

Emilia A. Korczmar¹,

dr Agnieszka Belter²✉,

prof. dr hab. Mirosława Z.
Naskręt-Barciszewska²,

prof. dr hab. Stefan Jurga³,

prof. dr hab. Jan
Barciszewski^{2,3}✉

¹Wydział Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza, Poznań,

²Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk, Poznań,

³Centrum NanoBioMedyczne, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań

https://doi.org/10.18388/pb.2021_393

✉ autorzy korespondujący: abelter@ibch.poznan.pl (A.B.), Jan.Barciszewski@ibch.poznan.pl (J.B.)

Słowa kluczowe: kwasy nukleinowe, RNA, informacyjny RNA, biosynteza białka, kod genetyczny

STRESZCZENIE

W 2021 roku mija 100 lat od identyfikacji kwasu rybonukleinowego (RNA) oraz 60 lat od odkrycia informacyjnego (ang. *messenger*) RNA i kodu genetycznego. Z okazji tego wyjątkowego jubileuszu pragniemy przypomnieć najważniejsze wydarzenia w historii kwasów nukleinowych, które doprowadziły do przełomowych odkryć. Wspominamy początek nowej ery w nauce spowodowany izolacją nukleiny, a następnie kwasu rybonukleinowego, którego składniki i właściwości były stopniowo poznawane, często przez mało znanych badaczy. Wyróżnienie RNA i DNA oraz analiza ich występowania w komórkach pozwoliły sformułować pierwsze wnioski dotyczące funkcji tych molekuł. Konkluzje dotyczące proporcji zasad azotowych w DNA doprowadziły do poznania struktury podwójnej helisy, wywołując lawinę pytań o istotę przekazywania informacji genetycznej. Odpowiedzi zaczęły nasuwać się wraz z odkryciem mRNA, a poznanie pierwszej trójki nukleotydów kodującej fenyloalaninę rozpoczęło wyścig o rozszyfrowanie kodu genetycznego. Powyższe odkrycia stanowią fundament biologii molekularnej. Diamentowy jubileusz zbiegł się z opracowaniem szczepionki przeciwko SARS-CoV-2 opartej o mRNA.

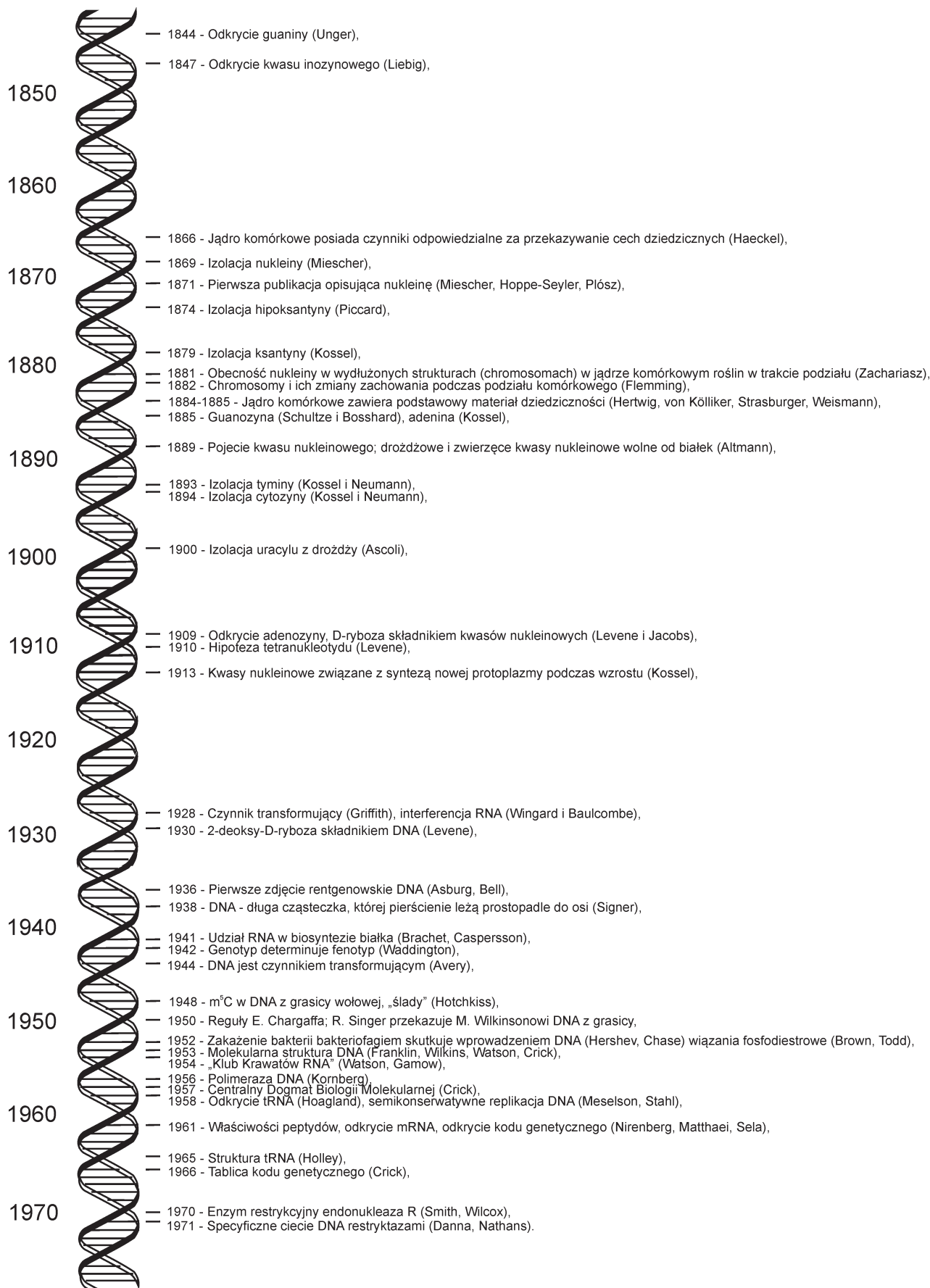
WPROWADZENIE

100 lat temu Phoebus Levene (Ryc. 1) wyodrębnił rybozę z kwasu nukleinowego, który nazwał kwasem rybonukleinowym (ang. ribonucleic acid, RNA). W 2021 roku mija również 60 lat od odkrycia informacyjnego RNA i pierwszej litery (fenyloalanina) kodu genetycznego. Z tym wyjątkowym jubileuszem zbiegło się opracowanie szczepionki przeciwko COVID-19, zawierającej mRNA białka kolca wirusa SARS-CoV-2. Powyższe fakty skłaniają do ponownego spojrzenia na kwasy nukleinowe, bez których ostatnie 150 lat biologii i medycyny nie byłoby ani tak fascynujące, ani inspirujące (Ryc. 2). Choć struktura i funkcja DNA i RNA są intensywnie badane i już stosunkowo dobrze znane, historia ich odkryć zawiera wiele zapomnianych wątków oraz interesujących bohaterów. Warto o nich przypomnieć, by mieć świadomość, że żyjemy w erze kwasów nukleinowych stworzonej przez uczonych, których dokonania zapisały się na kartach 100-letniej historii RNA.



Rycina 1. Phoebus A. T. Levene (1869-1940). Odkrywcą rybozy. Jako pierwszy rozróżnił kwas deoksyrybonukleinowy i rybonukleinowy oraz nadał im obowiązujące do dziś nazwy. Twórca hipotezy tetranukleotydu.

Od zarania dziejów badacze na całym świecie zadawali pytania dotyczące życia: Czym jest życie? Jak ono powstaje? Czy istnieje „instrukcja” tworzenia organizmów? Jeżeli tak, to gdzie się ona znajduje? Wraz z rozwojem nauki pojawiały się dalsze wskazówki prowadzące do zgłębiania tych tajemnic. Nowa wiedza rodziła kolejne pytania. Dzisiaj wiemy, że druga połowa XIX wieku była wyjątkowo bogata w nowatorskie koncepcje i odkrycia, które zapoczątkowały przełom w nauce. W 1859 roku Charles Darwin w pracy *O powstawaniu gatunków* po raz pierwszy sformułował teorię ewolucji, której podstawą jest dziedziczność oraz zmienność cech [1]. W kolejnej dekadzie światło dzienne ujrzały badania Gregora Mendla, który analizując dziedziczenie cech u grochu zwyczajnego zdefiniował podstawowe zasady genetyki. Równoległy rozwój mikroskopii pozwolił nie tylko oglądać wnętrza komórki, ale umożliwił odkrycie jądra komórkowego,



Rycina 2. Najważniejsze odkrycia w obszarze kwasów nukleinowych przedstawione w skali czasu DNA (jeden skręt podwójnej helisy zawiera dziesięć par zasad i oznacza dziesięć lat), zaczynając się pierwszymi informacjami o składnikach kwasów nukleinowych. Ten etap badań RNA kończy się poznaniem enzymów restrykcyjnych, czyli powstaniem inżynierii genetycznej.

dzięki czemu w 1866 roku Ernst Haeckel stwierdził, że zawiera ono czynniki odpowiedzialne za przekazywanie cech dziedzicznych, będących wspomnianą wcześniej „instrukcją” [2]. Powyższe odkrycia były ważnym impulsem dla dalszego rozwoju nauki.

