

THE HISTORY OF BIOCHEMISTRY

УДК 577.112+577.15

doi: <https://doi.org/10.15407/ubj92.04.127>

ВНЕСОК ЛАУРЕАТИВ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ В ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРИ ПРОТЕЇНІВ: Дж. САМНЕР, Дж. НОРТРОП, У. СТЕНЛІ, Л. ПОЛІНГ, Ф. СЕНГЕР, М. ПЕРУЦ, Дж. КЕНДРЮ

В. М. ДАНИЛОВА, Р. П. ВІНОГРАДОВА, С. В. КОМІСАРЕНКО

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України
e-mail: valdan@biochem.kiev.ua

Отримано: 11 березня 2020; Затверджено: 15 травня 2020

Друга половина ХХ століття ознаменувалася епохальними відкриттями в галузі хімії та біохімії протеїнів, зокрема у встановленні структури протеїнів. Нобелівські лауреати з хімії за 1946 р. Джеймс Самнер, Джон Нортроп і Венделл Стенлі першими виділили у чистому кристалічному стані окремі ензими і віруси і довели їхню протеїнову природу, зробивши тим самим неоціненний науковий внесок у розвиток таких важливих біологічних дисциплін, як біохімія, особливо ензимологія, вірусологія та молекулярна біологія. Величезний внесок у з'ясування хімічних зв'язків, завдяки яким утворюється вторинна структура та інші рівні організації протеїнів, зробив видатний хімік ХХ ст. кристалограф, американський вчений Лайнус Полінг. Він одержав Нобелівську премію з хімії в 1954 р. «за дослідження природи хімічного зв'язку і його використання для встановлення структури складних сполук». Біохіміки його добре знають як автора вторинної будови протеїнів – α -спіралі і β -структури. А Фредерік Сенгер – двічі лауреат Нобелівської премії (1958 і 1980 рр.) був першим серед дослідників, хто визначив первинну амінокислотну послідовність протеїну, зокрема двох поліпептидних ланцюгів А та В інсуліну. Ф. Сенгер довів, що впорядкованість структури протеїну має аналогію з послідовністю генів у ДНК, і тому вона має бути підпорядкована таким самим закономірностям. Складне питання, яким чином протеїнова молекула розміщується в просторі, змогли вирішити англійські біохіміки Макс Ф. Перуц (Перутц) і Джон К. Кендрю, які рентгеноструктурним методом встановили будову протеїнів – гемоглобіну і міоглобіну – в просторі і яким в 1962 р. було присуджено Нобелівську премію з хімії «за дослідження структури глобулярних протеїнів».

Ключові слова: Дж. Самнер, Дж. Нортроп, У. Стенлі, Л. Полінг, Ф. Сенгер, М. Перуц, Дж. Кендрю, протеїни, структура, уреаз, пепсин, трипсин, вірус тютюнової мозаїки, α -спіраль, β -структура, інсулін, гемоглобін, міоглобін.

З усіх органічних речовин, які входять до складу живих організмів, найскладнішими за своєю хімічною будовою є *протеїни* (білки). Вони зустрічаються всюди, де має місце прояв життя (в тваринах, рослинах, мікроорганізмах, вірусах) і складають 50% сухої речовини клітин. Всього в різних видах організмів в біо-

сфері Землі знаходиться 1010–1012 різних протеїнів.

З хімічної точки зору *протеїни* – це *біополімери*, які складаються з різних *амінокислот* і які належать до особливо реактивних речовин. Вони легко реагують між собою, взаємодіють з ліпідами, вуглеводами, нуклеїновими кислота-

ми, утворюючи численні комплекси, з яких побудовані клітини живих організмів і віруси. Подібна хімічна реактивність протеїнів визначає багато їхніх біологічних властивостей і функцій в організмі. В першу чергу, всі біологічні катализатори, тобто ензими, є протеїнами, і саме протеїнова частина ензимів визначає специфічність і швидкість їх дії. Вони беруть участь у транспортуванні катіонів і аніонів крізь біологічні мембрани, в передаванні сигналів від одних клітин до інших, у захисних реакціях організму (імуноглобуліни), в регуляції метаболізму (гормони), в процесах скорочення м'язів і руху; деякі протеїни виконують структурну або механічну функцію, утворюючи цитоскелет.

Структура протеїнів живих клітин ускладнюється пропорційно до ступеня складності геному та етапу еволюційного розвитку організму.

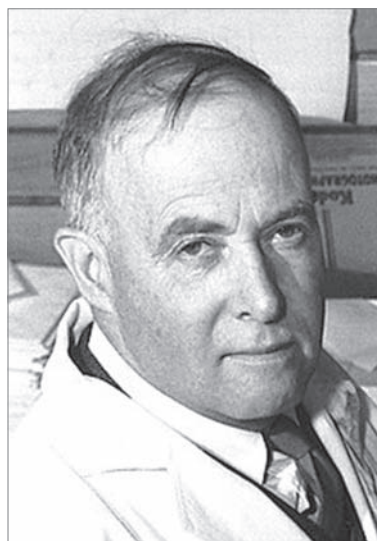
Один із найскладніших розділів біологічної хімії та молекулярної біології – хімія протеїнів (білків) – довго залишався до кінця не дослідженим, хоча цією проблемою дослідники цікавились давно. Перша гіпотеза стосовно будови протеїнів належить нідерландському хіміку і лікарю Г. Мюльдеру (нід. *Gerardus Johannes Mulder*), який в 1836–1838 рр. на основі теорії радикалів сформулював поняття про мінімальну структурну одиницю, що входить до складу всіх білків. Цю одиницю разом зі співробітником Я. Берцеліусом (швед. *Jöns Jakob Berzelius*) він назвав «протеїном» від грецької *protos*, що означає первинний, тобто сполукою, що є «первинною субстанцією», початком багатьох інших сполук. Концепція Г.Й. Мюльдера виявилась хибною, але термін «протеїни» в науковій літературі залишився. Термін «білки» з'явився значно раніше; прийнято вважати, що його запропонував французький фізіолог Ф. Кене в 1747 р. для позначення всіх рідин тваринного організму, які за нагрівання випадали в осад (згортались) за аналогією з яєчним білком (*albumineise*). Вперше цей термін з'явився в 1751 р. в «Енциклопедії» Д. Дідро і Ж. Д'Аламбера. Обидва терміни не відповідають сучасному уявленню про структуру, роль і значення протеїнів (білків), але ними до цього часу користуються науковці всього світу, – найчастіше терміном «протеїни». Будову протеїнів досліджували відомі хіміки і біохіміки багатьох країн – це і О. Я. Данилевський, і Е. Фішер, і А. Коссель та багато інших. У кінці XIX і на початку XX ст. склалось уявлення

про те, що протеїни – це біополімери, тобто високомолекулярні сполуки, які складаються з амінокислот, з'єднаних між собою кислотнo-амідними (пептидними) зв'язками. Значним досягненням в галузі хімії протеїнів були роботи нобелівського лауреата з хімії за 1902 р. Еміля Фішера, який синтезував понад 125 пептидів [1]. Але те, яким чином поліпептидний ланцюг розміщується в просторі і завдяки яким зв'язкам, залишалось нез'ясованим до середини XX ст. На той час, відкритим залишалось і питання структури ензимів, хоча з їх дією людина була знайома здавна, оскільки широко використовувала їх у житті. Над цими питаннями працювало багато дослідників у різних країнах світу, але значних результатів не було досягнуто.

Величезним внеском в розвиток хімії протеїнів були, в першу чергу, роботи Д. Самнера, Д. Нортрона і У. Стенлі, які отримали кристали ензимів і вірусів і встановили їхню протеїнову природу, за що в 1946 р. одержали Нобелівську премію з хімії з таким формулюванням: «за відкриття явища кристалізації ензимів» («for his discovery that enzymes can be crystallized»). Отже, про кожного з цих видатних науковців йдеться нижче.

Джеймс Самнер

Самнер Джеймс Бетчеллер (англ. *Sumner James Batcheller*) народився 19.11.1887 р. в Кантоні (штат Массачусетс, США), недалеко від Бостона в родині Елізабет Ренд (Келлі) і Чарльза Самнера, успішного фермера і хазяїна бавовно-



Джеймс Самнер (1887–1955)

прядильної фабрики. Для США кінця XIX ст. належати до родини, яка емігрувала до Бостона ще в 1636 р., було почесно. Закінчивши початкову школу, Джеймс перейшов до латинської школи Роксбері, де зацікавився такими науковими предметами, як хімія та фізика.

Коли Джеймсу виповнилось 17 років, з ним стався нещасний випадок, який міг би поставити хрест на його кар'єрі експериментатора. На полюванні його приятель випадково прострелив ліву «робочу» руку Джеймса, який був шульгою. Кисть руки довелось ампутувати, але такі риси його характеру, як завзятість, наполегливість і, навіть, упертість стали вирішальними в його подальшій роботі. Він настільки добре навчився володіти правою рукою, що не тільки писав, але й грав у теніс, більярд, стріляв із рушниці.

Спочатку молодий Дж. Самнер вирішив стати інженером-електриком і в 1906 р., коли йому виповнилось 19 років, вступив до Гарвардського університету, але швидко зрозумів, що йому подобається хімія. У 1910 р. він вже став бакалавром наук з хімії. Закінчивши один з провідних університетів США, Дж. Самнер спочатку зайнявся родинним бізнесом, працюючи по десять годин на день на фабриці свого дядька «Sumner Knitted Padding Company». Як він пізніше згадував, це була настільки «брудна і нецікава робота», що він від неї втік, і, хоча ніколи не цікавився викладацькою діяльністю, прийняв пропозицію тимчасово зайняти посаду професора з хімії аж у Канаді в Еллісон-коледжі Санквілла, штат Нью-Брансвік.

На свій подив, Дж. Самнер зрозумів, що має задоволення від «книжкового життя» (про експерименти мови не було), і після закінчення строку договору в коледжі він ще недовго працював викладачем в Уорчестерському політехнічному інституті в Массачусетсі. Але в 1912 р. Дж. Самнер повернувся до Гарварду з метою поглибити свої знання з хімії та фізіології. Йому дуже пощастило з вчителем, бо в медичній школі Гарвардського університету він працював під керівництвом чудового хіміка-аналітика, який багато зробив для дослідження метаболізму протеїнів – незвичайного шведа, який переїхав до США – *Отто Кнута Фоліна* (швед. *Otto Knut Folin*), автора відомої реакції Фоліна на протеїни. Саме О. Фолін зробив з Джеймса Самнера дослідника-експериментатора і подарував людству ще одного нобелівського лауреата. Він від самого початку зробив все, щоб переконати мо-

лодого хіміка в тому, що фізичний недолік не завадить зробити йому кар'єру дослідника. І дійсно, Д. Самнер швидко оволодів своєю працею краще, ніж дворуки інші аспіранти і студенти. У 1913 р. Д. Самнер став магістром природничих наук, а в 1914 р. отримав докторський ступінь, захистивши дисертацію про утворення сечовини в організмі тварин.

Закінчивши медичну школу Гарвардського університету, Д. Самнер зайняв посаду асистент-професора з хімії в медичному коледжі Корнельського університету, який тоді знаходився в м. Ітака (штат Нью-Йорк). У 1929 р. він став там професором і повністю занурився в науку. Амбіційний дослідник Д. Самнер, як він пояснював пізніше, хотів «з'ясувати, що таке життя, що спонукає організми рости, від чого взагалі все «кружляє». Тому він поставив перед собою завдання виділити й отримати в чистому стані ензим і в такий спосіб зробити перший крок для з'ясування хімічного складу цієї важливої і мало дослідженої на той час біологічної сполуки.

Коли Д. Самнер приступив до дослідження ензимів, відносно їхньої структури було мало що відомо. З часів робіт *Едуарда Бухнера* (1897 р.) і присудження йому Нобелівської премії з хімії в 1907 р. «за відкриття позаклітинної ферментації» погляди на структуру ензимів майже не змінилися. Так, видатний німецький хімік *Ріхард Вільштеттер* (нобелівський лауреат з хімії за 1915 р.) вважав, що ензими не належать ні до вуглеводів, ні до протеїнів або ліпідів і що вони є невідомим класом хімічних сполук [2]. Навіть йому не вдалося одержати ензими в чистому стані. В той самий час в літературі з'явилися повідомлення відносно того, що в розчинах, де знаходяться ензими, присутні також протеїни.

Джеймс Самнер ще під час підготовки докторської дисертації з вивчення утворення сечовини в організмі тварин, проводив досліди з уреазою – ензимом, який розщеплює сечовину до CO_2 і NH_3 .



Пізніше, в 1916 р., він виявив в тропічній рослині сімейства бобових з Центральної Америки *канавалії мечоподібної* (*Canavalia ensiformis*) уреазу у високій концентрації. Саме з цієї рослини – з квітів і, особливо, бобів – Дж. Самнер спробував виділити ензим уреазу.

У 1921 р. Дж. Самнер розпочав підготовку до виділення *уреази*, і завдяки американсько-бельгійської стипендії їде до Брюсселя для обговорення свого наукового проекту з відомим європейським ензимологом, батьком промислової ензимології Ж. Еффроном. Останній не підтримав ідей Дж. Самнера, вважаючи їх легковажними. Але треба було знати упертий характер Джеймса – він таки розпочав заплановані експерименти. Використовуючи велику кількість методів і реагентів, після кількох років начебто безуспішної роботи він нарешті виділив мікроскопічні кристали, які виявились *глобулярними протеїнами* і в той самий час мали *активність уреази*. Його відкриття, що було опубліковано у серпневому номері *Journal of Biological Chemistry* за 1926 р., було зустрінуте науковцями скептично, а іноді – з відкритим глузуванням. Особливо критично поставився до роботи Д. Самнера Р. Вільштеттер, авторитет якого був незаперечним. Він вважав, що цей «однорукий американець нічого не вміє» і що він отримав якусь незначну активну непротеїнову сполуку.

Впродовж наступних чотирьох років Дж. Самнер захищав свою точку зору в серії статей, де наводив додаткові експериментальні дані на користь *протеїнової природи ензимів*. У 1929 р. він отримав першу підтримку в Європі: працюючи з ензимами в лабораторії Стокгольмського університету з Гансом фон Ейлер-Гельпіним – нобелівським лауреатом з хімії за 1929 р. за дослідження ензимів бродіння [3], Дж. Самнер отримав одну з вищих шведських нагород – медаль Шееле. Пізніше, вже в 1937 р., працюючи в Упсальському університеті в лабораторії Т. Сведберга, Дж. Самнер одержав *препарати уреази з високою каталітичною активністю*. Крім того, він отримав *кристали каталази* і також *встановив її протеїнову природу*.

Найбільшу підтримку протеїнової природи ензимів Дж. Самнер одержав від американського біохіміка *Джона Говарда Нортропа*, який в 1929 р. виділив у кристалічному стані *пепсин* (опубліковано в 1930 р.), а через декілька років Д. Нортроп і М. Куніц одержали з підшлункової залози свині *трипсин*, *хімотрипсин* і деякі інші ензими. Ці роботи переконали біохіміків в тому, що *ензими є протеїнами*, хоча деякі з них мають в своєму складі і непротеїнові компоненти. На 1946 р. було виділено і визначено майже **30 ензимів** і всі вони були *протеїнами*.

