



Russell F. Doolittle

Subtelna równowaga *

Wiele lat temu, gdy byłem słuchaczem studiów magisterskich z biochemii w Harvardzie, zgłosiłem esej do konkursu z nagrodami, do którego prace przedkładało się anonimowo pod pseudonimem. Esaj ten był zatytułowany „The Evolution of a Unique Enzyme System: The Comparative Physiology of Blood Coagulation” [Ewolucja unikatowego systemu enzymatycznego: fizjologia porównawcza koagulacji krwi], a użyłem nieskromnego pseudonimu – Karol Darwin.

Sednem tego eseju było to, że podczas gdy koagulacja krwi u kręgowców jest nadzwyczaj złożonym procesem i chociaż na pierwszy rzut oka żadna część tego systemu nie mogłaby istnieć oddzielnie od całego zespołu, niemniej jednak można ją zrozumieć w kategoriach doboru naturalnego. Wykazałem, że jest mało prawdopodobne, by cała mieszanina enzymów i substratów białkowych wyewoluowała w jednym pełnym skoku. Zamiast tego działały trzy procesy. Po pierwsze, nastąpiła seria duplikacji genu tego rodzaju, który zaobserwowano ostatnio u hemoglobin. Po drugie, nastąpiły proste mutacje punktowe, które znamy dzisiaj jako zastąpienia aminokwasów. Na koniec zadziałały mechanizmy kontrolujące dużą ilość rozmaitych czynników homologicznych. Wysunąłem wniosek, że obecność i rolę tych mechanizmów można oceniać porównując proces krzepnięcia krwi w różnych organizmach, szczególnie u zwierząt, które wcześniej się pojawiły i które w związku z tym posiadają prostsze układy. Odtąd

* Russell F. DOOLITTLE, „A Delicate Balance”, *Boston Review*, luty/marzec 1997, s. 28-29, <http://www.bostonreview.net/br22.1/doolittle.html>. Z języka angielskiego za zgodą Autora przełożył Dariusz SAGAN. Recenzent: Grzegorz NOWAK, Zakład Biochemii UMCS, Lublin.

rozpocząłem realizację programu eksperymentalnego, dotyczącego procesu krzepnięcia krwi u wszystkich rodzajów stworzeń, napisałem pracę doktorską na ten temat¹ i – w rzeczywistości – poświęciłem minione 35 lat ogólnemu zagadnieniu białek i ich ewolucji.

Teraz wygląda na to, że zmarnowałem swoją karierę. W **Darwin's Black Box** Michael Behe doszedł do wniosku, że krzepnięcie krwi – jak ujmuje to Allen Orr, „ulubiony proces” Behe’ego – jest zwyczajnie „zbyt złożony, by wyewoluować”.² Gorzej, użył jednego z moich artykułów, aby zilustrować swój pogląd. Był to tekst wykładu z 1993 roku, wygłoszonego na międzynarodowej konferencji poświęconej zagadnieniu krzepnięcia krwi.³ Była to jedna z serii przemówień, które zapowiedziano jako „najnowocześniejsze” i przedstawiono audytorium, składającemu się głównie z klinicystów i biotechnologów. Ponieważ audytorium to nie wiedziało zbyt wiele o faktach ewolucji, mój ton był celowo lekki i zwiewny, a język swobodny. Głównym celem było pokazanie, że subtelna równowaga reakcji, zachodzących w obu kierunkach, które regulują krzepnięcie krwi, powstała w stopniowym procesie. Podsumowałem to metaforą przeciwstawnych mocy Yin i Yang i podkreśliłem, że można użyć innych podobnych porównań typu punkt-i-kontrapunkt.

Behe miał jednak niezły ubaw z Yin i Yang. Przypominając w kółko czytelnikom o tym, że jest to artykuł „najnowocześniejszy”, oskarża mnie o „tworzenie sobie w wyobraźni” ewolucji procesu krzepnięcia krwi i „próbowanie ukrycia dylematu [nieredukowalnej złożoności] przy pomocy gradu metaforycznych odniesień do yin i yang”. Wyśmiewa całą tę sprawę jako stwarzanie na wzór „Calvina i

¹ R.F. DOOLITTLE, „The Comparative Biochemistry of Blood Coagulation”, Praca doktorska, Harvard University 1961.