NOWA SUBSTANCJA

Niewątpliwie przełomowe było wyodrębnienie przez Friedricha Mieschera nieznaną wcześniej substancji – nukleiny. Odkrycie nukleiny nie było przypadkowe, lecz wynikało ze świadomych poszukiwań chemicznego wyjaśnienia różnic między strukturami biologicznymi. Zanim informacja o nowej substancji stała się powszechnie znana, Friedrich Miescher badał nukleinę samotnie, starając się udoskonalić metodę jej izolacji. Historia ta zaczęła się zimą na przełomie 1868/1869. Dwudziestoczteroletni lekarz Friedrich Miescher, pracujący wówczas na Uniwersytecie w Tybindze pod okiem Felixa Hoppe-Seylera – pioniera chemii fizjologicznej, interesował się składem płynów ustrojowych. Badał skład chemiczny leukocytów z ropy pochodzącej od pacjentów z pobliskiej kliniki. W tym czasie nie stosowano jeszcze antyseptyków zapobiegających infekcjom gojących się ran, a sekrecja ropy uznawana była za istotny proces gojenia. Dzięki temu Miescher miał dostęp do dużych ilości ropy, z której izolował nukleinę. Wyjątkowo pomocne okazały się być również ówczesne bandaże z bawełny, wynalazone przez Viktora von Bruns, chirurga z kliniki w Tybindze. Opatrunki te były niezwykle chłonne i sterylne, co pomogło uzyskać znaczne ilości stosunkowo czystych leukocytów. Komórki badane przez Mieschera charakteryzowały się obecnością dużych jąder oraz brakiem macierzy zewnątrzkomórkowej, co sprzyjało procesowi izolacji nukleiny [3].

Friedrich Miescher wykonał analizę elementarną nukleiny i wykazał, że była ona bogata w fosfor i azot, nie zawierała siarki oraz była odporna na działanie enzymów hydrolitycznych. Ponadto nie rozpuszczała się ona w rozpuszczalnikach organicznych i kwasach, lecz była łatwo rozpuszczalna w zasadach. F. Miescher kontynuował swoje badania na komórkach wątroby, jąder, nerek, jądrzastych erytrocytach oraz drożdżach, a także zaobserwował różnice w proporcjach nukleiny i białek w komórkach będących w różnym stadium cyklu. Wyniki badań zostały opublikowane w 1871 roku po ich nieformalnej weryfikacji przez Felixa Hoppe-Seylera [4]. Równoległe inny uczeń Hoppe-Seylera, Pal Plósz, zaobserwował obecność nukleiny w jądrzastych erytrocytach ptaków i węży oraz wykazał brak tego związku w bejądrzastych erytrocytach wołowych [5].

Dalsze badania nukleiny pozyskiwanej ze spermy łosia F. Miescher kontynuował na uniwersytecie w rodzinnej Bazylei. Wybór tego materiału badawczego spowodowany był faktem, że w odróżnieniu od innych kręgowców, preparat ten jest ubogi w białka. Mimo to, otrzymywanie nukleiny o wysokim stężeniu i jakości wymagało wiele pracy. F. Miescher prowadził jej izolację w niskiej temperaturze, głównie w okresie zimowym, by zapobiec degradacji. Dlatego właśnie F. Miescher wielokrotnie łowił świeżego łosia w Renie w nocy, by następnie przez długie godziny pracować w laboratorium przy otwartych oknach, zapewniając niską

temperaturę w pomieszczeniu. Dzięki temu udało się wyizolować nukleinę o wysokiej czystości i jakości oraz nieświadomie zapoczątkować nową erę w nauce [3].

ELEMENTY STRUKTURY KWASU NUKLEINOWEGO

Praca F. Mieschera spotkała się z dużym entuzjazmem oraz różnorodnymi pytaniami o strukturę i funkcje nukleiny [4]. Warto wspomnieć, że niektóre składniki kwasów nukleinowych zostały odkryte już dwie dekady wcześniej. Pierwszą zasadę azotową (guaninę) wyizolował w 1844 roku Julius Bodo Unger [6]. Trzy lata później Justus von Liebig wyodrębnił kwaśną substancję z ekstraktu mięśni wołowych, kwas inozynowy, którego nazwa pochodzi od greckiego słowa *inos* – włókno [7]. Był to pierwszy zidentyfikowany nukleozyd purynowy. Dziś, ze względu na swoje właściwości przeciwwirusowe, inozyna jest wykorzystywana jako lek. Julius Piccard wyizolował hipoksantynę z jąder plemników [8]. W 1881 Eduard Zacharias zauważył, że chromosomy, podobnie do nukleiny, są odporne na działanie pepsyny, natomiast w alkalicznych roztworach chromatyna ulegała rozpuczeniu [9]. Te obserwacje doprowadziły Walthera Flemminga do wniosku, że chromatyna i nukleina to te same substancje [10]. Friedrich Miescher podejrzewał, że ze względu na wysoką zawartość fosforu nukleina jest prekursorem lecytyny, która była wówczas intensywnie badana. Zauważył on także, iż nukleina może odgrywać ważną rolę w procesach dziedziczenia ponieważ jest ona ściśle związana z jądrem komórkowym [3]. Badania przeprowadzone w latach 1884-1885 pokazały, że jądro komórkowe zawiera podstawowy materiał dziedziczości [10,11].

Kontynuatorem badań komórkowych Friedricha Mieschera był Richard Altmann, urodzony w 1852 roku w Eylau (dzisiejsza Iława). Obaj badacze spotkali się w Instytucie Fizjologii Uniwersytetu w Lipsku, dokąd Altmann przybył po obronie doktoratu na uniwersytecie w Giessen, pod kierunkiem słynnego Justusa von Liebiga. R. Altmann udoskonalił procedurę oczyszczania nukleiny, a następnie oddzielił część białkową, składającą się z protamin i histonów oraz część kwasową, którą w 1889 roku nazwał kwasem nukleinowym [12]. Friedrich Miescher nie był zwolennikiem nowej terminologii, ponieważ uważał, iż kwas nukleinowy jest w istocie tą samą substancją, co odkryta przez niego nukleina, o czym przekonywał między innymi w liście do swojego wuja, Wilhelma Hisa. Ostatecznie okazało się, że metody wprowadzone przez Richarda Altmanna były przełomowe, gdyż umożliwiały uzyskanie preparatów kwasów nukleinowych wolnych od białek, a tym samym pozwoliły przeprowadzać bardziej wnikliwe analizy [3]. Nukleinę interesował się również Albrecht Kossel z grupy Hoppe-Seylera. Poszukiwał on zależności między budową chemiczną a właściwościami biologicznymi związków występujących w organizmach żywych [13]. Głównym obiektem jego badań było jądro komórkowe. W 1885 roku Albrecht Kossel wyizolował z trzustki adeninę, a kilka lat później zidentyfikował kolejne składniki: kwas fosforowy, węglowodany oraz guaninę. Wyniki tych badań zostały zaprezentowane w 1891 roku na konferencji Towarzystwa Fizjologicznego w Berlinie. W 1893 roku A. Kossel wraz z Albertem Neumannem wyodrębnili tyminę oraz zidentyfikowali cytozynę rok

później [14,15]. Z kolei włoski chemik Alberto Ascoli w 1900 roku wyizolował uracyl z komórek drożdży [16]. Pod koniec XIX stulecia po raz pierwszy odkryto metylowany nukleotyd w kwasie nukleinowym prątków gruźlicy. Była to 5-metylocytozyna (5mC), której istnienie jednoznacznie potwierdzono niemal pół wieku później [17,18]. Od lat 70. XX wieku 5mC jest uznawana za główny znacznik epigenetyczny. Tak więc na początku dwudziestego stulecia były już znane wszystkie „cegiełki” budujące kwasy nukleinowe, co stanowiło solidną podstawę do dalszych badań i rozważań dotyczących ich budowy i funkcji.

