что одна и та же электрофоретическая подвижность характерна для нескольких полипептидных цепей.

Мы полагаем, что большинство, если не все основные белки рибосом, играют в первую очередь структурную роль. Это означает, что они не несут энзиматических функций, а скорее удерживают рибосомальную РНК и необходимые для биосинтеза промежуточные соединения в конфигурации, обеспечивающей формирование пептидных связей. Кроме того, некоторые ферменты устойчиво связаны с рибосомами. Их функции до сих пор неясны. Одним из этих ферментов является бактериальная рибонуклеаза, которая, как нашел Д. Эльсон [21], в скрытой форме специфически скреплена с 30-S рибосомой. Рибонуклеазная активность не проявляется до тех пор, пока рибосома не разрушена. В нашей лаборатории д-р П. Ф. Спар [22] очистил этот фермент, доказал его специфичность и по измерению специфической активности заключил, что он содержится менее чем в одной из двадцати 30-S частиц. Ясно, что если бы этот фермент существовал в своей свободной активной форме, это быстро оказалось бы летальным для клетки его хозяина. Таким образом, его присутствие в скрытой форме не является неожиданным. Но почему он связан с рибосомой, все еще остается загадкой.

Промежуточные соединения в биосинтезе белка. Наши первые исследования рибосом не представляли большого интереса для биохимиков.

В то время наша задача казалась для них далекой. Специалисты в области энзимологии надеялись найти промежуточные соединения и ферменты, необходимые для образования пептидной связи. В противоположность им исследователи, интересующиеся молекулярной генетикой, хотели обнаружить шаблон и выяснить, каким образом в каждом случае происходит отбор правильной аминокислоты. Очень скоро, однако, оба эти подхода слились. Поводом к этому послужили, с одной стороны, выявление промежуточных агентов биосинтеза белка и, с другой стороны, теоретические исследования Ф. Крика.

Успехи биохимического направления были в большой мере определены работой [23] лаборатории Поля Замечника в Массачусетском госпитале. Этой лаборатории удалось получить репродуцирующуюся *in vitro* систему, содержащую рибосомы, надосадочный фактор и АТФ, которая стимулировала включение аминокислот в белки. Применяя

эту систему, М. Б. Хоагленд сделал два важных открытия. Во-первых, он [24] показал, что аминокислота первоначально активируется АТФ до образования АА-АМФ комплекса с высокой энергией. Во-вторых, он обнаружил [25], что активированная аминокислота затем переносится к РНК низкого молекулярного веса (теперь известна как растворимая, или транспортная РНК). Это вещество (амино-ацил-*s*-РНК) затем и функционирует как промежуточное соединение для образования пептидной связи (рис. 4).

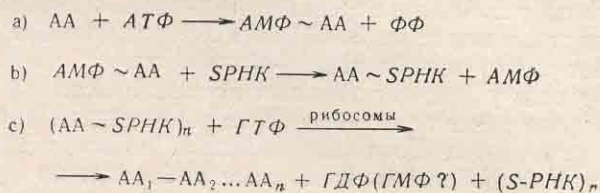


Рис. 4

То, что активация аминокислот должна иметь место, было очевидно еще раньше. Однако открытие М. Б. Хоаглендом (в 1956 году) существования неизвестной до тех пор формы РНК (*s*-РНК) было почти для всех неожиданным. Несколькими годами ранее (в 1954 году) Л. Оргель и я безуспешно пытались построить гипотетическую модель структуры РНК, которая имела бы полости, комплементарные по своей форме боковым группам аминокислот. Не находилось не только правдоподобной конфигурации с подходящими полостями для фосфатно-сахарного остова РНК, но даже, когда мы пренебрегли остовом, нам не удалось найти структуру, которая могла бы эффективно отличать такие аминокислоты, как валин и изолейцин. В то время Ф. Крик (1955 год) стоял перед такой же дилеммой и нашел радикальное решение этой проблемы, предположив [26], что аминокислоты не взаимодействуют с шаблоном. Вместо этого каждая аминокислота должна сначала присоединиться к специфической молекуле-адаптору, которая способна к избирательному взаимодействию за счет водородных связей с пуриновыми и пиримидиновыми основаниями в РНК. Эта схема требовала по крайней мере двадцати различных адапторов, каждый из которых специфичен для данной аминокислоты. Обнаружение *s*-РНК полностью подтвердило гипотезу Ф. Крика. Вскоре после того, как М. Б. Хоагленд открыл *s*-РНК, по многим данным (частично исследованиями М. Б. Хоагленда и П. Берга [27]) было установлено, что молекулы *s*-РНК действительно специфичны для данной аминокислоты. Благодаря гипотезе Ф. Крика стало возможным представить себе, что рибосомальный шаблон для синтеза белка взаимодействует не с боковой группой аминокислоты, а со специфической группой оснований растворимой РНК.

Участие активных рибосом в биосинтезе белка. В бесклеточной системе, обнаруженной группой исследователей Массачузетского главного госпиталя, синтезируется очень мало белка.

Только благодаря применению радиоактивных аминокислот стало возможным убедительно продемонстрировать включение аминокислот в белки. Первоначально этот результат казался тривиальным и хотелось найти лучшие экспериментальные условия, чтобы наблюдать синтез больших количеств белка. Но, несмотря на оптимистические утверждения некоторых лабораторий, никаких реальных результатов в усовершенствовании эффективности синтеза в бесклеточной системе достигнуто не было. В этом отношении показательны некоторые эксперименты (1959 год) А. Тиссьера и Д. Шлезингера [28] с экстрактами *E. coli*. При 30°С синтез в бесклеточной системе продолжается в течение 5—10 мин. и затем останавливается. Количество белка, синтезирован-

ного вновь в течение этого интервала, составляет приблизительно 1—3 γ на миллиграмм рибосом. Около $\frac{1}{3}$ этого количества удаляется с рибосомы, оставшаяся часть оказывается с ней связанной.

