



Hugo Manuel Gonçalves Soares

**A descoberta da Dupla Hélice do DNA:
Contributo para possíveis narrativas**

Dissertação para obtenção do grau de
Mestre em Ensino de Biologia e da Geologia

Orientador: António Manuel Dias de Sá Nunes dos
Santos, Professor Catedrático da Faculdade de Ciências
e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Maria Paula Pires dos Santos Diogo

Arguente: Prof. Doutora Isabel Maria da Silva Pereira Amaral

Vogais: Prof. Doutor António Manuel Dias de Sá Nunes dos Santos

Prof. Doutor Vitor Manuel Neves Duarte Teodoro

Prof. Doutor João José de Carvalho Correia de Freitas

A Descoberta da Dupla Hélice do DNA: Contributo para Possíveis Narrativas

© Hugo Soares, FCT/UNL, 2015

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e ao editor.

Dedicatória e Agradecimentos

Esta dissertação é muito mais do que a conclusão de um mestrado, na realidade é o fim de um processo que se iniciou em 1999, com o meu ingresso na extinta Licenciatura em Ensino das Ciências da Natureza, e que, por razões pessoais e institucionais, só agora foi possível concluir. Além do fim desse processo, simboliza também um novo tipo de compromisso com a minha vida, que só agora será possível.

Quero em primeiro lugar agradecer ao meu orientador Prof. António Manuel Nunes dos Santos, a quem não posso agradecer o suficiente por todas as diligências, paciência, conversas, clareza e amizade que me dirigiu: António, obrigado por me acompanhar nesta viagem intermitente, teria ficado por uma dessas paragens se a tivesse feito noutra companhia. Deixo também uma palavra ao Prof. Christopher Aretta, cujas faíscas já incendiaram as mentes e corações de incontáveis alunos, sendo eu um deles.

Não posso deixar de agradecer aos meus pais, pelo apoio que sempre me deram, em particular à minha mãe que, nos últimos três anos me perguntou, praticamente em todos os telefonemas, se já tinha esta dissertação pronta, e cuja insistência significa apenas a certeza de que eu seria capaz de o fazer.

Agradeço também aos meus amigos que sempre acreditaram em mim, e sempre estiveram lá para mim.

João, lamento todos os momentos de ausência, física e mental, que me acompanharam desde que comecei a carregar esta tarefa, estou finalmente mais livre para seguirmos caminho. Obrigado por todas as vezes que me chamaste à razão e pelas vírgulas. Sem ti também não chegaria a bom porto.

“So this world, that we imagine, in this room, may be used to gain access to other rooms, other worlds, previously unimaginable.”

Lana Wachowski at the HRC Visibility Award acceptance speech

Resumo

Até ao final dos anos 40, o DNA não era reconhecido como portador da informação genética. Era uma molécula demasiado simples, difícil de isolar e incompatível com os métodos de análise da química orgânica e da biologia. Quando alguns cientistas começam a acreditar na importância do DNA, percebem que são incapazes, tecnicamente, de determinar a sua estrutura. É nesse espírito que James Watson vai para a Europa e, na primavera de 1951, ao assistir à conferência de Maurice Wilkins, da King's College, onde vê uma fotografia do padrão de difração de raios X, percebe que será esta a técnica chave para a determinação da estrutura do DNA e, subsequentemente, dos segredos da vida. É este o início de uma das possíveis narrativas sobre uma das principais descobertas científicas do séc. XX que muitas vezes se reduz a: “A dupla hélice do DNA foi descoberta em 1953 por Watson e Crick”. Esta dissertação propõe-se a demonstrar que, apesar de em termos estritos, se tratar de uma afirmação verdadeira, não é suficiente para garantir uma experiência pedagógica significativa, nem fazer jus ao que é o funcionamento da ciência, com todas as implicações humanas, contextuais, éticas, consequências e impacto.

Palavras-Chave: Dupla Hélice, História da Ciência, Narrativa de Ciência, DNA.

Abstract

Until the late 40s, DNA acknowledgement as the genetic carrier did not exist. As a molecule, it was too simple, too hard to purify and, most of all, a bad research object for biology and organic chemistry. When some scientists started believing DNA's importance, they also realized they were unable to study it; they lacked a technique to determine its structure. It was in the wake of this assessment that James Watson went to Europe and, in the spring of 1951, while attending a conference by Maurice Wilkins, who shows a picture of the x-ray diffraction pattern of DNA, he realizes that this technique would be the key to determining the structure of DNA and the secret of life. This is the start of a possible narrative on one of the main scientific discoveries of the XX century, which is often reduced to: "The double helix of DNA was discovered by Watson and Crick in 1953". This dissertation proposes to demonstrate that, although this sentence is true, it is not enough to ensure a meaningful learning experience, nor does it hold true to what is the nature of science with all its human, contextual, ethic components, consequences and impacts.

Keywords: Double Helix, History of Science, Science Narrative, DNA.

