

A history of Molecular biology
Michel Morange
Harvard University press, 2000, 336 pages

Превод Надя Петрова, F 54682
Под редакцията на доц. Галина Сачанска

Раждането на молекулярната биология

Глава 1

Корените на новата наука

В началото на двадесети век, биохимията замества физиологичната химия. Биохимията е предоставяла лекарства с помощта на научните методи на диагностиката; като основна наука, тя се опитва да разбере начинът, по който се променят молекулите в организма.

Първият биохимичен експеримент е проведен през 1897, когато Edward Büchner, немски химик, успял да възпроизведе захарна ферментация *in vitro*, с помощта на клетки – без екстракт от мая. Това е особено важно, тъй като четиредесет години по-рано Пастър твърдял, че тази ферментация представлява „знак” или „подпис” на живот.

Биохимията е разработена в две направления: от една страна е изучавала промяната на молекулите (по-специално, захарите) в организма; от друга страна, тя характеризирала протеини и ензими - основните съставки на живота и предизвикващи молекулярните трансформации, които интересуват биохимиците.

Първата половина на двадесети век била важен период за биохимията, белязан с декодиране на основните метаболитни пътища и цикли – пътят на гликолизата, цикълът на уреата, цикълът на Кребс и др., като и с голям брой проучвания за клетъчното дишане. В същото време, напредъкът на физикохимията довел до развитието на средства, които биха позволили *in vitro* изследване на ензимната активност. Количествената скала на киселинност (pH) е била разработена, като са били използвани „буферни разтвори”, които възпроизвеждат свойствата на вътреклетъчната среда. Това развитие поставя основите за изучаването на основните принципи на кинетичната активност на ензимите – науката Ензимология. Пречистването и кристализацията на ензимите дава възможност за изучаване на тяхната структура.

В биохимията, първите две десетилетия на двадесети век били доминирани от „колоидната” теория. В допирните точки на химията и биологията, тази теория обявява съществуването на ново състояние на материята – „колоидното” състояние – с

физични и химични свойства, които характеризират организма, но все пак могат да бъдат изучавани от физиката и химията. Границите на тази теория са били зле дефинирани, както и редица проучвания, проведени в нейните рамки, които сега се считат за класика във физичната химия. Въпреки факта, че колоидната теория е била потънала в забвение, тя е била изключително важна; всъщност, няколко Нобелови награди са били връчвани за работата върху колоидите.

Сега знаем, обаче, че тази теория е напълно погрешна по редица причини. Един от основните постулати бил, че колоидите са се образували, когато поради малките молекули се групирани. Поддръжници на колоидната теория смятали, че големите молекули не могат да съществуват и може да има само агрегати на по-малки молекули. Била е проведена битка между привърженици и противници на колоидната теория върху измерването на молекулната маса. Първата фаза на тази битка е разработването на подходящи техники за измерване. Изолирането на кристализирани протеини и ензими и развитието на дифракционните изображения чрез рентгенови лъчи на тези кристали показва, че компонентите на организмите са ясно определени структури, нещо, което е било несъвместимо с колоидната теория.

Колоидната теория е била постепенно заменена от макромолекулната теория. Терминът „macromolecule” е въведен през 1922 г. от немския химик Hermann

Друго понятие, което е важно за разбирането на историята на биохимията и конкретният принос на молекулярната биология е „спецификата”. „Спецификата” се отнася до способността на ензимите да разпознаят химичната структура на молекулите, на които те действат (техният субстрат). Тази концепция, която е смятана за характеристика на биологичните молекули, е вездесъща за биологията в първата половина на двадесети век. Първата ясна препратка е направена през 1890 г. от немския химик Emil Fischer, който е предприел обстойно проучване на протеините. За да илюстрира спецификата, Fischer използвал метафората на ключа – ензимът взаимодейства със субстрата като ключ със ключалка.

Идеята, че всички биологични молекули имат химическа специфичност, идва от изследванията с ензими и е основана на най-яркото развитие в имунологията. Имунолозите бързо направили аналогия между взаимодействието ензим-субстрат и взаимодействието между антигени и антитела.

Химическото изследване на антителата – имунохимия – е развито през първата половина на двадесети век по време на тласъка, получен от работата на Karl Landsteiner. Landsteiner е австрийски имунолог, работил в Института Рокфелер в Ню Йорк. Той инжектирал животни с различни молекули и изучавал как антителата се образуват срещу тях. Резултатите били впечатляващи: независимо от химическата природа на молекулите, организмът бил в състояние да произвежда антитела срещу тях, при условие, че те са съчетани с носител на макромолекули.

Landsteiner направил малки молекулни промени в инжектираните вещества и показал, че животните могат да разпознаят тези варианти и синтезират антитела,

които реагират специфично с нови молекули. Тези резултати показват, че спецификата на разпознаване представлява вътрешно свойство на живот. Имунохимията, макар и дисциплина сама по себе си, се оказала и инструмент за изследване на състава на организма. Ако дадено животно се инжектира с белтъци, извлечени от други организми то у него се произвеждат антитела насочени специално срещу този белтък. Чрез спецификата на имунологичното разпознаване се разкрива спецификата на биполимерите, изграждащи един организъм. Молекулите, открити в организма имат специфични форми и свойства и които могат да взаимодействат специфично с други органични съставки – антитела или субстрати.

