

Upptäckten av PENICILLIN gav ett Nobelpris. Men vilka var de som Fleming delade priset med?

Stridder

När DNA:s DUBBELHELIXSTRUKTUR senare presenterades var tvivlarna först många.

Text Sture Forsén

och tvivvel

Det senaste året har det publicerats ett antal artiklar och vetenskapliga biografier över forskare och deras vetenskapliga upptäckter som har resulterat i ett Nobelpris. Dessa har varit betydligt mindre idoliserande och "hagiografiska" än biografier skrivna vid tiden för Nobelprisen. I denna artikel gör jag några kommentarer om två upptäckter inom livsvetenskaperna som resulterade i Nobelpris - penicillin och dna-strukturen. I båda dessa fall har material i Nobelarkiven varit tillgängliga eftersom 50 år har gått sedan utmärkelserna och jag kommer att hänvisa till några delar av arkivmaterialet i texten.

En redogörelse och viss omvärdering rörande upptäckten av penicillin publicerades i 2002 av vetenskapshistorikern John Waller. Waller var länge aktiv på "Wellcome Center for the History of Science" i London och hans bok har titeln "Fabulous Science in the History of Scientific Discovery" [Oxford Univ. press, 2002]. Boken är mycket läsbar och jag refererar ofta till den nedan.

Jag tror att nästan alla hört talas om Alexander Flemings odiskade petriskål som visade en hämmad tillväxt av bakterier på grund av närvaron av *Penicillium* mögel. Det var något som Fleming noterade på sin laboratoriebänk år 1928. Denna upptäckt har använts av Max Delbrück som ett exempel på en allmän princip han kallat "discovery by limited sloppiness". Förmodligen var inte Fleming en man med en alltid välstädad labbbänk. Och möjligen har många av oss upplevt denna allmänna princip på nära håll även om resultatet inte resulterat i ett Nobelpris.

DEN MAGISKA bakteriehämmande substansen i Flemings petriskål har kallats "den viktigaste upptäckten inom medicinen" och han själv blev mer eller mindre helgonförklarad i Storbritannien efter andra världskriget. Med tiden fick han 25 hedersutmärkelser, 26 medaljer, 18 andra priser förutom Nobelpriset och 13 ordnar. Men varför delade han Nobelpriset 1945 med två andra personer, Howard Florey och Ernst Chain? Vilka var dessa individer? I samtida artiklar om Fleming och hans upptäckt nämndes inte ens dessa två män.

Howard Florey var professor i patologi vid Oxford University och Ernst Chain var en judisk biokemist som hade flytt Hitlers Tyskland i mitten av 1930-talet och som räddades till Oxford av Florey. Under 1938 hade dessa två inlett produktion och renframställning av penicillin i så stora mängder att de kunde utföra de första

kliniska prövningarna rörande behandling av infektioner.

Deras spektakulära resultat publicerades i tidskriften "The Lancet" 1941. Men säkert måste väl Fleming också ha arbetat med detta? Det var ju trots allt mer än tio år sedan den ursprungliga upptäckten hade gjorts. Men så var inte fallet. Mellan 1929 och 1940 hade Fleming publicerat 27 artiklar och endast en gång – och då i förbigående – nämnde han de möjliga terapeutiska användningarna av penicillin ["British Dental Journal", 1931]. Meningen som rörde penicillin var: "Penicillin is valuable to us at present in the isolation of certain microbes, but it is quite likely that it, or a chemical of similar nature, will be used in septic wounds."

FÖRE DE FRAMGÅNGSRIKA kliniska försöken 1941 hade Florey och Chain inte haft några kontakter med Fleming – i själva verket trodde en av dem att Fleming var död. Men omgående efter publikationen av Florey och Chains artikel i "Lancet" år 1941 anlände Fleming oanmäld en måndag morgon till Floreys laboratorium i Oxford. Han konfronterade Florey och sade (enligt Florey): "I have come to see what you have been doing with my old penicillin."

Om Fleming trodde att Florey skulle buga sig och skrapa med fötterna hade han helt missbedömt situationen. Floreys grupp hade tillbringat flera år av hårt arbete med att ta sig dit de var. Förhållandet mellan Fleming och Floreys grupp blev mycket frostigt.

