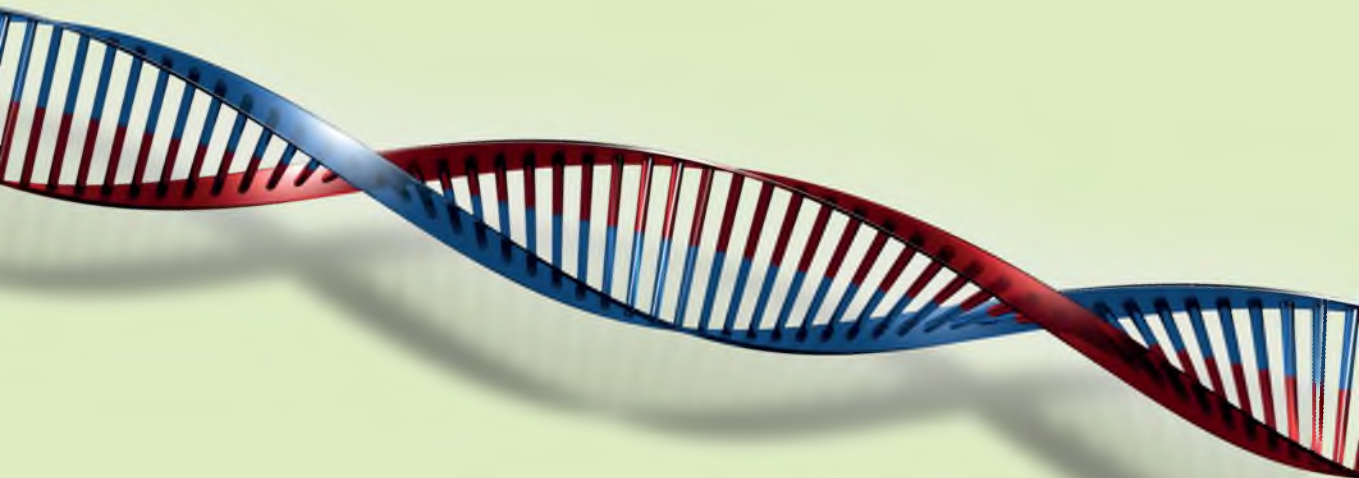


# Co nowego w nauce ?

Biologia molekularna  
jako nauka interdyscyplinarna



Siedlce, 13.04.2012 r.



**KAPITAŁ LUDZKI**  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

**UNIA EUROPEJSKA**  
EUROPEJSKI  
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach  
Europejskiego Funduszu Społecznego



**KAPITAŁ LUDZKI**  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

**UNIA EUROPEJSKA**  
EUROPEJSKI  
FUNDUSZ SPOŁECZNY



# Co nowego w nauce?

**BIOLOGIA MOLEKULARNA JAKO NAUKA  
INTERDYSCYPLINARNA**

„Człowiek – najlepsza inwestycja”

**Siedlce, 13 kwietnia 2012**

---

Projekt współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach  
Europejskiego Funduszu Społecznego

**Bezpłatne materiały szkoleniowe związane  
z Projektem Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach  
realizowanym w partnerstwie z Miastem Siedlce**

**"Praktyki pedagogiczne – kompetentnie, twórczo, przyjemnie"**

Program Operacyjny Kapitał Ludzki  
Priorytet III. Wysoka jakość systemu oświaty,  
Działanie 3.3 Poprawa jakości kształcenia  
Poddziałanie 3.3.2. Efektywny system kształcenia i doskonalenia nauczycieli

**Nr projektu: WND-POKL.03.03.02-00-041/10**

**Nr umowy dofinansowania: UDA-POKL.03.03.02-00-041/10-01**

Okres realizacji projektu: 1.09.2010 r. – 20.10.2014 r.

Wartość projektu: 3 833 175,00 zł

Redakcja materiałów: dr Ryszard Kowalski, mgr Olga Szykarczyk

Biuro Projektu

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Instytut Biologii

ul. Bolesława Prusa 12, 08-110 Siedlce, p. 39

e-mail: [praktyki@uph.edu.pl](mailto:praktyki@uph.edu.pl); [www.praktyki.uph.edu.pl](http://www.praktyki.uph.edu.pl)

tel./fax. 25 6431380

# Spis treści

Wstęp .....	4
Prof. Magdalena Fikus – notka biograficzna .....	9
Biologia molekularna jako nauka interdyscyplinarna.....	10
Literatura.....	32

## Wstęp

„**Co nowego w nauce?**” - to hasło przypisane jest do jednego z rodzajów wsparcia udzielanego beneficjentom projektu „Praktyki pedagogiczne – kompetentnie, twórczo, przyjemnie”. Ma ono formę szkoleniowego seminarium i organizowane jest cyklicznie, a jego celem jest aktualizacja wiedzy uczestników projektu w zakresie wybranej dziedziny nauki. Przygotowując te seminaria dokładamy starań, aby zakres tematyczny, metody i formy przekazu informacji były interesujące i dostosowane do potrzeb zróżnicowanych grup docelowych – studentów trzech kierunków studiów, nauczycieli czterech szkolnych przedmiotów, a ponadto pedagogów i dyrektorów.

Proszę pozwolić, że we wstępie do szkoleniowej broszury postawię pytanie i zaproszę Państwa do dyskusji na temat: **Czy możliwe jest dobre wykształcenie nauczyciela w „ilościowym modelu pracy” współczesnego uniwersytetu?** i jako wprowadzenie do wymiany zdań pokrótce przedstawię swój pogląd na ten temat.

Na początku chciałbym subiektywnie stwierdzić, że dobrym nauczycielem nie jest ta osoba, która ma ogromny zasób wiedzy i nic ponad to, ale ta, która mając wiedzę ciągle ją aktualizuje i posiada dar dzielenia się nią z innymi. Talent nauczycielski jest sztuką przekazywania wiedzy, sztuką wychowawczego oddziaływania na uczniów, sztuką motywowania i to nie tylko poprzez powszechnie stosowane narzędzie, opisane w psychologii jako teoria wzmocnień, co potocznie określamy metodą „kija i marchewki”, ale z zastosowaniem całej palety różnych metod skłaniających do aktywności i podnoszących chęć do pracy.

Wykształcenie nauczyciela nie może ograniczać się do przekazania studentom suchych faktów z różnych dziedzin i dyscyplin naukowych przewidzianych w standardach kształcenia, niepowiązanych w logiczną strukturę. Interdyscyplinowemu postrzeganiu problemów, holistycznemu opisywaniu zjawisk i procesów, z jednoczesnym przygotowaniem do zdobywania wiedzy z różnych źródeł na zasadzie samokształcenia, należy przypisać kluczowe znaczenie w procesie nauczycielskiego przygotowania.

Wykształcenie nauczyciela nie może polegać tylko na udziale studentów w obowiązkowych wykładach i laboratoriach. To stanowczo za mało! Kandydaci do

nauczycielskiej pracy powinni dojrzewać w uniwersyteckiej atmosferze, mieć czas na studia w bibliotece, rozwijać swoje zainteresowania w kołach naukowych, realizować własne pasje w studenckich organizacjach i nie tylko uczestniczyć w kulturze, ale także brać udział w jej tworzeniu. Czy w „ilościowym modelu pracy” szkoły wyższej jest to możliwe?

Dydaktyczne realia współczesnej szkoły wyższej zdominowane są przez starania o jak największą liczbę studentów i podporządkowane pod względem programowym rozbudowanym standardom kształcenia, opracowanym dla poszczególnych kierunków studiów. Skutkuje to przeładowanymi programami nauczania, wieloma obowiązkowymi zajęciami przypadającymi na każdy dzień w tygodniu. Obciążenie jest często tak duże, że po zakończeniu zajęć młodzież nie ma już chęci na odwiedzenie czytelni, tak dla przyjemności, a nie z obowiązku. W obecnym systemie studiów trudno jest znaleźć czas na spokojną lekturę książek i czasopism, dlatego studenci wybierają najłatwiejszą drogę i korzystają często bezkrytycznie z internetowych opracowań i streszczeń. Do teatru i na koncerty muzyki poważnej chodzą nieliczni, za to większość należy do czynnych lub biernych uczestników popkultury. Powstaje zatem pytanie, czy studenci kształceni w takim systemie, w swoim zawodowym życiu, już jako nauczyciele-wychowawcy, będą motywować młodzież szkolną do różnych form aktywności? Wydaje się oczywiste, że kto sam nie bierze czynnego udziału w życiu społecznym i kulturalnym, ten nie będzie odczuwał potrzeby zachęcania swoich podopiecznych do takiej aktywności. W uczelniach liczy się dziś przede wszystkim liczba studiującej młodzieży, a więc „ilość”, bo ta w prosty sposób przekłada się na dydaktyczną dotację przyznawaną szkole, a w następnej kolejności na możliwości zatrudnienia kadry nauczycieli akademickich, rozliczanych z dydaktycznego pensum. Stąd na początku wstępu użyte zostało określenie „ilościowy model pracy współczesnego uniwersytetu”. Warto w tym miejscu przypomnieć powszechnie znaną zasadę mówiącą o tym, że ilość jest odwiecznym wrogiem jakości.

