

Joanna Iwanicka

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

***Analiza przykładowych modeli DNA w świetle koncepcji modelu teoretycznego Evelyn
Fox Keller***

Model teoretyczny. Model w ujęciu Evelyn Fox Keller.

Wieloznaczność pojęcia modelu sprawia, iż w literaturze przedmiotu można znaleźć wiele, często ze sobą niezgodnych, jego analiz oraz klasyfikacji. Można również wyróżnić wiele definicji modelu, których przydatność metodologiczna jest względna i zależy przede wszystkim od rodzaju zagadnień, jakie są rozważane. W analizie wiedzy empirycznej dwoma głównie omawianymi rodzajami są jednak modele semantyczne oraz modele teoretyczne.

Modele semantyczne są związane z programem logicznej rekonstrukcji wiedzy, a metody semantyki teoriomodelowej znalazły głównie zastosowanie w zrekonstruowanych na gruncie logiki teoriach naukowych. Jednak w związku z koniecznością zastosowania dla posługiwania się nimi mocnych założeń idealizacyjnych oraz w związku z faktem, iż nie oddawały one w pełni intuicji związanych z pojęciem modelu, jakie jest stosowane w naukach empirycznych, zaproponowano w metodologii kolejne pojęcia modelu, z których na szczególną uwagę zasługuje właśnie pojęcie modelu teoretycznego [Zeidler 1997, 54].

Semantyka teoriomodelowa wykorzystuje aparat pojęciowy matematycznej teorii modeli, przy czym zastosowanie tej teorii do analizy wiedzy empirycznej spotkało się z krytyką między innymi dlatego, iż obiekty świata realnego, w przeciwieństwie do konstruktów matematycznych, nie posiadają nigdy pełnej charakterystyki. Argumenty te wskazywały, iż powstała ona w celu badania obiektów o odmiennej naturze niż przedmioty badań nauk empirycznych. Wydaje się jednak, iż zastosowanie metod

teoriomnogościowych oraz matematyki było podejściem całkowicie naturalnym w sytuacji, gdy metodologia nauk empirycznych nie posiadała własnych, odpowiednio precyzyjnych metod badawczych. Odejście od stosowania semantyki teoriomodelowej do teorii empirycznych jest współcześnie w większym stopniu związane ze zbyt mocnymi założeniami przyjmowanymi przez neopozytywistów w stosunku do języka teorii empirycznej, które przejawiają się w przeprowadzeniu podziału terminów pierwotnych danej teorii na terminy teoretyczne i obserwacyjne. Terminy obserwacyjne są interpretowane ostensywnie, natomiast terminy teoretyczne uzyskują sens empiryczny poprzez powiązanie ich z wymienionymi wcześniej za pomocą postulatów znaczeniowych. Dwa podstawowe warunki jakie są nakładane na postulaty znaczeniowe to warunek semantycznej nietwórczości, oraz jednoznaczności wyznaczanych przez nie interpretacji terminów teoretycznych. Warunki te mogą być spełnione równocześnie jedynie przez definicje o postaci równoważnościowej. Postulaty w takiej postaci przyjmowane były jedynie na początku, a dalszy rozwój badań neopozytywistów doprowadził do osłabienia związków terminów teoretycznych z obserwacyjnymi, co doprowadziło do powstania kanonicznego modelu teorii empirycznej.

Antypozytywistycznie nastawieni filozofowie nauki dążyli natomiast do stworzenia opisu praktyki badawczej, który byłby oparty na mniejszej liczbie założeń idealizacyjnych, i podawałby taką eksplikację pojęcia modelu, która oddawałaby istotne właściwości modeli budowanych w naukach empirycznych. Modele te tworzą obszerną i zróżnicowaną klasę tzw. modeli przedmiotowych, wśród których można wyróżnić modele teoretyczne.

Próby precyzyjnego zdefiniowania tego ostatniego terminu napotkały duże trudności, w związku z czym uzasadnionym podejściem wydaje się być wskazanie jedynie zakresu tego pojęcia oraz niektórych z jego najważniejszych funkcji. Przypisuje się mu bowiem między innymi pełnienie w nauce roli: reprezentacyjnej, heurystycznej, eksplanacyjnej oraz konstrukcyjnej. Wskazanie cech konstytutywnych modeli teoretycznych nie jest łatwe, a sami uczeni nie są zgodni co do tego, jakie właściwości jednoznacznie odróżniają je od teorii naukowych. (Jednym z wyznaczonych ramowo

pojęć modelu jest np. charakterystyka modelu teoretycznego przedstawiona przez P. Achinstein, w oparciu o szczegółową analizę modeli teoretycznych budowanych w nauce) [Zeidler 1997, 56-57].

