

B. RODKIEWICZ I G. KERSZMAN

## BIOLOGICZNA ROLA KWASÓW DEZOKSYRYBONUKLEINOWYCH

Zagadnienie kwasu dezoksyrybonukleinowego omawiano w wielu obcojęzycznych i w kilku polskich artykułach przeglądowych (Zesz. 2 «Postępów Biochemii» z 1956, Orska 1959, Pakuła 1961, Baranowski 1959).

W referacie będziemy się starali przedstawić pewne współczesne hipotezy mechanizmu dziedziczenia mające wyjaśnić zjawiska genetyczne na poziomie komórkowym i makromolekularnym.

Jeśli skrzyżować dwie odmiany, to bez zdziwienia stwierdzimy w potomstwie obecność cech każdego z rodziców. Typy mieszańców pojawiają się w określonych proporcjach, które dają się przewidzieć na zasadzie praw dziedziczności. W procesie przekazywania cech dziedzicznych na drodze płciowej powinny wziąć udział dwie komórki rodzicielskie — gamety. Wszystkie więc własności przekazywane z pokolenia na pokolenie muszą być w jakiś sposób zamknięte w tych komórkach. Istnieje jednak kilka wypadków otrzymania mieszańców przez przeniesienie cechy jednej formy organizmu na drugą przy pomocy czystego chemicznie związku o znanym składzie i strukturze cząsteczek. Odkrycie tego zjawiska — mamy tu na myśli transformację u bakterii — dało bezpośredni dowód roli kwasu dezoksyrybonukleinowego (KDN) w determinowaniu cech organizmu. Ponieważ KDN znajduje się w jądrach komórkowych wszystkich organizmów zwierzęcych i roślinnych, należy przypuszczać, że jego rola nie ogranicza się tylko do bakterii, u których została dowiedziona bezpośrednio, lecz posiada walor ogólnobiologiczny. Oparty na tym założeniu schemat mechanizmu dziedziczenia, zawiera ogniwa znane i hipotetyczne, wiążące się w logiczną całość, która wygląda tak obiecująco, że skłoniła przynajmniej parę setek pracowni na świecie do zajęcia się zagadnieniem funkcji kwasów nukleinowych.

KDN zawarty jest zawsze w chromatynie jąder komórkowych. Synteza tego związku odbywa się w okresie poprzedzającym każdy podział somatyczny, przy czym ilość KDN ulega dokładnemu podwojeniu. Podczas podziału jądra potomne otrzymują nie tylko identyczne zespoły chromosomów, ale i równe ilości odpowiadających sobie strukturą cząsteczek KDN. W organizmie określonego gatunku jądra komórkowe zawierają KDN w ilości proporcjonalnej do liczby chromosomów, tj. jądra diploidalne dwukrotnie więcej niż haploidalne. Cząsteczki KDN, dzięki

swej specyficznej strukturze, pośrednio lub bezpośrednio wpływają na strukturę syntetyzowanych białek jądra i cytoplazmy, a więc określają własności podstawowego składnika żywej materii. Prawdopodobnie wszystkie inne cechy organizmu zależą z kolei od typu i struktury białek komórki. Każdy punkt tak uproszczonej i skróconej hipotezy jest szeroko opracowywany i niejednokrotnie zacięte dyskutowany.

Jeśli przyjmiemy, że związek chemiczny determinuje kształtowanie się cech organizmu, to musimy się spodziewać, że związek ten będzie posiadał szczególne własności chemiczne i cytologiczne. KDN charakteryzuje się zespołem własności częściowo stwierdzonych, a częściowo hipotetycznych odpowiadających dobrze jego postulowanej funkcji genetycznej.

1) KDN znajduje się wyłącznie w chromatynie jąder komórkowych.

2) Jest on substancją wysoce swoistą, wykazującą różnice w budowie w zależności od źródła (gatunku, odmiany czy nawet tkanki). Różnice w budowie powinny odpowiadać różnicom genetycznym. Obecnie mówi się o kwasach dezoksyrybonukleinowych, a nie o kwasie dezoksyrybonukleinowym.

3) Struktura cząsteczki jest dostatecznie trwała, złożona i różnorodna, tak że może w niej być zapisana informacja genetyczna.

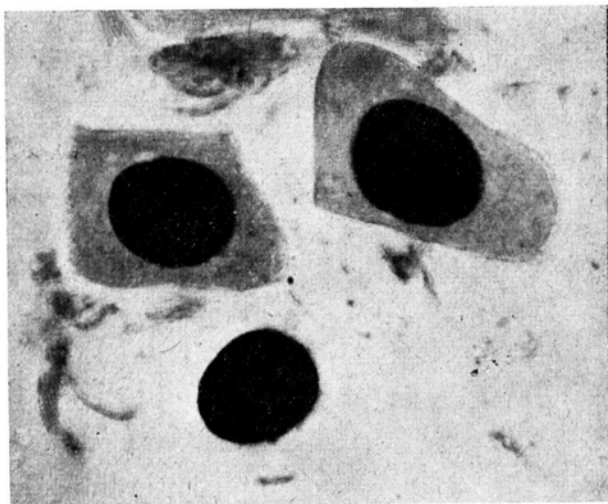
4) Reprodukacja cząsteczek przebiega z jednej strony dostatecznie dokładnie dla zapewnienia na ogół wiernego ich odtworzenia, a za tym zabezpiecza powtarzalność cech w kolejnych pokoleniach, ale z drugiej strony jest równocześnie dostatecznie plastyczna dla umożliwienia nieprawidłowej replikacji cząsteczek, rezultatem czego są mutacje.

5) KDN odgrywa, jak się przypuszcza, kierującą rolę w metabolizmie.

### Lokalizacja KDN w komórce

KDN stanowi 10—20% masy jąder komórkowych wszystkich organizmów, występuje również u większości bakteriofagów i części wirusów zwierzęcych. Tylko w wyjątkowych wypadkach stwierdza się obecność KDN w cytoplazmie, ale teoretycznie niewygodny cytoplazmatyczny KDN pochodzi bądź z rozpadu jąder komórkowych, bądź stanowi składnik samoodtworzających się struktur (np. ciała kappa u pierwotniaków). Niewyjaśnionym w pełni jest często obserwowany brak łatwo wykrywalnego KDN w komórkach jajowych. Dyskusja wokół tej sprawy rozwinęła się szczególnie gwałtownie po pracach Marshaków (literatura zreferowana u Bracheta 1957), którzy nie znaleźli KDN w komórkach jajowych jeźowca, gotowi byli zaprzeczyć jego roli w dziedziczeniu. Po nieznacznych zmianach metody udało się wykryć KDN na tym samym materiale, a zwykłą metodą u jamochłona *Cordylophora* (Bielańska-Osuchowska 1961). Jednak sprawa nie jest zamknięta, ponieważ Serra (1959 a, b) przytacza swoje spostrzeżenia dotyczące chromosomów i jąder pozbawionych KDN. Również u roślin wielokrotnie opisywano komórki jajowe bez KDN (Vazart 1958, Krupko 1955). Trudność wy-

krycia KDN w jądrach jaj wynika przede wszystkim, jak się zdaje, ze znacznie mniejszego stężenia tego związku w porównaniu ze stężeniem w jądrach komórek somatycznych. Jądro komórki jajowej wielokrotnie zwiększa swą objętość, a w dodatku ma o połowę mniej KDN niż komórki diploidalne, w rezultacie stężenie KDN może spaść poniżej progu czułości reakcji. Jeśli takie nie reagujące jądro odwirować, to pojawiają się w nim skupienia KDN wykrywalne znanymi metodami. Również prawdopodobne zmiany w kompleksie nukleinoproteinowym mogą prowadzić do zamaskowania lub wypłukania kwasu w trakcie reakcji.



