

Biologian käännekohta: DNA:n rakenteen keksimisestä 60 vuotta

■ Petter Portin

”Olemme löytäneet elämän salaisuuden!” (Francis Crick, 28.2.1953)

Huhtikuun 25. päivänä 1953, 60 vuotta sitten, yhdysvaltalainen James D. Watson ja englantilainen Francis H. C. Crick julkaisivat aikakauslehti *Nature*ssa artikkelin, jossa he esittivät yhä vielä voimassa olevan DNA:n rakennemallin (Watson & Crick, 1953a). Se merkitsi periytymisen DNA-teorian kehityksen kulminaatiota ja oli koko biologian suuri käännekohta. Tästä alkoi molekyyli-genetiikan voimakas nousu, joka jatkuu ripeänä edelleen. Genetiikalla on nykyisin merkitystä kaikkien tiedekuntien opetuksessa, ja se on tunkeutunut lähes kaikille tieteenaloille. Itse DNA:n kaksoiskierteisestä rakennemallista on tullut suoranainen biologian symboli ja jopa eräänlainen kulttuuri-ikoni.

Mainittu *Nature*-lehden artikkeli on hyvin lyhyt käsittäen vain noin 800 sanaa ja yhden kuvan (kuva 1), mutta jo saman lehden toukokuun 30:n päivän numerossa tekijät tuovat esiin mallin geneettiset implikaatiot (Watson & Crick, 1953b). Laajemmin näitä implikaatioita he esittelivät sitten seuraavan vuoden Cold Spring Harbor Symposiumissa (Watson & Crick, 1954). Mallin nerokkuus on siinä, että se täyttää geneettiselle materiaalille asetettavat neljä yleistä ehtoa. Ensinnäkin malli selittää geneettisen materiaalin kyvyn kahdentua, mikä puolestaan on elämälle ominaisen lisääntymisen perusta. Toiseksi malli selittää geneettisen materiaalin spesifisyyden, siis geenien laadun, sekä sen, miten tämä spesifisyys säilyy kahdentumisessa. Kolmanneksi malli selittää geneettisen materiaalin kyvyn sisältää informaatiota; DNA on informatiivinen makromolekyyli. Neljänneksi malli selittää geenien kyvyn muuttua eli kokea

mutaatioita. Näihin geneettisen materiaalin neljään tärkeään ominaisuuteen palataan jäljempänä lähemmin.

Watson ja Crick olivat oivaltaneet rakennemallin Cambridgessa Englannissa 28.2.1953 Watsonin ollessa vain 24-vuotias ja Crickin 36-vuotias. Tuskin mitään muuta ainakaan yhtä tärkeää keksintöä tieteen historiassa voidaan ajoittaa yhtä tarkasti. Keksintöä oli edeltänyt noin puolitoista vuotta kestänyt yhteinen uurastus. Tätä työtä sekä itse keksinnön syntyä on Watson eloisesti mitään – edes työn eri vaiheisiin liittyneitä intrigointeja – salaamatta kuvannut varsinkin Englannissa hyvin risti-riitaisia tunteita herättäneessä teoksessaan *The Double Helix* vuodelta 1968 (Watson, 1968). Kirja on ilmestynyt suomeksi nimellä *Kaksoiskierre* vuonna 1969 (Watson, 1969).

Aikakauslehti *Nature*n samassa numerossa kuin missä Watsonin ja Crickin DNA:n rakennemalli julkaistiin, ilmestyivät sen seuraavilla sivuilla englantilaisen Maurice H.F. Wilkinsin työryhmän sekä niin ikään englantilaisten Rosalind E. Franklinin ja Raymond G. Goslingin röntgenkristallografiset tutkimukset, jotka vahvistivat Watsonin ja Crickin mallin (Wilkins ym., 1953; Franklin & Gosling, 1953), ja sittemmin on julkaistu monia fysikokemiallisia ja elektronimikroskooppisia tutkimuksia, jotka tukevat mallia.

Watson, Crick ja Wilkins saivat keksinnöstä fysiologian ja lääketieteen Nobelin palkinnon 1962. Rosalind Franklin olisi ehdottomasti myös ansainnut palkinnon, mutta hän oli kuollut munasarjan syöpään vuonna 1958 vain 37-vuotiaana, eikä Nobelin palkintoa myönnetä postuumisti, ja toisaalta palkintoa ei tasata useamman kuin kolmen saajan kesken. Kuka

näistä neljästä olisi siis jätetty ilman, jos Rosalind Franklin olisi ollut elossa, vai olisiko keksitty jokin muu ratkaisu? Esimerkiksi, olisiko voitu tehdä niin, että fysiologian ja lääketieteen palkinto olisi annettu Watsonille ja Crickille kaksin sekä Wilkinsille ja Franklinille kemian palkinto?

DNA-tutkimuksen varhaisvaiheet

DNA:n kemiallisena aineena sinänsä löysi sveitsiläinen lääkäri ja biokemisti Friedrich Miescher jo vuonna 1869, siis samoihin aikoihin kuin Gregor Mendel julkaisi perinnöllisyyslakinsa (Mendel, 1866). Miescher oli kiinnostunut siitä, mitä solun tuma kemiallisessa mielessä sisältää. Hän käytti materiaalinaan kirurgisten potilaiden haavakääreiden märkää. Se sisältää suuren määrän veren valkosoluja, joiden tumat hän huolellisesti puhdisti. Niistä hän onnistui eristämään täysin uudenlaisen orgaanisen aineen, jota hän sen alkuperän vuoksi kutsui *nukleiiniksi* (Miescher, 1871). Nyttemmin tiedämme, että tuo aine oli DNA.