Índice de Matérias

Introdução.....	1
O Contexto da Descoberta da Dupla Hélice do DNA	7
1900-1930: O início do Século Baconiano	7
1930-1950 – Como Determinar a Estrutura das Proteínas?	10
1951-1953 – A Descoberta da Dupla Hélice	18
Rosalind Franklin	18
Maurice Wilkins, John Randall e a <i>MRC Unit</i> do King’s College.....	20
James Watson, Francis Crick e o Cavendish	32
Conclusão.....	47
Bibliografia.....	55
Anexos.....	60
Anexo I - Prémios Nobel na área da Genética e da Biologia Molecular	62
Anexo II – Os três artigos publicados na revista Nature em 25 de Abril de 1953, pela ordem de publicação original	69

Introdução

“A dupla hélice do DNA foi descoberta em 1953 por Watson e Crick” é provavelmente a frase que resume a introdução da descoberta da estrutura do DNA pela maioria dos professores e manuais escolares. Esta frase é geralmente suportada por um conjunto de resultados, obtidos previamente por outros cientistas, que primeiro provaram que o DNA era a molécula responsável pela hereditariedade, e depois produziram indícios com os quais Watson e Crick descobriram a dupla hélice do DNA. Não sendo esta narrativa falsa, também não é inteiramente verdadeira. Esta história perpetua uma visão de ciência como construção de conhecimento linear, pontuada por descobertas heroicas, que está desajustada às ideias contemporâneas sobre a natureza da ciência. A utilização desta narrativa redutora também representa a perda de muitas oportunidades de aprendizagem, no que diz respeito a muitos temas universais, que são essenciais à formação dos alunos, falo de todo um conjunto de questões éticas, sociais, históricas, políticas, que transcendem o ensino das ciências.

A origem deste tipo de ideia sobre a construção da ciência teve a sua génese no séc. XVII, com a revolução científica, surgindo uma visão dualista da ciência. Este dualismo nasce das ideias de René Descartes (1596-1650), em França, e de Francis Bacon (1561-1626), no Reino Unido. São as visões cartesiana e baconiana da ciência e ainda hoje moldam a forma como a ciência é vista. Haberer (1969) sugere que estes dois modelos de organização da ciência também estruturaram a relação entre os estados e a ciência. Descartes dá origem à tradição da *torre de marfim*: a ciência e o cientista devem funcionar em separação absoluta do Estado, o cientista é defensor de um poder superior, e o conhecimento deve trabalhar isoladamente, alheado dos assuntos públicos. Para Bacon, a ciência e o cientista devem estar ao serviço da sociedade, intimamente ligados ao Estado, uma vez que só a ciência é capaz de produzir as melhores soluções para os problemas públicos. Há também uma diferença significativa no papel do cientista individual, que é valorizado pelo cartesianismo e desvalorizado pelos baconianos. Até ao início do séc. XX, a ciência, restrita a uma organização simples, pequena e privada, preocupada com a sua autonomia enquanto grupo profissional, cultivou uma ética de separação dos interesses institucionais por forma a garantir o seu estabelecimento enquanto entidade independente e profissional. Haberer (1969) admite que do lado institucional não se desenvolveu uma ética equivalente, o que originou uma clivagem entre as duas visões de ciência e as duas entidades, que se foi aumentando à medida que as duas entidades se foram sobrepondo. O cientista continuou a definir-se socialmente de acordo com as ideias cartesianas, quando na realidade a relação entre o Estado e a ciência se estava a estruturar de

acordo com o modelo baconiano. A ciência não foi capaz de refletir e tomar decisões críticas durante as primeiras décadas do séc. XX, quando o Estado, fortemente motivado pela ocorrência das duas grandes guerras, começou a instrumentalizar a ciência.

Um dos primeiros momentos em que a sobreposição de interesses políticos aos da ciência se materializou, encontra-se nos anos 20 e 30, durante a ascensão do regime nazi na Alemanha. Não só a reputada comunidade científica alemã compactuou com a ideologia nazi, assistindo sem grande resistência ao desmantelamento das universidades e ao afastamento de vários intelectuais judeus, como se dedicou a perseguições científicas, tentando refutar, por exemplo, o trabalho de Einstein. Haberer (1969) não associa este tipo de promiscuidade entre a política e a ciência ao regime nazi; antes justifica tratar-se de uma mudança de *status quo* universal. A mudança de postura da comunidade científica no que diz respeito ao desenvolvimento e utilização da bomba atômica, nos EUA, serve a mesma linha. Se inicialmente a comunidade científica objetou fortemente ao desenvolvimento da bomba atômica, à medida que o projeto Manhattan foi decorrendo, passou para primeiro plano a necessidade do desenvolvimento e utilização da arma nuclear, para que a ciência demonstrasse a sua utilidade e importância do seu apoio pelo Estado.