Нобелівську премію в галузі хімії було присуджено в 1946 р. Джеймсу Самнеру фактично «за відкриття явища кристалізації ензимів», хоча ще в 1941 р. його вперше було номіновано на Нобелівську премію з хімії, а з фізіології та медицини його кандидатуру пропонували на премію декілька разів, починаючи з 1932 р. Одержану премію він розділив з *Джоном Г. Нортропом* і *Уенделлом М. Стенлі*. У поздоровчій промові від імені Шведської королівської академії наук Арне Тіселіус (швед. *Arne Tiselius*) наголосив, що «одержані Д. Самнером результати... свідчать про проведену ним новаторську роботу, яка вперше переконала дослідників у тому, що ензими є тими речовинами, які можна виділити в чистому стані і в достатній кількості», і що прикладені Д. Самнером зусилля «заклали основи для детальнішого проникнення в хімічну природу тих речовин, від яких нарешті має залежати розуміння механізму реакцій, які відбуваються в живих клітинах».

У своїй нобелівській лекції Д. Самнер зазначив: «Чимало людей говорили мені, що бажання виділити ензим – це безглуздя. Але ці слова ще більше переконували мене в тому, що якщо ця спроба буде успішною, то за неї необхідно боротися». Крім того він звернув увагу на досягнення, зроблені в останній час в галузі ензимології: «Завдяки відносно нещодавно проведеним дослідженням було з'ясовано механізми практично всіх складних реакцій, які відбуваються під час розщеплення глікогену на діоксид вуглецю і воду. Більш того, робота, проведена К. Ф. Корі та його колегами, свідчить про те, що гормони функціонують завдяки своїй дії на ензими» [3].

Між іншим, Дж. Самнер на початку своєї лекції висловив негативне ставлення до Ріхарда Вільштеттера, який багато років не визнавав його досягнень, і назвав невірний погляд Р. Вільштеттера блокуванням на шляху вірних ідей в хімії. На таке ставлення Д. Самнер мав право – він переміг свого опонента вірою в себе, надзвичайною працьовитістю і філігранною технікою своєї «непрацюючої» правої руки. Але Р. Вільштеттер цієї промови вже не почув, бо помер ще у 1942 р.

Через рік після отримання Нобелівської премії Дж. Самнер був призначений директором нової *Лабораторії хімії ензимів Корнельського університету*, де продовжив свої дослідження і багато займався педагогічною роботою. Як викладач він був не дуже терплячим і вимогливим,

але студенти поважали його за те, що сам він дуже багато працював. «Головне, чому я намагався навчити студентів, – говорив Дж. Самнер, – це розбурхати в них зацікавленість до світу, який нас оточує, бажання пізнати цей світ, керуючись однією провідною зіркою – істиною».

Поза наукової роботи Джеймс захоплювався тенісом, походами, займався фотографією, любляв куховарити, вивчати іноземні мови; був тричі одружений і мав шестеро дітей.

У 1927 р. він опублікував підручник *“Textbook of Biological Chemistry”* (New York, Macmillan Co., 283 pp.) а в 1944 р. – *“Laboratory Experiments in Biological Chemistry”* (New York, Academic Press, 1944, 169 pp.). У 1950–1952 рр. Дж. Самнер разом з К. Мірбеком (Karl Myrback) опублікували чотиритомник *“The Enzymes. Chemistry and Mechanism of Action”* (Academic Press, New York,) – справжню енциклопедію ензимології, яка стала настільною книгою для багатьох наступних поколінь науковців – ензимологів.

Після виходу у відставку з Корнельського університету в 1955 р. Д. Самнер захворів і 12 серпня того ж року пішов з життя в Баффало (штат Нью-Йорк) від онкологічного захворювання.

Серед великої кількості нагород, які мав учений, дуже почесною була золота медаль Шеєле Шведського хімічного товариства (1937 р.). Дж. Самнер був членом Американської національної академії наук, Американської академії наук і мистецтв, Товариства експериментальної біології та медицини тощо [4–8].

Наприкінці цього короткого життєпису Джеймса Самнера слід зазначити, що основним його досягненням було те, що, використовуючи прості й ефективні методи хімії, він одержав кристалічний препарат ензиму уреазы, який являв собою чистий протеїн. Можна, звичайно, вважати, що йому пощастило, тому що уреазя є однокомпонентним ензимом, але саме він вперше доказав протеїнову природу ензимів і, нарешті, таким чином, було вирішено питання про природу біокаталізаторів, що відкрило нову, дуже важливу сторінку в історії науки ензимології.

Другу половину Нобелівської премії з хімії «за одержання в чистому стані ензимів і вірусних протеїнів» («for their preparation of enzymes and virus proteins in pure form») у 1946 р. отримали американські біохіміки Джон Г. Нортроп і Венделл М. Стенлі.

Джон Г. Нортроп

Нортроп Джон Говард (англ. *Nortrop John Howard*) народився 5.07.1891 р. в Йоркерсі (штат Нью-Йорк) в родині викладачів природознавства Аліси Белл (Рич) і Джона Ісаї Нортропа. Джон Г. Нортроп був янкі у восьмому поколінні, нащадком *Джозефа Нортропа*, який прибув до Мілфорда (штат Коннектикут) в 1632 р. Предки Джона були впливовими людьми. Вони подарували Колумбійському університету великий хімічний будинок, який отримав ім'я цієї родини. Батько Джона Г. Нортропа викладав зоологію в Колумбійському університеті, але незадовго до народження сина (за два тижні) трагічно загинув: в лабораторії, де він працював, стався вибух. Після трагедії мати хлопчика вимушена була працювати; вона викладала ботаніку в Хантер-коледжі (Нью-Йорк). Саме за її ініціативою і завдяки її зусиллям у навчальну програму середніх шкіл Америки була введена нова дисципліна – *природознавство*. На жаль, мати Джона загинула в автомобільній катастрофі в 1922 р.

Закінчивши середню школу в Нью-Йорку в 1908 р., Джон-молодший вступив до Колумбійського університету, де багато часу приділяв вивченню хімії (і зовсім мало біології). У 1912 р. він отримав ступінь бакалавра природничих наук і вступив до аспірантури з хімії. Під час навчання в аспірантурі Д. Нортроп у складі фехтувальної команди Колумбійського університету в 1913 р. виграв міжуніверситетські змагання. В тому самому році він став магістром природничих наук,



Джон Г. Нортроп (1891–1987)

а в 1915 р., закінчивши написання докторської дисертації, влітку працював старателем, добуваючи золото в Аризоні, оскільки треба було заробляти гроші на подальшу наукову роботу і навчання.

Після отримання стипендії Уїльяма Бейарда Д. Нортроп мав можливість протягом року працювати в Рокфеллеровському інституті (зараз Рокфеллеровський університет) у *Жака Лоеба*, після чого він був призначений спочатку асистентом, а в 1917 р. – викладачем цього закладу.

Але в 1917 р., коли США вступили в Першу світову війну, наукову роботу в Інституті було перервано. Д. Нортроп служив капітаном у хімічних військах американської армії. В цей час він запропонував метод виробництва ацетону з використанням процесу бродіння. Ацетон і тоді, і пізніше широко використовувався в різних галузях промисловості, а також в науковій роботі.

Після закінчення війни Д. Нортроп повернувся до Рокфеллеровського інституту і продовжив роботу з дослідження ензимів, передусім, зі з'ясування хімічної природи ензимів.

У 1920–1930-х рр. проблема ензимів цікавила багатьох дослідників. Але, незважаючи на досягнення нобеліантів *А. Гардена*, *Р. Вільштеттера*, *Г. Ейлер-Гельпіна* [3] та інших видатних біохіміків у виділенні і в очищенні ензимів, не було впевненості в тому, що препарати одержаних ензимів є протеїнами. Це не дозволяло зробити висновок про хімічну природу ензимів.

Хоча деякі вчені вважали, що *ензими є протеїнами*, але висновок видатного німецького хіміка Ріхарда Вільштеттера був категоричним – ензими не схожі ні на одну з відомих органічних сполук. Сам він не зміг отримати ензими в чистому стані. З таким твердженням Р. Вільштеттера не погодився не тільки Д. Самнер, але й науковий керівник Д. Нортропа *Жак Лоеб*. Останній вважав, що ензими мають протеїнову природу, отже, їх можна досліджувати за законами хімії.

За пропозицією Ж. Лоеба Д. Нортроп у 1920 р. спробував отримати в чистому стані протеолітичний ензим шлунку *пепсин*. Але це йому не вдалося, хоча він провів багато кінетичних досліджень пепсину і трипсину. Тому вчений відновив розпочату раніше роботу з дослідження тривалості життя і доказав, що життя організмів залежить від температури: висока температура скорочує її тривалість. Це відкриття

підтвердило твердження його і Ж. Лоеба про те, що в основі життя знаходяться хімічні процеси. Слід зазначити, що на формування Д. Нортропа як науковця величезний вплив зробив саме *Жак Лоеб* – один з великих експериментаторів, з яким він працював протягом десятиліття. Але Жак Лоеб раптово помер у 1924 р.

У 1926 р., коли Д. Нортроп вже працював в лабораторії Рокфеллеровського інституту, Д. Самнер з медичного коледжу Корнельського університету опублікував результати своєї роботи з *виділення і очищення уреазу*. І хоча відкриття Д. Самнера було піддано нападкам з боку багатьох учених, Д. Нортропа воно надихнуло на продовження досліджень з виділення *пепсину*. Через три роки (1929 р.) Д. Нортроп виділив зі шлункового соку свині *кристали речовини, яка мала властивості пепсину і була одночасно чистим протеїном*. Ще через рік було опубліковано його роботу з *доказом протеїнової природи пепсину без ніяких домішок*.

У подальші роки Д. Нортроп з колегами, серед яких найбільший внесок в роботу зробив М. Кунітц, спільна праця з яким нараховує 25 років, виділили *трипсин, хімотрипсин, карбоксипептидазу* і деякі інші ензими з підшлункової залози свині. Їхні роботи експериментально і остаточно *підтвердили твердження Д. Самнера відносно протеїнової природи ензимів* і поклали початок їх інтенсивному дослідженню, особливо первинної структури і конформації.

Для доказу чистоти кристалічного пепсину Д. Нортроп проводив *перекристалізацію, фракціонування солями, зміну рН, нагрівання або радіаційну інактивацію*, а кінцеву фракцію аналізував із розрахунку *активності на міліграм протеїну*. Д. Нортроп і М. Кунітц розробили *«метод дослідження розчинності»* спеціально для виявлення чистоти протеїну пепсину, і це було остаточною доказом чистоти отриманих кристалів пепсину.

Метод розчинності Д. Нортропа і М. Кунітца достатньо простий і може бути використаний для будь-якої речовини, оскільки в його теоретичній основі лежить правило фази Гіббса. Якщо в розчині є дві або більше речовини, то результати будуть відмінними від ідеального стану однорідної речовини. Цей метод широко використовувався ензімологами і тими дослідниками, хто працював з протеїнами, для визначення чистоти одержаних препаратів після

кристалізації полімерних сполук (*метод визначення чистоти протеїнових препаратів за розчинністю – метод Норттропа і Кунітца*).

Подальший крок у виділенні активних протеїнів було зроблено в 1935 р. Колега Д. Норттропа з Рокфеллеровського інституту *Венделл Мередіт Стенлі* вперше отримав кристали вірусу тютюнової мозаїки, які виявились нуклеопротеїном. На початку своєї наукової кар'єри Д. Норттроп також цікавився вірусами. Разом з *Пітером Оліцким* в 1925 р. він опублікував статтю про вірус мозаїки картоплі, а в проміжку між 1929 і 1931 рр. разом з *Альбертом Крюгером* провів кінетичний аналіз дії бактеріофагових інфекцій культур стафілокока і розробив динамічний метод аналізу фага.

Але пізніше Д. Норттроп сконцентрував свої зусилля на виділенні пепсину та інших ензимів про що вже йшлося. І все ж таки в 1936 р. він знову повернувся до вивчення хімічної природи бактеріофага *Staphylococcus*, виділив його і виявив присутність нуклеїнової кислоти в своїх найчистіших препаратах фагів.

Під час Другої світової війни Д. Норттроп працював консультантом, офіційно займав посаду дослідника в Науково-дослідному комітеті національної оборони. В цей період він розробив високочутливі хімічні і біологічні методи виявлення токсичних хімічних речовин. За цю роботу в Міністерстві оборони він був удостоєний президентської нагороди, якою дуже пишався.

Фактично за визнання його внеску в *ензимологію*, а саме за очистку і кристалізацію ензимів, що доводило їх протеїнову природу, Д. Норттроп отримав половину Нобелівської премії з хімії за 1946 р. разом із В. М. Стенлі. Це була перша Нобелівська премія за роботу, виконану в Рокфеллеровському інституті. Від імені Шведської академії наук її вручив Арне Тіселіус, який в своїй промові сказав: *«Ви і ваші сподвижники перетворили кристалізацію ензимів та інших активних протеїнів у мистецтво, а Ви в ньому – Майстер»*. В своїй нобелівській лекції Д. Норттроп зазначив, що досліди, які були проведені ним з колегами-лауреатами *«підтверджують висновок про те, що джерело активності ензимів знаходиться в самій молекулі протеїну, а не спричинюється позапротеїновими домішками»*.

Після отримання Нобелівської премії Д. Норттроп серйозно зайнявся дослідженням вірусів і знову повернувся до бактеріофага; він

пріділяв особливу увагу з'ясуванню їх хімічної природи. Цю роботу він виконував від 1949 р. як професор на факультеті бактеріології та біофізики в Каліфорнійському університеті в Берклі, але не залишав зв'язків із Інститутом Рокфеллера. В той же час він займав посаду професора-біофізика в університетській лабораторії Доннера.

У 1961 р. Д. Норттропа було удостоєно звання почесного професора Рокфеллеровського інституту у відставці, а в 1962 р. – Каліфорнійського університету. Офіційно Д. Норттроп вийшов на пенсію в 1962 р., але продовжував свою лабораторну роботу і її результати публікував до 1968 р. У той час його дружина Луїза (Уокер), з якою він одружився в 1917 р., захворіла і він піклувався нею декілька років; вона померла 21 квітня 1975 р. У них було двоє дітей – син Джон і донька Аліса, яка була одружена з Фредеріком Роббінсом (нобелівським лауреатом з фізіології та медицини за 1954 р.). Одже, їхні діти і онуки були нащадками нобелівських лауреатів.

Джон Говард Норттроп прожив довге життя. Він дожив до 96-річного віку, став почувати себе погано, не хотів бути тягарем для своїх близьких і друзів, і самостійно пішов з життя 27 травня 1987 р. в своєму домі в Уїкіберзі (штат Арізона).

Серед численних нагород Д. Норттропа – медаль Чарльза Фредеріка Чендлера Колумбійського університету (1937 р.), почесний диплом президента (уряду) США (1948 р.) і медаль Олександра Гамільтона Колумбійського університету (1960 р.). Вчений був членом Американської національної академії наук та інших американських товариств, а також іноземним членом Британського хімічного товариства, Королівського товариства мистецтв і Німецької академії природознавців «Леопольдіна».