Синтез в бесклеточной системе экстрактов *E. coli* требует высокого (10^{-2} M) содержания ионов магния, что способствует образованию 70-S рибосом из 30- и 50-S субъединиц. По мере того как идет включение аминокислот, те рибосомы, которые содержат вновь образующиеся полипептидные цепи, все в меньшей мере оказываются подверженными распаду до 30- и 50-S субъединиц. Если бесклеточные экстракты (во время синтеза) непродолжительно диализовать против 10^{-4} M Mg^{++} , около 80—90% рибосом превращаются в 30- и 50-S частицы. Однако 10—20% 70-S рибосом сохраняются, и именно в них локализована большая часть вновь синтезированного белка. Это, во-первых, позволяет предположить, что биосинтез белка происходит в 70-S рибосомах, но не на свободных 30- или 50-S частицах. Во-вторых, в обычно исследуемых экстрактах *E. coli* только малая фракция рибосом является функциональной. А. Тиссьер и Д. Шлезингер назвали эти частицы «активными рибосомами» и предположили, что они содержат активный компонент, отсутствующий в других рибосомах.

Каждая активная рибосома синтезирует в среднем от 15 000 до 50 000 дальтон белка. Эти цифры в среднем соответствуют размерам полипептидных цепей нативных белков. Таким образом, несмотря на то, что мы оставались неудовлетворенными общим объемом синтеза, он оказывался достаточным для формирования целой молекулы белка. Это побудило нас исследовать синтез β -галактозидазы. Однако, несмотря на большие усилия [29], ничего не было найдено.

Другое важное наблюдение было сделано в более ранних (1959) исследованиях включения аминокислот в экстрактах из *E. coli*. Добавление небольшого количества очищенной дезоксирибонуклеазы приводило к уменьшению синтезируемого белка до величин, составляющих 20—40% от тех, которые были найдены в необработанных экстрактах [28]. Это было совершенно неожиданно, так как заставляло предполагать, что высокомолекулярная ДНК функционирует в обычно изучаемых бактериальных экстрактах. Но так как синтез все же происходит после разрушения ДНК дезоксирибонуклеазой, ДНК сама по себе не должна быть вовлечена в образование пептидной связи. Мы предположили, что происходит синтез нового шаблона РНК на ДНК в необработанных экстрактах. При этом возникает возможность (на которую биохимики раньше не обращали большого внимания) нестабильности РНК-шаблона, а отсюда становится ясным существование лимитирующего фактора в бесклеточном белковом синтезе.

Метаболическая стабильность рибосомальной РНК. Во всех наших ранних исследованиях рибосом предполагалось, что рибосомальная РНК являлась шаблоном. Существовало множество доказательств того, что белки синтезируются в рибосомах, и, так как шаблоном должна быть РНК, было естественно предположить, что ею является рибосомальная РНК. По этой гипотезе рибосомальная РНК была агрегатом молекул с различной последовательностью оснований, синтезируемых на функциональных областях хромосомной ДНК. Она соединяется с основными рибосомальными белками, чтобы образовать рибосомы. Мы считали, что морфологически идентичные по виду рибосомы являются на самом деле агрегатами очень большого числа генетически различных частиц, замаскированных подобием своих белковых компонент.

Имелись очень существенные доказательства того, что молекулы рибосомальной РНК стабильны в растущих бактериях. Уже эксперименты 1949 года показали, что предшественники РНК, однажды включенные в нее, в ней и остаются. К тому же, хотя не было известно отличие рибосомальной от растворимой РНК, более поздние исследования

двух групп (Вашингтонского Карнеги-института и Гарварда) обнаружили одинаковую стабильность их обоих. В этих экспериментах, однако, не следили за судьбой единичной молекулы, и оставалась возможность того, что каким-то особым способом цепи рибосомальной РНК разрушаются до фрагментов, которые затем избирательно используются для построения новой молекулы. С. Даверн и М. Мезельсон [30], однако, исключили эту возможность, вырастив рибосомальную РНК в тяжелой (C^{13} , N^{15}) среде и проследив за ее изменением уже в легкой среде на протяжении нескольких поколений (C^{12} , N^{15}). Они отделили в цезиевом градиенте плотности легкие частицы рибосомальной РНК от тяжелых и показали, что тяжелые молекулы остаются совершенно не поврежденными после по крайней мере двух генераций. Эти результаты показывают, что, если рибосомы обладают генетической специфичностью, белковые шаблоны оказываются неограниченно устойчивыми в растущих бактериях.

Эксперименты, наводящие на мысль о нестабильности шаблонов для синтеза белка. Уже во время экспериментов С. Даверна и М. Мезельсона (1959) начали появляться доказательства (главным образом из Института Пастера) того, что некоторые, если не все, шаблоны для синтеза белка у бактерий нестабильны, а время их жизни составляет всего несколько процентов времени генерации. Ни один из этих экспериментов сам по себе не был удовлетворительным. Каждый из них мог быть интерпретирован иным образом, который сохранял бы концепцию стабильного шаблона. Но взятые вместе, они представляли веский аргумент.

