

## КРАТКИЙ ОЧЕРК НАУЧНОЙ, ПЕДАГОГИЧЕСКОЙ И НАУЧНО-ОРГАНИЗАЦИОННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ\*

Книга посвящена академику А.С. Спирину, выдающемуся ученому в области молекулярной биологии.

В 1953 г. Ф. Крик и Дж. Уотсон предложили модель пространственной структуры ДНК и принцип комплементарности как основу воспроизведения генетической информации. Поэтому 1953 год справедливо считают годом рождения молекулярной биологии, которая во многом определила облик биологии XX в. Позже Ф. Крик сформулирует другой основополагающий принцип молекулярной биологии, так называемую центральную догму, согласно которой генетическая информация от ДНК передается к белкам через молекулы РНК. Именно в это время начинается исследовательская работа Александра Сергеевича Спирина на кафедре биохимии растений биолого-почвенного факультета Московского государственного университета в группе А.Н. Белозерского, который уже более 20 лет (с начала 30-х годов) занимался исследованием нуклеиновых кислот и сделал к тому времени несколько открытий мирового значения. В частности, Андрей Николаевич показал универсальное распространение ДНК и РНК в живом мире: открыл ДНК в растениях, ДНК и РНК в бактериях, исследовал количественное содержание нуклеиновых кислот в разных организмах. Эта группа была тогда одной из немногих в мире, где занимались исследованиями нуклеиновых кислот.

После работ Э. Чаргаффа с сотрудниками в США (1950-1952) по количественному анализу соотношения четырех нуклеотидов в ДНК разных организмов в группе А.Н. Белозерского начинается систематический анализ нуклеотидного состава ДНК и РНК. К этой работе подключился А.С. Спирин. Анализ нуклеотидного состава ДНК, проведенный в лаборатории Э. Чаргаффа, позволил сформулировать правила Чаргаффа, согласно которым молярное содержание пуриновых оснований в ДНК всегда равно молярному содержанию пиримидиновых оснований, молярное содержание аденина равно содержанию тимина, содержание гуанина содержанию цитозина, а соотношение (гуанин + цитозин)/(аденин + тимин) специфично для вида организма. После разработки А.С. Спириным усовершенствованных методических приемов, позволяющих точно анализировать нуклеотидный состав ДНК и РНК клетки, было проведено широкое систематическое исследование нуклеотидного состава обеих нуклеиновых кислот у представителей отдельных групп бактерий и других микроорганизмов. Согласно результатам, основной показатель специфичности нуклеотидного состава ДНК отношение  $(G + C)/(A + T)$ -(гуанин + цитозин)/(аденин + тимин) варьировал от 0,45 (АТ-тип ДНК) до 2,75 (GC-тип ДНК). Близкородственные семейства бактерий отличались по нуклеотидному составу ДНК меньше, чем далеко отстоящие в филогенетическом отношении. Это послужило основанием для того, чтобы провести прямую связь между нуклеотидным составом ДНК бактерий и их эволюционной систематикой. Исследования по молекулярной систематике микроорганизмов на основе анализа нуклеотидного состава ДНК продолжались на кафедре биохимии растений еще долгое время, пока этот подход не сменился геносистематикой на основе анализа нуклеотидных последовательностей ДНК и РНК, которая сейчас бурно развивается.

Если изучение нуклеотидного состава ДНК явилось развитием и продолжением исследований Э. Чаргаффа, то широкий анализ состава РНК, проведенный А.С. Спириным в лаборатории А.Н. Белозерского, был принципиально новым и оригинальным вкладом в проблему специфичности нуклеиновых кислот. До этих работ подобных анализов состава РНК в литературе не было. Исследования, проведенные на бактериях, вскрыли совершенно неожиданный для того времени факт: при громадных вариациях состава ДНК нуклеотидный

\* А.А. Богданов, Л.П. Овчинников. Краткий очерк научной, педагогической и научно-организационной деятельности. стр. 11-34. Из книги: «Материалы к биобиблиографии ученых. Александр Сергеевич Спирин». Составители Т.Б.Кувшинкина, Г.М.Тихомирова, М.С.Шелестова. Москва, Изд-во «Наука», 2001, 111 с.

состав РНК сравнительно мало менялся от вида к виду. Это открытие произвело эффект взорвавшейся бомбы, поскольку ставило под сомнение центральную догму молекулярной биологии ДНК → РНК → белок, получившую к тому времени широкое признание. Казалось почти очевидным, что функция основной массы клеточной РНК состоит в том, чтобы служить посредником между генами (ДНК) и белками: молекулы РНК комплементарные копии ДНК, принимающие непосредственное участие в белковом синтезе в качестве матриц. В этом случае нуклеотидный состав РНК должен соответствовать нуклеотидному составу ДНК данного организма. Между тем прямой анализ этого не показал и все оказалось значительно сложнее, чем первоначально предполагали в схеме ДНК → РНК белок. Результаты исследований А.С. Спирина и А.Н. Белозерского стали поворотным моментом в изучении проблемы кодирования и передачи информации от ДНК. Они подвергли сомнению господствовавшее ранее упрощенное понимание центральной догмы и дали толчок новому научному поиску.