Ryc. 1. Preparat z korzeni bobu utrwalonych w 10% neutralizowanej formalinie. Izolowane jądro komórkowe oddzielone od cytoplazmy i komórki z jądrami barwione metodą Feulgena. Wszystkie jądra wykazują jednakową intensywność zabarwienia

Większość danych o lokalizacji i ilości KDN oparto na cytochemicznej reakcji Feulgena z 1924 r. Przetrwiała ona wiele prób i krytyk. W ostatnich latach Chayen i współpracownicy (1953, 1960) zastosowawszy nietypowe utrwalanie materiału i szereg nowoczesnych metod (mikroskop UV, interferencyjny, spektrofotometrię) dowodzą, że metoda Feulgena prowadzi do artefaktów. Zatrzymamy się nad tymi doniesieniami nieco dłużej, ponieważ wyszły one ze znanej londyńskiej pracowni i, jeśli są prawdziwe, zmuszą nas do zmiany podstawowych poglądów na mechanizm dziedziczenia. Podczas kwaśnej hydrolizy komórek w pierwszym etapie reakcji Feulgena KDN, zdaniem tych krytyków, migruje ze swego rzeczywistego miejsca w cytoplazmie i osadza się w jądrze komórkowym. W istocie, powiadają autorzy, KDN w komórkach merystematycznych bobu znajduje się głównie w cytoplazmie, a do chromosomów dostaje się w okresie podziału jądra. Wydaje się jednak, że w rzeczywistości właśnie autorzy, przygotowując swój materiał, używali metod wprowadzających artefakty. Doświadczenia, przeprowadzone na tym samym materiale w warunkach praktycznie uniemożliwiających ewentualne przeniknięcie KDN

z cytoplazmy do jąder, nie prowadzą do osłabienia dodatniej reakcji Feulgena w jądrach. W związku z tym wydaje się, że nie ma potrzeby kwestionowania wiarygodności metody Feulgena.

Celem sprawdzenia zreferowanych prac Chayena i in., przeprowadzono doświadczenia z bobem (Rodkiewicz nie publ.). Z wierzchołków korzeni bocznych wyciskano jądra komórkowe do 10% formaliny zubożonej  $\text{CaCO}_3$ . Celem pozbycia się możliwie jak największej ilości cytoplazmy utrwalano jądra odwirowywano. Jądra komórkowe umieszczano na szkiełkach, suszono, a następnie płukano 2 dni w wodzie i przeprowadzano reakcję Feulgena. Część korzeni w całości utrwalano i płukano, przeprowadzając następnie reakcję Feulgena *in toto*. Gniecione preparaty z wierzchołków wzrostu umieszczano na uprzednio zabarwionych preparatach izolowanych jąder komórkowych. Można było bezpośrednio porównać intensywność reakcji Feulgena w jądrach hydrolizowanych razem z cytoplazmą i bez cytoplazmy. Ponieważ jądra te na preparatach znajdowały się obok siebie (ryc. 1), nawet optyczna ocena byłaby wystarczająca do spostrzeżenia różnic opisywanych przez Chayena. Porównując jądra jednakowej wielkości najczęściej nie udało się zauważyć żadnych różnic uchwytanych bez specjalnej aparatury.

### Stalność ilości KDN

Tezę o stałej ilości KDN w jądrach komórkowych, przedstawia się często od 1948 r. jako prawo stałości (Boivin, Vendrely i Vendrely 1948). Wielu autorów przywiązuje do niego dużą wagę, ponieważ sądzi, że substancja będąca materiałem genów musi być ilościowo niezmienna, podobnie jak same geny i chromosomy. Istnieje jednak wiele doświadczeń stwierdzających, że poziom KDN zmieniał się pod wpływem chemikaliów, temperatury i innych czynników (Anteunis i Liu 1960, Cleland 1961, Fautrez 1960, La Couri. in 1956, Pogo. in 1960, Thiery 1960 i in.). Podczas normalnej histogenezy w korzeniach trzykrotki, hiacynta i innych roślin obserwuje się trudny do wyjaśnienia spadek ilości KDN. Jądra komórek merystematycznych posiadają o kilkanaście procent więcej KDN niż jądra komórek zróżnicowanych (Rodkiewicz 1961). Obecnie część autorów mówi raczej o stałym poziomie równowagi, a nie o stałej ilości. Chociaż jest rzeczą bezsporną, że tę równowagę niejednokrotnie bardzo trudno naruszyć, to pojęcie stałej ilości KDN zbliża się raczej do pojęcia stałej ilości leukocytów czy poziomu cukru we krwi niż do pojęcia stałych fizycznych.

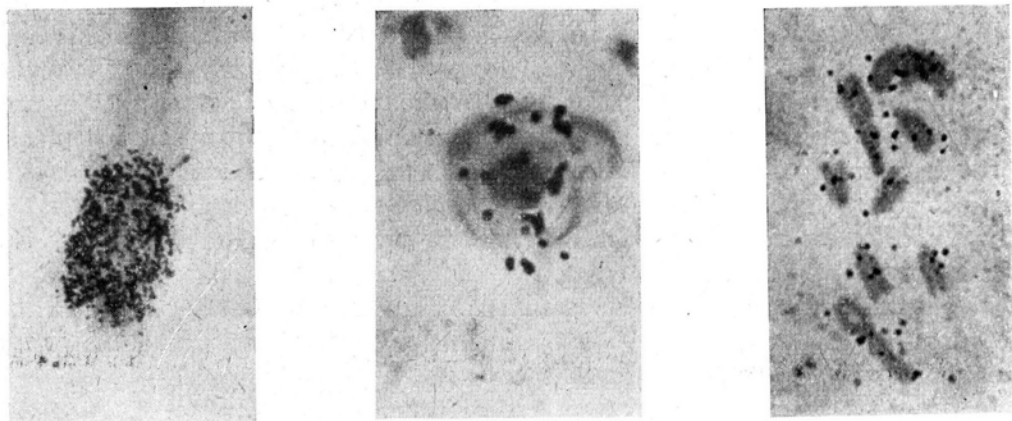
### Aktywność metaboliczna KDN

Metabolizm KDN, badany metodami spektrofotometrycznymi i autoradiograficznymi, wykazuje szczególne własności. W normalnych warunkach synteza polega zawsze na podwojeniu istniejącej ilości KDN i poprzedza replikację chromo-

somów. Długość okresu syntezy w komórkach szybko dzielących się nie przekracza  $1/3$  trwania interkinezy (Prescott 1960), a w tkankach o słabej aktywności mitotycznej jest dłuższy niż czas samej mitozy (Franck 1960). W różnych tkankach myszy czas syntezy jest mniej więcej dziesięciokrotnie dłuższy od czasu mitozy, która się odbywa w  $1/2$  godz. (Schultze i in. 1960). Poza sporadycznymi okresami podwajania się, KDN nie wbudowuje do swych cząsteczek żadnych podawanych organizmowi prekursorów, znakowanych radioaktywnymi pierwiastkami, pozostając w stanie bardzo słabej aktywności metabolicznej. Inny pogląd wyrażają badacze, którym udało się zaobserwować przyłączanie się znakowanych prekursorów do jąder komórek tkanek stałych, leżących powyżej strefy merystematycznej korzeni i komórek stałych tkanek zwierzęcych, gdzie nie odbywa się synteza, ani nie ma intensywnych podziałów komórkowych (Pelc i La Cour 1959). Część tych wyników usiłuje się interpretować na zasadzie zjawiska endomitozy (Tschermak-Woess 1960, Woodard i in. 1961). Spór ma dość istotne znaczenie teoretyczne, ponieważ wielu badaczy wyobraża sobie materiał genetyczny jako wysoce niezmienny i ze swego stanowiska «splendid isolation» kontrolujący dyktatorsko wszystkie zjawiska zachodzące w zmiennym i ruchliwym materiale niegenetycznym. Jeśli zaś materiał genetyczny jest przez cały czas metabolizmu przebudowywany, to można przypuszczać, że zmiany w metabolizmie mogą spowodować zmiany w strukturze materiału genetycznego, czyli że zależność jest dwukierunkowa a nie jednokierunkowa. Aby uniknąć takiej ewentualności wysuwa się koncepcję dwu typów biologicznych KDN — aktywnego metabolicznie, a biernego genetycznie i przeciwnego mu czynnego genetycznie, ale biernego metabolicznie. Tego rodzaju hipoteza o istnieniu podwójnego KDN ma tłumaczyć wszystkie zaobserwowane odchylenia od prawa stałości ilościowej i metabolicznej KDN.

