

УДК 577.3

Физико-химическая биология: достигнутые рубежи и новые горизонты

Д. Г. КнорреИнститут химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск,
просп. Акад. Лаврентьева, 8

E-mail: knorre@niboch.nsc.ru

Поступила в редакцию 04.11.2011 г.

РЕФЕРАТ Рассмотрены основные этапы становления физико-химической биологии в XX веке, развитие которой было обусловлено установлением Уотсоном и Криком пространственной структуры ДНК и успехами рентгеноструктурного анализа биополимеров. Высказаны соображения о новых приоритетных задачах и методах физико-химической биологии в XXI веке, в число которых входят динамика биохимических процессов, функции неструктурированных белков, а также ферментативные процессы и формирование пространственной структуры биополимеров на уровне единичных молекул.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА структура ДНК, активные центры ферментов, неструктурированные белки, динамика биохимических процессов, наблюдение отдельных молекул.

Вторая половина XX века ознаменовалась фантастическим прорывом технических возможностей человечества. Освоение ядерной энергии привело к появлению сети атомных электростанций, покрывшей всю планету. Создание сверхмощных ракет-носителей открыло человечеству дорогу в космос, которая началась с полета Юрия Гагарина, привела к высадке первых астронавтов на Луну и к созданию международной космической станции, а сегодня позволяет планировать полет людей на Марс. Успехи электроники и материаловедения позволили создать вычислительные машины, способные осуществлять триллионы операций в секунду, запоминающие устройства меньше спичечного коробка, но с очень большой емкостью, разработать системы сверхскоростной передачи информации и создать одно из наиболее выдающихся чудес техники – Интернет.

Не столь впечатляющие, но не менее значимые для человечества события произошли в результате проникновения методов и представлений физики, химии и биологии в объяснение механизмов функционирования живых организмов. Хотя, конечно, углубление наших пониманий этих механизмов было постепенным, многоступенчатым процессом; можно указать критическую точку, которая в наибольшей мере стимулировала бурный рост наших познаний в этой области. Этой точкой стала опубликованная в 1953 году в журнале «Nature» эпохальная работа

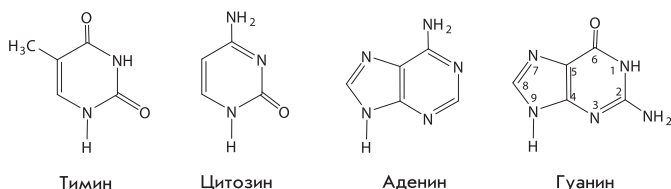
Джеймса Уотсона и Френсиса Крика, построивших пространственную модель дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [1].

Среди всего многообразия вопросов, задаваемых ученым живой природой, наиболее интригующим несомненно был вопрос, каким образом все огромное богатство информации, содержащееся в одной клетке, передается с высокой степенью точности последующим поколениям. Для ответа прежде всего требовалось понять, что служит материальным носителем этой информации. Нуклеиновые кислоты были открыты Мишером в 1869 году, однако до середины 20-х годов XX века ответственными за генетические функции живых организмов считались белки. И только в 1944 году Эвери и его сотрудники показали, что носителем генетической информации является ДНК [2].

Было очевидно, что такой носитель должен обладать тремя главными функциями. Во-первых, он должен иметь огромную информационную емкость, чтобы хранить информацию обо всем разнообразии свойств живого организма со всей его структурой и всеми функциями, присущими данному виду или даже индивиду. Во-вторых, этот носитель должен обладать механизмом, позволяющим реализовать эту информацию в виде конкретных структур живого организма и всех его многочисленных функций (осуществить экспрессию этой информации). В-третьих, что и было наиболее серьезным камнем

преткновения, должен существовать механизм передачи этой информации последующим поколениям.

Принципиальная возможность того, что носителем огромных массивов информации могла быть ДНК, вытекала из ее химической структуры. ДНК представляет собой линейный полимер, построенный из четырех различных мономеров – нуклеотидов, каждый из которых состоит из трех фрагментов – остатка углевода (дезоксирибозы), связанного с ним остатка ортофосфорной кислоты и одного из четырех гетероциклических остатков (оснований) – аденина, гуанина, тимина и цитозина.



Нуклеотиды связаны между собой фосфодиэфирными связями между остатками дезоксирибозы и фосфорной кислоты (рис. 1).

Такой принцип построения делает возможным существование невообразимо большого числа разных полимерных структур, отличающихся набором и последовательностями нуклеотидов. У полимера длиной в n звеньев число вариантов составляет $4^n = 10^{0.6n}$. Даже у очень короткого полимера длиной 200 мономерных звеньев это число (10^{120}) на много порядков превышает число атомов во всей доступной наблюдению части Вселенной (10^{80}). А ДНК даже у простейших организмов построена из сотен тысяч и даже миллионов нуклеотидов.