Kort efter detta möte hade "British Medical Journal" en artikel om de framgångsrika kliniska prövningarna i Oxford av penicillin och i vilken Flemings roll marginaliserades. Fleming avfytrade ett genmäle i vilket han påstod att han alltid hade trott på det terapeutiska värdet av penicillin och citerade det ovannämnda omdömet i artikeln från 1931 i "British Dental Journal". Han avslutade med att han "had made important advances" som motiverade det förslag han hade lämnat för tio år sedan. Detta blev mer eller mindre den version som allmänt accepterades av samtiden. Flemings tidiga biografier har målat en bild av hans långsamma men stadiga framsteg i en atmosfär av okunnighet och andra svårigheter.

Så hur kommer det sig att Florey och Chain delade Nobelpriset 1945? Vi har i dag tillgång till nomineringsdatabasen för Nobelpris i "fysiologi eller medicin" rörande tidsperioden 1901 till 1951. Jag har letat upp nomineringarna om upptäckten av penicillin under tidsperioden 1941

till 1945. Under denna period mitt under andra världskriget hade de flesta med rätt att nominera förmodligen andra saker än Nobelpris i tankarna och antalet nomineringar var därför få. Fleming nämndes i totalt 17 nomineringar (och ytterligare tio år 1946 när priset redan hade tilldelats) med en topp på 15 nomineringar 1945. I de 17 nomineringar som nämnde Fleming nämnde nio även Florey och endast två omfattade även Chain.

VID ÅRET FÖR NOBELPRISET 1945 var det i själva verket bara en enda nominering för trion Fleming, Florey och Chain – den lämnades in av ingen annan än sekreteraren i den medicinska Nobelkommittén, Göran Liljestrand, professor i farmakodynamik och farmakognosi vid Karolinska institutet. Hans motivering var för "upptäckten av penicillin (Fleming) och dess botande verkan vid olika infektionssjukdomar (Chain och Florey)". Distinktionerna mellan de tre kandidaterna försvann i den slutliga motiveringen för Nobelpriset i "fysiologi eller medicin" år 1945. Priset delades ut gemensamt till trion med Liljestrands motivering men med de individuella namnen borttagna.

Med personlig erfarenhet av Nobelkommittéarbete illustrerar berättelsen om penicillin för mig vikten av noggrann granskning av den vetenskapliga bakgrunden till nominerade upptäckter. Detta är en central uppgift för Nobelkommittéer och deras medlemmar. Liljestrand och hans kolleger i den medicinska kommittén hade gjort noggranna studier av förslagen. Utan tvekan hade Oxfordteamets centrala roll blivit helt uppenbar

Det gemensamma priset var det mest rimliga resultatet.

ÅR 2003 VAR DET 50 år sedan James Watson och Francis Crick publicerade det berömda förslaget till strukturen av dna ["Nature", april 1953]. Den föreslagna strukturen var till stor del resultatet av inspirerade gissningar baserat på knapphändiga röntgendata som tagits fram av andra. Få andra vetenskapliga prestationer under det senaste århundradet har analyserats i så stor detalj och återberättas så ofta. Jag har inte för avsikt att upprepa det arbete som ledde fram till dubbelhelixstrukturen hos dna. Men det är intressant att redogöra för vad som hände efter Nature-artikeln i april 1953 – eller uppföljningen av denna artikel i Nature maj 1953, där de genetiska konsekvenserna av dna-strukturen diskuterades och en modell för replikationen av dna lades fram.

Under en intervju med James Watson som publicerades i veckotidningen "Time", [International Edition, 3 mars, 2003] på "50-årsdagen" frågade reportern: "What reception did your discovery get?" Watsons svar var: "Almost total silence. The number of references to the original papers was essentially zero until the 1960:s."

Hur kommer sig detta? För de flesta av oss verkar dna-strukturen så självklar och acceptabel att vi anser det nästan omöjligt att förstå att inte alla omedelbart föll för den. Anledningen var helt klart

"Hur kommer det sig att Florey och Chain delade Nobelpriset 1945?"

replikationsproblemet. Upplindningen och separationen av de två strängarna i dubbelhelixen var en nödvändighet i den modell av dna:s replikation som Watson och Crick föreslog i sin artikel från maj 1953. Varje dna-sträng i dubbelspiralen skulle sedan kopieras till en ny dubbelhelix med en komplementär sekvens av nukleotider. Mekanismen för replikationen kallades "semi-konservativ".