В той же серии работ по изучению нуклеотидного состава бактериальных ДНК и РНК был получен результат, указавший путь решения проблемы. При сравнении состава тотальной РНК с составом ДНК у бактерий, несмотря на отсутствие их видимого соответствия, была обнаружена положительная корреляция: переход от видов с резко выраженным АТ-типом ДНК к видам с резко выраженным ГЦ-типом ДНК сопровождался тем, что соотношение нуклеотидов в РНК также несколько сдвигалось в сторону увеличения соотношения (Г + Ц)/(А + У). Хотя величина этой регрессии была небольшой, коэффициент корреляции оказался значительным. Это могло означать, что в массе тотальной клеточной РНК содержится относительно небольшая доля особой РНК, соответствующая по нуклеотидному составу клеточной ДНК. Именно эта небольшая фракция могла служить переносчиком генетической информации от ДНК к белкам, а основная масса РНК в клетке призвана играть другую роль. Так на основании сравнительного анализа состава нуклеиновых кислот бактерий было предсказано существование информационной (матричной) РНК (мРНК) за несколько лет до ее прямого выделения и идентификации в нескольких зарубежных лабораториях (1961 г.).

Анализ нуклеотидного состава РНК привел к еще одному очень важному заключению. Для РНК неприменимы правила Чаргаффа о равенстве пуринов и пиримидинов, а это означало, что РНК не может быть ДНК-подобной двойной спиралью с взаимокплементарными цепочками.

А.С. Спирин с сотрудниками с конца 50-х годов начинает исследование макромолекулярной структуры РНК с использованием широкого арсенала физических методов. Этой работе предшествовала разработка метода выделения недеградированных препаратов высокомолекулярных РНК (рибосомных РНК и РНК вируса табачной мозаики).

Небольшая группа А.С. Спирина в жестокой конкуренции с мощной гарвардской лабораторией, возглавляемой классиком физической химии биополимеров П. Доти, сумела провести исследования, которые внесли выдающийся вклад в формирование общих представлений о пространственной структуре РНК. Представления Спирина о РНК как одиночных полинуклеотидных цепях, складывающихся в шпильчатые структуры за счет внутренней самокомплементарности их коротких участков, в свою очередь укладываемых в компактную структуру за счет межшпильчатых взаимодействий, были впоследствии многократно подтверждены в различных лабораториях мира. Эти представления оказались универсальными для всех классов РНК и стали основой понимания принципов пространственной организации таких макромолекул. Существенный вклад лаборатория А.С. Спирина внесла также в формирование представлений о третичной структуре РНК как весьма конформационно подвижном уровне ее пространственной структуры. Этот цикл работ лег в основу докторской диссертации А.С. Спирина (МГУ, 1963 г.).

В 1963 г. А.С. Спирин возглавил лабораторию химии и биохимии нуклеиновых кислот в Институте биохимии им. А.Н. Баха АН СССР, которой до этого руководил А.Н. Белозерский. Дальнейшие исследования А.С. Спирина в этой лаборатории развивались по двум основным направлениям: 1) исследования принципов структурной организации бактериальных рибосом, которые позднее сомкнулись с исследованием механизмов функционирования

рибосом в биосинтезе белков; 2) исследования рибонуклеопротеидной организации мРНК эукариот.