Regressando à questão da narrativa, devemos recorrer-nos a Barthes para lançar um olhar objetivo sobre o que é a narrativa e a sua estrutura, e de que forma a sua mecânica é relevante para a história da ciência e para o ensino. Barthes (1997) define a narrativa como uma estrutura comum a todas as culturas, funcionando como um mecanismo promotor da aprendizagem. White (1981), citado por Milde (1996) define este mecanismo como uma forma de mediação entre o saber e o dizer. Scholes (1981) dá também uma definição simples, em que insere o elemento da sequencialidade, dizendo que uma narrativa é a sequenciação de algo para alguém. Define ainda que um evento real é algo que acontece, uma ocorrência, a passo que um evento narrado é a representação simbólica de um evento real, e uma narrativa é a apresentação simbólica de uma sequência de eventos, conectados por um assunto e com uma relação temporal. Scholes (1981) esclarece ainda que a produção de uma narrativa implica a seleção dos eventos, aos quais se atribuem diferentes graus de importância, e quando a esta sequência se adicionam significados e valores, passamos a ter uma história¹ (Mitchel, 1980).

Quando olhamos para a ciência através desta lente de análise, surge algo de inquietante, especialmente para quem possua uma visão mais dogmática da ciência, uma vez que atribuindo-

¹ Apesar desta distinção entre narrativa e história, como o próprio Scholes (1981) diz “When we are speak of narrative, we are usually speaking of story” (p. 206), pelo que os dois termos serão utilizados ao longo deste texto de forma intercambiável.

lhe uma base completamente racional e objetiva, a ideia de que a “verdade” seja sensível a interpretações soa a paradoxo².

Caímos frequentemente no erro de pensar que, lidando a ciência com factos objetivos, também a sua transmissão se reduz à transmissão de uma sucessão de factos. No entanto, mesmo que não haja consciência disso, o que estamos a transmitir é não todos os factos, uma vez que tal não é possível, mas sim uma seleção de factos. Se estamos a falar de uma seleção, quem é que decide o que é mencionado e o que não é mencionado? E qual é o significado dessa seleção de factos, no que diz respeito ao significado do que estamos a transmitir?

Uma teoria pode ser olhada segundo estes termos e recorrendo, por exemplo, a uma teoria explorada nesta dissertação, podemos dizer que até ao final dos anos quarenta, face à narrativa científica composta pelo corpo de conhecimento acumulado, havia uma interpretação vigente, apoiada pela maioria dos membros da comunidade, na direção de tudo o que desse relevância ao papel das proteínas. Podemos assim dizer que James Watson, John Randall, Salvador Luria, e todos os cientistas que decidiram encarar o DNA como portador da hereditariedade, não fizeram mais do que interpretar a mesma narrativa disponível de outra forma, selecionando os eventos que apoiavam a ideia de DNA como portador da informação genética.

Milne (1998), que segue as propostas que Barthes (1997) faz para a identificação de uma estrutura narrativa, e a ideia de Scholes (1981) de seleção de eventos, cristalizada pela definição de narrativa como “representação simbólica de uma sequência de eventos ligados por um assunto comum e encadeados temporalmente” (p. 205), aplica-a não só à história da ciência, mas também à sua prática, dizendo que, por exemplo, tanto um protocolo experimental como a respiração celular são narrativas. Demonstra a importância da narrativa no ensino das ciências, tornando relevante que os professores e os alunos desenvolvam um sentido crítico com base na forma como as histórias apresentadas estão estruturadas por exemplo, questionando a razão de ser dos passos de um protocolo. A possibilidade de obter múltiplos significados a partir de uma única narrativa requer a consciência de que estas histórias contêm mensagens explícitas e/ou implícitas sobre valores e significados.

Assim, as histórias são utilizadas para ajudar os alunos a organizar o seu conhecimento em estruturas explicativas, que funcionam como lentes de interpretação através das quais compreendem a sua experiência da ciência. Uma vez que as histórias da ciência fazem revelações implícitas sobre a natureza da ciência, elas também servem para legitimar certas visões filosóficas

² Seria muito interessante aplicar as ideias de Barthes ao funcionamento da ciência, parece haver uma relação entre as suas noções e, por exemplo, a forma como os cientistas tratam o erro e o acidente.

da ciência, que são inconsistentes com os desenvolvimentos contemporâneos da filosofia da ciência.

Milne (1998) identifica quatro tipos de narrativa de ciência: heroica, de descoberta, declarativa e politicamente correta. Cada um destes tipos de narrativa promove um conjunto específico de ideias sobre a ciência, que se apresentam, dentro da narrativa interna, como verdades. A narrativa heroica foca-se num herói da ciência que contribui individualmente para o desenvolvimento da ciência. Na narrativa de descoberta, o conhecimento científico apresenta-se como fruto de acidente. Na narrativa declarativa, os conceitos científicos são tratados como objetos, sendo representados como naturais e passíveis de serem observados por qualquer pessoa. As narrativas politicamente corretas tentam representar de forma mais justa a contribuição de pessoas de diferentes culturas, géneros, religiões e países para o desenvolvimento da ciência, examinando criticamente a interação ciência-sociedade. A descoberta da dupla hélice do DNA pode ser escrita de acordo com qualquer um destes tipos de narrativa, mas para esta dissertação a que nos interessa analisar é a narrativa heroica, que corresponde à forma mais habitual como esta descoberta é narrada.