I sin artikel hade Watson och Crick uttalat att "upplindningsproblemet" skulle lösas "på något sätt". Men hur i hela världen kunde två nukleotidsträngar, som omger varandra tätt, bryta loss från varandra? En av de mest respekterade molekylärbiologerna på 1950-talet var Max Delbrück - den obestridda ledaren för den så kallade "fag-gruppen" på Caltech. Hans åsikt uttrycktes i ett brev till Watson: "The difficulties of unangling the chains do seem, after all, insuperable to me."

I EN BOK med titeln "Meselson and Stahl and the replication of DNA" av Frederic Lawrence Holmes [Cold Spring Harbor Lab., NY, 2001] dokumenteras i detalj korrespondensen mellan Watson, Delbrück, Levinthal, Stent och andra viktiga aktörer inom det framväxande området molekylärbiologi. Och det är slående hur ofta och hur fördomsfritt utbytet av nya experimentella fynd, idéer och kritiska kommentarer ägde rum bland dessa forskare. Och detta var alltså långt innan internet och e-post.

Watson och Crick-modellen för dna och dess replikations sätt var under många år ett stående problem i diskussionerna inom det molekylärbiologiska forskarsamhället. Från redovisningarna i Holmes bok kan man inte bara läsa om de ovanstående invändningarna från Delbrück utan också

från många andra forskare. Delbrück var inte den enda skeptikern. Robert Sinsheimer – blivande ordförande för Caltech's Biology Department och en av initiativtagarna till "The Human Genome Project" gav en föreläsning så sent som 1956 där han sade att "the evidence linking genes to dna was circumstantial". Vidare att det fanns "no experimental evidence to support the postulate that genetic information is carried as a nucleotide sequence". Sinsheimer ångrade förmodligen dessa ord några år senare.

I FREDERIC LAWRENCE Holmes bok från 2001 kan man också läsa om de tvivel som Watson själv hade om riktigheten av den föreslagna dna-strukturen. I brev till Max Delbrück uttryckte han detta. Han oroade

sig inte bara för bristen på högupplösta röntgendata utan också för de så kallade "Chargaff-förhållandena" – dvs kvoterna mellan nukleotiderna Adenosin / Tymin (A/T) och Cytosin / Guanin (C/G). Enligt dna-modellen skulle dessa kvoter ha värdet 1,0 men i verkligheten var de experimentellt uppmätta kvoterna osäkra. Experimentella värden för kvoten A/T varierade mellan 1,03 och 1,06 och för C/G-kvoten låg de mellan 0,85 och 0,93. I själva verket var det först i början av 1960-talet som dessa förhållanden blev i överensstämmelse med förutsägelseerna i Watson och Cricks dna-modell.

Att bevisa eller motbevisa den föreslagna mekanismen för dna-replikering blev en återkommande angelägenhet inom molekylärbiologin i början och mitten av 1950-talet. Många alternativa mekanismer hade föreslagits. Delbrück hade till exempel föreslagit en modell med upprepade kedjebrytningar och återbindningar som helt andanröjde problemet med separationen av de två strängarna hos dna dubbelhelixen.

Men alla var inte bekymrade. Ett anmärkningsvärt undantag var Sydney Brenner – en av de iderika förfäderna till molekylärbiologin – som tyvärr avled 2019. Han var i början av 1950-talet kollega till Watson och Crick på det berömda MRC Laboratoriet i Cambridge, England. En av hans "bon mots" inom molekylärbiologisk forskning var "the don't worry hypothesis": "If an idea explains something interesting, don't worry too much about what it does not explain." Om naturen till hade hittat på en så vacker struktur för dna, som den dubbelhelix som föreslagits av Watson och Crick, måste naturen också ha hittat på ett sätt att kunna linda upp den. Brenner hade

dessutom en annan princip som kunde ha åkallats för upplindningsproblemet.