² Michael J. BEHE, **Darwin's Black Box: The Biochemical Challenge to Evolution**, The Free Press, New York 1996.

³ R.F. DOOLITTLE, „The Evolution of Vertebrate Blood Coagulation: A Case of Yin and Yang”, *Thrombosis Haemostasis* 1993, vol. 70, s. 24-28.

Hobbesa”. Konkluduje, że „nikt na Ziemi nie ma mętniejszej teorii na temat tego, jak powstała kaskada koagulacji”.

Pozwalam sobie mieć odmienne zdanie. W ostatnich latach zgromadzono nadzwyczajną ilość świadectw empirycznych dotyczących ewolucji procesu krzepnięcia krwi i przytłaczająco popierają one to, co sugerowałem w moim eseju studenckim. W tym krótkim komentarzu proponuję szkic tej podstawowej opowieści.

Na początek potrzebujemy kilku podstawowych pojęć z biologii molekularnej. Tak więc DNA składa się z bardzo długich linijek czterech jednostek biochemicznych zwanych „nukleotydami” (skrótowo oznacza się je jako A, G, C i T). Układ linearny („sekwencja”) tych nukleotydów koduje – w pośredni sposób – układ innego rodzaju jednostek w innego rodzaju łańcuchach molekularnych, zwanych „białkami”. Podstawowe jednostki w białkach to aminokwasy, których jest dwadzieścia. Możemy określić sekwencję aminokwasów w każdym białku, czy to bezpośrednio, czy dzięki rozkodowaniu sekwencji DNA jego genu, a także porównać ją z jakąś inną sekwencją. Możemy następnie pogrupować białka w duże drzewa rodzinne według podobieństwa sekwencji aminokwasów. Ogólnie mówiąc, im bliżej spokrewnione organizmy, tym bardziej podobne sekwencje aminokwasów ich białek. Na przykład białka większości ludzi i szympanów są w 99 i 100 procentach identyczne, ale te same białka u bakterii mogą być identyczne z naszymi w zakresie od 30 do 60 procent. Powinniśmy także odnotować fakt, że u ludzi i szympanów przypada o wiele więcej DNA na komórkę niż u bakterii, a także o wiele więcej genów.

Posiłkując się tą podstawową znajomością chemii białek możemy zobaczyć, w jaki sposób inwentarz genów (i kodowanych przez nie białek) pomnażał się w ciągu wieków. Pokróćce, geny dla nowych białek powstały z genów dla starych dzięki duplikacji genu, procesowi, który lubię nazywać „biochemicznym kopiowaniem”. (Behe bez wątpienia uznałby tę metaforę za uroczą, lecz uproszczoną). Te nowe

białka, z kolei, szczególnie przydają się w przystosowywaniu się do nowych warunków: ale to wyprzedza naszą opowieść.

Behe zauważa w swojej książce, że „wysnuto teorię”, iż podobne sekwencje aminokwasów w różnych białkach mogą mieć związek z duplikacją genu, lecz – jak wykazuje Allen Orr – odnosi się do niej jako do „hipotezy” i sugeruje, że takie interpretacje zdarzeń są „takimi sobie bajeczkami”, które stworzono po to, by zracjonalizować obserwacje.