Podwajaniu się materiału chromosomowego towarzyszą subtelne zmiany w strukturze jądra komórkowego. Wg. Tschermak-Woess (1959) zmiany strukturalne poprzedzają nawet reduplikację KDN w mitozie i endomitozie. Wyraźnie zindywidualizowane chromosomy pojawiają się dopiero w profazie. Każdy chromosom składa się z kilkudziesięciu lub więcej nici nukleoproteinowych. Początkowo przypuszczano, że KDN jednocześnie ulega replikacji na całej długości interkinetycznego chromosomu. Nowe fakty wydają się jednak przeczyć tej tezie. Jeśli inkubować materiał ze specyficznym prekursorem — (znakowaną tymidyną) przez czas krótszy od okresu potrzebnego do całkowitej replikacji KDN jądra komórkowego — na autoradiogramach ukazują się chromosomy znakowane tylko w niektórych miejscach oraz chromosomy zupełnie nieradioaktywne. Podwajanie się materiału chromosomowego w różnych odcinkach chromosomu i w różnych chromosomach zespołu nie odbywa się więc jednocześnie (ryc. 2) (Lima de Faria 1959, Painter i in. 1960, Taylor 1960, Wimber 1961, Woodard i in. 1961). Jak wynika z tego chromosom jest podłużnie zróżnicowany na odcinki, które nie są ze sobą ściśle fizjologicznie zsynchronizowane. Jeśli tak jest, to można przyjąć, że podwajanie się KDN chromosomu nie musi odbywać się na zasadzie wszystko lub nic. Pod wpływem pewnych czynników powstawałyby chromosomy z częściowo tylko zrepliko-

wanymi segmentami, w rezultacie jądra komórkowe miałyby przejściowo obniżoną zawartość KDN.



Ryc. 2. Preparaty znakowane radioaktywnym prekursorem KDN — tymidyną- $H^3$ . a) Jądro komórkowe po długiej inkubacji z prekursorem. b) Jądro komórkowe po krótkiej inkubacji z prekursorem, cztery chromosomy interkinetyczne oznakowane silniej niż pozostałe. c) Nieciągle oznakowanie chromosomów po inkubacji z prekursorem w obniżonej temperaturze (Rodkiewicz i Olszewska)

Cząsteczki KDN w jądrze i chromosomach tworzą kompleksowe związki z białkami zasadowymi. Chromosomy składają się z wiązek skręconych nici nukleoproteinowych przypominając strukturą kabel (Kaufmann i Mc Donald 1956, Strugger 1960 i in.). Istnieją też inne hipotezy struktury chromosomu (Serra 1959 a) (ref. Makarow 1960). Wieloliniowa budowa chromosomu ogromnie utrudnia przenoszenie na organizmy wyższe schematu genu opartego na badaniach bakteriofagów. W odcinku chromosomu, gdzie znajduje się określony gen, przebiega równoległe kilkadziesiąt cząsteczek nukleoproteinowych.

Kompleks z białkiem nie jest zupełnie stały, składowa białkowa zmienia się w chromosomach dzielących się i nie dzielących się komórek i podczas dojrzewania gamet u zwierząt (Bloch 1958, Alfert 1959, Bloch i Hew 1960). Dzielące się komórki tkanki merystematycznej charakteryzują się intensywnymi procesami autosyntezy, tj. samopomnażania reprodukujących się elementów typu nukleoprotein. W tkankach stałych procesy autosyntezy zanikają lub odbywają się słabiej, wzrasta natomiast heterosynteza, tj. wytwarzanie specyficznych białek albo innych produktów metabolizmu. W obu typach komórek znajduje się jednakowy aparat genowy nadzorujący te procesy, ale nie jest jasne, dlaczego w jednym wypadku wyrazem działalności tego lub takiego samego genomu jest autosynteza, a w innym heterosynteza. Jediną dostrzeżoną różnicą w chromatynie wymienionych komórek jest zmiana w składniku białkowym nukleoprotein. W komórkach autosyntetyzujących są to histony, w heterosyntetyzujących prócz histonów do kompleksu wcho-

dzą inne białka o niezdefiniowanej strukturze, nazwane po prostu białkami resztkowymi. Jeśli sądzić po tempie włączania aminokwasów, to białko resztkowe jest ogromnie aktywne fizjologicznie. Przypuszcza się, że zastąpienie części histonów innymi białkami odblokowuje aktywność genów kierujących heterosyntezą. W komórkach autotsyntetyzujących geny te są zamknięte przez związek z histonami. W podobny sposób tłumaczy się wszelkie trwałe zróżnicowanie tkanek w ontogenezie <sup>1</sup>.

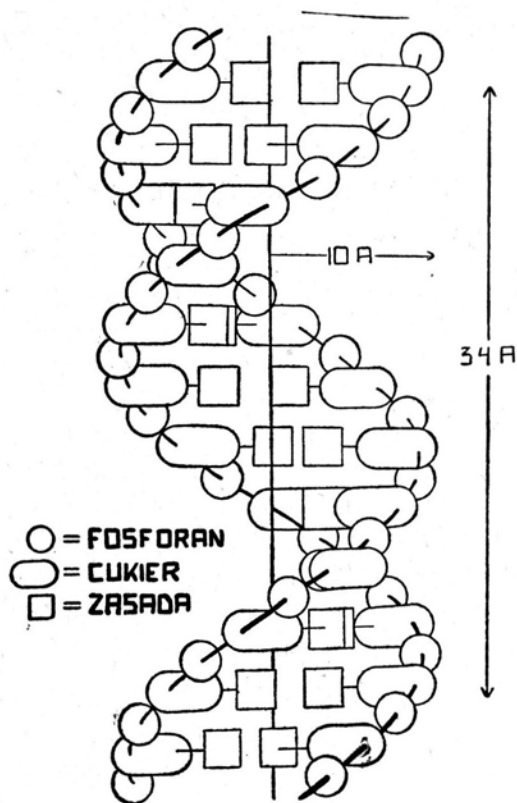
### Struktura i reprodukcja KDN

Wbrew początkowym poglądom, w myśl których KDN posiada zawsze jedyną budowę, obecnie stwierdzono istnienie różnorodnych cząsteczek KDN, specyficznych dla gatunku. W istocie mówi się o kwasach dezoksyrybonukleinowych, a nie o kwasie dezoksyrybonukleinowym. Można to wykazać nawet przy użyciu mało precyzyjnych metod, takich jak oznaczanie stosunku elementarnych podjednostek budulcowych makrocząsteczek tego związku.

KDN zbudowany jest zasadniczo z 4 rodzajów elementarnych składników — nukleotydów. Każdy nukleotyd składa się z zasady azotowej, pochodnej puryny lub pirymidyny, cukru pentozowego — dezoksyrybozy w KDN, a rybozy w KRN (kwas rybonukleinowy), oraz reszty kwasu fosforowego. Poszczególne nukleotydy tworzą łańcuch przy pomocy połączeń pomiędzy cukrem jednego a resztą kwasu fosforowego drugiego nukleotydu. Występują głównie cztery rodzaje zasad azotowych: adenina, gwanina, cytozyna i tymina. W KRN zamiast tyminy znajduje się uracyl. Jeśli najważniejszą funkcją genów jest kontrola swoistości białek, to kolejność nukleotydów (struktura cząsteczki) musi w jakiś sposób determinować kolejność aminokwasów w cząsteczce białka. Istnieją 4 główne rodzaje nukleotydów i około 20 aminokwasów. Gamow (1956) postulował, że trzy określone sąsiadujące ze sobą nukleotydy wyznaczają położenie jednego aminokwasu w cząsteczce białka syntetyzującej się pod wpływem cząsteczki kwasu nukleinowego. W takim wypadku liczba możliwych kombinacji trójek nukleotydów odpowiadałaby dość ściśle liczbie aminokwasów. W cząsteczce kwasu nukleinowego 4-znakowym szyfrem zapisana byłaby struktura cząsteczek, posiadających 20 elementarnych składników. Wszystkie proponowane kody (razem z powyższym) mają wartość czysto hipotetyczną i brak jak dotąd możliwości dokładnego ich sprawdzenia. W pewnym stopniu potwierdzeniem wpływu składu nukleotydowego KDN na budowę białek są mutacje otrzymane po wprowadzeniu do KDN komórek zasad azotowych nie występujących normalnie w nukleotydach. Mutacje te przejawiały się w zmianie budowy białek (Anfinsen 1959). Obecnie najbardziej prawdopodobny wydaje się pogląd, że KDN

<sup>1</sup> Po napisaniu tego artykułu ukazało się kilka cennych prac doświadczalnych potwierdzających trójkowy charakter kodu genetycznego i wyjaśniających liczne dalsze szczegóły. (ref. G. Kerszmana *Studia Filozof.* 1962 w druku).

kontroluje syntezę białek za pośrednictwem KRN. KDN jest więc substancją wysoce specyficzną i prawdopodobnie różnice w jego strukturze odpowiadają właściwościom genetycznym, to samo można jednak powiedzieć o KRN i białkach.