Denna princip – ett alternativ till den klassiska "Occams Razor" – kallade han "Occams Broom", det vill säga att sopa svåra fakta under mattan - åtminstone tills den börjar bli svår att gå på.

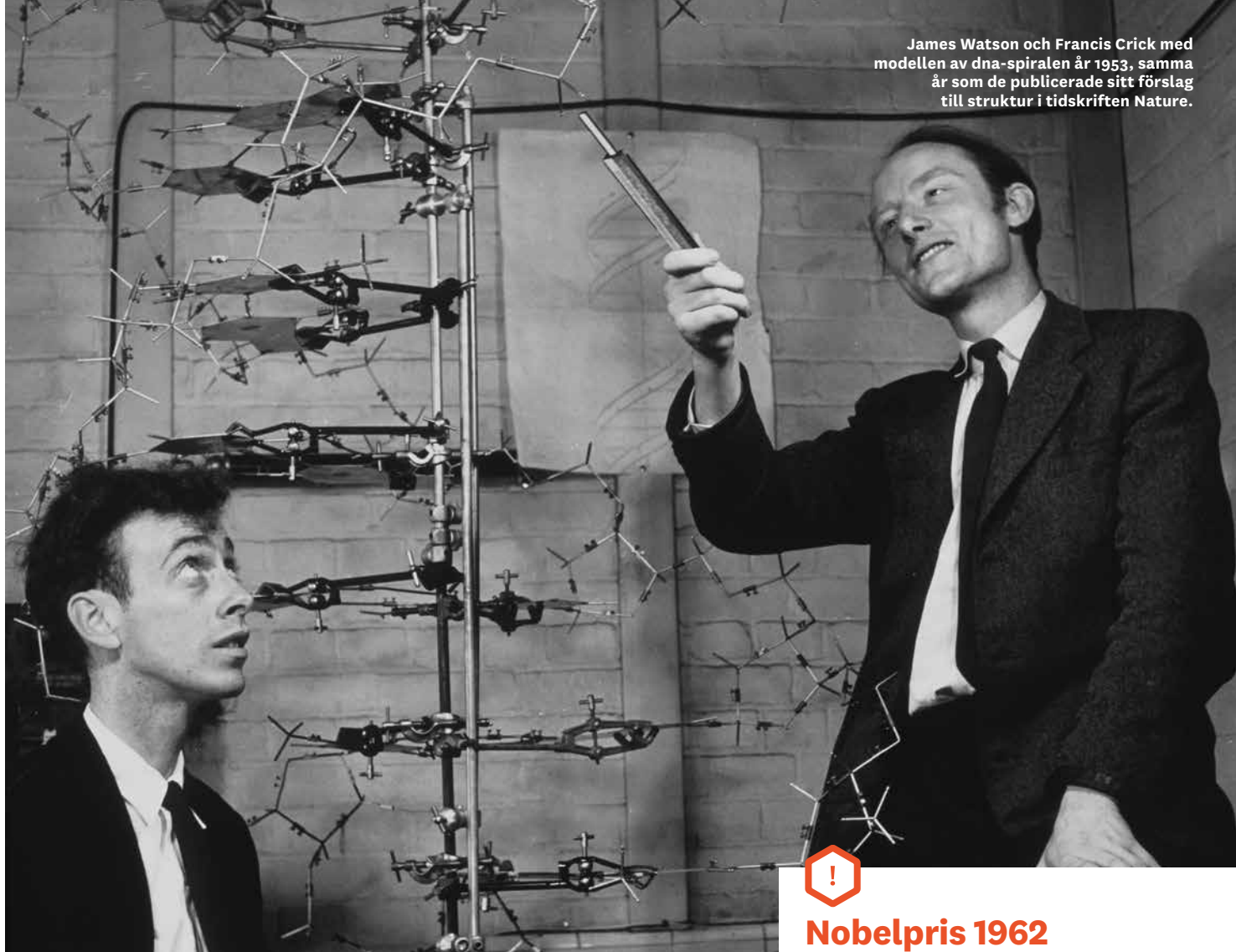
De experimentet som slutligen avlägsnade det mesta motståndet mot den replikationsmodell som föreslagits av Watson och Crick genomfördes i slutet av 1957 av två unga doktorander vid Caltech, Matthew Meselson (f. 1930) och Franklin Stahl (f. 1929). Merparten av Holmes bok behandlar i detalj de händelser som ledde fram till dessa experiment – i själva verket i nästan påfrestande detaljer. De avgörande experimenten beskrivs först på sidan 319. Jag försöker förkorta historien så att inte läsarna hamnar i koma.