Д. Норттроп завжди багато і з задоволенням займався спортом, полюбляв полювання і риболовлю, птахів, займався садівництвом [9-16].

Завершуючи знайомство з Джоном Г. Норттропом слід зазначити, що він був проникливим вченим, який зробив великий внесок одночасно в кілька різних галузей науки, але найважливіших досягнень здобув у галузі ензимології. Як писав *Джон Едсалл* (англ. *John Tileston Edsall*), *«Джон Норттроп, мабуть, зробив значно більше, ніж хто-небудь інший, для того, щоб встановити, що чисті ензими дійсно є протеїнами»*. Оскільки ензими беруть участь практично в усіх біологічних реакціях, встановлення їх хімічної

природи було науковим внеском першої величини.

Третім нобеліантом з хімії за 1946 р. був американський біохімік і вірусолог *Венделл М. Стенлі*.

Венделл М. Стенлі

Венделл (Уенделл) Мередіт Стенлі (англ. *Wendell Meredith Stanley*) народився 16 серпня 1904 р. в Ріджвіллі (штат Індіана, США) в родині Клер (Плессінджер) і Джеймса Стенлі, видавців місцевої газети. Ще школярем Венделл часто допомагав батькам працювати в редакції і продавати газети. Після закінчення середньої школи в Ріджвіллі він вступив до Ерлем-коледжу в Річмонді (штат Індіана), де вивчав хімію і математику. Обдарований студент і відмінний спортсмен він на останньому курсі був обраний капітаном футбольної команди і якийсь час хотів стати тренером з футболу. Але його доля повернулася інакше. В 1926 р., невдовзі до закінчення коледжу, Венделл відвідав Іллінойський університет із вчителем хімії, який познайомив його з *Роджером Адамсом*, викладачем хімічного факультету університету. Саме захопленість Р. Адамса наукою розбудила у Венделла бажання самому зайнятися науковою роботою і привела його до аспірантури Іллінойського університету, де в 1927 р. він отримав магістерський, а в 1929 р. – докторський ступінь. Його дисертацію було присвячено сполукам, які використовуються для лікування *прокази*.



Венделл М. Стенлі (1904–1971)

Через рік після захисту докторської дисертації, В. Стенлі отримав стипендію Національної науково-дослідної ради для роботи в галузі хімії у Генріха Віланда в Мюнхенському університеті, який перед тим (в 1927 р.) отримав Нобелівську премію з хімії «за дослідження жовчних кислот і будову подібних їм сполук» [17]. Після повернення через рік до США В. Стенлі став асистентом у Рокфеллеровському інституті медичних досліджень (Рокфеллеровський університет) в Нью-Йорку. Але в 1932 р. він перейшов до інститутської лабораторії патології тварин і рослин у Принстоні (штат Нью-Джерсі). Бажання займатися науковою (дослідницькою) роботою взяло гору, і У. Стенлі в Принстоні розпочав роботу з вивчення вірусів, які спричинюють захворювання в рослин.

Що ж було відомо на той час про віруси? Ще в 1898 р. нідерландський (голландський) ботанік *Мартінус Віллем Бейєринк* (нидерл. *Martinus Willem Beijerinck*) повідомив, що *тютюнова мозайка* – один з видів захворювання спричинується носієм інфекції значно меншого розміру, ніж найменша бактерія. Цей носій неможливо побачити під мікроскопом, і М. Бейєринк назвав такий носій «*вірусом*». Природа вірусів була невідомою, але разом з тим віруси, вірніше хвороби, які зумовлюються вірусами, були великим лихом протягом всієї історії людства.

Коли В. Стенлі приступив до роботи у 1932 р., було вже відомо, що *віруси здатні до відтворення і мутацій*, тому мають бути живими організмами. Однак, на той час здавалось сумнівним, що така маленька субстанція могла самостійно дихати, харчуватися і здійснювати інші функції обміну речовин.

Мікробіологія не змогла вирішити питання стосовно природи і біологічної активності цих незвичайних об'єктів. Вирішення цієї загадки потребувало нових підходів і нових методів. Дуже знаменно, що встановити природу вірусів, зробити перший принциповий крок у створенні науки вірусології вдалося хіміку за освітою, який присвятив себе вирішенню біологічних проблем, американському вченому *Венделлу Мередіту Стенлі*. Хоч він сам багато цікавився проблемою природи вірусів, його вирішальні експерименти були стимульовані дослідженнями Д. Нортропа і Д. Самнера.

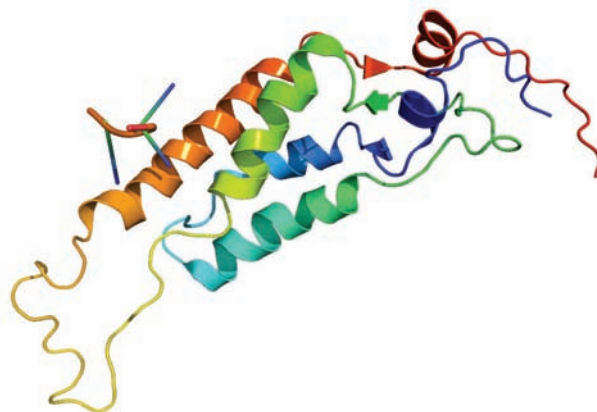
У 1934 р. У. Стенлі вирішив виділити вірус не за традиційною мікробіологічною схемою –

виростити його на поживному середовищі, а використати методи виділення і кристалізації ензимів. З тонни листків тютюну, уражених *вірусом тютюнової мозаїки (ВТМ)*, використавши методи ензимології – елюції і осадження різними реагентами, У. Стенлі отримав *декілька грамів голкоподібних кристалів*. Він обробляв їх трипсином і пепсином, які перед тим було одержано Джоном Нортропом, а також іншими хімічними реагентами (понад 100 реагентів) і дійшов висновку, що *вірус тютюнової мозаїки складається, головним чином, із протеїнів*. Отримані ним кристали вірусу за методом Нортропа можна було розчинити, профільтрувати, ще раз очистити, перекристалізувати і ці процедури не руйнували здатності вірусу вражати здорові рослини та розмножуватись в їх тканинах (1935 р.).

Повідомлення В. Стенлі про виділення кристалічного життєздатного вірусу спричинило запеклі суперечки – «живий» кристал вважали чимось неймовірним. Але всі подальші контрольні досліді підтвердили справедливість тверджень американського хіміка. У наступному році він виділив із кристалічного вірусу тютюнової мозаїки *нуклеїнову кислоту*, а в 1937 р. двоє англійських вчених *Фредерік Ч. Боуден і Норман У. Пайрі*, встановили, що вірус тютюнової мозаїки не є чистим протеїном, а що він має в своєму складі 5% *нуклеїнової кислоти*, тобто є *нуклеопротеїном* – стійкою сполукою протеїну і нуклеїнової кислоти. У подальшому вдалося встановити, що *ВТМ має одну нитку рибонуклеїнової кислоти і майже 2200 протеїнових субодиниць, кожна з яких складається із 158 амінокислотних залишків*. Протеїн ВТМ із перших протеїнів, будова якого була розшифрована, а також встановлена послідовність всіх його 158 амінокислотних залишків.

Під час Другої світової війни В. Стенлі увійшов до складу *комітету медичних досліджень Науково-дослідного управління США у Вашингтоні*. В наступні три роки він і його колеги отримали кілька штамів *вірусу грипу і першу протигрипозну вакцину*, за що В. Стенлі в 1948 р. було нагороджено Почесним дипломом президента США. Фактично він створив нову галузь науки – *молекулярну вірусологію*.

Наукові дослідження В. Стенлі не залишилися непоміченими. Так, «за одержання в чистому стані ензимів і вірусних протеїнів» Венделлу Стенлі і Джону Нортропу було присуджено половину Нобелівської премії з хімії



Модель протеїну оболонки вірусу тютюнової мозаїки [18]

за 1946 р. Другу половину, як ми вже наводили вище, було присуджено Джеймсу Самнеру. У своїй нобелівській лекції В. Стенлі відзначив, що з часу відкриття вірусу тютюнової мозаїки було виявлено ще понад 300 різних вірусів, включаючи ті, які спричиняють *віспу, жовту гарячку, тропічну лихоманку, поліомієліт, кір, епідемічний паратиф (свинку), запалення легенів і звичайну застуду*. «Нова галузь дослідження вірусів фактично тільки відкривається, – додав він, – і попереду має бути ще багато роботи. Деякі основні ... проблеми, які стосуються відтворення і мутації вірусів, вже знайшли певну форму. Їх вирішення могло би дати надзвичайно цінну інформацію для біології, хімії, генетики і медицини».

Після одержання Нобелівської премії життя і наукова діяльність В. Стенлі були пов'язані з факультетом Каліфорнійського університету в Берклі, до якого його запросив президент цього університету *Роберт Спроул* (1948 р.). Це запрошення відіграло вирішальну роль в подальшій кар'єрі В. Стенлі. Ще молодий і дивовижно творчий вчений, він переїхав до Берклі з метою створити лабораторію вірусології, щоб займатись *молекулярною вірусологією*, і залишився там до кінця своєї наукової діяльності. Переїзд до університету дав В. Стенлі можливість зібрати групу молодих учених для проведення фундаментальних досліджень бактеріальних, рослинних і тваринних вірусів.

У створеній лабораторії В. Стенлі керував дослідженнями, спрямованими на подальше з'ясування природи вірусів. Разом з молодими колегами він брав участь в роботах із кристалі-

зації та характеризування вірусу поліомієліту, а також у визначенні повної послідовності 158 амінокислотних залишків у протеїні вірусу тютюнової мозаїки. Його колега Хайнс (Гайнс) Френкель-Конрат встановив, що протеїнова частина вірусу є тільки «житлом», а його гени знаходяться в рибонуклеїновій кислоті (РНК). Після цього стало зрозуміло, чому в попередні 30-ті роки В. Стенлі не вдалося отримати генетичні зміни у вірусі тютюнової мозаїки, впливаючи різними хімічними і біологічними факторами тільки на його протеїнову структуру.

Переїзд до Берклі розкрив і другий бік видатної кар'єри В. Стенлі – адміністратора освіти, оскільки він був ідеальним лідером. Сотні студентів і докторантів пройшли навчання у Лабораторії вірусології, а потім перейшли на дослідницьку і викладацьку роботу в наукові центри різних країн світу. Його зусиллями було створено потужну кафедру вірусології, якою він керував з часу створення в 1958 р. і до 1964 р., коли її було розширено і вона стала кафедрою молекулярної біології. В. Стенлі всіляко сприяв поєднанню викладацької та наукової роботи. Він був зацікавлений в постдокторській освіті і надавав відмінні умови для досягнення цієї мети в Лабораторії вірусології.

Після створення кафедри молекулярної біології в 1964 р. адміністративні обов'язки В. Стенлі були скорочені і він більше часу присвятив пропаганді наукових знань. Так, він виступав з лекціями перед населенням, організував цикл лекцій на телебаченні «Віруси і природа життя», став почесним членом Національної асоціації письменників науки тощо. Він відіграв важливу роль у формуванні національної та міжнародної політики по відношенню до фундаментальних наукових досліджень на благо людства, сприяв створенню ефективних фундаментальних програм, спрямованих на боротьбу з вірусними захворюваннями. У ході своєї наукової діяльності В. Стенлі переконався, що саме у вірусах криється причина багатьох онкологічних захворювань людини. На V з'їзді Іспанського біохімічного товариства, який відбувся в Саламанці (Іспанія) він представив доповідь про віруси пухлин. Він також припустив, що віруси були первинною формою життя на Землі.

Слід відзначити громадську діяльність В. Стенлі. Він був членом багатьох комісій і комітетів: від 1951 до 1958 р. був опікуном Мілзколеджу, а від 1945 р. до кінця життя – радником

Національного інституту здоров'я. Він входив також до складу фахівців-консультантів Комісії з вірусних захворювань при Всесвітній організації охорони здоров'я (1951–1966 р.), до Національної ради з онкологічних захворювань Державної служби охорони здоров'я США (1952–1956) та низки інших комітетів і комісій США.

Окрім Нобелівської премії, В. Стенлі нагороджено багатьма американськими і міжнародними нагородами і преміями, йому присуджено почесні ступені низки університетів. Його було обрано членом Американської академії наук, Американської академії наук і мистецтв, Американського товариства біохіміків, Американської асоціації сприяння розвитку науки, Американського хімічного товариства, Американського філософського товариства та Товариства експериментальної біології, а також іноземним членом наукових організацій Японії, Аргентини та Франції. Багато років він був президентом Американського товариства онкологів тощо [19-26].

В. М. Стенлі був одружений на Меріан Степлз Джей, з якою познайомився, коли навчався в аспірантурі. У них було три доньки і син.

Пішов з життя Венделл М. Стенлі 15 червня 1971 р. в м. Саламанка (Іспанія) від серцевого нападу.

Завершуючи розповідь про американського вченого – хіміка Венделла Мередіта Стенлі, який зробив неоціненний внесок в розвиток сучасної біохімії, молекулярної біології і вірусології і довів світові, що віруси є фізико-хімічними частинками, що мають деякі властивості живої матерії, слід нагадати про нього слова академіка В. О. Енгельгардта: «В. Стенлі можна назвати батьком сучасної вірусології». Біохімії вірусів він присвятив понад 150 робіт. У співавторстві з Ф. Барнеттом видав монографію «Віруси» (1959 р.), а в співавторстві з Е. Веленсом (Evans G. Valens) – монографію «Віруси і природа життя» («Viruses and the Nature of Life», 1961 р.).

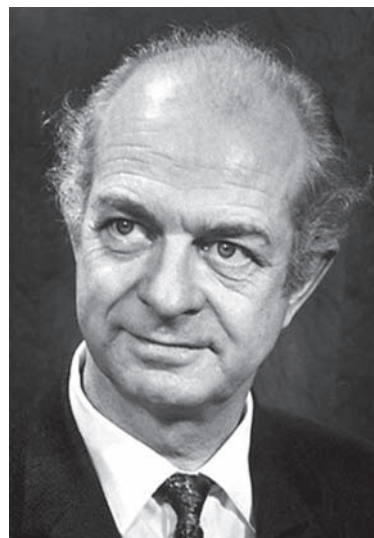
Таким чином, нобелівські лауреати з хімії за 1946 р. Д. Самнер, Д. Нортрон і В. Стенлі зробили неоціненний науковий внесок в розвиток таких важливих біологічних дисциплін як біохімія, особливо ензимологія, вірусологія та молекулярна біологія. Прізвища цих нобеліантів золотими літерами вкарбовано в історію природознавства, їхні наукові розробки і досягнення увійшли в підручники з біохімії та вірусології країн усього світу, надихаючи молодь на дослідження таємниць життя.