Между 1936 г. и 1940 г., концепцията за спецификата претърпяла значителни промени и се развита от биологична ведна стереохимична концепция. Бързият развой, биологичните свойства да се изследват на физикохимично ниво било резултат от срещата на Landsteiner с американския химик Linus Pauling. Landsteiner искал да намери обяснение за химическата специфичност на антителата, които са произведени срещу молекулите, които той инжектира. За Pauling – който искал да изучава биологичните молекули – резултатите на Landsteiner били отличен материал за характеризирането на химичните връзки отговарящи за взаимодействието между антигените и антителата.

Pauling вече добре е знаел, че квантовата механика може да се адаптира към изучаването на молекулите. Теоретичната работа на австрийския физик Erwin Schrödinger, заедно с Walter Heitler и Fritz показала, че образуването на химични връзки може да се обясни с квантовата механика и да се прогнозира благодарение на структурата на атомите, участващи във връзките. Изчисленията били много трудни и новата квантова теория не могла да бъде прилагана за сложни молекули. Pauling опростил тези изчисления и показал, въз основа на много примери, че квантовата механика може да обясни съществуването и характеристиките на химичната връзка. Впоследствие той разширил работата си върху редица други молекули, като изчисленията дали резултат за дължината и силата на връзката, която не съответствала на наблюдаваните стойности. Pauling споменал, че тази разлика се дължи на факта, че молекулите „отеквали” между няколко различни структури. Наблюдаваната разлика била директно тълкуване на равновесието между две тела, като резултат от резонансна енергия. Pauling използвал този поглед към нови интерпретации на предишните си експериментални данни, по-специално тези от кристалографски изследвания. Полу-емпиричният му подход, който непрекъснато се измествал между структурните изследвания и простите теоретични правила, произтичащи от принципите на квантовата механика, дал нова форма на химията. Личността на Pauling, неговата харизма, и неговата надареност при провеждането на изследвания също изиграли важна роля в тази трансформация.

Този подход позволил на Pauling да разпознава силните ковалентни връзки от слабите химични връзки. Силни връзки обикновено се наричат химичните връзки,

които възникват, когато два атома поделят електрони. Слабите връзки – водородни или йонни връзки – възникват при частично разпределение на електроните; въпреки, че се характеризират като „слаби”, те играят важна роля в биологията. Данните на Landsteiner са поразително доказателство за значимостта на слабите връзки в областта на молекулните взаимодействия. Pauling обяснил спецификата на взаимодействието антияло – антиген, чрез възникването на определен брой слаби връзки, по-специално, водородни връзки между антигена и антиялото. Слабите връзки са формирани само между атомите разположени близо един до друг. Наличието на голям брой слаби връзки показва, че антигените и антителата имат допълнителни структури и се вписват един в друг, с което се потвърждава модела, поредложен половин век по-рано от Emil Fischer.

При прилагането на концепцията за слабите връзки в белтъчната структура, Pauling изследвал денатурацията на протеините с топлина, киселини, основи, или химикали подобно на уреята. През 1936 г. той достигнал до правилната интерпретация на денатурацията: тя не включва разкъсване на ковалентните връзки в молекулата, нито разделяне на колоидния агрегат, а загуба на водородни връзки, които стабилизират триизмерната структура на протеина.

Историята на генетиката е не по-малко завладяваща от тази на биохимията. През 1866 моравския монах Грегор Мендел първи формулира „законите на наследствеността”, които са преоткрити през 1900 от Hugo de Vries, Erich von Chermak и Carl Correns (- 2 стр).

Поради своята интелектуална изолация, много биолози доскоро считаха генетиката за отстранена от реалността наука. Генетиците изучавали гените, без очевидно да се интересуват нито за начина, по който са работили, нито за тяхната химична природа. Hermann J. Muller бил единствения от учениците на Морган, който проявил непосредствен интерес към тези въпроси. За Muller гените били „основите на живота”, мястото където „тайната” на живота можела да бъде разкрита. През 1927 г. Muller открил мутагенния ефект на рентгеновите лъчи. Точно както Ernest Rutherford-овите схващания за химичните елементи през 1919 г. отворили пътя към разбирането на атомното ядро, така Muller бил убеден, че неговият експеримент, извършен през 1927 г. ще помогне да бъдат разкрити тайните на гените. Muller бил особено заинтересуван от работата на Max Delbrück, който се опитвал да определи свойствата на гените, чрез изучаване на промените в броя на мутациите в зависимост от радиацията (вижте Глава 3).

