

Międzynarodowy Dzień DNA 2022

Wykrycie nukleiny

Ryszard Słomski, Instytut Genetyki Człowieka PAN

Marlena Szalata, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

25 kwietnia 2003 roku, 50 lat po ogłoszeniu struktury podwójnej helisy DNA, ustanowiono w USA Narodowy Dzień DNA. Miało to być jednorazowe wydarzenie dla uczczenia i jednocześnie celebrowania pomyślnego zakończenia projektu sekwencjonowania genomu człowieka (*Human Genome Project*, HGP). Z inicjatywy Narodowego Instytutu Badań nad Genomem Człowieka (*National Human Genome Research Institute*, NHGRI), Narodowy Dzień DNA zaczęto obchodzić cyklicznie w USA, a już wkrótce na całym świecie jako Międzynarodowy Dzień DNA. Celem obchodów jest umożliwienie uczniom, studentom, nauczycielom, lekarzom i szerokiej opinii publicznej zapoznania się z najnowszymi osiągnięciami w badaniach genomowych oraz wykazanie wpływu na ich życie. Za rok obchodzić będziemy 70. rocznicę odkrycia, które uważane jest za jedno z największych odkryć w historii ludzkości.

Z poznaniem struktury DNA kojarzą się głównie nazwiska Jamesa Watsona i Francis Cricka. Ten międzynarodowy zespół pracujący w Laboratorium Cavendisha na Uniwersytecie w Cambridge odkrył strukturę DNA, najważniejszego składnika każdego organizmu. W kwietniu 1953 roku ukazał się w czasopiśmie *Nature* artykuł dotyczący struktury DNA. Duet brytyjsko-amerykański, we współpracy z Rosalind Franklin i Mauricem Wilkinsem dokonali odkrycia uważanego za przełomowe dla XX wieku. Rosalind Franklin i Maurice Wilkins, specjaliści w dziedzinie chemii i krystalografii działali w King's College w Londynie. Za sukcesem odkrywców kryją się zapomniane postacie i skomplikowane historie wielu innych badaczy.

Doniosłość odkryć dotyczących DNA przedstawił Bronisław Filipowicz w jednym z pierwszych numerów czasopisma „Postępy Biochemii” w 1956 roku, co świadczy, że już w tamtych latach przywiązywano ogromną wagę, aby zapoznać polskie środowisko biochemiczne z najnowszymi odkryciami. Filipowicz pisze „W latach siedem dziesiątych zeszłego stulecia, w pracowni Hoppe-Seylera w Tybindze pracował młody biochemik - Fryderyk Miescher, interesujący się zagadnieniem budowy i składu chemicznego jądra komórkowego. W tym celu Miescher trawił pepsyną ropę z bandaży chirurgicznych, aby usunąć materiał cytoplazmatyczny. Z niestrawionej pozostałości wyodrębnił Miescher substancję, którą dla podkreślenia jej jądrowego pochodzenia nazwał nukleina. Nukleina okazała się substancją złożoną, zbudowaną z zasadowego białka o niewielkiej masie cząsteczkowej oraz z drugiego, niebiałkowego składnika, posiadającego właściwości wielozasadowego kwasu o znacznej zawartości fosforu. W owym czasie jedynym znanym organicznym składnikiem tkanki, zawierającym fosfor, była lecytyna. Wyizolowanie drugiego, bogatego w fosfor, składnika wywołało zrozumiałe zainteresowanie. Szczególnie pracą Mieschera zainteresował się Hoppe-Seyler i polecił swoim współpracownikom sprawdzić spostrzeżenia Mieschera na innym materiale.”

Na rok przed doniosłą rocznicą odkrycia struktury DNA chcielibyśmy opisać odkrycie kwasu nukleinowego przez Friedricha Mieschera w 1869 roku. Przedstawimy historyczny opis odkrycia DNA, krótką biografię i koncentrujący się przede wszystkim na badaniach, izolacji, analizie oraz charakterystyki DNA.

Emerytowany profesor George Wolf z Uniwersytetu Kalifornijskiego w Berkeley, tak ujmuje sprawę: „Kto odkrył DNA? Oczywiście Watson i Crick! - większość studentów właśnie tak odpowie. Jednak DNA został wyizolowany, przeanalizowany i rozpoznany jako unikatowa makrocząsteczka w 1869 roku przez Friedricha Mieschera, wybitnego chemika zajmującego się fizjologią z Bazylei w Szwajcarii. Obecne zaabsorbowanie DNA w tak wielu dziedzinach życia, bezprecedensowe dla substancji o znaczeniu fizjologicznym, sugeruje okazję do spojrzenia na sposób, w jaki została odkryta i na człowieka, który ją odkrył”.