Приведенные расчеты означают, что подавляющее большинство мыслимых последовательностей нуклеотидов в принципе не могло появиться за время существования Вселенной и, следовательно, соответствующие им живые организмы не могли появиться и быть предметом естественного отбора. Значит, не исключено появление или создание организмов более совершенных, чем существующие в настоящее время.

Однако ни сам факт установления роли ДНК как носителя информации, ни огромная потенциальная информационная емкость молекул ДНК еще не давали ответа на наиболее интригующий вопрос – как эта необъятная информация передается из поколения в поколение. Оказалось, что эта способность заложена в пространственной структуре ДНК. Согласно модели, предложенной Уотсоном и Криком и нашедшей полное подтверждение в последующих бесчисленных экспериментальных работах, ДНК построена из двух полинуклеотидных цепей, основания

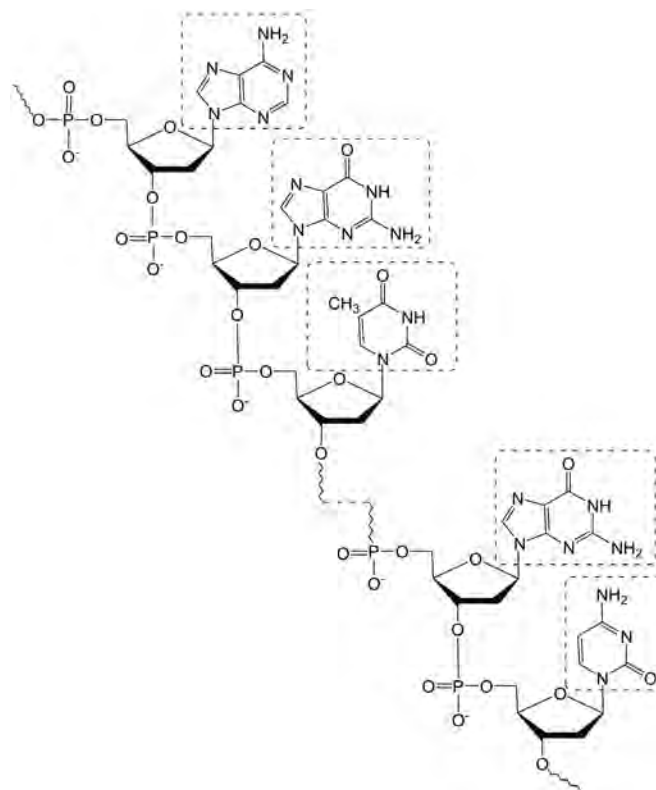


Рис. 1. Структура фрагмента молекулы ДНК.

которых попарно связаны между собой водородными связями. Причем в рамках предложенной структуры аденин может взаимодействовать только с тиминном, а гуанин – с цитозином. Такие последовательности в двух полинуклеотидных цепях получили название комплементарных. Наличие данного соответствия означает, что какой бы ни была последовательность нуклеотидов в одной из цепей, ей однозначно соответствует последовательность нуклеотидов во второй цепи. Отсюда следовал механизм передачи информации при клеточном делении от материнской клетки к двум образующимся дочерним. Согласно этому механизму, перед клеточным делением две полинуклеотидные цепи расходятся, и каждая из них управляет образованием (синтезом) новой комплементарной цепи, т.е. в каждой из двух дочерних клеток оказываются двухцепочечные структуры, идентичные структуре ДНК в материнской клетке. Существование этого процесса было подтверждено работой Мезельсона и Штала [3] вскоре после появления работы Уотсона и Крика. Мезельсон и Шталь растили клетки *Escherichia coli* на среде, содержащей $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ в качестве единственного источника азота. Затем клетки инкубировали на протяжении нескольких поколений в среде, содержащей обычный изотоп азота. Во всех последующих поколениях клеток в ДНК присутство-

вала ^{15}N -ДНК, т.е. тяжелая ДНК, которая образовалась на первой ступени эксперимента, оставалась интактной и просто передавалась при каждом делении одной из образующихся дочерних клеток.

Важнейшей особенностью работы Уотсона и Крика было установление структуры биологически значимой молекулы по известным к тому времени геометрическим параметрам отдельных химических связей. Они объяснили биологическое явление исходя из физико-химических характеристик молекул, обуславливающих это явление. Поэтому работу Уотсона и Крика можно считать днем рождения физико-химической биологии.

На сегодняшний день физико-химическая биология объединяет несколько крупных научных дисциплин – биологическую химию, биофизику, биоорганическую химию, молекулярную биологию. Конечно, исторически сложившееся разделение этих дисциплин не всегда полностью оправдано. Например, молекулярная биология в Википедии определяется как «наука о молекулярных основах биологической активности». Однако и биологическая химия уже достаточно давно опирается на молекулярные представления, описывая важнейшие биохимические процессы как превращения молекул определенной, как правило, известной химической структуры, а катализаторы этих процессов рассматривая как индивидуальные соединения, т.е. как молекулы. Поэтому вся современная биологическая химия является наукой молекулярной и могла бы претендовать на название «молекулярная биология». В связи с этим в настоящей статье автор будет избегать этого термина, и в дальнейшем речь будет идти о физико-химической биологии как науке, рассматривающей биологические явления на основе физико-химических свойств отдельных атомов и химических связей.