Проводились исследования нескольких типов. В одних экспериментах изучалось влияние резких добавок или разрушения специфических молекул ДНК. Внезапное вмешательство было достигнуто введением мужского донора, включавшего в себя специфические хромосомные области, отсутствующие в женском реципиенте. Одновременно измерялась способность мужского гена функционировать (производить ферментативно-активные белки) в женской клетке. М. Рилей, А. Парди, Ф. Жакоб и Дж. Моно [31] обнаружили нечто удивительное, найдя, что синтез β -галактозидазы, генетически определяемой специфическим мужским геном, достигает максимального уровня через несколько минут после переноса гена. Таким образом, равновесное количество шаблонов β -галактозидазы возникает почти немедленно.

Наоборот, если хромосомы *E. coli* инактивировались распадом атомов P^{32} , включенных в ДНК, можно было наблюдать, что активное образование фермента прекращалось в течение нескольких минут. Это свидетельствует о том, что рибосомальные шаблоны не могут функционировать без одновременного функционирования ДНК.

В то же время Ф. Грос открыл [32], что бактерии, выросшие на 5-фторурациле, продуцируют аномальные белки, по всей видимости, с измененной последовательностью аминокислот. 5-фторурацил легко включается в бактериальную РНК, и его наличие в РНК-шаблоне может заметно увеличить уровень ошибки. Более неожиданным оказался тот факт, что после добавления 5-фторурацила синтез всех нормальных белков прекратился в течение нескольких минут. Это также противоречит возможности существования любого стабильного шаблона.

Нестабильные молекулы РНК в клетках, инфицированных фагом. Первоначально предполагали, что в клетке инфицированной Т2-фагом никакого синтеза РНК не происходит. Но в 1952 году А. Херши [33] обнаружил, что в таких клетках синтезируются новые молекулы с большой скоростью. Однако никаких накоплений РНК в клетке не наблюдается, так как соответственно быстро происходит ее разрушение. Удивительно, что почти все игнорировали это открытие. Это невнимание частично обусловлено распространенным и теперь представлением о

том, что метаболизм клеток, зараженных вирусом, должен качественно отличаться от метаболизма неинфицированных клеток.

Э. Волкин и Л. Астрахан [34] впервые обстоятельно изучили эту нестабильную фракцию *РНК*. Они определили ее нуклеотидный состав и нашли, что он отличается от нуклеотидного состава неинфицированных клеток *E. coli*, но имеет большое сходство с составом инфекционной вирусной *ДНК*. Это наводит на мысль, что такая *РНК* синтезируется на шаблоне *T2-ДНК*. Но более важно то, что эта фракция *РНК* должна быть шаблоном для фагоспецифических белков. Если предполагать, что *РНК* вовлечена в синтез фагового белка, необходимо признать, что в *ДНК*-подобной *РНК* Э. Волкина — Л. Астрахана заключена информация для определения последовательности аминокислот в фагоспецифических белках.

Лишь к лету 1959 года были исследованы физические характеристики этой фракции *РНК*. М. Номура, Б. Холл и С. Шпигельман [35] изучили ее сходство с исследованными типами *РНК* — растворимой и рибосомальной. Они немедленно обнаружили, что *T2-РНК* не включается в стабильные рибосомы. При низкой концентрации ионов Mg ($10^{-4} M$) она существует в свободном состоянии, в то время как при концентрации ионов Mg $10^{-2} M$, как полагали исследователи, она становится частью рибосомальной частицы *30-S*. В то же время Р. Ризебруг начал изучение *РНК* *T2*-фага в нашей лаборатории, также используя центрифугирование в градиенте сахарозы. Он обнаружил, что *T2-РНК* не является характерной рибосомальной *РНК*, и был первым, кто обратил внимание на то, что при концентрации ионов Mg^{++} $10^{-2} M$ большая часть *РНК* *T2*-фага седиментирует не с *30-S* частицами, но с утяжеленными *70-S* и *100-S* рибосомами.

Его результат, естественно, привел к мысли, что синтез фаговых белков происходит в генетически неспецифических рибосомах, к которым присоединены метаболически нестабильные молекулы *РНК*-шаблона. Независимо от нашей работы С. Бреннер и Ф. Жакоб, опираясь на эксперименты, проведенные в Институте Пастера, в равной мере убедились, что имеются прямые доказательства метаболической неустойчивости *РНК*-шаблона, который Ф. Жакоб и Дж. Моно [36] назвали *РНК*-переносчиком. В июне 1960 года они приехали в Пасадену для проведения решающих экспериментов в лаборатории М. Мезельсона. Они считали, что вся *РНК*-переносчик *T2*-фага должна присоединяться к старым рибосомам, синтезированным перед инфицированием. Это они убедительно продемонстрировали [37], инфицируя *T2*-фагом (C^{13} и N^{15}) бактерии в легкой (C^{12} и N^{14}) среде. Впоследствии при центрифугировании в $CsCl$ было обнаружено, что большая часть *РНК*-переносчика *T2*-фага в самом деле присоединена к «старым» рибосомам, так же как и весь вновь синтезированный белок, меченный радиоактивными аминокислотами.

Исследование молекул РНК-посредника в неинфицированных бактериях. Мы пришли к убеждению, что *РНК*, подобная *РНК*-посреднику, должна быть найдена в неинфицированных бактериях. Ее обнаружение оказалось сложной проблемой вследствие одновременного синтеза рибосомальной и растворимой *РНК*.

В мае 1960 года Ф. Грос прибыла с визитом в нашу лабораторию. Вместе с С. Курляндом и В. Гильбертом мы решили изучить меченые молекулы *РНК*-посредника в клетках, подвергнутых короткому воздействию радиоактивного *РНК*-предшественника. Эксперименты с инфицированными *T2*-фагом клетками позволили предположить, что *РНК*-переносчик *T2*-фага составляет около 2—4% общей *РНК* и что время жизни большей части ее молекул не превышает нескольких минут. Если то же самое имеет место и в неинфицированных клетках, то в течение любого короткого интервала времени большая часть синтезируемой

РНК должна быть *РНК*-переносчиком. При этом не должно было бы наблюдаться больших скоплений *РНК*, так как она разрушается почти так же быстро, как и синтезируется.