Há um outro aspeto com interesse, e passa pela representação da mulher na narrativa heroica. Milne (1998) define como característico da narrativa heroica que o “herói” é sempre do sexo masculino. Habitualmente, a única mulher que surge representada numa narrativa próxima desta é Marie Curie. No entanto, a sua representação é muito diferente da de um homem na mesma posição. Curie é apresentada como uma pessoa que trabalhou meticulosamente durante anos, acumulando factos científicos. Brush (1985) chama a este tipo de representações da mulher na ciência de “síndrome Marie Curie”, no qual a mulher cientista, independentemente das suas capacidades para ser intuitiva, imaginativa, criativa e líder na sua especialidade, é antes representada como alguém que desempenhou trabalho experimental, meticuloso, entediante e meramente observacional. A implicação de uma representação destas é a de que a mulher não é realmente uma heroína, não venceu forças externas, pelo contrário, limitou-se a cumprir um procedimento. Facilmente identificamos uma situação idêntica no caso da descoberta da dupla hélice do DNA. Nas descrições habituais de Linus Pauling nunca encontramos relatos nas linhas de “passou várias horas, todos os dias, a encaixar bolas de plástico e arames até conseguir deduzir o modelo da hélice- α ”. É o seu génio dedutivo que é realçado, na medida inversa em que, no caso de Rosalind Franklin, frequentemente as menções e elogios ao seu trabalho centram-se na sua competência técnica e dedicação, provada pelas horas passadas no moroso e meticuloso processo de obtenção de fotografias de difração de raios X do DNA, e ainda nas incontáveis horas a fazer os

cálculos de interpretação³. É um facto que ela desempenhou esse trabalho, mas pouca menção é feita a todo o trabalho meritório que fez na área dos carvões, na pesquisa qualitativa sobre o DNA e, posteriormente, à sua carreira em Birkbeck onde estudou o vírus TMV. (Maddox, 2002)

A descoberta da estrutura do DNA é fascinante de todos os pontos de vista, apesar de ser apresentada habitualmente de forma unívoca. Em termos do desenvolvimento científico é, sem dúvida uma das mais importantes descobertas de sempre, com efeito, se formos além do seu valor intrínseco e situarmos a descoberta no contexto em que ocorreu, permite-nos compreender a natureza da ciência e levantar questões transversais a toda a sociedade. A questão apresentada no parágrafo anterior é apenas uma entre muitas, que podemos levantar a partir de uma história mais elaborada sobre a descoberta da dupla hélice do DNA, e é suficiente para evidenciar a forma como estas narrativas simplistas não se limitam a construir visões incompletas de factos históricos. Estão carregadas de significados ideológicos, perpetuados pela simples ausência de pensamento crítico na sua transmissão, tanto do lado do professor, como do lado do aluno. Cada vez que uma destas narrativas redutoras é repetida, é perdida uma oportunidade de desenvolver esse sentido crítico, transcendente à sala de aula e à ciência, essencial a qualquer cidadão. É também perdida uma oportunidade de conhecer um pouco mais do mundo em que vivemos.

Até ao início do séc. XIX, só através do transcendente se conseguia justificar a existência e complexidade da vida, pelo menos até Darwin escrever “*A Origem das Espécies*”. Mesmo trazendo a questão do funcionamento da vida para um plano profano, a ideia de que a informação para construir um ser humano pudesse estar contida numa molécula era impensável. A proposta lançada por Darwin é reforçada pelo trabalho empírico de Gregor Mendel, que descobre o modelo básico de hereditariedade, introduzindo o conceito a que hoje chamamos de gene. Fica por explicar de que forma se dá, fisicamente, a transferência dos genes de uma geração para a outra – a natureza do gene. Seria necessário esperar 35 anos para que o trabalho de Mendel fosse redescoberto, e mais 50 para que se conjugassem as condições para que fosse descoberta a estrutura do DNA e a natureza do gene.

O objetivo concreto desta dissertação é fornecer contexto que permita interpretar a descoberta da dupla hélice do DNA e fazer emergir questões para as quais o estudo deste caso ofereça valiosos contributos. Tal será feito recorrendo a testemunhos, cartas, notícias, biografias, artigos da época, entrevistas, e diários, que reúnem elementos que complementem a história em

³ Por exemplo, no volume produzido pela *Nature* em comemoração dos 50 anos da descoberta da dupla hélice, é repetidamente utilizada a expressão “golden hands” em referência ao trabalho de Rosalind Franklin (Clayton & Dennis, 2003).

várias dimensões, oferecendo a possibilidade de construir múltiplas narrativas. Serão seguidos dois objetivos percussores, que servem de base para essa exploração.