Работа Уотсона и Крика стимулировала бурное развитие исследований, что, в конечном итоге, позволило установить основные биохимические механизмы, обеспечивающие передачу и экспрессию генетической информации. Важным элементом этих механизмов было представление о матричном биосинтезе биополимеров, согласно которому каждый шаг удлинения создаваемой новой молекулы биополимера не только катализируется специальным ферментом, но и контролируется специальной матричной нуклеиновой кислотой, указывающей, какой именно мономер следует присоединять к растущей полимерной цепи на данном шаге. Описание этих механизмов содержится во всех современных зарубежных и отечественных учебниках и пособиях по биологической химии, например [4, 5].

Открытие ферментов, катализирующих синтез комплементарных молекул ДНК, привело к созданию

полимеразной цепной реакции (ПЦР) [6], нашедшей применение в медицинской диагностике, криминалистике и археологии.

Установление механизмов экспрессии ДНК и достижения химиков в синтезе олигонуклеотидов заданной последовательности привели к появлению генетической инженерии [7]. Стало возможным вырезать из ДНК определенный ген, внести в него желаемые изменения и вернуть его в соответствующий геном, т.е. осуществить сайт-направленный мутагенез [8].

Крупнейшей научной программой физико-химической биологии стала провозглашенная в 1990 году международная программа «Геном человека» – программа определения полной последовательности нуклеотидов (секвенирования) ДНК человека [9]. Уже в 2001 году Вентер (Venter) и 272 его соавт. опубликовали первую черновую версию полной последовательности нуклеотидов генома человека [10]. Созданные в рамках этой программы и продолжающие совершенствоваться методы открыли дорогу, с одной стороны, к созданию генетических карт каждого человека, а с другой, к определению структуры геномов всех животных, растений и микроорганизмов, существующих на земле. В этом отношении, даже несмотря на замечательные успехи в создании высокоэффективных скоростных методов секвенирования, молекулярные биологи обеспечены работой не на один десяток лет.

Весь путь, проделанный физико-химической биологией от работы Уотсона и Крика до установления структуры генома человека, можно рассматривать как поступательное движение, при котором поставленные задачи были ясны, речь шла лишь о создании методов их решения и проведении исследований. Но, наряду с этим открывались и новые, неожиданные факты. К числу их можно отнести открытие рибозимов Томасом Цехом [11] и Сидни Альтманом [12] и установление регуляторной роли малых интерферирующих РНК [13].

Естественно, что нельзя *a priori* исключить выявление в будущем новых, не вытекающих из всего предыдущего, физико-химических особенностей живой материи. Так, нельзя считать окончательно установленным полное информационное содержание генома человека. Всего 1.5% генома приходится на 23000 генов, кодирующих белки. Значительная часть генома определяет синтез различных некодирующих РНК – транспортных, рибосомных, интронов. Но это отнюдь не все оставшиеся 98.5% генома, огромная часть которого пока что квалифицируется как «мусорная» ДНК (junk DNA). Установление функции этой ДНК – одна из интригующих проблем физико-химической биологии. До сих пор неясным