Interesującym podejściem do zagadnienia modelu teoretycznego jest stanowisko Evelyn Fox Keller, w świetle którego rola narzędziowa modelu wydaje się pierwotna w stosunku do jego funkcji reprezentacyjnej. Zdaniem Keller, krytyka ze strony wielu filozofów oraz historyków, dotycząca konwencjonalnego dychotomicznego podziału na praktykę oraz teorię badań naukowych, była główną przyczyną poszukiwań nowych sposobów pisania o nauce, które wierniej charakteryzowałyby działalność uczonych, również w zakresie dyscyplin przyrodniczych. Zgodnie z jej opinią, potrzeba stworzenia takiego opisu jest szczególnie istotna dla zrozumienia miejsca teorii oraz roli modelowania w takich dziedzinach nauki jak na przykład biologia molekularna. Powodem tego jest między innymi fakt, iż w obszarze zagadnień tej dziedziny granica pomiędzy teorią i eksperymentem wydaje się szczególnie nieostra, a działalność doświadczalna jest często oparta na obszernych i skomplikowanych analizach teoretycznych oraz modelowaniu. Keller podejmuje próbę opisu praktyki teoretycznej w pracy naukowej biologów, który wyprowadza bezpośrednio z analizy ich działalności badawczej, posiadającej charakter kombinacji elementów konceptualnych oraz materialnych. Przykładem tejże praktyki teoretycznej, na jakim koncentruje się ona w jednym ze swoich tekstów, jest analiza rozwoju modelu regulacji genów z prac eksperymentalnych Erica Davidsona i jego współpracowników z Cal Tech. Wynika z niej, iż cechą istotną działalności teoretycznej w obrębie biologii nie wydaje się poszukiwanie uniwersalnych praw lub ogólnych abstrakcyjnych zasad działania, lecz bardziej skonkretyzowanych wyjaśnień teoretycznych, jakie są niezbędne dla nadania sensu wynikom manipulacji w obszarze eksperymentalnym. W związku z tym, stawiając sobie za cel znalezienie adekwatnego opisu tej działalności, autorka zakłada, że na wstępie potrzebne jest odejście od przyjmowanego *a priori* podziału na teorię i praktykę.

Rozpoczyna ona swoją analizę od przywołania koncepcji modeli zawartej w pracach Nancy Cartwright i Margaret Morrison, rozumianych jako swoiste "narzędzia"

lub "instrumenty", których zadaniem jest w pierwszej kolejności umożliwienie zrozumienia, czyli zastosowanie w obszarze konceptualnym interpretacji i reprezentacji, w drugiej zaś dopiero dokonywanie manipulacji w materialnym świecie.

Nancy Cartwright wskazuje w szczególności na to, w jaki sposób naukowe zrozumienie świata jest uwarunkowane, czy wręcz zakodowane w wynikach uzyskiwanych za pomocą instrumentów badawczych, stosowanych technik matematycznych, metod przybliżania wyników, warunków laboratoryjnych oraz struktury rozwoju przemysłowego. W jej rozumieniu „narzędzia poznania” nie posiadają charakteru twierdzeń naukowych, lecz zdolnych do adaptacji „elastycznych” narzędzi, służących do interpretacji i reprezentacji fragmentów świata, w sposób mniej lub bardziej użyteczny. Nie należy więc ich oceniać w kategoriach prawdy lub fałszu, lecz na przykład pod kątem ich większej lub mniejszej dokładności, z jaką są w stanie przewidywać zachowanie konkretnego układu.

Margaret Morrison również przedstawia instrumentalistyczny sposób widzenia modeli. Podobnie jak Cartwright, Morrison uważa, że ich podstawową funkcją jest rola reprezentacyjna, podkreślając, iż nie są one obiektami, do których można stosować pojęcia prawdy i fałszu. Legitymizacją zastosowania modelu ma być jego „wydajność eksperymentalna”, efektywne zastosowanie w inżynierii i innych rodzajach działalności manipulacyjnej, zamiast ich przybliżanie do prawdy [Morrison 1998, 81]. Morrison opisuje wiele typów modeli oraz odpowiednio szeroki zakres ich funkcji (włącznie ze znaczeniem wykonywania materialnych instrumentów takich jak soczewki), ale jej uwaga koncentruje się głównie (podobnie jak w przypadku Cartwright) na dynamice modelowania, szczególnie na jego roli w rozwoju teorii. W jednej ze wspólnych prac Morrison razem z Morgan wyraziła opinię, iż "tak, jak używamy narzędzi jako instrumentów do budowania rzeczy, tak używamy modeli jako instrumentów do budowania teorii" [Keller 2000, 73-74].