Nukleiini poikkesi kaikista muista solusta eristetyistä orgaanisista aineista muun muassa siten, että se sisälsi poikkeuksellisen paljon fosforia. Tämä herätti silloin huomiota ja epäilyksiä. Miescherin opettaja, aikakauden merkittävin orgaanisen kemian edustaja, professori Felix Hoppe-Seyler oli hänkin niin epäileväinen, että halusi toistaa Miescherin kokeet itse ennen kuin antoi tälle luvan julkaista löytönsä Hoppe-Seylerin omassa julkaisusarjassa (Dahm, 2008). Tämän johdosta julkaiseminen viivästyi kaksi vuotta.

Hieman myöhemmin Miescher huomasi, että kalojen maiti olisi ideaalinen tutkimuskohde hänen tarkoituksiinsa. Maitisolut ovat hyvin kookkaita, mutta eivät sisällä tuman ohella juuri lainkaan sytoplasmaa, ja lisäksi maitia oli helppo saada suuria määriä. Niinpä hän eristi nukleiinia Reinin lohikalojen maidista, ja nyt preparaatti oli vielä puhtaampi kuin valkosoluista eristetty. Hän saattoikin varmentaa, että nukleiini ei sisältänyt lainkaan rikkiä, mitä valkosolupreparaateissa oli esiintynyt proteiineista peräisin olevana epäpuhtautena. Hän saattoi myös varmentaa nukleiinin suuren fosforipitoisuuden ja mittasi sen lähes oikein. Tärkeä oli myös hänen havain-

tonsa, että kaikki fosfori nukleiinissa oli fosfaattina (Miescher, 1874a, b).

Jo Miescherin elinaikana useat tutkijat alkoivat ratkoa niitä kysymyksiä, joita hänen työnsä oli herättänyt. He kehittivät entistä parempia menetelmiä nukleiinihappojen puhdistamiseksi proteiineista. Miescherin oppilas Richard Altmann uskoi näin eristäneensä täysin uuden aineen, jolle hän antoi nimeksi nukleiinihappo, koska se käyttäytyi kemiallisissa reaktioissa kuten happo (Altmann, 1889). Hän ei kuitenkaan tiedostanut, että kyseessä oli täsmälleen sama aine, jonka Miescher oli nimennyt nukleiiniksi.

Hieman myöhemmin useat muut biologit, ensimmäisenä kasvitieteilijä Eduard Zacharias kuitenkin jo vuonna 1884, pystyivät osoittamaan, että nukleiinihappo on kromosomien osa (Mirsky, 1968). Vuonna 1893 biokemistit Albrecht Kossel ja Albert Neumann puolestaan osoittivat, että nukleiinihappossa oli neljä erilaista emäsosaa (Kossel & Neumann, 1893). Kossel myös havaitsi, että nukleiini on osa kromatiinia, materiaalia josta kromosomit muodostuvat. Nukleiinin – siis DNA:n – lisäksi kromosomit koostuvat erilaisista proteiineista. Näistä tärkeimmät ovat nimeltään histoneja, jotka Kossel löysi (Olby, 1994; Portugal & Cohen, 1977). Hän myös teki tutkimustensa perusteella tärkeän johtopäätöksen, että nukleiinihapot liittyvät olennaisesti sytoplasman synteisiin kasvun ja uudistumisen aikana (Kossel, 1913). Hän saikin proteiineja ja nukleiinihappoja koskevista tutkimuksistaan fysiologian ja lääketieteen Nobelin palkinnon 1910.

Huolimatta näistä edistysaskeleista, nukleiinihappojen merkitys ja olemus jäivät useiden vuosikymmenten ajaksi hämäräksi, ja niiden tutkimus väheni asteittain, kunnes se koki renessanssin 1930-luvulla.

DNA:n osoittaminen geneettiseksi materiaaliksi

Periytyminen kromosomiteoria, toisin sanoen teoria, jonka mukaan geenit sijaitsevat solun tumassa olevissa kromosomeissa, syntyi vuosina 1902–04 saksalaisen Theodor H. Bove-

rin ja yhdysvaltalaisen Walter S. Suttonin ansiosta (Boveri, 1902, 1904; Sutton, 1903). Teorian todisti oikeaksi yhdysvaltalaisen Thomas H. Morganin koulukunta 1910-luvun kuluessa (Morgan, 1919, 1926).

Ensimmäiset viitteet siitä, että kromosomien nukleinihappokomponentti pikemmin kuin proteiinikomponentti muodosti geneettisen materiaalin, saatiin *Sphaecocarpus donnellii* -maksasammaleella, erällä mikrosienillä ja maissilla tehdyistä mutaatiotutkimuksista. Näitä tekivät Edgar Knapp, Alexander Hollaender ja Lewis J. Stadler työtovereineen (Knapp & Schreiber, 1939; Hollaender & Emmons, 1941; Stadler & Uber, 1942). He havaitsivat, että ultraviolettisäteily aiheuttaa eniten mutaatioita aallonpituudella, joka vastaa DNA:n absorptiomaksimia. Yksikään näistä ryhmistä ei kuitenkaan vielä ollut valmis vetämään tästä johtopäätöstä, että DNA olisi geneettinen materiaali.