Em primeiro lugar, será necessário traçar a origem das principais ideias e intervenientes que constituem um contexto global para o estabelecimento da ciência contemporânea e, especificamente, para a descoberta da dupla hélice. Este contexto compreende os desenvolvimentos ocorridos de 1900 até 1951, que constituíram um ambiente favorável à descoberta da estrutura do DNA. Este período é dividido em duas fases, a) 1900-1930, período de reorganização da ciência, e b) 1930-1951, período de desenvolvimentos científicos diretamente relacionados com a descoberta da estrutura do DNA.

Em segundo lugar, pretender-se-á compreender as circunstâncias e forma como a descoberta se precipitou, considerando que o período de descoberta direta se inicia em 1951, com a chegada de James Watson ao Cavendish Laboratory⁴, e termina em 1953 com a publicação do artigo “A Structure for DNA” no dia 25 de Abril de 1953 na revista Nature, num capítulo que será complementado pela exploração das biografias de alguns dos intervenientes.

⁴ Departamento de Física da Universidade de Cambridge, fundado em 1874.

O Contexto da Descoberta da Dupla Hélice do DNA

1900-1930: O início do Século Baconiano

No início do século XX, conforme se vão tornando óbvias as possibilidades da aplicação da ciência a vários problemas, nomeadamente militares, a ciência atravessa uma profunda reorganização. Passam a identificar-se duas formas de ciência, diferentes na sua natureza, mas paralelas na sua execução: a ciência básica e a ciência aplicada.

Nas universidades é feita a ciência básica, caracterizada por um estudo sistemático, dirigido a uma construção de conhecimento autossustentada, isto é, para a compreensão de fenómenos, sem ter em vista o desenvolvimento de um processo ou de um produto pré-determinado, antes uma elucidação.

A ciência aplicada inicia-se na administração pública, com a formação dos primeiros institutos de investigação, e dedica-se à resolução de problemas militares durante a Primeira Grande Guerra. No fundo, a ciência aplicada parte de uma instrumentalização política, que a incumbe de resolver problemas concretos, de natureza económica, social e política. Mais tarde, é igualmente posta ao serviço de órgãos governamentais, empresas privadas e organizações não-governamentais com os mais variados interesses, produzindo melhorias médicas, lucro, prestígio ideológico e político.

Apesar das suas finalidades distintas, a ciência básica e a ciência aplicada não são estanques, circulando informação de uma para a outra, podendo a ciência básica produzir aplicações concretas, e a ciência aplicada produzir conhecimento puro. É também importante notar que a ciência aplicada, dado o seu carácter instrumentalista e a sua relação mais promíscua com o capital, é menos capaz de garantir isenção nos seus produtos. Este aspeto é relevante quando se propõe à ciência aplicada estudar questões como as alterações climáticas. (Nils, 2009)

A partir dos anos sessenta, a ciência é reconhecida como um motor fundamental para o crescimento económico e passa a ser suportada pelo dinheiro público numa escala sem precedente, a questão é decidir em que áreas científicas se deve alocar o financiamento. Esta visão economicista produz um problema na ciência básica, uma vez que inerentemente não cumpre este objetivo.

O cientista profissionaliza-se e surgem mais centros de investigação, associações e revistas científicas. Vários avanços técnicos abrem caminho para novos desenvolvimentos científicos e

várias especialidades científicas adquirem autonomia⁵, tornando-se novas ciências. Estas técnicas e equipamentos tendem a ser, numa primeira fase, exclusivas das instituições que os desenvolveram, garantindo-lhes uma vantagem competitiva no panorama científico. Consequentemente, a utilização generalizada destes equipamentos e técnicas podia levar algumas décadas.

Nesta fase, o financiamento da ciência atinge novas proporções. O sector privado apercebe-se quão lucrativos os resultados da ciência podem ser, tanto ao nível do aumento da produtividade, como do desenvolvimento de novos produtos (a química orgânica é um bom exemplo). Os Estados, começam a ver na ciência um papel estratégico, o que é comprovado na primeira guerra mundial. Uma articulação mais rígida entre ciência e capital permite que o segundo determine prioridades de investigação, dado o volume de capital investido, privilegiando determinadas linhas de investigação em detrimento de outras, em função dos resultados esperados.

Reportando-nos ao *status quo* das ciências naturais, comecemos pela biologia, ainda muito ligada à tradição taxonómica, os seus grandes objetivos eram catalogar, decompor, dissecar e nomear. A base desta tradição era axiomática e, com o desenvolvimento da microscopia e o estudo da célula, atingiu-se um limite. Quando se conclui que as funções executadas pelas células correspondem a processos da ordem da atividade molecular, a biologia desta época deixa de ter capacidade de prosseguir.

A química orgânica, que surge inicialmente como estudo das moléculas biológicas, sofre um desvio, cingindo-se a pesquisas que conduzam à síntese de compostos orgânicos e a aplicações industriais, em larga medida devido à importância exponencial da indústria petroquímica.