W obydwu stanowiskach istotną rolę pełni metafora instrumentu w odniesieniu do modelu, której zadaniem jest uchwycenie i scharakteryzowanie jego funkcji jako pośrednika pomiędzy dwoma przeciwstawnymi obszarami: sferą rzeczy i sferą teorii. Większość spośród modeli rozpatrywanych przez wspomnianych autorów nie należy do

żadnej z tych płaszczyzn. Mogą one być bytami teoretycznymi, ale w rzeczywistości same jej nie stanowią, ponieważ zarówno sposób ich konstruowania, jak i funkcjonowanie wykazuje pewną niezależność w stosunku do obowiązujących teorii. Właśnie ta częściowa autonomia modeli ma pozwalać na określenie ich mianem „narzędzi”, służących również dalszemu „wytwarzaniu” wiedzy.

Evelyn Fox Keller zadaje pytanie, gdzie należy w takim razie umieścić modele przy założeniu tak przeprowadzonego podziału na świat teorii oraz rzeczy oraz co stanowi o ich szczególnej funkcji mediatorów pomiędzy tymi zasadniczo różnymi płaszczyznami? Jej zdaniem dla realistycznego opisu działalności naukowców jest niezbędne większe zradykalizowanie poglądu o mieszanym charakterze teoretyczno-doświadczalnym pracy badawczej. Biologia stanowi tu dobry przykład ze względu na tradycyjnie ugruntowany brak podziału w jej obszarze na wymiar czysto teoretyczny oraz czysto doświadczalny.

Przy dość powszechnym braku zainteresowania ze strony biologii molekularnej czysto abstrakcyjną teorią, autorka wykazuje, iż inny rodzaj działalności teoretycznej jest niezbędny w tej dziedzinie. Przywołuje ona wstępnie proste rozróżnienie na dwa znaczenia terminu teoria, jakie przypisuje mu słownik Webstera: pierwsze to "analiza zbioru faktów w ich relacji względem siebie", a drugie "ogólne lub abstrakcyjne zasady rządzące zbiorem faktów". Wyjaśnia, iż nieobecność teorii w niektórych naukach biologicznych, takich jak biologia molekularna, dotyczy jedynie drugiego z tych znaczeń oraz wskazuje, iż zarówno interpretacja danych doświadczalnych, jak i projektowanie nowych eksperymentów zależy od rozległej i skomplikowanej teoretycznej analizy możliwych relacji pomiędzy zebranymi danymi.

W analizie rozwoju genetyki molekularnej można zaobserwować znaczenie, jakie ma budowa tymczasowych modeli formułowanych dla integracji nowych danych z wcześniejszymi obserwacjami z podobnych doświadczeń. Z uwagi na wzrost złożoności danych doświadczalnych, równolegle następuje komplikacja modeli wykonanych w celu nadania sensu zebranym obserwacjom. Tego typu modele mogą wydawać się zupełnie odmienne od tych, jakimi posługuje się na przykład fizyka teoretyczna, ale są one, zdaniem autorki, modelami teoretycznymi, w większym stopniu w pierwszym z

przytoczonych powyżej znaczeniu tego słowa. Stanowią one dobre przykłady modeli "narzędzi" lub "instrumentów", służących koncepcyjnemu rozwojowi nauki, co stanowi poparcie dla tez wysuwanych przez Morrison, Cartwright oraz Morgan. Jednocześnie są one jednak zdaniem Evelyn Fox Keller, instrumentami, jakie umożliwiają fizyczną interwencję w świecie. Autorka przytacza dla zilustrowania takiego stanowiska przykład modelu regulacji genów zaczerpnięty z prac Erica Davidsona i jego współpracowników, (opisujący strukturę organizacyjną z promotora transkrypcji Endo 16, genu kodującego wielofunkcyjne białko, które ma fundamentalne znaczenie dla końcowego etapu rozwoju zarodka jeźowca) [tamże, 74-77].

Wybrane przykłady modeli DNA.

Ogromne zainteresowanie, jakim cieszy się DNA, wiąże się z aktualnie powszechnie znanym faktem, iż kwas ten stanowi cząsteczkę dziedziczności u wszystkich znanych organizmów prokariotycznych i eukariotycznych, a także, podobnie jak RNA, pełni rolę materiału genetycznego w przypadku wirusów [Stryer 1997, 93]. Jest to długa makrocząsteczka, zbudowana z dużej ilości jednostek monomerycznych – deoksyrybonukleotydów. Każda z nich składa się z zasady, cukru deoksyrybozy i jednej lub kilku grup fosforanowych. Reszty cukrowe i fosforanowe pełnią w niej rolę strukturalnego szkieletu, natomiast zasady stanowią właściwy nośnik informacji [tamże, 76].