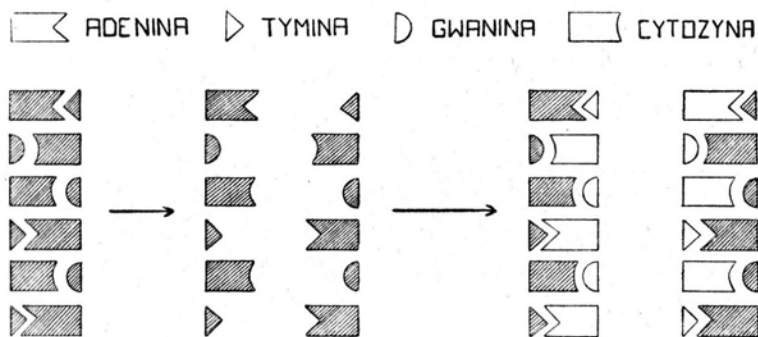
Ryc. 3. Budowa cząsteczki KDN wg modelu Watsona i Cricka. Dwa łańcuchy polynukleotydowe oplecione są wokół wspólnej osi. Zasady azotowe obu łańcuchów znajdują się naprzeciwko siebie. Reszty kwasu fosforowego łączą cukry sąsiadujących nukleotydów w łańcuchu

Model przestrzenny cząsteczki KDN przedstawili Watson i Crick (1953 a, b, c). W myśl ich hipotezy makrocząsteczka KDN składa się z 2 łańcuchów polynukleotydowych oplecionych w formie ślimacznicy wokół wspólnej osi (ryc. 3). W dwułańcuchowej cząsteczce zawsze naprzeciw siebie znajdują się pary określonych nukleotydów. Adenina jednego łańcucha łączy się wiązaniami wodorowymi z tyminą drugiego, podobnie jak gwanina z cytozyną. Hipoteza Watsona i Cricka zyskała sobie ogromne uznanie, gdyż jest ona teoretycznie płodna i mocno oparta na faktach natury rentgenograficznej i analitycznej. W próbkach KDN prawie zawsze znajdowano równe ilości odpowiadających sobie puryn i pirymidyn: A i T oraz G i C. Są jednak i głosy pewnego krytycyzmu, które podkreślają zbytnią sztywność modelu Watsona i Cricka (Bendich i in. 1956).



W ostatnich czasach stwierdzono w KDN faga 1 X 174 brak ekwimolarnych stosunków oraz szereg anomalii, których jedynym wyjaśnieniem, wg Sinshaimera (1959), jest występowanie pojedynczego łańcucha polynukleotydowego. Nowsze dane wskazują jednak, że w czasie reprodukcji tego faga KDN przechodzi w fazę dwułańcuchową, zachowując się zgodnie z modelem Watsona i Cricka.

Z modelu Watsona i Cricka wynika interesująca hipoteza mechanizmu reprodukcji KDN. Częsteczka jego rozpada się na dwa łańcuchy polynukleotydowe, obok nich w środowisku komórkowym znajdują się swobodne cząsteczki nukleotydów. Wolne nukleotydy, dzięki specyficznemu powinowactwu, zajmują miejsca naprzeciw odpowiednich nukleotydów łańcucha, tj. A naprzeciw T, a G naprzeciw C. W ten sposób obie połówki macierzystej cząsteczki zostają uzupełnione nowo zsyntetyzowanymi połówkami. W rezultacie powstają dwie potomne cząsteczki, tak samo zbudowane jak cząsteczka macierzysta (ryc. 4).



Ryc. 4. Replikacja KDN wg modelu Watsona i Cricka. Dwa łańcuchy polynukleotydowe rozdzielają się, po czym każdy nukleotyd łańcucha przyciąga wolny nukleotyd ze środowiska. Adenina przyciąga nukleotydy zawierający tyminę, gwanina — cytydynę i odwrotnie. Następuje odtworzenie się uzupełniającego łańcucha dla każdego z dwu rozdzielonych łańcuchów polynukleotydowych. Uzupełniający łańcuch — nie zakreskowany

Technika izotopowa daje możliwości sprawdzania tej hipotezy. W pierwszym i drugim pokoleniu faga  $T_2$  znakowanego  $P^{32}$  znajdują się niepromieniotwórcze i nieliczne promieniotwórcze fagi, każdy z tych ostatnich zawiera 20%  $P^{32}$  faga macierzystego. Kwas nukleinowy faga  $T_2$  składa się w 40% z jednej kolosalnej cząsteczki i w 60% jest niskocząsteczkowy. Levinthal (1956) przypuszcza, że tylko fragment wysokocząsteczkowy stanowi materiał dziedziczny. Wtedy początkowo niezrozumiałe dane stają się zgodne z hipotezą Watsona i Cricka. Występujące w fagach potomnych 20% materiału promieniotwórczego stanowiłoby połowę struktury genetycznej faga macierzystego.

Podobne badania Meselsona i Stahla (1958) dotyczące reprodukcji znaczonego  $N^{15}$  KDN u *Escherichia coli* przyniosły wyniki całkowicie zgodne z omawianą hipotezą.

U faga  $T_2$  (Setlow i Setlow 1960) w trakcie rozwoju KDN przekształca się ze

stanu dwułańcuchowego w jednołańcuchowy, o większej wrażliwości na działanie promieni pozafiołkowych. Forma jednołańcuchowa przeważa w 3 do 11 minut od początku zakażenia, kiedy odbywa się przygotowanie do replikacji.

Zdaniem Stenta (1958) rozwój bakteriofaga w komórce wiąże się z przeniesieniem w pewnym stadium informacji genetycznej z KDN do innej substancji, a następnie z powrotem do KDN. Stent proponuje własną hipotezę replikacji, według której KDN kontroluje syntezę swoistej rybonukleoproteiny, przy czym informacja zostaje zapisana w KRN, kontrolującym z kolei syntezę nowej cząsteczki KDN.

U wyższych organizmów napotkano fakty potwierdzające przynajmniej pośrednio hipotezę Watsona i Cricka. Materiał chromosomowy znakowany tymidyną- $H^3$  zostaje rozdzielony równo pomiędzy dwa potomne chromosomy. Jeżeli następny podział chromosomów odbywa się bez obecności tymidyny- $H^3$  w środowisku, to cały materiał radioaktywny ujawnia się w jednym z każdej pary chromosomów drugiego pokolenia. Utworzenie się znakowanych i nie znakowanych chromosomów w drugim pokoleniu świadczy o przekazywaniu łańcuchów KDN w całości podczas rozmnażania się chromosomów, przy czym wszystkie znakowane (nowo zsyntetyzowane) znajdują się w jednej chromatydzie. Dane te były negowane i potwierdzane (ref. Rodkiewicz 1960). Bez wątplenia sytuacja jest o wiele bardziej skomplikowana niż na ryc. 6 chociażby dlatego, że jak wspomniano, replikacja KDN w chromosomie odbywa się niesynchronicznie, a struktura chromosomu jest wieloliniowa. Niesynchroniczność w doświadczeniach nie musi się ujawniać, jeśli inkubuje się materiał tak długo, aby cały proces replikacji odbył się w obecności piętnowanego prekursora.

Chociaż co do mechanizmu reprodukcji KDN nie ma dotychczas pewnych i ostatecznych rozstrzygnięć, nie ma wątpliwości, że związek ten bezpośrednio lub pośrednio replikuje się swoiście w układach biologicznych.