Исследования по второму научному направлению привели к открытию нового, ранее неизвестного, класса рибонуклеопротеидных частиц, для обозначения которых был предложен термин "информосомы". Целью работы была проверка предположения о периодичности морфогенетической функции ядер в раннем эмбриональном развитии животных, которое было высказано А.А. Нейфахом, исходя из результатов его работ по действию ионизирующей радиации на развитие зародышей (1959-1963 гг.). А.А. Нейфах обнаружил, что при облучении гамет или зародышей строго подобранными дозами рентгеновских лучей, поражающих уникальные структуры клеточного ядра (ДНК), развитие еще некоторое время продолжается, а затем останавливается. Кроме того, оказалось, что в раннем эмбриогенезе есть периоды времени, в которые чем позже проводится облучение, тем дальше идет развитие. Эти периоды, названные периодами морфогенетической функции ядер, чередуются с периодами отсутствия морфогенетической функции ядер, в пределах которых время облучения не влияет на время остановки развития. На языке молекулярных биологов это должно означать существование периодичности в синтезе мРНК. Это положение было экспериментально проверено А.С. Спириным и сотрудниками в опытах на развивающихся зародышах вьюна. Однако никакой периодичности синтеза мРНК в раннем эмбриогенезе вьюна, включая гастрюляцию, обнаружено не было. Но было замечено, что вновь синтезированная мРНК не связывалась с рибосомами, т.е. не программировала их на синтез белков. Эта мРНК седиментировала при центрифугировании в градиенте сахарозы медленнее рибосом, но в 2-3 раза быстрее, чем выделенная мРНК. Ряд данных свидетельствовал о том, что эта мРНК связана с белком или белками. Специально разработанный метод центрифугирования обнаруженных мРНК-белковых комплексов в градиенте плотности CsCl после их фиксации формальдегидом позволил определить их состав. Оказалось, что эти частицы весьма однородны по соотношению РНК/белок и состоят на 25% из мРНК и на 75% из белков. Содержание белков в этих частицах оказалось существенно выше, чем в рибосомах, где белки составляют около 50%. Несмотря на это, мРНК в составе частиц очень чувствительна к эндорибонуклеазам, что свидетельствует об ее поверхностном расположении. Эти частицы были названы информосомами, а позднее матричными рибонуклеопротеидными частицами (мРНП). Хотя описанные опыты не подтвердили первоначального предположения о периодичности синтеза мРНК в раннем эмбриогенезе, тем не менее они позволили объяснить периодичность морфогенетической функции ядер периодичностью программирования рибосом заранее синтезированной и запасенной мРНК. Для обозначения запасенной в информосомах мРНК был предложен термин "маскированная" мРНК. Белки мРНП обеспечивают длительное хранение интактной мРНК и делают ее недоступной для использования рибосомами в качестве матрицы для синтеза белков.

В последующих работах А.С. Спирина и сотрудников, а также в работах других авторов показано, что некоторая часть мРНК присутствует в форме информосом не только на ранних стадиях развития, но и во всех исследованных клетках взрослого организма. Вирусные РНК внутри клетки также могут находиться в составе частиц с физико-химическими свойствами информосом. Результаты цикла этих исследований отмечены медалью Кребса Федерации европейских биохимических обществ в 1969 г. После открытия информосом в цитоплазме зародышей рыб сходные по свойствам частицы были обнаружены Г.П. Георгиевым и сотрудниками в ядрах клеток млекопитающих. Эти частицы содержали гетерогенную ядерную РНК, представленную предшественниками мРНК. В ряде зарубежных лабораторий показано, что транслируемая мРНК, связанная с рибосомами, также имеет рибонуклеопротеидную организацию и транслируемые мРНП сходны со свободными информосомами по своим физико-химическим свойствам. В результате этих работ стало очевидно, что вся мРНК цитоплазмы, а также ее ядерные предшественники упакованы в РНП с очень близкими свойствами и что информосомы это универсальная форма существования мРНК в эукариотических клетках.

В дальнейшем стало очевидно, что частицы разной клеточной локализации содержат различный набор основных структурных белков. Помимо универсальных структурных

белков мРНК в информосомах ассоциирована со специфическими белками, определяющими активность мРНК в белковом синтезе, их внутриклеточную локализацию, а также время их жизни и момент распада в клетке.

За открытие мРНК-содержащих рибонуклеопротеидных частиц цитоплазмы и ядра присуждена Ленинская премия (1976 г.).

В 1968 г. А.С. Спириным и сотрудниками в цитоплазме ряда клеток обнаружены свободные белки информосом, которые легко взаимодействовали с РНК *in vitro* с образованием РНП частиц с характеристиками информосом. Для исследования свойств этих белков был разработан достаточно простой метод обнаружения белков со сродством к РНК в клеточных лизатах, основанный на сорбции экзогенной радиоактивной РНК на нитроцеллюлозных фильтрах в присутствии РНК-связывающего белка в виде РНП. Свободная РНК на фильтре не задерживается. Позже выяснилось, что этот метод выявляет не только свободные белки информосом, но и довольно большой класс клеточных белков со сродством к РНК (РНК-связывающие белки). Удивительным оказалось то, что все эти белки находились в составе мультимерных комплексов и легко отделялись от основной массы клеточных белков при седиментации или гель-фильтрации. Позже совокупность РНК-связывающих белков удалось полностью отделить от других клеточных белков методом аффинной хроматографии на иммобилизованной РНК.