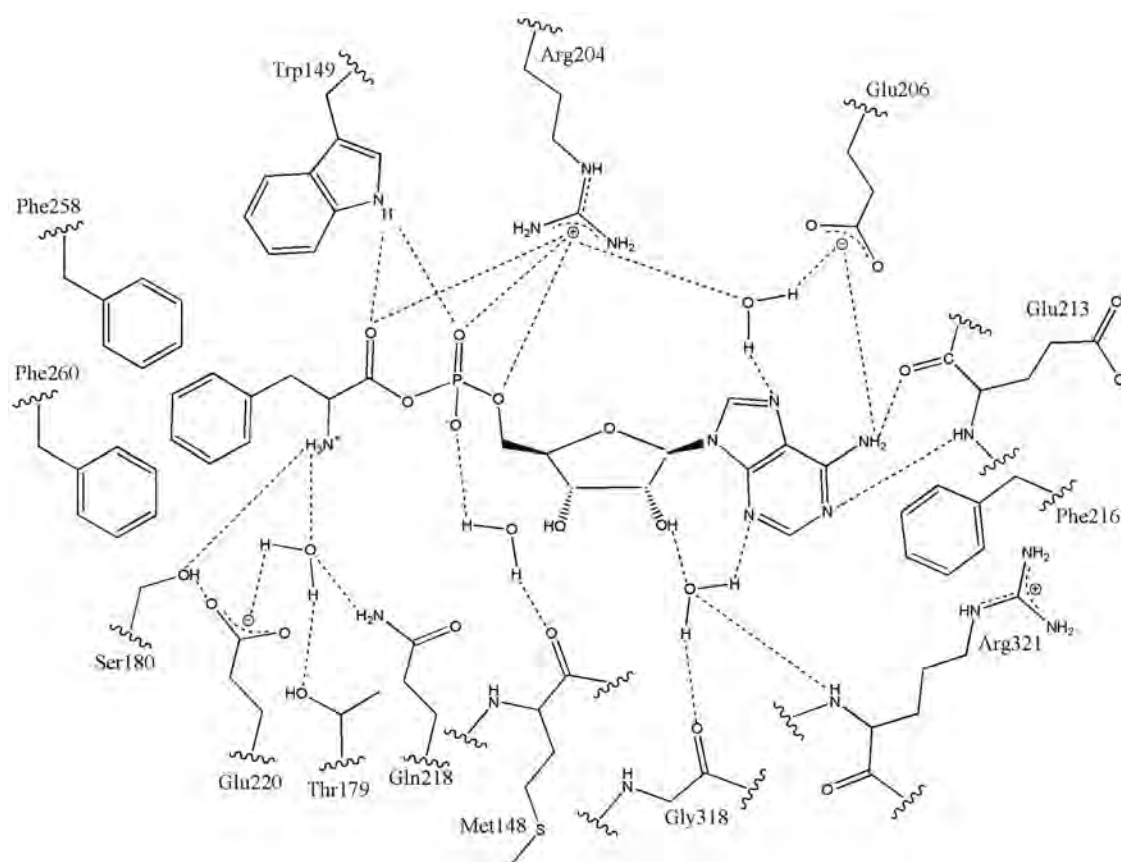


Рис. 2. Структура активного центра фенилаланил-тРНК-синтетазы в комплексе с промежуточным фенилаланиладенилатом. Пунктирными линиями отмечены водородные связи между атомами интермедиата и фермента со связанными с ним молекулами H_2O .

остается функциональное значение внеклеточных нуклеиновых кислот, присутствующих в ощутимых количествах, например в плазме крови [14].

Среди успехов физико-химической биологии в прошедшем веке следует отметить существенный прогресс в понимании механизмов биологического катализа, достигнутый при помощи рентгеноструктурного анализа белков и изучения их структуры методом ЯМР-спектроскопии. К настоящему времени накоплен огромный материал по атомной структуре активных центров ферментов и их комплексов со специфическими лигандами, что позволило сформулировать разумные гипотезы о механизме узнавания и каталитических превращений. Чтобы получить представление об уровне получаемой информации о природе активных центров ферментов, на рис. 2 приведена схема расположения в активном центре фермента фенилаланил-тРНК-синтетазы промежуточного продукта реакции – фенилаланиладенилата, и связей, образуемых группами активного центра фермента с интермедиатом, включая участвующие во взаимодействии молекулы воды [15].

Однако в XXI веке, по мнению автора, основные акценты физико-химической биологии должны смещаться. Можно выделить несколько аспектов, кото-

рые требуют приоритетного развития как теоретического, так и экспериментального. Прежде всего, существенно большего внимания требует вопрос о роли молекулярной динамики в биологических процессах.

Динамический характер поведения биополимеров в ходе их функционирования естественно не был откровением. Однако органическая химия, в том числе биоорганическая, в основном оперировала со структурой, по сути своей статической. Динамические события рассматривались, в основном, как переход от статических структур реагентов к статическим структурам продуктов реакции. В лучшем случае рассматривались промежуточные соединения, но они тоже представлялись как некие статические структуры. Конечно, любой образованный химик прекрасно понимал, что молекулы, в том числе и молекулы биополимеров, подвержены внутренним движениям, таким, как атомные колебания, происходящие в субпикосекундной шкале времени, флуктуациям боковых радикалов в пико-наносекундной временной шкале, конформационным перегруппировкам в миллисекундном диапазоне и еще более медленным внутримолекулярным движениям. Встающий перед молекулярной динамикой биополимеров вопрос со-

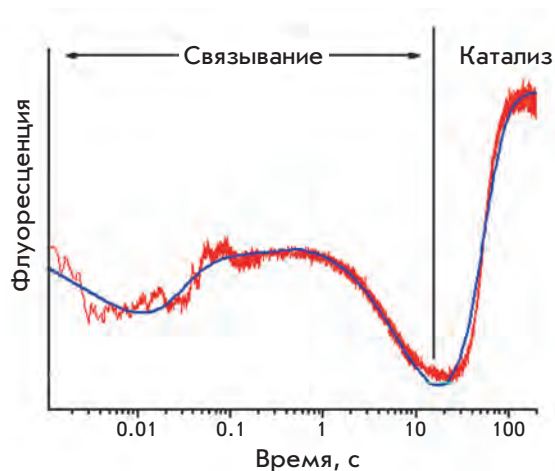


Рис. 3. Кинетическая кривая изменения флуоресценции (произвольные единицы) в начальной фазе реакции выщепления 8-оксогуанина из олигонуклеотида, содержащего окисленный остаток гуанина.