Para a bioquímica, que emergiu durante o séc. XIX a partir da química orgânica e da biologia celular, a grande temática era o funcionamento das enzimas e o estudo dos processos metabólicos. A primeira metade do século foi dedicada a estabelecer os principais mapas metabólicos como o ciclo da ureia e o dos ácidos crítricos, por Krebs .

A física é a grande ciência deste período, e foram os seus desenvolvimentos o motor para muitos desenvolvimentos noutras ciências. Um desses desenvolvimentos é a análise por cristalografia dos raios X, que se revelou essencial para a descoberta da estrutura das macromoléculas biológicas, incluindo o DNA. O potencial dos raios X na física foi imediatamente

⁵ Através do estabelecimento de revistas científicas próprias, entre outros fatores.

reconhecido, sendo o primeiro prémio Nobel da física atribuído a Conrad Röntgen, em 1901, pela sua descoberta⁶.

Em 1899 Max Von Laue descobriu que o comprimento de onda dos raios X é de ordem próxima do tamanho dos átomos. O que significa que, através da difração de raios X através de um cristal, é possível deduzir as posições relativas dos átomos desse cristal. Esta aplicação dos raios X valeu a Van Laue um prémio Nobel da Física em 1914.

William H. Bragg contribuiu com um grande desenvolvimento técnico na cristalografia de raios X, construindo o primeiro difractómetro de raios X. Este equipamento permite medir a intensidade dos raios X difratados por um único cristal, em vários ângulos relativos ao raio incidente. Bragg também fez outro contributo importante: desenvolveu a equação que permite calcular o espaçamento entre os planos da matriz cristalina – Equação de Bragg.

As possibilidades da cristalografia de raios X eram imensas, mas a interpretação dos padrões de intensidades obtidos era muito morosa, pois tanto a intensidade dos pontos, como os cálculos para a determinação da posição espacial correspondente, tinham de ser realizados manualmente (Jensen, Palenik, & Suh, 2003). Ainda assim, na primeira metade do século desvendaram-se muitas estruturas através desta técnica. A primeira foi a do cloreto de sódio, seguindo-se muitas outras, como a do diamante, a da grafite, a do cobre e as de outros minerais.

É importante notar que estas estruturas eram muito simples, tratando-se de cristais altamente regulares e com pouca diversidade de átomos. A estrutura resolvida é a do cristal, e não havia uma estrutura molecular, correspondente à unidade base, a inferir. No caso das macromoléculas orgânicas, a complexidade aumenta radicalmente, tornando-se necessário localizar uma grande variedade de posições de diferentes átomos, bem como as suas ligações químicas.

Em 1923 é descoberta a primeira estrutura de um composto orgânico através da cristalografia de raios X, a hexametilenotetramina. Esta descoberta só foi possível porque esta molécula sintética é pequena, fácil de cristalizar e obedece ao sistema cúbico, particularmente simples de analisar com esta técnica, dado o elevado grau de simetria deste sistema. A maioria das moléculas orgânicas mais complexas cristaliza de acordo com os sistemas monoclinico, triclinico ou ortorrômbico, que são menos simétricos, o que torna a dedução da estrutura mais difícil. (Dickinson & Raymond, 1923)

⁶ A aplicação médica dos raios X foi reconhecida por Röntgen, que tira a primeira radiografia à mão da sua esposa. A partir daí surge um grande conjunto de aplicações médicas, recorrendo aos raios X.

1930-1950 – Como Determinar a Estrutura das Proteínas?

Estando já estabelecido que a atividade das moléculas biológicas só podia ser compreendida através da determinação das suas estruturas, a partir dos anos 30 a questão científica central passa a ser a determinação da estrutura das macromoléculas, especialmente das proteínas, como John Bernal (1939) declara “The structure of proteins is the major unsolved problem on the boundary of chemistry and biology to-day.” (p. 663)

A maioria das técnicas existentes para a determinação das composições químicas era inadequada para a determinação das estruturas de moléculas complexas. Por um lado não permitiam analisar moléculas com centenas de átomos e ligações e, por outro, os próprios processos analíticos não eram capazes de preservar a estrutura das moléculas em análise, derrotando o propósito dessa determinação. Estamos a falar de moléculas cuja atividade decorre em condições muito específicas de temperatura e pH. Era essencial encontrar uma técnica que permitisse esta análise deixando a estrutura intacta.

A cristalização de proteínas já era conhecida, mas só em 1934 é que se obteve a primeira fotografia da difração de raios X, de um cristal de pepsina. Os autores desta foto foram John Desmond Bernal e Dorothy Hodgkin, no Cavendish Laboratory⁷. Bernal já estava convencido de que a difração de raios X poderia ser o método através do qual se poderia descobrir a estrutura das proteínas mas, até esta data, não tinha obtido mais do que fotografias de manchas escurecidas, o que significava que os cristais não eram birrefringentes, isto é, não produziam difração ao serem atravessados pelos raios X. Nas tentativas precedentes, tinham-se removido os cristais do líquido mãe, e feita a análise a seco. Mas, neste caso, Bernal manteve os cristais no líquido mãe (Hodgkin & Riley, 1968). A fotografia não era muito boa, mas a sua obtenção provou que esta técnica permitia estudar a estrutura das proteínas.