DWA KWASY NUKLEINOWE

Intensywne badania kwasów nukleinowych uwidoczniły różnice pomiędzy cząsteczkami wyizolowanymi z różnych organizmów. Wyodrębniono kwas „tymonukleinowy”, pozyskiwany z tkanek zwierzęcych, oraz drożdżowy kwas nukleinowy, znany również jako kwas „fitonukleinowy”, charakterystyczny dla roślin. Dalsze odkrycia w zakresie kwasów nukleinowych rozwijały się dynamicznie dzięki Phoebusowi Levene. Urodził się on 25 lutego 1869 roku w miejscowości Sagor w dawnym Imperium Rosyjskim (dziś terytorium Litwy), a więc w tym samym okresie czasie, w którym Friedrich Miescher po raz pierwszy wyizolował nukleinę [16]. Phoebus Levene opracował nową metodę izolacji RNA w niskim pH i bez alkoholu, dzięki czemu uzyskiwano produkty hydrolizy o wysokiej czystości [7]. W ten sposób otrzymano, a następnie określono strukturę nukleotydów. W 1909 roku Phoebus Levene ustalił jedną z podstawowych różnic pomiędzy dwoma rodzajami kwasów nukleinowych. W „roślinnym” zidentyfikował uracyl, zaś w „zwierzęcym” – tyminę [20]. W tym samym roku zauważył, że cukier występujący w drożdżowym kwasie nukleinowym jest D-rybozą [21], a także zasugerował, iż ten cukier występuje we wszystkich kwasach nukleinowych. P. Levene wykazał, że ogrzewanie drożdżowego kwasu nukleinowego w środowisku alkalicznym spowodowało degradację, natomiast kwas tymonukleinowy był stabilny w tych warunkach [22]. W 1914 roku Walter Jones, współpracownik Albrechta Kossela, stwierdził, iż ryboza jest charakterystyczna dla roślinnych kwasów nukleinowych, natomiast w zwierzęcych kwasach nukleinowych występuje inny cukier [23]. W 1930 roku Phoebus Levene pokazał, iż cukrem wchodzącym w skład kwasu „tymonukleinowego” jest 2-deoksy-D-ryboza [24]. Cząsteczki kwasów nukleinowych uzyskały nowe i jednoznaczne nazwy, które obowiązują do dziś: kwas rybonukleinowy zawierający D-rybozę (ang. ribonucleic acid, RNA) i kwas deoksyrybonukleinowy, zawierający D-deoksyrybozę (ang. deoxyribonucleic acid, DNA).

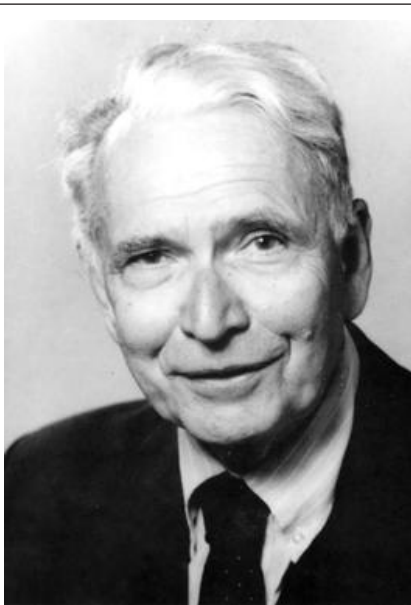
Mimo tych ustaleń wciąż uważano jednak, iż DNA występuje tylko w tkankach zwierzęcych, zaś RNA jest charakterystyczny dla tkanek roślinnych. Pogląd ten ostatecznie zmienił Jean Brachet, belgijski biochemik, który mając zaledwie 22 lata zauważył rozbieżność między własnymi obserwacjami a informacjami zawartymi w literaturze [25]. W 1939 roku opracował on metodę identyfikacji RNA w komórkach, dzięki której wykazał, że oba kwasy nukleinowe występują w komórkach zarówno roślinnych jak i zwierzęcych. Określił on także lokalizację oraz ilość DNA i RNA

w komórce. Wykazał, że zawartość DNA w komórkach tego samego gatunku jest stała, natomiast ilość RNA różni się w zależności od typu tkanki [26]. Jean Brachet dostrzegł również korelację pomiędzy zawartością RNA oraz syntezą białek. Wyróżnił ponadto dwa typy chromatyny: formę „luźną” (euchromatynę) oraz skondensowaną (heterochromatynę). Dziś wiemy, że te dwie formy są ściśle związane z ekspresją genów. Jean Brachet zaproponował, że DNA jest nośnikiem informacji dotyczących białek, zaś RNA bierze udział w ich syntezie. Do podobnych wniosków niemal równocześnie doszedł Torbjörn Caspersson ze Sztokholmu [27]. Jean Brachet sugerował, że relacja pomiędzy DNA, RNA i białkiem nie polega na chemicznym przekształceniu jednego związku w drugi. Z jego analiz wynikało, iż DNA pełni istotną rolę w powstawaniu RNA, który to z kolei uczestniczy w syntezie białek. Był to faktycznie pierwszy zarys centralnego dogmatu biologii molekularnej z 1942 roku, choć jego pełną formę przedstawił Francis Crick piętnaście lat później, w 1957 roku podczas wykładu na University College w Londynie [28].

OD FUNKCJI DO STRUKTURY

Rozwój organizmów zawsze fascynował badaczy i dlatego jedną z najstarszych gałęzi biologii jest embriologia. Obserwacje embriologów wywoływały nurtujące pytania, na które nie można było odpowiedzieć, bez odniesienia się do kwasów nukleinowych, np. skąd komórka „wie”, że ma stać się częścią wątroby, a nie nerki? Ówczesne metody badawcze nie pozwalały odpowiedzieć na takie pytania ze względu na powolny rozwój embriologii. Geny wówczas nie stanowiły głównego obiektu zainteresowań embriologów, ponieważ zakładano, że każda komórka zawiera ten sam materiał genetyczny, a kwasy nukleinowe nie mogą być źródłem zmienności. W związku z tym przez wiele lat istniała przepaść pomiędzy genetyką a embriologią. Conrad Hal Waddington połączył te dwie gałęzie biologii, wprowadzając termin „epigenetyka”, który tłumaczy interakcje pomiędzy genami i ich produktami, które prowadzą do powstania fenotypu [29]. Dla przypomnienia genetyka zajmuje się znanymi genami nieznanymi produktami, biochemia analizuje znane produkty nieznanymi genami, a biologia molekularna bada znane produkty znanych genów. Faktyczne zjawisko epigenetyki zauważono już w 1928 roku [30]. U roślin zakażonych wirusem pierścieniowej plamistości tytoniu, młode liście wytworzyły odporność na wirusa. Przyczyna tego zjawiska była nieznaną i dopiero pod koniec XX wieku jednoznacznie potwierdzono, iż istotą tego procesu jest interferencja RNA, polegająca na wyciszaniu ekspresji genów przez dwuniciowe RNA [31,32].

Droga do rozwikłania struktury i funkcji kwasów nukleinowych, nie była ani prosta, ani łatwa. Przez niemal czterdzieści lat w świecie nauki dominowała hipoteza tetranukleotydowa, sformułowana przez Phoebusa Levene. Proponował on, że cząsteczki kwasu nukleinowego są zbudowane z powtarzających się zestawów czterech nukleotydów, dzięki czemu każda cząsteczka zawiera równe ilości adeniny, tyminy, cytozyny i guaniny. Po obaleniu tej hipotezy, niektórzy badacze nazwali ją „naukową katastrofą” i „absurdalnym przykładem nadmiernego uproszczenia”, ponieważ gdyby model ten był zgodny z rzeczywistością, DNA nie



Rycina 3. Erwin Chargaff (1905–2002). Autor praw dotyczących zawartości zasad azotowych w DNA, nazwanych później regułami Chargaffa. Wykazał, że kompozycja zasad DNA różni się między gatunkami, czyli stosunek (A+T)/(G+C) jest różny u różnych gatunków.