Функциональные исследования показали, что в препарате РНК-связывающих белков содержатся практически все белки аппарата трансляции факторы инициации и элонгации белкового синтеза и полный набор аминоксил-тРНК-синтетаз. Эти результаты позволили А.С. Спирину предположить, что сродство белков эукариотического аппарата трансляции к РНК есть их эволюционное приобретение, которое служит для компартиментализации таких белков в большом объеме эукариотической клетки в местах функционирования. За счет такой компартиментализации достигается высокая скорость белкового синтеза у эукариот, сравнимая со скоростью белкового синтеза у бактерий, несмотря на сравнительно низкую среднюю концентрацию компонентов белок-синтезирующего аппарата в эукариотической клетке. Опыты, направленные на проверку этой гипотезы, действительно показали, что такое неспецифическое сродство белков эукариотического аппарата трансляции к РНК приобретено эукариотами и не свойственно многим прокариотическим функциональным аналогам (факторам элонгации, аминоксил-тРНК-синтезам). Это сродство возникло в результате добавления к белкам в процессе эволюции специальных доменов, богатых положительно заряженными аминокислотными остатками. Благодаря своему неспецифическому сродству к РНК белки эукариотического аппарата трансляции находятся в лабильном комплексе с полирибосомами, что было подтверждено экспериментально. Сродство эукариотических белков аппарата трансляции к РНК и их лабильная ассоциация с полирибосомами может теряться в результате ковалентных модификаций белков (фосфорилирования, АДФ-рибозилирования). Эти результаты позволили сформулировать новый принцип регуляции белкового синтеза у эукариот регуляции за счет изменения степени компартиментализации компонентов аппарата трансляции в большом объеме эукариотической клетки.

Исследования ковалентных модификаций белков аппарата трансляции привели к открытию в 1988 г. фосфорилирования фактора элонгации eEF2, которое катализировала высокоспецифичная  $Ca^{2+}$ /кальмодулин-зависимая протеинкиназа, названная позже eEF2 киназой. Фосфорилирование eEF2 приводило к полному выключению белкового синтеза на стадии элонгации. Последующие исследования в лаборатории А.С. Спирина показали, что степень фосфорилирования eEF2 этим ферментом значительно изменяется в ходе оогенеза амфибий. В другой лаборатории было также показано, что eEF2 *сильно* фосфорилируется на очень короткое время при индукции дифференцировки нервных клеток под действием фактора роста нервов. Предполагают, что кратковременная остановка белкового синтеза на стадии элонгации может способствовать переключению генов в процессе клеточной дифференцировки.

Вернемся к рибосомам, которые уже больше 40 лет приковывают внимание А.С. Спирина. На этом длинном пути, богатом важными событиями, (см. таблицу, на с. 30), одним

из первых было открытие А.С. Спириным и сотрудниками конформационной подвижности рибосом (в частности, их разворачивания при понижении концентрации ионов магния и их сворачивания в нативную компактную структуру при возвращении к исходному ионному составу раствора). При этом выяснилось, что подвижность структуры рибосомы определяется ее рРНК, на которой рибосомные белки закреплены как на каркасе. Несколькими годами позже идею конформационной подвижности рибосомы А.С. Спирин положил в основу своей гипотезы, описывающей глобальный механизм ее работы (гипотеза "смыкания и размыкания субчастиц рибосом").

В лаборатории А.С. Спирина было также обнаружено, что определенные группы белков могут быть избирательно удалены из рибосомы, причем этот процесс оказался обратимым. Иными словами, была показана принципиальная способность рибосом к реконструкции из РНК и белков *in vitro*. Эта способность рибосомы к самосборке, впервые обнаруженная А.С. Спириным (1963-1966 гг.), была затем детально изучена М. Номурой, и феномен самосборки рибосом был впоследствии широко использован в многочисленных структурно-функциональных исследованиях.

Вообще многие представления о рибосомах, сформулированные А.С. Спириным еще на начальном этапе их изучения, намного опередили свое время. Так, концепция, согласно которой "рибосома есть прежде всего ее РНК", развиваемая А.С. Спириным и его школой еще с середины 60-х годов, стала общепринятой в рибосомологии лишь в 80-е годы. Причем произошло это в значительной степени благодаря работам спиринской лаборатории в 1977-1984 гг., в которых было показано, что в определенных ("компактизирующих") условиях свободные от белка рибосомные РНК по форме и размерам мало отличаются от полноценных субчастиц рибосом. Связывание небольшого числа рибосомных белков с рРНК делало образующиеся РНП морфологически неотличимыми от рибосомных субчастиц. Позднее выяснилось, что все функциональные центры рибосомы состоят из элементов макромолекул рРНК. Более того, рентгеноструктурный анализ рибосомы недавно показал, что ее пептидилтрансферазный центр состоит только из рРНК, и таким образом, рибосомы фактически функционируют как рибозимы.

Несмотря на то, что в последующие годы главным для А.С. Спирина и его сотрудников стало изучение механизма работы рибосомы, они никогда не прекращали исследований по структурной организации рибосом. А.С. Спирин руководил работами по изучению конформации рибосомных белков, которое показало глобулярную структуру этих белков. (Это, как мы теперь знаем, совершенно правильное заключение тогда шло вразрез с общепринятым представлением о чрезвычайно асимметричной пространственной структуре белков рибосомы.) А.С. Спирин всячески поддерживал и стимулировал работы по кристаллизации рибосом, и в Институте белка РАН в г. Пущино были получены первые пригодные для рентгеноструктурного анализа кристаллы рибосом. (К сожалению, по сугубо экономическим причинам, эти работы у нас были приостановлены и *недавно они был и завершены* в Англии, Германии и США.)