W rzeczywistości proces duplikacji genu może zachodzić na wiele sposobów, a najpowszechniej występujący mechanizm jest dobrze poznany. Organizmy rozmnażające się drogą płciową mają na przykład dwa zbiory chromosomów (jeden od każdego rodzica), które formują szereg w procesie podziału komórki zwanym mejozą. Bardzo długie nici DNA stale się zrywają i ponownie łączą. Proces ponownego łączenia nie jest jednak w 100 procentach dokładny i często jeden z chromosomów odpada z trochę większą ilością DNA niż chromosom z jego pary, który będzie miał odpowiednio mniej DNA. Choć ilość DNA może równać się tylko części genu lub być może całemu łańcuchowi genów, mają szczęście te gamety, które odpadną z większą ilością DNA niż jest potrzebne do „duplikacji genu”. Proces ten można zaobserwować u ludzi, którzy cierpią na pewne choroby wskutek braku odcinków genów, a także u ludzi – zwykle zdrowych – którzy mają dodatkowo właśnie te brakujące części! ⁴

Rezultatem duplikacji genu jest to, że organizm może mieć stary gen, który koduje pewne białko, i nowy gen, który – w normalnych warunkach – nie ma zbyt wiele do zrobienia. Przez większość czasu jeden z duplikatów będzie po prostu zanikać na skutek nieustannego zastępowania jednych aminokwasów innymi, co stale wpływa na wszystkie białka; dobór naturalny nie może przecież działać na nie-

⁴ Zob. np. H. LEHMANN and D. CHARLESWORTH, „Observations on Haemoglobin P”, *Biochemical Journal* 1970, vol. 119, s. 43.

funkcjonalne białka, lecz na te, których się używa. ** Jednakże od czasu do czasu pojawienie się nowego białka może przypadkowo dać przewagę i ulegnie ono zachowaniu: mamy już długą listę białek, które wyraźnie są produktami duplikacji genów. W rzeczywistości jednym z głównych dążeń ewolucjonistów molekularnych jest rozrysowanie drzewa genealogicznego rodziny białek w celu zidentyfikowania małej liczby genów, które musiały posiadać wcześniej żyjące organizmy.

Rozważmy hemoglobinę, białko, którym zawodowo zajmował się dr Behe, i które omówił w swojej książce. Niemal wszyscy wiedzą, że hemoglobina to białko upakowane w krwinkach czerwonych, które transportują tlen do tkanek. Behe zauważa, że składa się ona z dwóch różnych typów łańcuchów białkowych. Nazywa je „analogicznymi”, konsekwentnie unikając nazywania ich „homologicznymi” – jest to termin, który wskazuje na wspólne pochodzenie i którego używają wszyscy pozostali biochemicy. Z pewnością żaden myślący biochemik nie wątpi, że te dwa łańcuchy, zwane „alfa” i „beta”, są produktami duplikacji genu. Składają się one odpowiednio ze 141 i 146 jednostek

** (Przypis recenzenta) W rzeczywistości dobór naturalny (lub lepiej *naturalna selekcja*) działa na organizmy (lub populacje, o to toczy się spór), a nie na białka. Naturalna selekcja jest złożonym procesem, który powoduje zróżnicowanie przeżycia i rozrodu organizmów w ich środowisku, przy czym czynnikiem selekcyjnym jest wypadkowa oddziaływań na organizm środowiskowych czynników biotycznych i abiotycznych z domieszką – niekiedy – przypadku. Obecność w komórkach złożonego organizmu takiego czy innego białka zmienia w pewnych przypadkach jego cechy fenotypowe, które mogą być, i zwykle są, czynnikiem istotnym podczas naturalnej selekcji, same białka jednak selekcyjonowane nie są (nie mogą wchodzić w interakcje środowiskowe). W pewnym szerokim rozumieniu cechy fenotypowej (*trait, character*) również białka komórkowe, tak jak cząsteczki kwasów nukleinowych obecne w komórkach, są cechami fenotypowymi, jednak nie są one i nie mogą być jednostkami selekcji, ponieważ skutki selekcji – zróżnicowanie przeżycia i rozrodu – mogą dotyczyć tylko organizmów lub złożonych z nich populacji, niezależnie od tego, czy są to organizmy jednokomórkowe takie jak na przykład bakterie (lub złożone z wielu bakterii populacje), czy złożone organizmy wielokomórkowe takie jak na przykład ludzie (lub złożone z ludzi populacje). Można oceniać skutki selekcji badając różnice tak zwanego „sukcesu reprodukcyjnego” lub czasu życia organizmu (czy też różnice między odpowiednimi średnimi dla złożonych z wielu organizmów populacji), nie można jednak oceniać takich skutków dla poszczególnych białek. Autor pisząc o działaniu selekcji na białka, czy to „używane”, czy „nieużywane”, użył skrótu myślowego, który wprowadza czytelnika w błąd.

aminokwasowych, a 63 z nich jest dokładnie takich samych, czyli można powiedzieć, że ich sekwencje aminokwasów są w 45 procentach identyczne.