Наступним кроком в дослідженні протеїнів, було встановлення їхньої хімічної будови: первинної структури і конформації у просторі поліпептидних ланцюгів. Великий внесок у з'ясування хімічних зв'язків, завдяки яким утворюється вторинна структура та інші рівні організації протеїнів, зробив видатний хімік ХХ ст. кристалограф, американський вчений Лайнус Полінг. Він одержав Нобелівську премію з хімії в 1954 р. «за дослідження природи хімічного зв'язку і його використання для встановлення структури складних сполук» (*for his research into the nature of the chemical bond and its application to the elucidation of the structure of complex substances*). Він є автором вторинної будови протеїнів – α -спіралі і β -структури. Але його внесок в розвиток органічної хімії та хімії взагалі значно ширший. В біографії цієї унікальної людини зійшлися майже всі найважливіші події ХХ-го століття (він народився на початку століття і пішов із життя наприкінці його). З цією людиною та її внеском в науку і мир на планеті Земля ми нижче і познайомимось.

Лайнус Карл Полінг

Полінг Лайнус Карл (англ. *Pouling Linus Carl*) народився 28.02.1901 в Портленді (штат Орегон, США) в родині сина німецьких емігрантів Германа Полінга і Люсі Ізабель (Дарлінг) Полінг із дореволюційного ірландського роду. На той час його батько Герман Полінг працював комівояжером в медичній компанії, а в 1905 р. переїхав до Кондону (штат Орегон), де відкрив власну аптеку. Саме в цьому містечку Лайнус вперше пішов до школи. Він рано навчився читати і почав «поглинати» книжки: вже в дев'ять років він читав Біблію та ознайомився з теорією еволюції Дарвіна. У 1910 р. родина переїхала до Портленда, де юнак навчався у Вашингтонській середній школі. Коли Лайнусу було тільки 9 років його батько помер.

Юний Л. Полінг з дитинства захоплювався наукою: спочатку він збирав комах і мінерали, а в 13 років вирішив стати хіміком. Вже в дитинстві Л. Полінг проявив свій твердий, упертий характер: в школі він відвідував заняття тільки з природничих наук, вважаючи, що знання із суспільних наук він може отримати самостійно з книжок. Тому атестата про закінчення середньої школи він не отримав. У 1917 р. він вступив до Орегонського державного сільськогосподар-



Лайнус К. Полінг (1901–1994)

ського коледжу (пізніше Орегонський державний університет) в Корваллісі, куди його взяли без атестата і де він вивчав, головним чином, хімічну технологію, хімію і фізику. Для підтримки матеріального стану своєї родини Л. Полінг підробляв тим, що мив посуд, сортував папір, працював у фірмі, яка займалась покриттям доріг. Але одночасно Л. Полінг добре вчився і в 1919 р., коли він був на передостанньому курсі, йому, як дуже обдарованому учню, запропонували штатну посаду викладача на хімічному факультеті. А на останньому курсі він вже став асистентом з хімії, механіки та матеріалів. Серед його студентів на той час була й Ава Хеве Міллер. Обидва справили приємне враження один на одного й за рік після знайомства побралися.

У 1922 р. Л. Полінг отримав ступінь бакалавра природничих наук з хімічної технології і в тому самому році вступив до аспірантури Каліфорнійського технологічного інституту (Калтех) в Пасадені (Пасадіна, англ. *Pasadena*), де потім пропрацював понад 40 років. Для підтримки молодого науковця дирекція запропонувала невеличку стипендію за часткову роботу асистентом. Це був вдалий вибір як для Л. Полінга, так і для Калтеху. Наприкінці життя (1994 р.) Л. Полінг написав: «Багато років тому... я зрозумів, що в 1922 р. не було в світі іншого місця, в якому б мене підготували краще для моєї кар'єри вченого». Він був першим в цьому Інституті, кого відразу після закінчення взяли працювати спочатку асистентом, а потім викладачем на кафедрі хімії. У 1925 р. Л. Полінгу було прису-

джено докторський ступінь з хімії з «найвищою похвалою» (*summa cum laude* – лат.). Протягом наступних двох років він працював дослідником і став членом Національної науково-дослідної ради при Каліфорнійському технологічному інституті, де в 1927 р. отримав звання асистент-професора, в 1929 р. – ад'юнкт-професора, а в 1931 р. – професора з хімії.

У 1926 р. Л. Полінг отримав тільки-но утворену стипендію Гуттенгейма, що дозволило йому з молододружиною провести навчальний 1926/1927 рік в Інституті теоретичної фізики в Мюнхені за вивченням *квантової механіки* під керівництвом Арнольда Зюммерфельда. Крім того, він побував у Цюріху в Ервіна Шредінгера (нім. *Erwin Schrödinger*) – майбутнього нобелівського лауреата з фізики за 1933 р. [27], та в Копенгагені у Нільса Бора (дан. *Niels Bohr*) – нобелівського лауреата з фізики за 1922 р. Знайомство Л. Полінга зі створеною Е. Шредінгером в 1926 р. *квантовою механікою* сильно вплинуло на його наступні дослідження хімічних зв'язків. Працюючи всі ці роки дослідником у Калтехі, Л. Полінг став прекрасним спеціалістом з *рентгенівської кристалографії*, яку він використовував для дослідження природи хімічних зв'язків у бензолі та інших ароматичних сполуках. У 1928 р. він запропонував свою *теорію резонансу*, або *гібридизації хімічних зв'язків в ароматичних сполуках*, яка ґрунтувалась на концепції електронних орбіталей в квантовій механіці.

В наступні дванадцять років (від 1927 р.) Л. Полінг друкує серію наукових статей, завдяки яким його ім'я стає відомим у світі. Вже в цей час Л. Полінг зарекомендував себе як *засновник структурної хімії*, що дало можливість інакше подивитись на будову молекул і кристалів.

Головне наукове досягнення Л. Полінга – *вчення про хімічні зв'язки* – повністю було реалізовано в його книзі "*The Nature of Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals*", яка вийшла в 1939 р.; друге видання з'явилося в 1940 р. (в 1942 р. і 1944 р. були надруковані додаткові тиражі другого видання); потім її було перекладено на десятки різних мов. Наприкінці 40-х років ХХ ст. книга була всесвітньо відомою, загально визнаною і на довгі роки стала основою численних навчальних курсів із загальної, неорганічної та органічної хімії. В історії хімії напевно не знайдеться іншої книги, яка б мала таку велику популярність. Повний переклад книги на

російську мову вийшов під назвою: Л. Полінг «*Природа химической связи*». (М. Госхимиздат, 1947 р.), але незрозуміло чому з неповною назвою. На сьогодні уявлення Л. Полінга про природу хімічних зв'язків здаються архаїчними, а структурна хімія, для становлення якої Л. Полінг багато зробив, бурно розвивається і завойовує все нові й нові рубежі.

Але повернемося до досліджень Л. Полінга. У 20-х роках ХХ ст. у Калтехі з'явився Т. Х. Морган (англ. *Thomas Hunt Morgan*), і його роботи вплинули на зацікавленість Л. Полінга біологією. Проте серйозну увагу на біохімію, а саме на біохімію протеїнів, Л. Полінг звернув лише в 1934 р. і внаслідок багаторічних досліджень сформулював *теорію будови і функції протеїнів*, дослідив вплив насичення киснем гемоглобіну на його магнітні властивості, заклав основи *структурного аналізу молекул протеїнів*.

Коли в 1936 р. помер відомий американський хімік Артур Нойес (англ. *Arthur Noyes*), замість нього деканом факультету хімії та хімічної технології і директором хімічних лабораторій Гейтса і Крелліна в Каліфорнійському технологічному інституті було призначено Л. Полінга. В цей час він почав *дослідження атомної і молекулярної структури протеїнів і амінокислот з використанням рентгенівської кристалографії (рентгенографії)*. Саме тоді Л. Полінгом разом зі співробітником Р. Б. Корі (англ. *R. B. Corey*) було встановлено кристалічні структури найпростіших амінокислот, але до повного вивчення будови протеїнів було ще далеко. В навчальному 1937/38 р. він був ще й лектором з хімії в Корнельському університеті в м. Ітака (штат Нью-Йорк).

У 1942 р. Л. Полінг зацікавився питанням взаємодії *антигену з антитілом*. Дослідивши хімічну структуру деяких глобулінів сироватки крові, Л. Полінг дійшов висновку, що *тривимірні структури антигену і його антитіла є комплементарними і, таким чином, «несуть відповідальність» за утворення комплексу антиген-антитіло, тобто антигени можуть бути матрицею для відповідного поліпептиду-антитіла*. Пізніше, в 1947 р., Л. Полінг разом з американським генетиком Дж. У. Бідлом (англ. *George Wells Beadle*) з'ясували механізм, завдяки якому вірус поліомієліту руйнує нервові клітини. Для цієї роботи вони отримали спеціальну субсидію. Ідею комплементарності анти-

гену й антитіла Л. Полінг обговорював також із *Максом Дельбрюком* (нім. *Max Ludwig Henning Delbrück*) – видатним вірусологом і генетиком, який в 1969 р. отримав Нобелівську премію з фізіології та медицини «за відкриття механізму реплікації і генетичної структури вірусів».

У 1949 р. Л. Полінг розпочав нову роботу – вивчення *серпоподібної клітинної анемії* (*Sickle cell anemia*). Назва цієї спадкової хвороби, яка часто призводить до летального кінця, пов'язана з тим, що еритроцити хворого змінюють свою форму, надаючи їм характерного серпоподібного вигляду і при цьому втрачають властивість переносити кисень. Л. Полінг виявив неабияку інтуїцію і припустив, що ця хвороба зумовлена генетичним дефектом у будові глобіну – протеїну гемоглобіну, а саме порушенням амінокислотної послідовності в поліпептидному ланцюзі цього протеїну. Три роки потому Л. Полінг методом електрофорезу відділив нормальний гемоглобін від дефектного і довів, що в структурі останнього є помилка: один з амінокислотних залишків, а саме залишок кислоти глутамінової амінокислоти в глобіні гемоглобіну замінено іншим залишком нейтральної амінокислоти – валіном. Це відкриття підтвердило впевненість Л. Полінга в тому, що аномалія гемоглобінів пов'язана зі змінами в їхній протеїновій будові. Пізніше було встановлено, що в молекулі глобіну гемоглобіну людини і вищих тварин у певній послідовності розташовано 574 амінокислотних залишки, а Л. Полінг вперше встановив, що заміна тільки одного з них веде до тяжкої хвороби. Наразі вже відомо понад 50 різних видів аномальних гемоглобінів, які спричиняють різні патологічні стани в людей.

Важливою подією в історії не тільки біохімії протеїнів, але й загальної біохімії була публікація в 1951 р. статті Л. Полінга і Р. Б. Корі стосовно *структури протеїнів*, яка підвела підсумки результатів досліджень довгих 14 років (від 1936 р.). Використавши результати рентгеноструктурних досліджень амінокислот (значення характерних міжатомних відстаней і валентних кутів, величини ван-дер-ваальсових радіусів) Л. Полінг і Р. Б. Корі провели *конформаційний аналіз поліпептидного ланцюга, який є основою структури будь-якого протеїну*. Аналіз протеїнів волосся, вовни, м'язів, нігтів та інших тканин показав, що поліпептидний ланцюг у просторі має форму спіралі, яка пізніше отримала назву *α-спіраль Полінга і Корі*.

Основні положення, запропоновані Л. Полінгом для організації поліпептидного ланцюга в просторі, можна визначити так:

1) ланцюг складається з відносно жорстких плоских пептидних одиниць – CO-NH- та шарнірів, які їх з'єднують – CHR-; спосіб з'єднання двох послідовних одиниць можна охарактеризувати кутами ψ і ϕ ; кут ψ – це поворот певної ланки ланцюга навколо ковалентного зв'язку C-C, а кут ϕ – поворот навколо наступного за неї зв'язку C-N;

2) для з'ясування просторової будови (конформації) основного ланцюга поліпептиду достатньо знати значення кутів ψ і ϕ для кожного з амінокислотних залишків;

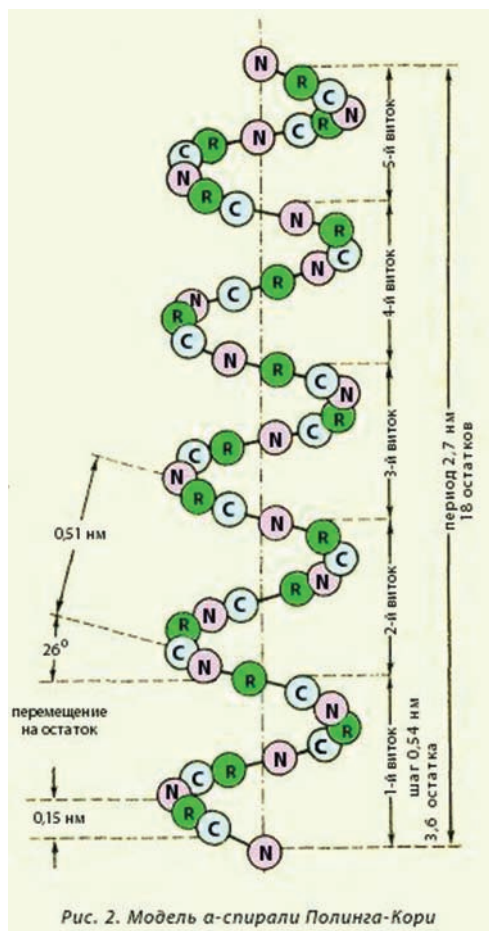
3) велике значення мають два найпридатніших способи сполучення пептидних одиниць (вони мають певні величини цих кутів): періодичне повторення першого типу сполучення веде до утворення α -спіралі, другого – до витягнутої β -структури, де паралельно розміщені β -ланцюги, об'єднані водневими зв'язками, що утворюють β -шар; в стабілізації α -спіралі також беруть участь водневі зв'язки: група CO (n-ого) амінокислотного залишку зв'язана водневим зв'язком з групою NH (n+3) залишку.

Отже, на основі рентгеноструктурних досліджень автори запропонували два варіанти – α -спіраль і β -складчасту структуру – для просторового розміщення поліпептидного ланцюга.

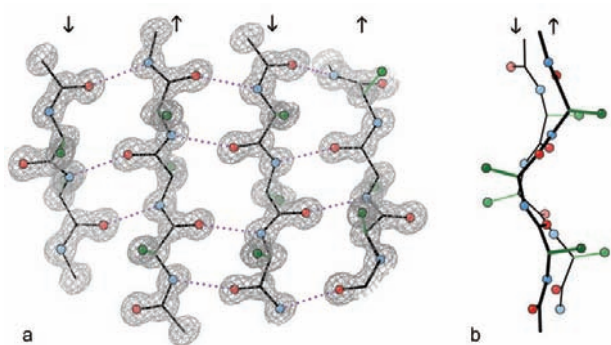
Найхарактернішою для глобулярних протеїнів є α -спіраль з кроком 0,54 нм і діаметром 1,05 нм; на кожний крок спіралі припадає 3,6 амінокислотних залишків, а на один амінокислотний залишок – 0,15 нм довжини спіралі. У стабілізації цієї структури важливу роль відіграють водневі зв'язки, які виникають між атомом водню, з'єднаним з атомом амідного азоту одного пептидного зв'язку та карбонільним атомом кисню четвертої від нього амінокислоти. Спрямовано ці зв'язки вздовж спіралі.

