

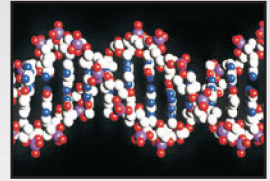
*Τα πάντα ρει*

*Ηράκλειτος*

1

ΚΕΦΑΛΑΙΟ

# Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ DNA



Μία καλή χρονική στιγμή για να ξεκινήσει το ταξίδι στον μαγικό κόσμο αυτού του καταπληκτικού μορίου, του DNA, είναι το 1938. Είναι η χρονιά που ο όρος «Μοριακή Βιολογία» κάνει την πρώτη του εμφάνιση στον επιστημονικό και μη τύπο. Ο Warren Weaver, διευθυντής του ιδρύματος Rockefeller, χρησιμοποιεί αυτόν τον όρο για να περιγράψει ένα νέο πεδίο έρευνας, το οποίο «..... άρχιζε να αποκαλύπτει πολλά από τα μυστικά της στοιχειώδους μονάδας του ζώντος κυττάρου.....». Ο Weaver δεν μένει στα ευχολόγια και στις μεγαλόσχημες εισαγωγές επιστημονικών όρων. Με εισήγη-



Warren Weaver

σή του, το ίδρυμα Rockefeller υιοθετεί το νέο πεδίο έρευνας, χρηματοδοτώντας την δια ακτίνων Χ κρυσταλλογραφική μελέτη των βιολογικών μορίων, μία κατεξοχήν Βρετανική μεθοδολογία που όφειλε την ύπαρξή της στους W.H. Bragg και W.L. Bragg. Αξίζει, παρενθετικά, να σημειωθεί ότι ο τελευταίος, σε ηλικία μόλις 25 ετών, για την έρευνα αυτή μοιράστηκε, το 1915, με άλλους επιστήμονες, το βραβείο Νόμπελ της Φυσικής.

Το 1938 είναι, επίσης, η χρονιά που, στο Πανεπιστήμιο του Leeds, ο Bill Asbury και η Florence Bell δημοσιεύουν την πρώτη σημαντική ακτινοκρυσταλλογραφική μελέτη του DNA. Δεδομένου ότι το Leeds είχε πολύ ανεπτυγμένη εριοβιομηχανία, ο Asbury μελετούσε τις κερατίνες, οι οποίες είναι βασικά δομικά συστατικά του μαλλιού. Ενδιαφερόταν πολύ για τη λειτουργική σημασία των βιομορίων και έτσι άρχισε να αναλύει ακτινοκρυσταλλογραφικά όλα τα είδη των φυσικών ινών. Μελετώντας ένα αποξηραμένο film με DNA διαπιστώνει ότι τα νουκλεοτίδια, οι βασικές δομικές μονάδες του DNA, είναι τοποθετημένες η μία πάνω στην άλλη, με τέτοιο τρόπο, ώστε να σχηματίζουν δεξιόστροφη γωνία ως προς τον άξονα του μορίου. Οι Asbury και Bell ευτυχούν να ανακαλύψουν ότι η απόσταση μεταξύ των νουκλεοτιδίων είναι 3,4 Å, σχεδόν ίδια με την αντίστοιχη (3,3 Å) των αμινοξέων, που είναι τα δομικά συστατικά των πρωτεϊνών. Είναι πλέον σαφές για τους δύο αυτούς ερευνητές ότι τα δύο μακρομόρια –DNA και πρωτεΐνη– αλληλοεπιδρούν και επηρεάζουν το ένα το άλλο.

## 1.1 ΤΟ DNA ΩΣ ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΤΗΣ ΖΩΗΣ

Ο Bill Asbury φαίνεται ότι ενδιαφέρθηκε για το DNA, διότι ήταν για αυτόν άλλη μία φυσική ίνα που μπορούσε να την αναλύσει. Η πρώτη πειραματική επίδειξη βιολογικού ενδιαφέροντος για το DNA έρχεται το 1944, όταν οι Avery, Macleod και McCarty, με το γνωστό ομώνυμο πείραμα μετασχηματισμού των λείων αποικιών του πνευμονοκόκκου σε αδρές, προτείνουν ότι το DNA θα μπορούσε να λειτουργεί ως φορέας της γενετικής πληροφορίας.

Μέχρι τότε το DNA ήταν ένα «παρεξηγημένο» και υποβαθμισμένο, ως προς τη λειτουργία του μόριο. Και τούτο διότι η βιοχημική του ανάλυση έδειχνε ότι τα τέσσερα νουκλεοτιδιά του βρίσκονταν σε ισομοριακές ποσότητες και, συνεπώς, το DNA δεν ήταν τίποτε περισσότερο από ένα πολυμερές μίας μονάδας τεσσάρων νουκλεοτιδίων. Αντίθετα, οι πρωτεΐνες με τα 23 αμινοξέα τους ήταν περισσότερο πολύπλοκα μόρια

και θεωρούνταν a priori ως οι πιο πιθανοί φορείς της κληρονομικότητας.