Dobrze wiadomo też, że płód zawiera w swoich krwinkach czerwonych inną hemoglobinę. Łańcuchy alfa są takie same jak u „dojrzałego” rodzaju, ale drugi łańcuch pochodzi od innego zduplikowanego genu zwanego „gamma”. Łańcuch gamma również jest w 45 procentach identyczny z łańcuchem alfa, lecz w 70 procentach identyczny z łańcuchem beta (mają one wspólne 107 jednostek aminokwasowych). Łańcuch gamma jest wyraźnie bliżej spokrewniony z łańcuchem beta niż alfa. Posiada on także bardzo korzystną własność fizjologiczną: połączony z łańcuchem alfa wiąże tlen mocniej niż sama hemoglobina osoby dojrzałej. Na skutek tego płód, który nie oddycha samodzielnie przed narodzinami, ma zapewniony dopływ tlenu, przemieszczającego się w jego kierunku z obiegu matki. Ludzie mają kilka genów dla hemoglobin, z których jedne ulegają ekspresji wyłącznie w etapach embrionalnych, a inne tylko w tkankach.

Możemy rozrysować jeszcze inne drzewo z sekwencji hemoglobin, posiłkując się porównaniami gatunków zamiast zduplikowanymi genami. Drzewo to może mieć swoje korzenie na przykład w hemoglobinach alfa i beta. Robiąc tak, obserwujemy coś interesującego. Jako że tempo zmiany w sekwencji jest niemal jednakowe, możemy je mierzyć, gdy następują duplikacje genów, które dają początek łańcuchom alfa, beta i gamma, równie dobrze jak w przypadku innych duplikacji. Jest oczywiste, że zwierzęta, które oddzieliły się wcześniej, nie muszą mieć wszystkich ludzkich genów hemoglobiny, ponieważ oddzieliły się one, zanim nastąpiły poszczególne duplikacje. W rzeczywistości wiemy, że ryby bezszczękowe, które należą do najprymitywniejszych ocalałych kręgowców, mają hemoglobiny z pojedynczym łańcuchem w swych krwinkach czerwonych, gdyż oddzieliły się, zanim nastąpiła kulminacyjna duplikacja, która odseparowała łańcuchy alfa i beta.

Można zrekonstruować scenariusz tego samego rodzaju dla wielu innych procesów fizjologicznych, łącznie z krzepnięciem krwi. Dzięki dostępnym danym o sekwencji aminokwasów z różnych czynników krzepnięcia u różnych gatunków możemy ustalić, kiedy zachodzą duplikacje. Jednakże w przeciwieństwie do hemoglobin, wiele białek kaskady krzepnięcia krwi upiększa się na skutek procesu, zwanego „tasowaniem eksonów”. Jest to zjawisko, w którym strukturalnie stabilne części białek zostają genetycznie poprzestawiane na poziomie DNA. Ten mechanizm przypomina mechanizmy, które występują podczas zwykłych duplikacji genu. Na skutek tego wiele różnych białek może mieć niektóre części podobne, podczas gdy inne – nie. Ze względu na swe wewnętrzne podobieństwa taka mozaika białek szczególnie przydaje się przy tworzeniu sieci interakcji lub „kaskad”.