стоит не в констатации и описании таких движений, а в установлении роли такого рода динамических событий в процессах узнавания, в каталитических превращениях, во внутри- и межклеточной сигнализации. На сегодняшний день наиболее широко обсуждается роль динамических факторов в ферментативном катализе [16].

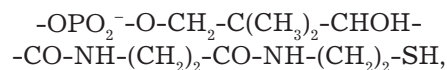
Применительно к ферментативному катализу вопрос о роли динамики впервые четко прозвучал в гипотезе вынужденного соответствия (*induced fit*), сформулированной Кошландом [17]. Согласно его предположению, в структуре активного центра фермента и субстрата изначально не существует идеального соответствия, позволяющего сразу же после образования комплекса фермент–субстрат приступить к осуществлению химического превращения. Этому процессу должна предшествовать конформационная подстройка комплекса, т.е. определенные перемещения атомов, которые обеспечивают необходимое соответствие претерпевающих превращение химических связей субстратов и участков активного центра фермента, осуществляющих каталитический процесс.

Эта концепция получила экспериментальное подтверждение в данных по предстационарной кинетике. Наблюдать подобные изменения в настоящее время удастся с использованием методов быстрой кинетики, таких, как метод остановленной струи (*stopped flow*) для миллисекундного диапазона и релаксационные методы (*T-jump*, температурный скачок) для микросекундного диапазона [18]. В качестве примера на *рис. 3* приведены полученные методом

остановленной струи кривые для реакции выщепления основания (8-оксогуанина), катализируемого 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазой. За превращением наблюдали по флуоресценции остатков триптофана. На первом этапе отчетливо видны изменения конформации, причем регистрируется несколько стадий и лишь на заключительной происходит отчетливо регистрируемое освобождение продукта реакции – 8-оксогуанина [19].

Временной диапазон применимости релаксационных методов значительно расширило применение современных лазеров, позволяющих облучать системы фемтосекундными импульсами, создавая за такое короткое время скачок температуры [20, 21]. Более того, если в растворе присутствуют соединения, у которых pK_a электронно-возбужденного состояния достаточно сильно отличается от pK_a основного состояния, то лазерным импульсом можно осуществить скачок pH [22, 23].

Важную динамическую проблему представляет механизм переключения функционирующей системы с одного режима на другой, достаточно сильно отличающийся от предыдущего. Этот вопрос возникает уже применительно к катализу теми ферментами или ферментативными комплексами, которые обладают несколькими каталитическими функциями, проявляющимися в определенном порядке. Это касается всех мультифункциональных ферментов, в которых последовательное включение разных функций обеспечивается «качающейся ножкой», достающей разные активные центры. Таких примеров довольно много, одним из них может служить синтаза жирных кислот – комплекс белков, катализирующий последовательное наращивание двууглеродными фрагментами углеродного скелета жирной кислоты [24]. Растущая цепь углеродного остатка на протяжении всего процесса связана тиоэфирной связью с SH-группой остатка фосфоантетеина,



который ковалентно присоединен фосфоэфирной связью к остатку серина ацилпереносящего белка (ACP – *acyl-carrier protein*). Ножка содержит большое число σ -связей и поэтому обладает высокой гибкостью. Это позволяет ацильному остатку попеременно перемещаться между активными центрами, катализирующими последовательные стадии биосинтеза жирных кислот из ацетильных остатков. Первичным источником ацетильных групп является ацетилованный кофермент А, CoAS-COCH_3 – основной продукт катаболизма сахаров, жиров и ряда аминокислот. Ацетильный остаток карбоксилируется, а образовавшийся-