Kształcenie nauczycieli w uniwersytecie w Siedlcach ma długoletnią tradycję. Przez prawie pół wieku udało się wypracować pewien swoisty model kształcenia, mający szereg mocnych stron, do których należy zaliczyć:

- wysoki poziom nauczania wszystkich przedmiotów objętych planem studiów, czego potwierdzeniem jest pełna akredytacja kierunków, na których to kształcenie jest umiejscowione,
- dobre wzory osobowe wśród kadry nauczycieli akademickich,
- tradycję i wypracowane w uczelni systemowe rozwiązania zapewniające jakość kształcenia,
- dobre relacje ze środowiskiem pozauniwersyteckim, przekładające się na jakość kształcenia, szczególnie praktycznego,
- bardzo dobrze przygotowaną kadrę nauczycieli szkół ćwiczeń,
- odpowiednio wyposażone pracownie przedmiotowe i życzliwą atmosferę panującą w szkołach,
- indywidualne podejście do każdego studenta,
- bardzo dobrze pracujące studenckie koła naukowe, w których młodzież zdobywająca nauczycielskie przygotowanie ma szansę rozwoju swoich pasji i zainteresowań,
- warunki przyrodnicze miasta i regionu sprzyjające organizowaniu zajęć terenowych,
- angażowanie studentów w prace badawcze i wynikające z tej współpracy efekty w postaci wspólnych publikacji studentów i nauczycieli akademickich,
- zaangażowanie uczelni w upowszechnianie wiedzy, czego przykładami są corocznie organizowany festiwal nauki i sztuki w Siedlcach, otwarte seminaria naukowe, udział w piknikach naukowych w Warszawie i w innych miejscowościach, w których tego typu edukacyjne wydarzenia organizowane są z uniwersyteckiej inspiracji,
- rozwiniętą działalność uczelnianego ośrodka kultury,
- wolontariat studencki,
- rozwinięty system pomocy studentom niepełnosprawnym,
- wysoki standard zamieszkania w domach studenta – dobre warunki do nauki i wypoczynku.

Do słabych stron kształcenia nauczycieli w UPH w Siedlcach można w ostatnich latach zaliczyć:

- niechęć młodzieży do podejmowania studiów na specjalności nauczycielskiej wynikającą z problemów związanych z możliwościami zatrudnienia po studiach i pauperyzacją zawodu,
- zbyt liczne klasy w szkołach ćwiczeń, co utrudnia hospitację lekcji przez grupy studenckie,
- skromne środki finansowe, niewystarczające na godziwe wynagrodzenie nauczycieli szkół ćwiczeń za ich odpowiedzialną pracę ze studentami,
- praktyki studenckie głównie poza miastem uniwersyteckim, co stwarza problemy z bezpośrednim nadzorem nad ich przebiegiem.

Diagnoza, dzięki której określono mocne i słabe strony nauczycielskiego kształcenia w UPH w Siedlcach, uwzględniona została przy planowaniu projektu, w którym bierzemy udział. Dzięki niej, w projekcie „Praktyki pedagogiczne – kompetentnie, twórczo, przyjemnie”, zaplanowane zostały różne formy wsparcia dla wszystkich uczestników, zarówno studentów jak i nauczycieli przedmiotów, szkolnych pedagogów, dyrektorów. Są wśród nich konferencje poruszające tematykę wychowawczą, szkolenia w zakresie wychowania uczniów specjalnej troski, szkolenia w poradni psychologiczno-pedagogicznej, szkolenia komputerowe, wspólne uczestniczenie w spektaklach teatralnych.

Jedną z cennych form wsparcia jest cyklicznie powtarzane szkolenie pt. „Co nowego w nauce?” W roku ubiegłym beneficjenci projektu spotkali się z pracownikiem naukowym z Narodowego Centrum Badań Jądrowych, dr Michałem Kowalem. Temat tego spotkania brzmiał „Promieniowanie jądrowe – wróg czy przyjaciel?”. To bardzo aktualny temat, dyskutowany także w szkołach w kontekście planowanego w naszym kraju rozwoju energetyki jądrowej.

W tym roku, na zebraniu pracowników biura projektu z koordynatorami kierunkowymi, ustalono, że pytanie „Co nowego w nauce?” zadamy Pani Profesor Magdalenie Fikus z Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN z Warszawy. Pani Profesor przyjęła zaproszenie, przedstawiła interesującą ofertę nt. „Biologia molekularna jako



nauka interdyscyplinarna” i wyraziła chęć spotkania się z uczestnikami projektu, za co składamy Jej serdeczne podziękowanie.

Organizujemy to seminarium wierząc w to, że będzie owocne dla wszystkich uczestników projektu i zaproszonych gości oraz, że będzie ono kolejnym krokiem umacniającym i integrującym naszą edukacyjną wspólnotę. Spotkanie z wybitną przedstawicielką nauki i popularyzatorką wiedzy z pewnością wzbogaci nas intelektualnie i pozwoli spojrzeć na biologię jako naukę funkcjonującą w sieci powiązań z wieloma innymi dziedzinami. Osiągnięcia tej nauki przyczyniają się z jednej strony do rozwoju jej samej, ale także innych dziedzin i dyscyplin wiedzy i odwrotnie inne dziedziny i dyscypliny umożliwiają, wzmacniają, przyspieszają lub determinują postęp w biologicznych badaniach, zarówno tych podstawowych jak i aplikacyjnych. Czy zatem „Biologia molekularna jest nauką interdyscyplinarną? Po seminarium i spotkaniu z Panią Profesor Magdaleną Fikus chyba nikt nie będzie miał trudności z udzieleniem odpowiedzi na tak postawione pytanie.

Wszystkim uczestnikom i gościom seminarium przekazujemy bezpłatnie broszurę szkoleniową, w której znajduje się tekst artykułu przygotowanego przez Panią Profesor Magdalenę Fikus. Życzymy Państwu miłej i owocnej lektury, zachęcając jednocześnie do dzielenia się swoimi przemyśleniami. Chętnie będziemy pośredniczyć w przekazaniu Państwa uwag Autorce opracowania.

Życzymy wszystkim zadowolenia z uczestnictwa w seminarium aktualizującym wiedzę przedmiotową i metodyczną. Zapewniamy, że dołożyliśmy starań, aby seminarium przebiegało w sposób „kompetentny, twórczy i przyjemny”. Mamy nadzieję, że spełniliśmy Państwa oczekiwania.

W imieniu zespołu pracowników  
*Ryszard Kowalski – kierownik projektu*



## **Magdalena Fikus**

Z wykształcenia biochemik, praca zawodowa w dziedzinie biologii molekularnej i biofizyki, kolejno w PZH (1959-1965), UW (1965-1975) i IBB PAN (1975 -). Badania własne w zakresie biofizyki kwasów nukleinowych, inżynierii genetycznej bakterii i drożdży i biofizyki błon komórkowych. Wykładała w UW, UMCS, PW, AP.

*Prof. dr hab. Magdalena Fikus*

*Fot. Tomasz Kwiatkowski*

W latach 1997-2010 współzakładała i kierowała, jako wice dyrektor, pierwszym w Polsce Festiwałem Nauki w Warszawie. Od 2008 r. jest przewodniczącą Rady Upowszechniania Nauki przy Prezydium PAN. Organizatorka pierwszej w Polsce Kawiarni Naukowej i Kawiarni Rodziców przy Uniwersytecie Dzieci. Członek Rady Programowej Centrum Nauki Kopernik (2007- ). Autorka dwu książek z zakresu biologii molekularnej i licznych artykułów naukowych. Znana jest z wielkiego zaangażowania w popularyzację nauki i jej osiągnięć w prasie, audycjach radiowych i telewizyjnych. Laureatka pierwszej nagrody „Popularyzator Nauki” w konkursie organizowanym przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego i Polską Agencję Prasową, a także nagrody im. Steinhausa za popularyzację nauki. Odznaczona przez Prezydenta RP Krzyżem Komandorskim z Gwiazdą Polonia Restituta w 2011 roku.

Dwoje dzieci i troje wnuków.

Hobby: góry, ogród, muzyka klasyczna, książki (jeszcze papierowe).

# **Biologia molekularna jako nauka interdyscyplinarna**

*Magdalena Fikus*

W świadomości ludzi nie związanych z edukacją i nauką pokutuje nadal wyobrażenie o biologii jako nauce obserwacyjnej: roślin, zwierząt i świata je otaczającego. Sporną może być odpowiedź na pytanie, czy człowiek może być także obiektem biologicznych badań, czy też „należy” tylko do medycyny?

Tymczasem badania Mendla, o których każdy słyszał (opublikowane w 1868 roku), są wiarygodne dlatego, że wykonane zostały na wielkich liczbach osobników z zastosowaniem statystycznych metod obróbki danych (matematyka na usługach biologii). Mendel wybrał groch, ponieważ jest łatwy w hodowli, wytwarza dużą liczbę osobników potomnych, jest zdolny do samozapylenia i ma wiele różnych fenotypów. Jak łatwo się zorientować, w biologii bardzo ważnym początkowym momentem badań jest świadomy wybór modelu badawczego. Anegdota prawdziwa z życia Mendla mówi, że jeden ze słynnych w tym czasie botaników radził Mendlowi, żeby badał petunie. Dziś wiemy, znając genetyczne cechy petunii, że nie było by praw Mendla, gdyby posłuchał rad starszego kolegi.