Jak wynika z przedstawionego modelu, synteza KDN powinna zawsze odbywać się w jądrze komórkowym, ponieważ tylko tam są odpowiednie struktury służące do odwzorowywania się nowych cząsteczek. O ile wiadomo, w zwykłych warunkach prekursorzy znakowane KDN włączają się specyficznie do jąder komórkowych. Nie wykluczona jest jednak możliwość syntezy drobnych odcinków cząsteczki KDN w cytoplazmie. Niskocząsteczkowe związki mogą być łatwo wyplukane podczas procesu wykrywania znakowanego KDN, i dlatego nie wiadomo na pewno, czy miejscem pierwotnego włączania się tymidyny nie jest cytoplazma. U ameby znakowana tymidyna włącza się do cytoplazmy. Związek, który się tworzy nie daje charakterystycznych dla KDN reakcji z oranżem akrydynowym i reakcji Feulgena, jest jednak usuwany za pomocą dezoksyrybonukleazy (Plaut 1960). W fibroblastach i mioblastach embriona kurzego hodowanych *in vitro*, po dodaniu kwaśnej dezoksyrybonukleazy do środowiska mitozy zostają zahamowane, a na mitochondriach pojawia się KDN w ilości sięgającej 90% ilości jądrowej. KDN cytoplazmy oznaczano zarówno metodą Feulgena (był to więc wysokocząsteczkowy związek), jak i metodą autoradiograficzną, po zastosowaniu inkubacji w znako-

wanej tymidynie (Chèvremont i in. 1959). Trudno w tej chwili ocenić teoretyczne konsekwencje tych badań, ale wydaje się, że komórka ma bogatszy wybór środków do przeprowadzenia syntezy, niż przewidują znane schematy.

### Synteza KDN *in vitro*

Ogromnym osiągnięciem jest dokonana przez Kornberga synteza KDN *in vitro*. W reagującej mieszaninie znajdowały się trójfosfonukleotydy, enzym wyekstrahowany z *E. coli*, oraz naturalny KDN, bez którego reakcja się nie odbywała. Struktura otrzymanego kwasu była określona przez strukturę kwasu naturalnego obecnego w reakcji (Kornberg 1957, 1960).

Najnowsze badania wskazują, że pod nieobecność «wzorca» — naturalnego KDN w reagującej mieszaninie kwasów dezoksyadenozynotrójfosforowego i dezoksytymidynotrójfosforowego powstają polimery o monotonnej strukturze; przy użyciu kwasów dezoksyguanidynotrójfosforowego i dezoksytydynotrójfosforowego sytuacja przedstawia się następująco:

G	C	
G	C	G — kwas dezoksyguanidynofosforowy
G	C	C — kwas dezoksytydynofosforowy
G	C	
A	T	A — kwas dezoksyadenozynofosforowy
T	A	T — kwas dezoksytymidynofosforowy
A	T	
T	A	
A	T	

Dane te potwierdzają raz jeszcze, że «wzorec» działa jako nośnik informacji określający kolejność nukleotydów w syntetyzowanych cząsteczkach «potomnych», nie jest natomiast niezbędny do polimeryzacji (Josse 1961). Budowę tych polynukleotydów można było określić tak dokładnie, dzięki wprowadzeniu metody izotopowej pozwalającej wykryć najbliższego sąsiada każdego nukleotydu. Do polynukleotydu wprowadzano np. kwas dezoksyadenozynofosforowy znakowany  $P^{32}$ . Przy zastosowaniu specjalnej metody hydrolizy uzyskiwano przejście piętna na nukleotyd położony w łańcuchu obok kwasu dezoksyadenozynofosforowego, stwierdzając następnie metodami chemicznymi, z jaką substancją związane jest piętno, ustalało się najbliższych sąsiadów kwasu dezoksyadenozynofosforowego w łańcuchu polynukleotydowym. To samo dotyczy oczywiście każdego innego piętnowanego nukleotydu. W ten sposób można wykryć znacznie subtelniejsze różnice między kwasami nukleinowymi, niż przez proste oznaczanie stosunku procentowego nukleotydów. Warto dodać, że w syntezie KRN *in vitro* substancją «wzorcową» może być, jak donoszą liczni badacze, cząsteczka KDN (Weiss 1961, Burma i in. 1960, Ochoa i in. 1961). Wydaje się to potwierdzać możliwość kontroli swoistości KRN przez KDN w procesach komórkowych.

Wspomnimy w tym miejscu również o innej nowej metodzie badań nad KDN potwierdzającej schemat Watsona i Cricka. Metoda ta pozwala na wykrywanie różnic między genetycznie niehomologicznymi KDN-ami. Okazuje się mianowicie, że pod wpływem podwyższonej temperatury następuje rozdzielanie dwu łańcuchów cząsteczki KDN. Po obniżeniu temperatury pojedyncze łańcuchy łączą się znów w parę. W mieszaninie kwasów DN, pochodzących z różnych źródeł, można otrzymać w ten sposób cząsteczki hybrydy, w których każdy z dwu łańcuchów polynukleotydowych pochodzi z innego źródła. Można to wykazać metodą Meselona, znakując jeden z dwu różnych zmieszanych KDN przy pomocy  $N^{15}$ . Po ogrzaniu i ochłodzeniu powstają cząsteczki «lekkie», zawierające tylko  $N^{14}$  i «ciężkie», zawierające tylko  $N^{15}$  oraz pośrednie z azotem w równych częściach pod postacią  $N^{15}$  i  $N^{14}$ . Te ostatnie to oczywiście «hybrydy». Istnieje korelacja pomiędzy zdolnością cząsteczek KDN pochodzących z dwu różnych szczepów bakteryjnych do tworzenia hybrydów, a pokrewieństwem genetycznym tych szczepów. Marmur i Schildkraut (1961) wyrażają nadzieję, że tą metodą można się posługiwać dla celów taksonomicznych. Homologia — zdolność tworzenia hybrydów — cząsteczek KDN z różnych organizmów stanowiłaby kryterium ich pokrewieństwa genetycznego a tym samym i systematycznego.

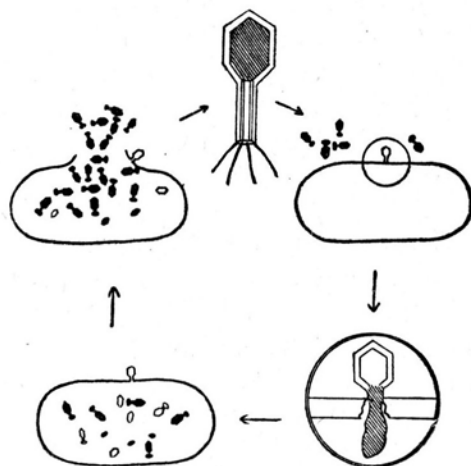
W doświadczeniach wykonanych *in vitro* znajdujemy bezpośrednie potwierdzenie słuszności schematu replikacji KDN, przynajmniej poza organizmem.

### Interpretacja struktury genu

Nowe ujęcie genu wynikło z badań nad wirusami. Wirusy atakujące komórki bakteryjne są bardzo prostym i wygodnym modelem, pozwalającym na analizę procesów biologicznych na poziomie molekularnym. Hershey i Chase (1952) wykazali, że podczas zakażenia komórki gospodarza tylko część materiału faga dostaje się do jej wnętrza. Piętnowali oni białka bakteriofaga za pomocą  $S^{35}$ , a kwasy nukleinowe  $P^{32}$ . W komórkach zakażonych bakterii znaleźli KDN faga znakowany fosforem i tylko około 3% znakowanego białka, reszta białka pozostawała na zewnątrz i nie brała udziału w infekcji (ryc. 5). Główną rolę w opanowaniu kontroli nad metabolizmem bakterii i przestawieniem go na syntezę potomnych cząsteczek faga ma KDN. Ostatnio udało się zakazić protoplasty bakterii preparatami chemicznymi KDN faga. Preparaty traciły swą aktywność po dodaniu dezoksyrybonukleazy, ale pozostawały zjadliwe po trawieniu trypsyną, rybonukleazą i po nagrzewaniu (Wahl i in. 1960). Potomne cząstki faga posiadają właściwości odpowiadające właściwościom cząstki macierzystej. KDN bakteriofaga macierzystego określa swoistość syntezy zarówno KDN, jak i białka fagów potomnych. U bakteriofagów spotykamy również mutacje, rekombinacje i szereg złożonych procesów genetycznych, które zachodzą w zakażonej wielu fagami bakterii (ref. Kerszman 1959). Komórkę bakterii można w tym wypadku potraktować jak środowisko z populacją

krzyżujących się i rozmnażających się organizmów z cechami dziedzicznymi kontrolowanymi przez KDN.

Próbkę chemicznej interpretacji elementarnych jednostek dziedziczenia podał Benzer (1957) w oparciu o badania nad bakteriofagami.