Въпреки това, има две причини – една експериментална, а другата - теоретична за забавянето, а именно, че генетиците взели слабо участие в тези и други подобни изследвания. Първата причина била, че през 1930 г. преките химически проучвания на хромозомите показали, че те са съставени от нуклеинови киселини (дезоксирибонуклеиновата киселина, или ДНК) и белтъци. Това довело до бързо приемане от биолозите, но не означавало, че двата компонента на тази структура били

с еднаква важност. Смятало се, че гените са съставени от белтъци, и заедно с нуклеиновите киселини служели като източник на материал за синтеза или като енергийни запаси. Химическата природа на гените не била считана за важна поради простата причина, че повечето генетици мислели, че проблемът поне отчасти бил решен.

Втората причина била генетиците да не се заинтересуват веднага от изучаването на това как работи генът е, че те вече са имали представа каква е ролята на гените в клетката. На конференция през 1945 г. Muller описал гените като „инструкция ... относителна константа ... която да служи като референтна рамка”. Взети заедно, гените в организма били смятани за форми на „една относително стабилна структура, чието състояние е покой”. Генетиците можели да разглеждат гените на всички организми, но това не означавало, че те различавали гените от другите биополимери на организма; изучаването на химията на гените е свързано и с изследването на останалите компоненти (биополимери).

Генетиците, обаче смятали, че гените имали основно и уникално свойство: самовъзпроизвеждане. Генетиците обърнали много по-голямо внимание на самовъзпроизвеждащата се функция на гена, отколкото на дейностите в клетката. Самовъзпроизвеждането било особено интересно и довело до многобройни примери. Някои учени го свързвали с удвояването на еднакви хромозоми.

Pascual Jordan предложил модел на генна репликация, почиваща върху основните принципи на квантовата механика (на която той бил един от основателите). Според нея гените се възпроизвеждат чрез привличане на съставните им елементи от околната среда. През 1940 г. Pauling и Delbrück опровергали моделите на Jordan, като доказали, че той е бил несъвместим с резултатите от квантовата механика. Те твърдели, че силата на привличане между еднакви молекули била предизвикана от наличието на структури, допълващи се в субмолекулярно ниво.

Доклада на Pauling и Delbrück бил основата за предвидждането на двойно спирална та структура на ДНК и идеята за нейното възпроизвеждане. В действителност подобно тълкуване би изглеждало анахронизъм и би дало на доклада по-голяма тежест, отколкото дори неговите автори биха очаквали. Самия Pauling не се позовал на този доклад, когато се опитвал да определи структурата на ДНК през 1950 г. Този парадокс показва, че теоретичното изследване на самовъзпроизвеждащите се свойства на гените не са оперативна програма за научни изследвания.

По този начин Генетиката била отделена от другите области на биологията като Ембриология и Биохимия, а взаимовръзките ѝ с еволюционната биология били комплексни. Генетичните модели като цяло били получени с малко ентузиазъм; множество еволюционни биолози - Дарвин и Ламарк учели да се разсъждава относно на прогресиращото развитие и непрекъснатите варианти, които са били натрупвани в продължение на поколения. Мутациите, констатирани от генетиците са били далеч по-големи от микровариациите, предложени от много еволюционни теории. Освен това

са съществували тесни връзки между Дарвинистите и биометриците, които измервали променливостта на наследствените характеристики и тяхното предаване от поколение на поколение. Въпреки че, те са изучавали същите обекти както генетиците, биометриците имали напълно различен теоретичен подход. Признаците, които те изследвали, напр. размер и тегло днес са познати като полигенни характеристики (произведени под действието на редица гени), което прави особено трудно да се проучи механизма, по който се предават.

Съвместяването на генетиката и теорията на Дарвин за еволюцията бил бавен процес, в които математиците-генетици R. A. Fisher, J. B. S. Haldane и Sewall Wright играли важна роля. Популационната генетика възникнала през 1930 г. в резултат на много спорове и била последвана от „еволюционен синтез“, който се провел под влиянието на Theodosius Dobzhansky. Нео–дарвиновият синтез обяснява еволюцията с комбинация от два феномена:

- наличието на малки спонтанни генетични вариации (мутации);
- премахването на по-малко годни хора от населението и избора на лицата с висока скорост на възпроизвеждане.

За разлика от гледната точка на Дарвин, тази теория отхвърля наследството на придобитите характеристики. Това предполага, че генотипът не зависи от фенотипа.

Потвърждавани и от авторитета на генетиката, нео-дарвиновото тълкуване на еволюцията надделява. Ключовите аргументи в негова полза са били изтъкнати от генетика Dobzhansky и палеонтолога George Simpson. Както пред генетиката, така и пред нео-дарвинистите са били изправени голям брой проблеми. Един от основните им му постулати бил, че промените (мутациите) били малки по мащаб и можели да имат положително или отрицателно въздействие. Това било особено проблемно предвид, че нищо не се знаело за естеството на мутациите, гените или генните продукти, нито за това, как е действал естествения подбор върху тях. Би било съвсем основателно да се твърди, че „еволюционният синтез“ е точно толкова абстрактен и откъснат от реалния свят, както класическата генетика, от която е възникнал.