Снова гипотеза *РНК*-переносчика была подтверждена [38]. *РНК*, меченная в течение короткого времени, присоединяется главным образом к 70- и 100-S рибосомам при концентрации $Mg^{++} 10^{-2}$ M. При более низкой концентрации ионов Mg^{++} (10^{-4} M) она отделяется от рибосом и свободно седиментирует со средней константой седиментации приблизительно 14 S. Анализ отношения оснований показал, что молекулы *РНК* подобны *ДНК*, что соответствует предположению о ее синтезе на *ДНК*-шаблонах, расположенных вдоль бактериальной хромосомы. Вскоре после этого Б. Холл и С. Шпигельман [39] образовали искусственный гибрид молекул Т2-*ДНК* и Т2-*РНК*; впоследствии в целом ряде других лабораторий [40] были также получены гибридные молекулы *ДНК* и *РНК*-переносчика. Таким образом, было точно установлено, что *ДНК* служит шаблоном для *РНК*-переносчика.

Роль РНК-переносчика в синтезе белка в бесклеточной системе. Теперь стало понятным, почему дезоксирибонуклеаза частично ингибирует включение аминокислот в экстракты *E. coli*. Гипотеза о существовании *РНК*-переносчика приводит к мысли, что *ДНК* в экстрактах является для нее шаблоном. Эта вновь синтезированная *РНК* присоединяется затем к рибосомам, где служит шаблоном для синтеза белков. Так как дезоксирибонуклеаза нарушает только способность к синтезу переносчика, она не влияет на *РНК*, уже присутствующую в экстракте в данный момент. Следовательно, как бы высока ни была концентрация дезоксирибонуклеазы, некоторый синтез все же будет наблюдаться. Исследования А. Тиссьера и Дж. Хопкинса [41] в нашей лаборатории и П. Берга, М. Чемберлена и В. Вуда [42] в Стэнфорде подтверждают это предположение. Во-первых, было показано, что добавление *ДНК* к экстрактам, предварительно лишенным *ДНК*, существенно увеличивает включение аминокислот. Во-вторых, было обнаружено, что синтез *РНК* происходит одновременно с синтезом белка *in vitro*. Эта *РНК*, имеет *ДНК*-подобный состав, прикрепляется к рибосомам при концентрации 10^{-2} ионов Mg и физически сходна с синтезируемой *in vivo* *РНК*-посредником.

Далее А. Тиссьер показал, что добавление фракций, богатых *РНК*-переносчиком, стимулирует увеличение синтеза белка *in vitro* в 2—5 раз. Более удивительные результаты получили М. Ниренберг и Дж. Маттеи [43]. Они пришли к выводу, что разрушение *in vitro* *РНК*-посредника должно было бы вызвать прекращение синтеза белка в бесклеточной системе. Если так, то экстракт, лишенный *РНК*-посредника, будет сильнее реагировать на новые добавки *РНК*. Этот метод дал возможность продемонстрировать возрастание синтеза белка в 20 раз при добавлении очищенной фенолом *РНК* *E. coli*. Подобно активным фракциям А. Тиссьера, стимулирующие фракции *РНК* давали гетерогенный пик на седиментационной диаграмме, возможно, обусловленный присутствием рибосомальной или растворимой *РНК*. Более удовлетворительные данные были получены, когда к проинкубированным экстрактам *E. coli* добавили *РНК* вируса табачной мозаики. Наблюдалось увеличение синтеза в 10—20 раз. Наиболее интересным и эффективным [44] оказалось влияние добавок полиуридилевой кислоты (одноцепочечной, подобно *РНК* вируса табачной мозаики). Это привело к специфическому включению фенилаланина в полифенилаланин. После этих экспериментов концепция *РНК*-посредника стала фактом. Теперь существовало прямое доказательство того, что шаблоном для синтеза белка является одноцепочечная *РНК*-посредник.

Присутствие РНК-посредника в активных рибосомах. В системах *in vitro* обычно только 10—20% рибосом *E. coli* содержат присоединен-

ную к ним *РНК*-посредник. Впервые это было показано в работах Р. Ризебруга [45], который центрифугировал клетки, зараженные Т2-фагом, в сахарозном градиенте. Было найдено, что рибосомы, содержащие меченую *РНК*-посредник, седиментируют с большей константой Сведберга, чем обычные рибосомы. В. Гильберт [46] показал, что эти «тяжелые» рибосомы «активны», т. е. способны включать аминокислоты в белки. Свежий бесклеточный экстракт *E. coli* центрифугировался в градиенте сахарозы. Вдоль градиента собирались пробы и затем испытывались на способность стимулировать синтез белка. Было найдено прямое соответствие между «активностью» и присутствием *РНК*-посредника.

Далее, если экстракт центрифугировать после включения аминокислот, вновь образованный белок седиментирует вместе с малой фракцией тяжелых рибосом [45]. Эти рибосомы еще содержат *РНК*-посредник. Однако, если эту *РНК* разрушить рибонуклеазой (рибосомы остаются интактными при концентрации рибонуклеазы в несколько гамм), вновь синтезируемый белок седиментирует вместе с 70-S частицами. Следовательно, синтезируемый белок не прикреплен к *РНК*-посреднику, а непосредственно связан с рибосомами.