Todisteet periytymisen DNA-teorian puolesta saatiin bakteerien transformaatioilmiöstä, jonka englantilainen Frederick Griffith löysi pneumokokkibakteereilla vuonna 1928 (Griffith, 1928). Transformaatioissa tietyn bakteerikannan solut muuttuvat perinnöllisesti tietyn toisen kannan solujen kaltaisiksi. Pneumokokeista tutkittiin kahta kantaa, virulenttia (taudin aiheuttavaa) SIII-kantaa, jonka soluja ympäröi polysakkaridikapseli, ja harmitonta RII-kantaa, jonka solut eivät ole kapseloituneita. Kun SIII-kannan solut tapettiin kuumakäsittelyllä ja ruiskutettiin koe-eläiminä käytettyihin hiiriin, ne eivät enää aiheuttaneet tautia. Kun sitten hiiriin ruiskutettiin yhtä aikaa eläviä RII-kannan soluja ja kuumakäsittelyllä tapettuja SIII-kannan soluja, jotka siis molemmat olivat ei-virulentteja, hiiret kuitenkin sairastuivat ja kuolivat. Näistä kuolleista hiiristä oli eristettävissä eläviä SIII-kannan kapseloituneita soluja ja – mikä tärkeintä – tämä ominaisuus periytyi niiden jälkeläisille. Jokin tapetuista SIII-kannan soluista peräisin oleva tekijä oli siis muuttanut, eli transformoinut, osan elävistä RII-kannan soluista perinnöllisesti SIII-kannan kaltaisiksi. Tätä tekijää Griffith kutsui transformoivaksi tekijäksi (engl. *transforming principle*).

Pian tämän jälkeen Martin H. Dawson ja Richard H.P. Sia (Dawson & Sia, 1931) sekä J. Lionel Alloway (Alloway, 1932) pystyivät osoittamaan, että myös SIII-kannan soluton uute riitti aiheuttamaan RII-kannan solujen transformaation *in vitro* (koeputkessa).

Vihdoin vuonna 1944 yhdysvaltalaiset Oswald T. Avery, Collin M. MacLeod ja Maclyn MacCarty puolestaan onnistuivat monen vuoden työn jälkeen eristämään tästä soluttomasta uutesta Griffithin transformoivan tekijän, aineen, joka riitti aiheuttamaan transformaatton. Tämä aine oli DNA (Avery ym., 1944), ja havainnon täytyi siis merkitä sitä, että geenit ovat DNA:ta. Tämän jälkeen osoitettiin DNA:n voivan siirtää transformaatioissa monia muitakin ominaisuuksia sekä pneumokokeissa että lukuisissa muissa bakteerilajeissa.

Averyn työryhmän havainto ei kuitenkaan vielä vakuuttanut koko tiedeyhteisöä, vaan monet uskoivat ryhmän preparaattissa olleen proteiineja epäpuhtautena. Vain proteiineilla ajateltiin tuolloin olevan sellainen spesifisyys, joka geneettiseltä materiaalilta edellyttään. Epäuskoisuuden syntyyn vaikuttivat myös DNA:n rakenteesta tuolloin vallinneet käsitykset. DNA:n kyllä tiedettiin William T. Astburyn sekä Torbjörn Casperssonin ja Florence Bellin 1930-luvulla tekemien röntgenkristallografisten tutkimusten mukaan olevan pitkä ja kierteinen, lineaarinen, siis nauhamainen molekyyli (Jahn, 1998, s. 645). Mutta samalla nukleinihappojen rakenteesta oli vallalla amerikkalaisen biokemistin Phoebus Levenen noin vuonna 1910 formuloima tetranukleotidihypoteesi (Olby, 1994). Tämän hypoteesin mukaan DNA muodostuisi identtisistä neljän nukleotidin ryhmistä, joista kukin sisältäisi vain yhtä DNA:n neljästä emäksestä (Dahm, 2008). Tällainen rakenne olisi liian monotoninen sisältääkseen geneettisen informaation.

Vasta vuonna 1952 yhdysvaltaisten Alfred D. Hershey ja Martha Chasen tekemät kokeet riittivät vakuuttamaan koko tiedeyhteisön siitä, että geenit ovat DNA:ta. He osoittivat T2 viruksella, että bakteeriviruksen eli bakteriofagin lisääntymisestä vastaa sen DNA- eikä proteiinikompo-

nentti (Hershey & Chase, 1952). Bakteriofagit eli faagit koostuvat proteinikuoresta ja sen sisällä olevasta DNA:sta, ja ne lisääntyvät bakteerisolujen sisällä. Hershey ja Chase leimasivat ensin faagin proteinikuoren radioaktiivisella rikillä ja sitten kuoren sisällä olevan DNA:n radioaktiivisella fosforilla. Ensimmäisessä tapauksessa kaikki radioaktiivisuus jäi infektiossa bakteerisolun ulkopuolelle. Jälkimmäisessä tapauksessa kaikki radioaktiivisuus joutui infektiossa bakteerisolun sisään. Tämän täytyi merkitä sitä, että faagin lisääntymisestä vastaavat tekijät, siis niiden geenit, ovat muodostuneet vain DNA:sta.