W 1897 roku ukazała się publikacja Wilhelma Hisa, wuja Mieschera, wydana przez Wydawnictwo F.C.W. Vogel. Na wstępie pojawia się informacja, że Miescher „spędził dwie i pół dekady na próbach określenia podstaw ogólnej histochemii i biochemii z niezwykłym nakładem pracy i głębią intelektualną. Po opublikowaniu swojego pierwszego dzieła na początku lat 70., zawsze niechętnie i mniej lub bardziej emocjonalnie relacjonował obszerne badania z kolejnych dziesięcioleci. Uważał, że musi iść głębiej, wymyślać lepsze metody, wprowadzać jeszcze szerszy materiał badawczy. Podkreślając wewnętrzną spójność wszystkich problemów, nad którymi pracował, twierdził że prace nie powinny być przedstawiane fragmentarycznie lecz całościowo. Wreszcie, po wielu latach przyszedł czas, kiedy pomyślał, że potrafi streścić swoje przeżycia i przemyślenia w bardziej wyczerpujący sposób. Ale teraz jego siła fizyczna się skończyła. Nastąpiło półtora roku ciężkich cierpień, podczas których lekarz nakazał mu całkowicie powstrzymać się od wszelkiej pracy umysłowej. Leżąc samotnie w pokoju, nie mógł nakazać swojemu zamyślonemu mózgowi spoczynku”. Przechowywane przez niego wszystkie wyniki badań zostały uporządkowane i 15 czerwca 1895 roku napisał: „W nieprzespanych godzinach ostatnich kilku nocy praca dotycząca plemników nagle stała się w mojej głowie bardzo ważna. Nie mając pod ręką najmniejszej notatki ani liczb, większość tekstu mojej proponowanej pracy o kwasie nukleinowym układała się w mojej głowie tak, że wydawało mi się, iż muszę go tylko zapisać z dodanymi i poprawionymi liczbami z notatek, podobnie największa część tekstu dzieła, która w pewnym stopniu jest relacją z pracy moich badań mikroskopowych i histochemicznych.”

Pacjent był w stanie napisać tylko kilka stron. Potem przyszły tygodnie, w których jak pisze, jego czas i energię pochłaniał dzień i noc na zdobywanie niezbędnego powietrza do oddychania. W 1885 roku Miescher zachorował na zapalenie płuc, być może z powodu długich godzin spędzonych w swoim lodowato zimnym laboratorium, kiedy zaniedbał swój stan zdrowia do tego stopnia, że przez długi czas nie przyjmował żadnych pokarmów. W 1894 r. zdiagnozowano u niego gruźlicę. Zmarł na tę chorobę w sanatorium w Davos 26 sierpnia 1895 roku w wieku 51 lat. Jeden z jego uczniów porównał go do statku wyładowanego cennymi skarbami, który tonie gdy dobija do portu. Przyjaciele i uczniowie próbowali ocalić to, co było istotą tych skarbów. Uznanie dla Mieschera i jego pracy nie maleje, lecz wzrasta wraz z upływem czasu, a odnalezione przez niego fakty i myśli stały się ziarnem, dla którego dopiero nadejdzie owocna przyszłość.

Johannes Friedrich Miescher urodził się 13 sierpnia 1844 roku w Bazylei. „Ojciec, Friedrich Miescher-His był szanowanym uczonym i lekarzem. Pochodząc z rodzimego Emmenthale, rozpoczął studia w Bernie, następnie przeniósł się do Berlina i jako jeden z pierwszych studentów dołączył do Johanna Müllera. Jeszcze przed pracami Theodora Schwanna opublikował prace histologiczne i eksperymentalne dotyczące rozwoju i zapalenia kości. Tym samym wyrobił sobie bardzo cenne nazwisko i został mianowany anatomem i fizjologiem w 1837 roku na Uniwersytecie w Bazylei. W 1844 otrzymał nominację na profesora anatomii patologicznej i lekarza szpitalnego w Bernie, ale wrócił do Bazylei w 1850 roku, gdzie prowadził przez wiele lat owocną działalność na uniwersytecie jako sumienny i rzetelny nauczyciel anatomii patologicznej. Ojciec Mieschera zmarł w 1886 roku w wieku 75 lat”.