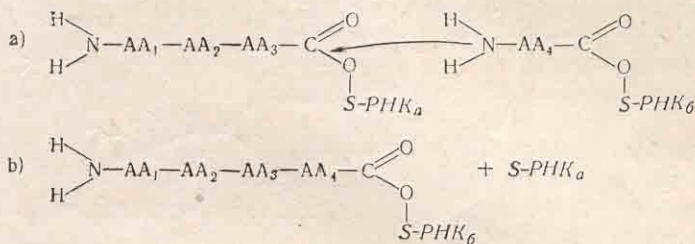


Рис. 5

Присоединение растворимой *РНК* к рибосомам. Исследования Р. Швита [47] и Х. Динцеса [48] показали, что белковая цепь синтезируется путем последовательного добавления отдельных аминокислот, начиная с N-конца. Так как непосредственными предшественниками при этом являются молекулы аминоксил-*s-РНК*, эти данные показывают, что полипептидная цепь оканчивается на нарастающем карбоксильном конце присоединенной к ней молекулой *s-РНК* (рис. 5). Чтобы проверить эту схему, мы попытались установить существует ли специфическая связь между рибосомами и *s-РНК*. М. Каннон и Р. Краг [49] исследовали связывание *s-РНК* в отсутствие белкового синтеза. Они показали, что при 10^{-2} M концентрации ионов Mg каждая 50-S субъединица 70-S рибосомы обратимо связана с одной молекулой *s-РНК*. Такое же обратимое связывание осуществляется и с аминоксил-*s-РНК* или со свободной *s-РНК* в процессе белкового синтеза и в его отсутствие.

Синтез белка, однако, увеличивает связывание рибосомами *s-РНК* при 10^{-4} M содержании ионов Mg. В отсутствие синтеза белка связывание рибосомами *s-РНК* прекращается, если концентрация Mg^{++} падает от 10^{-2} до 10^{-4} M. Наоборот, во время включения аминокислот молекулы *s-РНК* очень устойчиво связываются с 70-S рибосомами, а вновь образовавшиеся белковые цепи затрудняют обычно легкую диссоциацию рибосом на 30- и 50-S частицы. Одна молекула *s-РНК* присоединена к каждой рибосоме, состоящей из двух скрепленных частиц. Продолжительный диализ против 10^{-4} M Mg^{++} в конце концов приводит к разрыву рибосом на частицы. Тогда все связанные *s-РНК*, так же

как и почти весь вновь синтезированный белок, оказываются присоединенными к 50-S компоненте, подтверждая предположение, что эти молекулы *s*-РНК непосредственно присоединены к вновь синтезирующейся белковой цепи (рис. 5). Прямым доказательством этого послужили недавние эксперименты В. Гильберта [50], в которых он применил детергент дипноль для дальнейшего отделения 50-S рибосом от их белковой и *s*-РНК компоненты. Вновь синтезированный белок и связанная *s*-РНК седиментировали вместе в сахарозном градиенте и также вместе проходили через колонку Сефадекса G-200. Слабая обработка щелочью или гидроксиламином в течение некоторого времени приводит к разрыву аминокислотной связи и к отделению *s*-РНК от вновь образовавшегося белка.

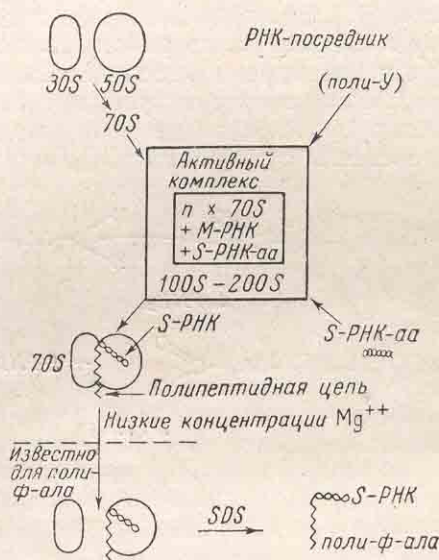


Рис. 6

Количество обратимо связываемой *s*-РНК неактивными (без РНК-посредника) рибосомами неизвестно. По-видимому, в растущих клетках ко всем рибосомам присоединена РНК-посредник и вновь синтезируемый белок. При этих условиях только те молекулы *s*-РНК, которые соответствуют специфической последовательности РНК-посредника, могут проникнуть в рибосомальные полости. Но когда большая часть рибосом лишена *m*-РНК, как в наших экспериментах *in vitro*, заряженные или незаряженные молекулы *s*-РНК могут занимать пустые места.

Эти данные заставляют предполагать, что присоединение синтезируемого белка к рибосомам происходит не за счет ковалентных связей. Кажется вероятным, что точкой устойчивого прикрепления является концевой остаток *s*-РНК, связанный силами, зависящими от концентрации ионов Mg^{++} , с полостью 50-S рибосомы. Продолжительный диализ против $5 \cdot 10^{-5} M Mg^{++}$, который оставляет интактными 30- и 50-S рибосомы, отрывает вновь синтезированный белок от 50-S рибосомы [50; 51]. Образующийся полипептид седиментирует с константой 4 S и, если скрытая рибонуклеаза еще не активирована, содержит, по всей видимости, связанную с концом *s*-РНК. Если концентрация Mg^{++} снова повышается до $10^{-2} M$, очень многие цепи снова присоединяются к рибосоме.

