

Drukiem wytłuszczonym wyróżniono nazwiska laureatów Nagrody Nobla.

Moja *Delta*

Jestem wdzięczna Profesorowi Markowi Kordosowi, który w 2010 roku zaproponował mi pisanie felietonów „Życie na Żywo” do *Delty*.

Z popularyzatorskiej aktywności znałam Profesora, i wiedziałam, że propozycja jest poważna. Przyjęłam ją po namyśle, ponieważ w *Delcie* rozumiałam jedynie słowa z niektórych tytułów; treść artykułów umykała mojemu biologicznemu pojmowaniu świata zwykle po pierwszym zdaniu. Jeśli tak – pomyślałam – to jak ja mam pisać, żeby zrozumieli to astronomowie, fizycy, informatycy czy matematycy?

Pierwszy numer *Delty* ukazał się 50 lat temu. Mniej więcej w tym samym czasie rozpoczął się lawinowy rozwój genetyki molekularnej, w której zamyka się całe moje życie naukowe. Nawet w telegraficznym skrócie nie mogę tego okresu w „mojej” nauce opisać. Proszę uruchomić wyobraźnię!

W 1953 roku zdałam maturę w LO im. Narcyzy Żmichowskiej w Warszawie. Pisałam wtedy obowiązujący egzamin z biologii – o ewolucji! Wiedziałam już, że pójdę na studia biologiczne. W tym samym roku w prestiżowym tygodniku *Nature* ukazało się kilka artykułów **Jamesa Watsona**, **Francisa Cricka**, **Maurice’a Wilkinsa** i Rosalind Franklin opisujących strukturę kwasu deoksyrybonukleinowego, DNA. Watson i Crick napisali w swoich powściągliwych tekstach zdanie, iż nie mają wątpliwości, że jest to molekularny zapis cech genetycznych, jakoś transkrybowany do aparatu syntezy białek.

Zaczynała się nowa epoka BIOLOGII MOLEKULARNEJ.

Gdy drukowano 1. numer *Delty* (1974), istniała już ogólna wiedza w tym zakresie. W DNA zawarta jest pełna wiedza o wszystkich cechach danego organizmu. Ten zapis jest realizowany za pośrednictwem innych cząsteczek: RNA, drugiego powszechnie występującego w komórkach kwasu nukleinowego i białek. RNA jest bardzo podobny do DNA, choć nie identyczny. Syntezę RNA (przepisanie informacji) nazwano transkrypcją. Reakcje syntezy, metabolizmu i rozpadu kwasów nukleinowych przebiegają w komórkach pod „dykcją” enzymów. Liczba i rodzaj enzymów w większości procesów były wówczas nieznanymi.

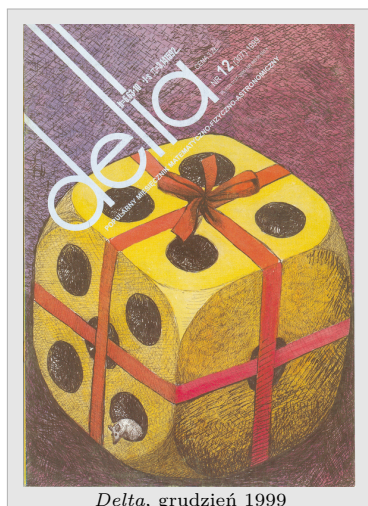
W 1967 roku zgromadzeni na Kongresie Biochemicznym w Warszawie uczeni dowiedzieli się o podstawowych procesach, w których realizowana jest informacja genetyczna zapisana w DNA kończąca się syntezą białek enzymatycznych (ekspresja genetyczna) – opisywanych wspólną nazwą kodu genetycznego. Białka to „wykonawcy” instrukcji z DNA.

To w Warszawie **Ghobind Khorana** ogłosił, że kod genetyczny jest trójkowy, tzn. że określona trójka nukleotydów w DNA (RNA) powoduje włączenie do nowopowstającego białka określonego składnika – aminokwasu. Każdy białkowy aminokwas ma swoją trójkę.