badania nad strukturą DNA zainspirowane były dwiema słynnymi wówczas i dziś publikacjami. Jedną z nich to esej naukowy *Czym jest życie?* z 1944 roku autorstwa Erwina Schrödingera [33]. Sugerował on, że w chromosomach zakodowany jest pewien rodzaj instrukcji determinującej cechy organizmu. Druga praca, która ukierunkowała tor myślenia nie tylko Erwina Chargaffa, ale i wielu innych, jest autorstwa Oswalda Avery'ego. Jego eksperymenty z 1944 roku rzuciły nowe światło na funkcję DNA i stanowiły zwieńczenie badań prowadzonych kilkanaście lat wcześniej przez Fredericka Griffitha. W 1928 roku pokazał on, że istnieje „pewien czynnik transformujący”, dzięki któremu możliwe jest przenoszenie właściwości pomiędzy bakteriami. W 1944 roku Oswald Avery wykazał, iż czynnikiem tym jest DNA [34]. Z tego wynika, że funkcja kwasu deoksyrybonukleinowego była znana wcześniej, niż jego dokładna struktura. Po wielu latach w autobiografii Erwin Chargaff przyznał że: „Avery dał nam pierwszy tekst w nowym języku lub raczej pokazał nam, gdzie go szukać. Postanowiłem poszukać tego tekstu” [35]. Erwin Chargaff, w 1950 roku, analizując DNA z różnych tkanek pochodzących z tego samego gatunku, dostrzegł przewagę zasad A i T w stosunku do G i C. Była to pierwsza wskazówka, że hipoteza tetranukleotydomowa jest błędna. Biorąc pod uwagę fakt, że kwas deoksyrybonukleinowy jest nośnikiem informacji genetycznej i determinuje cechy organizmów, Erwin Chargaff zaczął szukać różnic pomiędzy DNA różnych gatunków. Okazało się, że proporcje zasad DNA są takie same wewnątrz jednego gatunku, ale różnią się między gatunkami. Badania te doprowadziły ostatecznie do konkluzji zwanych „Regułami Chargaffa”: 1) ilość zasad purynowych jest równa ilości zasad pirymidynowych, 2) ilość guaniny jest równa ilości cytozyny, 3) ilość adeniny jest równa ilości tyminy [36].

mógłby być nośnikiem informacji genetycznej. Ponieważ funkcję tę przypisywano białkom, hipoteza tetranukleotydomowa przez długi czas nie wzbudzała krytycznych analiz [7].

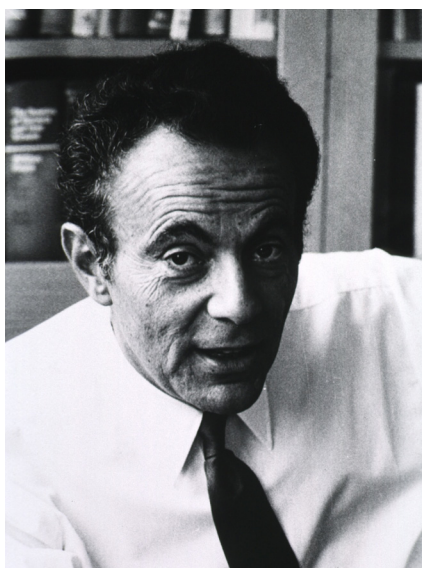
Pod koniec lat 40. XX wieku prowadzono badania mające na celu zweryfikowanie hipotezy tetranukleotydomowej. Kluczowymi okazały się dokonania Erwina Chargaffa (Ryc. 3), urodzonego w Czerniowcach, na terenie dzisiejszej Ukrainy. Jego

Obserwacje Erwina Chargaffa doprowadziły do odkrycia zasady komplementarności w DNA, o których opowiedział Jamesowi Watsonowi i Francisowi Crickowi w 1952 roku [37], którzy kilka miesięcy później, 28 lutego 1953 roku, ogłosili w klubie „Eagle” w Cambridge rozwiązanie tajemnicy życia – struktury DNA opartej właśnie o zasadę komplementarności. Według niej w DNA adenina zawsze łączy się z tyminą, a cytozyna z guaniną. Istotny wkład w poznanie molekularnej struktury DNA miało również wielu innych, często zapomnianych naukowców. Pierwsze zdjęcia rentgenowskie DNA otrzymała już w 1936 roku Florence Bell, która dwa lata później opisała w *Nature* strukturę kwasu deoksyrybonukleinowego jako „stos groszy” [38]. Choć ten model nie był poprawny, zastosowana technika umożliwiła poznanie struktury DNA kilkanaście lat później. W 1952 roku Aleksander Todd wykazał, że nukleotydy są połączone wiązaniami fosfodiesterowymi [39]. Z kolei szwajcarski chemik, Rudolf Signer, już w 1938 roku scharakteryzował DNA pozyskany z grasicy cielęcej jako długą cząsteczkę, której pierścienie ułożone są prostopadle do jej osi [40]. Rola Rudolfa Signera w dalszych odkryciach była ogromna, niedoceniona i zapomniana. Dysponował on wyjątkowo czystym preparatem DNA, który udostępnił Maurice Wilkins'owi z King's College w Londynie, na których Rosalind Franklin i Raymond Gosling wykonali dyfrakcję promieni X na DNA i sformułowali wniosek, iż DNA ma strukturę helikalną [41]. W 1953 roku w *Nature* pojawiły się trzy publikacje na temat struktury DNA: autorstwa Watsona i Cricka [42], Wilkins, Stokes i Wilson [43] oraz Franklin i Goslinga [44], ale dokładny model molekularny DNA został opisany przez Francis Cricka i Jamesa Watsona [42], za który wraz z Maurice Wilkinsem otrzymali oni Nagrodę Nobla w 1962 roku. W związku z tym, Erwin Chargaff napisał do naukowców na całym świecie o swoim wykluczeniu [45]. Dla odkrycia struktury podwójnej helisy DNA kluczowe znaczenie miało zdjęcie nr 51 wykonane przez Rosalind Franklin, która zmarła z powodu raka jajnika cztery lata przed przyznaniem Nagrody Nobla za odkrycie struktury DNA [46].

CZĄSTECZKA X - mRNA

Publikacja Jamesa Watsona i Francis Cricka niemal natychmiast wywołała lawinę pytań o istotę przekazywania informacji genetycznej. Latem 1953 roku George Gamow, fizyk rosyjskiego pochodzenia, zaproponował mechanizm powstawania białka bezpośrednio na matrycy DNA [47], jednak Francis Crick odrzucił ten model między innymi dlatego, iż nie uwzględniał RNA. Przekonanie o roli kwasu rybonukleinowego jako pośrednika między DNA a białkami wyrazili już w latach 40. wspomniani wcześniej Jean Brachet i Torbjörn Caspersson. Do podobnych wniosków doszedł także Andre Boivin [48], który był jednym z pierwszych entuzjastów obserwacji Avery'ego, że DNA jest materiałem dziedzicznym. W 1950 roku, Raymond Jeener zasugerował, że biosynteza białek zachodzi poza jądrem komórkowym [49]. Jeżeli białko powstaje w innym miejscu niż DNA, pojawiło się pytanie o to, w jaki sposób informacja na temat składu białka wydostaje się z jądra. Raymond Jeener z Uniwersytetu w Brukseli zasugerował, że RNA powstaje w jądrze komórkowym, po czym w postaci małych cząsteczek prze-

dostaje się do cytoplazmy, gdzie łączy się z „cząstkami cytoplazmatycznymi o dużych rozmiarach” [49]. Dziś wiemy, że tymi cząstkami są rybosomy – kompleksy białek i RNA, zbudowane z dwóch podjednostek (małej 40S i dużej 60S), uczestniczące w procesie biosyntezy białka. Po raz pierwszy zaobserwował je Albert Claude w 1942 roku. Sugerował on, iż struktury te, nazwane przez niego „mikrosomami”, mogą być zaangażowane w proces glikolizy beztlenowej. Rumuńsko-amerykański biolog George Emil Palade zaobserwował je na powierzchni retikulum endoplazmatycznego. Była to wskazówka dla kolejnych naukowców, którzy podjęli wyzwanie oczyszczenia i scharakteryzowania „mikrosomów”. W latach 50. XX wieku zakładano, że obecny w tych strukturach kwas rybonukleinowy stanowi szablon, na podstawie którego aminokwasy łączą się w łańcuchy białkowe. Aby podkreślić znaczenie RNA, w 1958 roku Howard Dintzis zaproponował obowiązujący do dziś termin „rybosom”, który po raz pierwszy pojawił się w publikacji Richarda Robertsa pięć lat później [50,51].



Rycina 4. Francois Jacob (1920–2013) i Jacques L. Monod (1910–1976). Odkrywczy mRNA oraz pomysłodawcy obowiązującej do dziś nazwy - „informacyjny RNA” (messenger RNA, mRNA).