Движение РНК-посредника по поверхности рибосомы. В каждый данный момент времени функционирующая рибосома содержит только

одну синтезированную цепь. В процессе синтеза NH_3^- -конец удаляется от места образования пептидной связи, и, вероятно, окончательная трехмерная конфигурация цепи может образоваться прежде, чем концевая аминокислота будет присоединена к карбоксильному концу. Поэтому РНК-посредник должна быть прикреплена так, чтобы только правильные молекулы амино-ацил-*s*-РНК попадали в положение, где возможно образование пептидной связи. Это требует образования специфических водородных связей (пар оснований) между шаблоном и несколькими (наиболее вероятно, тремя) нуклеотидами вдоль молекулы *s*-РНК. Затем в присутствии необходимых ферментов аминокислотная связь с концевой *s*-РНК разрывается и образуется пептидная связь с правильно расположенной вновь пришедшей аминокислотной РНК (рис. 6). Это должно создать энергетически невыгодное окружение для свободных теперь молекул *s*-РНК, что приведет к ее вытеснению из участков присоединения рибосомы. Новая концевая *s*-РНК приходит затем на место прежней, завершая цикл синтеза. Неизвестно, остается ли шаблон присоединенным к только что связанной аминокислотной *s*-РНК. Если это так, РНК-посредник с необходимостью должна проходить определенное расстояние по рибосомальной поверхности, чтобы расположить свою следующую группу специфических нуклеотидов в нужное для правильного выбора следующей аминокислоты положение. Неизвестно, однако, каким должен быть механизм движения ленты РНК-посредника по рибосоме. Однако она не может оставаться в статической ориентации, так как в рибосоме имеется только одно место, где может образовываться пептидная связь.

Прикрепление отдельной молекулы РНК-посредника к нескольким рибосомам. Добавление синтетического полиуридила к экстракту, содержащему преимущественно 70-S рибосомы, вызывает появление новых активных рибосом с константами седиментации 150—200 S [52]. Прикрепление одной молекулы полиуридила (мол. в. 100 000) к 70-S рибосоме (мол. в. $3 \cdot 10^6$) не должно было бы существенно увеличить константу седиментации рибосомы. Не более вероятно предположение, что очень большое число молекул полиуридила соединяется с индивидуальной рибосомой. В этих экспериментах молярное отношение связанных полиуридила и 70-S рибосом было меньше $\frac{1}{5}$. Единственно подходящее объяснение заключается в образовании рибосомальных агрегатов, присоединенных к одной молекуле полиуридила. 300 нуклеотидов в молекуле полиуридила с мол. в. 10^5 имеют общую длину примерно 1000 Å, если среднее межнуклеотидное расстояние равно 3,4 Å. Таким образом, возможно одновременное присоединение РНК-посредника к группе из 4—8 рибосом (диаметр 200 Å) в зависимости от способа, при помощи которого эта РНК движется по рибосомальной поверхности. Эти оценки хорошо согласуются со средними размерами агрегатов, предполагаемых по седиментационным константам активных комплексов. Седиментация экстракта после включения аминокислот указывает на преимущественное прикрепление полифенилаланина к быстро седиментирующим «активным» рибосомам.

Следовательно, наиболее вероятно, что одиночная молекула РНК-посредника одновременно движется по поверхности нескольких рибосом, функционируя на каждой как шаблон для синтеза белка (рис. 7). Растущие полипептидные цепи должны быть присоединены к последовательно расположенным рибосомам в зависимости от той доли РНК-посредника, которая определяет их синтез. Здесь, по-видимому, имеет место несколько новый механизм образования всей белковой молекулы. Вакантные теперь рибосомы способны принять свободный конец другой (а возможно, той же самой) молекулы РНК и начать новый цикл биосинтеза.

Возможность того, что одна молекула *РНК*-посредника присоединяется ко многим рибосомам, разрешает одно из противоречий гипотезы биосинтеза. Около 4—6% *РНК* *E. coli* приходится на долю *РНК*-посредника [40; 53]. Ее средняя константа седиментации равна 14 S [54], что соответствует молекулярному весу ~500 000. Эта величина может быть заниженной, так как очень трудно предотвратить полностью любую ферментативную деградацию. Таким образом, на каждую молекулу *РНК*-посредника должно приходиться по крайней мере 6—8 70-S рибосом. Очень трудно поверить, чтобы только 10—20% рибосом функционировали в каждый данный момент. При различных условиях отно-

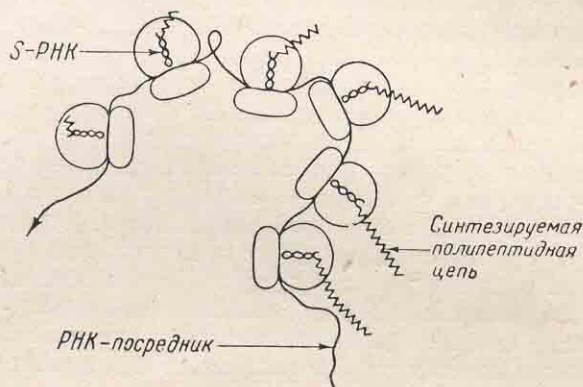


Рис. 7

шение синтезируемого белка пропорционально концентрации рибосом [55]. Кажется наиболее вероятным, что *in vivo* почти все рибосомы являются активными. В процессе препарирования многие рибосомы могут потерять *РНК*-посредник и стать неактивными. Можно предполагать, что применение более совершенной техники выделения систем будет способствовать получению больших фракций тяжелых активных рибосом. Уже имеются сообщения [56], что около 50% рибосом ретикулоцитов млекопитающих существует в виде агрегатов пяти-шести 80-S частиц. По всей вероятности, это именно та агрегация, которая способствует синтезу белков как *in vivo*, так и *in vitro*.