Matka Mieschera, Antonie, pochodziła z rodziny His - arystokracji bazylejskiej. Jej brat Wilhelm His, który mieszkał w tym samym domu co Miescherowie, był profesorem anatomii i fizjologii, zastępcą za prace z embriologii i histologii. Przez całe życie miał wpływ na swojego siostrzeńca Friedricha. „Rodzina Miescherów, w której urodziło się pięciu synów, najstarszym był właśnie Friedrich, od najmłodszych lat była sercem ożywionego życia intelektualnego (Johann Friedrich 1844-1895, Max Eduard 1846-1896, Ernst Gottfried 1848-1930, Paul Albert 1849-1922, Carl Otto 1851-1890). Ojciec i matka, choć bardzo różni w swojej naturze, byli obydwaj hojni, humanitarni w najlepszym tego słowa znaczeniu i otwarci na wszystkie wyższe aspiracje. Surowi, stawiali sobie wymagania, byli jednak tolerancyjni wobec punktów widzenia innych ludzi i łagodni w ocenie cudzych osobowości i słabości, pomimo osobistej lojalności wobec przekonań i obowiązków. Zawsze żywili ciepłe współczucie dla radości i smutków innych. Atmosfera, w której dorastali synowie, stała się pod wieloma względami stymulująca, a jednocześnie bardzo kształtująca charakter. Także przyjaciele synów, którzy obcowali z rodziną jak z własną, wiedzieli, jak docenić tę korzyść i nadal, kilkadziesiąt lat później, dziękują domowi Miescherów za przewodnictwo duchowe.”

Dzięki zbiorom książek w domowej bibliotece, Friedrich Miescher szybko stał się wnikliwym czytelnikiem. Dużo czytał i zapamiętywał, jednocześnie starał się zrozumieć to, co przeczytał i dlatego przez wszystkie lata licealne należał do czołówki najlepszych uczniów w klasie.

Młody Miescher przed rozpoczęciem pracy, którą nazwalibyśmy dzisiaj doktoratem z chemii fizjologicznej, postanowił spędzić semestr w laboratorium chemicznym w Tybindze. Jesienią 1868 roku rozpoczął pracę w laboratorium Ernsta Felixa Immanuela Hoppe-Seylera. Jego mentor interesował się chemią płynów ustrojowych, zwłaszcza krwi. Hoppe-Seyler był pionierem chemii fizjologicznej, jako jeden z pierwszych badaczy skupił swoją uwagę na badaniach składu chemicznego komórek. Wraz ze współpracownikami izolował pojedyncze składniki tworzące komórki, podczas gdy inni dyskutowali samo pojęcie „komórki”. Jest on autorem przetomowych badań nad właściwościami białek, głównie hemoglobiny. Hoppe-Seyler wprowadził termin „proteid”, którego odpowiednikiem jest dzisiejsze pojęcie „proteiny”. Odkrył wiązanie tlenu z hemoglobina w erytrocytach, a Miescherowi zlecił pracę nad innymi komórkami krwi - limfocytami. Były one trudne do uzyskania w większej ilości, więc Miescher wyizolował leukocyty, w których składzie znajdują się również limfocyty. W tym celu, przygotował leukocyty z opatrunków zawierających ropę od chorych z pobliskiego szpitala i z nich udało mu się wyizolować czyste jądra komórkowe. Następnie wyekstrahował z jąder

nierozpuszczalną w kwasach, rozpuszczalną w zasadach substancję o wysokiej zawartości fosforu i scharakteryzował ją jako nową klasę substancji. W grudniu 1869 roku, rok po rozpoczęciu badań, przestał Hoppe-Seylerowi rękopis, w którym opisał nową substancję, którą nazwał „nukleinę”, później określoną przez Richarda Altmanna „kwasem nukleinowym”, a obecnie znaną jako DNA. Hoppe-Seyler chciał sam powtórzyć badania Mieschera, by rozwiązać szereg wątpliwości. Napisał: „Chociaż znam metodyki starannych badań dr. Mieschera, nie mogłem ukryć pewnych wątpliwości co do poprawności jego danych. Mają one tak wielkie znaczenie fizjologiczne, że powtórzyłem tę część pracy dotyczącą substancji z jąder, którą nazwał nukleinę”. W zakończeniu swej pierwszej publikacji pisał: „Znajomość wzajemnego stosunku między materiałem jądrowym, białkami i ich produktami przemian, zerwie z czasem zastonę kryjącą przed nami istotę procesu wzrostu komórki”.

Opóźnienie wydania prac nie było niczym niezwykłym i sam 110 lat później w 1980 roku miałem możliwość przekonania się o tym, przesyłając manuskrypt pracy do czasopisma *Biochemistry*, które zażądało szczegółowego suplementu zawierającego wszystkie wyniki przeprowadzonych badań.