Структура типу складчастого шару – β -структура утворюється із зигзагоподібно розгорнутих поліпептидних ланцюгів, що розташовані поряд. Ця структура формується завдяки міжланцюговим водневим зв'язкам, які з'єднують групи C=O та NH сусідніх поліпептидних ланцюгів.

Л. Полінг був одним з перших, хто встановив значення водневих зв'язків для біомолекул: завдяки малій енергії зв'язку і малій енергії активації, що характеризує їхнє утворення і руй-



Альфа-спіраль [28]



Приклад бета-листка з 4-х антипаралельних ниток кристалічної структури ензиму каталази: а – вигляд зверху (лінії з крапок – водневі зв'язки між NH і CO в амінокислотах), б – вигляд збоку на центральні дві нитки [29]

нування, водневі зв'язки відіграють важливу роль у реакціях, які відбуваються за нормальної температури. Важливість водневих зв'язків у структурі протеїнів врят чи можна переоцінити. Із цього приводу Л. Полінг писав: «Втрата

нативної конформації руйнує характерні властивості протеїнів... За нагрівання або зміни рН розчину поблизу ізоелектричної точки протеїну, розгорнуті сегменти кислотних або основних груп бічних ланцюгів, переплутуються між собою, об'єднуючи молекули разом, і це веде до утворення згустку». Тобто Л. Полінгом було, мабуть, вперше запропоновано сучасну теорію структури нативних і денатурованих протеїнів.

Саме в цей час Л. Полінг ввів і поняття про чотири різні рівні будови молекули протеїну: первинна структура – це послідовність амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі, вторинна – наявність і співвідношення характерних фрагментів (таких як α -спіраль і β -структура), третинна – просторове розміщення атомів (або хоча б амінокислотних залишків) завдяки їх просторовим координатам і четвертинна – притаманна тільки протеїнам, які складаються з декількох субодиниць (субмолекул), тобто розміщення цих субмолекул у просторі відносно одна одної. Ці поняття були сформульовані ще до появи даних відносно повного рентгеноструктурного аналізу протеїнів. А вже незабаром, в 1960 р. з'явилися експериментальні підтвердження, коли М. Перуц (нім. Max Perutz) встановив третинну структуру гемоглобіну, а Дж. Кендрю (англ. John Kendrew) – міоглобіну, за що в 1962 р. вони отримали Нобелівську премію з хімії. Але про це йтиметься нижче.

Видатні досягнення Лайнуса Полінга в галузі дослідження хімічних зв'язків у біополімерах були достойно оцінені в 1954 р. Нобелівським комітетом, який удостоїв його премії з хімії «за дослідження природи хімічного зв'язку і його використання для встановлення структури складних сполук». В нобелівській лекції Л. Полінг сказав, що майбутні хіміки стануть «спиратися на нову структурну хімію, в тому числі на точно визначені геометричні взаємовідносини між атомами в молекулах і суворе використання нових структурних принципів і, що завдяки цій технології, буде досягнуто значний прогрес у вирішенні проблем біології та медицини хімічними методами».

Науковець Л. Полінг не належав до тих вчених, які відсиджувались в «баши зі слонової кістки» – його завжди цікавили питання впливу науки на життя людей і особливо моральна відповідальність вчених за свої здобутки. Він був відомим громадським діячем. Хоча в молоді роки, які прийшлися на Першу світову

війну, Л. Полінг був пацифістом, під час Другої світової війни вчений активно включився в боротьбу з фашизмом і зайняв офіційний пост члена Національної науково-дослідної комісії з оборони США. Він працював над створенням нового ракетного палива та пошуком нових джерел кисню для підводних човнів і літаків, а також для підтримки новонароджених та людей під час хірургічних операцій з анестезією, багато зробив для розробки замінників крові для військових і цивільних. Внесок Л. Полінга в перемогу над фашизмом було відзначено державною медаллю «За видатні заслуги перед Сполученими Штатами», яку йому особисто вручив Президент Г. Трумен в 1948 р.

Але після атомного бомбардування Сполученими Штатами в 1945 р. міст Хіросіми і Нагасакі в Японії Л. Полінг разом з А. Ейнштейном та іншими відомими в світі вченими включився в боротьбу за припинення випробувань і заборону виробництва ядерної зброї. Він підкреслював генетичну небезпеку для людства випробувань в атмосфері, виступав проти розробки водневої бомби в США, став одним з активних засновників *Пагв'юшського руху вчених* (англ. *Pugwash Conferences on Science and World Affairs*) за наукове співробітництво і міжнародну безпеку. Проти ядерних випробувань виступило 11 тис. вчених із 49 країн світу, серед яких було 52 нобелівські лауреати. Діяльність Л. Полінга сприяла тому, що спочатку всі ядерні держави добровільно припинили ядерні випробування в атмосфері, а в 1963 р. підписали між собою відповідний договір.

Під час так званої «холодної війни» антивоєнна діяльність Л. Полінга суперечила офіційній лінії США; Л. Полінга двічі викликали до Комісії з національної безпеки і він став «невійзним» через свої політичні погляди. Тому нагородження його Нобелівською премією миру в 1962 р. (за 1962 р.) було для Л. Полінга великою моральною підтримкою. У вступній промові від імені Норвезького нобелівського комітету Гуннар Ян заявив, що Л. Полінг «*постійно проводив компанію не тільки проти випробувань ядерної зброї, не тільки проти розповсюдження цих видів озброєння, не тільки проти їх використання, але проти будь-яких воєнних дій для вирішення міжнародних конфліктів*». А в своїй нобелівській лекції, яку Л. Полінг назвав

«*Наука і мир*» («*Science and Peace*»), він висловив сподівання, що договір про заборону ядерних випробувань покладе «*початок серії договорів, які приведуть до створення нового світу, де можливість війни буде назавжди виключена*».

У 1963 р., коли Л. Полінг отримав свою другу Нобелівську премію, він пішов з Каліфорнійського технологічного інституту і став професором-дослідником в Центрі вивчення демократичних інститутів у Санта-Барбарі (штат Каліфорнія). Через два роки він звільнився і став професором хімії Стенфордського університету в Пало-Альто (штат Каліфорнія).

Ще на початку 60-х років ХХ ст. Л. Полінг зацікавився проблемою наркозу і запропонував свою гіпотезу відносно *механізму дії анестетиків*. Тоді ж його зацікавила можливість використання *вітаміну С* та інших вітамінів для лікування і профілактики різних захворювань – від застудних до онкологічних. Вчений і його дружина самі регулярно приймали вітамін С (3 г аскорбінової кислоти на добу). У монографії «*Вітамін С і застуда*» («*Vitamin C and the Common Cold*»), яка вийшла в 1973 р., Л. Полінг узагальнив практичні свідчення і теоретичні викладки в підтримку терапевтичних властивостей вітаміну С. На початку 70-х років Л. Полінг сформулював теорію «*ортомолекулярної медицини*» (термін Л. Полінга), *основна ідея якої полягала у використанні вітамінів, амінокислот та інших присутніх в організмі речовин для коректування складу внутрішнього середовища і лікування захворювань*.

Для продовження досліджень терапевтичних властивостей вітамінів, у тому числі і для лікування онкологічних захворювань, Л. Полінг в 1973 р. створив *Науковий інститут ортомолекулярної медицини* в Каліфорнії. Через деякий час інститут отримав нову назву – *Науково-дослідний інститут науки і медицини імені Лайнуса Полінга*. Протягом перших двох років він був його президентом, а потім став професором. У 1979 р. Л. Полінг опублікував книгу «*Рак і вітамін С*» («*Cancer and Vitamin C*»), в якій стверджував, що використання значних доз вітаміну С подовжує життя і полегшує стан хворих певними видами раку. Правда, авторитетні дослідники онкологічних захворювань не вважають аргументи Л. Полінга переконливими. Але той факт, що Л. Полінг, який із 38 років страждав тяжкими хронічними

захворюваннями, до 93 років зберіг творчу активність, бадьорість, ентузіазм, вогонь у серці і в очах примушує повірити, що він знав «Як прожити довше і почуватися краще» (“*How to Live Longer and Feel Better*”) – це назва його останньої книги, яка вийшла в 1986 р. Всього Л. Полінг написав понад тисячі наукових статей, а також багато монографій і підручників.

Лайнус Полінг – видатний хімік ХХ ст., якого за широтою інтересів і творчий доробок іноді порівнюють з Леонардо да Вінчі, 19 серпня 1994 р. на своєму ранчо в Біг Сур (Каліфорнія) пішов з життя. За результатами анкетування, проведеного британським журналом «*New Scientist*», серед кількох сотень видатних вчених сучасності Л. Полінг увійшов у число двадцяти найвидатніших діячів науки всіх часів – поряд з Галілеєм, Ньютоном, Дарвіном, Ейнштейном та іншими.

Ім'ям Полінга названо астероїд. В Орегоні існує Інститут Лайнуса Полінга, де зберігають рукописи науковця і роблять їх доступними для вивчення й аналізу.

Окрім двох Нобелівських премій, Лайнуса Полінга нагороджено багатьма американськими і міжнародними нагородами і преміями; йому присуджено почесні ступені низки університетів. Його було обрано членом Лондонського королівського товариства, Американського філософського товариства, Баварської академії наук, Національної академії наук США, International Academy of Quantum Molecular Science, Французької академії наук, Американської академії наук і мистецтв, Академії наук СРСР, Королівського товариства Единбурга, Паризької медичної академії тощо [30-37].

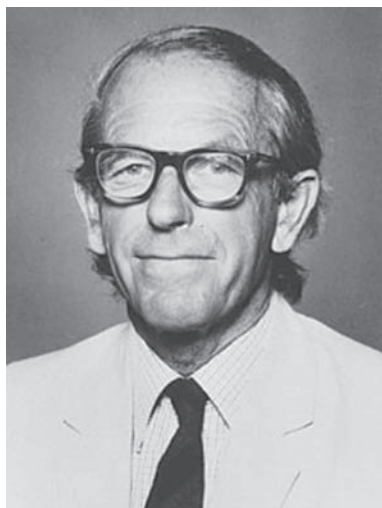
Насамкінець, треба ще раз наголосити, що, на відміну від більшості вчених, які створюють для себе певну наукову нішу, Лайнус Полінг мав надзвичайно широкий діапазон інтересів – *квантова механіка, кристалографія, структурна хімія, анестезія, імунологія, медицина, еволюція тощо*. І в усіх цих галузях, особливо в суміжних, він бачив, де заховано проблеми і, спираючись на останні наукові факти і свою феноменальну пам'ять, робив важливі й вирішальні відкриття. *Найвідомішим, особливо для біохіміків, він став завдяки вивченню хімічних зв'язків, відкриттю основних елементів вторинної структури протейнів – α -спіралі і β -структури, а також завдяки першій ідентифікації молекулярного (гене-*

тичного) захворювання – серпоподібноклітинної анемії. Л. Полінга можна, по праву, назвати також одним із засновників молекулярної біології в прямому розумінні цього терміну. Він займався нею в той час, коли цього поняття ще не існувало. Він близько підійшов до визначення структури «подвійної спіралі» ДНК, хоча Джеймс Уотсон (англ. *James Watson*) і Френсіс Крік (англ. *Francis Crick*) випередили його. У житті цього універсального вченого, мислителя-гуманіста віддзеркалились як найважливіші наукові відкриття ХХ століття, так і його політичні, інколи трагічні колізії.

Початок і середина ХХ ст. ознаменувались роботами ще одного видатного британського біохіміка і молекулярного біолога, двічі лауреата Нобелівської премії з хімії (1958 і 1980 рр.) за роботи в галузі білкової хімії та хімії нуклеїнових кислот *Фредеріка Сенгера*. Він є одним із чотирьох дослідників у світі (разом з *Лайнусом Полінгом, Марією Кюрі та Джоном Бардіном*), які отримали Нобелівську премію двічі, і другий, який отримав премію в одній категорії (Джон Бардін отримав дві премії з фізики). Серед інших нагород Сенгера варто відзначити також премію *Альберта Ласкера* за фундаментальні дослідження у галузі медицини (1979 р.).

Фредерік Сенгер

Фредерік Сенгер (англ. *Frederick Sanger*) народився 13 серпня 1918 р. в селищі Рендкомб графства Глостершир (Велика Британія). Він був другим сином у родині Фредеріка Сенгера та його дружини Цецилії (Cicely) – доньки текстильного магната. Батько був практикуючим лікарем. Під його впливом та навіть більше під впливом свого старшого брата Теодора Фредерік рано почав цікавитись біологією і проїнявся повагою до цієї науки та її наукових методів дослідження. Початкову та середню освіту Фредерік здобув у школі Брайанстоун в Дорсеті та коледжі Святого Джона (Іоанна) в Кембриджі. За власною оцінкою, він належав до категорії учнів «*вище середнього, але не найвищого рівня*». Розпочинаючи навчання в коледжі, Фредерік мав намір присвятити себе вивченню медицини, однак перед вступом до університету вирішив сконцентрувати свої зусилля і здібності на досягненні ширшої мети, ніж та, що була пов'язана з професією батька, а саме – науковій діяльності. Тому він вступив до Кембриджа, де почав вияв-



Фредерік Сенгер (1918–2013)

ляти неабиякий інтерес до біохімії, вперше почувши про цю науку від *Ернеста Болдвіна* та інших співробітників відділу біохімії, нещодавно створеного Ф. Гопкінсом. Як сподівався Ф. Сенгер, саме тут він мав здобути необхідні фундаментальні знання, що слугуватимуть йому науковою основою для розуміння суті живої матерії та подальшого вирішення багатьох проблем у галузі медицини. Багато років потому він напише: «Мені здавалось, що це був шлях до дійсного розуміння живої матерії та для розробки більш наукових основ з метою вирішення багатьох проблем, що стояли перед медициною».

Після отримання у 1939 році ступеня бакалавра природничих наук Британської академії, він залишився в університеті ще на один рік для подальшого поглибленого вивчення курсу біохімії, вразивши своїх учителів (та й самого себе) тим, що одержав найвищі бали на іспитах. Під час другої світової війни Фредерік відмовився від проходження служби в діючій армії з політичних та релігійно-етичних мотивів (він був квакером), і йому було дозволено продовжити навчання в аспірантурі для здобуття ступеня доктора філософії. Докторський ступінь він отримав у 1943 р. за роботу з вивчення метаболізму лізину та вирішення практичної проблеми, що стосувалася ролі азоту в клітинах томату, виконану у відділі біохімії разом із *А. Ньюбергером*. Саме А. Ньюбергер вважав, що Ф. Сенгер, був першим, хто навчив його дослідницькій роботі, і не тільки в технічному аспекті, а взагалі, визначивши її як життєвий шлях, і цій людині він багато чим завдячує.