Время жизни шаблона. По приведенной выше схеме *РНК*-посредник может функционировать неопределенно долго. В противоположность этому нестабильные шаблоны для синтеза белка и бактерий функционируют в среднем 10—20 мин. Это вытекает из экспериментов, проведенных в лаборатории С. Левенталя [57], в которых синтез новой *РНК*-посредника был подавлен добавлением антибиотика актиномицина D. Время полураспада синтезированной до этого *РНК* (время генерации *Bacillus subtilis* равно 60 мин.) приблизительно 2 мин. Соответственно быстро прекращается синтез белков. Таким образом, должен существовать механизм специфической деградации *РНК*-посредника. Некоторые ферменты (полинуклеотидфосфорилаза и K^+ -диэстераза), которые быстро разрушают свободную *РНК*-посредник, активны в бактериальных экстрактах [58]. Однако их функциональная активность намного меньше, когда *РНК*-посредник прикреплена к рибосоме [59]. Из этих данных одинаково вероятны два вывода: либо свободный движущийся вперед конец молекулы *РНК*-посредника прикрепляется к свободной рибосоме, либо он разрушается ферментами.

Заключение. В настоящее время основные этапы биосинтеза белка уже известны. Роль *РНК* оказалась намного более сложной, чем представлялось в 1953 году. Биосинтез белка требует определенного взаимодействия трех типов *РНК*: рибосомальной, растворимой и *РНК*-посред-

ника. Много важных вопросов, однако, остается без ответа. Например, до сих пор нет модели структуры для рибосомальных субъединиц, а поэтому — и подходов к выяснению функционального значения рибосомальной РНК. Наиболее обнадеживающим является тот факт, что на всех этапах синтеза белка действуют хорошо известные химические силы. В настоящее время нам еще не ясны все детали. Непонятно, например, играют ли какую-либо роль пары оснований при выборе РНК-посредника соответствующей аминокислоты-РНК. Мы надеемся, что это вскоре станет известно. Есть все основания ожидать, что, когда особенности биосинтеза белка будут выяснены полностью, все процессы, происходящие при этом, найдут свое объяснение на основе известных химических законов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pauling L., Corey R. B., Proc. Nat. Acad. Sci. **37**, 235, 1951
2. Watson J. D., Crick F. H. C., Nature **171**, 737, 1953
3. Watson J. D., Crick F. H. C., Nature **171**, 964, 1953
4. Jordan P., Phys. Z. **39**, 711, 1938; The reader is also referred to the discussion of possible implications of long range forces in Biology by H. J. Muller in his 1946 Pilgrim Trust Lecture. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B., 1947.
5. Pauling L., Delbrück M., Science **92**, 77, 1940
6. Brachet J., Arch. biol. (liège) **53**, 207, 1942; Caspersson T., Naturwissenschaften **28**, 33, 1941
7. Borsook H., Deasy C. L., Hagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H., J. Biol. Chem. **187**, 839, 1950; Hultin T., Exp. Cell Res. **1**, 376, 1950.
8. Littlefield J. W., Keller E. B., Gross J., Zamecnik P. C., J. Biol. Chem. **217**, 111, 1955; Allfrey V. G., Daly M. M., Mirsky A. E., J. Gen. Physiol. **37**, 157, 1953
9. Rich A., Watson J. D., Nature **173**, 995, 1954; Rich A., Watson J. D., Proc. Nat. Acad. Sci. **40**, 759, 1954
10. Crick F. H. C., Watson J. D., Nature **177**, 473, 1956; Crick F. H. C., Watson J. D., Ciba Foundation Symposium «The Nature of Viruses», 1957
11. Caspar D. L. D., Nature **177**, 457, 1956
12. Petermann M. L., Hamilton M. G., J. Biol. Chem. **224**, 725, 1957, Tso P., Bonner J., Vinograd J., J. Biophys. Biochem. Cytol. **2**, 451, 1956
13. Schachman H. K., Pardee A. B., Stanier R. Y., Arch. Biochem. Biophys. **38**, 245, 1952
14. Bolton E. T., Hoyer B. H., Ritter D. B., Microsomal Particles and Protein Synthesis, p. 18. New York, Pergamon Press, 1958
15. Tissières A., Watson J. D., Nature **182**, 778, 1958; Tissières A., Watson J. D., Schlessinger D., Hollingworth B. R., J. Mol. Biol. **1**, 221, 1959; Hall C. E., Slayeter H. S., J. Mol. Biol. **1**, 329, 1959; Huxley H. E., Zubay G., J. Mol. Biol. **2**, 10, 1960
16. Lamírom H., Glowacki E. R., J. Mol. Biol. **5**, 97, 1962; Tso P., Vinograd J., Biochem. Biophys. Acta **49**, 113, 1961.
17. Hall B., Doty P., J. Mol. Biol. **1**, 111, 1959; Littauer U. Z., Eisenberg H., Biochim. Biophys. Acta **32**, 320, 1959; Timasheff S. M., Brown A., Colter J. S., Davies M., Biochim. Biophys. Acta **27**, 662, 1958
18. Kurland C. G., J. Mol. Biol. **2**, 83, 1960
19. Waller J. R., Harris J. I., Proc. Nat. Acad. Sci. **47**, 18, 1961
20. Spahr P. F., J. Mol. Biol. **4**, 395, 1962
21. Elson D., Biochim. Biophys. Acta **27**, 216, 1958; **36**, 372, 1959
22. Spahr P. F., Hollingworth B. R., Biol. Chem. **236**, 823, 1961
23. Littlefield J. W., Keller E. B., Gross J., Zamecnik P. C., J. Biol. Chem. **217**, 111, 1957; Littlefield J. W., Keller E. B., J. Biol. Chem. **224**, 13, 1957; Zamecnik P. C., Keller E. B., J. Biol. Chem. **209**, 337, 1954; Keller E. B., Zamecnik P. C., J. Biol. Chem. **221**, 45, 1956
24. Hoagland M. B., Zamecnik P. C., Stephenson M. L., Biochim. Biophys. Acta **24**, 215, 1957
25. Hoagland M. B., Stephenson M. L., Scott J. F., Hecht L. I., Zamecnik P. C., J. Biol. Chem. **231**, 241, 1958
26. Crick F. H. C., Symposia Soc. Exptl. Biol. **12**, 138, 1958
27. Berg P., Ofengand E. J., Proc. Nat. Acad. Sci. **44**, 78, 1958
28. Tissières A., Schlessinger D., Gros F., Proc. Nat. Acad. Sci. **46**, 1450, 1960
29. Gros F., Schlessinger D. (unpublished experimental data, 1961—1962)