Zdolność DNA do przenoszenia informacji genetycznej została wykazana pierwszy raz w doświadczeniach Avery, MacLeod i McCarty w roku 1944 [Granner 1995, 443]. Powszechnie jednak uznano znaczenie DNA jako materiału genetycznego dopiero po opublikowaniu przez Jamesa Watsona i Francisa Cricka pracy, w której zaproponowali oni model budowy tej cząsteczki. Szczególny wkład obydwu uczonych polegał na bardzo trafnym powiązaniu faktów dotyczących DNA oraz jego fizycznych i chemicznych właściwości, jakich dostarczyły prace współczesnych im naukowców. Niezwykle ważnym źródłem informacji o tej cząsteczce były wówczas badania dyfrakcji promieni X na kryształach oczyszczonego DNA, prowadzone przez Rosalind Franklin w laboratorium M. H. F. Wilkinsa. Pomiar dyfrakcji stanowił podstawę wyznaczenia

odległości pomiędzy regularnymi i powtarzającymi się elementami budowy cząsteczki badanego kwasu. Otrzymane przez nią zdjęcia ukazywały charakterystyczny wzór rozpraszania, ukazujący budowę helikalną oraz okresy powtarzalności trzech głównych struktur. Franklin i Wilkins wyciągnęli z posiadanego materiału wnioski, iż płaskie zasady są ułożone w DNA w postaci stosu, podobnie do szczebli drabiny. Na bazie tej wiedzy Watson i Crick zaczęli konstruować powiększone w skali modele DNA, dopasowując ich składniki tak, aby ostatecznie osiągnąć wynik odpowiadający danym doświadczalnym [Solmon, Berg, Martin, Vिलее 1996, 265-267].

Miesiąc po przedstawieniu modelu struktury DNA Watson i Crick opublikowali swoją hipotezę, zgodnie z którą specyficzność parowania determinuje porządek zasad drugiego łańcucha DNA. Model ten zakładał, iż cząsteczka stanowi po rozerwaniu parę matryc dla tworzenia nowych łańcuchów [Stryer 1997, 84].

Współcześnie stosuje się różnorodne i niekiedy bardzo złożone metody modelowania DNA. Rekombinowanie i klonowanie stanowią przykładowo jedną z prób rozwiązania problemu wyodrębniania w dużym genomie organizmów wyższych pojedynczych genów, które mogą stanowić niekiedy nawet jedynie jedną kilkuset tysięczną część całej jego długości. Proces ten polega, w dużym uproszczeniu, na: fragmentowaniu oczyszczonego DNA, łączeniu go z cząsteczkami wektorowymi, a następnie namnażaniu komórek, do których zostały wprowadzone wcześniej zrekombinowane wektory.

Narzędziami do fragmentowania DNA mogą być enzymy restrykcyjne, ale niekiedy stosuje się również takie metody, jak oddziaływanie ultradźwiękami na cząsteczkę, czy też przepuszczanie jej przez wąską kapilarę. Następnie łączy się przy użyciu ligazy DNA otrzymane wcześniej fragmenty z cząsteczkami wektorowymi, które posiadają zdolność samodzielnej replikacji w komórce. Dzięki temu zrekombinowana cząsteczka po wnikięciu do komórki, umożliwia powielanie połączonego z nią fragmentu w kolejnym etapie procesu, określanym jako klonowanie DNA.

W ten sposób można uzyskać bank genów całego organizmu, w postaci klonów komórek, np. bakterii. Możliwe jest także nie tylko wyodrębnianie z żywych organizmów, ale również syntetyzowanie chemiczne lub enzymatyczne

oligonukleotydów o określonej długości i sekwencji, które następnie są łączone za pomocą ligazy DNA w geny kodujące określone białka.

Inny rodzaj bibliotek powstaje w procesie enzymatycznej syntezy DNA, w której matrycą jest najczęściej cząsteczka mRNA, „przepisywana” za pomocą odwrotnej transkryptazy na DNA. Uzyskuje się w ten sposób biblioteki cDNA, czyli odcinków egzonowych (kodujących) w badanej sekwencji [Węgleński, Fikus 1995, 158].

Narzędziem modelowania DNA jest również polimerazowa reakcja łańcuchowa, enzymatyczna metoda wielokrotnego kopiowania dwuniciowego DNA, które może stanowić np. sekwencję określonego genu. Jest to użyteczna metoda pozwalająca na uzyskanie ilości DNA niezbędnej do przeprowadzenia dalszych jego skutecznych analiz [Granner 1995, 547]. Pozwala ona badać, klonować i sekwencjonować geny bez konieczności używania w tym celu wektorów plazmidowych i fagowych [Sanak, Szczeklik 1998, 152-159].