Hoppe-Seyler zwlekał z opublikowaniem wyników dwa lata, ponieważ sam chciał powtórzyć badania. Potwierdził wszystkie wyniki Mieschera i opublikował własną pracę, w której wykazał obecność nukleiny w erytrocytach jądrzastych ptaków i węży. Miescher nadal nie był zadowolony ze swojego wykształcenia badawczego i chciał nabyć większego doświadczenia w badaniach fizjologicznych w laboratorium Carla Friedricha Wilhelma Ludwiga w Lipsku, gdzie pracował nad ścieżkami nerwowymi w rdzeniu kręgowym (1869-1870). Międzynarodowy charakter tamtejszej szkoły badawczej, z naukowcami z sześciu krajów, w tym Egipcjaninem wyznania islamskiego, był wówczas niezwykły i umożliwił Miescherowi nawiązanie wielu przyjaźni na całe życie. Dziś można by uznać zebranie stażystów celem wykonania pracy doktorskiej jako działanie analogiczne do współczesnych szkół doktorskich. Niestety w tamtych latach w badaniach uczestniczyli wyłącznie mężczyźni. Przez wiele następnych lat ośrodki niemieckie, jak również francuskie i angielskie stanowiły swoistą „Mekkę” dla staży naukowych. Jeszcze w latach 50. ubiegłego stulecia do Europy przyjeżdżali stażyści, aby rozwijać swoje zainteresowania naukowe. Wystarczy wspomnieć odkrywcę struktury DNA Jamesa Deweya Watsona. Także mój mentor, profesor Edward P. Cohen, przyjechał do Londynu z USA, do Laboratorium Kennetha Stanleya Kirby’ego, by zapoznać się z najnowszymi metodami izolowania DNA z wątroby i śledziony myszy, szczura i kurczaka przez ekstrakcję p-aminosalicylanem i fenolem. Powstała wówczas tzw. metoda ekstrakcji fenolowej, szeroko stosowana również obecnie. Cohenowi przydarzyła się niefortunna historia, w której zbił dwulitrowy cylinder miarowy. Kirby nakazał wówczas by w warsztacie szklarskim przycięto cylinder, aby mógł być dalej stosowany. W rezultacie objętość „zmodyfikowanego” cylindra zmniejszyła się do 200 ml, co wymusiło zmianę proporcji odczynników stosowanych do izolacji. Na UAM w Poznaniu w latach 70., w pracowniach prof. Jacka Augustyniaka bardzo dużo uwagi poświęcaliśmy przygotowaniu fenolu do izolacji DNA, gdyż świeżo destylowany fenol zapewniał uzyskanie wysokiej jakości RNA.

Z wykryciem kwasu nukleinowego związana jest również postać Richarda Altmanna urodzonego 12 marca 1852 w Itawie. Altmann studiował w Greifswaldzie, Królewcu, Marburgu i Giessen. W Giessen ukończył studia medyczne, uzyskując stopień doktora w 1877 roku.

Zastąpił się dla patologii, histologii oraz genetyki. Przeprowadzenie przez Richarda Altmanna w 1889 roku rozdzielenia nukleiny na część białkową (protamina i histony) oraz kwas nukleinowy, było krokiem milowym dla rozwoju nauki o DNA. Altmann zakładał, że możliwa jest rekonstrukcja nukleiny z obu tych składników oraz że kwasy nukleinowe znajdują się także w tkankach roślin. Wyizolował również kwas nukleinowy z drożdży, grasicy, żółtka jaja, plemników łososia oraz zarodków pszenicy.

Jak już wspomniano, swoją karierę naukową Miescher rozpoczął w Bazylei pod kierunkiem swojego wuja Wilhelma Hisa, słynącego z badań nad pochodzeniem tkanek w rozwijającym się zarodku. Nakłonił Mieschera do zbadania małych białych kulek obecnych w żółtkach kurzych jaj, które według niego mogą być komórkami tworzącymi po zapłodnieniu wczesny zarodek. Miescher wywnioskował z niektórych badań, że zawierają one nukleinę. Interesował się również rozwojem ryb i zaczął badać chemicznie ikrę w celu wyizolowania nukleiny z jej jąder. Wkrótce jednak zdał sobie sprawę, że rybnie plemniki mogą być bardziej satysfakcjonującym źródłem do tego celu, ponieważ były to proste niezależne komórki, o których wiadomo było z wcześniejszych badań histologicznych, że składają się prawie wyłącznie z jąder. Co więcej, z praktycznego punktu widzenia migracja łososia w górę Renu i wynikające z tego połowy na dużą skalę przez zakłady rybackie sprawiły, że plemniki były łatwo dostępne w dużych ilościach. Przez dziesiątki lat DNA ze spermy łososia zwykle stosowany w protokołach hybrydyzacji jako czynnik blokujący w celu zmniejszenia niespecyficznego wiązania sondy hybrydyzacyjnej z powierzchnią filtra. Nośnik DNA jest zwykle stosowany w stężeniu 100 µg/ml zarówno w roztworach prehybrydyzacyjnych, jak i hybrydyzacyjnych.

Miescher został zatrudniony w nowo utworzonej katedrze na stanowisku profesora fizjologii w wyjątkowo młodym wieku 28 lat, po otrzymaniu rekomendacji zarówno od Hoppe-Seylera, jak i Ludwiga. Na uniwersytecie mówiono o „triumfie polityki rodzinnej” – jakże często występującej również dzisiaj. Miescher zaczynał od bardzo kiepskiego wyposażenia, jego laboratorium składało się z przebudowanego korytarza i pomagał mu jedynie technik zatrudniony na ćwierć etatu. Świadomy swoich wielkich nowych obowiązków, starał się nadrobić brak doświadczenia poprzez podwojenie wysiłków badawczych i dydaktycznych. Przecenił swoje siły, a konsekwencje przepracowania zaczęły odbijać się na jego zdrowiu.