Z historycznego punktu widzenia wiele ważnych „teorii” czy generalizacji akceptowano dopiero po potwierdzeniu pewnych ich przewidywań. Na przykład, gdy Mendelejew zaproponował Układ Okresowy Pierwiastków, przewidział istnienie dwóch brakujących pierwiastków – germanu i galu; kilka lat później faktycznie je odkryto. Einsteinowska ogólna teoria względności z roku 1915 przewidywała stopień, w jakim masywne ciała powinny przyciągać fale światła, ale przewidywania tego nie można było stestować aż do roku 1919, kiedy to podczas całkowitego zaćmienia Słońca zaobserwowano światło pochodzące z odpowiednio usytuowanych gwiazd.

Na gruncie o wiele skromniejszej dziedziny, około dziesięć lat temu przewidzieliśmy, że niektórych genów kodujących kaskadę krzepnięcia krwi może brakować u ryb bezszczękowych.⁵ Przewidywanie to sformułowaliśmy na podstawie porównania sekwencji czynników krzepnięcia krwi u ssaków i po oszacowaniu, ile czasu musiało zająć ich powstanie drogą duplikacji. W szczególności zaobserwowaliśmy, że ryba nie powinna mieć czynnika Hagemana i prekallekryny

⁵ R.F. DOOLITTLE and D.F. FENG, „Reconstructing the History of Vertebrate Blood Coagulation of the Amino Acid Sequences of Clotting Proteins”, *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology* 1987, vol. 52, s. 869-874.

– dwójki czynników opisanych w studium nad procesem krzepnięcia krwi, które Behe zamieścił w swojej książce.

O ile wiem, nie podjęto jeszcze badań mających ustalić, czy te uczestniczące w procesie krzepnięcia białka występują u minoga morskiego i śluzicy, ale założę się o dużą sumę pieniędzy, jaki będzie ich wynik. Jednakże chcę wiedzieć, czy Behe uzna taki wynik za dowód w tej sprawie, czy też po prostu – w typowym stylu kreacjonistów – znajdzie jakiś pretekst, by tego wniosku uniknąć.

W rzeczywistości Behe posługuje się wieloma kreacjonistycznymi argumentami, których nadużywano w przeszłości. Z nich wszystkich najbardziej błędny i źle rozumiany jest „argument z nieprawdopodobieństwa”. Behe pisze o prawdopodobieństwie zgromadzenia właściwych kombinacji części białek, które odgrywają rolę w procesie krzepnięcia: „Doolittle najwyraźniej musi tasować i zbierać dużo doskonałych rozdań brydżowych, jeśli chce wygrać tę grę. Niestety, Wszechświat nie może długo czekać”. To stwierdzenie podąża za absurdalną arytmetyką możliwych kombinacji przetasowywanych jednostek i porównaniami do irlandzkich loterii. Jego argument przeocza wiele istotnych tutaj kwestii: na przykład większość obserwowanych duplikacji i tasowanie eksonów ogranicza się do specyficznych obszarów specyficznych chromosomów, a więc liczba kombinacji nie jest aż tak duża, jak Behe przypuszcza. Jego główny błąd dotyczy jednak założenia, że musimy otrzymać jakąś specjalną kombinację. Uzyskanie jakiegokolwiek wyspecyfikowanego rozdania w brydżu jest równie mało prawdopodobne, jak otrzymanie rozdania doskonałego. Za każdym razem ktoś jednak wygrywa, niezależnie od tego, czy miał doskonałe rozdanie.

Uwaga o „rozdaniach doskonałych” przywodzi mi na myśl to, co w książce Behe’ego drażni mnie najbardziej; chodzi o posługiwanie się przez niego historyjkami obrazkowymi Rube’a Goldberga. Jest paradoksem, że sam często używałem zaaranżowanych mechanizmów Goldberga dla zobrazowania tego, w jaki sposób działa ewolucja! Prawdę mówiąc, stosowałem je w nauczaniu studentów medycyny,


gdy omawiałem sposób funkcjonowania kaskad makromolekularnych. Używałem ich też w debatach z kreacjonistami wykazując, że żaden Stwórca nie zaprojektowałby tak pokrętnego i przekombinowanego systemu. W ten sposób działa natomiast oportunistyczny dobór naturalny, który wykorzystuje wszystko, co w danym momencie dostępne (rezultatem takich procesów jest duplikacja genu i tasowanie eksónów).