Wynaleziona w roku 1984 przez Kary Mullis metoda PCR umożliwia powielenie określonej, docelowej sekwencji i zszytyzowanie milionów jej kopii, pod warunkiem, iż znana jest sekwencja oskrzydłająca docelowy odcinek DNA. Oznacza to, iż jeśli sekwencja docelowa C znajduje się w nici A-B-C-D-E, (o znanych sekwencjach B i D), do której komplementarna jest nić A'-B'-C'-D'-E', reakcję PCR można przeprowadzić dodając do roztworu zawierającego tę sekwencję: dwa odcinki starterowe B i D', trifosforany wszystkich czterech deoksyrybonukleotydów, oraz termostabilną polimerazę DNA [Stryer 1997, 136-137].

W pierwotnej wersji przeprowadzenie reakcji namnażania kopii DNA *in vitro*, nazywanej również amplifikacją, wymagało dodania w każdym kolejnym cyklu porcji enzymu – polimerazy wytwarzanej przez *E. coli*, który to enzym następnie ulegał zniszczeniu na etapie denaturacji DNA. Niedogodność ta została wyeliminowana dzięki zastosowaniu w 1987 roku polimerazy termostabilnej, pochodzącej z bakterii *Thermophilus aquaticus*, żyjących w gorących źródłach wulkanicznych. Enzym ten jest wytrzymały na ogrzewanie nawet do 96°C, co jest niezbędne do roztopienia dwuniciowego DNA [Sanak, Szczeklik 1998, 152-159].

Etapy te można powtarzać wielokrotnie, z bardzo dużą wydajnością, ponieważ

cechą charakterystyczną metody PCR jest to, iż wszystkie nowe cząsteczki DNA służą jako matryce w kolejnych jej cyklach [Stryer 1997, 136-137]. Reakcję można zatem prowadzić bez otwierania probówki, stosując nawet 30-40 cykli ogrzewania i chłodzenia [Sanak, Szczeklik 1998, 152-159]. Metoda ta pozwala na powielanie dowolnej sekwencji DNA o długości od kilkuset do kilku tysięcy nukleotydów. W kolejnych powtórzeniach uzyskiwana mieszanina staje się stopniowo coraz bardziej jednorodnym produktem, złożonym głównie z powielanych fragmentów DNA. Ich liczba narasta prawie wykładniczo jak 2^n , gdzie n oznacza liczbę cykli [Stryer 1997, 136-137].

Amplifikacja docelowego odcinka DNA znajdującego się w otoczeniu niekiedy miliardów par zasad jest możliwa dzięki doborowi odpowiedniej pary oligonukleotydów początkujących reakcję (czyli starterów) oraz odpowiedniej temperatury reakcji. Sprzyja to ich dokładnemu dopasowaniu do matrycy DNA. Istnieje wiele reguł doboru starterów. Powinny się one składać co najmniej z 18 nukleotydów, być komplementarne w stosunku do przeciwstawnych nici DNA, a odcinek DNA "oskrzydłony" parą starterów nie może być większy niż kilka tysięcy par nukleotydów. Praktyka doświadczalna nakłada pewne dodatkowe ograniczenia dotyczące doboru odpowiednich warunków reakcji. Liczba cząsteczek matrycy poddanej amplifikacji wynosi kilkaset do kilku tysięcy, co odpowiada ułamkom mikrograma genomowego DNA człowieka, natomiast zastosowanie specjalnych procedur umożliwia amplifikowanie nawet pojedynczych cząsteczek DNA [Sanak, Szczeklik 1998, 152-159].

Cechy, które są szczególnie istotne w przypadku metody powielania PCR, to:

- brak konieczności wcześniejszego poznania sekwencji powielanego odcinka;
- fakt, iż powielany odcinek może być znacznie dłuższy niż odcinki starterowe;
- fakt, iż odcinki starterowe nie muszą być idealnie komplementarne do rejonów oskrzydających rejon docelowy;
- fakt, iż jest ona metodą bardzo specyficzną;
- fakt, iż jest metodą bardzo czułą [Stryer 1997, 138].

Zastosowanie metody PCR jest dzięki temu szerokie, a jako jeden z jego najbardziej spektakularnych przykładów można przytoczyć między innymi namnażanie

DNA z mumii egipskich, czy też szczątków wymarłych organizmów zachowanych w lodowcach lub w bursztynie. Ważną rolę pełni też w diagnostyce chorób dziedzicznych, przy ustalaniu ojcostwa oraz w kryminalistyce, gdzie umożliwia ustalenie pochodzenia śladów krwi, włosów itp. w sytuacji, gdy zachowana jest jedynie śladowa ilość materiału DNA matrycowego [Węgleński, Fikus 1995, 182].

Metoda PCR jest stosowana praktycznie w każdej dziedzinie biologii molekularnej. Może być narzędziem w poszukiwaniu mutacji i zmienności genetycznej populacji; stosowana w diagnostyce medycznej pozwala z ogromną czułością wykazać obecność nawet śladowej liczby komórek nowotworowych we krwi, prątków gruźlicy w płwocinie czy wirusa brodawczaka w wymazie. PCR zastępuje techniki hybrydizacyjne w selekcji klonów z bibliotek genowych, umożliwia szybkie poszukiwanie nowych genów i ich lokalizację na chromosomach.