Структурной организации рибосом посвящен и сравнительно недавний цикл исследований по бомбардировке биополимеров (и рибосом в частности) горячими атомами трития. Этот оригинальный экспериментальный подход, впервые предложенный А.В. Шишковым и В.И. Гольданским и получивший название тритиевой планиграфии, основывается на взаимодействии атомизированного трития с биологическими макромолекулами, что приводит к замещению атомов водорода на тритий в поверхностном слое макромолекулы. Таким образом, части молекулы, представленные на ее поверхности, или компоненты, находящиеся на поверхности макромолекулярных комплексов, становятся мечеными радиоактивным тритием. Такие характеристики метода тритиевой бомбардировки, как малая глубина проникновения атомарного трития в глубь молекулы (составляющая всего несколько ангстрем), а также одинаковое мечение аминокислотных остатков при условии их равной пространственной доступности, сделали тритиевую планиграфию прямым методом измерения экспонированности белков на поверхности макромолекулярных комплексов. Оказалось, что этот метод применим для исследования рибосомы: были найдены условия тритиевого мечения, не повреждающие ни один из

компонентов рибосомы (1982 г.). Это не только дало возможность определить расположенные на поверхности рибосом экспонированные белки (1988 г.), но также прямо измерить степень экспонированности всех белков рибосомы (1997 г.) и получить точные количественные данные, что позволило прояснить ряд спорных вопросов по структуре рибосомы. Выявлено, что поверхность *межсубъединичного контакта организована* рРНК и не содержит белков. Этот вывод недавно подтвержден результатами рентгеноструктурного анализа. Использование метода тритиевой бомбардировки А.С. Спириным и сотрудниками привело также к обнаружению и идентификации ассоциированного с рибосомой белка, названного белком Y и являющегося белком ответа бактериальных клеток на условия стресса. Этот новый белок, ингибирующий трансляцию на стадии элонгации, пока первый и единственный пример шокового белка, непосредственно взаимодействующего с транслирующей рибосомой и останавливающего биосинтез белков для последующей адаптации клеток к стрессу. За цикл работ по тритиевой планиграфии В.И. Гольданский, А.С. Спирин и их сотрудники удостоены Государственной премии РФ 2000 г.

С конца 60-х годов А.С. Спириным и его сотрудниками был получен целый ряд очень важных результатов, относящихся к механизму работы рибосомы. Отметим здесь ставшие уже классическими работы, в которых доказано, что перемещение по рибосоме матрицы и тРНК (процесс транслокации) определяется компонентами только самой рибосомы. Эти выводы были сделаны благодаря разработанной в лаборатории А.С. Спирина стабильно функционирующей бесфакторной системе трансляции, а также системам трансляции, для которых необходим только один из двух факторов элонгации трансляции. Результаты исследований, полученные на таких системах, позволили заключить, что факторы элонгации и вызываемый ими гидролиз ГТФ повышают "работоспособность" рибосомы, значительно ускоряют ее работу, а также позволяют преодолевать помехи при трансляции мРНК (например, расплетая вторичную структуру мРНК). Роль ГТФ, согласно разработанной концепции, сводится к приданию факторам сродства к рибосоме, а гидролиз ГТФ приводит к полному освобождению факторов с рибосомы в нужный момент времени. Пониженный уровень ошибок при включении аминокислот в белок в медленно работающей бесфакторной системе трансляции, обнаруженный в лаборатории А.С. Спирина, способствовал упрочению кинетической теории коррекции при трансляции. Синтез белков в бесклеточных системах без факторов и ГТФ позволил высказать предположения о возможных путях эволюции белок-синтезирующего аппарата. Функциональное значение факторов трансляции в белковом синтезе удалось полностью подтвердить в так называемой твердофазной системе белкового синтеза с иммобилизованной матрицей, также разработанной в лаборатории А.С. Спирина. В этой системе без использования ингибиторов трансляции удалось синхронно переводить рибосомы из одного функционального состояния в другое. Более того, пропуская через колонку с иммобилизованными на мРНК рибосомами отдельные факторы трансляции с негидролизуемыми аналогами ГТФ и последующей их отмывкой, удалось воспроизвести все стадии цикла работы рибосомы. Наконец, следуя по пути дальнейшего упрощения бесклеточных систем трансляции, А.С. Спирин и сотрудники показали возможность включения некоторых аминокислот в белок в отсутствие мРНК. За исследование структуры и функции рибосом А.С. Спирин и другие отечественные исследователи были удостоены Государственной премии СССР в 1986 г.