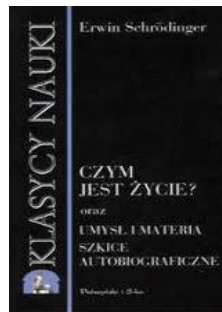
Mendel badał siedem fenotypów, łatwych do obserwowania i zliczania, szukając praw sterujących ich dziedziczeniem: kolor kwiatów, pozycje kwiatów na łodydze, kolor i rodzaj powierzchni nasion, kolor i kształt strąka, wysokość pędu. Był bardzo dokładny w zbieraniu danych, co wraz z matematycznym ich opracowaniem dało wysoce wiarygodne wyniki. Nie należy sobie wyobrażać, że np. prawo niezależnego dziedziczenia dwóch cech, mówiące o tym, że stosunki liczbowe genotypów i fenotypów w kolejnych krzyżowanych pokoleniach wyrażają się całkowitymi liczbami, jawi się w realnym doświadczeniu jako dokładnie taka proporcja (np. 1:2:1). W realnym doświadczeniu mogą się zdarzyć pomyłki naukowca, mutacje badanego organizmu, przypadkowe zapylenia, czego skutkiem jest powstawanie drobnych odstępstw od „normy” liczbowej. Dlatego liczby uzyskane przez Mendla (w tysiącach) są tylko bliskie przewidywanym proporcjom. Uczony mnich przyjrzał się im dokładnie, uogólnił i wyciągnął ważne wnioski. Byli tacy w historii nauki, którzy nawet posądzali

Mendla o to, że „naciągał” dane, co po dokładnym sprawdzeniu okazało się nie prawdą. Zasady statystycznej obróbki danych towarzyszą od tego czasu wszystkim wiarygodnym badaniom biologicznym.



Określenie „jednostki dziedziczności” było na tyle ogólnym i nie precyzyjnym w stosunku do ich prawdziwej natury, że prawomocna przez wiele lat była hipoteza, zakładająca białkową naturę mendlowskich jednostek dziedziczenia, w 1909 roku nazwanych przez W. Johannsena genami. Białka były świetnym kandydatem do tej roli, ze względu na ich różnorodność i powszechność występowania w komórkach. Genetyka formalna zbudowana została na nieprawdziwym fundamencie.

Wielu fizyków połowy XX wieku zwracało się w licznych wywiadach, że do zainteresowania biologią pchnęła ich lektura książeczki sławnego fizyka, noblisty (1933) Erwina Schrödingera. „Czym jest życie?”(1944)



Odkąd fizycy zainteresowali się biologią powstały kierunki obejmowane ogólną nazwą „biofizyka”. Za biofizykę można uznać badanie zmysłów i ich narządów (słuch, oko), tkanek (krwiociąg, mięśnie), także przemian energetycznych w zamkniętych układach pozornie sprzecznych z zasadami termodynamiki, jakimi są żyjące organizmy.

To jest makro-biofizyka. Na poziomie mikro, o którym tu będzie mowa, powstała biologia molekularna zajmująca się biopolimerami, przekazem informacji genetycznej, biokatalizą i biokatalizatorami (enzymami) i fotosyntezą<sup>1</sup>.

Mój wieloletni promotor i patron badawczy, David Shugar, mawiał, że biologia molekularna narodziła się wraz z wynalazkiem ultrawirówki. Wirówki wymyślone zostały w XVII wieku do celów praktycznych, na początku były napędzane ręcznie. Oddziaływały od siebie substancje różniące się masą (np. śmietaną od wody). T. Svedberg skonstruował ultrawirówkę o wielkiej liczbie obrotów na minutę (rpm) - współcześnie do 500 000 rpm i już rok później za badania koloidów i białek w takiej wirówce dostał chemiczną Nagrodę Nobla (1926). Wielki postęp w dziedzinie ultra wirowania osiągnęła firma Spinco, która w 1946 roku wyprodukowała ultrawirówki próżniowe (znaczące obniżenie tarcia), co ułatwiało także utrzymywanie, nawet w czasie wielogodzinnych wirowań, stałej temperatury. Dopiero takie ultrawirówki umożliwiły separację składników komórek: mitochondriów, rybosomów, a także biopolimerów – białek, kwasów nukleinowych, wirusów.



*Preparatywna ultrawirówka*



*Analityczna ultrawirówka*

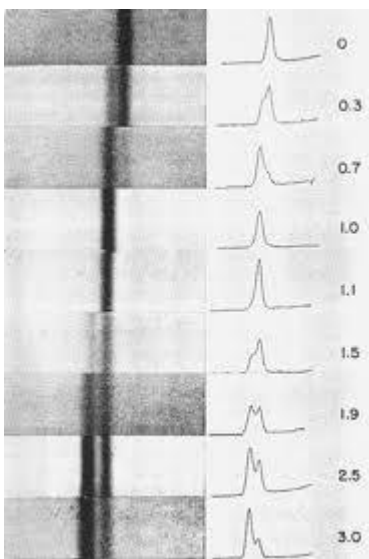
Technika ta na tyle stała się niezastąpioną, że w latach 50-tych XX wieku nie miała racji bytu pracownia biochemiczna bez ultrawirówek: analitycznej i preparatywnej. Klasyczne i eleganckie, podręcznikowe doświadczenie udowadniające, że replikacja DNA odbywa się wg. mechanizmu pół-konserwatywnego, wykonali

---

<sup>1</sup> Ze względów redakcyjnych fotosynteza będzie w tym opracowaniu pominięta.

M. Meselson i F. Stahl w 1957 roku w analitycznej ultrawirówce.<sup>2</sup> (Meselson miał wtedy 27, Stahl 28 lat !)

W tym doświadczeniu wirowano w wirówce analitycznej, w gradiencie gęstości chlorku cezu, DNA wydzielany w odstępach czasowych związanych z replikacją i podziałami *E. coli*, od momentu wprowadzenia bakterii do pożywki zawierającej ciężki izotop azotu. Po pierwszej replikacji pierwotnie „lekkie” pasmo przechodzi w formę pośrednią (w pierwszej po podziale helisie jedna (macierzysta) nić DNA jest lekka, druga ciężka, cała helisa jest gęstości mieszanej w wirówce widać nowe pasmo). Ale po dalszych podziałach powstają już tylko nici ciężkie i kolejne pasmo, przesunięte jest w stosunku do pośredniego. Po kilku podziałach i cyklach replikacji zanika pasmo początkowe i pośrednie, przeważa ostateczny produkt, w którym obie nici DNA są „ciężkie”. Poza ultra wirowaniem (fizyka) wykorzystano w tym doświadczeniu także, nabierającą właśnie znaczenia, wiedzę radiochemiczną, używając w większości doświadczeń znakowanych izotopów i zliczając impulsy w licznikach scyntylicyjnych.



*Doświadczenie Meselsona i Stahla*



*Licznik scyntylicyjny*

Ultrawirówki przyniosły zatem biologii, którą już odtąd za Davidem Shugarem nazwiemy molekularną, wielkie możliwości badania substruktur komórkowych, ich

<sup>2</sup> Ultrawirówki analityczne wirowały małe (poniżej 1 ml) objętościowo próbki, obserwację prowadzono w trakcie wirowania dostępnymi spektralnymi metodami, oceniano prędkość sedymentacji i stan równowagi sedymentacyjnej, które zależne są od wielkości obecnych w próbce cząsteczek. W ultrawirówkach preparatywnych wirowano duże (rzędu litra) objętościowo próbki albo osadzając materiał na dnie, albo do uzyskania właściwej pozycji w gradiencie gęstości rozpuszczalnika.

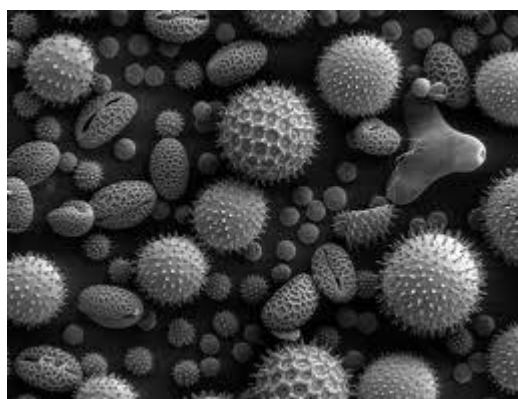
cech fizycznych i chemicznych. Takie zapotrzebowanie wymusiło rozwój wielu technologii i materiałów konstrukcyjnych do wytwarzania coraz sprawniejszych ultrawirówek i przyrządów towarzyszących.

Angażowanie do badań biologicznych fizyków i technologów odnotować można w rozwiązywaniu wszystkich ważnych pytań o struktury i zależnych od nich funkcji makrocząstek, pytań coraz bardziej powszechnych, stawianych przez biologów w połowie lat pięćdziesiątych XX w.

