از بمب اتم تا کشف ژنوم

کلیدواژه‌ها: رادیوایزوتوپ، فناوری هسته‌ای، DNA ، زیست‌شناسی.

الهه علوی

مقدمه

فناوری هســته‌ای بر پایه‌ی آزاد کردن انرژی حاصل از شــکافت اتم‌های عناصر خاصی اســتوار است. جنگ جهانی دوم به این فناوری رونق بخشید. درآن هنگام پژوهش‌ها برای استفاده از انرژی بی‌بدیل موجود در عناصر رادیواکتیو در تولید سلاح‌های هر چه مخرب‌تر انجام می‌شد. بمب اتم ساخته و به کار گرفته شد. اما این فناوری تازه شکل گرفته، جنبه‌های صلح‌آمیز نیز داشت که فروکش کردن جنگ جهانی دوم مجالی برای پرداختن به آن‌ها داد و بدین ترتیب بود که تولید انرژی و پژوهش‌ها علمی ـ به ویژه در علومی مانند زیست‌شناسی ـ به دو زمینه‌ی جدید کاری در این فناوری تبدیل شدند.

این بار فناوری هسته‌ای نه برای تخریب، بلکه برای رونق بخشیدن به زندگی آدمی و بهبود آن به میدان می‌آمد. فناوری هســته‌ای به کمک دانشــمندان آمد تا به پرسش‌های دنیای علم پاسخ و بیماری‌ها را تشخیص دهند و راه های درمانی برای آن‌ها بیابند.

در این میان، زیست‌شناسان به خوبی به اهمیت این فناوری جدید پی‌بردند و توانستند از این فناوری در کشف فرایندهای زیستی بهره ببرند. تاریخ علم زیست‌شناسی، از چنین نمونه‌هایی پر است.

ایزوتوپ، گام اول

جرم اتمی یک عنصر ممکن است تغییرات اندکی داشته باشد، در نتیجه هر عنصر ایزوتوپ‌های مختلفی خواهد داشت. مثلا کربن ـ ۱۲ کربنی است که به فراوانی در طبیعت یافت می‌شود، اما کربن ـ ۱۴ و کربن ـ ۱۱ نیز ایزوتوپ‌های کربن هستند. ایزوتوپ‌هایی که خاصیت رادیواکتیو دارند، رادیو ایزوتوپ نامیده می‌شوند.

رادیوایزوتوپ‌ها بعد از جنگ جهانی دوم به ابزاری اساسی در تحقیقات علمی تبدیل شدند. رادیوایزوتوپ‌ها در طبیعت کم‌یاب‌اند، زیرا هسته‌ی ناپایدار دارند و تجزیه می‌شوند.

پرتوهایی که در فرایند تجزیه از رادیوایزوتوپ‌ها ساطع می‌شوند، لکه‌هایی روی فیلم حساس ایجاد می‌کنند. این ویژگی به کشف تکنیکی به نام اتورادیوگرافی انجامید که زیست‌شناسان در تحقیقات خود از آن بهره می‌گیرند.

تریتیوم ($H-3$)، کربن ـ۱۴، گوگرد ـ ۳۵ و ید ـ ۱۲۵ از ایزوتوپ‌های مورد علاقه‌ی زیست‌شناسان در پژوهش‌های زیستی هستند.

نیمه عمر ایزوتوپ‌ها با هم فرق می‌کند. مثلاً نیمه عمر کربن ـ۱۲، بیست دقیقه در حالی که نیمه عمر کربن ـ ۱۴، به مراتب بیش‌تر از آن است. به این سبب از ایزوتوپ‌ها ی متفاوت در آزمایش‌های متفاوتی استفاده می‌شود. مثلاً از کربن ـ ۱۱ در آزمایش‌هایی استفاده می‌شود که محقق می‌خواهد اندازه‌گیری‌ها را مثلاً در یک گیاه تکرار کند و چون در اندک زمانی در گیاه ناپدید می‌شود، در آزمایش‌های بعدی اختلال ایجاد نمی‌کند.

اتورادیوگرافی در زیست‌شناسی

اولین اتورادیوگرافی در سال ۱۸۶۷ به طور اتفاقی، زمانی انجام شد که نمک‌های اورانیوم، امولسیون کلرید نقره را سیاه کردند. بعد از جنگ جهانی دوم و همگام با تولید امولسیون‌ها و فیلم‌های عکاسی، اتورادیوگرافی به صورت یک تکنیک در تحقیقات زیست‌شناختی به کار گرفته شد. زمانی خاصیت رادیواکتیوی فقط به عناصر اندکی اختصاص داشت که جذابیت چندانی برای زیست‌شناسان نداشتند، در حالی که امروزه زیست‌شناسان این بخت را دارند که با استفاده از رادیوایزوتوپ‌ها ترکیبات زیستی را نشان دار کنند و آن‌ها را در مطالعه‌ی سیستم‌های زنده به کار گیرند. مراحل آزمایشگاهی برای انجام دادن اتورادیوگرافی به طور خلاصه عبارت‌اند از:

– ترکیب رادیواکتیو در مدت‌های متغیر در اختیار بافت زنده قرار می‌گیرد.