Ryc. 5. Schemat rozwoju bakteriofaga. Po przyłgnięciu końca ogonka bakteriofaga do powierzchni bakterii KDN z główki zostaje wstrzyknięty do komórki. Zaczynają się w niej wytwarzać osłonki białkowe, które wypełniają się KDN — «dojrzejają». «Dojrzałe» cząstki faga (są oznaczone czarno). Komórka pęka i opuszczają ją dojrzałe bakteriofagi zdolne do zaatakowania następnych bakterii

Klasyczny gen definiowano jako jednostkę mutacji (element, którego zmiana powoduje mutację), jednostkę rekombinacji (element ulegający wymianie w procesach rekombinacji genetycznej) i jednostkę funkcji — determinującą określoną funkcję biochemiczno-fizjologiczną, np. syntezę jakiegoś enzymu.

Jednostki mutacji, rekombinacji i funkcji miały być więc tożsame. Szereg danych, a w szczególności wyniki niezmiernie precyzyjnej analizy bakteriofaga T4 przeprowadzonej przez Benzera, wskazuje jednak, że nie są one lub przynajmniej nie zawsze są tożsame. W związku z tym Benzer wprowadził na miejsce pojęcia genu trzy jednostki dziedziczności: muton — jednostkę mutacji, rekon — jednostkę rekombinacji oraz cistron — jednostkę funkcji (nazwa tej ostatniej jednostki pochodzi od rodzaju testu genetycznego prowadzącego do jej oznaczenia).

Ten sam autor przeprowadził prowizoryczne obliczenia, z których wynikało, że rekon odpowiada jednej—dwóm parom nukleotydów w cząsteczce kwasu dezoksyrybonukleinowego. Podobnego rzędu są wymiary mutonu, cistrony zajmują natomiast dłuższe odcinki cząsteczki KDN, przy czym długość tych odcinków może być różna.

Terminologia Benzera zyskała sobie uznanie, chociaż trudno jeszcze przesądzić, czy nadaje się ona do powszechnego zastosowania w genetyce. Wyraz «gen» używany

nadal bądź jako synonim terminu «cistron», bądź w wypadkach, gdzie nie przeprowadza się lub nie ma potrzeby przeprowadzania subtelnych rozróżnień jednostek dziedziczności.

W każdym razie nieodwołalną wydaje się zmiana treści pojęcia «gen» — z samodzielnej i integralnej całości stał się on szczeblem w hierarchii biochemiczno-genetycznej. Z morfologicznego elementu w budowie chromosomu, który można było próbować zobaczyć pod mikroskopem, stał się fragmentem makromolekuły, dającym się wyróżnić tylko w oparciu o odpowiednie doświadczenia.

Serra (1959 a), dla wyjaśnienia faktów genetycznych i cytologicznych, zakłada istnienie złożonej struktury genu oraz sądzi, że w skład jego wchodzi dwa równorzędne czynniki chemiczne: białka i kwasy nukleinowe.

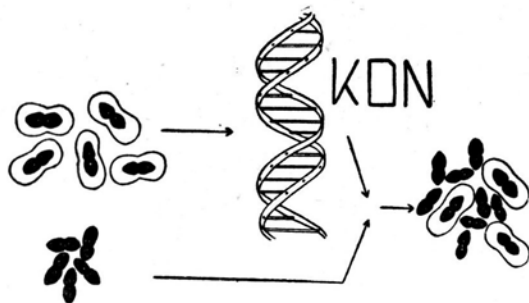
Istnieją poważne trudności techniczne w uznaniu KDN za jedyny materiał genów. Wg hipotezy KDN jest podłożem, na którym zanotowane są informacje genetyczne. Wobec tego należałoby się spodziewać u organizmów bardziej skomplikowanych większej ilości zaszyfrowanej taśmy niż u organizmów prostszych. Tymczasem nie ma żadnej wyraźnej współzależności pomiędzy stopniem rozwoju a ilością KDN. U lilii np. znajduje się więcej KDN w jądrach komórkowych niż u człowieka. Jeśli już posługujemy się takimi analogiami, to warto zauważyć, że łatwo znaleźć analogie przeciwne, np. że grubość książki nie jest wystarczającym miernikiem zawartej w niej treści.

Odtwarzające się cząsteczki KDN mają identyczną strukturę co i cząsteczka macierzysta, zapewniając powtarzalność kontrolowanych przez siebie cech. Mutacje genowe polegałyby na zmianie sekwencji par nukleotydów, na skutek lokalnych zaburzeń metabolizmu lub działania czynników zewnętrznych, takich jak kwanty promieniowania o dużej energii i in.

### Transformacja i zjawiska pokrewne

Do najważniejszych i bezpośrednich dowodów roli genetycznej KDN należą zjawiska transformacji, transdukcji i konwersji lizogenicznej u bakterii (Zamenhof 1959). Klasyczne badania przeprowadzili w r. 1944 Avery, McLeod i McCarty. Obiektem doświadczeń były dwoinki zapalenia płuc — pneumokoki, dzielące się na szereg typów, zależnie od charakteru otoczki. Bakterie, które utraciły zdolność syntezy otoczek potraktowane KDN-em wyekstrahowanym z komórek otoczkowych innego typu, zamieniają się w bakterie otoczkowe (ryc. 6). Wytworzone otoczki odpowiadają charakterem otoczkom komórek będących źródłem KDN. Później przeprowadzono również transformację w innych układach. Transformacji mogą ulegać różne cechy, np.: własności antygenowe, oporność na antybiotyki, zdolność do fermentacji węglowodanów itd. Czynnikiem transformującym jest wysoko spolimeryzowany KDN o ciężarze cząsteczkowym rzędu  $4 \times 10^5$ — $7 \times 10^{10}$ . Zanieczyszczenie preparatu białkiem nie przekracza 0,22%. Do transformacji wystarcza  $3 \times 10^{-10}$  mikrograma kwasu na komórkę bakteryjną. Jednocześnie najczęściej transformo-

wana jest pojedyncza cecha, niekiedy dwie lub więcej cech sprzężonych, np. u pneumokoków w 25% przypadków przenosi się łącznie zdolność do fermentowania mannitolu i oporność na streptomycynę. Wrażliwymi na obcy KDN są jedynie komórki przygotowujące się do podziału. Można sądzić, że cząsteczki KDN z zewnątrz włączają się do reprodukującego się genomu.



Ryc. 6. Schemat transformacji u pneumokoków. Bakterie bezotoczkowe (u dołu) potraktowane KDN wyekstrahowanym z otoczkowych (u góry) zaczynają wytwarzać otoczki (z prawej strony rys.).

Chociaż nie udało się wyodrębnić chemicznie cząsteczek transformujących z cząłości KDN, można selektywnie unieczynnić niektóre z nich przy pomocy podwyższonej temperatury. Cząsteczki KDN, izolowane z pneumokoków opornych na działanie 5 leków (m. in. streptomycyny, ametoptyeryny, sulfonamidów), są unieczynniane w różnych temperaturach w zakresie od 90° do 94°. Cząsteczki determinujące cechy należące do różnych grup sprzężenia (streptomycynooporność i ametoptyerynooporność) mają odmienne temperatury krytyczne (Roger i Hotchkiss 1961).

Zjawiskiem zbliżonym do transformacji jest transdukcja, gdzie przeniesienie właściwości genetycznej z bakterii na bakterię odbywa się za pośrednictwem faga. Bakteriofag prócz własnego KDN porywa ze sobą fragmenty KDN gospodarza i przenosi je do innego, w którym obcy KDN włącza się do genomu. Wg Lederberga różnica pomiędzy transformacją a transdukcją jest taka, jak pomiędzy pocztówką a listem, rolę koperty spełnia bakteriofag.

W wypadku konwersji lizogenicznej sam bakteriofag zachowuje się jak gen bakteryjny. Tak zwane bakteriofagi łagodne mogą po zakażeniu przejść w postać profagów, wtedy KDN faga wiąże się z aparatem genetycznym bakterii i reprodukuje się razem z nim nie wyrządzając szkody komórce. W niektórych wypadkach profag powoduje nabycie przez bakterię nowych właściwości, np. zdolność maczugowców błonicy do wytwarzania toksyny uzależniona jest od obecności określonych profagów w ich aparacie genetycznym (Freeman 1951).

Kilka lat temu prasa codzienna obwieściła otrzymanie przez grupę wybitnych badaczy francuskich wyników analogicznych do transformacji u zwierząt wyższych. W odpowiedzi na doniesienie podniosły się liczne głosy krytyczne i wydawało się,

że mamy do czynienia z odkryciem klasy Boszjana. W r. 1960 Benoit, Leroy i Vendrely opublikowali dalsze dowody na poparcie swych poprzednich wyników.