Nykyisin on täysin selvää, että – RNA-virusten tärkeää poikkeusta lukuun ottamatta – DNA on Maan elämän universaalinen geneettinen materiaali.

DNA:n rakenne ratkaistaan

James Watsonin, Francis Crickin, Maurice Wilkinsin, Rosalind Franklinin ja Raymond Goslingin ohella mm. itävaltalainen Erwin Chargaff kuului niihin harvoihin tutkijoihin, jotka ymmärsivät Oswald Averyn ryhmän työn merkityksen, pitivät sen tulosta totena ja työskentelivät sen mukaisesti.

Chargaff osoitti työtovereineen 1940- ja 1950-luvun taitteessa, että tetranukleotidihypoteesi oli virheellinen, ja samalla hän osoitti DNA:n spesifisyyden (Chargaff, 1950, 1951; Chargaff ym., 1949). Chargaff nimittäin löysi nyttemmin Chargaffin säännöksi kutsutun DNA:n emäsosien pitoisuuksia koskevan lainalaisuuden. Tämän säännön mukaan DNA:ssa on aina yhtäältä yhtä monta prosenttia adeniinia (A) ja tymiiniä (T) ja toisaalta yhtä monta prosenttia sytosiinia (C) ja guaniinia (G). Siis puriiniemästen (A ja G) ja pyrimidiiniemästen (C ja T) prosentuaalisten pitoisuuksien suhde on aina yksi ($[A + G] : [C + T] = 1$). Vain suhdeluku $(A + T) : (C + G)$ vaihtelee ja on lajityypillinen ominaisuus, toisin sanoen se on sama saman lajin kaikissa kudoksissa, solukoissa ja soluissa (Chargaff, 1950). Se tosiseikka, että suhdeluku $(A + T) : (C + G)$ saattoi siis poiketa merkittävästi ykkösestä, osoitti tetranukleotidihypoteesin vääräksi (Chargaff ym., 1949).



Kuva 1. Nature-lehdessä (171:737, 1953) julkaistu kuva ja kuvateksti James D. Watsonin ja Francis H. C. Crickin alkupe-
räisestä DNA:n rakennemallista. (Nature Publishing Groupin luvalla; License Number 3091860118732.)

This figure is purely diagrammatic. The two ribbons symbolize the two phosphate—sugar chains, and the horizontal rods the pairs of bases holding the chains together. The vertical line marks the fibre axis

Watsonin ja Crickin keksimä DNA:n rakennemalli selittää Chargaffin säännön niin sanotun emäsparisäännön avulla. Emäsparisääntö tarkoittaa, että DNA:n vastinjuosteissa on aina adeniinia vastapäätä tymiiniä ja guaniinia vastapäätä sytosiiniä. Toisin sanoen, yhtäältä A ja T sekä toisaalta C ja G muodostavat pareja. Pareissa emäksiä sitoo toisiinsa vetysidos, joita AT-parissa on kaksi ja CG-parissa kolme.

Emäsparisääntöön perustuu DNA:n vastinjuosteiden komplementaarisuus, mihin puolestaan perustuu DNA:n kyky kahdentua eli siis elämälle ominainen kyky lisääntyä. Watsonin ja Crickin artikkeli (1953a) päättyy sanoihin, joita on – ehkä ironisesti – sanottu tieteen historian vaatimattomimmiksi:

”Emme ole välttyneet huomaamasta, että olettamamme spesifinen parituminen johdattaa välittömästi mieleen geneettisen materiaalin mahdollisen kopioitumismekanismiä.”

DNA-molekyylin lineaarinen pitkittäisrakenne, emäsparien sekvenssi, puolestaan sisältää geneettisen informaation eli geeneihin kätkeytyvän solun ja organismin rakenne- ja toimintaohjeiden kokonaisuuden.

Kuten ylempänä mainittiin, DNA täyttää neljä vaatimusta, jotka geneettiselle materiaalille on asetettava. Ensinnäkin DNA voi vastata elämälle ominaisesta lisääntymisestä emäsparisääntöön perustuvan kahdentumiskykynsä ansiosta. Toiseksi DNA:lla on emäsparien sekvenssiin perustuva spesifisyys, ja tämä spesifisyys säilyy molekyylin kahdentuessa. Näin DNA vastaa geenien laadusta. Kolmanneksi DNA on informatiivinen makromolekyylillä, eli se sisältää

geneettisen informaation. Neljänneksi DNA:ssa voi tapahtua nukleotidien vaihtumista, mikä selittää geenien kyvyn muuttua eli muteerata. Tämä on biologisen evoluution välttämätön ehto. Toisaalta kuitenkin DNA:n rakenteen on oltava riittävän vakaa, sillä yksilönkehityksen kannalta geenien sisältämän informaation täytyy olla luotettavaa. Kuten tiedetään, mutaatiot ovatkin harvinaisia.

Jos muualla maailmankaikkeudessa on elämää ja jos elämä siellä perustuu joihinkin muihin makromolekyyleihin kuin DNA:han, täytyy niidenkin molekyylien täyttää mainitut neljä elämän yleistä kemiallista ehtoa.