Ο Avery με τους συνεργάτες του αναστατώνουν την επιστημονική κοινότητα, η οποία στο μεγαλύτερο ποσοστό της απορρίπτει τα συμπεράσματά τους, ότι δηλαδή το DNA όχι μόνο μπορεί να μεταφέρει ένα γενετικό γνώρισμα αλλά και ότι το γνώρισμα αυτό, μεταφερόμενο από γενεά σε γενεά, παραμένει σταθερό. Σήμερα, το πείραμα του Avery και των συνεργατών του θεωρείται κλασικό για τη σύγχρονη βιολογία και, επιπλέον, υποστηρίζεται ότι θα μπορούσε τότε ο επιστήμονας αυτός να τιμηθεί με το βραβείο Νόμπελ.

## 1.2 ΤΟ DNA ΩΣ ΜΙΑ ΔΙΠΛΗ ΕΛΙΚΑ

Μολονότι για πολλές επιστημονικές ανακαλύψεις ο παράγοντας «τύχη» διαδραματίζει έναν, μικρό έστω, ρόλο, θα πρέπει με έμφαση να τονισθεί ότι η ανακάλυψη της δομής «διπλής έλικας» του DNA δεν ήταν θέμα τύχης. Ήταν ο συνδυασμός της ευστροφίας και της εμπνευσμένης σκέψης των James Watson και Francis Crick με τα αποτελέσματα της ακτινοκρυσταλλογραφικής μελέτης των Rosalind Franklin και Maurica Wilkins. Σύμφωνα με τα τελευταία, ήταν ήδη γνωστό ότι το DNA είναι ένα μακρομόριο που αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσούς. Το κλειδί στη λύση του προβλήματος της πλήρους αποκάλυψης της χωροταξικής διαμόρφωσης και της λειτουργικής συμπεριφοράς του DNA ήταν το να γίνει αντιληπτό ότι οι τέσσερις βάσεις των νουκλεοτιδίων (Αδενίνη, Γουανίνη, Κυτοσίνη και Θυμίνη) των δύο αλυσών μπορούν να σχηματίσουν ζεύγη, με τρόπο ώστε η αδενίνη (A) να συνδέεται με τη γουανίνη (G) και η θυμίνη (T) με την κυτοσίνη (C).

Η σημαντικότερη αποκάλυψη της δομής διπλής έλικας του DNA, με τις βάσεις να σχηματίζουν συγκεκριμένα ζεύγη, γίνεται το 1953 και ολοκληρώνεται το 1960, όταν με πειραματική διάταξη διαπιστώνεται ότι οι δύο αλυσού του DNA μπορούν να δια-



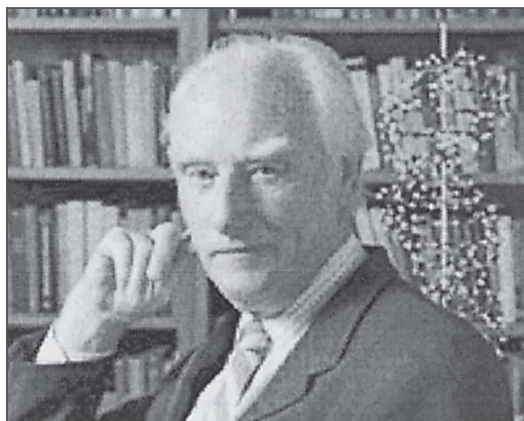
James Watson και Francis Crick, 1953.

χωριστούν και στη συνέχεια η καθεμία από αυτές να σχηματίσει υβρίδιο με RNA. Το πιο σημαντικό σε αυτήν την ανακάλυψη ήταν ότι το «ζευγάρι» των βάσεων δεν γινόταν τυχαία, αλλά με τέτοια ακρίβεια ώστε η μονή αλυσίδα του DNA να υβριδοποιείται ειδικά με τη συμπληρωματική της αλυσίδα RNA και μόνο με αυτήν. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μεγάλη ανακάλυψη της μοριακής δομής του DNA χάρισε στους κορυφαίους ερευνητές Watson και Crick το βραβείο Νόμπελ της Ιατρικής, το 1962.

Στο σημείο αυτό, ως ελάχιστο φόρο τιμής στον κορυφαίο Άγγλο επιστήμονα της Μοριακής Βιολογίας Francis Crick (Εικόνα 1.1) στεκόμαστε στην αναγγελία του θανάτου του. Πέθανε στις 28 Ιουλίου του 2004 στο σπίτι του στο Σαν Ντιέγκο από καρκίνο του εντέρου σε ηλικία 88 ετών. Η είδηση του θανάτου του έκανε τον γύρο του κόσμου, εφόσον τόσο ο αμερικανικός, όσο και ο ευρωπαϊκός, τύπος είχαν πρωτοσέλιδα αφιερώματα στη ζωή και στο έργο του. Η εφημερίδα New York Times γράφει χαρακτηριστικά: *«Τόσο σημαντικό είναι το DNA στη βιολογία, που τα ονόματα του Crick και του Watson θα τα θυμόμαστε για πολλά-πολλά χρόνια, όπως θυμόμαστε τον Δαρβίνο και τον Μέντελ».*