Mamy wiele bezpośrednich i pośrednich dowodów na rolę KDN. Mimo sprzeczności w pojmowaniu mechanizmu poszczególnych procesów, podstawowe znaczenie KDN w zjawiskach dziedziczności wydaje się być bezsporne. Czy jest on w tej dziedzinie monopolistą? Przeciw takiemu pogładowi przemawia fakt braku KDN u wszystkich wirusów roślinnych, wielu zwierzęcych oraz u jednego bakteriofaga. Nosicielem informacji genetycznej jest u nich KRN. Jeśli rolę tę spełnia KRN wirusów, gdzie działają podobne prawa genetyczne jak u organizmów wyższych, to czy nie może jej spełniać KRN komórek?

W świetle hipotezy Stenta znaczenie KRN byłoby bardzo poważne, gdyż informacja kolejno przenosi się z jednego typu kwasów na drugi. Lindegren (1961), na podstawie doświadczeń wskazujących na zdolność drożdży do dziedzicznego utrwalania adaptacji enzymatycznej, wysunął nową hipotezę mechanizmu działania genu. Według niej informacja genetyczna może się przenosić z białek cytoplazmy na KDN jądra komórkowego. W ten sposób zmiana białek pod wpływem czynników środowiska mogłaby się odbijać i utrwać w postaci nowej cechy dziedzicznej. Jest to niewątpliwie próba przedstawienia możliwości przekształcania nabytych cech adaptacyjnych w cechy dziedziczne podlegające mendlowskim prawom.

Wg Chargaffa (1959), zamiast schematu sztywnej jednokierunkowej hierarchii KDN — KRN — białka, należy zależność między tymi ciałami przedstawić w postaci trójkąta, w którym oddziaływanie przebiega w różnych kierunkach. Dobrym przykładem tego jest udział enzymów w replikacji KDN *in vitro*.



Blizsze rozważanie wszystkich tych możliwości zaprowadziłoby nas zbyt daleko. Spróbujmy podsumować najważniejsze wnioski z referatu:

1) Liczne przesłanki natury teoretycznej i doświadczalnej wskazują na to, że kwasy dezoksyrybonukleinowe są nośnikami informacji genetycznej w układach żywych.

2) Nie można uznać monopolu KDN w procesach dziedziczenia, udział innych związków jest możliwy, a w niektórych jednostkach biologicznych pewny.

3) Liczne aspekty związane z mechanizmem działania KDN są przedmiotem sprzecznych hipotez.

4) Badanie molekularnych mechanizmów dziedziczności wydaje się jednym z najpłodniejszych kierunków rozwojowych biologii współczesnej.

Staraliśmy się przedstawić nadzwyczajne osiągnięcia na polu badań kwasów nukleinowych. Zagadnienia te wymykają się z rąk biologów i przeszły do pracowni



biochemicznych i biofizycznych. W wielu krajach nauki te rozrastają się gwałtownie, wyobcowując się całkowicie ze swej nauki macierzystej — biologii. Spotkałem biologa, który przez kilka lat pracuje nad chemizmem frakcji komórek drożdżowych, ale dopiero niedawno i to przypadkowo zobaczył drożdże pod mikroskopem.

Istnieje silna tendencja ujmowania zjawisk życiowych jako przejawu chemicznej struktury kwasu nukleinowego. Wydaje się, że tego rodzaju stanowisko jest poważnym uproszczeniem.

Zbyt jednostronna chemizacja biologii — od czego jeszcze jesteśmy dość daleko — ma, jak sądzimy, szkodliwy wpływ na naukę i życie praktyczne. Zamiast pracowicie i ostrożnie utrzymywać równowagę biologiczną zespołów roślin i zwierząt (w polu i w lesie) beztrudno rozsypuje się tony insektycydów, herbicydów i fungicydów, pozostawiając pustynię. Abiologicznie myślący człowiek rzuca do rzek miliony ton odpadków chemicznych, a do środowiska tony materiałów radioaktywnych. Nie rozumiejąc specyfiki biologicznej nie można rozwiązać tajemnic procesów życiowych, ani zapewnić też trwałego rozwoju gospodarczego. Poznanie całego kompleksu procesów chemicznych w organizmie jest tylko jedną stroną zagadnienia.

Jeden z autorów referatu (G. K.) nie w pełni zgadza się z powyższym zakończeniem i dodaje, że istnieją silne opory przeciwko sprowadzeniu istoty zjawisk biologicznych do procesów molekularnych. Nie ulega wątpliwości, że sprowadzenie takie, przeprowadzone w sposób uproszczony i schematyczny, może wywołać poważne skrzywienie obrazu rzeczywistości. Wydaje się jednak, że dotyczy to w równym stopniu każdego uproszczenia słusznej w zasadzie myśli. W organizmach żywych nie ma nic prócz atomów, ich części składowych i tworów z nich zbudowanych. Wydaje się więc, że rozwój naszej wiedzy musi prowadzić do znalezienia molekularnego wyjaśnienia wszystkich zjawisk biologicznych. (A sprawa różnych form ruchu materii — patrz artykuł Kerszmana 1958, B. R.).

#### LITERATURA

Alfert M. 1959. *Cytochemische Untersuchungen an basischen Kernproteinen während der Gametenbildung, Befruchtung und Entwicklung*. Chemie der Genetik. Springer Verl. Berlin, Göttingen, Heidelberg.

Anfinsen C. B. 1959. *The molecular basis of evolution*. J. Willey. New York.

Anteunis A., Liu S. L., 1960. Variation de la teneur moyenne en DNA des noyaux du tissu interstitiel du testicule du Rat blanc en fonction de l'activité cellulaire. Arch. biol. 71, 227—234.

Avery O. T., McLeod C. M., McCarty M., 1944. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal type. J. Exp. Med. 79, 137—148.

Baranowski T., 1959. Biochemia a problemy dziedziczenia. Post. Hig. Med. Dośw. 13, 511.

Bendich A., Pohl H. B., Beiser S. M., 1956. Chromatographic fractionation of deoxyribonucleic acids with special emphasis on the transforming factor of *Pneumococcus*. Cold Spring Harb. Symp. 21, 31—46.

Benoit J., Leroy P., Vendrely R., Vendrely C. 1960. Experiments on Peccin ducks treated with DNA from Khaki Campbell Ducks. Trans. New York Ac. Sc. ser. II 22, 494—503.