Wdrożenie ustalonych jeszcze przez Ludwika Pasteura zasad sterylnej pracy, umożliwiło przejście od hodowania miliardów komórek do obserwacji pojedynczych komórek i ich struktur. Takie procedury wymagały szybkiego rozwoju mikroskopii w świetle widzialnym, (granica rozdzielczości 200 nm), a następnie skonstruowanie mikroskopów o wyższej rozdzielczości, takich, w których skala obserwacji pozwala na wizualizację cząstek. Do najbardziej znanych należą mikroskopy elektronowe. Pierwowzór, skonstruowany przez E. Ruska i M. Knolla w 1931 roku, umożliwił obserwację najmniejszych organelli komórkowych. W roku 1937 G. Thomson i C. Davisson otrzymali Nagrodę Nobla z fizyki za prace wykonane w mikroskopie elektronowym i dotyczące struktury materii nieożywionej. Obecnie produkuje się głównie trzy typy mikroskopów elektronowych: transmisyjny (TEM), skaningowy (SEM) i tunelowy. Ich granica rozdzielczości sięga ok. 0,2 nm.



*Skaningowy mikroskop elektronowy*



*Pylek roślinny w skaningowym mikroskopie*

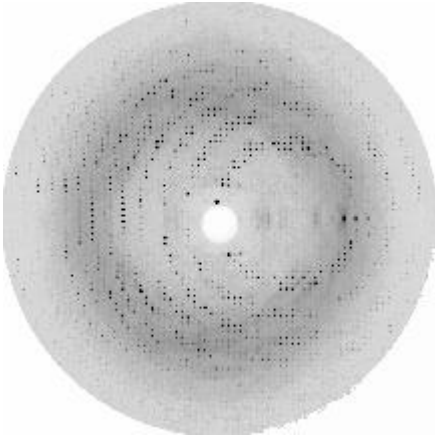
Obok mikroskopii ważne, do dziś w pewnych doświadczeniach nie do zastąpienia, okazały się techniki krystalizacji makrocząsteczek i badania kryształów metodą dyfrakcji promieni rentgenowskich (X).

Światowym ośrodkiem badań kryształów dzięki dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego był od początku XX wieku Uniwersytet w Cambridge, w którym pracowali ojciec i syn William H. i William L. Bragg (wspólna Nagroda Nobla z fizyki w 1915). Oceniano wielkość atomów, długość i rodzaj wiązań chemicznych, strukturę wewnętrzną minerałów i stopów metali. To tu opisano po raz pierwszy strukturę krystaliczną chlorku sodu. Cząsteczki organiczne zaczęto badać od 1923 roku. Wielkimi osiągnięciami były wyniki pracy D. Crowfoot Hodgkin, która rozszyfrowała strukturę krystaliczną cholesterolu, witaminy B12 i w 1945 roku - penicyliny (Nagroda Nobla z chemii, 1964). Jej odkrycie struktury krystalicznej polipeptydu insuliny (1969), było wynikiem ponad 30 lat pracy.

Prace w kierunku krystalografii białek (mioglobina) rozpoczęli M. Perutz i J. Kendrew (Nagroda Nobla z chemii, 1962). Od tego czasu ta metoda badawcza (krystalografia makromolekuł i ich badanie dzięki dyfrakcji promieni X) dostarczyła wyników, z różnym stopniem rozdzielczości, dla ponad 70 tysięcy białek i kwasów nukleinowych (spektroskopia NMR zaledwie ok. 10 tysięcy struktur). Pierwsza z metod może być stosowana do dużych cząsteczek i używana jest już dziś rutynowo do badań kompleksów białek z innymi cząsteczkami, np. potencjalnymi lekami.

Badania makrocząsteczek biologicznych wykreowały wielką grupę technik korzystających z rozwoju wielu gałęzi fizyki, na podstawie których konstruowane są coraz potężniejsze i bardziej sprawne (niestety bardzo kosztowne) instrumenty pomiarowe.





*Obraz dyfrakcji promieni X przez  
kryształ białka*



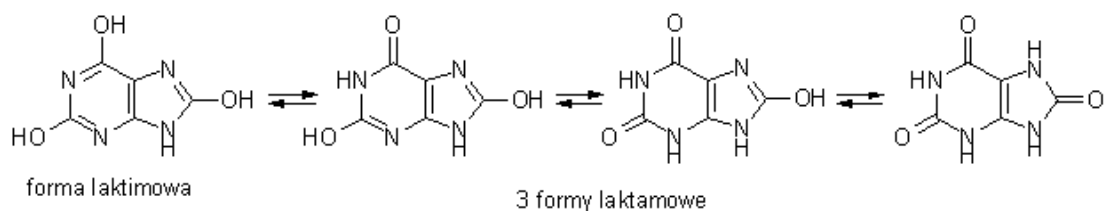
*Oryginalne dane R. Franklin dla  
włókien DNA*

Ośrodek w Cambridge stał się sławny na całym świecie – usłyszał o nim także pracujący wówczas w Danii młody biolog amerykański James Watson. Watson uzyskał doktorat badając ptaki, ale możliwość zajrzenia w głąb struktur komórkowych i cząsteczkowych wydała mu się bardziej godna zachodu. Przyjechał zatem do Cambridge, gdzie spotkał trochę starszego od siebie inżyniera chemika Francisa Cricka. Obaj zaczęli się zastanawiać nad tym, jaka jest struktura przestrzenna kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA), o którym dopiero od niedawna (1944) dostarczono przekonujących dowodów, iż spełnia rolę nośnika informacji genetycznej (witaj Mendlu, oto twoje jednostki dziedziczności!).

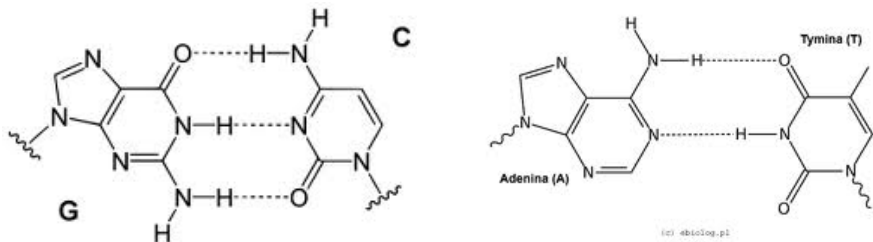
Trudno chyba wyobrazić sobie lepsze miejsce i moment: światowa „świątynia” krystalizacji i badań makrocząsteczek, środowisko zainteresowane ich budową chemiczną i dwu pełnych pomysłów młodych badaczy. Znaleźli jeszcze trzeciego i czwartą: Jamesa Wilkinsa i jego asystentkę, Rosalind Franklin z King’s College w Londynie, którym właśnie udało się uzyskać pseudo krystaliczną (a w każdym razie przestrzennie uporządkowaną w postaci włókien) formę DNA. Franklin zaczęła badać ją promieniami X, trzej panowie przystąpili do komentowania.

Określenie struktury DNA jako podwójnej helisy było dziełem interdyscyplinarnego zespołu (Watson – biolog, reszta to fizycy). Przy okazji stali się także prekursorami bioinformatyki, ponieważ przedyskutowali wiele **modeli** cząsteczki, integrujących istniejącą wiedzę. Musieli także wykonać obliczenia z zakresu teorii dyfrakcji „wstecz” – przewidzieć jakie refleksy dała by struktura podwójnej helisy i porównać je z wynikiem doświadczalnym. Końcowy model stanowił w biofizyce przełom w sposobie myślenia i analizowania danych. Wciąż jeszcze żyją badacze (też się do nich zaliczam), którzy oba te otwarcia przeżyli i „skonsumowali”.

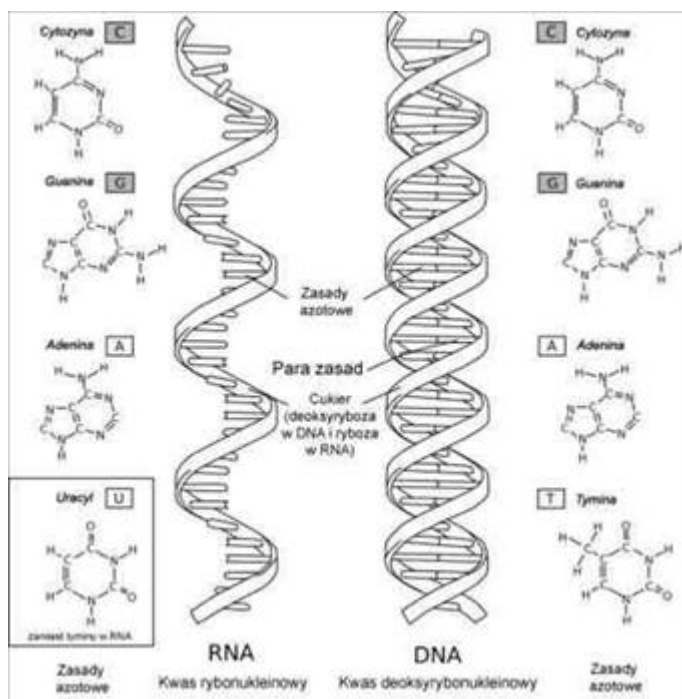
Historia odkrycia struktury DNA opisywana była wielokrotnie, nie będę się na niej koncentrować. Zwracam jednak uwagę na to, że przed postawieniem hipotezy strukturalnej konieczne było ustalenie budowy chemicznej składników kwasów nukleinowych (uczynił to jeszcze jeden laureat Nagrody Nobla z chemii, 1957, A. Todd). Drobnym wydawało by się szczegół, bez którego nie można by wyjaśnić struktury DNA to (jak opisuje tę część badań Watson) poznanie pozycji protonów w pierścieniach zasad azotowych w warunkach biologicznych (forma tautomeryczna). Ta konieczna wiedza do postulowania wzajemnych oddziaływań różnych cząsteczek kwasów nukleinowych (DNA i RNA) ze sobą, prowadziła także do ustalenia liczby nici w cząsteczkach kwasów nukleinowych, przy budowaniu hipotez o mechanizmach transkrypcji, translacji i ich regulacji przez małe cząsteczki RNA, oddziaływań wirusów z komórkami gospodarzami itd.