Miescher rozpoczął od wyizolowania i scharakteryzowania białek leukocytów. Jego pierwszym zadaniem było wyizolowanie w stanie czystym komórek z ropy obecnej na bandażach. Nie były wówczas znane techniki izolacji takich komórek. W tamtych czasach, przed wprowadzeniem sterylnych zabiegów chirurgicznych, w szpitalach często pojawiały się rany ropiejące po operacjach. Miescher otrzymywał codziennie bandaże z miejscowej kliniki chirurgicznej. Te o nieprzyjemnym zapachu odrzucał. Aby wypłukać komórki z bandażu, przetestował różne roztwory soli i odniósł sukces z roztworem woda:siarczan sodu w stosunku 9:1. Wirówki nie były wtedy dostępne jako sprzęt laboratoryjny, więc musiał czekać kilka dni na sedymentację komórek. Przemywał komórki 2-3 razy i w końcu zbierał je przez filtrację, sprawdzając każdy etap pod mikroskopem.

Kolejnym problemem, z którym zmierzył się Miescher, była charakterystyka białek komórkowych. Hipoteza Hoppe-Seylera głosiła, że prawdopodobnie zawierały one głównie miozynę. Miescher przetestował autentyczną miozynę mięśniową poprzez ekstrakcję mięśni rozcieńczoną zasadą i wytrącanie po neutralizacji kwasem. Otrzymana miozyna była

rozpuszczalna w roztworze chlorku sodu. Ostatecznie wyróżnił pięć „białek” wyekstrahowanych z całych leukocytów: albuminę rozpuszczalną w rozcieńczonym kwasie; białko koagulujące w 48-49°C, nierozpuszczalne w rozcieńczonym kwasie; białko podobne do albuminy surowicy; białko nierozpuszczalne w chlorku sodu, rozpuszczalne w rozcieńczonym kwasie i wreszcie substancję, która wydawała się niepodobna do znanego białka, nierozpuszczalna w rozcieńczonym kwasie lub chlorku sodu, rozpuszczalna w zasadach i ponownie wytrącająca się kwasem. Nie zaobserwował natomiast obecności miozyny w leukocytach.

Kolejnym zadaniem podjętym przez Mieschera było określenie składu jądra komórkowego leukocytów. W tym celu wyizolował jądra komórkowe, czego nigdy wcześniej nie osiągnięto. Zaczął od długotrwałego działania na komórki rozcieńczonym kwasem, spodziewając się, że białka protoplazmy rozpuszczą się, pozostawiając jądra. To się jednak nie udało - resztki protoplazmy pozostały związane z jądrami i po tygodniach traktowania komórek rozcieńczonym w stosunku 1/1000 kwasem solnym w chłodni (zimą), nierozpuszczony materiał ekstrahował eterem i wodą. Część pozostałego materiału została zatrzymana na granicy faz. Stwierdził, że drobny proszek nagromadzony na dnie naczynia zawiera czyste jądra o gładkich konturach i wyraźnym jąderku. Miescher wydedukował, że jądra opadły na dno, ponieważ ich ciężar właściwy był większy niż pozostałych białek. Ekstrakcja jąder za pomocą węglanu sodu dała roztwór, z którego można było wytrącić substancję kwasem. Substancja ta, nierozpuszczalna w wodzie i chlorku sodu, rozpuszczalna w wodorotlenku sodu i fosforanie disodowym, niekoagulująca przez gotowanie, różniła się właściwościami od znanych białek i okazała się charakterystycznym składnikiem jądra. Miescher doszedł do wniosku, że była to ta sama nierozpuszczalna w kwasach, rozpuszczalna w zasadach substancja, którą wyekstrahował z całych leukocytów.

Na podstawie dziewięciu oddzielnych analiz elementarnych nukleiny wykazał, że zawiera ona 14% azotu i 3% fosforu, uzyskując bardzo podobne wyniki poszczególnych oznaczeń. Była to znacznie wyższa zawartość fosforu niż w białku. Ponieważ kompleks był odporny na proteolizę i nierozpuszczalny w alkoholu, uznał, że fosfor był wiązany organicznie co udowodnił poprzez spalanie substancji w wysokiej temperaturze. Fosfor wiązany organicznie wyparował, a pozostałość nie zawierała fosforanu nieorganicznego.