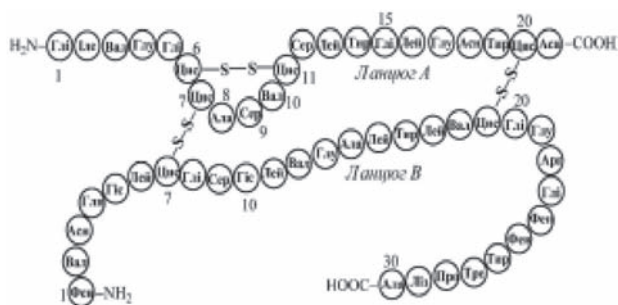
Після отримання докторського ступеня Ф. Сенгер увійшов до дослідницької групи, якою керував Е.Ч. Чібналл (англ. *A. C. Chibnall*), який замінив Ф. Гопкінса на посаді професора біохімії в Кембриджі (1943 р.). Дослідницька група під його керівництвом в той час займалась дослідженнями хімії протеїнів, зокрема *структурою інсуліну*. Ф. Сенгер, починаючи працювати разом з А. Чібналлом, займався ідентифікацією *вільних аміногруп в інсуліні*. Це був час особливо успішний для хімії протеїнів. Було розроблено нові методики для фракціонування біополімерів, з'явилась реальна можливість визначити точну хімічну структуру цих фундаментальних компонентів живої матерії.

Розпочати роботу з визначення протеїнової структури також спонукав інтерес Ф. Сенгера до методів хроматографії, які були розроблені британськими біохіміками Арчером Мартіном (англ. *Archer Martin*) та Річардом Сінгом (англ. *Richard Syng*) – нобелівськими лауреатами з хімії за 1952 рік, про яких ми писали раніше [38]. Використовуючи як модель для дослідження інсулін, який є відносно малою за розміром молекулою і який можна одержати у великій кількості, Ф. Сенгер розробив новий метод аналізу структури протеїнів і показав, що молекула інсуліну складається з двох поліпептидних ланцюгів, які з'єднані в одній молекулі двома дисульфідними зв'язками. Ланцюг А має 21 амінокислотний залишок, а ланцюг В – 30. Йому знадобилося майже десять років для того, щоб остаточно ідентифікувати 51 амінокислоту в молекулі цього протеїнового гормону.

В чому ж полягає розроблений Ф. Сенгером новий метод? Ще в 1945 р. Ф. Сенгер повідомив, що в м'яких лужних умовах *2,4-динітрофторбензол* може приєднуватись до азоту незарядженої вільної α -аміногрупи амінокислоти в протеїнах значно сильнішим зв'язком, ніж пептидний. Після цього протеїн кислотним гідролізом може бути розщеплений на складові амінокислоти з руйнуванням пептидного зв'язку, а амінокислоти, в тому числі і з динітрофенолом (динітробензолом), можна визначити хроматографічним методом. Утворення динітрофенольного похідного амінокислоти вказує на її присутність у N-кінці. Цей метод отримав назву як *метод Ф.Сенгера*. На початку дослідження інсуліну Ф. Сенгер виявив дві вільні N-кінцеві амінокислоти, з чого він і зробив висновок, що кожна молекула інсуліну

має два різні поліпептидні ланцюги. У 1949 р. він показав, що ці два ланцюги зв'язані між собою двома дисульфідними зв'язками.

Дослідження щодо встановлення послідовності амінокислот в ланцюгах Ф. Сенгер проводив разом з австрійським вченим Гансом Турпі (нім. *Gans Turpi*), який приїхав з Відня. З цією метою вони спочатку використовували кислотний гідроліз, а потім виявили, що різні протеолітичні ензими діють специфічно. У 1950 р. дослідники встановили послідовність тридцяти амінокислот у довгому ланцюзі (В) і тільки в 1953 р. Ф. Сенгер повністю встановив послідовність двадцяти однієї амінокислоти і в короткому ланцюзі (А). У 1955 р. Ф. Сенгер представив остаточну структуру дволанцюгової молекули інсуліну бика. Це була перша молекула протеїну, в якій було повністю з'ясовано послідовність амінокислот, тобто показана його **первинна структура**. Ці роботи стали також основою для одержання синтетичного інсуліну та інших гормонів.



Первинна структура інсуліну бика [39]

У 1958 р. Фредеріку Сенгеру одноосібно було присуджено Нобелівську премію з хімії «за його роботу зі структури протеїнів, особливо інсуліну» («for his work on the structure of proteins, especially that of insulin»). У своїй нобелівській лекції Ф. Сенгер підкреслив велике практичне значення проведеної ним роботи: «Встановлення структури інсуліну, безперечно, відкриває шлях до дослідження інших протеїнів. Можна також сподіватись, що вивчення протеїнів допоможе виявити зміни, які відбуваються в організмі під час хвороби, і що наші зусилля можуть принести людству велику практичну користь». Своїм відкриттям Ф. Сенгер дав можливість заглянути «всередину» молекули протеїну і тим самим відкрив нову еру в розвитку сучасної біохімії – хімії протеїнів.

Нобелівська премія мала дуже важливе значення для всієї подальшої наукової кар'єри Ф. Сенгера. Його залишили в Кембриджі, де він сконцентрував свої зусилля на суто фундаментальних дослідженнях, уникаючи, як тільки було можливо, викладацької та адміністративної роботи. Такий напрям професійної діяльності дозволив Ф. Сенгеру повірити в свої сили та з подвоєною енергією розпочати наступну роботу, остаточно ствердивши себе на обраному ним життєвому шляху. Цей успіх дозволив йому також отримати краще експериментальне обладнання і, що ще важливіше, залучити до своєї роботи багатьох здібних колег.

До 1943 року Ф. Сенгер не отримував жодної платні за свою роботу. Його фактично утримувала мати, яка була донькою досить багатого промисловця, що займався виробництвом бавовни. Від 1944 до 1951 року Ф. Сенгер обіймав посаду, яка давала йому змогу проводити досліди з експериментальної медицини, а з 1951 року його було зараховано в штат Медичної вченої ради Кембриджа.

Другу Нобелівську премію Ф. Сенгер отримав у 1980 р. за цикл фундаментальних досліджень з біохімії нуклеїнових кислот. Половину премії він розділив з *Уолтером Гільбертом* (англ. *Walter Gilbert*), а другу половину отримав *Пауль (Пол) Берг* (англ. *Paul Berg*). Першим автором у цьому списку Нобелівських лауреатів був П. Берг. *У. Гільберт та Ф. Сенгер отримали премію за цикл робіт із визначення послідовності нуклеотидів ДНК вірусу.*

Цю роботу було розпочато ще в 1962 році, коли Ф. Сенгер перейшов до новоствореної *Лабораторії молекулярної біології* в Кембриджі, якою керував *Макс Перуц* (нім. *Max Perutz*) і до якої входили такі видатні вчені, як *Ф. Крик*, *Дж. Кендрю*, *Г. Хаклі* та *А. Клаг*. В оточенні цих дослідників у Ф. Сенгера з'явився інтерес до вивчення нуклеїнових кислот. Хоча він і відчував труднощі в зв'язку з різкою зміною наукової тематики від протеїнів до нуклеїнових кислот, однак його інтерес до проблеми визначення первинної послідовності біомолекул – секвенування (*sequencing*) залишався незмінним. Насправді, ця проблема була в центрі його професійної діяльності ще з 1943 року через її актуальність, наукову привабливість та впевненість в тому, що *знання в цій галузі можуть дати більше інформації,*

яка є необхідною для розуміння основ структури та функціонування живої матерії. Суть його роботи з вивчення нуклеїнових кислот у цей період була резюмована у нобелівській лекції. Ф. Сенгер не раз наголошував, що успіхові в цій роботі він завдячує не стільки самому собі, скільки своїм висококваліфікованим співробітникам. Більшість із них були студентами та аспірантами, що працювали в лабораторії протягом кількох років; з ними Фредерік набував необхідного наукового досвіду й ідей, однак з особливою пошаною ставився він до своїх постійних колег – Б. Бареля, А. Каулсона та Г. Броунлі, які також зробили величезний внесок в розроблення нових методів дослідження.

Після завершення роботи з інсуліном Ф. Сенгер послідовно розробляв різні інші методи дослідження протеїнів і, особливо, активних центрів деяких ензимів, а на початку 60-х років минулого століття він розробив методи визначення невеликих послідовностей РНК. Кульмінацією цієї роботи стало створення в 1973 році дидезоксидної методики для секвенування ДНК. Цей відносно швидкий метод був застосований у 1977 р. для визначення послідовності ДНК бактеріофага *φx174*, що складається із 5 375 нуклеотидів, мітохондріальної ДНК людини (16 338 нуклеотидів) і бактеріофага λ (48 500 нуклеотидів). У подальшому метод було вдосконалено та автоматизовано для визначення послідовностей генома людини (3 біліони нуклеотидів). Результати роботи з розробки методу було опубліковано в 1977 р. в PNAS [40]. Ця робота Сенгера мала вирішальне значення для виникнення та подальшого розвитку науки – молекулярної біології.

Який же аналітичний метод встановлення нуклеотидної послідовності в ДНК був розроблений Ф. Сенгером? Запропонована ним процедура полягала в тому, що подвійний ланцюг ДНК розбивався на одинарні ланцюги (вони мали назву стренги) і кожний зразок починали відновлювати до первинної послідовності подвійного ланцюга, виходячи з шаблону одинарного ланцюга.

До одноланцюгової ДНК-матриці додається радіоактивно мічений праймер, повний набір дезоксирибонуклеозидтрифосфатів (*dNTP*), ДНК-полімераза та невелика кількість дидезоксирибонуклеозидтрифосфату, одного із чотирьох типів (наприклад, *ddATP*). Дидезоксирибонуклеотид відрізняється тим, що містить атом Н замість ОН-

групи не тільки при 2-му, а також і при 3-му атомі пентози. Включення такого нуклеотиду в ланцюг, що синтезується, призводить до зупинки подальшого зростання ланцюга внаслідок відсутності 3, ОН-групи на його кінці. Оскільки *ddATP* присутній у невеликій кількості, така подія буде відбуватися в усіх точках ланцюга, де аденін розташований напроти тиміну в складі матриці. Денатурацією продуктів реакції отримують набір мічених одноланцюгових фрагментів від праймера до кінцевого аденіну. Довжина цих фрагментів у нуклеотидах визначить порядковий номер аденіну в складі ланцюга.

З метою визначення довжини фрагментів проводять *гель-електрофорез у денатуруючих умовах*, на сусідні лунки гелю наносять також продукти синтезу у присутності інших дидезоксирибонуклеотидів. Після електрофорезу йде візуалізація смуг; розподіл смуг дозволяє прочитати послідовність азотистих основ.

В іншому методі секвенування, методі Максама–Гілберта (англ. *Allan Maxam, Walter Gilbert*) замість ензиматичного синтезу застосовували хімічне розривання ланцюга на нуклеотиди певного типу. Отримані фрагменти різної довжини так само розділяли методом електрофорезу.

Сьогодні метод Сенгера використовується в роботі автоматичних *секвенаторів*, в яких замість радіоактивно мічених застосовуються *флуоресцентно мічені праймери*. Для кожної з чотирьох реакцій беруть чотири різні флуоресцентні мітки, котрі випромінюють світло в різних спектральних діапазонах. Продукти всіх чотирьох реакцій наносять на гель для електрофорезу разом. Сканування гелю після електрофорезу лазерним променем, що збуджує флуоресценцію, дозволяє ідентифікувати продукти різних реакцій, тобто різні кінцеві нуклеотиди, і, таким чином, негайно прочитати послідовність.

Цей метод визначення нуклеотидної послідовності ДНК є швидким, відносно простим, недорогим та надійним. Окрім того, що нуклеотидна послідовність фрагмента ДНК є його вичерпною характеристикою на молекулярному рівні, вона дозволяє також ідентифікувати кодуючу ділянку, підібрати потенційні праймери для полімеразної ланцюгової реакції, виявити мутаційні зміни в гені. *Можливість прямого секвенування стала справжньою революцією в дослідженні молекулярних основ різних хвороб*

людини, а також у розробленні їх діагностики та лікування.

Методом секвенування в 1995 р. був розшифрований перший ген бактерії *Haemophilus influenzae*, в 1996 р. – геном еукаріотичної клітини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, в 1998 р. – геном нематоїди *Caenorhabditis elegans*. В 1990 р. розпочався проект «Геном людини», який завершився в 2003 р., а 27 травня 2004 р. була опублікована майже повна послідовність (92%) нуклеотидів у геномі людини. І все це зроблено ще за життя Фредеріка Сенгера.

Як відомо, створення нових методів є необхідною передумовою для розвитку будь-якої галузі науки. Вони дозволяють отримувати нову, недоступну раніше інформацію, що, в свою чергу, сприяє глибшому розумінню сутності спостережуваних явищ, і спонукають до подальших досліджень, які породжують нові відкриття. Що стосується молекулярної біології, то рушійною силою її бурхливого розвитку стали нові потужні методи, серед яких передусім слід назвати саме метод секвенування ДНК Сенгера.

У 1980 р. Фредерік Сенгер і Волтер Гілберт отримали половину Нобелівської премії з хімії «за внесок у встановлення послідовностей основ у нуклеїнових кислотах» («for their contributions concerning the determination of base sequences in nucleic acids»). Другу половину премії було присуджено Полу Бергу «за фундаментальні дослідження біохімії нуклеїнових кислот, особливо рекомбінантних ДНК» («for his fundamental studies of the biochemistry of nucleic acids particular regard to recombinant DNA»). «Ці троє вчених – сказав у промові від імені Шведської королівської академії наук Б. Г. Мальстрем – зробили можливим глибоке проникнення в наше розуміння взаємозв'язку між хімічною структурою і біологічною функцією генетичного матеріалу». Технології, розроблені цими нобеліантами та їхніми колегами, дозволили не тільки оперувати генами для створення нових фармацевтичних препаратів, таких як інтерферон і гормони росту, але й вперше так глибоко зануритись у молекулярну біологію вищих організмів. Це було початком нового наукового напрямку – генної інженерії.

Після завершення у 1983 році наукової кар'єри більшість часу Фредерік Сенгер проводив у своєму саду. Вірним другом та помічником у тій частині його життя, що не була пов'язана

з наукою, залишалась його дружина Маргарет Джоан. Фредерік Сенгер одружився з Маргарет Джоан Хоув в 1940 р. Хоча дружина дослідника не займалася науковою діяльністю, вона мала на його роботу більший вплив, ніж будь-хто, забезпечуючи мир та злагоду в родині. У 1943 та 1946 рр. у них народилося двоє синів – Робін та Пітер, а в 1960 році – донька Саллі Джоан. Окрім своєї основної роботи, Ф. Сенгер виявляв неабиякий інтерес до садівництва, а також до веслування в затишних водоймах.

Ф. Сенгер пішов із життя 19 листопада 2013 р., у віці 95 років, в Кембриджі. За відгуками більшості осіб, що були особисто знайомі з Фредеріком Сенгером, він завжди був і залишається в пам'яті науковців справжнім джентльменом, винятково ввічливою, привітною, люб'язною та чарівною людиною.

Пам'ять Сенгера увічнено створенням у 1992 році організацією Wellcome Trust разом з Британською Радою з медичних досліджень Інституту Сенгера (англ. *The Wellcome Trust Sanger Institute*) – геномного дослідницького центру в Кембриджширі з метою дослідження генома людини та інших організмів. Названо його на честь Фредеріка Сенгера.