– نمونه‌های بافتی برای مشاهده با میکروسکوپ نوری، یا الکترونی آماده می‌شوند.

– برش‌های بافتی تهیه و با ورقه‌ی نازکی از امولسیون عکاسی پوشیده می‌شوند.

– نمونه‌ها را برای مدتی در تاریکی قرار می‌دهند.

– امولسیون عکاسی روند معمولی ظهور فیلم را طی می‌کند.

– برای مشاهده‌ی جزییات بافت‌شناختی رنگ آمیزی ثانوی با ترکیبی مانند آبی تولییدن انجام می‌شود. این رنگ باید در نمونه نفوذ کند در حالی که نباید با اثر امولسیون نقره ناسازگار باشد.

در نهایت در اتوگراف به دست آمده، موقعیت ذرات نقره در نمونه‌ی بافتی به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری یا الکترونی مشاهده می‌شود.

اتو هیستوگرافی به اتورادیوگرافی بافت‌ها اختصاص دارد. کارو و پالاد تکنیک اتو هیستورادیوگرافی را برای میکروسکوپ الکترونی در سال ۱۹۶۱ با موفقیت انجام دادند.

به هرحال گرچه اقبال از تولید ایزوتوپ‌ها و مولکول‌های زیستی نشاندار شده در ارتباط با کشف مسیرهای متابولیسمی و بیوسنتز بود، اما حاصل آن به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم، به پیشرفت‌های مهم در ارتباط با بیوسنتز و به‌ویژه ساختار DNA انجامید

مواد پیش‌سازی که عمدتا در اتو هیستورادیوگرافی به کار می‌روند عبارت‌اند از:

– تیمیدین تریتیوم‌دار شده در گروه متیل که اختصاصاً بیوسنتز DNA را نشانه‌گذاری می‌کند.

– یوریدین تریتیوم‌دار شده که بیوسنتز RNA را به طور اختصاصی نشانه‌گذاری می‌کند.

– آمینواسیدهای تریتیوم دار شده که اختصاصاًبیوسنتز پروتئین‌ها را نشانه‌گذاری می‌کنند.

چند مثال

ترابری مواد آلی

قدیمی‌ترین آزمایش درباره‌ی بررسی ترابری مواد آلی در درخت، در ارتباط با روش حلقه برداری است که مالپیگی آن را در سال ۱٦۸٦ انجام داد. در این روش حلقه‌ای کامل از پوست درخت برداشته می‌شود، به طوری که به بافت چوبی آسیبی نرسد. بعد از مدتی پوست درخت در بالای حلقه‌ی برداشته شده متورم و از مواد قندی پر می‌شود، در حالی که بخش پایین حلقه از قند تهی می‌شود.

محققان براساس این مشاهده نتیجه گرفتند که ترابری قند در پوست درخت انجام می‌شود. اما آزمایش‌های کامل‌تر و دقیق‌تر درباره‌ی این پدیده زمانی امکان‌پذیر شد که دانشمندان از رادیوایزوپ‌ها استفاده کردند. آن‌ها با عرضه‌ی CO_2 نشان دار شده با کربن ـ ۱٤ به گیاه و سپس تهیه‌ی اتورادیوگراف، مسیر ترابری قندها را نشان دادند: ترکیبات نشان‌دار در عناصر آبکشی از بافت آوندی آبکشی حضور داشتند.

فتوسنتز و کربن ـ ۱۴

– وان نیل در سال ۱۹٤۱ در مطالعات خود ، پیرامون چگونگی تثبیت CO_2 در باکتری‌های سبز گوگردی ثابت کرد:

$$CO_2 + 2H_2S \rightarrow (CHOH) + H_2O + 2S$$

محققان دیگر با استناد به واکنش وان نیل درباره‌ی فرایند فتوسنتز در گیاهان و جلبک‌های سبز به این نتیجه رسیدند که اکسیژن تولید شده در فتوسنتز، نه از کربن دی‌اکسید، بلکه از آب به دست می‌آید. روبن و همکارانش این فرضیه را در سال ۱۹٤۱ در جلبک تک سلولی کلرلا به اثبات رساندند. آن‌ها با استفاده از ایزوتوپ اکسیژن یعنی اکسیژن ـ ۱۸ نشان دادند که اکسیژن در واکنش فتوسنتز از آب به دست می‌آید.