W liście do swojego wuja Wilhelma Hisa w 1869 roku Miescher napisał, że „wstępne obserwacje doprowadziły go do podejrzenia, że nukleina występuje również w wątrobie, nerkach, jądrach i erytrocytach jądrzastych co sugeruje, że może to być kwas. W badaniach z wykorzystaniem innych tkanek wydaje się prawdopodobne, że cała rodzina takich nieco różniących się od siebie substancji zawierających fosfor pojawi się jako grupa nuklein równoważna białkom”. Tak więc w ciągu niespełna roku, pracując w laboratorium Hoppe-Seylera, Miescher odkrył kwas nukleinowy obecny w jądrach komórkowych - DNA.

Jak już wspomniano Hoppe-Seyler opublikował artykuł Mieschera z dwuletnim opóźnieniem, razem z własnym artykułem w 1871 roku, po wymianie serii niespokojnych, choć pełnych szacunku listów z Miescherem. Artykuł Mieschera zawiera przypis, że „z powodu nieprzewidywalnych okoliczności” jego publikacja została opóźniona. Miescher poprosił o dodanie dodatkowych uwag do swojego artykułu, ale Hoppe-Seyler odmówił. Uwagi te wyjaśniają przyczynę opóźnienia. Miescher stwierdza, że był zadowolony z potwierdzenia

swoich wyników i dodaje, że odkrycie przez Hoppe-Seylera substancji podobnej do nukleiny w drożdżach wykazało istnienie nowego czynnika dotyczącego życia zarówno najniższych, jak i najwyższych organizmów, reprezentującego podstawową różnicę chemiczną między jądrem a protoplazmą. Zasugerował, że produkty degradacji chemicznej, które można uzyskać z nukleiny, mogą być bardzo pomocne dla ustalenia jej struktury.

Wilhelm His interesował się rozwojem zarodków z ikry i namówił Mieschera, aby zaczął badać ikrę łososia. Jednak badania ikry były równie trudne jak badania kurzych jaj i Miescher dokonał nowatorskiej zmiany materiału na plemniki łososia, których główki składały się prawie wyłącznie z jąder. Miescher napisał: „Dlatego ucieszyłem się, że znalazłem w spermie jeszcze prostszy przedmiot badań. Według histologów plemniki składają się z jąder lub komórek o głównie masie jądrowej. Teraz udało mi się uzyskać duże ilości czystych plemników z łososia”. Takie jądra umożliwiły ustalenie, że w jądrach plemników można znaleźć nukleinę, być może podobną do jądra komórek ropnych, co pozwoliło mu rozszerzyć nową klasę substancji o jądra innego typu komórek.

Wybór plemników łososia był bardzo trafny z dwóch powodów, plemniki ryb składają się prawie wyłącznie z plemników zawieszonych w soli fizjologicznej, w przeciwieństwie do plemników innych gatunków, w których są one zmieszane z innymi wydzielinami. Po drugie, łososie wędrowały jesienią na tarto w górę Renu w ogromnych ilościach. Połowy łososia stanowiły ważną gałąź przemysłu w Bazylei, a nasienie łososia było obfite i tanie. Aby pozyskać plemniki Miescher wyciskał jądra łososia przez szmatkę do osuszania sera i przemywał wodą. Na zawieszinę działał kwasem octowym, a główki plemników osiadły jako drobny proszek, natomiast witki rozpuściły się w kwasie. Główki zostały rozbite i lipidy wyekstrahował alkoholem i eterem, a ślady pozostałości białka usunął przez przemycie wodą.

Analiza elementarna sześciu oddzielnych analiz nukleiny plemnika łososia dała wzór empiryczny: $C_{29}H_{49}N_9O_{22}P_3$, z 13% azotu i 9% fosforu. Dla porównania, trideoksynukleotyd z zasadami, na przykład guaninę, cytydynę i tyminę, dałby wzór empiryczny $C_{29}H_{37}N_{10}O_{20}P_3$, z 14% azotu i 9% fosforu. Miescher prawidłowo założył, że nukleina występuje w plemnikach jako sól z protaminą. Zaobserwował fizykochemiczną właściwość wymiany zasad, dzięki której protamina soli nukleina-protamina w roztworze może być wymieniona na inne kationy, takie jak sód lub wapń. Chociaż wniosek Mieschera dotyczący istnienia nukleiny był mocno kwestionowany przez wielu badaczy, wkrótce potwierdzono powszechność występowania nukleiny jako charakterystycznej substancji jądrowej.