Ф. Сенгер був удостоєний численних нагород, серед яких: медаль Кордей-Моргана і премія Британського хімічного товариства (1951), премія Альфреда Бензонса Фонду Альфреда Бензонса (1966), Медаль королівського товариства (1969), щорічна нагорода Гарднерівського фонду (1971 і 1979), медаль Коплі Лондонського королівського товариства (1977), премії Альберта Ласкера за фундаментальні медичні дослідження (1979). Сенгер був почесним членом Американського товариства біохіміків і Американської Національної академії наук, мав почесні ступені університетів Лестера і Страсбурга, а також Кембриджа і Оксфорда тощо [41-45].

Завершуючи розповідь про Фредеріка Сенгера – видатного вченого, двічі лауреата Нобелівської премії, слід ще раз наголосити, що він уперше припустив наявність упорядкованості в структурі протеїнів і був першим серед дослідників, хто визначив первинну амінокислотну послідовність протеїну. При цьому Ф. Сенгер довів, що впорядкованість структури протеїну має аналогію з послідовністю генів у ДНК, і тому вона має бути підпорядкована таким самим законами. Він також досяг вагомих резуль-

татів у розробленні нових методів визначення лінійної послідовності амінокислот у протеїнах, які згодом використав для встановлення повної амінокислотної послідовності двох поліпептидних ланцюгів А та В інсуліну. Він встановив, що протеолітичні ензими можуть розривати пептидні зв'язки тільки між певними амінокислотними залишками.

Роботи Ф. Сенгера мали величезний вплив на розвиток біохімії і, особливо, на розвиток нового наукового напрямку – молекулярної біології. Запропоновані ним методи визначення первинної структури протеїнів і нуклеїнових кислот допомогли біохімікам та молекулярним біологам визначити структуру багатьох протеїнів і нуклеїнових кислот, заклали основи *генної інженерії*.

Отже, Фредерік Сенгер першим встановив, що протеїни не є сумішшю споріднених сполук, вони є хімічними речовинами з унікальною структурою і кожне місце в поліпептидному ланцюзі займає певна амінокислота. Але залишалось нез'ясованим питання яким же чином ця протеїнова молекула розміщується в просторі? Це складне питання змогли вирішити англійські біохіміки Макс Ф. Перуц (Перутц) і Джон К. Кендрю, які рентгеноструктурним методом встановили будову протеїнів гемоглобіну і міоглобіну в просторі і яким в 1962 р. було присуджено Нобелівську премію з хімії «за дослідження структури глобулярних протеїнів» (*or their studies of the structures of globular proteins*).

Макс Ф. Перуц

Англійський біохімік, молекулярний біолог і кристалограф австрійського походження Макс Фердинанд П'еруц (Перутц) (нім. *Max Ferdinand Perutz*) народився 19 травня 1914 р. у Відні (Австро-Угорщина) в родині Х'юго і Адель (Голдсміт) Перуц. Батьки походили з багатих родин текстильних фабрикантів і хотіли, аби Макс вивчав юриспруденцію і в майбутньому займався родинним бізнесом. Але Макс зацікавився хімією, коли ще навчався в середній школі. Тому в 1932 р. він вступив до Віденського університету спочатку на відділення неорганічної хімії, проте швидко зрозумів, що неорганічна хімія йому нецікава, і перейшов на відділення органічної хімії. Саме там, вивчаючи органічну хімію, молодий М. Перуц вперше почув про дослідження в галузі рентгенівської кристалографії, які тоді



Макс Ф. Перуц (1914–2002)

проводились в Кембриджському університеті. І тому після закінчення університетської освіти у Відні М. Перуц в 1936 р. їде до Кембриджа, щоб працювати у всесвітньовідомого фізика-кристалографа Джона Десмонда Бернала (англ. *John Desmond Bernal*) у Кавендиській лабораторії (англ. *Cavendish Laboratory*).

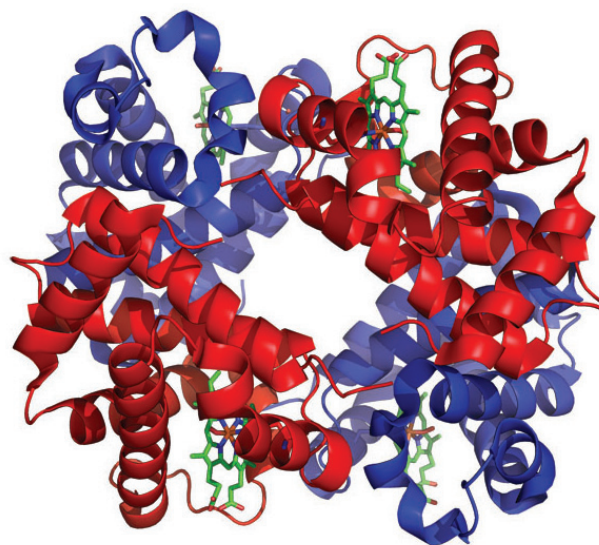
Метод рентгенівської кристалографії започаткував ще в 1912 р. Макс фон Лауе (нім. *Max von Laue*) – нобелівський лауреат з фізики в 1914 р. («за відкриття дифракції рентгенівськими променями на кристалах»). І вже через два роки сер Вільям Генрі Брегг (англ. *Sir William Henry Bragg*) і його син сер Вільям Лоренс Брегг (англ. *Sir William Lawrence Bragg*) – нобелівські лауреати з фізики у 1915 р. «за дослідження кристалів за допомогою рентгенівських променів» – цим методом досліджували достатньо прості кристали, такі як хлорид натрію, що складаються всього з кількох видів атомів. Але Дж. Бернала цікавили складніші структури, такі як протеїни, і він сподівався, що дослідження методом рентгенівської кристалографії дозволить зрозуміти функцію конкретних протеїнів. Цією проблемою зайнявся і М. Перуц, який добре оволодів методом дифракції рентгенівських променів у Дж. Бернала та фізика Ісидора Фанкюхена і приступив до дослідження кристалів гемоглобіну – глобулярного протеїну еритроцитів крові, що переносить кисень. Слід зазначити, що гемоглобін у своїй структурі має непротеїнову частину – гем і протеїн глобін.

У 1938 р. Дж. Бернал пішов з університету, а через рік М. Перуц лишився фінансової підтримки батьків через анексію Австрії нацистами. Саме в цей час Вільям Лоренс Брегг (син),

який незадовго до того почав також працювати в Кембриджському університеті, допоміг йому отримати субсидію фонду Рокфеллера. Завдяки цій субсидії М. Перуц залишився асистентом-дослідником у В. Л. Брегга і в 1940 р. отримав докторський ступінь. Але через рік його було інтерновано до Канади як підданого ворожій держави. Тим не менш, його інтерес до кристалічних властивостей льодовиків привів до того, що в 1943 р. його було призначено співробітником секретного проекту союзників, в рамках якого він досліджував можливість використання льодовиків для побудови аеродромів (літовищ). Але цей проект насправді ніколи не був реалізований.

Після закінчення Другої світової війни М. Перуц отримав стипендію від компанії «Imperial Chemical Industries» для проведення досліджень і повернувся до Кавендіської лабораторії для подальшого вивчення гемоглобіну. Через два роки, коли строк виплати стипендії закінчився, його було призначено керівником групи молекулярної біології в Кембриджському університеті, яка тільки-но була створена Медичною науково-дослідною радою в 1947 р. Спочатку в М. Перуца був тільки один колега *Джон К. Кендрю*, який на той час готував докторську дисертацію, досліджуючи рентгенівським методом кристали міоглобіну – протеїну м'язів людини і тварин. Але згодом штат групи з молекулярної біології поповнився за рахунок *Френсіса Кріка* (1949 р.), *Джеймса Вотсона* (1951 р.), а пізніше – *Фредеріка Сенгера*, про якого йшлося вище. Ось така суперпотужна група науковців, майбутніх нобелівських лауреатів, під керівництвом *М. Перуца* зайнялась пошуками упорядкованості спочатку в структурі молекул протеїнів, а пізніше і нуклеїнових кислот. Вони виходили з того, що якщо така упорядкованість дійсно існує, то методом спроб і помилок можна розшифрувати будову цих складних молекул і побудувати їх моделі в просторі.

Для вирішення структури гемоглобіну М. Перуцем був використаний *метод рентгенівської кристалографії*, відомий як *метод ізоморфного заміщення*, який полягає в тому, що в молекулу кристалічного протеїну вводять атом важкого металу, такого, наприклад, як ртуть, який приєднується до конкретного атома в молекулі протеїну. Атоми важкого металу спричинюють більш значне відхилення рентгенівських



Тривимірна структура гемоглобіну, класичного глобулярного білка [46]

променів і при цьому утворюється інша дифракційна картинка. Порівнюючи дві картинки (без ртуті і з додаванням ртуті), можна встановити місцезнаходження специфічних атомів і, таким чином, одержати важливу інформацію відносно структури молекули в кристалі.

У 1953–1956 рр. М. Перуц одержав значну кількість рентгенівських знімків молекули гемоглобіну, в кожному з яких атом важкого металу знаходився в різних місцях. За наступні чотири роки вчений зібрав вже тисячі фотографічних пластинок, обробив отримані на них дані в комп'ютері і в 1960 р. запропонував модель тривимірної структури гемоглобіну.

Отже, вдосконалений метод рентгеноструктурного аналізу дифракції, яка спостерігається на протеїнових кристалах у присутності солей важких металів, дозволив Перуцу вперше в світі одержати дані про просторову структуру протеїну, зокрема гемоглобіну. Результати цих досліджень були опубліковані в лютневому номері журналу «Nature» за 1960 рік разом з відкриттям тривимірної структури міоглобіну Джоном Кендрю. І вже за два роки, в 1962 р., *Максу Перуцу* і *Джону Кендрю* було присуджено Нобелівську премію з хімії «за дослідження структури глобулярних протеїнів» («for their studies of the structures of haemoglobin and myoglobin»). У своїй вступній промові від імені Шведської Королівської академії наук *Гуннар Хагг* сказав: «Завдячуючи внеску *М. Перуца* і *Д. Кендрю* з'явилась

можливість бачити принципи, які лежать в основі структури глобулярних протеїнів. Це дослідження означає великий крок в розумінні процесів життя». У нобелівській лекції М. Перуц підкреслив, що «відкриття помітної структурної зміни, якою супроводжується взаємодія гемоглобіну з киснем, дає змогу вважати, що можуть існувати й інші ензими, які змінюють свою структуру у разі приєднання до них субстрату, і це, можливо, є важливим фактором в ензимному каталізі».

Після отримання Нобелівської премії М. Перуц продовжив досліджувати глобулярні протеїни. Він вдосконалив створену ним модель гемоглобіну і зміг показати, яким чином функціонує ця структура під час перенесення кисню. Згодом метод Перуца був застосований для аналізу структури десятків тисяч інших протеїнів. Крім того, Перуц досліджував структурні особливості протеїнів за патологій. Він вважав, що гемоглобін може бути використаний як рецептор лікарських препаратів і що будуть знайдені способи зміни його структури за генетичних мутацій, наприклад, за *серпоподібноклітинної анемії*. Він також цікавився змінами структури гемоглобіну в процесі еволюції, а в останні роки свого життя – змінами структури протеїнів за хвороби Гантінгтона (відома також як хорія Гантінгтона) та інших нейродегенеративних захворювань. Він заклав основи аналізу взаємодії протеїнів з низькомолекулярними сполуками, які наразі використовуються для дизайну лікарських препаратів у фармацевтичній індустрії.

У 1979 р. він пішов з посади керівника *Лабораторії молекулярної біології* (яка раніше була *групою молекулярної біології*). Його величезною заслугою було також і те, що в Кембриджі під дахом цієї лабораторії він зібрав, навчив і дав напрям у науці цілій плеяді видатних науковців, роботи яких в наступні роки були високо оцінені Нобелівським комітетом за їхній надзвичайно вагомий внесок в розвиток як біохімії, так і молекулярної біології. М. Перуц багато зробив і як голова Європейської організації молекулярних біологів. Він був головою Європейської організації молекулярних біологів у 1963–1969 рр., професором фізіології Королівського інституту в Лондоні (1977–1979 рр.), консультантом у Британському міністерстві оборони.

М. Перуц був одружений на Гізелі Кларі Пейзер, яка працювала фотографом медичної

служби (1942 р.). У подружжя народилися син і донька. Запеклий лижник і альпініст, свою зацікавленість льодовиками свого часу він пояснював тим, що це був, «головним чином, привід для роботи в горах». Колеги вважали його досить сором'язливим, але в роботі він зарекомендував себе як надзвичайно креативний і наполегливий дослідник.

М. Перуц пішов із життя 6 лютого 2002 р. у Кембриджі.

Крім Нобелівської премії, його нагороджено медаллю Вільгельма Екснера (1967), FEBS Sir Hans Krebs Medal (1968, перший з удостоєних), Королівською медаллю (1971) і медаллю Коплі (1979); він був членом Лондонського королівського товариства, іноземним членом Французької і Американської академії наук, мав почесні ступені університетів Единбурга, Нориджа, Зальцбурга і Відня тощо [47-50].

Разом з М. Перуцем Нобелівську премію з хімії в 1962 р. отримав його учень і колега англійський біохімік, спеціаліст в галузі молекулярної біології, хімік, кристалограф *Джон К. Кендрю*.

Джон К. Кендрю

Кендрю Джон Коудері (англ. *Sir Kendrew John Cowdery*) народився 24 березня 1917 р. в Оксфорді (Велика Британія). Він був єдиним сином Уїлфріда Джорджа Кендрю, відомого кліматолога, який викладав в Оксфордському університеті, і Евелін Мей Грем (Сендберг) Кендрю, історика мистецтв, яка спеціалізувалась на іта-



Джон К. Кендрю (1917–1997)

лійських художниках-примітивістах. Молодий Джон отримав освіту спочатку в Дрегон–скул в Оксфорді, а потім у Кліфтон–коледжі в Брістолі, де й вирішив зайнятись наукою. З цією метою він вступив не до Оксфордського університету, де працював його батько, а до Кембриджського. Там в 1939 р. Дж. Кендрю отримав ступінь бакалавра природничих наук, а в 1943 р. – ступінь магістра.

Від 1940 р. під час Другої світової війни, Дж. Кендрю служив у Міністерстві промислової авіації як молодший офіцер і науковий співробітник. У 1944 р. він став науковим радником головнокомандувача військово-повітряних сил союзників у Південно-Східній Азії. Але наприкінці війни Дж. Кендрю познайомився з відомим фізиком і хіміком Дж. Берналом і американським хіміком Л. Полінгом і, як і вони, зацікавився проблемою молекулярної структури протеїнів. Тому в 1946 р. він залишив державну службу і став працювати в Кембриджі разом з М. Перуцем у Кавендиській лабораторії, де в 1949 р. отримав ступінь доктора філософії, а в 1962 р. став доктором природничих наук.