DNA-tutkimuksen kohokohdat rakenteen keksimisen jälkeen

On kolme vaihtoehtoista mahdollista tapaa, jonka mukaan DNA:n kahdentuminen voisi periaatteessa tapahtua, nimittäin konservatiivinen, semikonservatiivinen ja dispersiivinen kahdentuminen. Konservatiivinen kahdentuminen tarkoittaa sitä, että uuden tytärmolekyylin syntyessä se on kokonaan uutta materiaalia ja vanha emomolekyyli säilyy sellaisenaan. Semikonservatiivinen kahdentuminen taas tarkoittaa sitä, että syntyvissä molekyyleissä toinen juoste on uutta, toinen vanhaa materiaalia. Dispersiivinen kahdentuminen puolestaan tarkoittaa sitä, että syntyvien tytärmolekyylien kumpikin juoste sisältää sekä vanhaa että uutta materiaalia.

Näistä vaihtoehdoista yhdysvaltalaiset Matthew Meselson ja Franklin W. Stahl osoittivat 1958 elegantilla kokeella semikonservatiivisen mallin oikeaksi (Meselson & Stahl, 1958). Semikonservatiivisessa kahdentumisessa DNA-polymeraasientsyymi rakentaa kumpaakin DNA-molekyylin juostetta erikseen mallina käyttäen tälle uuden vastinjuosteen tumassa vapaana olevista nukleotideista.

Jo ennen kuin DNA oli osoitettu geneettiseksi materiaaliksi, olivat yhdysvaltalaiset George W. Beadle ja Edward L. Tatum sekä Adrian M. Srb ja Norman H. Horowitz keksineet, että geenit ohjaavat proteiinien biosynteesiä soluissa (Beadle & Tatum, 1941; Srb & Horowitz, 1944).

Yhdysvaltalainen biokemisti Alexander L.

Dounce ja venäläisamerikkalainen teoreettinen fyysikko ja kosmologi George Gamow loivat toisistaan riippumattomasti teorian, jonka mukaan nukleotidien järjestys DNA:ssa määrää aminohappojen järjestyksen proteiinien primäärirakenteessa (Dounce, 1952; Gamow, 1954). Tätä teoriaa on vaihtelevasti kutsuttu sekvenssi-hypoteesiksi, kolineaarisuus-hypoteesiksi ja geneettisen koodin teoriaksi. Watson ja Crick toivat esiin saman ajatuksen DNA:n rakennemallin geneettisiä implikaatioita pohtineissa julkaisuissaan (Watson & Crick, 1953b, 1954). Useat eri tutkijat osoittivat 1960-luvun alkupuolella geenin ja proteiinin kolineaarisuuden vertaamalla geenien hienorakenteen geneettisiä karttoja vastaavien proteiinien primäärirakenteisiin (Portin, 1993).

Francis Crick esitti vuonna 1958 proteiinisynteesin mekanismia koskevassa teoreettisessa julkaisussa hypoteesin, jonka mukaan proteiinien biosynteesi on kaksivaiheinen tapahtuma. Ensin DNA:n sisältämä geneettinen informaatio kopioituu tumassa geneettisessä transkriptiossa lähetti-RNA:ksi. Tämä kulkeutuu sytoplasmaan, missä proteiinisynteesin toisessa vaiheessa, geneettisessä translaatiossa, geneettinen informaatio kääntyy aminohappojärjestykseksi (Crick, 1958). Samassa julkaisussa ensimmäisen kerran esitetyn molekyylibiologian keskusdogmin mukaan geneettinen informaatio voi siirtyä vain yhteen suuntaan, ensin DNA:sta RNA:han ja sen jälkeen proteiiniin, mutta ei koskaan proteiinista nukleiinihappoihin. Tämä keskeinen teoria on Crickin vuonna 1970 esittämässä uudistetussa muodossa (Crick, 1970) edelleen voimassa. Varsin nopeasti useat, eri tutkijoiden 1960-luvun alussa tekemät tutkimukset osoittivat Crickin hypoteesin lähetti-RNA:sta oikeaksi (Portin, 1993).

Geneettisen koodin ongelman ratkaisuun vaikuttivat erittäin merkittävästi jälleen Francis Crickin työtovereineen tekemät puhtaasti geneettiset mutaatiotutkimukset (Crick ym., 1961). Ne osoittivat ensimmäisen kerran, että geneettinen koodi, sääntö jonka mukaan geenin ja proteiinin vastaavuus määräytyy, on pilkuton triplettikoodi, jossa koodisanat eivät mene limit-

täin vaan esiintyvät peräkkäin. Triplettikoodi tarkoittaa sitä, että koodisanat DNA:ssa muodostuvat kolmen nukleotidin ryhmistä. Koodin pilkuttomuus tarkoittaa sitä, että koodisanojen välissä ei esiinny mitään nukleotidia ikään kuin välimerkinä.

Geneettinen koodi ratkaistiin biokemiallisesti *in vitro* vuoteen 1965 mennessä. Toisin sanoen selvitettiin, mikä koodisana DNA:ssa vastasi mitään aminohappoa. Tässä työssä kunnostautuivat Yhdysvalloissa työskennelleet Marshall W. Nirenberg ja J. Heinrich Matthaei, Har G. Khorana ja Severo Ochoa. Tämän molekyyli-genetiikan suursaavutuksen vaiheet on kerrottu perinnöllisyystieteen parhaissa oppikirjoissa (esim. Bresch & Hausmann, 1972; Griffiths ym., 2008; Janning & Knust, 2004 ja Whitehouse, 1973) eikä niitä toisteta tässä.