Osobowość Mieschera tak oto opisał Fritz Suter, jeden z jego uczniów: „wydawał się niepewny, niespokojny i zamknięty w sobie, bez wątplenia dlatego, że był niedostępną i krótkowzroczny. Sprawiał wrażenie osoby całkowicie pochłoniętej swoją wewnętrzną aktywnością umysłową, bez kontaktu ze światem zewnętrznym. Jednak na wezwanie zawsze był gotów pomagać innym. Pracowitość Mieschera była tak duża, że nie pojawił się na własnym ślubie, a zamiast tego udał się do laboratorium. Suter przypomniał też, że kiedy w laboratorium zabrakło szkła do eksperymentów, Miescher używał własnej porcelanowej zastawy stołowej z manufaktury w Sèvres. Jako wykładowca był trudny do zrozumienia, niespokojny, w ciągłym ruchu, z niewielkim kontaktem z słuchaczami. Wykładając, pogłębiał swoją wiedzę i zainteresowania. Przygotowywał się do swoich wykładów całymi dniami, a często tygodniami.

Był niezwykle gościnny i raz na semestr zapraszał do swojego domu wszystkich studentów uczęszczających na jego kursy”.

W swojej pracy z 1956 roku Bolestaw Skarżyński podsumował działalność Mieschera „Ziarno rzucone przez Fryderyka Mieschera kiełkowało długo, ale dziś daje plony przebogate. Przewidywania jakie wiązał ten młody badacz z odkrytymi przez siebie ciałami spełniają się całkowicie. Kwasy nukleinowe stają się obiektem zainteresowań wszystkich gałęzi nauk o przyrodzie żywej i poddawane są badaniu z najróżnorodniejszego punktu widzenia. Fakt ten w pewnej mierze nastrajający optymistycznie, kryje w sobie również poważne niebezpieczeństwo. Problem biologii i biochemii kwasów nukleinowych jest szczególnie trudnym i zawiłym i atakowanie tego problemu wymaga bardzo gruntownego metodycznego i teoretycznego przygotowania”.

Piśmiennictwo

Altmann, R. 1889. *Ueber Nucleinsauren*. Arch. f. Anatomie u. Physiol. 524-536.

Barciszewski J., Szymański M., Malesa A., Olszewska D., Markiewicz W.T., Barciszewski J. 2018. *Początki molekularnych nauk o życiu – Kontekst Polski*. Postępy Biochemii. 64, 55-66.

Filipowicz B. 1956. *Budowa kwasów nukleinowych*. Postępy Biochemii. 2, 15-60.

Skarżyński B. 1956. *Dzieje zagadnienia kwasów nukleinowych*. Postępy Biochemii, 2, 3-13.

His, W. 1874. *Unsere Korperform und das physiologische Problem ihrer Entstehung*. Vogel, F.C.W., publ., Leipzig

His, W. 1897. *Die histochemischen und physiologischen Arbeiten von Friedrich Miescher*. F.C.W. Vogel publ., Leipzig.

Kirby KS. 1959. *The preparation of deoxyribonucleic acids by the p-aminosalicylate-phenol method*. Biochim Biophys Acta. 36, 117-124.

Leyko W., Filipowicz B. 1956. *Przestrzenna budowa kwasów nukleinowych*. Postępy Biochemii. 2, 61-75.

Miescher F., Letter I; to Wilhelm His; Tübingen, February 26th, 1869. *Die Histochemischen und Physiologischen Arbeiten von Friedrich Miescher – Aus dem wissenschaftlichen Briefwechsel von F. Miescher*, 1869, 1: 33-8.

Miescher, F. 1874. *Das Protamin, eine neue organische Base aus Samenfaden des Rheinlachs*. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 7, 376-379.

Miescher, F., Schmiedeberg, O. 1896. *Physiologisch-chemische Untersuchungen über die Lachsmilch*. Archiv f. experimentelle Pathologie u. Pharmakologie. 37, 359-414.

Piccard, J. 1874. *Ueber Protamin, Guanin und Sarkin als Bestandtheile des Larchssperma*. Ber. Dtsch. Chem. Ges., 7, 1714-1719.

Skarżyński B. 1956. *Dzieje zagadnienia kwasów nukleinowych*, Postępy Biochemii, 2, 3-13.

Slomski, R., Cohen E.P. 1980. *Isolation and cell-free translation of messenger ribonucleic acids specifying thymus-leukemia antigens*. Biochemistry, 19, 5659-64.

Suter, F. 1944. *Professor F. Miescher, Persönlichkeit und Lehrer*. Helv. Physiol. Pharmacol. Acta, Suppl., 2, 5-17.

Watson J., Crick F., 1953. *Molecular structure of nucleic acids*. Nature, 151, 737-738.



Friedrich Miescher w latach kiedy był profesorem fizjologii na Uniwersytecie w Bazylei. Zdjęcie jest częścią wewnętrznej strony okładki zbioru publikacji Mieschera i niektórych jego listów, zredagowanych i opublikowanych przez jego wuja Wilhelma Hisa i współpracowników po śmierci Mieschera. Pod zdjęciem znajduje się podpis Mieschera. © Ralf Dahm.