Πράγματι, η ανακάλυψη της μοριακής δομής του DNA έφερε επανάσταση στη Γενετική, η οποία σήμερα πλέον παρέχει μία τεράστια ποικιλία δυνατοτήτων στο να αλλάξουν οι συνθήκες ζωής των ανθρώπων, από τις γενετικά τροποποιημένες τροφές μέχρι τα γενετικά τροποποιημένα μωρά. Εγκαινιάζοντας την έκθεση με τίτλο «From Code to Commodity: Genetics and Visual Arts», που διοργανώθηκε από την Ακαδημία Επιστημών της Ν. Υόρκης με αφορμή την 50<sup>η</sup> επέτειο από την ανακάλυψη της δομής της διπλής έλικας του DNA, ο James Watson δηλώνει: «Είδαμε αμέσως πως η ανακάλυψή μας ήταν ένα μεγάλο βήμα για τη Γενετική, αν όχι για ολόκληρη τη Βιολογία. Όμως, κανείς από τους δύο

μας, το 1953, δεν μπόρεσε να δει και να φανταστεί, πως το να μεταφέρουμε την έρευνα στο επίπε-



**EIKONA 1.1**

Francis Crick ([www.cnet.gr](http://www.cnet.gr),  
Ελευθεροτυπία 5/8/2004).

δο του DNA, θα ήταν κάτι που θα κυριαρχούσε παντελώς στη Βιολογία και στην Ιατρική».

### 1.3 ΤΑ ΕΝΖΥΜΑ

Την περίοδο που πολλά ερευνητικά εργαστήρια ασχολούνταν με τη μελέτη του RNA, την πρωτεϊνοσύνθεση και τον γενετικό κώδικα, στο εργαστήριο του Arthur Kornberg γίνονταν έρευνες για τον διπλασιασμό του DNA. Ήδη από το 1958 ο Kornberg είχε ανακοινώσει την ανακάλυψη μιας πολυμεράσης η οποία, εφόσον είχε ως υπόστρωμα ένα μικρό κλάσμα DNA (DNA- εκκινητής) και τα τέσσερα νουκλεοτίδια, θα μπορούσε να καταλύσει αντίδραση σύνθεσης του DNA. Έτσι, ήταν πλέον εφικτό να συντεθούν άλυσοι DNA συμπληρωματικές προς μία άλλη άλυσο-πρότυπο.

Το 1970 ανακαλύπτεται ένα ακόμη ένζυμο, απαραίτητο για τις τεχνικές ανασυνδυασμού του DNA. Είχε ήδη υποστηριχθεί από τον Crick ότι η μόνη πηγή γενετικής πληροφορίας ήταν το DNA και ότι κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης η ροή της γενετικής πληροφορίας ήταν είτε από το DNA στο RNA και στη συνέχεια στην πρωτεϊνοσύνθεση (**DNA → RNA → πρωτεΐνη**) είτε από το DNA σε DNA (**DNA → DNA**). Το γεγονός αυτό αποτέλεσε και **το Κεντρικό Δόγμα της βιολογίας**.

Έτσι, όταν αργότερα οι Howard Temin και David Baltimore παρουσιάζουν ένα νέο ένζυμο, την αντίστροφη μεταγραφάση των ρετροϊών, που αντέστρεφε αυτήν τη ροή της γενετικής πληροφορίας, η επιστημονική κοινότητα ξαφνιάζεται. Το να κατευθύνεται η γενετική πληροφορία από το RNA προς το DNA δεν ήταν αναμενόμενο. Οι ρετροϊοί είναι μία ομάδα ιών που το γενετικό τους υλικό είναι το RNA αντί του DNA. Ο Temin σκέφθηκε ότι οι ρετροϊοί, δεδομένου ότι πολλαπλασιάζονται μέσα σε ένα κύτταρο-ξενιστή χρησιμοποιώντας τα ένζυμα σύνθεσης DNA του ξενιστή, θα πρέπει να συνθέτουν ένα DNA-αντίγραφο του δικού τους γενετικού υλικού, δηλαδή του RNA. Έτσι, προτείνεται για πρώτη φορά, ότι η γενετική πληροφορία, χάρη στην αντίστροφη μεταγραφάση, ρέει και από το RNA προς το DNA. Η ανακάλυψη του ενζύμου αυτού σήμαινε ότι ήταν δυνατόν να χρησιμοποιήσει κανείς ένα κύτταρο που συνθέτει μεγάλες ποσότητες ενός ειδικού RNA και να δημιουργήσει ένα συμπληρωματικό DNA (complementary DNA, cDNA).

Την ίδια χρονιά, το 1970, οι Smith και Wilcox ανακοινώνουν τον λεπτομερή χαρακτηρισμό ενός άλλου ενζύμου: της απαγορευτικής εν-