30. Davern C. I., Meselson M., J. Mol. Biol., 2, 153, 1960
31. Riley M., Pardee A., Jacob F., Monod J., J. Mol. Biol. 2, 216, 1960
32. Naono S., Gros F., C. R. Acad. Sci. Paris 250, 3889, 1960
33. Hershey A. D., Divon J., Chase M., J. Gen. Physiol. 36, 777, 1953
34. Volkim E., Astrachan L., Virology 2, 149, 1956
35. Nomura M., Hall B. D., Spiegelman S., J. Mol. Biol. 2, 306, 1960
36. Jacob F., Monod J., J. Mol. Biol. 3, 318, 1961
37. Brenner S., Jacob F., Meselson M., Nature 190, 576, 1961
38. Gros F., Hiatt H., Gilbert W., Kurland C. G., Risebrough R. W., Watson J. D., Nature 190, 581, 1961
39. Hall B. D., Spiegelman S., Proc. Nat. Acad. Sci. 47, 137, 1961
40. Hayashi M., Spiegelman S., Proc. Nat. Acad. Sci. 47, 1564, 1961; Gros F., Gilbert W., Hiatt H., Attardi G., Spahr P. F., Watson J. D., Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol. Vol. 26, 1961
41. Tissières A., Hopkins J. W., Proc. Nat. Acad. Sci. 47, 2015, 1961
42. Chamberlin M., Berg P., Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 81, 1962; Wood W. B., Berg P., Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 94, 1962
43. Nirenberg M. W., Matthaei J. H., Biochem. Biophys. Res. Comm. 4, 404, 1961,
44. Nirenberg M. W., Matthaei J. H., Proc. Nat. Acad. Sci. 47, 1588, 1961
45. Risebrough R. W., Tissières A., Watson J. D., Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 420, 1962
46. Gilbert W., J. Mol. Biol. in press, 1963
47. Bishop J., Leahy J., Schweet R., Proc. Nat. Acad. Sci. 46, 1030, 1960
48. Dintzes H., Proc. Nat. Acad. Sci. 47, 247, 1961
49. Cannon M., Krug R., Gilbert W., will be published
50. Gilbert W., J. Mol. Biol., will be published, 1963
51. Schlessinger D., Gros F., submitted for publication in J. Mol. Biol., 1963
52. Barondes S. H., Nirenberg M. W., Science 138, 813, 1962; Spyrides G. J., Lipman F., Proc. Nat. Acad. Sci., 48, 1977, 1962; Gilbert W., J. Mol. Biol. in press, 1963
53. Cohen S. S., Barner H. D., Lichtenstein J., J. Biol. Chem. 236, 1448, 1961
54. Monier R., Naono S., Hayes D., Hayes F., Gros F. J. Mol. Biol. 5, 311, 1962; Asano K., unpublished experiments
55. Maall O., Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol. 26, 45, 1961; Neidhardt F. C., Fraenkel D., Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol. 26, 63, 1961
56. Gierer A., J. Mol. Biol. in press, 1963; Warner J. R., Knopf P. M., Rich A., Proc. Nat. Acad. Sci. in press, 1963
57. Levinthal C., Keynan A., Higa A., Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 1631, 1962
58. Cohen S. S., J. Biol. Chem. in press, 1963; Schlessinger D., Spahr P. F., will be published, 1963
59. Gesteland R., Watson J. D., will be published, 1963

ДЖЕЙМС ДЬЮИ УОТСОН

Биографическая справка

Джеймс Дьюи Уотсон родился в Чикаго в 1928 г. В 1947 г., после окончания колледжа при Университете в Чикаго, Дж. Уотсон получает степень бакалавра наук по зоологии, тремя годами позже — степень доктора философии по зоологии. Однако, так как его основные интересы лежали в области молекулярной генетики, с 1951 по 1953 г. он работал вместе с Ф. Криком в лаборатории Кавендиша в Кембридже по структуре дезоксирибонуклеиновой кислоты. Эта работа была завершена созданием двухспиральной модели структуры ДНК. В 1955—1956 г. Дж. Уотсон вновь работает в этой же лаборатории по молекулярной структуре вирусов.

С 1956 г. Дж. Уотсон — сотрудник Биологического факультета Гарвардского Университета, где он работает вначале в качестве ассистента профессора, затем, с 1958 г. — в качестве доцента, а с 1961 г. Дж. Уотсон становится профессором.

Дж. Уотсон получил следующие знаки отличия: премию Джона Коллинза Уоррена Массачусетского общего госпиталя совместно с Ф. Криком в 1959 г.; премию Эли Лили по биохимии в 1959 г.; премию Ласкера совместно с Ф. Криком и М. Уилкинсом; Премию Исследовательской корпорации вместе с Ф. Криком в 1962 г. В 1962 г. Дж. Уотсону совместно с Ф. Криком и М. Уилкинсом была присуждена Нобелевская премия.

Дж. Уотсон член Американской Академии Искусства и Науки и Национальной Академии Наук, а также член Датской Академии Искусства и Науки.