Wkrótce okazało się, że rola RNA w biosyntezie białka jest większa, niż wcześniej zakładano. W 1957 roku Crick zaproponował pojęcie „adaptor”, czyli cząsteczki pośredniczącej pomiędzy DNA a aminokwasami. Funkcję tę miałyby pełnić cząsteczka RNA, która specyficznie wiązałyby aminokwas i przenosiła na odpowiednie miejsce do innego, „matrycowego RNA”, odpowiedzialnego za kolejność ułożenia aminokwasów w białku [52]. Mahlon Hoagland i Paul Zamecnik wykorzystali system bezkomórkowy, który umożliwiał tworzenie wiązań peptydowych pomiędzy aminokwasami piętnowanymi izotopem ^{14}C . Zauważyli, że część RNA w cytoplazmie przylącza

^{14}C -aminokwasy, w wyniku czego cząsteczki RNA są zdolne do ich przenoszenia. W ten sposób Mahlon Hoagland i Paul Zamecnik odkryli zaproponowany przez Cricka „adaptor” dowodząc, że RNA (nazwany później transferowym RNA, ang. transfer RNA), pełni rolę pośrednika dostarczającego aminokwasy podczas biosyntezy białka [53].

Dalsze badania doprowadziły do ustalenia w jaki sposób informacja zawarta w DNA jest aktywowana i przekazywana, dzięki czemu organizmy mogą pełnić funkcje życiowe. Było oczywiste, że pomiędzy światem kwasów nukleinowych, a światem białek musi istnieć zależność, pozwalająca na przepływ informacji. Pierwsza sugestia, iż geny „produkują” cząsteczki informacyjne, powstała w Instytucie Pasteura w Paryżu. W 1957 roku Arthur Pardee, Francois Jacob i Jacques Monod (Ryc. 4) analizowali genetyczne podstawy indukcji ekspresji, w wyniku której bakterie syntetyzują β -galaktozydazę, enzym rozkładający laktozę znajdującą się w podłożu hodowlanym. Zmutowane bakterie *lac*- nie były zdolne do namnażania się na pożywce zawierającej laktozę, ponieważ nie posiadały one genu z^+ kodującego enzym β -galaktozydazę. Gdy bakterie uzyskały gen z^+ w wyniku transformacji, syntetyzowały β -galaktozydazę w ciągu kilku minut. Efekt ten oznaczał, że wprowadzenie genu wyzwoliło natychmiastowy sygnał chemiczny, który katalizował biosyntezę białka u bakterii [54]. Poszukiwania tajemniczej cząsteczki informacyjnej, nazywanej „cząsteczką X”, stało się głównym celem paryskich badaczy, którzy również współpracowali z Francisem Crickiem i Jamesem Watsonem z Cambridge. Tematyka badań obu grup pozornie różniła się, gdyż brytyjscy badacze starali się rozwikłać kod genetyczny, natomiast zainteresowania naukowców z Paryża dotyczyły regulacji genetycznej. Te dwa punkty widzenia spotkały się wieczorem 15 kwietnia 1960 roku, podczas nieformalnej rozmowy w gabinecie Sydney Brennera w King’s College. Gdy Francois Jacob charakteryzował potencjalną rolę cząsteczki X, Francis Crick i Sydney Brenner natychmiast zdali sobie sprawę z istoty odkrycia i w trakcie emocjonalnej dyskusji usiłowali przekazać tę dobrą nowinę swoim gościom [55]. Okazało się, iż cząsteczka X była poznana już kilka lat wcześniej. W 1956 roku dwaj amerykańscy naukowcy, Elliot (Ken) Volkin i Lazarus Astrachan, dostrzegli nieznanne wcześniej zjawisko. Infekcja bakterii *Escherichia coli* bakteriofagiem prowadziła do powstania nowej frakcji RNA o małej trwałości [56]. Z czasem wykazano, że sekwencja zasad nowopowstałego RNA nie tylko różni się od rybosomowego RNA *E. coli*, ale również odpowiada sekwencji DNA bakteriofaga użytego do infekcji [57]. Francis Crick i Sydney Brenner uświadomili sobie, że tajemnicza cząsteczka X jest tym samym, co nietrwała frakcja RNA wyizolowana przez Elliota Volkina i Lazarusa Astrachana. Jesienią 1960 roku Francois Jacob i Jacques Monod nadali cząsteczce X nazwę obowiązującą do dziś - „informacyjny RNA” (ang. messenger RNA, mRNA). Jacob, Brenner i Meselson wysłali swoją publikację do *Nature*. Ponieważ James Watson doszedł do tych samych wyników, poprosił Sydney Brennera o wstrzymanie się z publikacją, aby artykuły obu zespołów ukazały się równocześnie. W efekcie obie prace zostały opublikowane 13 maja 1961 roku, w których po raz pierwszy opisano cząsteczkę informacyjnego RNA [55,58,59].

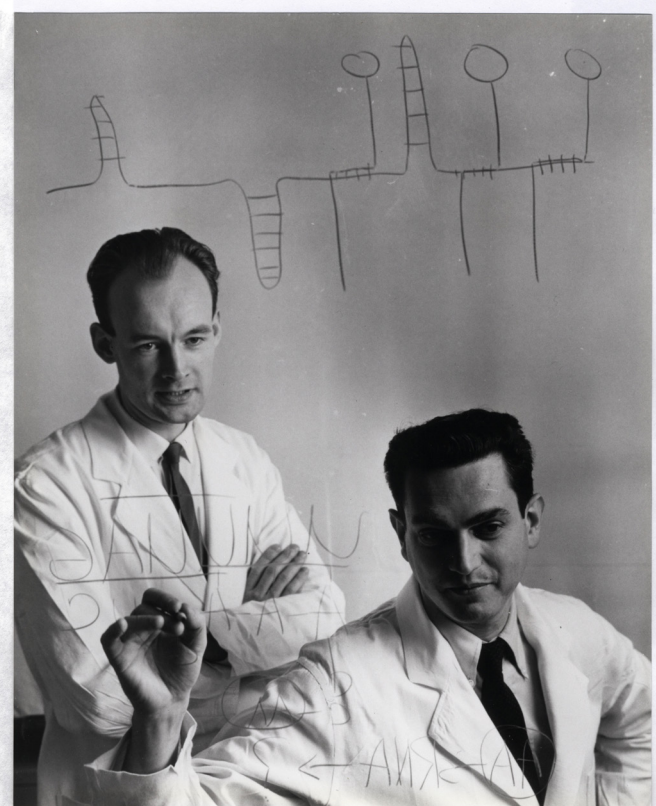
PRZEPIS NA BIAŁKO

Wprowadzenie nazwy „messenger RNA” świadczyło o zmianie pojmowania funkcji tego typu kwasu rybonukleinowego. Na pierwszym planie znalazła się rola informacyjna - treść cząsteczki, a nie jej forma. Francis Crick porównał mRNA do taśmy magnetycznej, której treść odczytywana jest przez „magnetofon”, czyli rybosom, co prowadzi do powstania białka [55]. Wszystkie elementy zaczęły składać się w całość, ale wciąż brakowało wytłumaczenia, co leży u podstaw biosyntezy białka, czyli kodu genetycznego. Zdawano sobie sprawę, że sekwencja zasad określa poszczególne aminokwasy, lecz sposób działania kodu pozostawał niewyjaśniony.

Pierwsze próby rozwikłania tej zagadki zostały podjęte jeszcze przed odkryciem mRNA. W 1954 roku James Watson i George Gamow stworzyli „Klub Krawatów RNA” (The RNA Tie Club). Liczba członków klubu odpowiadała 20 białkowym aminokwasom. Każdy z nich posiadał krawat z wyhaftowaną zielono-żółtą helisą RNA. Kluczowym elementem krawatu była złota spinka z trzyliterowym skrótem aminokwasu (na przykład: Watson - Pro, Crick - Tyr, Chargaff - Lys itp.). Ciekawostką może stanowić fakt, że Gamow nosił swoją spinkę z symbolem alaniny (ALA) na różne okazje, wywołując pytania o nieprawidłowe inicjały [60].

Głównym celem Klubu Krawatów RNA było ustalenie ile zasad koduje pojedynczy aminokwas. Liczba kombinacji dwójkowych dla czterech zasad azotowych jest zbyt mała (4^2), co pozwoliłoby na uzyskanie jedynie szesnastu aminokwasów. Zatem liczba nukleotydów kodujących pojedynczy aminokwas nie może być mniejsza niż trzy, co daje minimum 64 kombinacje. W tym miejscu zrodziło się pytanie o nadmiar informacji - skoro istnieją aż 64 kombinacje dla dwudziestu aminokwasów, pojawiła się myśl, iż kod genetyczny jest zdegenerowany, co oznacza, że jeden aminokwas może być kodowany przez więcej niż jedną trójkę nukleotydów.