Дальнейшая работа с бесклеточными системами трансляции в лаборатории А.С. Спирина привела к созданию нескольких вариантов проточных бесклеточных систем синтеза полипептидов и белков. Такие системы позволяют синтезировать белки и пептиды в значительных количествах без использования клеток для получения целевого продукта. Фактически исследователи, прибегающие к этому методу получения белков, используют упрощенную модель живой клетки, где клеточные компоненты, необходимые для синтеза целевого белка (но не других клеточных белков!), заключены в полупроницаемую мембрану. Сквозь эту мембрану непрерывным потоком поступают аминокислоты и макроэргические соединения, АТФ и ГТФ, необходимые для синтеза, а продукты выводятся из реакционной смеси. Этот биотехнологический подход оказался особенно перспективным в тех случаях, когда белок в клетке неустойчив и поэтому не может быть получен методами традиционной

генетической инженерии или когда белок токсичен для живых клеток. Особое значение предложенный А.С. Спириным метод приобрел в последнее время в связи с широким применением ЯМР-спектроскопии для установления пространственной структуры белков. ЯМР-спектроскопия требует введения в состав белков атомов стабильных изотопов с нечетным спином ядер. Получение таких производных белков обычными методами, связанными с ферментацией и последующим выделением и очисткой белков, чрезвычайно дорого. Метод проточного синтеза в бесклеточной системе трансляции внес фундаментальные изменения в эту технологию, позволив проводить синтез в минимальном объеме, утилизировать неизрасходованные аминокислоты с изотопными замещениями и получать на выходе желаемый белок достаточно высокой степени чистоты. Технология бесклеточного синтеза в протоке, стремительно развивающаяся и входящая в практику ведущих лабораторий во всем мире, способна революционизировать всю биотехнологию, включая не только исследовательские, но и промышленные ее приложения.

Важнейшим событием в жизни А.С. Спирина стала организация в 1967 г. в г. Пущино академического Института белка, которым Александр Сергеевич руководит со дня его создания. В основу организации Института были положены принципы, существенно отличавшиеся от того, что было популярно в то время в мире. В Институте одновременно было создано три главных направления физическое, химическое и биохимическое, объединенные общей идеей изучения белка как функционального биополимера и биосинтеза белков с использованием всей совокупности методов исследования, которые могли предложить физики, химики и биологи. Этот интегральный подход, как показало время, полностью себя оправдал были получены результаты мирового класса, а Институт белка стал одним из наиболее известных мировых центров исследования структуры и биосинтеза белков. Одной из наиболее интересных работ последнего десятилетия стали исследования сворачивания белков в биохимически активную трехмерную структуру в ходе их биосинтеза, так называемое котрансляционное сворачивание. Идея о котрансляционном сворачивании, выдвинутая разными исследователями более 40 лет тому назад, получила свое теоретическое обоснование и дальнейшее развитие в 1985 г. в лаборатории А.С. Спирина, где впервые было получено ее строгое экспериментальное подтверждение (1994 г.). Для этого был разработан и применен оригинальный экспериментальный подход, позволяющий непрерывно и без задержки измерять и фиксировать энзиматическую активность белка, синтезируемого в бесклеточной системе трансляции. На примере люциферазы из светлячков показано, что синтезируемый белок приобретает энзиматическую активность непосредственно при выходе из рибосомы, не требуя дополнительного времени для посттрансляционного, послерибосомного сворачивания. Это означало, что синтезируемая полипептидная цепь приобретала структуру активного белка прямо на рибосоме по мере наращивания цепи. Показано также, что приобретение структуры активного фермента может не только начинаться и происходить на рибосоме, но и завершаться до освобождения белка из рибосомы. Для получения такого результата, подтвержденного впоследствии в других лабораториях, С-конец полипептидной цепи необходимо удлинить дополнительными аминокислотными остатками. В настоящее время коцепция котрансляционного сворачивания новосинтезированных белков становится общепринятой, и огромная заслуга в этом принадлежит лаборатории А.С. Спирина.

Большими событиями для ученых, занимающихся биосинтезом белков, стали книги А.С. Спирина, начиная от небольшой, но в то время очень важной монографии о макромолекулярной структуре рибонуклеиновых кислот (1963 г.) вплоть до последнего фундаментального труда, посвященного рибосоме (2000 г.). Для всех книг и многочисленных обзоров А.С. Спирина характерны отточенность стиля, ясность изложения, безупречная логика, оригинальность взгляда на проблему, четкость формулировок, критическая и глубокая оценка всех имеющихся к моменту написания фактов. Студенты и аспиранты не только России, но и всего научного мира пользуются ими как незаменимыми учебными пособиями.