*Możliwe formy tautomeryczne kwasu moczowego, pochodnej puryny*



*Tautomerie guaniny i cytozyny, adeniny i tyminy w helisie DNA, wiązania wodorowe*



*Tylko przy takich formach tautomerycznych zasad azotowych możliwe jest utworzenie podwójnej helisy postulowanej przez Watsona i Cricka*

Hipoteza podwójnej helisy jest wynikiem pracy badaczy wielu nauk, jej propozycja była - jak byśmy dziś powiedzieli - wielkim interdyscyplinarnym projektem badawczym. Była tam biologia, chemia, fizyka, matematyka, za „chwilę” dołączyć miała informatyka. W moich oczach był to projekt największy w całej historii rozwoju biologii molekularnej. Wszystkie prace, które nastąpiły potem jako punkt wyjściowy przyjmowały hipotezę podwójnej helisy z kompletem towarzyszących jej cech i charakterystyk.

Jest oczywistym, że biologia molekularna stawiała sobie jako cel wyjaśnianie mechanizmów „działania” wszystkich żywych organizmów, w tym także człowieka, ale wraz z wspinaniem się po drabinie ewolucyjnej, ze względu na narastającą złożoność tych organizmów, łatwiej było zacząć od badań pojedynczych komórek, konkretnie bakterii, jeszcze konkretniej – skończyło się na pałeczce okrężnicy, *Escherichia coli*.

Ewolucjoniści obliczają wyodrębnienie się rodziny *Enterobacteriaceae* na 3,5 mld lat temu. Jeden z gatunków, *Escherichia coli*, stanowi nieznaczny ułamek (1%) normalnej flory jelitowej ludzi i zwierząt i odpowiada za 60-70 proc. produkcji witamin z grupy B i K. Bakteria ta, odkryta w końcu XIX wieku przez Teodora Eschericha, swoją nazwę uzyskała w 1916r., już po jego śmierci. Bywa patogenna dla ludzi wywołując groźne choroby płuc, nerek. Szczep wybrany do badań laboratoryjnych, (model) K12, nie jest patogenny i ma wiele „wygodnych” dla badaczy cech. Można go hodować w pożywkach minimalnych, składających się z soli mineralnych i glukozy. Z tych składników bakterie *E. coli* wytwarzają WSZYSTKIE swoje składniki i cząsteczki – można było zatem spodziewać się istnienia w niej wielu cykli metabolicznych charakteryzujących żywą komórkę i bogatego zestawu regulacji tych procesów. Jak dowiedli trzej badacze francuscy J. Monod, F. Jacob i A. Lwoff (Nagroda Nobla 1965 r. z fizjologii) badając operon laktozy *E. coli*, można wyróżnić alternatywne drogi metaboliczne, ratujące bakterie w przypadku zmiany warunków otoczenia.

Hipoteza regulacji operonu laktozy należy do najbardziej eleganckich i pięknych w biologii molekularnej i z tych czasów pochodzi fraza przypisywana Monod’owi: „jeśli poznałeś życie *E.coli*, to znasz także życie słonia”. Monod lubił filozofować o życiu i biologii – niestety ta kusząca hipoteza zawiodła na manowce wielu badaczy.



*E.coli* w mikroskopie elektronowym

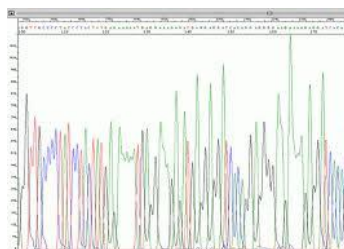


*E. coli* hodowane na stałym podłożu

Do końca lat 50. ogólna wiedza o budowie i działaniu materiału genetycznego wydawała się zamknięta i elegancko podsumowana. Zrobienie kolejnego kroku wymagało przejścia na poziom chemiczny i to właśnie chemia stała się w latach 60. głównym graczem w genetyce. Należało ustalić kod sterujący odczytywaniem informacji genetycznej i cząsteczki, które w tym procesie biorą udział. Ustalenie zasad kodu genetycznego wiąże się z gigantyczną pracą chemicznego laboratorium prowadzonego przez G. Khoranę. Za prace, dzięki którym rozszyfrowany został kod genetyczny, w których użyto syntetycznych oligonukleotydów, G. Khorana, M. Nirenberg i R. Holley otrzymali w 1968 roku Nagrodę Nobla z fizjologii i medycyny. Khorana pierwszy uzyskał syntetyczne oligonukleotydy i stosując znane już enzymy z *E.coli* połączył je w pierwszy syntetyczny gen kodujący tRNA, aktywny *in vivo*. (1972). Dzięki Khoranie droga do syntezy kwasów nukleinowych została otwarta. Kolejną palącą potrzebą okazało się opracowanie metod odczytywania kolejności ułożenia nukleotydów w niciach naturalnych kwasów nukleinowych, przede wszystkim w DNA (w żargonie: sekwencjonowanie DNA).



*Zestaw wielu sekwenatorów*



*Obraz z rejestratora sekwencji nukleotydów*

Zastosowanie wiedzy o działaniu materiału genetycznego w konfrontacji z nowymi danymi doświadczalnymi doprowadziło w połowie lat 70-tych do hipotezy istnienia genów podzielonych – herezja i w ogóle i w stosunku do słonia Monoda, w szczególności. Żaden z badaczy *E. coli* nie widział i nie słyszał o genach podzielonych. Odkrycie nie należało do świata bakterii, raczej słoni. Za odkrycie

zjawiska P. Sharp i R. Roberts otrzymali w 1993 Nagrodę Nobla w fizjologii i medycynie.<sup>3</sup>

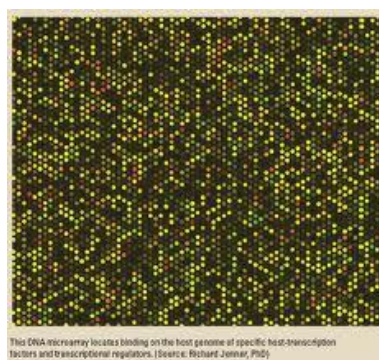
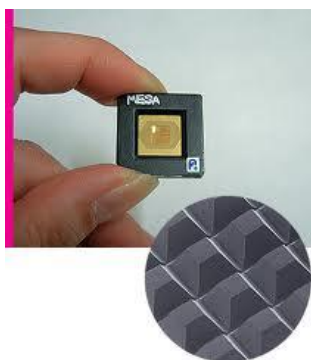
Sekwencjonowanie DNA (nie było wątpliwości, że to znowu nagroda Nobla na horyzoncie) odbyło się dramatycznie: po obu stronach Atlantyku, w dwu, świadomie konkurujących ze sobą pracowniach. Ciekawe: oba podejścia identyczne co do końcowego postępowania różnią się zasadniczo wyjściową strategią. F. Sanger (W. Brytania) stosując matrycę przedłużał enzymatycznie jednoniciowy DNA, w oparciu o zasadę komplementarności, W. Gilbert (USA) jednoniciowe fragmenty DNA od jednego końca, stopniowo degradował. (Nagroda Nobla dla obu uczonych, dzielona z P. Bergiem, z chemii, 1980). W metodzie Gilberta stosowano w środowisku bezwodnym wyszukane odczynniki chemiczne, szkodliwe dla człowieka i nietrwałe w tzw. „warunkach pokojowych”. W metodzie Sangera stosowano znane uprzednio pochodne nukleotydów i enzymy syntetyczne, w temperaturze bliskiej pokojowej, w wodnym środowisku. Metoda Sangera, nim jej odpowiednio nie zmodyfikowano, wymagała zegarmistrzowskiej finezji technicznej i rzadko komu udawała się za pierwszym podejściem (mnie się nie udało). Po uproszczeniu przez kolejne 30 lat, w zautomatyzowanej wersji, (p. zdjęcie sekwenatorów) służyła biologii molekularnej. Dziś sekwencjonuje się mikro fragmenty DNA w małych aparatach, w oparciu o nowe metody chemiczne. Pozwoliło to na znaczne przyspieszenie procedury i obniżenie jej ceny. Sądzi się, że w najbliższym czasie indywidualny genotyp człowieka będzie można oznaczyć za 1 tys. dolarów, co czyni to postępowanie nadającym się do masowych analiz i przybliża wdrożenie tzw. terapii indywidualizowanych.