Dawna kuchnia zamku w Tybindze, która była częścią laboratorium Felixa Hoppe-Seylera. To właśnie w tym pomieszczeniu Friedrich Miescher pracował podczas swojego pobytu w Tybindze, gdy wyizolował nukleinę. Po powrocie do Bazylei Miescher wspominał, że pokój z zacienionym, sklepionym sufitem i małymi, głęboko osadzonymi oknami przypominał mu laboratorium średniowiecznego alchemika. Laboratoria Friedricha Mieschera i Felixa Hoppe-Seylera znajdowały się obok siebie na parterze budynku głównego. Pomieszczenia wcześniej były pralnią i kuchnią zamkową, a stały się laboratoriami Uniwersytetu w Tybindze odpowiednio w 1818 i 1823 roku. Zdjęcie wykonane przez Paula Sinnera, Tybinga, w 1879 r. © Biblioteka Uniwersytecka w Tybindze.



Szklana fiolka zawierająca nukleinę oczyszczoną przez Friedricha Mieschera z plemników łososia. © Alfons Renz, University of Tübingen, Germany.

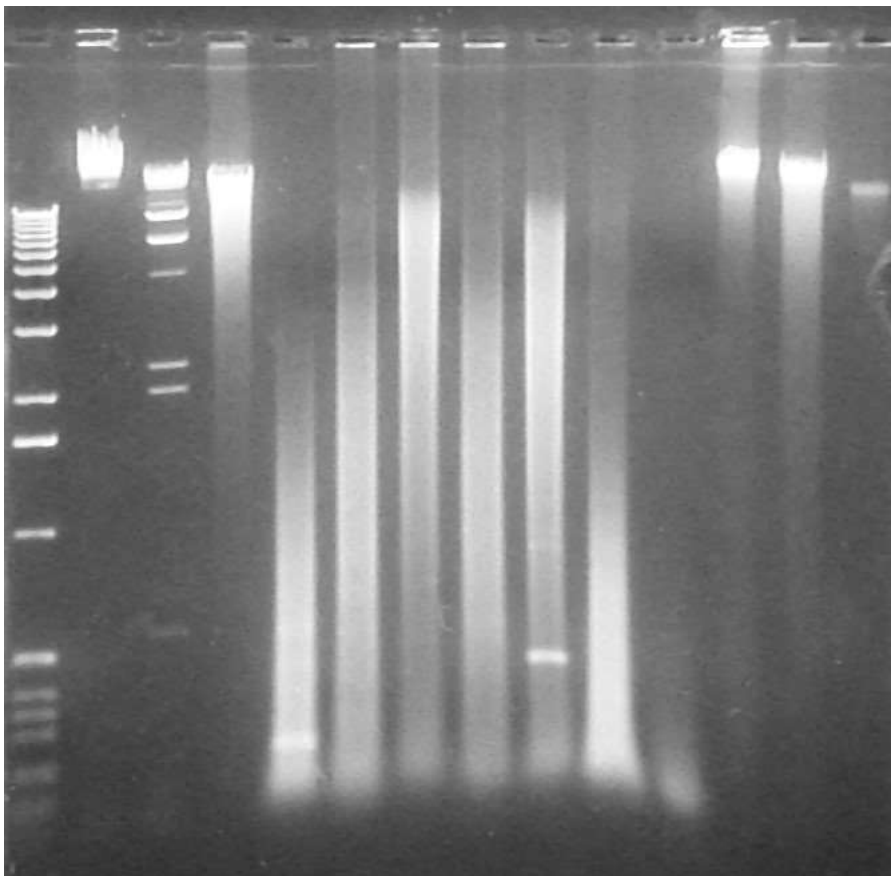


Wejście do laboratorium w zamku w Tybindze.



Friedrich Miescher (1844-1895) i jego żona Maria Anna Rüsch. © Biblioteka Uniwersytetu w Bazylei, Szwajcaria.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



Genomowy DNA hydrolizowano różnymi enzymami restrykcyjnymi i frakcjonowano w 0,9% żelu agarozowym zawierającym 0,1% hydroksyetylocelulozy (HEC). Tor 1, marker wielkości, KBL; tor 2, DNA faga λ ; tor 3, DNA faga λ hydrolizowany *HindIII*; tor 4, genomowy DNA człowieka; tor 5, genomowy DNA człowieka hydrolizowany *HinfI*; tor 6, genomowy DNA człowieka hydrolizowany *HaeIII*; tor 7, genomowy DNA człowieka hydrolizowany *HindIII*; tor 8, genomowy DNA człowieka hydrolizowany *BamHI*; tor 9, genomowy DNA człowieka hydrolizowany *EcoRI*; tor 10, genomowy DNA człowieka hydrolizowany *AluI*; tor 11, zdegradowany genomowy DNA człowieka, tor 12, genomowy DNA konia; tor 13, genomowy DNA łubinu żółtego; tor 14, genomowy DNA gerbery.