Osittain samanaikaisesti näiden vaiheiden kanssa Charles Yanofsky työtovereineen vahvisti koodin pitävän paikkansa myös *in vivo* (Yanofsky, 1963; Yanofsky ym., 1966). He päätyivät tähän johtopäätökseen tutkittuaan *Escherichia coli* -bakteerin tryptofaanisyntetaasia vastaavan geenin mutaatioita. He vertasivat mutaatioiden järjestystä geenin sisärakenteen kartalla ja mutaatioiden entsyymien primaarirakenteessa aiheuttamien muutosten järjestystä. Näiden järjestysten todettiin vastaavan toisiaan (Yanofsky, 1963). Lisäksi he havaitsivat, että mutaatioiden vaikutus entsyymien aminohappojärjestykseen voitiin selittää yhden nukleotidin vaihdoksilla olettaen, että geneettinen koodi piti paikkansa myös *in vivo* (elävässä organismissa). Samalla tavalla voitiin selittää myös geenin sisäisen rekombinaation vaikutukset aminohappojärjestykseen (Yanofsky ym., 1966).

Myös tupakan mosaiikkiviruksella tehdyt mutaatiotutkimukset vahvistivat geneettisen koodin *in vivo*. Tämä virus kuuluu RNA-viruksiin, ja sen genomissa aiheutettiin mutaatioita tyyppihapokkeella, jonka mutageeniset vaikutukset ovat täysin spesifisiä. Se nimittäin aiheuttaa RNA:ssa sytosiinin vaihtumista urasiiliksi ja adeniinin vaihtumista guaniiniksi. (RNA:ssa on emäosana tyymiinin asemesta urasiili). Tutkittiin kaikkiaan 24 mutaation vaikutus viruk-

sen kuoriproteiinin aminohappojärjestykseen. Niistä 23 voitiin selittää yllämainitun kaltaisilla yhden emäksen vaihdoksilla olettaen, että geneettinen koodi pitää paikkansa myös *in vivo*. Jäljelle jäänyt yksi poikkeustapaus tulkittiin spontaaniksi mutaatioksi (Wittmann & Wittmann-Liebold, 1966).

Geneettisen koodin osoitettiin olevan universaalinen. Tämä tarkoittaa sitä, että käytännöllisesti katsoen kaikki Maan organismit, olipa sitten kyseessä virus, bakteeri, arkki, sieni, kasvi tai eläin, käyttävät samaa koodia, mikä seikka on yksi evoluutioteorian vahvimpia todisteita. Tästä säännöstä esiintyy vain hyvin harvoja poikkeuksia, esimerkiksi mitokondrioiden genomissa joillakin harvoilla kooditripleteillä on eri merkitys kuin tuman genomissa.

Sen jälkeen kun DNA:ta katkaisevat bakteerien restriktioentsyymit oli 1960- ja 1970-luvun taitteessa löydetty ja niiden toimintatapa kuvattu, kävi mahdolliseksi eristää, monistaa, siirtää keinotekoisesti vaikkapa lajista toiseen ja sekvensoida geenejä (Portin, 1993). Sekvensoimalla voitiin analysoida yksittäisten geenien biokemiallista hienorakennetta ja johdonmukaisesti siis myös kokonaisten genomien hienorakennetta.

Ensimmäisen geenisiirron lajista toiseen teki yhdysvaltalaisen Paul Bergin johtama tutkimusryhmä vuonna 1972 (Jackson ym., 1972). He siirsivät yhtä aikaa erään viruksen ja erään bakteerin geneettistä materiaalia erään toisen viruksen genomien osaksi. Samalla menetelmällä voidaan rakentaa erilaisia yhdistelmä-DNA-molekyylejä eli rekombinantti-DNA-molekyylejä, jotka sisältävät DNA:ta eri lähteistä.

Viemällä haluttu DNA-segmentti tällaisen yhdistelmä-DNA-molekyylin osaksi ja käyttämällä erityisiä kuljettimia (vektoreita), on mahdollista siirtää vaikkapa ihmisen DNA:ta bakteerisoluihin ja monistaa sitä siellä. Vaihtoehtoisesti monistuksessa voidaan käyttää Kary Mullisin 1983 keksimää polymeerasiketjureaktiota (Bartlett & Stirling, 2003). Molemmilla tavoilla saadaan riittävän suuri määrä kyseistä DNA:ta erilaisia kemiallisia ja biokemiallisia tutkimuksia varten. Geenistä voidaan vaikkapa laatia fysikaalinen kartta restriktiokartoituksen

avulla (Southern, 1975) tai kyseinen DNA-segmentti voidaan sekvensoida.