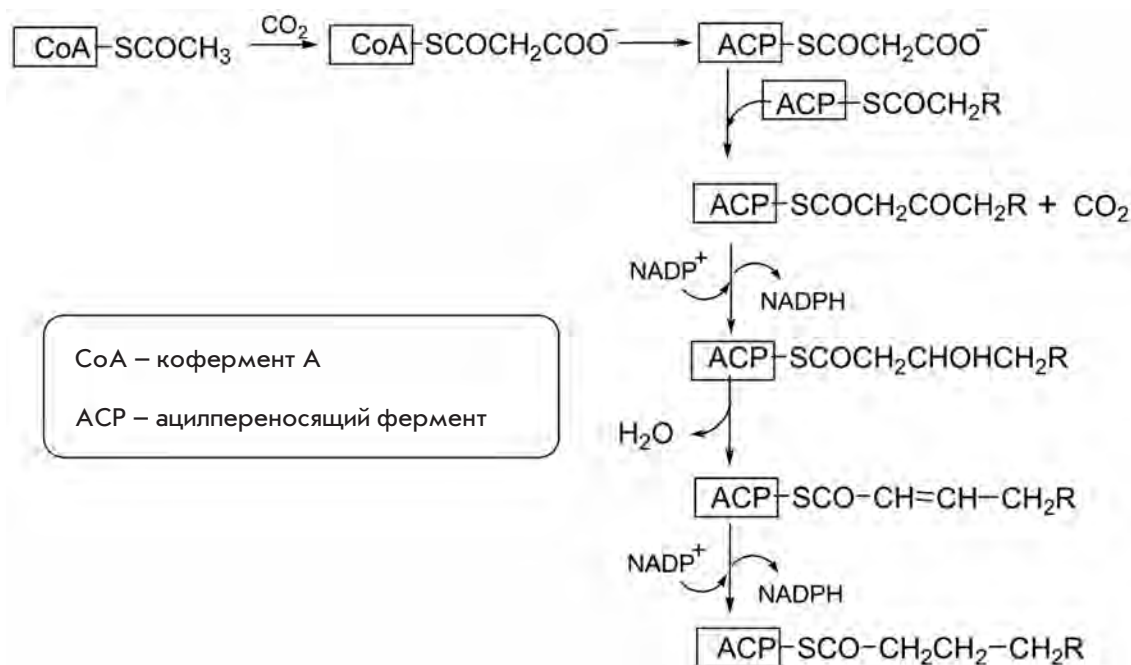


Рис. 4. Схема наращивания двууглеродного фрагмента, катализируемого синтазой жирных кислот.

ся малонильный остаток переносится от кофермента А на АСР в соответствии с реакцией:



На рис. 4 представлена схема процессов, происходящих с каждым введенным в процесс двууглеродным фрагментом. Непосредственным донором этих фрагментов является малонил-АСР, который присоединяется к растущей цепи с отщеплением CO_2 и разрывом связи фрагмента с белком, восстановлении фрагмента до $-\text{СНОНСН}_3$, его дегидратации до $-\text{СН}=\text{СНСН}_3$ и восстановлении до $-\text{СН}_2\text{СН}_3$.

Каждая из этих реакций протекает, естественно, с участием своего активного центра. Активные центры могут располагаться либо на разных полипептидных цепях (у эубактерий), либо на одном полифункциональном белке (эукариоты, в том числе человек). Качающаяся ножка АСР должна в определенном порядке доставить фрагмент $\text{СОСН}_2\text{R}$ в четыре активных центра для прохождения всех последовательных превращений.

Новую важную проблему, требующую рассмотрения с позиций молекулярной динамики, представляет изучение внутренне неупорядоченных белков (intrinsically unordered proteins) [25–27]. В настоящее время обнаружено большое число таких белков, которые, вопреки установившейся точке зрения, функционируют в отсутствие определенной третичной

структуры. Едва ли такие белки представляют собой просто статистический клубок полипептидной цепи. Скорее всего, в растворе они представляют собой целый ансамбль быстро переходящих друг в друга конформаций. Преобладание белков с неупорядоченной конформацией характерно для многих нейродегенеративных заболеваний, таких, как болезнь Гентингтона и спинозжечковая атаксия (нарушение походки и других видов координации движений). Однако многие белки с неупорядоченной пространственной структурой или, по крайней мере, содержащие достаточно протяженные (свыше 50 аминокислотных остатков) неупорядоченные участки, встречаются в норме, причем у эукариот их существенно больше, чем у одноклеточных организмов. Среди таких белков особенно часто встречаются факторы транскрипции, белки, участвующие в ремоделировании хроматина и во внутриклеточной сигнализации. Речь, конечно, не идет о полной неупорядоченности. Это видно хотя бы по тому, что многие неупорядоченные белки становятся структурированными при связывании со своими мишенями. Неупорядоченность, точнее неполная структурная упорядоченность многих белков, создает серьезную проблему на пути установления пространственной структуры, так как такие белки не дают рефлексов при рентгеноструктурном анализе. В то же время накапливается все больше данных о том, что такие неупорядоченные участки наиболее характерны для полифункциональных белков. По-видимому, среди конформаций подобных

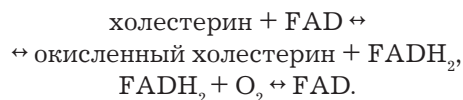
псевдонеупорядоченных белков есть и конформации, в которых белок проявляет сродство к разным партнерам. Для подобных белков характерно небольшое содержание аминокислотных остатков с объемными гидрофобными радикалами, повышенным содержанием полярных и заряженных остатков.

Теоретическое изучение молекулярной динамики биополимеров в значительной мере ограничено возможностями существующей к настоящему времени вычислительной техники. Расчет молекулярной динамики естественно предполагает пошаговую процедуру. При этом размер шага должен составлять фемтосекунды. С таким шагом в случае молекул биополимеров, состоящих из тысяч атомов, даже для современных суперкомпьютеров и программ возможно продвижение лишь на десятки наносекунд. Между тем наиболее интересные конформационные события протекают в диапазоне микро- и даже миллисекунд.