A descoberta de Bernal não foi inteiramente fortuita. Estes cristais foram produzidos por John Philpot⁸, que lhos enviou dentro do líquido-mãe. Quando os recebeu, Bernal começou por expor um dos cristais aos raios X, sem que ocorresse difração. Seguidamente observou outro cristal ao microscópio de luz polarizada, com algum desse líquido. Observou imediatamente a ocorrência de birrefringência, foi aí que se deu uma importante descoberta: à medida que a

⁷ Departamento de Física da Universidade de Cambridge, fundado em 1874.

⁸ A obtenção destes cristais, sim, foi acidental. Philpot deixou uma solução de pepsina no laboratório, enquanto foi fazer uma viagem de 2 semanas. Quando regressou tinham-se formado cristais excecionais.

amostra ia secando, o cristal ia perdendo a birrefringência, o que sugeriu que o mesmo ocorreria durante uma exposição aos raios X. A partir do momento em que Bernal faz as exposições aos raios X com cristais banhados no líquido mãe, passa a obter padrões de refração bem definidos (Brown, 2007).

Esta técnica era muito promissora, mas era necessário dissipar uma dúvida: perceber se algum dos processos envolvidos na análise, desde a obtenção dos cristais até à exposição aos raios X, destruía a estrutura da proteína. Dorothy Crawford e Philpot⁹ eventualmente demonstram que a cristalização, secagem e exposição aos raios X não afetam a atividade enzimática, ou seja, esta técnica não altera a estrutura das moléculas em observação. Explicam ainda a razão pela qual os cristais secos produziam apenas uma mancha: a secagem dos cristais não afeta a estrutura das moléculas, mas provoca o seu empacotamento numa estrutura desordenada¹⁰ (Hodgkin & Riley, 1968).

Bernal conclui, portanto, que a cristalografia de raios X permitiria determinar a estrutura das proteínas, era agora uma questão da comunidade científica unir esforços para desenvolver a esta técnica o suficiente para atingir esse fim. (Bernal, 1939)

Um dos principais desenvolvimentos que permitiu resolver a estrutura de proteínas com sucesso foi a substituição isomorfa, uma técnica aplicada às proteínas pela primeira vez por Max Perutz. Perutz era um cientista austríaco, que tinha completado o curso de química na Universidade de Viena em 1936. Interessado em bioquímica e estando ao corrente dos avanços que estavam a acontecer em Cambridge, tentou encontrar um lugar lá. Bernal estava à procura de um assistente para a sua pesquisa de cristalografia de raios X e aceita Perutz. Perutz nunca tinha trabalhado em cristalografia de raios X, mas rapidamente aprende e torna-se proficiente nesta técnica. Bernal sugere-lhe estudar a estrutura das proteínas, iniciando assim uma importante pesquisa sobre a estrutura da Hemoglobina que resolve em 1959, valendo a Perutz o Prémio Nobel da Química em 1962 (partilhado com John Kendrew que decifra a estrutura da Mioglobina).

Em 1937, quando Perutz começa a estudar a estrutura da hemoglobina, ainda não tinha sido descoberta nenhuma estrutura proteica, através da difração de raios X. Havia ceticismo quanto à possibilidade desta técnica ser capaz de desvendar a estrutura de grandes moléculas. O problema não era a obtenção dos padrões de difração, pelo contrário, Perutz obtém rapidamente fotografias perfeitas. O problema estava na interpretação, não havia um método que transformasse

⁹ Responsável pela produção dos cristais de pepsina utilizados por Bernal, mantidos no líquido mãe.

¹⁰ Bernal não obteve mais do que uma mancha escura com os cristais secos porque uma estrutura mais desordenada exigiria uma técnica de difração dos raios X muito mais avançada do que a disponível na altura.

a informação contida naqueles pontos na estrutura tridimensional que lhes deu origem. A este problema matemático, chamou-se o problema da fase. Um ponto do padrão de difração consiste apenas na informação da intensidade dos raios X que foram difratados pelo cristal e atingiram aquele local da placa fotográfica. O ponto consiste na gravação da intensidade desses raios X, mas não da fase da onda, isto é, o ponto específico no movimento do ciclo ondulatório em que aqueles raios X se encontram quando atingem aquele local na superfície da placa fotográfica. No caso de uma estrutura simples, da ordem das dezenas de átomos, apenas com as intensidades e recorrendo a transformações de Fourier¹¹ e muito trabalho matemático, era possível identificar a estrutura. Quando passamos para moléculas complexas, como a hemoglobina, constituída por milhares de átomos, o número de reflexões e de interações que ocorrem são de tal forma elevados que não é possível determinar a estrutura sem a informação da fase. Havia um outro método disponível desde os anos 30, desenvolvido por Lindo Patterson, consistindo numa variação das transformações de Fourier e que cria um mapa de contornos que pode ser utilizado para definir as distâncias entre os átomos num cristal. Este método não requer as fases mas, a quantidade de cálculos envolvidos é extremamente elevada, cada ponto requer centenas de cálculos. Adicionalmente, não havia garantia de que, para as moléculas mais complexas, no final de todos os cálculos se conseguisse obter a estrutura. (Bragg, 1965)