Koniec XX wieku w biologii molekularnej charakteryzuje się przyspieszeniem analitycznych procedur dzięki stałej modernizacji aparatury, opracowaniu mikro metod analizy oraz produkcji na masową skalę gotowych zestawów analitycznych do wszystkich procedur. Koniec z lokalnym przygotowywaniem pożywek dla bakterii, żeli

---

<sup>3</sup> W wielkim uproszczeniu odkryto, iż łańcuch DNA w obszarze kodującym białko może składać się naprzemiennie z odcinków tłumaczonych do dojrzałego RNA i następnie białka (eksony) i odcinków usuwanych na etapie obróbki mRNA (intron). Istnieją geny eukariotyczne składające się z kilkudziesięciu eksonów/intronów. Ostateczne składanie mRNA do translacji może się odbywać alternatywnie, w wyniku czego z jednego odcinka kodującego DNA może powstać nawet kilkadziesiąt różnych białek.

do elektroforezy, oczyszczaniem enzymów, ultra wirowaniem, zliczaniem izotopów w licznikach scyntylicyjnych. Koniec z ocenianiem „na oko” liczby różnorodnych prążków po elektroforezie, koniec ze żmudną analizą statystyczną „na piechotę”, budowaniem modeli z kulek i drucików. Pojawiły się w doświadczeniach biologicznych (czy jeszcze biologicznych?) nowe substraty, materiały, co wymusiło rozwój i modyfikacje istniejących dotychczas na potrzeby fizyki i chemii fizycznej instrumentów. Powstała kwitnąca gałąź wytwarzania gotowych zestawów. Te zmiany wymagały wejścia nowych grup specjalistów z wszystkich zakresów nauk i technologii, budowy nowych laboratoriów, często o najwyższych wymaganiach sterylności i czystości powietrza. Wymyślono nowe filtry i sposoby zabezpieczeń i kontroli przebiegu doświadczeń. Świetnym przykładem na przyspieszenie i miniaturyzację analitycznych procedur stały się mikromacierze DNA, RNA – technika pozwalająca na powierzchni kilku centymetrów kwadratowych uzyskać dane o regulacji ekspresji tysięcy genów z danego organizmu, jego części, w danym momencie.



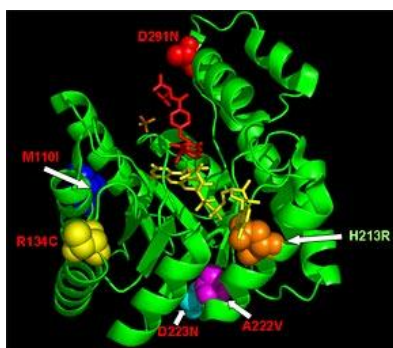
*Mikromacierz i wynik badawczy wymagający dalszego opracowania informatycznego*

Coraz powszechniej wytwarzane są „mikro laboratoria”, urządzenia mikro przepływowe: zestaw czujników zajmujących powierzchnię kilkudziesięciu centymetrów kwadratowych, stosowany do badania wybranych procesów. Ich zastosowania rozciągają się od syntezy chemicznej i inżynierii materiałowej po biochemię i mikrobiologię. Można z ich zastosowaniem m.in. przeprowadzać PCR

w czasie realnym, testy biochemiczne i immunologiczne (np. test diagnozujący zakażenie wirusem HIV), hodować i analizować komórki, a także krystalizować białka.

Kolejną dziedziną biologii molekularnej w której odbija się jej interdyscyplinarny charakter jest enzymologia. Enzymy, w większości przypadków białka, kwalifikuje się jako katalizatory, czyli związki nie zmieniające położenia równowagi reakcji. Same nie ulegają zmianom, jedynie przyspieszają katalizowane reakcje. Badanie przebiegu reakcji enzymatycznej można opisać ilościowo wzorami i funkcjami, wyznaczyć parametry dzięki czemu możliwe się staje, z punktu widzenia termodynamicznego, porównywanie wszystkich reakcji enzymatycznych, niezależnie od rodzaju substratu i produktu. Ten fragment białka enzymatycznego, który wiąże substrat i dokonuje katalizy nazwano centrum aktywnym enzymu. Dlatego też oczywistą jest korzyść dla rozumienia danej reakcji, płynąca z badań struktury (krystalicznej lub w roztworze) samego enzymu i enzymu związanego z substratem.

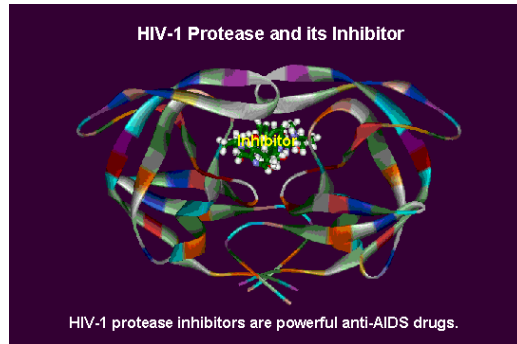
Od chemicznych katalizatorów enzymy odróżniają się swoją specyficznością, tym że działają w łagodnych warunkach temperatury i ciśnienia oraz że są stereo specyficzne.



*Reduktaza metylenotetrahydrofolianu z E. coli z substratem związanym z centrum aktywnym. Mutacje zaznaczone na czerwono wpływają na aktywność enzymu, jedna na zielono – nie.*

*Ilustracja z [http://www.sflorg.com/sciencenews/scn060308\\_01.html](http://www.sflorg.com/sciencenews/scn060308_01.html)*





*Proteaza HIV-1, jej centrum aktywne zablokował inhibitor, potencjalny lek w leczeniu AIDS. Ilustracja z:*  
[http://www.webbooks.com/eLibrary/Medicine/Infectious/AIDS\\_Treat.htm](http://www.webbooks.com/eLibrary/Medicine/Infectious/AIDS_Treat.htm)

Cechy te badać można wieloma metodami fizyki, chemii i chemii fizycznej, wypracowanymi dla materii nieożywionej, a wyniki opracowywać metodami informatycznymi. Ponieważ enzymy to białka, istniejące metody inżynierii genetycznej i komórkowej pozwalają na daleko idące modyfikacje ich składu i struktury. Znajduje to szerokie zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym. Te przykłady prowadzą nas do kolejnego rozszerzenia pojęcia biologii molekularnej.

Biologia molekularna leży u podstaw nowych technologii końca XX wieku o wspólnej nazwie – biotechnologii. Rozwijali je specjaliści w wielu zakresach metod i zastosowań: w medycynie, rolnictwie, farmacji, przemysłach wielu typów. Zastosowania biologii molekularnej odnajdujemy w kryminalistyce, położnictwie, diagnostyce przed urodzeniowej, terapii nieuleczalnych chorób. Dotarły do produkcji rolniczej: ulepszania zwierząt hodowlanych metodami transgenezy i klonowania, modyfikacji genetycznej roślin (co zmienia procedury przetwórstwa żywości). Zaczęto je stosować w kulturach drzew i lasów, ochronie roślin przed szkodnikami i chorobami wirusowymi. Przydały się w analizie wymierających gatunków, a także analizie tak historycznych DNA jak DNA człowieka neandertalskiego, czy bliższego nam, wędrowcy z Alp z przed 5 tysięcy lat. Analiza porównawcza DNA dziś żyjących organizmów pozwala na ustalenie (i jeśli trzeba poprawienie) poglądów na ewolucję i wzajemne pokrewieństwa gatunków, pozwala na wytyczenie dróg migracji ludzi i czasu tych przemieszczeń po całym globie. Pozwala z DNA z małej kostki dłoni

wyrokować o życiu i wymarciu jednego z bliskich nam, ale odrębnego gatunku człowieka.

Każde z tych zastosowań przedstawia bogaty wachlarz propozycji badawczych, każde wiąże się z koniecznością modyfikacji uprzednio stosowanych procedur (koniecznością stałego kształcenia personelu) i często wprowadzeniu „do gry” nowych gałęzi nauki. Ważne publikacje współczesne często uzyskiwane są we współpracy prawdziwie globalnej, setek badaczy. Ten sposób publikacji zmienia też ich postać: większość danych wędruje w postaci plików, do odpowiednich baz danych, drukowane są w zasadzie tylko powody podjęcia pracy i końcowe wyniki z dyskusją (por. współczesne artykuły w *Nature* lub *Science*). Informacja naukowa gromadzona jest w formie elektronicznej i coraz szerzej publicznie udostępniana. Szczegółową analizę genomu można przeprowadzić nie ruszając się z wygodnego fotela przed ekranem komputera.