MEDELSON HADE EN EXAMEN från Caltech och Stahl en från Harvard College. Meselsons intressen rörde främst fysikalisk kemi och Stahls experimentell cellbiologi. Båda träffade och pratade forskning med James Watson vid det marinbiologiska laboratoriet i Woods Hole år 1954. Meselson hade redan då en idé om hur man skulle kunna testa alternativa teorier om dna-replikering. Detta genom att införliva tunga isotoper i dna från en organism under dess tillväxt. Och sedan "på något sätt" bestämma isotopinnehållet i dna med hjälp av ultracentrifugering. Meselson diskuterade denna idé med Watson som föreslog att detta experiment skulle provas på The Svedbergs laboratorium i Uppsala och inte på Caltech. Men det verkade som om förslaget om Uppsala hade mer att göra med Watsons passion för vackra svenska kvinnor än något annat.

En betydande del av den biologiska forskningen på Caltech under dessa dagar var kopplad till bakteriofager. Dessa utgjorde Max Delbrücks och hans forskargrups favoritsystem. Meselson var fascinerad av idén att man borde kunna separera fager i en ultracentrifug – de som odlas med vanlig uracil i ett medium från de som odlas i ett medium med den "tyngre" analogen 5-brom uracil. Han visste att separationsförsöken måste göras i ett medium med en täthet över 1,55 g/cm³. Efter att letat i olika handböcker bestämde han sig att använda vattenlösningar av antingen CsCl eller (Cs)₂SO₄.

Stahl och Meselson preparerade ett parti T4-fager och ultracentrifugerade dessa i en 0,1 M CsCl-lösning vid 54 000 varv/min. Detta med ett helt nytt "Spinco E-Type"-instrument som fanns i äldre kollegan Jerome Vinograds laboratorium på Caltech.

James Watson och Francis Crick med modellen av dna-spiralen år 1953, samma år som de publicerade sitt förslag till struktur i tidskriften Nature.



Nobelpris 1962

Under 1940-talet började forskare att misstänka att det inte var proteiner utan dna som ärvs från generation till generation. James Watson och Francis Crick försökte bygga modeller av dna-molekylen som stämde överens med kända fakta, men kombinationsmöjligheterna var för många. Lösningen kom från Maurice Wilkins och Rosalind Franklin, som hade röntgenkristallografi-bilder som visade hur röntgenstrålar studsade mot de olika atomerna i dna. Bitarna föll på plats och 1953 kunde Crick och Watson bygga en modell som visar hur en dna-molekyl ser ut. Upptäckten publicerades i tidningen Nature i april samma år.

År 1962 fick Francis Crick (1916–2004), James Watson (f. 1928) och John Wilkins (1916–2004) dela Nobelpriset i medicin "för deras upptäckt av nukleinsyrornas molekylära uppbyggnad och dess betydelse för informationsöverföring i levande materia". Rosalind Franklin (1920–1958) dog i cancer fyra år innan Nobelpriset för upptäckten delades ut.

Källa: Nobelprizemuseum.se

Till Meselsons stora förvåning rörde sig T4 dna-bandet i centrifugcellen – något som man normalt inte såg vid centrifugering av rena vattenlösningar. Cellens höga rotation måste ha gett upphov till en täthetsgradient i CsCl-lösningen. Efter att ha konsulterat Svedberg och Pedersens bok "The Ultracentrifuge" insåg han att detta fenomen faktiskt redan hade observerats på 1930-talet. Bildningen av en täthetsgradient i en CsCl-lösning var mycket goda nyheter. Små skillnader i molekylvikt hos dna-prover borde nu kunna detekteras. Det innebar att man nu verkligen skulle kunna erhålla separata band för T4-dna med vanlig uracil och med 5-brom uracil.