Авторы этого очерка не только работают над проблемами белкового синтеза, но их судьба сложилась таким образом, что в течение нескольких десятилетий они имели

возможность постоянно общаться с Александром Сергеевичем, слушать его доклады и лекции не только в России, но и за ее пределами, постоянно быть в курсе того, что происходило в лаборатории А.С. Спирина. Это дает нам право поделиться с читателями нашими впечатлениями.

Прежде всего следует подчеркнуть, что А.С. Спирин был в СССР первым ученым, кто начал экспериментально работать в отечественной молекулярной биологии, которой в СССР не существовало в то время, а в мире только возникали первые лаборатории молекулярно-биологического профиля. Предсказание мРНК (1957 г.) было первым выдающимся достижением зарождавшейся отечественной молекулярной биологии. Научный мир узнал о существовании в СССР молекулярной биологии именно после этого открытия. Его психологическое воздействие было огромно, так как оно показало возможность не только работать в этой тогда сверхновой области науки, но и добиваться в ней результатов, признаваемых мировой наукой.

В 60-е годы многочисленные публичные выступления А.С. Спирина в самых разных аудиториях, глубокие по содержанию, блестящие по форме, доступные широкому кругу биологов, сыграли огромную роль в привлечении научной молодежи в эту новую науку. С начала 60-х годов и по сей день Александр Сергеевич читает лекции на биологическом факультете МГУ, где он заведует кафедрой молекулярной биологии с 1973 г., и не поддается исчислению, сколько молодых людей пошли в молекулярную биологию (а многие из них сейчас вносят фундаментальный вклад в эту науку не только в России, но и вне ее) именно под прямым воздействием этих лекций. Ораторский дар и полемический темперамент А.С. Спирина известен во всем мире.

А.С. Спирин создал школу молекулярных биологов, к которой принадлежат не только сотрудники его лаборатории, кафедры, Института белка. Его воздействие и влияние на исследователей всегда были шире, чем на ближайший к нему круг учеников и сотрудников. Нам кажется, что школу Спирина отличают в первую очередь исключительная тщательность, добросовестность, надежность эксперимента, культ безусловно выполненных и однозначно интерпретируемых опытов, уважение к простой и изящной постановке опыта, умение и желание непрерывно совершенствовать методическую основу работы, создавая, если того требует логика исследования, новые оригинальные методы. Сам Александр Сергеевич, создавая или предлагая новые методы, никогда не делал этого ради самого метода. Эти новации были всегда вызваны или требованиями научной ситуации (это можно проследить от усовершенствования анализа нуклеотидного состава ДНК и РНК вплоть до изучения поверхности биополимеров и частиц с помощью тритиевой "бомбардировки"), или потребностями практики (достаточно назвать системы бесклеточного синтеза белков).

Именно предельная тщательность, надежность, продуманность постановки эксперимента приводили к очень большой точности, малой величине отклонений и позволили А.С. Спирина сделать многие открытия. Здесь в первую очередь можно назвать предсказание мРНК и обнаружение информосом.

Важной чертой самого Спирина и его школы является умение анализировать результаты. Надежность полученных данных позволяла А.С. Спирина, отталкиваясь от них, доверяя им, предлагать неожиданное и очень смелое толкование результатов, на которое другой исследователь мог бы просто не решиться. Примеров много это и упоминавшиеся мРНК, и информосомы, и бесфакторный синтез полипептидов и белков, и "разворачивание" рибосомы.

Как нам кажется, после этой первой особенности школы Спирина, которую условно и кратко можно было бы определить как "культ безупречного опыта и его однозначной интерпретации", следовало бы назвать и доброжелательность "спиринцев" по отношению к своим коллегам, готовность помочь, поделиться опытом и знаниями, своими методиками и препаратами. Это качество "школьников" Спирина неотделимо от их уважения к науке, от их преданности самому процессу научного творчества. Школу Спирина можно "опознать" по тому, с каким удовольствием и заинтересованностью люди говорят "просто о науке", а не рекламируют собственные достижения.



**Основные направления научной деятельности А.С. Спирина (1956-2000)  
и полученные результаты отражены в данной таблице:**