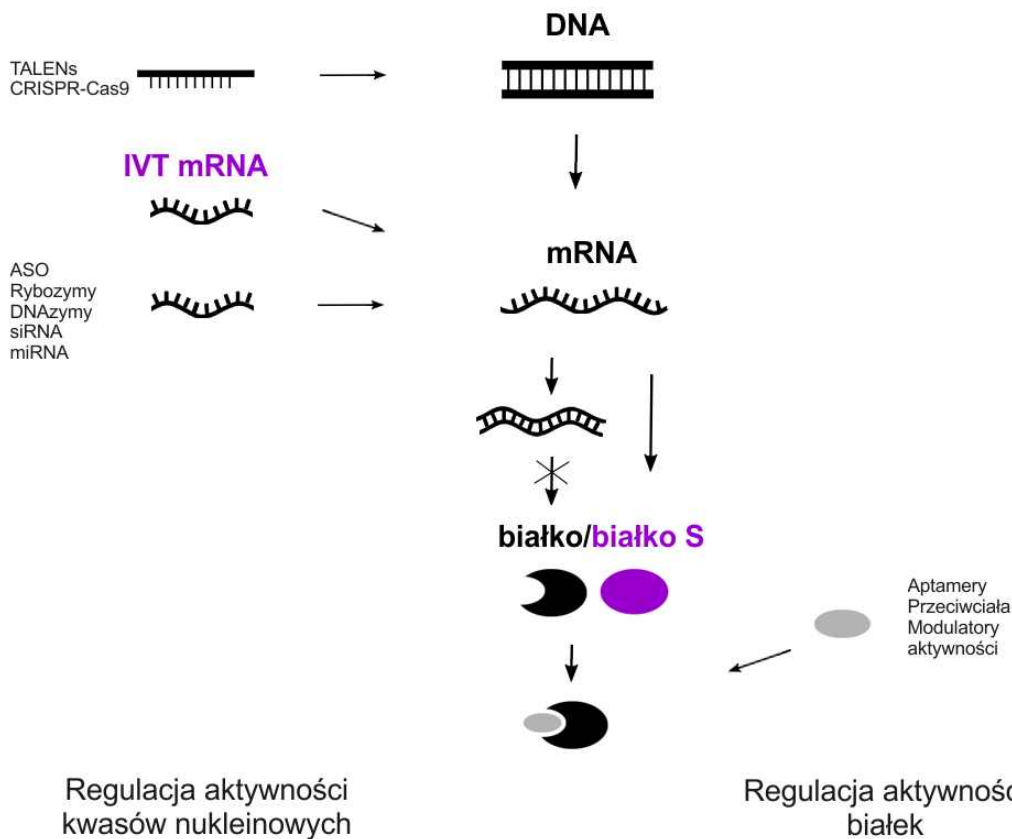
Mimo licznych dyskusji i rozważań, Klub Krawatów RNA nie rozszyfrował kodu genetycznego. Przełomowe doświadczenie zaprojektowali dwaj inni badacze, którzy nie byli członkami klubu - Marshall W. Nirenberg oraz przebywający na stażu podoktorskim w NIH, Bethesda, Heinrich Matthaei z Getyngi (Ryc. 5). Eksperyment miał miejsce 27 maja 1961 roku o godzinie 3 w nocy. Syntetyczny polirybonukleotyd, który składał się wyłącznie z uracylu (polyU) inkubowano wraz z odpowiednimi enzymami i mieszaniną wszystkich aminokwasów białkowych. Późniejsza analiza powstałego białka wykazała, że składa się ono wyłącznie fenyloalaniny. Istotny wkład w odkrycie kodu miał Michael Sela, wówczas mało znany chemik białek, urodzony jako Mieczysław Salomonowicz w Tomaszowie Mazowieckim. Jest on krewnym Juliana Tuwima. Michael Sela podpowiedział Marshallowi Nirenbergowi aby do rozpuszczenia polifenyloalaniny powstałej podczas eksperymentu, zastosować 30% roztwór bromowodoru w lodowatym kwasie octowym. Doświadczenie Marshalla Nirenberga i Heinricha Matthaei było pierwszym



Rycina 5. Heinrich Matthaei (ur. 1929) i Marshall Nirenberg (1927-2010). Uczni, którzy rozszyfrowali kod genetyczny, tym samym połączyli dwa światy - kwasów nukleinowych i białek.

i kluczowym krokiem w kierunku rozszyfrowania kodu genetycznego [61,62].

Kolejne badania dowiodły, że pojedyncze aminokwasy kodowane są przez trzy nukleotydy. Rozpoczął się wyścig o ustalenie sekwencji wszystkich tripletów kodujących poszczególne aminokwasy. W tym celu niezbędne okazały się polirybonukleotydy o ściśle zdefiniowanej sekwencji, których syntezę opracował Har Gobind Khorana [63]. Marshall Nirenberg i Har Gobind Khorana, na podstawie protokołu stworzonego przez M. Nirenberga i H. Matthaei, przygotowali dwadzieścia reakcji. Poza polirybonukleotydem i niezbędnymi enzymami znajdowały się tam wszystkie aminokwasy, z których jeden był znakowany radioaktywnie. Powtarzając ten eksperyment z różnymi sekwencjami RNA, można było zebrać pełne informacje na temat kodu genetycznego. Początkowo badane były homopolimery składające się z tej samej zasady azotowej (np. ciąg adenin), lecz z czasem kolejne grupy naukowców podjęły wyzwanie analizy bardziej złożonej sekwencji. W efekcie, w ciągu pięciu lat rozszyfrowano wszystkie 64 kodony. Swój wkład w poznanie kodu genetycznego miał również Robert Holley, który jako pierwszy ustalił sekwencję nukleotydową tRNA swoistego dla alaniny [64]. W 1968 roku Marshall Nirenberg, Har Gobind Khorana i Robert Holley otrzymali Nagrodę Nobla. Kod genetyczny do dziś budzi zdumienie i zachwyt dzięki swojej prostocie i powszechności. Jego rozszyfrowanie stanowi kluczowe zwieńczenie odkryć kwasów nukleinowych, gdyż wyjaśnia ich najważniejszą rolę.



Rycina 6. Wybrane narzędzia i technologie biologii molekularnej modulujące proces biosyntezy białka. Ich działanie polega głównie na ograniczaniu syntezy białka na poziomie DNA i RNA. IVT mRNA (informacyjny RNA powstały w wyniku transkrypcji *in vitro*) jest nośnikiem informacji dla syntezy nowego białka, które indukuje np. odporność immunologiczną.

SZCZEPIONKI mRNA

Poznanie fundamentalnych podstaw biologii molekularnej wzbudziło ciekawość i wywołało kolejne pytania dotyczące natury kwasów nukleinowych oraz możliwości płynących z rosnącej wiedzy na ich temat. Dalsze badania wymagały nowych narzędzi i technologii. Pod koniec lat 60. XX wieku po raz pierwszy wykorzystano enzymy restrykcyjne do hydrolizy DNA w specyficznych miejscach. Dzięki nim w 1972 roku Paul Berg uzyskał pierwszy rekombinowany fragment DNA, stając się pionierem inżynierii genetycznej [65]. W 1977 roku Phillip Sharp i Richard Roberts odkryli introny – fragmenty DNA niezaangażowane w syntezę białka, występujące pomiędzy regionami kodującymi (egzonami) [66,67]. Badacze odkryli również proces splicingu, polegający na wycinaniu intronów z prekursorowego mRNA. Co więcej, po wycięciu intronów, egzony mogą łączyć się ze sobą w różnej kolejności, dzięki czemu jeden gen może kodować więcej niż jedno białko. To zjawisko nazywano alternatywnym splicingiem. W latach 80. XX wieku odkryto katalityczne RNA (rybozomy) oraz antysensowne RNA. Wśród antysensownych RNA w kolejnych latach wyróżniono m.in. krótkie interferujące RNA (small interfering RNA, siRNA) oraz mikroRNA (miRNA), pełniące kluczową rolę w ekspresji genów. Powyższe odkrycia poszerzyły wiedzę na temat budowy i funkcji RNA co w konsekwencji doprowadziło nie tylko do lepszego zrozumienia procesów komórkowych, ale również do stworzenia innowacyjnych terapii. Kwas rybonukleinowy, który przez