Två partier fager bereddes – en där fagera förökats i uracil och en där de förökats i närvaro av 5-brom uracil. Guanidinhydroklorid användes för att "öppna" fagen så dess dna kunde isoleras. Caltechs "Spinco" ultracentrifug i Vinograds laboratorium var mycket upptagen men Meselson fick tillgång till den i slutet av 1956 och i början av 1957. Vid experimenten med de två olika partierna fager sågs tydligt två väl separerade T4-dna-band. Separationen var faktiskt

större än förväntat – vilket fick Meselson och Stahl att tänka på experiment som var mer direkt kopplade till replikationsproblemet genom användning av bakteriellt dna snarare än T4-dna.

Men Meselson hade först andra saker att oroa sig för – sin doktorsavhandling hos Linus Pauling. Den ursprungliga uppgift han hade fått var att lösa röntgenstrukturen för en amid: N, N'-dimetylmalonamid. Men som ett resultat av sina ultracentrifugeringsexperiment hade han också fått tillstånd att inkludera ett kapitel i doktorsavhandlingen om "Jämviktscentrifugering av makromolekyler i täthetsgradienter med tillämpningar på dna-studier". Han försvarade sin avhandling den 23 maj 1957. Betygskommitten skulle troligen fått alla dåtidens unga fysikaliska kemister att skälva: Linus Pauling, Richard Feynman, Harden McConnell och Jerome Vinograd. Men examinationen gick bra och Pauling blev imponerad av metoden för täthetsgradienter i ultracentrifuger.

NÄR NU MESELSON hade klarat av sin PhD-examen kunde han åter ägna tid åt

dna och replikationsproblemet. Han och Stahl övervägde nu ett nytt experiment för att kasta ljus över detta. Tanken var att i stället för att använda T4-dna nu utnyttja dna från *E. coli* och odla bakterien i närvaro av 5-brom uracil. Och sedan följa vad som hände med detta märkta dna efter en, två, tre etc. celldelningar i ett medium med omärkt uracil.

Vad skulle man förvänta sig? Antag att replikationen av dna gick genom ett stadium där en dubbelhelix framställd med 5-brom uracil skulle lindas upp i sina två komplementära strängar. Och anta vidare att var och en av dessa två strängar skulle vara mallar för syntesen av komplementära strängar med vanlig uracil. Två nya dna-dubbelhelixer skulle bildas. Om den semikonservativa replikationsmodellen var korrekt skulle dessa nya dna-molekyler ha en märkt och en omärkt sträng. Kunde man bevisa detta, skulle den semikonservativa mekanismen kunna fastställas.

Försöken att använda 5-bromouracil som dna-märkning i *E. coli* lyckades emellertid aldrig av någon anledning. Vid ultracentrifugeringsförsök kunde man se "Heavy-Heavy"-band och "Light-Light"-band men aldrig som förväntat "Heavy-Light"-band. Trots detta misslyckande imponerade experimenten på den vanligtvis kritiska Max Delbrück och Meselson och Stahl gav inte upp. I augusti 1957 fick Meselson vad han kallade en "brainstorm" när han bladdrade igenom en katalog från "Isomet Co." – ett företag som sålde isotopanrikade kemikalier. Enligt katalogen kunde företaget nu leverera 15-N-märkta föreningar. Meselson påminde sig om en föreläsning av Jaques Monod på Caltech 1954 där denne beskrev användningen av deuteriummärkning för att studera hur och när β -galaktosidas syntetiserades i en bakterie. Han hade inte glömt hur imponerad han varit över detta. Innan upptäckten av täthetsgradienter vid ultracentrifugering hade experiment där man kunde skilja på bakteriellt dna som bildats i 15-N-media från dna bildat i 14-N media verkat helt omöjligt. Men kanske skulle experimentet fungera nu i de högupplösnings täthetsgradienter som observerats i CsCl-lösningar?