Jedną z odmian zastosowania techniki PCR, w której właściwa synteza poprzedzona jest przepisaniem mRNA do cDNA (odwrotną transkrypcją), pozwala na stwierdzenie i ilościową ocenę liczby transkryptów genu i w ten sposób na oszacowanie tempa odczytu genu, czyli jego ekspresji.

Warto również zaznaczyć, iż za pomocą reakcji PCR można w dowolnym odcinku sekwencji genu wprowadzać mutacje. Dzięki temu poprzez badanie zwierząt laboratoryjnych, u których w taki sposób sztucznie wprowadzono zmiany genomu, możliwe jest poszukiwanie molekularnego podłoża licznych chorób [Sanak, Szczelik 1998, 152-159].

Modelowanie komputerowe w badaniach nad rekombinowaniem i klonowaniem czy też amplifikacją metodą PCR kwasu DNA jest niezbędne zarówno na etapie planowania eksperymentów, jak i przy analizie sekwencji genów oraz kodowanych przez nie białek.

Przed przystąpieniem do pracy doświadczalnej często wykonywane jest tzw. klonowanie komputerowe. Odpowiednie aplikacje umożliwiają, za pomocą analizy sekwencji wektorów i innych fragmentów DNA, dobranie najkorzystniejszych dla doświadczenia enzymów restrykcyjnych oraz pozostałych czynników, takich jak np. temperatura reakcji. Przeprowadzają także symulacje możliwych interakcji między

produktami reakcji, które mogą wpływać na przebieg i wynik doświadczenia.

Po zakończeniu amplifikacji DNA używa się natomiast programów, które między innymi wyszukują charakterystyczne sekwencje nukleotydowe, wykonują mapy restrykcyjne oraz porównują uzyskane wyniki z przechowywanymi w bazach danych informacjami na temat znanych już sekwencji DNA występujących np. u innych organizmów. Dzięki temu możliwe jest porównanie badanych fragmentów DNA z podobnymi lub częściowo identycznymi sekwencjami, których funkcja już została zidentyfikowana.

W ten sposób między innymi po raz pierwszy została przypisana onkogenowi określona funkcja fizjologiczna, gdy wykazano, że onkogen *v-sis* ma sekwencję homologiczną do genu kodującego czynnik wzrostu płytek krwi PDGF.

Procedury te znajdują też zastosowanie w badaniu ewolucji genów, ustalaniu pokrewieństwa pomiędzy różnymi organizmami, a także w badaniach nad przestrzenną strukturą DNA, białek oraz podobnych związków o większej złożoności [Węgleński, Fikus 1995, 190]. Jako przykład bazy dostarczającej narzędzi dla takiej analizy można tu podać utworzony w 1988 *National Center for Biotechnology Information*, który jest ogólnodostępnym źródłem danych z zakresu biologii molekularnej. NCBI tworzy publiczne bazy danych, umożliwiające prowadzenie badań biologii obliczeniowej oraz udostępnia narzędzia informatyczne służące do analizy danych genomowych, a także rozpowszechnia informacje biomedyczne. Jednym z narzędzi, jakie są udostępniane, jest aplikacja BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), służąca do odnajdywania podobieństw sekwencji biopolimerów (nukleotydów i białek) [National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>]. Analiza taka ma szczególne zastosowanie w molekularnej genetyce kombinatorycznej, czyli dziedzinie technik badawczych, w której wykorzystywane są różnice w sekwencjach nukleotydowych badanych fragmentów DNA.

W ten sposób – poprzez porównywanie nowych danych ze zgromadzonymi wcześniej – poszukuje się u różnych organizmów na przykład genów homologicznych. Zakłada się powszechnie, iż powstały one w czasie ewolucji z jednego wspólnego genu, natomiast współcześnie są rozproszone na różnych chromosomach i pełnią nieco

odmienne funkcje [Sanak, Szczeklik 1998, 152-159].

Badania porównawcze nad sekwencjami DNA wykazały, iż niektóre geny ewoluują bardzo powoli. Różnią się one przez to w sposób nieznaczny nawet w przypadku organizmów stosunkowo odległych filogenetycznie. Do związków, które wykazują taką stabilność ewolucyjną, należą między innymi histony oraz rybosomalny kwas RNA. Występują one w ogromnej większości u wszystkich organizmów żywych, więc zakłada się, iż powstały bardzo wcześnie w historii ewolucji. Naukowcy traktują je zatem jak „molekularne skamienieliны”, a analiza zmian w ich sekwencjach daje im możliwość śledzenia głównych trendów w ewolucji świata ożywionego. Inne sekwencje, takie jak pseudogeny, introny, odcinki międzygenowe czy genomy mitochondrialne ewoluują stosunkowo szybko. Analiza ich sekwencji jest więc przydatna w badaniach nad gatunkami blisko ze sobą spokrewnionymi.