W ten sposób dotarliśmy do najważniejszej zmiany, która zaszła na przełomie wieków w omawianej dziedzinie: do zastosowań informatyki. Zaczęło się, jak już wspominałam od modelowania molekularnego. Dziś modeluje się procesy, cykle metaboliczne, często dzięki modelowaniu nauka wkracza w nowe rejony badań eksperymentalnych. Najpierw można stworzyć prawdopodobny model cząsteczek czy zjawisk, a dopiero potem zrobić odpowiednie doświadczenia. Modeluje się struktury komórkowe, organelle, błony, oddziaływania receptor-ligand, dzięki czemu nie tylko poznaje się złożone procesy komórkowe, ale także sugeruje możliwe punkty węzłowe do ingerencji doświadczalnej. Jest to szczególnie ważne w badaniach zmierzających do wyjaśnienia mechanizmów przebiegu chorób genetycznych i zakaźnych, co może prowadzić do nowych ich terapii. Informatyk mógłby spędzić życie na opracowywaniu cudzych danych i wyników, ponieważ często właśnie analiza danych jest wąskim gardłem całej procedury (na takiej granicy waha się np. możliwość obróbki wszystkich oznaczonych sekwencji DNA, których zbiory narastają bardzo szybko).

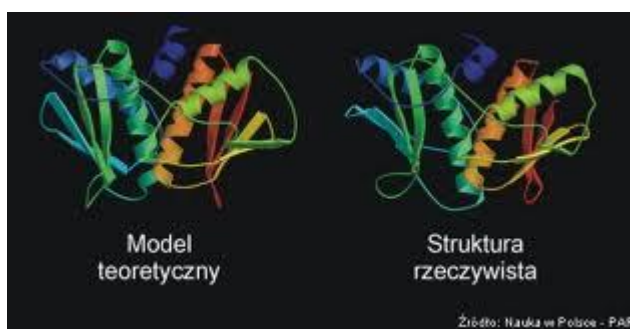
Począwszy od banków wielorakich danych, do których wysyła się, równoległe z publikacją, dane o sekwencjach monomerów lub o strukturze makrocząsteczek (często

warunek publikowalności), zastosowania informatyki są wielokierunkowe i niezbędne. Mieszczą się tu zbiory danych pozwalające na analizę (informatyczną) pokrewieństwa sekwencji (i w rezultacie organizmów), i pokrewieństwa struktur przestrzennych, też często uzyskanych na drodze modelowania komputerowego. W zakresie badań biopolimerów sukcesy odnieśli badacze struktur białkowych.

W organizmach żywych znajdują się miliardy różnych białek. Ponieważ pełnią one wiele ról, z których najważniejszymi wydają się katalityczna i strukturalna, zdobycie informacji o ich przestrzennej budowie jest warunkiem do poznania funkcji. Białka składają się z ok. 20 typów podjednostek, aminokwasów. Oznacza to, że np. dla małego białka 100-aminokwasowego istnieje  $10^{130}$  możliwości ułożenia sekwencji tych aminokwasów. To tylko matematyka – w rzeczywistości każde białko występuje w nielicznych, często jedynych trwałych strukturach, zwojach, determinowanych przez sekwencję aminokwasów. Co niestety nie oznacza, że znając sekwencję aminokwasów umiemy przewidzieć strukturę białka. Ten kierunek myślenia i badań stał się bardzo ważnym, ze względu na ogromne znaczenie praktyczne. Modelowanie przestrzenne białek, w którym badacze z Polski są czołową grupą na świecie, jest wiodącą obecnie metodą, wykorzystywaną powszechnie w przemyśle farmaceutycznym poszukującym nowych leków, bardzo często substancji oddziałujących specyficznie z określonym białkiem. Klasyczna procedura w tym zakresie mogła na przykład sprowadzać się do:

- identyfikacji docelowego enzymu, tego, którego np. uszkodzenie leży u podstaw choroby,
- wydzielenia i oczyszczenia tego enzymu (białka),
- uzyskania kryształu, w celu poznania struktury przestrzennej (metoda lokalizuje jądra atomów) i identyfikacji centrum aktywnego, z dokładnością do poszczególnych atomów,
- dopasowania do centrum aktywnego substratów i ewentualnych inhibitorów tego enzymu, w zależności od terapeutycznej potrzeby, w celu zaprojektowania leku celowanego, specyficznego do danej, zdefiniowanej reakcji enzymatycznej.

W niewielu przypadkach (liczonych w setkach) można było sprostać takim wymaganiom, całość procedur jest pracochłonna i czasochłonna, a także bardzo kosztowna. Wraz z rozwojem molekularnego modelowania struktur białkowych, opartego na znajomości struktury pierwszorzędowej (sekwencji aminokwasów) białka, porównaniach wielu białek podobnych do badanego, składaniu pełnej struktury ze struktur pośrednich i częściowych, rozwinęły się metody tworzenia modeli białek, często bardzo bliskich czy wręcz identycznych ze strukturą uzyskaną wg. powyższego protokołu. Słynny na świecie konkurs CASP odbywający się w Kalifornii co 2 lata polega na poszukiwaniu algorytmów pozwalających przewidzieć strukturę przestrzenną białek na podstawie sekwencji ich aminokwasów. Analizowane są białka, których struktury przestrzenne zostały już poznane doświadczalnie, ale nie opublikowane. Zwycięzcami zostają te osoby, którym uda się jak najbardziej przybliżyć swój model do prawdziwych danych dla największej liczby białek. W szóstej edycji konkursu (2005) wzięło udział prawie 250 grup badawczych z całego świata, na czele wyników znaleźli się naukowcy z Polski: A. Koliński Wydział Chemii UW, K. Ginalski z ICM UW oraz J. Bujnicki z MIBMK.



*K. Ginalski. Przykład teoretycznego modelowania białek wyobrażonych jak wstęgi o różnych strukturach lokalnych (beta kartki, alfa helisy.)*

Konieczne było rozwijanie metod równoległych, doświadczalnych, innych niż praca z kryształami. Istniejące obecnie podejścia alternatywne to głównie spektroskopie: jądrowego rezonansu magnetycznego (struktura trójwymiarowa w roztworze), absorpcyjna w zakresie podczerwieni (struktury lokalne), UV i emisyjna (odległości m.

cząsteczkami), dichroizmu kołowego (konformacja i udział odrębnych struktur w roztworze). Metodami hydrodynamicznymi określa się masę i kształt ogólny cząsteczek. Nie trzeba dodawać, że wszystkie podobne badania wymagają wyrafinowanej aparatury i matematycznego opracowania danych, a więc współpracy biologa z badaczami z zakresów chemii, fizyki, matematyki, informatyki.

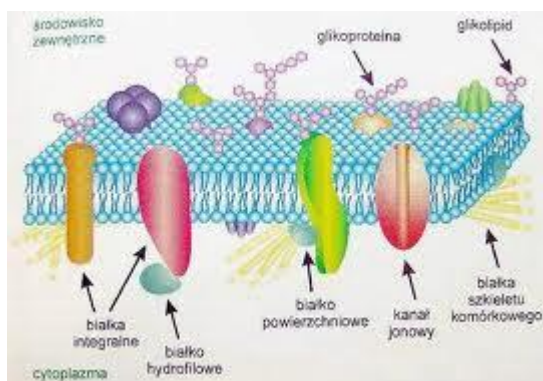
Jeszcze jedna struktura molekularna należąca do najtrudniejszych w badaniach, także wymaga analizy informatycznej, budowania modeli, komentarza zjawisk w nich zachodzących: są to błony wewnątrz i wokół komórki.

Gdy myślimy o żywych komórkach pamiętamy, że jednym z warunków powstania życia było utworzenie bariery, która chroniła by cenną, bogatą w cząsteczki organiczne zawartość komórki przed światem zewnętrznym, ale jednocześnie umożliwiała transport substancji z i do komórki, bo od transportu zależy cały metabolizm. Odrębne bariery powinny dzielić też komórkę na przedziały specjalizujące się w określonych funkcjach; np. jądro komórkowe jest przedziałem genetycznym, z niego wychodzą instrukcje do dalszego działania komórki. Błona musi być jednocześnie nie przepuszczalną i przepuszczalną.

Trudny to obiekt do badania. Początkowe pytanie brzmiało: czy istnieje ogólny model budowy błony? Na ten temat tworzono liczne i coraz bardziej szczegółowe hipotezy. Znamy ogólny charakter chemicznego składu błon: bogaty i różnorodny. Wielorakie pochodne tłuszczowe, o komponentach hydrofilowych i hydrofobowych, czasem udekorowane pochodnymi cukrów, stanowią główny składnik bariery komórka – środowisko. Związki lipidowe tworzą błonę dwuwarstwową, do jej wnętrza skierowane są części hydrofobowe, na zewnątrz, a więc w kierunku i środowiska i wnętrza komórki – części hydrofilowe. Takie błony tworzą się także spontanicznie w środowisku wodnym, do którego wprowadzi się lipidy – przypuszcza się, że tak powstały błony pra-komórkowe. Dzisiejsze błony dla niektórych substancji nie są w ogóle przepuszczalne: chemicy postulują, że w warunkach prebiotycznych polarność małych cząsteczek, wchodzących do pra-komórek była niższa niż to ma miejsce

obecnie. Wymiana substancji przez tamte błony była łatwiejsza, ale też mniej specyficzna.