15-N-MÄRKT AMMONIUMKLORID beställdes och anlände i september 1957. Stahl visade att *E. coli* kunde växa bra med den märkta föreningen som den enda kvävekällan. 15-N-märkt dna extraherades från bakterierna och utsattes för en CsCl-täthetsgradientcentrifugering. 15-N-märkt dna gav ett enda skarpt band. I oktober genomfördes en andra täthetsgradientkörning på en blandning av dna odlad i *E. coli* med an-

vändning av vanlig 14-N ammoniumklorid och dna från *E. coli* odlad på 15-N-märkt ammoniumklorid. Två väl separerade, skarpa band erhöles - stor uppmuntran. Det verkade nu genomförbart att observera band från dna med mellanliggande isotopinnehåll.

I slutet av oktober inleddes det avgörande märkningsförsöket. *E. coli* odlades med 15-N ammoniumklorid i mediet under 14 timmar och kväveatomerna i dess dna borde nu enbart vara isotopen 15-N. Därefter tillsattes ett tiofaldigt överskott av vanlig 14-N ammoniumklorid till odlingen. Omedelbart efteråt togs ett prov av bakteriemassan, som snabbt kylades och lyserades för att få fram dess dna. Ytterligare prover togs med 15 minuters intervall, kylades, lyserades och lagrades. Täthetsgradientcentrifugering i CsCl utfördes på vart och ett av de lagrade proverna. I det första sågs bara ett "tungt" dna-band. I följande prover dök gradvis ett andra "halvtungt" band upp medan det "tungt" bandet gradvis försvann. Efter två-tre generationer började ett nytt helt "lätt" dna-band att dyka upp medan det "halvtunga" bandet gradvis helt försvann. Allt fungerade som förväntat av den semikonservativa replikationsmodellen.

Meselson skrev snabbt ett brev till Jim Watson om det nya lyckade experimentet och slutade med en vers med texten: "Now 15-N by heavy trickery, ends the sway of Watson Crickery!"

NYHETEN OM EXPERIMENTEN på Caltech spred sig snabbt inom det molekylärbio-logiska forskarsamhället. Många forskare var imponerade och övertygade – andra var klart imponerade men också deprimerade. En i den senare gruppen var Gunther Stent, en forskare inom Delbrücks faggrupp som länge hade arbetat intensivt med en replikationsmekanism som inte krävde upplindning av dna-helixen. Enligt Stent skulle en ny dna-sträng växa fram inom en åtkomlig "fåra" i de yttre delarna av dna-dubbelspiralen. Och Meselson själv oroade sig fortfarande för naturen hos dna-banden i sina täthetsgradientexperiment. De flesta av oss idag är så vana att tänka på dna som en dubbelhelix att vi har svårt att föreställa oss att i slutet av 1950-talet detta var inte på något sätt övertygande bevisat och allmänt accepterat. Kunde de observerade banden motsvara något annat än dubbelspiraler? Max Delbrück var visserligen imponerad av Watson & Crick-modellen och märkningsexperimenten – men hade inte övergett tanken på att banden skulle kunna vara dimerer av dubbelhelixer. Men i separata experiment hade Meselson och

Stahl lagt till proteindenaturerande GuHCl i CsCl-lösningarna och såg ingen effekt på dna-bandets läge. Det var därför inte troligt att proteiner kopplade samman delar av de molekylära enheter som observerades – alltså inga dimerer.

I februari 1958 fick Meselson en annan bra idé. Att uppvärmning av dna hade en slags denaturerande effekt hade visats av Paul Doty och andra. Det verkade troligt att uppvärmning skulle leda till att de två trådarna i en dubbelspirala skulle skiljas från varandra. Meselson tog ett prov av sitt "hybrid"-dna – det som antogs ha en sträng märkt med 15-N (H-strängen) och den andra med 14-N (L-strängen) - och värmdet det till nära 100 °C i 30 minuter. Den kylta lösningen utsattes sedan för en gradientcentrifugering. Resultatet blev två distinkta väl separerade band. Dessutom var bandbredderna större jämfört med det ursprungliga hybridbandet, vilket indikerar att molekylvikten för de nya enheterna var mindre än hybridmolekylen (dvs lägre molekylvikt = snabbare termisk diffusion = bredare band). Allt stämde överens med tanken på att en H-L dubbel helix hade separerats i en H och en L enkelsträng.

Men inte alla accepterade ovanstående tolkning av värmedenaturerings experimentet. Den inflytelserika Delbrück satsade 10\$ på att Meselsons nya band efter värmedenaturering var något annat än enstaka dna-strängar.