Phoebusa Levene’a został zidentyfikowany jako związek wysoce niestabilny, dziś stanowi podstawę szczepionek mRNA przeciwko wirusowi SARS-CoV-2 (Ryc. 6). Stało się to możliwe dzięki śmiałym hipotezom i licznym badaniom oraz nowym technologiom, w wyniku których znaleziono sposób na stabilizację mRNA i dostarczenie go do komórki. Informacyjny RNA, powstały w wyniku transkrypcji *in vitro* (IVT mRNA), charakteryzuje się dużą uniwersalnością. W zależności od sekwencji możliwe jest wytworzenie dowolnego białka, którego synteza oparta jest na znanych mechanizmach komórkowych. IVT mRNA umieszczony wewnątrz otoczki lipidowej wnika do komórki na drodze endocytozy. Do mRNA przyłączają się czynniki translacyjne i podjednostki rybosomalne i następuje przepisywanie sekwencji rybonukleotydów na sekwencję białka. W przypadku szczepionki mRNA przeciwko SARS-CoV-2 jest to białko kolca, wywołujące odpowiedź immunologiczną, w wyniku której powstają przeciwciała. Wydaje się, że metoda ta jest szybsza i bardziej skuteczna, niż dostarczenie do komórki białka syntetyzowanego w bioreaktorze. Przez lata kluczową barierą w terapeutycznym zastosowaniu mRNA była jego wysoka niestabilność. Ponadto w toku ewolucji powstały mechanizmy obronne skierowane przeciwko kwasom rybonukleinowym wirusów atakujących komórki. Ze względu na szybką degradację, wprowadzenie mRNA do wnętrza komórki jeszcze do niedawna było bardzo mało wydajne. Przełomowym rozwiązaniem okazało się zastąpienie urydyny pseudourydyną w łańcuchu RNA. Jest to

nukleozyd również występujący w komórce. Wprowadzenie pseudourydyny umożliwia tworzenie większej liczby wiązań wodorowych, zwiększając stabilność cząsteczki. Ponadto receptory komórek układu odpornościowego nie rozpoznają modyfikowanej urydyny, co chroni mRNA przed zniszczeniem przez system immunologiczny. Ze względu na szybką produkcję oraz możliwość wdrożenia jej na szeroką skalę, szczepionki mRNA zyskały widoczną i wyraźną przewagę nad innymi rodzajami szczepionek. Co więcej, są one także obiecującą metodą terapii innych chorób, w tym immunoterapii nowotworów [68]. Innowacyjność terapeutycznego zastosowania mRNA polega na możliwości regulowania transkryptomu. W przypadku chorób, których podłoże stanowi powstawanie patogennego białka, dotychczas stosowano cząsteczki hamujące aktywność tego białka, takie jak inhibitory lub przeciwciała. Wówczas biosynteza szkodliwego białka nie jest zahamowana, co wiąże się ze zbędnym wydatkiem energetycznym. Zastosowanie niekodujących RNA, m.in. miRNA lub siRNA, hamuje syntezę toksycznego białka poprzez oddziaływanie z jego mRNA. Natomiast dzięki transkrypcji *in vitro* możliwe jest zaprojektowanie cząsteczki mRNA, która po wprowadzeniu do komórki zastąpi wyciszony transkrypt. W efekcie powstaje prawidłowe białko według tych samych zasad, co wszystkie inne białka w komórce.

PERSPEKTYWY

Żyjemy w erze kwasów nukleinowych, gdyż w mniejszym lub większym stopniu odnoszą się do nich wszystkie badania molekularne organizmów żywych. Dziś nie tylko znamy budowę i funkcje DNA i RNA, lecz także wiemy w jaki sposób wykorzystywać je na własny użytek, jako narzędzia biologii molekularnej. Pewne zjawiska związane z kwasami nukleinowymi, choć początkowo niezrozumiałe, z biegiem lat zostały dokładnie poznane i znalazły swoje zastosowanie. Niezwykle przydatne w tym celu okazały się nowe narzędzia i technologie. Wiele z nich jest stale rozwijanych i ulepszanych. Enzymy restrykcyjne oraz polimeraza DNA, odkryta w 1955 roku przez Arthura Kornberga [69], zostały użyte przez Frederica Sangera do opracowania metody sekwencjonowania DNA w 1977 roku [70]. W ciągu kilku kolejnych dekad technologia sekwencjonowania została udoskonalona i zautomatyzowana, co zaowocowało poznaniem pełnej sekwencji genomu człowieka w 2001 i 2021 roku. Rozwój biologii molekularnej jest nieustający, a technologie RNA przeżywają obecnie swój renesans. Francis Crick już w 1959 roku przewidywał ogromną różnorodność funkcji kwasu rybonukleinowego w wierszu napisanym dla Klubu Krawatów RNA: *What are the properties of Genetic RNA/ Is he in heaven, is he in hell/ That damned, elusive Pimpernel* [71]. Wieloletnie badania kwasu rybonukleinowego, począwszy od cząsteczek antysensownych, katalitycznych, aż po krótkie interferujące RNA, zbudowały solidny fundament pod nową technologię - szczepionki mRNA, które mają zastosowanie w przeciwdziałaniu pandemii SARS-CoV-2 oraz mogą posłużyć w walce z innymi chorobami zakaźnymi. Obecnie prowadzone są badania nad użyciem szczepionek mRNA w immunoterapii nowotworów. Czy następnym celem będą choroby neurodegeneracyjne, czy może choroby metaboliczne? Nie wiemy co przyniesie przyszłość. Tym bardziej warto pochylić się nad historią

odkryć, które stanowią główny filar tej dziedziny. Historia ta pokazuje, jak wiele naukowych dokonań musiało się wydarzyć, żeby ostatecznie wyizolować mRNA, a niedługo później rozszyfrować kod genetyczny. Jedno odkrycie nie tylko wynika z poprzednich, lecz powoduje również kaskadę kolejnych dokonań. Dzięki temu świat nauki to niekończąca się opowieść o życiu. Jak powiedział Phoebus Levene „Życie jest najbardziej złożonym zjawiskiem w przyrodzie, a jego przejawy są niezliczone. Wszystkie one w tajemniczy sposób powstają w żywym organizmie i wszystkie są w nim harmonijnie skupione. To, nawet w swojej najprostszej formie jest najdoskonalszym laboratorium, miejscem niekończącej liczby reakcji chemicznych, z których żadna nie zakłóca równowagi pozostałych” [12].

PIŚMIENNICTWO

1. Darwin C (1859) On the origin of species by means of natural selection, or preservation of favoured races in the struggle for life. John Murray (1st ed.), London
2. Haeckel E (1866) Generelle Morphologie der Organismen. Reimer, Berlin, str. 287-288
3. Dahm R (2007) Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research. Springer-Verlag, Hum Genet 122: 565-581
4. Miescher F (1871) Ueber die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen. Medicinisch-chemische Untersuchungen 4: 441-460
5. Plósz P (1871) Ueber das chemische Verhalten der Kerne der Vogellund Schlangenblutkörperchen. Medicinisch-chemische Untersuchungen 4: 461-462
6. Unger B (1846) Das Guanin und seine Verbindungen. Annalen der Chemie und Pharmacie 59: 58-68
7. Frixione E, Ruiz-Zamarripa L (2019) The „scientific catastrophe“ in nucleic acids research that boosted molecular biology. J Biol Chem 294: 2249-2255
8. Pigman WW, Wolfrom ML (1945) Advances in carbohydrate chemistry. Academic Press Inc. New York
9. Dahm R (2010) From discovering to understanding. Friedrich Miescher's attempts to uncover the function of DNA. EMBO Reports, 11: 153-160
10. Flemming W (1882) Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. F. C. W. Vogel, Leipzig
11. Hertwig O (1884) Untersuchungen zur Morphologie und Physiologie der Zelle. Vlg. G. Fischer, Jena
12. Altmann R (1889) Ueber Nukleinsäuren. Arch f Anatomie u Physiol, str. 524-536
13. Jones ME (1953) Albrecht Kossel, a biographical sketch. Yale J Biol Med 26: 80-97
14. Chargaff E, Davidson JN (1955) The nucleic acids. Academic Press Inc. New York
15. Kossel A, Neumann A (1894) Darstellung und Spaltungsprodukte der Nucleinsäure (Adenylsäure). Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft zu Berlin 27: 2215-2222
16. Ascoli A (1901) Ueber ein neues Spaltungsprodukt des Hefenucleins. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie 31: 161-214
17. Johnson TB, Coghill RD (1925) The discovery of 5-methyl-cytosine in tuberculinic acid, the nucleic acid of the *Tubercle bacillus*. J Am Chem Soc 47: 2838-2844
18. Hotchkiss RD (1948) The quantitative separation of purines, pyrimidines and nucleosides by paper chromatography. J Biol Chem 175: 315-332
19. Van Slyke DD, Jacobs WA (1944) Biographical memoir of Phoebus Aaron Theodor Levene (1869-1940). Biograph Mem Natl Acad Sci USA 24: 73-126