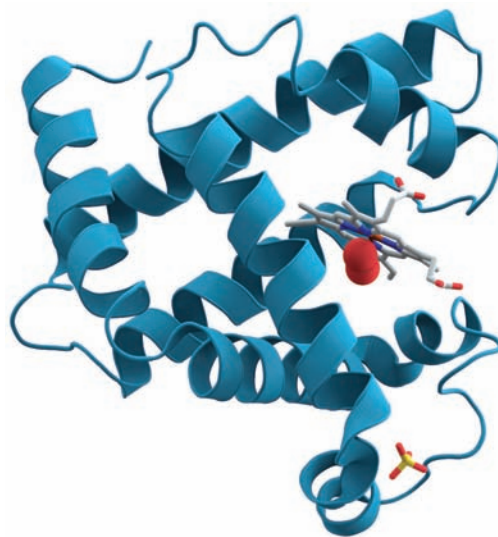
У 1947 р. Дж. Кендрю разом з М. Перуцем перейшли працювати до заново створеної Медичною науково-дослідною радою *групи молекулярної біології* при Кавендиській лабораторії. Спочатку їм удвох довелося проводити дослідження просто в сараї, що не вплинуло на їхні блискучі кінцеві результати.

В той час, коли Дж. Кендрю почав працювати в Кавендиській лабораторії, М. Перуц досліджував молекулярну структуру *гемоглобіну*, використовуючи метод рентгенівської кристалографії. Як його найближчий помічник Дж. Кендрю зайнявся встановленням структури м'язового протеїну – *міоглобіну*. Хоча структура міоглобіну простіша за гемоглобін, при його вивченні виникли значні труднощі. До складу міоглобіну входить приблизно 50 амінокислотних залишків – це майже 2600 атомів. Визначення місцезнаходження кожного атома методом рентгенівської кристалографії залежить перш за все від вірної інтерпретації отриманих даних.

Спочатку вихідним джерелом для одержання міоглобіну було *серце коня*, але отримані кристали були дуже малі для рентгенографії. Дж. Кендрю розумів, що найбільший вміст міоглобіну має бути в м'язах тих тварин, які можуть довго знаходитись під водою (ссавців,

що пірнають, а для того накопичують кисень в м'язах). Випадкова зустріч привела до того, що він отримав великий шматок *м'яса кита* з Перу. І дійсно, з м'яса кита він виділив великі кристали міоглобіну, придатні для рентгенографічного аналізу. Але проблема отримання хорошої рентгенограми міоглобіну залишалась. Справа в тому, що для дослідження гемоглобіну М. Перуц запропонував метод ізоформного заміщення (введення атомів металів у кристали протеїнів). Дж. Кендрю виявив, що цей метод не можна використати для з'ясування структури міоглобіну, оскільки його кристали не «утримують» атоми ртуті. Тому необхідно було шукати для заміщення атоми інших важких металів. На 1957 р. дослідники на чолі з Дж. Кендрю змогли розрізнити в кристалах міоглобіну атоми, які розміщені на відстані шести ангстрем (0,6 нм). Хоча за таких масштабів дифракційна картинка не дає можливість встановити місцезнаходження окремих атомів, вони побачили *«таке, чого ніхто раніше не бачив, – згадував пізніше Дж. Кендрю. – Це була тривимірна молекула протеїну в усій її складності»*. У цій структурі Дж. Кендрю виявив наявність α -спіралі, передбачену в 1951 р. Ф. Сенгером. З цього приводу він повідомив: *«Найдивовижнішою особливістю цієї молекули була її упорядкованість і повна відсутність симетрії»*.

Ці особливості ще більше виявились в 1959 р., коли Дж. Кендрю отримав зображення молекули міоглобіну за умов дозволеної здатності в 2 ангстрем (0,2 нм). Це досягнення ста-



Модель міоглобіну [51]

ло можливим завдяки використанню потужних комп'ютерів для проведення математичних розрахунків. Результати цих досліджень було опубліковано в журналі «Nature» в 1960 р. разом з результатами роботи М. Перуца з дослідження гемоглобіну, про що йшлося раніше.

Саме «за дослідження глобулярних протеїнів» в 1962 р. Джон Кендрю і Макс Перуцу було присуджено Нобелівську премію з хімії. В своїй нобелівській лекції Дж. Кендрю відзначив: «Протеїни унікальні в тому сенсі, що в них поєднується велике розмаїття функцій і складність конструкції з відносною простотою і однаковою хімічною будовою. Встановлення структури тільки двох протеїнів, що ми зробили, це не кінець, а тільки початок. Перед нами виникло узбережжя Великого континенту, який очікує своїх дослідників».

Від 1953 до 1974 р. Дж. Кендрю був заступником завідувача Лабораторії молекулярної біології (раніше групи молекулярної біології) в Кембриджі, а в 1975 р. став першим директором Європейської лабораторії молекулярної біології в Гейдельберзі (Німеччина), яким він залишався до 1982 р. У 1981 р. вченого було обрано президентом коледжу св. Іоанна Оксфордського університету, де в 2010 р. на його честь поставлено пам'ятний знак. Він був засновником і багаторічним головним редактором часопису «**Journal of Molecular Biology**». Від 1974 до 1988 р. Дж. Кендрю був послідовно генеральним секретарем, віце-президентом і президентом Міжнародної ради наукових спілок. Він був членом Британської асоціації сприяння розвитку науки, а від 1974 р. до 1979 р. – опікуном Британського музею.

Пішов з життя Джон Кендрю 23 серпня 1997 р. у віці 80 років в Кембриджі (Велика Британія). Він не був одружений. Колеги вважали його людиною спокійною, скромною і вразливою. У вільний час він любляв слухати музику і зібрав значну колекцію записів композиторів-класиків.

Крім Нобелівської премії, Дж. Кендрю було нагороджено медаллю Лондонського королівського товариства (1965 р.), а в 1963 р. його було посвячено в пери Великої Британії. Він був почесним членом багатьох академій наук і мав почесні наукові ступені низки університетів [52-55].

Отже, проривні роботи Ф. Сенгера, М. Перуца і Д. Кендрю, які встановили первинну і третинну структуру таких протеїнів, як інсулін, гемоглобін і міоглобін, створили в ХХ ст. новий потужний напрям в галузі хімії та біохімії протеїнів. А розроблені ними методи дослідження біополімерів стали додатковим стимулом для розшифрування в майбутньому структури не тільки багатьох інших протеїнів, але й ще одних життєво важливих сполук — нуклеїнових кислот.

THE CONTRIBUTION OF NOBEL PRIZE LAUREATES TO RESEARCH OF THE PROTEIN STRUCTURE: J. SUMNER, J. NORTHROP, W. STANLEY, L. PAULING, F. SANGER, M. PERUTZ, J. KENDREW

V. M. Danilova, R. P. Vynogradova,
S. V. Komisarenko

Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: valdan@biochem.kiev.ua

The second half of the 20th century was marked by remarkable discoveries in the chemistry and biochemistry of proteins, in particular, in establishing the protein structure. James Sumner, John Northrop, and Wendell Stanley, the Nobel Laureates in chemistry in 1946, were the first to isolate individual enzymes and viruses in a pure crystalline form and prove their protein nature, thereby making an invaluable scientific contribution to the development of important biological disciplines such as biochemistry, enzymology, virology, and molecular biology. A significant contribution to understanding chemical bonding in the formation of the different levels of a protein structure was made by Linus Pauling – a prominent American scientist of the 20th century. He was awarded the Nobel Prize in Chemistry in 1954 “for his research into the nature of the chemical bond and its application to the elucidation of the structure of complex substances”. Biochemists know him well as the author of the secondary structure of proteins - the α -helix and the β -sheet. Frederick Sanger, a two-time Nobel Prize winner (1958 and 1980), was the first among researchers who determined the primary amino acid sequence of a protein, for example, of two insulin polypeptide chains A and B. F. Sanger proved that the sequence nature of proteins' structures is analogous to that of gene

sequences in the DNA, and thus, the same principles may be applied. The difficult question of how a protein molecule is arranged in space was answered by the English biochemists Max F. Perutz and John C. Kendrew. They determined the three-dimensional structure of hemoglobin and myoglobin proteins by X-ray diffraction and were awarded the Nobel Prize in Chemistry in 1962 “for their studies of the structures of globular proteins”.

Key words: J. Sumner, J. Northrop, W. Stanley, L. Pauling, F. Sanger, M. Perutz, J. Kendrew, proteins, structure, urease, pepsin, trypsin, tobacco mosaic virus, α -helix, β -structure, insulin, hemoglobin, myoglobin.

References

1. Danylova TV, Komisarenko SV. Scientific investigations of the Nobel Prize winner Emil Fischer as a launching pad for the development of biochemistry: a brief overview. *Ukr Biochem J.* 2018; 90(4): 135-142.
2. Danilova VM, Vynogradova RP, Komisarenko SV. The contribution of the Nobel Prize laureates to the development of dynamic biochemistry and bioenergetics. E. Buchner, A. Kossel, R. Willstätter, O. Meyerhof, A. Hill, O. Warburg, A. Szent-Györgyi. *Ukr Biochem J.* 2019; 91(1):108-126.
3. Vynogradova RP, Danilova VM, Komisarenko SV. The Nobel laureates' contributions to the study of carbohydrate metabolism and its regulation. A. Harden, H. Euler-Chelpin, C. F. Cori, G. T. Cori, E. Sutherland, L. F. Leloir, H. Krebs, F. Lipmann, P. Mitchell. *Ukr Biochem J.* 2020; 92(1): 135-163.
4. Sumner James Batcheller. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M-Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 351-354.
5. Sumner James Batcheller. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/himiya/SAMNER_DZHEMS_BETCHELLER.html.
6. Regime of access : <https://indicator.ru/chemistry-and-materials/dzhejms-samner.htm>.
7. Leonard A. Maynard. James Batcheller Sumner. 1887-1955. National Academy of sciences, Washinton. 1958.
8. Regime of access : <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1946/sumner/biographical/>
9. Nortrop John Howard. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M-Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 165-166.
10. John H. Northrop. Regime of access : <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1946/northrop/biographical>.
11. Roger M. Herriott. John Howard Northrop. National Academy of Sciences. 1994. Biographical Memoirs: V.63. Washington, DC: The National Academies Press.
12. Northrop JH. Crystalline pepsin. *Science.* 1929; 69(1796): 580.
13. Northrop JH. Crystalline pepsin : I. Isolation and test purity. *J Gen Physiol.* 1930; 13(6): 739-766.
14. Northrop JH. Crystalline pepsin : II. General properties and experimental methods. *J Gen Physiol.* 1930; 13(6): 767-780.
15. Northrop JH, Kunitz M. Crystalline trypsin : I. Isolation and tests of purity. *J Gen Physiol.* 1932; 16(2): 267-294.
16. Northrop JH, Kunitz M. Isolation of protein crystals possessing tryptic activity. *Science.* 1931; 73(1888): 262-263.
17. Vynogradova RP, Danilova VM, Komisarenko SV. Development on knowledge of hormone biochemistry in the works of the Nobel prize laureates of the first half of the 20th century: F. G. Banting, John J. R. Macleod, H. O. Wieland, A. O. Windaus, A. F. Butenandt, L. Ružička, E. Kendall, P. Hench, T. Reichstein. *Ukr Biochem J.* 2019; 91(3): 107-126.
18. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/Вирус_табачной_мозаики.
19. Wendell Meredith Stanley. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M-Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 452-454.
20. Regime of access : <https://uk.wikipedia.org/wiki/stanley.htm>.
21. Regime of access : <https://n-t.ru/nl/hm/stanley.htm>.
22. Wendell M. Stanley. Regime of access : <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1946/Stanley/biographical>.
23. Schachman HK, Ballou CE, Arthur Knight C. Wendell Meredith Stanley, Molecular Biology; Biochemistry: Berkeley. University of California: in Memoriam, 1974, p. 95-97, Academic Senate-Berkeley-Division.
24. Colvig R. Wendell M. Stanley, PhD, (1905-1971). *Cancer.* 1972; 29(2): 541-542.

25. Wendell M. Stanley. The isolation and properties of crystalline tobacco mosaic virus, Nobel Lecture, December 12, 1946.
26. Regime of access : <http://chem.msu.ru/rus/elibrary/nobel/1946-Sumner,Northrop,Stanley.html>
27. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Nobel Prize Winner Erwin Schrödinger: The physicist, philosopher, and godfather of molecular biology and genetics. *Ukr Biochem J.* 2020; 92(3): 93-100.
28. Alpha helix. Regime of access : <https://uk.wikipedia.org/wiki/>
29. Secondary catalase structure. Regime of access : <https://ru.wikipedia.org/wiki/>
30. Pouling Linus Carl. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M-Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 232-237.
31. Kakhovsky L. The 20th century chemist. *Himia i zhizn.* 1995; (7): 8-15.
32. Linus Pouling - the greatest chemist of the 20th century (to the 100th birthday anniversary). Regime of access : <http://www.chem.msu.su/zorkii/istkhim/paulin.html>.
33. Regime of access : <https://ru.wikipedia.org/wiki>
34. Regime of access : <http://www.chem.msu.su/rus/journal/chemlife/poling.html>
35. Linus Pauling. X-ray crystallography and the nature of the chemical bond. Oregon State University's Special Collection, April 1991. Regime of access : <http://scarc.library.oregonstate.edu/coll/pauling/bond/notes/1991a3.3.html>.
36. Ridgway D. Interview with Linus Pauling. *J Chem Educ.* 1976; 53(8): 471-476.
37. Linus Pauling. The last interview. 1994 The Institute for Optimum Nutrition. Regime of access : <http://www.internetwks.com/pauling/lastpinv.html>.
38. Grigorieva MV, Danilova VM, Komisarenko SV. Brownian motion, electrophoresis, chromatography, and macromolecular chemistry: how it all unites Nobel laureates of the first half of the 20th century – T. Svedberg, A. Tiselius, R. Synge and H. Staudinger. *Ukr Biochem J.* 2019; 91(5): 70-79.
39. Regime of access : <https://studfile.net/preview/8172226/>
40. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA Sequencing With Chain-Terminating Inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1977; 74(12): 5463-5467.
41. Frederick Sanger. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M-Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 379-383.
42. Regime of access : https://en.wikipedia.org/wiki/Frederick_Sanger
43. Regime of access : <http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/nobel/1958-Sanger.html>.
44. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/himiya/SENGER_FREDERIK.html.
45. Levytsky EL. Frederick Senger is one of the founders of modern biotechnology. *Biotechnology.* 2008; 1(1): 123-125.
46. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/Globular_proteins.
47. Max Ferdinand Perutz. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M-Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 214-216.
48. Regime of access : https://en.wikipedia.org/wiki/Max_Perutz.
49. Regime of access : <http://www.pluschem.chimfak.rsu.ru/Source/History/Persones/Perutz.html>.
50. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka/himiya/Perutz_Maks_Ferdinand.html
51. Regime of access : <https://ru.wikipedia.org/wiki/myoglobin>.
52. Kendrew John Cowdery. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A-L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 541-543.
53. Regime of access : https://en.wikipedia.org/wiki/John_Kendrew.
54. Kendrew John. Regime of access : <https://uk.wikipedia.org/wiki>.
55. Regime of access : <http://www.physchem.chimfak.rsu.ru/Source/History/Persones/Kendrew.html>.