I mars 1958 skrev Meselson och Stahl slutligen en artikel avsedd för "Proceedings of the National Academy of Sciences" (PNAS) och där alla deras experiment redovisades. Delbrück hanterade manuskriptet och sände det vidare till "The National Academy" för publicering den 14 maj 1958. Effekterna av publikationen i PNAS några månader senare var betydande. Nu nådde märkningsförsöken och deras tolkning utanför den sammansvetsade gruppen molekylärbio-loger. Uppsatsen var försiktigt och omsorgsfullt formulerad och dna-bandens natur bekräftades inte uttryckligen. Men i ett diskussionsunderlag förberett för ett "Cold Spring Harbour Symposium" i juni 1958 över "Exchange of genetic material: Mechanisms and Consequences" presenterade Meselsons och Stahls sin strategi och dess tolkning klart och tydligt. Experimentet beskrivs nu som ett "direct test of the Watson-Crick-hypotesis".

JAG KOMMENTERAR INTE alla invändningar som vissa forskare fortfarande hade mot Watson och Cricks semikonservativa replikationsmekanism. För vissa var detaljerna om upplindningsprocessen fortfarande oförklarliga. Invändningarna avtog lång-

samt men fortsatte in i tidiga 1960-talet.

I ett elegant experiment år 1961 använde engelsmannen John Cairns autografi av tritiummärkt T2-fag dna för att visa att detta hade en längd på 50 μ - en siffra som utmärkt överensstämmer med att dna-molekylen var en enda dubbelspiral. Senare visade Cairns övertygande, återigen med autoradiografi men nu på tritium märkt "lambda phage" dna, att replikationen av dna innebar en separation av polynukleotidsträngarna. Watson-Crick-modellen måste därmed vara korrekt.

Det verkar som att dessa experiment övertygade även de mest skeptiska sinnena och den semikonservativa replikationsmodellen blev till slut allmänt accepterad. Åtminstone verkade den medicinska Nobelkommittén inte ha haft några förbehåll för dna-strukturen och dess genetiska roll. Nobelpriset i fysiologi eller medicin år 1962 tilldelades Crick, Watson och Wilkins med motiveringen "för deras upptäckt av nukleinsyrornas molekylära uppbyggnad och dess betydelse för informationsöverföring i levande materia".

VI VET I DAG ATT inte bara den medicinska Nobelkommittén utan även den kemiska Nobelkommittén hade fått nomineringsförslag rörande dna strukturen. Enligt Nobelarkivet kom de första nomineringarna rörande denna år 1960 – då en nominering i kemi och två i medicin eller fysiologi. Under 1961 kom ingen nominering till kemipris men tre till medicin eller fysiologi. Prisåret 1962 kom sex nomineringar till kemipris och fem till medicin eller fysiologi.

Hade det inte kunnat bli ett Nobelpris i Kemi 1962? Jag har ingen tillförlitlig information om hur diskussionerna gick inom Kemikommittén denna tid. Men betänk vilka kemipris som utdelades 1962 (Max Perutz och John Kendrew bl a för deras studier av hemoglobin och myoglobin) och 1964 (Dorothy Crowfoot Hodgkin bl a för hennes röntgenstudier av penicillin och vitamin B12). Båda dessa pris belönade milstolpar inom strukturbiologin. I detta sällskap föreföll kanske de lågupplösta diffraktionsmätningarna på dna-fibrer inte kunna mäta sig, även om de låg till grund för en länge omstridd men revolutionerande dna-struktur. I rest my case.

Sture Forsén, 16 juli 2019

*The Pufendorf Inst. for Advanced Studies-
Lunds universitet*

PS: För de läsare av Kemisk Tidskrift som är intresserade av molekylärbiologins tidiga historia finns en unik samling muntliga berättelser från många av dess centralgestalter tillgängliga på "CSH Oral History Collection". De kan utan kostnad kan laddas ned från Internet. Där finns till exempel korta berättelser från flera av de forskare som nämns i min artikel: James Watson, Francis Crick, Sydney Brenner, Matthew Meselson, Poul Doty och John Cairns. Tyvärr inte från Max Delbrück.