- Benzer S., 1957. The elementary units of heredity w: The chemical basis of heredity. John Hopkins Press, Baltimore.
- Bieleńska-Osuchowska, 1961. Cytologiczne badania nad rozwojem jamochłona *Cordylophora lacustris*. *Fol. Morph.* 11.
- Bloch D. P., 1958. Changes in the desoxyribonucleic complex during the cell cycle. *Frontiers in cytology* 113—166. Yale Univ. Press. N. Haven.
- Bloch D. P., Hew H. Y. C., 1960. Changes in nuclear histones during fertilization and early embryonic development in the pulmonate *Helix aspersa*. *J. Biph. Biochem. Cytol.* 8. 69.
- Boivin A., Vendrely R., Vendrely C., 1948. L'acide desoxyribonucleique du noyau cellulaire, depositaire des caractères héréditaires. *Compt. rend. Ac. Sc. Paris* 226, 1061—1064.
- Brachet J., 1957. *Biochemical cytology*. Acad. Press N. York.
- Burma D. P., Kröger H., Ochoa S., Warner R. C., Weill J., 1960. Further studies on DNA acid dependent enzymatic synthesis of RNA. *Proc. Ntl. Ac. Sc. US.* 47. 749—752.
- Chayen J., 1960. The localization of deoxyribose nucleic acid in cells of the root meristem of *Vicia faba*. *Expl. Cell Res.* 20, 150—171.
- Chayen J., Denby E., 1960. The distribution of deoxyribonucleic acid in homogenates of plant roots. *Expl. Cell Res.* 20, 182—197.
- Chayen J., Norris K. P., 1953. Cytoplasmic localization of nucleic acids in plant cells. *Nature* 171, 472—473.
- Chargaff E., 1959. Nukleinovye kisloty kak nositeli biologiceskoj informacii. *Vozniknovenije žizni na zemle*. Izd. AN SSSR Moskva.
- Chèvremont M., Chèvremont-Comhaire S., Baeckelanel E., 1959. Action de désoxyribonucléases neutre et acide sur des cellules somatiques vivantes cultivées in vitro. *Arch. biol.* 70, 811—831, 833—849.
- Cleland K. W., 1961. Deoxyribonucleic acid content of nuclei dividing amitotically. *Nature* 191, 504.
- Fautrez J., 1960. Variations de la teneur en acide désoxyribonucleique du noyau en fonction de l'activité cellulaire. *Biochem. Pharmacol.* 4, 169—180.
- Franck G., 1960. Etude histoautoradiographique des acides désoxyribonucléiques au cours de l'hypertrophie compencatrice du rein chez le Rat blanc jeune. *Compt. rend. Ac. Sc. Paris* 251, 1306—8.
- Freeman V. J., 1951. Studies on the virulence of bacteriophage-infected avirulent strains of *Corynebacterium diphtheriae*. *J. Bact.* 61, 675.
- Gamov G., Rich A., Yčas V., 1957. *Peredacza informacii ot nukleinovych kislot k. bielkam*. *Voprosy biofiziki*. Izd. Inostr. Lit. Moskva.
- Hershey A. D., Chase M., 1952. Independent functions of rival protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.* 36, 39.
- Jesse J., 1961. Studies on the mechanism of DNA synthesis, referat na V Międzynarodowym Kongr. *Biochem. Moskva*.
- Kaufmann B. P., McDonald M. R., 1956. Organization of the chromosome. *Cold Spring Harb. Symp.* 21, 233—244.
- Kerszman G., 1959. Zagadnienia genetyki bakteriofagów. *Post. Hig. i Med. Dośw.* 13, 343.
- Kerszman G., 1958. Koncepcja form ruchu materii u Engelsa. *Studia Filozoficzne* nr 619, 152—162.
- Kornberg A., 1957. Pathways of enzymatic synthesis of nucleotides and polynucleotides, w: *The chemical basis of heredity*. J. Hopkins, Baltimore.
- Kornberg A., 1960. Biologic synthesis of DNA. *Science* 131, 1503—1508.
- Krupko S., Denley A., 1955. Desoxyribonucleic acid deficiency in the mature egg nucleus of *Aloe davyana* in South Africa. *Nature* 177, 92—3.
- La Cour L. F., Deeley E. M., Chayen J., 1956. Variations in the amount of Feulgen stain in nuclei of plant grown at different temperatures. *Nature* 177, 272—273.
- Levinthal C., 1956. The mechanism of DNA replication and genetic recombination in phage. *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 42, 394.
- Lima de Faria A., 1959. Incorporation of tritiated thymidine into meiotic chromosomes. *Science.* 130, 503—504.

- Lindgren C. C., 1961. A hypothesis concerning the mechanism of gene action. *Nature* 189, 659—665.
- Makarov P. V., 1960. Elektronnaja mikroskopija kletocznego jadra i chromosom. *Usp. sovr. biol.* 44—61.
- Marmur I., Schildkraut C. L., 1961. Detection of deoxyribonucleic acid homologies and its relation to genetic compatibility and taxonomy of micro-organisms. V Międzynarod. Kongres Biochem. Moskwa.
- Meselson M., Stahl F. W., 1958. The replication of DNA in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 44, 671.
- Ochoa S., Burma D. P., Kröger H., Weill J. D., 1961. Deoxyribonucleic acid-dependent incorporation of nucleotides from nucleoside triphosphates into ribonucleic acid. *Proc. Ntl. Acad. Sci. US* 47, 670—679.
- Orska J., 1959. Badania ostatnich lat nad materialnym podłożem dziedziczności. *Przegl. Zool.* nr 10—19.
- Painter R. B., Drew R. M., Giaouque B. Y., 1960. Further studies on deoxyribonucleic acid metabolism in mammalian cell cultures. *Expl. Cell Res.* 21, 98—105.
- Pakuła R., 1961. Funkcja genetyczna kwasów nukleinowych ich struktura i biosynteza. *Post. Hig. i Med. Dośw.* 14, 253.
- Pelc G. R., LaCour L. F., 1959. The incorporation of  $H^3$  thymidine in newly differentiated nuclei of roots of *Vicia faba*. *Experientia* 15, 131.
- Plaut W., 1960. On the incorporation of thymidine in the cytoplasm of *Amoeba proteus*. *Biochem. Pharmacol.* 4, 79—83.
- Pogo A. O., Cordero Funes T. R., Mordoh J., 1960. Cytophotometry of DNA in liver cell nuclei during postnatal growth. New aspects of DNA class cells. *Expl. Cell Res.* 21, 482—497.
- Prescott D. M., 1960. Relation between cell growth and cell division. *Expl. Cell Res.* 19, 228—238.
- Rodkiewicz B., 1960. Niektóre mikrospektrofotometryczne i autoradiograficzne badania nad kwasem dezoksyrbonukleinowym. *Kosmos* 9, 7—16.
- Rodkiewicz B., 1961. Zagadnienie stałości poziomu KDN mierzonego fotometrycznie po reakcji Feulgena w różnych komórkach roślinnych. *Zesz. Nauk. Uniw. Łódzkiego. Ser. II zesz.* 10, 83—117.
- Roger M., Hotchkiss R. D., 1961. Selective heat inactivation of pneumococcal transforming deoxyribonucleatae. *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 47, 653—669.
- Schultze B., Oehlert W., 1960. Autoradiographic investigation of incorporation of  $H^3$ -thymidine into cells of the rat and mouse. *Science* 131, 737.
- Serra J. A., 1959. Gene theory: a model of the gene and its sub-units. *The Nucleus* 2, 9—22.
- Serra J. A., 1959. Compound-helix and monomer structure of chromosomes. *Revista Port. Zool. Biol. Ger.* 2, 51—96.
- Setlow J. K., Setlow R. B., 1960. Evidence for the existence of single stranded stage of  $T_2$  bacteriophage during replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 46, 791.
- Sinsheimer R. L., 1959. A single stranded deoxyribonucleic acid from bacteriophage X 174. *J. Molec. Biol.* 1, 43.
- Stent G., 1958. Mating in reproduction of bacterial viruses. *Adv. in Virus Res.* 5, 95.
- Strugger S., 1960. Ergebnisse elektronenmikroskopischer Untersuchungen an der meristematischen Pflanzenzelle. *Naturw. Rundsch.* 13, 51—60.
- Taylor J. H., 1960. Asynchronous duplication of chromosomes in cultured cells of Chinese hamster. *J. Bioph. Biochem. Cytol.* 7, 455—464.
- Thiery M., 1960. Les variations de la teneur en acid désoxyribonucléique (DNA) des noyaux de l'épithélium vaginal de souris au cours des cycle oestral. *Arch. biol.* 171, 389—406.
- Tschermak-Woess E., 1959. Die DNS-Reproduktion in ihrer Beziehung zum endomitotischen Strukturwechsel. *Chromosoma* 10, 497—503.
- Tschermak-Woess E., 1960. Über den Einbau von  $H^3$ -thymidin in die DNS and die Endomitose-tätigkeit in der Wurzel von *Vicia faba*. *Chromosoma*, 11, 25—28.

Vazart B., 1958. Differentiation des cellules sexuelles et fécondation chez les Phanerogames. *Protoplasmatologia* VII 3a Springer. Wien.

Wahl R., Huppert J., Emerique-Blum L., 1960. Production de phages par des «protoplastes» bactériens infectés par des préparations d'acide désoxyribonucléique. *Compt. rend. Ac. Sc. Paris* 250. 4227—4230.

Watson J. D., Crick F. H. C., 1953. Molecular structure of nucleic acids. *Nature* 171, 737—740.

Watson J. D., Crick F. H. C., 1953. Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature* 171, 964—967.

Watson J. D., Crick F. H. C., 1953. The structure of deoxyribonucleic acid. *Cold Spring Harb Symp.* 18, 123.

Wimber D. E., 1961. Asynchronous replication of deoxyribonucleic acid in root tip chromosomes of *Tradescantia palludosa*. *Expl. Cell Res.* 23, 402—407.

Woodard J., Rash E., Swift H., 1961. Nucleic acid and protein metabolism during the mitotic cycle in *Vicia faba*. *J. Biph. Biochem. Cytol.* 9, 445—462.

Zamenhof S., 1959. *The chemistry of heredity*. Charles C. Thomas, Springfield.

*Katedra Anatomii i Cytologii Roślin, Katedra Mikrobiologii Szczegółowej, Uniwersytet Łódzki*