20. Levene PA (1910) On the biochemistry of nucleic acids. *J Am Chem Soc* 32: 231-240
21. Levene PA, Jacobs WA (1909) Über die pentose in den nucleinsäure. *Ber Deut Chem Ges* 42: 3247-3251
22. Levene PA, Jacobs WA (1912) On the structure of thymus nucleic acid. *J Biol Chem* 12: 411-420
23. Jones W (1914) *Nucleic Acids – Their Chemical Properties and Physiological Conduct*. Longmans, Green and Co., London
24. Levene PA, Mikeska LA, Mori T (1930) On the carbohydrate of thymonucleic acid. *J Biol Chem* 85: 785-787
25. Thomas R (1992) *Molecular Genetics Under an Embryologist's Microscope: Jean Brachet, 1909-1988*. *Genetics* 131: 515-518
26. Brachet J (1942) La localisation des acides pentosenucléiques dans les tissus animaux et les oeufs d'Amphibiens en voie de développement. *Arch Biol* 53: 207-257
27. Caspersson T (1941) Studien über den Eiweißumsatz der Zelle. *Naturwissenschaften* 29: 33-43
28. Cobb M (2017) 60 years ago, Francis Crick changed the logic of biology. *PLoS Biol*. 15: e2003243
29. Waddington CH (1939) *An Introduction to Modern Genetics*. George Allen & Unwin Ltd. London
30. Wingard SA (1928) Hosts and symptoms of ring spot, a virus disease of plants. *J Agric Res* 37: 127-153
31. Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391: 806-811
32. Sledz CA, Williams BRG (2005) RNA interference in biology and disease. *Blood* 106: 787-794
33. Schrödinger E (1944) *What is Life? The Physical Aspect of the Living Cell*, Cambridge University Press
34. Avery OT, MacLeod CM, McCarty M (1944) Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* Type III. *J Exp Med* 79: 137-158
35. Chargaff E (1978) *Heraclitean Fire. Sketches from a life before Nature*. Rockefeller University Press
36. Chargaff E, Zamenhof S, Green C (1950) Composition of human desoxyribose nucleic acid. *Nature* 165: 756-757
37. Manchester KL (2008) Historical opinion: Erwin Chargaff and his 'rules' for the base composition of DNA: why did he fail to see the possibility of complementarity? *Trends Biochem Sci* 33: 65-70
38. Astbury WT, Bell FO (1938) X-Ray Study of Thymonucleic Acid. *Nature* 141: 747-748
39. Brown DM, Todd AR (1952) Nucleotides. Part X. Some observations on the structure and chemical behaviour of the nucleic acids. *J Chem Soc*, str. 52-58
40. Meili M (2003) Signer's gift – Rudolf Signer and DNA. *Chimia (Aarau)* 57: 735-740
41. Klug A (2004) The discovery of the DNA double helix. *J Mol Biol* 335: 3-26
42. Watson JD, Crick FHC (1953) A structure for deoxyribonucleic acid. *Nature* 171: 737-738
43. Wilkins MH, Stokes AR, Wilson HR (1953) Molecular structure of deoxyribose nucleic acids. *Nature* 171: 738-740
44. Franklin RE, Gosling RG (1953) Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature* 171: 740-741
45. Judson HF (2003) No Nobel Prize for Whining. *The New York Times*
46. Williams G (2019) *Unravelling the Double Helix*. Pegasus Books, New York, str. 159-162
47. Gamow G (1954) Possible relation between deoxyribonucleic acid and protein structure. *Nature* 173: 318
48. Boivin A, Vendrely R (1947) Sur le rôle possible des deux acides nucléiques dans la cellule vivante. *Experientia* 3: 32-34
49. Jeener R, Szafarz R (1950) Relation between the rate of renewal and the intracellular localization of ribonucleic acid. *Arch Biochem Biophys* 26: 54-67
50. Rheinberger HJ (2004) A History of Protein Biosynthesis and Ribosome Research. In *Protein Synthesis and Ribosome Structure* (eds K.H. Nierhaus and D.N. Wilson)
51. Roberts RB, Britten RJ, McCathy BJ (1963) Kinetic studies of the synthesis of RNA and ribosomes, *Molecular Genetics*. Taylor JH, ed. Academic Press, New York, str. 291-352
52. Crick FHC (1958) On protein synthesis. *Symposia of the Society for Exp Biol* 12: 138-163
53. Hoagland MB, Stephenson ML, Scott JF, Hecht LI, Zamecnik P (1958) A soluble ribonucleic acid intermediate in protein synthesis. *J Biol Chem* 23: 241-257
54. Pardee AB, Jacob F, Monod J (1959) The genetic control and cytoplasmic expression of "inducibility" in the synthesis of β -galactosidase by *E. coli*. *J Mol Biol* 1: 165-178
55. Cobb M (2015) Who discovered messenger RNA? *Curr Biol* 25: 526-532
56. Volkin E, Astrachan L (1956) Phosphorous incorporation in *Escherichia coli* ribonucleic acid after infection with bacteriophage T2. *Virology* 2: 149-161
57. Hall BD, Spiegelman S (1961) Sequence complementarity of T2-DNA and T2-specific RNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 47: 137-146
58. Brenner S, Jacob F, Meselson M (1961) An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature* 190: 576-581
59. Gros F, Hiatt H, Gilbert W, Kurland CG, Risebrough RW, Watson JD (1961) Unstable ribonucleic acid revealed by pulse labelling of *Escherichia coli*. *Nature* 190: 581-585
60. Watson JD (2002) *Genes, Girls, and Gamow: After the Double Helix*. New York: Random House
61. Nirenberg M (2004) Historical review: Deciphering the genetic code - a personal account. *Trends Biochem Sci* 29: 46-54
62. Nirenberg MW, Matthaei JH (1961) The dependence of cell-free protein synthesis in *E. coli* upon naturally occurring or synthetic polynucleotides. *PNAS* 47: 1588-1602
63. Khorana HG (1966) Polynucleotide synthesis and the genetic code. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 31: 39-49
64. Holley RW (1965) Structure of ribonucleic acid. *Science* 147: 1462-1465
65. Morrow JF, Berg P (1972) Cleavage of Simian virus 40 DNA at a unique site by a bacterial restriction enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 69: 3365-3369
66. Chow LT, Gelin RE, Broker TR, Roberts RJ (1977) „n amazing sequence arrangement at the 5' ends of adenovirus 2 messenger RNA. *Cell* 12: 1-8
67. Berget SM, Moore C, Sharp PA (1977) Spliced segments at the 5' terminus of adenovirus 2 late mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 3171-3175
68. Miao L, Zhang Y, Huang L (2021) mRNA vaccine for cancer immunotherapy. *Mol Cancer* 20: 41
69. Lehman RI (2008) Historical perspective: Arthur Kornberg, a giant of 20th century biochemistry. *Trends Biochem Sci* 33: 291-29670. Hutchison III CA (2007) DNA sequencing: bench to bedside and beyond. *Nucleic Acids Res* 35: 6227-6237
71. Crick FHC, Johnson CB (2004) *The Scarlet Pimpernel*. Simon & Schuster str. 124

100 years of RNA. The Diamond Jubilee of Information RNA

Emilia A. Korczmar¹, Agnieszka Belter²✉, Mirosława Z. Naskręt-Barciszewska², Stefan Jurga³, Jan Barciszewski^{2,3}✉

¹Adam Mickiewicz University in Poznań, Faculty of Biology

²Institute of Bioorganic Chemistry, Polish Academy of Sciences, Poznań

³NanoBioMedical Centre, Adam Mickiewicz University in Poznań

✉Corresponding authors: abelter@ibch.poznan.pl (A.B.), Jan.Barciszewski@ibch.poznan.pl (J.B.)

Keywords: nucleic acids, RNA, messenger RNA, protein biosynthesis, genetic code

SUMMARY

The year 2021 marks not only 60 years since the discovery of messenger RNA and the genetic code. Already 100 years passed since RNA was discovered. On the occasion of this special anniversary, we would like to recall the most important events in the history of nucleic acids that led to the above discoveries. We remind the beginning of a new era in science caused by the isolation of nuclein and then nucleic acid, whose components and properties were gradually learned, often by little-known researchers. The distinction of RNA and DNA and the analysis of their occurrence in cells made it possible to formulate the first conclusions about the functions of these compounds. Conclusions on the ratio of nitrogenous bases in DNA led to the knowledge of the structure of the double helix, triggering an avalanche of questions about the essence of transmission of genetic information. Answers began to emerge with the discovery of mRNA, and knowledge of the first three nucleotides encoding an amino acid caused a race to decipher the genetic code. The above discoveries are the foundation of molecular biology. The diamond jubilee coincided with the development of an mRNA-based vaccine against the SARS-CoV-2.