Pozwolę sobie zakończyć wspominając o tym, że poparcie dla scenariusza Yin i Yang przychodzi teraz z innego kierunku. W ciągu ostatniej dekady stało się możliwe „nokautowanie”^{***} genów z organizmów doświadczalnych. „Znokautowane myszy” stanowią obecnie pospolite (lecz kosztowne) narzędzie w arsenale naukowców pragnących zaradzić bolączkom tego świata. Ostatnio „znokautowano” u myszy gen dla plazminogenu i – jak można się było spodziewać – zaczęły one cierpieć na powikłania trombotyczne, ponieważ nie były zdolne usunąć skrzepów fibrynowych. Niedługo potem ci sami badacze znokautowali gen dla fibrynogenu u innej populacji myszy. Znowu – jak można było przewidzieć – myszy zachorowały, choć tym razem problem stanowił krwotok. A jak sądzicie, co się stało, gdy skrzyżowano te dwie populacje? Praktycznie rzecz biorąc, myszy pozbawione obu genów były normalne!^{6****} Niezgodnie z twierdzeniami

^{***} (Przypis tłumacza) Usunięcie z genomu jakiegoś genu specjaliści określają jako nokaut (od ang. *knock-out*) – termin zapożyczony z żargonu bokserskiego. O organizmach, którym usunięto jakiś gen, mówi się, że są „znokautowane”.

⁶ BUGGE *et al.*, „Loss of Fibrinogen Rescues Mice from the Pleiotropic Effects of Plasminogen Deficiency”, *Cell* 1996, vol. 87, s. 709-719.

^{****} (Przypis recenzenta) Autor pisze „[...] myszy pozbawione obu genów były normalne”. Jest to określenie w sposób oczywisty niewłaściwe, bowiem nie ma u myszy takiej normy, która by obejmowała brak dwóch genów i niezdolność do wytwarzania skrzepu z powodu braku fibrynogenu. Normą dla myszy jest posiadanie genu fibrynogenu, produkcja fibrynogenu i wytwarzanie z niego w określonych warunkach fibrynowego skrzepu oraz posiadanie genu dla plazminogenu, produkcja w określonych warunkach plazminogenu i wytwarzanie z niego plazminy rozkładającej skrzep. Myszy pozbawione obu genów w wyniku ich „znokautowania” są artefaktami. Autor używa wobec nich określenia „normalne” do celów erystycznych, nie mających nic wspólnego z właściwym używaniem pojęć. W naturalnym środowisku myszy te byłyby upośledzone, co Autor przecież przyznaje, zaś słowny unik w postaci

o nieredukowalnej złożoności, nie potrzeba całego zespołu białek. Muzyka i harmonia mogą powstać z mniejszej orkiestry. Nikt nie wątpi, że myszy pozbawione tych dwu genów byłyby upośledzone na wolności, ale sam fakt, iż są normalne w laboratorium, stanowi uderzający przykład porównania typu punkt i kontrapunkt, odwróconego scenariusza stopniowego procesu. 

Russell F. Doolittle

zastrzeżenia „normalne w laboratorium” niczego nie zmienia, z powodów oczywistych – pacjent z hemofilią, utrzymywany w szpitalu w specjalnych warunkach, zmniejszających groźbę krwotoku i zapewniających właściwe szybkie leczenie w razie jego wystąpienia, nie staje się przecież „normalny szpitalnie”. Ponieważ „normalność” myszy ze „znokautowanymi” genami jest przywołana przez Autora jako argument przeciwko twierdzeniom Behe’ego, należy wyraźnie stwierdzić, że myszy te nie są normalne w żadnym środowisku – są w każdym warunkach upośledzone, a przeżyć mogą, mimo swego upośledzenia, w sztucznych warunkach laboratorium, dzięki opiece, jaką mają w tym laboratorium zapewnioną.