– کشف چرخه‌ی کالوین با مدد کربن رادیواکتیو یعنی کربن ـ ۱٤ انجام شد. کربن ـ ۱٤ ردیاب مهمی در پی‌گیری فرایندهای متابولیسم کربن و عامل مهمی در گسترش دانش فتوسنتز بود. کالوین و بنسون به همراه گروهی از گیاه شناسان توانستند با این ایزوتوپ کربن، چرخه‌ی تثبیت کربن را مرحله به مرحله معرفی کنند. گرچه آزمایش‌های آن‌ها بر جلبک‌ها انجام شد، اما پژوهش‌های بعدی که با استفاده از همان ایزوتوپ انجام می‌شدند، آن نتایج را در گیاهان نیز به اثبات رساندند. کافی بود تا گیاه فقط به مدت دو ثانیه در معرض $^{14}CO_2$ قرار گیرد تا کربن رادیواکتیو در ۳ ـ فسفوگلیسریک اسید یعنی نخستین فراورده‌ی پایدار فتوسنتزی در چرخه‌ی کالوین ظاهر شود. در گام‌های بعدی، با افزایش زمان قرارگیری گیاه در معرض $^{14}CO_2$ ترکیبات حد واسط و هم‌چنین محصولات نهایی معرفی شدند.

کالوین نیز با استفاده از همین کربن ـ ۱٤ بود که نقش نور را در تشکیل عوامل احیا کننده‌ی مورد نیاز در فتوسنتز نشان داد.

کورشاک و همکارانش نیز در سال ۱۹٦۵ با استفاده از $^{14}CO_2$ نشان دادند که برگ‌های گیاه نیشکر در برابر نور، مالیک اسید و آسپارتیک اسید می‌سازند. به این ترتیب پژوهش‌ها درباره‌ی نوع دیگری از تثبیت کربن آغاز شد. هاچ و اسلاک با بهره‌گیری از کربن ـ۱٤ این نوع چرخه‌ی فتوسنتزی را که به چرخه‌ی C_4 و نیز چرخه‌ی هاچ و اسلاک معروف شده است به دانش فتوسنتز افزودند.

دریچه‌ای به دنیای ژنوم

کاربرد رادیوایزوتوپ‌ها فقط محدود به تشخیص گام‌های فرایندهایی چون فتوسنتز نبود، بلکه شناسایی ماده‌ی وراثتی و

تولید رادیوایزوتوپ‌ها روند جدیدی در تحقیقات علمی به ویژه در مطالعه‌ی سیستم‌های زنده بنا نهاد

در پی آن ساختار و عملکردهای اساسی مرتبط با این ماده‌ی وراثتی به برکت حضور رادیوایزوتوپ‌ها انجام شد. در ادامه به اختصار بعضی از آزمایش‌های کلیدی در تاریخ کشف ماده‌ی وراثتی را بیان می‌کنیم.

هرشی و چیس در سال ۱۹۵۲ با استفاده از فسفر ـ ۳۲ برای نشان‌دار کردن DNA و گوگرد ـ۳۵ برای نشان‌دار کردن پروتئین، آزمایش‌هایی درباره‌ی باکتریوفاژها انجام دادند. تا آن زمان بسیاری از زیست‌شناسان پروتئین را ماده‌ی وراثتی می‌دانستند در حالی‌که نتایج آزمایش هرشی ـ چیس نشان داد که نوکلئیک اسید ماده‌ی وراثتی است.

رزالیند فرانکلین در سال ۱۹۵۲ توانست با پرتو ایکس، الگویی از DNA ارائه دهد، الگویی که نهایتاً با تحقیقات جیمز واتسون زیست‌شناس و فرانسیس کریک فیزیک‌دان به مدلی سه بعدی از DNA انجامید که هنوز نیز معتبر است.

مزلسون و استال دو پژوهشگر زیست‌شناس، در سال ۱۹۵۸ با به‌کارگیری ایزوتوپ‌های مختلف نیتروژن، مدل همانند سازی نیمه حفاظتی DNA را ارائه دادند (این ایزوتوپ‌ها رادیواکتیو نبودند بلکه چگالی‌های متفاوت داشتند).

جان کارنز در سال ۱۹٦۳ با ایزوتوپ‌های رادیواکتیو توانست تصویری از DNA باکتری را در حال همانندسازی