Период	Содержание работы и полученные результаты
1956-1958	Усовершенствование методов количественного анализа нуклеотидного состава ДНК и РНК и его систематическое приложение к широкому набору видов, приведшее к обнаружению ДНКподобной РНК, позже получившей название информационной или матричной РНК (мРНК). Совместно с А.Н. Белозерским.
1959-19963	Разработка метода выделения интактных выделенных сокомолекулярных РНК (рибосомных и вирусных), исследование их физико-химических свойств, приведшее к формулированию основных принципов макромолекулярной структуры РНК (короткие двуспиральные участки как основа вторичной структуры и их компактная укладка в специфическую конформационно подвижную третичную структуру).
1963-1966	Открытие разворачивания рибосомных субчастиц и формулирование на этой основе главного принципа строения рибосомы рибосомные РНК формируют ковалентно-непрерывный "скелет", на котором располагаются рибосомные белки. Первые опыты по реконструкции рибосомных субчастиц <i>in vitro</i> .
1964-1969	Открытие информосом (мРНК-содержащих рибонуклеопротеидных частиц, мРНП) в цитоплазме эукариотических клеток и формулирование теории "маскированной" мРНК.
1969-1987	Экспериментальное обнаружение подвижности рибосом при трансляции, в том числе при транслокации, и теория этого явления.
1974-1982	Обнаружение способности рибосом к бесфакторному ("неэнзиматическому") синтезу полипептидов и разработка соответствующей бесклеточной системы синтеза белков и пептидов в отсутствие факторов трансляции и ГТФ.
1975-1979	Разработка твердофазной системы трансляции с использованием иммобилизованной матрицы.
1976-1978	Выяснение каталитической роли поглощения энергии ГТФ в функциях рибосом. Доказательства достаточности рибосомы как таковой для выполнения ее основных функций.
1981	Безматричная рибосомная система элонгации.
1978-1986	Выяснение некоторых фундаментальных черт строения рибосомы, в том числе компактной глобулярной структуры рибосомных белков, самосворачивания рРНК, внешнее расположение белков по отношению к рРНК.
1988-1992	Открытие фосфорилирования фактора элонгации белкового синтеза EF-2 и его роли в регуляции белкового синтеза у эукариот.
1988-1995	Разработка нового типа бесклеточного препаративного синтеза белков и пептидов <i>in vitro</i> , основанного на непрерывной проточной системе (CFCF) с использованием трансляции, транскрипции/трансляции и репликации/трансляции.
1989-1991	Разработка эукариотической транскрипционно-трансляционной бесклеточной системы с использованием РНК-полимераз бактериофагов.
1993-1997	Прямые экспериментальные доказательства котрансляционного сворачивания глобулярных белков на примере глобина и люциферазы.
1984-2000	Разработка нового метода анализа поверхности биополимеров и их комплексов и его применение к рибосомам и рибосомным субчастицам. Совместно с В.И. Гольданским

По-видимому, главные особенности А.С. Спирина как ученого умение выбрать наиболее перспективное направление (то, что теперь мы называем "горячими точками"), способность предельно на нем сконцентрироваться, предельно жесткая требовательность к чистоте опыта, использование всего арсенала методов (не только биохимических, но и физических, порой трудно доступных), необходимых для достижения цели, умение из большого разнообразия полученных данных выбрать главное и, наконец, способность отстаивать свою точку зрения, не взирая на авторитеты.

Как известно, молекулярная биология родилась весной 1953 г. Однако самостоятельной наукой молекулярная биология стала в середине 60-х годов, когда были идентифицированы все основные участники процессов передачи наследственной информации от ДНК белкам и установлены взаимоотношения между ними. В эти годы Александром Сергеевичем Спириным совместно с его учителем А.Н. Белозерским были заложены основы геносистематики и предсказано существование информационных РНК, одновременно и независимо от американских исследователей Ж. Фреско и П. Доти сформулированы общие принципы организации макромолекулярной структуры РНК, открыты информосомы, научно обоснована принципиальная возможность самосборки рибосом *in vitro* и показано, что рибосомные РНК выполняют в рибосоме роль структурного каркаса, определяющего их конформационную подвижность. Таким образом, А.С. Спирин, несомненно, относится к основоположникам современной мировой молекулярной биологии.

Следует отдать должное и напомнить об огромной научно-организационной деятельности А.С. Спирина не только как организатора и директора Института белка РАН, но и как председателя Президиума Пущинского научного центра (1990-1998 гг.), члена Президиума РАН (с 1988 по настоящее время) и заведующего кафедрой молекулярной биологии МГУ (с 1973 г. по настоящее время). Неутомимая деятельность А.С. Спирина на всех этих постах значительно укрепила авторитет отечественной молекулярной (и, более широко, физико-химической) биологии в нашей стране, в Академии наук, способствовала развитию крупнейшего биологического центра в г. Пущино, созданию первой в стране системы подготовки специалистов в области молекулярной биологии в высшей школе. Огромное число таких биологов, работающих в России и за ее пределами, имеющих признание своих коллег и высокую научную репутацию выпускники кафедры А.С. Спирина.

Мы не приводим здесь длинный и выразительный список наград, почетных званий А.С. Спирина, членства в международных организациях, редколлегиях журналов и ограничиваемся лишь напоминанием о том, что он охватывает и Европу и США и объективно свидетельствует о широком и безусловном признании роли А.С. Спирина в мировой науке.

Академик РАН А.А. Богданов,  
Академик РАН Л.П. Овчинников