Punktem wyjścia dla tego typu analiz jest założenie, iż częstość mutacji w czasie ewolucji jest wartością stałą dla danego genu. Wówczas liczba różnic w sekwencji nukleotydowej dwóch homologicznych genów będzie wprost proporcjonalna do czasu, jaki upłynął od rozdzielenia się badanych gatunków w ich filogenezie. Taki „zegar molekularny” pozwala na konstrukcję drzew genealogicznych organizmów żywych, poprzez porównywanie danych z ich sekwencji DNA z danymi paleontologicznymi.

Różne tempo akumulowania substancji nukleotydowych w genach ma odzwierciedlać różnice w sile presji doboru naturalnego wywieranej na daną sekwencję. Na przykład pseudogeny jako geny, które utraciły zdolność kodowania funkcjonalnych białek, nie podlegają aż tak silnemu wpływowi selekcji, ponieważ nie determinują bezpośrednio kształtowania się fenotypu organizmu. Podobnie dzieje się w przypadku intronów i obszarów pomiędzy genami. Tymczasem geny kodujące metabolicznie czynne produkty mogą mieć istotne znaczenie dla funkcji organizmu, a więc eliminacja lub utrwalenie powstałych w nich zmian może być właśnie wynikiem doboru naturalnego [Stępień 1995, 423].

Jedną z powszechnie przyjmowanych hipotez, którą opiera się na dowodach pochodzących z analizy sekwencji genów, jest teza o endosymbiontycznym pochodzeniu mitochondriów i chloroplastów. Zakłada się, iż organelle te powstały w

wyniku symbiozy organizmów będących przodkami obecnych eukariontów oraz organizmów podobnych do żyjących współcześnie cyjanobakterii i bakterii purpurowych. Szacuje się, iż miało to miejsce około 1 mld lat temu. Organizm gospodarza zyskał dzięki temu funkcje metaboliczne, takie jak oddychanie tlenowe, czy fotosynteza, które z czasem stały się dla niego nieodzowne, natomiast geny kodujące białka, jakie uczestniczą w tych procesach, przemieściły się do jądra komórkowego.

Głównych dowodów na poparcie tej tezy dostarczyła analiza sekwencji genów mitochondrialnych i chloroplastów. Wykazano w badaniach nad nimi między innymi, iż promotory genów chloroplastowych mają niektóre obszary bardzo podobne do typowych promotorów prokariotycznych, a np. rybosomalny RNA chloroplastów zawiera sekwencje homologiczne do rRNA z *E. Coli* [tamże, 425].

Wnioski

Modelowanie teoretyczne jest procedurą badawczą, która w decydujący sposób wpłynęła na rozwój biologii molekularnej. Niewątpliwie kluczowe znaczenie posiadały w tym względzie próby zbudowania adekwatnego modelu struktury DNA. Przytoczony powyżej opis działalności naukowców, mającej na celu sekwencjonowanie i porównywanie danych na temat DNA, wydaje się dobrze ilustrować pogląd Evelyn Fox Keller o mieszanym charakterze teoretyczno-doświadczalnym pracy badawczej w biologii molekularnej. Trudno wskazać tu wymiar czysto teoretyczny oraz czysto doświadczalny przeprowadzanej reakcji mającej na celu modelowanie określonych fragmentów DNA, niekiedy jeszcze o nieznannej sekwencji.

Działalność teoretyczna, jaka jest niezbędna w prowadzeniu takich badań, polega w dużej mierze na "analizie zbioru faktów w ich relacji względem siebie" (takiej jak porównywanie baz danych, czy informatyczna symulacja warunków przeprowadzenia reakcji), przez odniesienie się jedynie do niektórych "ogólnych zasad rządzących zbiorem faktów" (np. założeń dotyczących częstości występowania mutacji oraz tempa ewolucji genu). Łatwo też wykazać, iż zarówno interpretacja danych doświadczalnych, jak i projektowanie nowych eksperymentów zależy w obydwu przypadkach od szerokiej i skomplikowanej teoretycznej analizy możliwych relacji

między już zebranymi danymi. Wzrost złożoności pomiarów doświadczalnych wymusza komplikację tworzonych modeli, do analizy których niezbędne okazują się różnorodne aplikacje komputerowe. Programy te stanowią dobre przykłady modeli – narzędzi. Ich zastosowanie służy rozwojowi teorii naukowych, co dobrze ukazują przytoczone wcześniej odkrycia dotyczące onkogenów, czy hipotezy na temat endosymbiontycznego pochodzenia niektórych organelli komórkowych. Jednocześnie modele takie mogą być traktowane jednak, jako instrumenty, które umożliwiają fizyczną interwencję w świecie. Tezę tę ilustrują z kolei przytoczone wcześniej przykłady z zakresu zastosowania ich w obszarze takich dyscyplin, jak medycyna czy kryminalistyka.