Sekvensoinnissa määritetään DNA:n nukleotidien järjestys eli niin sanottu emäsjärjestys. Ensimmäiset menetelmät DNA:n sekvensoimiseksi olivat Frederick Sangerin työtovereineen kehittämä entsyymattinen menetelmä (Sanger ym., 1977) sekä Allan M. Maxamin ja Walter Gilbertin keksimä kemialliseen hajotukseen perustuva menetelmä (Maxam & Gilbert, 1977). Myöhemmin on kehitetty paljon nopeampia ja halvempia menetelmiä, joista useimpien perusperiaate on samanlainen kuin näissä ensimmäisissä menetelmissä: DNA pilkotaan määräkohdistista fragmenteiksi ja sen jälkeen fragmentit ajetaan kokonsa perusteella erilleen elektrofooresilla tai sitä vastaavalla tavalla. Aivan uusimmissa sekvensointimenetelmissä sen sijaan havainnoidaan suoraan yksittäisiä DNA-molekyylejä. Näistä kaikkein uusimmat perustuvat nanotekniikkaan.

Geenien ja genomien sekvensointi on tarkinta mahdollista geenikartoitusta. Nytemmin on analysoitu yksityiskohtaisesti lukemattomien tumallisiin organismeihin kuuluvien lajien genomit kokonaan puhumattakaan bakteereista, arkeista ja viruksista. Tämä on johtanut aivan uuteen tutkimuksen orientaatioon biologian kaikilla aloilla lääketiede mukaan luettuna.

Edellä kuvatun molekyyliogenetiikan voittokulun ehtona on ollut DNA:n rakennemallin keksiminen 60 vuotta sitten. Tässä kerrotut keksinnöt ja löydöt ovat tuoneet tekijöilleen lukuisia Nobelin palkintoja. Alan kehityksen tähänastisena huipentumana voidaan pitää ihmisen genomien täydellisen sekvenssin julkaisemista ensin luonnoksena helmikuussa 2001 (International Human Genome Sequencing Consortium, 2001; Venter ym., 2001) ja sitten lopullisessa muodossaan lokakuun 21. päivänä 2004 (International Human Genome Sequencing Consortium, 2004). Tämä sekvenssi muodostaa perustan biolääketieteelliselle tutkimukselle vuosikymmeniksi eteenpäin.

Kiitokset

Ystävänä professori Harri Savilahti luki käsikir-

joituksen ja teki siihen monia parannusehdotuksia, mistä lausun hänelle suuren kiitoksen.

Kirjallisuus

- Alloway, J.L. 1932. The transformation in vitro of R pneumococci into S form of different specific types by the use of filtered pneumococcal extracts. *Journal of Experimental Medicine* 55: 91–99.
- Altmann, R. 1889. Über Nukleinsäuren. *Archives für Anatomie und Physiologie. Leipzig Physiologische Abteilung*, 524–536.
- Avery, O.T., MacLeod, C.M. & MacCarty, M. 1944. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of Pneumococcal types. Induction of transformation by a deoxyribonucleic acid fraction isolated from Pneumococcus type III. *Journal of Experimental Medicine* 79: 137–159.
- Bartlett, J.M. & Stirling, D. 2003. A short history of the polymerase chain reaction. *Methods in Molecular Biology* 226: 3–6.
- Beadle, G.W. & Tatum, E.L. 1941. Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 27: 499–506.
- Boveri, T. 1902. Über mehrpolige Mitosen als Mittel zur Analyse des Zellkerns. *Verhandlungen der physikalisch-medizinische Gesellschaft zu Würzburg N.F.* 35: 60–90.
- Boveri, T. 1904. *Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns*. Jena: Gustav Fischer.
- Bresch, C. & Hausmann, R. 1972. *Klassische und molekulare Genetik*. Kolmas laajennettu laitos. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.
- Chargaff, E. 1950. Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation. *Experientia* 6: 201–209.
- Chargaff, E. 1951. Structure and function of nucleic acid as cell constituent. *Federation Proceedings* 10: 654–659.
- Chargaff, E., Vischer, E., Doniger, R., Green, C. & Misani, F. 1949. The composition of the desoxyribose nucleic acid of thymus and spleen. *Journal of Biological Chemistry* 177: 405–416.
- Crick, F. 1970. Central dogma of molecular biology. *Nature* 227: 561–563.
- Crick, F.H.C. 1958. On protein synthesis. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 12: 138–167.
- Crick, F.H.C., Barnett, L., Brenner, S. & Watts-Tobin, R.J. 1961. General nature of the genetic code for proteins. *Nature* 192: 1227–1232.
- Dahm, R. 2008. Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research. *Human Genetics* 122: 565–581.
- Dawson, M.H. & Sia, R.H.P. 1931. In vitro transformation of pneumococcal types. I. A technique for inducing transformation of pneumococcal types in vitro. *Journal of Experimental Medicine* 54: 681–700.
- Dounce, A.L. 1952. Duplicating mechanism for peptide chain and nucleic acid synthesis. *Enzymologia* 15: 503–507.
- Franklin, R.E. & Gosling, R.G. 1953. Molecular structure of nucleic acids. Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature* 171: 740–741.