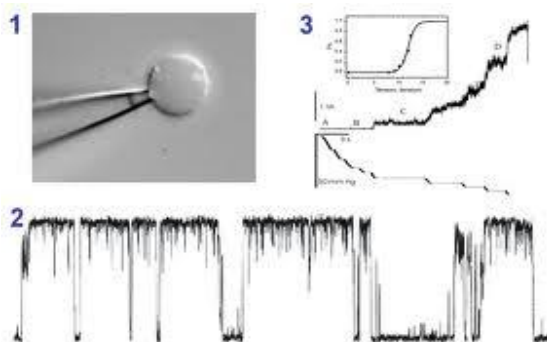
W skład błon komórkowych wchodzi także białka, które też mają regiony strukturalne o charakterze hydrofobowym i hydrofilowym. Trudno jest je krystalizować. Wymyślone techniki badań biopolimerów rozpuszczalnych w wodzie zazwyczaj zawodzą, z powodu dwoistej natury chemicznej białek błonowych. Białka te nie są raz na zawsze zakotwiczone w jednym rejonie błony: na jej powierzchni przemieszczają się, zmieniają pozycję. Taka sytuacja odpowiada też na pytanie o wybiórczość przepuszczalności błony, białka są często wrotami wpuszczającymi substancje do komórek, i wypuszczającymi do środowiska (tzw. kanały). Z trudem i niechętnie wpuszczają obce polimery. Często także transportują jony w obu kierunkach, są sterowane energetycznymi pompami (ATP-zależne). Z tej wiedzy ogólnej i ogólnikowej wynika oczywisty wniosek: poza wspólną budową dwuwarstwy, charakterystyczną dla wszystkich błon, muszą się one znacznie różnić w zależności od funkcji komórki, którą otaczają i roli, którą im w tej funkcji przyjdzie odegrać.



*Schematyczny obrazek budowy błony*

Badanie kanałów błonowych posunęła do przodu technika „patch-clamp” – wytворna, trudna i kosztowna. Technika ta umożliwia analizę pojedynczych kanałów „przepustowych”. Doprowadza się do trwałego kontaktu końcówki pipety szklanej (o średnicy około  $1\mu\text{m}$  i oporności kontaktu ponad  $10^9$  ohm) z badaną błoną i rejestruje prądy elektryczne przepływające przez przylegającą do pipety powierzchnię błony, przy

ustalonym napięciu między elektrodami pomiarowymi. Mała średnica otworu pipety sprawia, że pomiary dotyczą jednego, najwyżej paru kanałów. (Neher E., Sackmann B., nagroda Nobla z chemii, 1992).



*Stanowisko „patch-clamp” i obrazy rejestracji przepuszczalności kanałów dla jonów*

Na zakończenie pragnę zwrócić uwagę na jeszcze jedną dyscyplinę nauki (jeżeli ją uznać za naukę – zależy to od przyjętej definicji), która rozkwita dzięki postępom biologii molekularnej: filozofii i etyki. Obie te dziedziny mają szansę nadążyć za rozwojem biologii, podczas gdy np. prawo takiej szansy nie ma: zawsze ukazuje się z opóźnieniem i często próbuje skodyfikować sytuację, która tymczasem uległa radykalnym zmianom.

Etycy, którzy przypatrują się biologii molekularnej (nawet na siebie nazwę ukuli, bioetycy), przede wszystkim zwracają się ku wszelkim próbom modyfikacji genetycznej człowieka. Trzeba zatem zdefiniować życie, człowieka i osobę, dopuszczalne i zakazane pola ingerencji. Nieubłaganie wkracza tu także dziedzina, która nauką nie jest, czyli religijne zasady i wiara – wywołuje to szkodliwe spory na płaszczyźnie, która wspólną nie jest. Ustalanie takich definicji i pojęć od wielu już lat trwa na wielorakich konferencjach, forach dyskusyjnych i w literaturze. Etycy budzą świadomość legislatorów, ale ...patrz wyżej. Etycy także wypowiadają się w sprawach chronienia przyrody, modyfikacji genetycznych roślin i zwierząt, skutków działania biologii molekularnej w medycynie, weterynarii, hodowli roślin, farmacji, ekologii. Jedne

popierają, inne chcieli by zakazać. Nawet Europejski Trybunał Sprawiedliwości wypowiedział się w tym zakresie (2011), odradzając na gruncie etycznym prace z zarodkami ludzkimi, już od momentu zapłodnienia komórki jajowej. Etyczne zalecenia formułuje ONZ i UNESCO i wiele innych międzynarodowych organizacji.



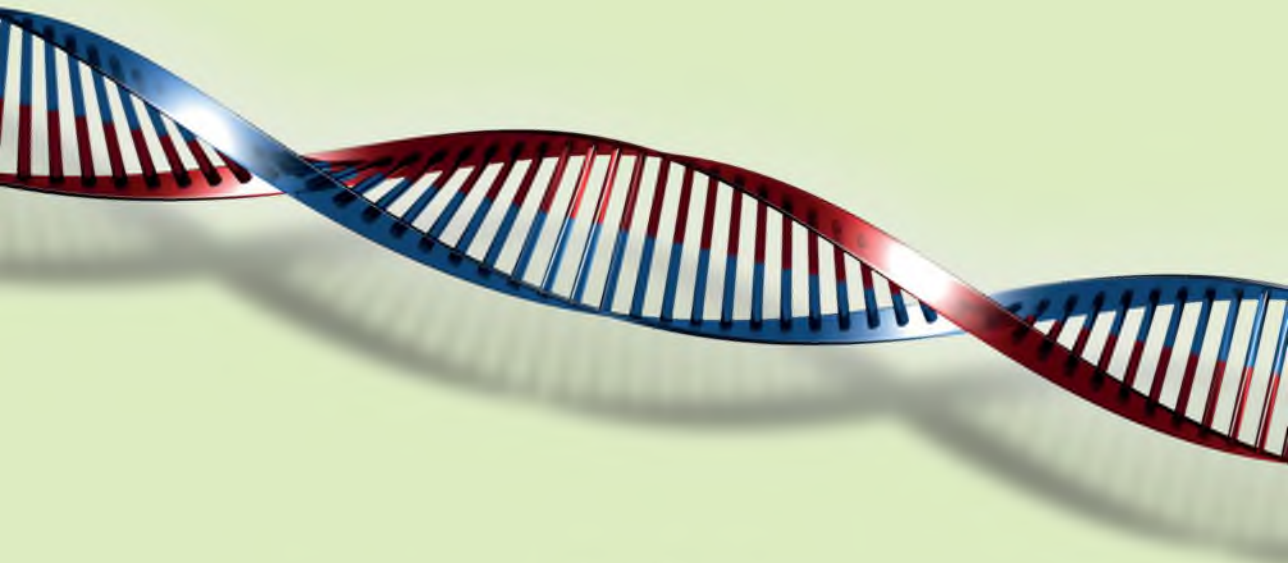
## **Literatura**

### **Podręczniki**

- 1) Biotechnologia zwierząt. Pod red. L. Zwierzchowskiego, K. Jaszczaka, J.A. Modlińskiego. PWN, 1997
- 2) Biotechnologia roślin. Pod red. S. Malepszego. PWN, 2001
- 3) Biologia molekularna w medycynie. Pod red. Jerzego Bala. PWN, 2001
- 4) DNA. Tajemnica życia. J.D. Watson, A. Berry. WAB, CIS, 2005
- 5) Bioetyka. B. Mephan. PWN, 2008

### **Do poczytania**

- 1) Opętani nauką. N. Angier, Prószyński i S-ka.
- 2) Makroświat, mikroświat i ludzki umysł. R. Penrose, Prószyński i S-ka, 1997
- 3) Klonowanie człowieka. Pod red. B. Chyrowicz. Tow. Naukowe KUL, 1999
- 4) Symbiotyczna planeta. L. Margulis. CIS, 2000
- 5) O pochodzeniu cnoty. M. Ridley. Rebis, 2000
- 6) Czerwona Królowa. M. Ridley. Rebis, 2001
- 7) O pochodzeniu mężczyzn. S. Jones. Rebis, 2002
- 8) Ponowny akt stworzenia. J. Wilmut, K. Campbell, C. Tudge. Rebis, 2002
- 9) Projekt życia. P. Bateson, P. Martin. Rebis, 2003
- 10) Kore. A. Szczeklik. Znak, 2007
- 11) Nauka po prostu. T. Rożek. Demart, 2011
- 12) Polityczne zwierzę. Krzysztof Szymborski. Biblioteka Polityki, 2011



Biuro Projektu  
„Praktyki pedagogiczne - kompetentnie, twórczo, przyjemnie”,  
Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach,  
Instytut Biologii, ul. Bolesława Prusa 12 pok. 39,  
08-110 Siedlce,  
tel./fax: (25) 643 13 80,  
[www. praktyki.uph.edu.pl](http://www.praktyki.uph.edu.pl)  
[praktyki@uph.edu.pl](mailto:praktyki@uph.edu.pl)