Można również zauważyć, iż opisane wcześniej stworzenie przez Watsona i Cricka modelu DNA było ściśle uzależnione od ówczesnego poziomu rozwoju bezpośrednich metod badawczych oraz instrumentów pomiarowych, co wydaje się zgodne z przytoczoną wcześniej opinią Cartwright. Uzyskane przez Rosalind Franklin zdjęcia rentgenowskie DNA, coraz dokładniej ukazujące wzajemne położenie atomów w cząsteczce, umożliwiły obydwu naukowcom prawidłowe określenie struktury cząsteczki.

Model DNA, jaki zbudowali, umożliwił również interpretację otrzymanych wyników pomiarów, stanowiąc ich użyteczną reprezentację. Jednocześnie stanowił również „narzędzie zrozumienia”, ukazując komplementarne ułożenie reszt zasad purynowych i pirymidynowych, a tym samym sugerując możliwy sposób powielania cząsteczki. Obserwacja ta wyznaczyła wówczas dalszy kierunek badań, mających na celu udowodnienie semikonserwatywnego sposobu replikacji DNA.

Postępujący wraz z późniejszymi odkryciami wzrost złożoności danych doświadczalnych wymusił także dalszą komplikację modeli, sporządzanych w celu nadania sensu danym empirycznym. Można więc przyjąć, iż kolejne reprezentacje pełniły tym samym rolę dalszych "instrumentów", służących koncepcyjnemu rozwojowi nauki, co stanowi poparcie dla tez wysuwanych przez Morrison, Cartwright oraz Morgan. Widoczna jest także na tym przykładzie funkcja narzędziowa tego typu późniejszych modeli, i jej nadrzędny charakter względem funkcji reprezentacyjnej, jaką

mogą one również pełnić.

BIBLIOGRAFIA

- Granner, D. K. (1995) *Struktura i funkcja kwasów nukleinowych*, [w:] Murray, R.K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W. (red.), *Biochemia Harpera*, Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
- Granner, D. K. (1995) *Technologia rekombinacji DNA* [w:] Murray, R.K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W. (red.), *Biochemia Harpera*, dz.cyt.
- Keller, E. F. (2000) *Models of and Models for: Theory and Practice in Contemporary Biology* [w:] Don A. Howard (red.), „Philosophy of Science: Proceedings of the 1998 Biennial Meetings of the Philosophy of Science Association in Kansas City, Missouri, October 22-25; Supplement to vol. 67, no. 3, Part II: Symposia Papers” (2000).
- Cartwright N. (1998) *Models*, cyt. za: Keller, E. F. (2000) *Models of and Models for: Theory and Practice in Contemporary Biology* [w:] Don A. Howard (red.), „Philosophy of Science: Proceedings of the 1998 Biennial Meetings of the Philosophy of Science Association in Kansas City, Missouri, October 22-25; Supplement to vol. 67, no. 3, Part II: Symposia Papers ” (2000) dz. cyt.
- Sanak, M., Szczeklik, A. (1998), *Podstawy medycyny molekularnej, Odcinek 3: Diagnostyka molekularna - łańcuchowa reakcja odkryć* [w:] „Medycyna Praktyczna”, 76 (1998).
- Solomon, E. P., Berg, L. R., Martin, D. W. (1996), *DNA: Nośnik Informacji Genetycznej* [w:] prze. Jerzmanowski, A., Jerzmanowska, M. *Biologia*, Warszawa: Multico Oficyna Wydawnicza.
- Stępień, P. (1995) *Molekularne Podstawy Ewolucji* [w:] Węgleński, P. (red.) *Genetyka Molekularna*, Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Stryer, L. (1997) *DNA i RNA: cząsteczki dziedziczności*, [w:] przeł. Augustyniak, J, Michejda, J. (red.), *Biochemia*, Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Stryer, L. (1997) *Poznanwanie genów*, [w:] przeł. Augustyniak, J, Michejda, J. (red.),

Biochemia, dz.cyt.

Węgleński, P., Fikus, M. (1995) *Rekombinowanie i klonowanie DNA* [w:] Węgleński, P. (red.) *Genetyka Molekularna*, dz.cyt.

Zeidler, P. (1997) *Od modelu semantycznego do modelu teoretycznego w metodologii nauk empirycznych* [w:] Kubicki, R., Zeidler, P.(red.), *Od logiki do estetyki*, Poznań: Wydawnictwo Fundacji Humaniora.