Szczegółów procesów ekspresji genów nie znano. Na szczęście okazało się dość szybko, że ogólnie są takie same w całym świecie ożywionym. Myślano: niezależnie, czy jest to wirus, czy człowiek, kierunek przepływu bioinformacji jest taki sam: DNA – RNA – białko.

Gdy wychodziły pierwsze numery *Delty*, już było jasne, że warunkiem zrozumienia tych procesów jest szczegółowe poznanie kolejności ułożenia nukleotydów w DNA. Jest to niciowa cząsteczka, w której liniowo ułożone są podjednostki (nukleotydy) 4 rodzajów, a ich kolejność (sekwencja) to właśnie owa informacja genetyczna. Cząsteczki bywają ogromne (kilkaset, miliony, a nawet miliardy nukleotydów). Nie istniały wówczas metody oznaczania tej kolejności (sekwencjonowanie), a bez tej wiedzy dalszy postęp był niemożliwy.

W drugiej połowie lat 70. opracowano dwie różne metody sekwencjonowania (**F. Singer** i wsp., 1977 i **W. Gilbert** i wsp., 1977). W dalszych latach metoda Singera, po licznych modyfikacjach, została zautomatyzowana, a automaty (sekwencjatory) są do dziś ulepszane, głównie w kierunku zwiększania czułości



Delta, grudzień 1999



Delta, listopad 2000

oznaczeń, zmniejszania wielkości koniecznej próbki. O sekwencjonowaniu DNA wie już każdy czytelnik kryminałów, wydaje się to prostym zabiegiem możliwym do wykonania w dowolnej policyjnej placówce, także w Polsce. Ogrom pracy, która doprowadziła do takiego postępu, jest nie do wyobrażenia. Pierwsze pełne sekwencje DNA bakterii (*Haemophilus influenzae*, 1,83 mln nukleotydów, i *Mycoplasma genitalium*, 580 tys. nukleotydów) oznaczono w 1995 roku. W roku 1997 zsekwenjonowano 5-milionowy genom najczęściej stosowanej w badaniach laboratoryjnych bakterii *Escherichia coli*. I wreszcie najpilniej i najgoręcej oczekiwana sekwencja ludzkiego DNA (3,2 mld nukleotydów) ogłoszona została kilkakrotnie – z pewnym przybliżeniem w lutym 2001 roku przez konsorcjum HUGO w *Nature*, a przez firmę Celera Genomics w *Science*. Od tego czasu często pojawiają się prace, w których sekwencje ludzkiego DNA oznaczane są coraz pełniej, z użyciem coraz nowocześniejszych i bardziej dokładnych technik.

Postępy w sekwencjonowaniu indywidualnych DNA doprowadziły do zadziwiającego i niezwykle stymulującego odkrycia, że budowa DNA prokariotów (brak jądra w komórce, bakterie) różni się diametralnie od DNA eukariotów (w ich komórkach DNA upakowany jest w jądrze). W dodatku w odcinkach kodujących białka eukariotyczne (potocznie identyfikowanych z genami) odcinki kodujące (eksony) przedzielane są odcinkami niekodującymi (introny), często dłuższymi niż te poprzednie (**R. Roberts, P. Sharp**). Gen eukariotyczny jest podzielony, co ogromnie utrudnia znajdowanie genów kodujących białka w poznanej sekwencji DNA. Jest jeszcze trudniej: w komórkach eukariotycznych odcinki DNA kodujące białka są w sumie krótsze niż cały pozostały DNA. Ponieważ w tamtych latach jedyną rozpoznawalną funkcją DNA było kodowanie białek, to temu pozostałemu DNA w końcu XX wieku nie umiano przypisać funkcji. Nawet pojawiła się nazwa „junk DNA” (DNA ze śmietnika). W DNA ludzkim np. na eksony+introny przypada około 27% DNA, w tym na eksony tylko 1,5%. A po co jest reszta? – słyhać okrzyki do dziś.