Преобладающая часть работ в области физико-химических основ процессов жизнедеятельности, особенно в случае количественных характеристик этих процессов, выполнена *in vitro*. По-видимому, полученные в большинстве исследований величины можно в значительной мере отнести и к внутриклеточным процессам, особенно к процессам в клетках эукариот. Каждая обычная эукариотическая клетка может нести большое число молекул биополимеров, и ее цитозоль не столь сильно отличается от условий в пробирке. Это можно продемонстрировать простым расчетом клетки сферической формы с линейным размером 20 мкм, типичным для клеток эукариот. Расчет более наглядно вести в единицах массы в дальтонах (Да) и длины в ангстремах (Å) (условно их можно называть «клеточными»). Поскольку $1 \text{ г} = 6 \times 10^{23} \text{ Да}$, а $1 \text{ см} = 10^8 \text{ Å}$, то плотность в этих единицах будет измеряться в $1 \text{ г/см}^3 = 0.6 \text{ Да/Å}^3$. Объем клетки составит примерно 4×10^{15} , а объем достаточно крупной белковой молекулы (примерно 100 кДа) в этих единицах будет равен примерно 10^5 Å^3 , т.е., если принять, что белки занимают 10% объема цитозоля, даже таких молекул в клетке может разместиться около 4 млрд штук. Таким образом, можно считать, что условия в цитозоле (с поправкой на повышенную вязкость 10%-ного раствора белка) принципиально отличаются от условий в пробирках. Таким же образом можно оценить размещение белков на поверхности клетки. Полагая, что 10% поверхности плазматической мембраны занято «вмонтированными» в нее белками, легко подсчитать, что на ней может разместиться (в качестве рецепторов, транспортных белков, каналобразователей *etc.*) порядка 4×10^5 белков с молекулярной массой 100 кДа.

Исследования как *in vitro*, так и на уровне целых клеток дают информацию о физико-химических характеристиках биохимических процессов, усредненных по всему ансамблю вовлеченных в них молекул. В связи с этим новым важным направлением являются открывающиеся в результате развития техники исследований возможности работать с отдельными молекулами. Эти исследования направлены, с одной стороны, на создание методов установления нуклеотидной последовательности единичной молекулы ДНК, в настоящее время такие работы достаточно далеко продвинулись [28]. Второе направление – функционирование отдельных молекул. Работа в этом направлении нуждается в высокочувствительных методах, поэтому такие исследования проводятся с использованием флуоресцирующих компонентов.

Наибольшее внимание в настоящее время уделяется изучению реакций, катализируемых одной молекулой фермента. В этом случае реакция должна сопровождаться изменением флуоресценции. В качестве примера можно привести холестериноксидазу [КФ 1.1.3.6] [29], катализирующую окисление холестерина молекулярным кислородом. Реакция протекает в две стадии:



Холестерин окисляется связанным с белковой частью фермента флуоресцирующим кофактором флавинадениндиклеотидом (FAD). При окислении холестерина FAD переходит в нефлуоресцирующую восстановленную форму FADH₂. На второй стадии реакции FADH₂ окисляется молекулярным кислородом до исходного FAD. Каждый отдельный каталитический акт характеризуется затуханием и возгоранием флуоресценции, что позволяет следить за каждым актом функционирования фермента. На *рис. 5* приведены результаты регистрации флуоресценции при каталитическом окислении холестерина.

Второе важное применение спектроскопии единичных молекул – исследование свертывания макромолекул. Так, с помощью флуоресценции единичных молекул можно наблюдать динамику формирования пространственной структуры РНК, которую можно регистрировать с помощью метода FRET (резонансный перенос энергии флуоресценции) [30]. Интенсивность переноса энергии флуоресценции между связанными с определенными точками флуорофорами облучаемого донора флуоресценции и ее акцептора обратно пропорциональна шестой степени расстояния между ними. Если в ходе формирования пространственной структуры расстояние между флуорофорами меня-

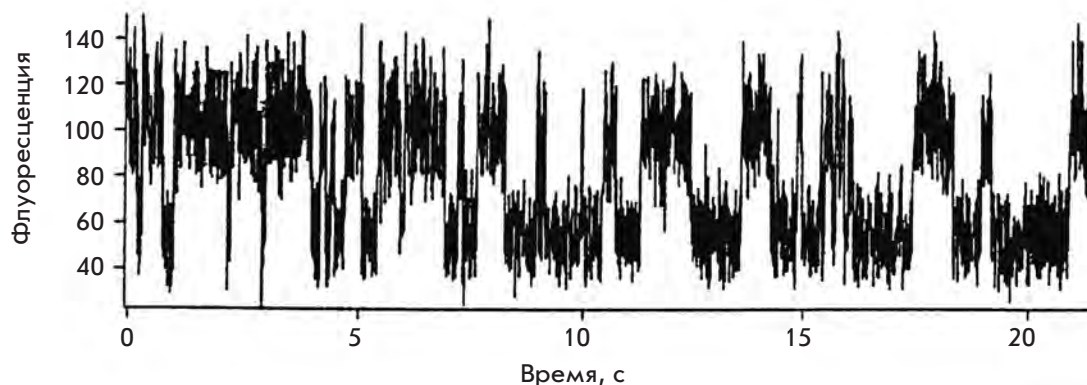


Рис. 5. Регистрация флуоресценции кофактора в ходе окисления холестерина.