- Gamow, G. 1954. Possible relation between deoxyribonucleic acid and protein structures. *Nature* 173: 318.
- Griffith, F. 1928. Significance of pneumococcal types. *Journal of Hygiene* 27: 113–159.
- Griffiths, A.J.F., Wessler, S.R., Lewontin, R.C. and Carroll, S.B. 2008. *Introduction to Genetic Analysis*. Yhdessä laitos. New York: W. H. Freeman and Company.
- Hershey, A.D. & Chase, M. 1952. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *Journal of General Physiology* 36: 39–56.
- Hollaender, A. & Emmons, C.W. 1941. Wavelength dependence of mutation production in ultraviolet with special emphasis on fungi. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 9: 179–186.
- International Human Genome Sequencing Consortium 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860–921.
- International Human Genome Sequencing Consortium 2004. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 431: 931–945.
- Jackson, D., Symons, R. & Berg, P. 1972. Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of simian virus 40: circular SV40 DNA molecules containing lambda phage genes and the galactose operon of *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 69: 2904–2909.
- Jahn, I. (toim.) 1998. *Geschichte der Biologie. Theorien, Methoden, Institutionen, Kurzbiographien*. Kolmas uudistettu ja laajennettu painos. Jena: Gustav Fisher.
- Janning, W. & Knust, E. 2004. *Genetik: Allgemeine Genetik, Molekulare Genetik, Entwicklungs-genetik*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.
- Knapp, E. & Schreiber, H. 1939. Quantitative Analyse der mutationsauslösenden Wirkung monochromatischen UV-Lichtes in Spermatozoiden von *Sphaerocarpus*. Teoksessa R.C. Punnett (toim.) *Proceedings of the 7th International Congress of Genetics, Edinburgh*. Cambridge: Cambridge University Press, 175–176.
- Kossel, A. & Neumann, A. 1893. Über das Thymin, ein Spaltungsprodukt der Nukleinsäure. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 26, 2753–2756.
- Kossel, A. 1913. Beziehungen der Chemie zur Physiologie. Teoksessa E. Meyer (toim.) *Die Kultur der Gegenwart, ihre Entwicklung und ihre Ziele: Chemie*. Leipzig: Teubner, 376–412.
- Maxam, A.M. & Gilbert, W. 1977. A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 74: 560–564.
- Mendel, G. 1866. Versuche über Pflanzenhybriden. *Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn* 4: 3–47.
- Meselson, M. & Stahl, F.W. 1958. The replication of DNA in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 44: 671–682.
- Miescher, F. 1871. Über die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen. *Hoppe-Seyler's medizinisch-chemische Untersuchungen* 4: 441–460.
- Miescher, F. 1874a. Das Protamin, eine neue organische Basis aus den Samenfäden des Rheinlachs. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 7: 376–379.
- Miescher, F. 1874b. Die spermatozoen einiger Wildbertiere. Ein Beitrag zur Histochemie. *Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft in Basel* 6: 138–208.
- Mirsky, A.E. 1968. The discovery of DNA. *Scientific American* 218: 78–88.
- Morgan, T.H. 1919. *The Physical Basis of Heredity*. New Haven: Yale University Press.
- Morgan, T.H. 1926. *The Theory of the Gene*. New Haven: Yale University Press.
- Olby, R.C. 1994. *The Path to the Double Helix: The Discovery of DNA*. Mineola: Dover Publications.
- Portin, P. 1993. The concept of the gene: Short history and present status. *The Quarterly Review of Biology* 68: 173–223.
- Portugal, F.H. & Cohen, J.S. 1977. *A Century of DNA*. Cambridge: MIT Press.
- Sanger, F., Nicklen, S. & Coulson, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-termination inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 74: 5463–5467.
- Southern, E.M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *Journal of Molecular Biology* 98: 503–517.
- Srb, A.M. & Horowitz, N.H. 1944. The ornithine cycle in *Neurospora* and its genetic control. *Journal of Biological Chemistry* 154: 129–139.
- Stadler, L.J. & Uber, F.M. 1942. Genetic effects of ultraviolet radiation in maize. IV Comparison of monochromatic radiation. *Genetics* 27: 84–118.
- Sutton, W.S. 1903. The chromosomes in heredity. *Biological Bulletin (Woods Hole)* 4: 231–251.
- Watson, J.D. & Crick, F.H.C. 1953a. Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171: 737–738.
- Watson, J.D. & Crick, F.H.C. 1953b. Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature* 171: 964–967.
- Watson, J.D. & Crick, F.H.C. 1954. The structure of DNA. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 18: 123–131.
- Watson, J.D. 1968. *The Double Helix: A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA*. New York, NY: Atheneum.
- Watson, J.D. 1969. *Kaksoiskierre: Henkilökohtainen selonteko DNA:n rakenteen keksimisestä*. Suomentanut Otto Hokkala. Helsinki: Weilin & Göös.
- Venter, J.C. ja 275 muuta tekijää 2001. The sequence of the human genome. *Science* 291: 1304–1351.
- Whitehouse, H.L.K. 1973. *Towards an Understanding of the Mechanism of Heredity*. Kolmas laitos. Lontoo: Edward Arnold.
- Wilkins, M.H.F., Stokes, A.R. & Wilson, H.R. 1953. Molecular structure of nucleic acids. Molecular structure of deoxypentose nucleic acids. *Nature* 171: 738–740.
- Wittmann, H. G. & Wittmann-Liebold, B. 1966. Protein chemical studies of two RNA viruses and their mutants. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 31: 163–172.
- Yanofsky, C. 1963. Amino acid replacements associated with mutation and recombination in the A gene and their relationship to *in vitro* coding data. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 28: 581–588.
- Yanofsky, C., Ito, J. & Horn, V. 1966. Amino acid replacements and the genetic code. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 31: 151–162.

Kirjoittaja on Turun yliopiston perinnöllisyysteiden professori (emeritus).