Równoległe do sekwencjonowania DNA nastąpił szybki postęp poszukiwań, identyfikacji i preparatyki enzymów metabolizmu kwasów nukleinowych. Zapoczątkowały go odkrycia licznych enzymów syntezy DNA (**A. Kornberg** i wsp., od 1950) ale – co pobudziło aktywność wielu światowych ośrodków – odkrycie w bakteriach tzw. enzymów restrykcyjnych (**W. Arber, H. Smith, D. Nathans**, koniec lat 70.) przecinających nici DNA w obrębie lub sąsiedztwie określonych, krótkich sekwencji (najczęściej 4 lub 6 nukleotydów).

Setki odkrywanych następnie enzymów restrykcyjnych stały się narzędziami do mapowania długich sekwencji DNA, wycinania fragmentów do sekwencjonowania i dalszej obróbki. Chyba stały się też one najliczniejszą grupą komercyjnie dostępnych odczynników biologicznych używanych na całym świecie.

W 1972 roku naukowcy z Zakładu Biochemii Uniwersytetu Stanforda w USA (**P. Berg** i wsp.) opracowali pierwsze doświadczenia, później ochrzczone nazwą inżynierii genetycznej, polegające na wycinaniu określonych sekwencji DNA i wprowadzaniu ich do innych niż dawcy komórek. Inżynieria genetyczna,

fachowo zwana rekombinacją DNA *in vitro*, uwieczniona została nie tylko jako podstawowa technika analizy DNA, ale również tematyka wzbudzająca liczne kontrowersje społeczne, ekologiczne, kończące się nawet demonstracjami ulicznymi.

Z poznawania kolejnych sekwencji DNA, całych genomów tysięcy organizmów wyrosły takie odkrycia, jak: klonowanie zwierząt, modyfikacje embrionów zwierząt (**M. Capecchi, M. Evans, O. Smithes**, N.N. 2007), uzyskiwanie do klonowania określonych sekwencji genomów (metoda PCR, **K. Mullis**, 1983), wiedza o komórkach macierzystych i ich reprogramowanie (**J. Gurdon, S. Yamanaka** N.N. 2012), liczne techniki terapeutyczne w zakresie immunoterapii nowotworów, wiedza o cyklach życiowych wirusów (np. HIV, 1983, **F. Barre-Sinoussi, L. Montagnier**), odkrycie i poznanie prionów (**S. Prusiner**, N.N. 1997). Hitem ostatnich lat jest technika CRISPR/Cas9, w której, korzystając z naturalnych procesów obrony bakterii przed wirusami, **J. Doudna** i **E. Charpentier** stworzyły w 2012 roku system redagowania genów o najwyższej precyzji. Umożliwia on precyzyjne wprowadzanie zmian w sekwencjach DNA, także *in vivo*. System ten, stale ulepszany, daje nadzieje na molekularne terapie w medycynie. Wreszcie Nagroda Nobla w 2023 roku dla **K. Kariko** i **D. Weissmana** przyznana za badania nad wirusowym RNA oraz wynalazek szczepionki RNA.

Od tego czasu często pojawiają się prace, w których sekwencje ludzkiego DNA oznaczane są coraz pełniej, z użyciem coraz nowocześniejszych i bardziej dokładnych technik. Sensacyjne są również oznaczenia sekwencji ludzkiego archaicznego DNA (DNA człowieka neandertalskiego) (**S. Paabo**, N.N. 2022).

Delta wkracza w kolejne 50 lat istnienia; wiedzę o molekularnych podstawach genetyki zaczyna wzbogacać sztuczna inteligencja, porównując w trybie automatycznym podobieństwa i różnice w sekwencjach DNA. Szybciej uzyskuje się ważne, zapewne nieoczekiwane, wyniki niż płynące z dotychczasowych „ręcznych” badań. Zazdroszczę ludziom, którzy tego poznania dostąpią.

Magdalena FIKUS (magda.fikus@gmail.com)

Od roku 2010 redaktor stałego działu „Życie na żywo”.