ется, это будет сказываться на флуоресценции акцептора между ними. При изменении пространственной структуры интенсивность флуоресценции акцептора энергии будет изменяться.

Рассмотренные выше задачи, встающие перед физико-химической биологией, касаются белков и нуклеиновых кислот, исследованию которых в XX веке уделялось приоритетное внимание. Говоря о новых горизонтах физико-химической биологии, следует отметить необходимость усиления внимания и к другим группам соединений. В первую очередь,

это относится к углеводам нерегулярного строения, которые играют важную роль в обеспечении ряда высокоселективных процессов, таких, как распределение биохимических процессов по клеточным органеллам. Помимо важного познавательного значения, указанные направления несомненно будут вносить большой вклад в конструирование новых лекарственных препаратов, в изучение их взаимодействий с живыми организмами, их трансформации и побочных эффектов и тем самым станут важнейшим звеном медицины XXI века. ●

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Watson G.D., Crick F.H. // *Nature*. 1953. V. 172. P. 737–738.
2. Avery O.T., MacLeod C., McCarty M. // *J. Exp. Med.* 1944. V. 79. P. 137–158.
3. Meselson M., Stahl F. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1958. V. 44. P. 671–682.
4. Lehninger A.L., Nelson D.L., Cox M.M. *Principles of Biochemistry*. N.Y.: Worth Publ., 2008. 1013 p.
5. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. *Биологическая химия*. М.: Высшая школа, 1998. 479 с.
6. Saiki R.K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B., Horn G.T., Erlich H.A., Arnheim N. // *Science*. 1985. V. 230. P. 1350–1354.
7. Шелкунов С.Н. *Генетическая инженерия*. Новосибирск: Сибирское Университетское издательство, 2004. 496 с.
8. Hutchison C.A. 3rd, Phillips S., Edgell M.H., Gillam S., Jahnke P., Smith M. // *J. Biol. Chem.* 1978. V. 253. P. 6551–6560.
9. Watson J.D. // *Science*. 1990. V. 248. P. 44–49.
10. Venter J.C., Adams M.D., Myers E.W., Li P.W., Mural R.J., Sutton G.G., Smith H.O., Yandell M., Evans Ch.A., Holt R.A., et al. // *Science*. 2001. V. 291. P. 1304–1351.
11. Kruger K., Grabowski P.J., Zaug A.J., Sands J., Gottschling D.E., Cech T.R. // *Cell*. 1982. V. 31. P. 147–157.
12. Guerrier-Takada C., Gardiner K., Marsh T., Pace N., Altman S. // *Cell*. 1983. V. 35. P. 849–857.
13. Hamilton A., Baulcomb D. // *Science*. 1999. V. 286. P. 950–952.
14. Vlassov V.V., Laktionov P.P., Rykova E.Y. // *BioEssays*. 2007. V. 29. P. 654–667.
15. Safo M., Moor N., Lavrik O. *The Aminoacyl-tRNA Synthetases*. Texas. Georgetown: Landes Biosciences, 2005. P. 250–270.
16. Callender R., Dyer R.B. // *Chem. Rev.* 2008. V. 106. P. 3031–3042.
17. Koshland D.E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1958. V. 44. P. 98–104.
18. Хеммис Г. *Методы исследования быстрых реакций*. М.: Мир, 1977. 716 с.
19. Kuznetsov N.A., Zharkov D.O., Koval V.V., Buckle M., Fedorova O.S. // *Biochemistry*. 2009. V. 48. P. 11335–11343.
20. Anfinsen P.A., Han C., Hochstrasser R.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989. V. 86. P. 8387–8391.
21. Richard L., Genberg L., Deak J., Chiu H.-L., Miller R.J.D. // *Biochemistry*. 1992. V. 31. P. 10703–10715.
22. Gutman M., Huppert D., Pines E. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1981. V. 103. P. 3709–3713.
23. Iu K.K., Kuczynski J., Fuernis S.J., Thomas J.K. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1992. V. 114. P. 4871–4878.
24. Lehninger A.L., Nelson D.L., Cox M.M. *Principles of Biochemistry*. N.Y.: Worth Publ., 2008. P. 805–814.
25. Wright P.E., Dyson H.J. // *J. Mol. Biol.* 1999. V. 293. P. 321–331.
26. Dunker A.K., Silman I., Uversky V.N., Sussman J.L. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2008. V. 18. P. 756–764.
27. Uversky V.N. // *Intern. J. Biochem. Cell. Biol.* 2011. V. 43. P. 1090–1103.
28. Pushkarev D., Neff N., Quake S. // *Nat. Biotechnol.* 2009. V. 27. P. 847–850.
29. Xie X.S., Lu H.P. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 15967–15970.
30. Bokinsky G., Zhuang X. // *Acc. Chem. Res.* 2005. V. 38. P. 566–573.