Sendo os Mapas de Patterson o único método disponível, Perutz não teve remédio senão utiliza-lo, consumindo-lhe incontáveis horas de cálculos e medições entediantes. Em 1951 era neste ponto que Perutz se encontrava, seria um investigador com uma tendência para atacar as investigações alheias, Francis Crick, a fazer Perutz perceber a inutilidade do seu esforço, numa apresentação a que Crick chamou de “What Mad Pursuit”¹². Durante esta conferência Crick esforça-se por demonstrar que os métodos atuais nunca serviriam para determinar a estrutura das proteínas, sendo os esforços gastos na sua perseguição inúteis. Sugere, no entanto, um método que poderá servir para este propósito, a substituição isomorfa. (Eisenberg, 1994)

Perutz acaba por aceitar que os seus esforços correntes, não eram eficazes e aplica substituição isomorfa à hemoglobina. Esta técnica consiste na colocação de um ou mais átomos pesados, no caso da hemoglobina esse átomo foi o mercúrio¹³, num local específico da proteína, que é depois analisado por cristalografia e comparado com o cristal original. Os padrões

¹¹ Fórmula matemática, criada por Joseph Fourier no séc. XIX, que transforma ondas compostas nas suas ondas constituintes.

¹² Que viria a ser o título da sua autobiografia.

¹³ Perutz sabia, através de artigos sobre a anemia falciforme produzidos por Austin Riggs, que a introdução de mercúrio na hemoglobina não afetava a sua capacidade de transportar oxigénio, o que implica que também não afetava a sua estrutura.

produzidos por estes dois cristais possuem pequenas diferenças nas intensidades, cuja análise comparativa permite a localização do átomo de mercúrio e, através desta referência consegue-se calcular a fase. Estava resolvido o problema da fase e torna-se possível resolver a estrutura (Jensen, Palenik, & Suh, 2003) ¹⁴.

O aperfeiçoamento da cristalografia de raios X teve um papel preponderante na descoberta da dupla hélice. Ao longo deste capítulo, não tem sido mencionado o DNA, apenas proteínas. Há uma razão muito específica para isto acontecer: até ao final dos anos 40 o DNA praticamente não tinha relevância em termos de tema de pesquisa.

A comunidade científica estava extremamente focada no estudo das proteínas por dois grandes motivos. Em primeiro lugar era assumido, desde o início do século que as proteínas são responsáveis por praticamente todos processos que caracterizam a vida – desde funções estruturais até à mediação de processos metabólicos, ideia que se firma ainda mais quando se descobre que as enzimas também são proteínas¹⁵. Em segundo lugar era aceite que o mecanismo da hereditariedade tinha natureza proteica. Importa explicar o aparecimento e estabelecimento desta teoria, que dirigiu praticamente toda a investigação científica da primeira metade do século, inclusivamente no que diz respeito à natureza da hereditariedade e do gene, inibindo a investigação do DNA até ao final dos anos 40 (Kay L. E., 1996).

Para compreender este *status quo* proteico, teremos de recuar até 1864, trata-se do ano em que Thomas Henry Huxley, um biólogo inglês particularmente adepto do Darwinismo, publica um pequeno ensaio¹⁶ chamado “The Physical Basis of Life” onde estabelece a visão protoplasmática da vida. Huxley formulou esta ideia com base em observação microscópica do fluxo citoplasmático em células vegetais, e consistia em localizar no protoplasma a origem da diversidade biológica e o controlo de todas as funções biológicas, com base em atividade molecular em oposição ao princípio vitalista, defendido na altura, que pressupunha que os seres vivos se regem por algum princípio não físico, como a alma, em oposição à matéria inanimada (Huxley, 1869) (Kay L. E., 1993).

¹⁴ Esta pesquisa foi posta em causa com a ascensão de Hitler. A sua estadia em Cambridge era “patrocinada” pelos pais, judeus ligados à indústria têxtil, que perdem a sua fortuna e são forçados a fugir para a Suíça. Lawrence Bragg intervém, impressionado com o trabalho desenvolvido na obtenção de fotografias de difração de raios X da hemoglobina e garante-lhe uma bolsa da Fundação Rockefeller, permitindo-lhe continuar a sua pesquisa.

¹⁵ Em 1920 James Summer isola e cristaliza a urease, e prova que se trata de uma proteína. Receberia o Prémio Nobel em 1946 por esta descoberta.

¹⁶ Originalmente uma palestra.

Estando a atenção virada para o interior da célula, começa-se a relacionar o núcleo com a hereditariedade. Em 1869 Miescher estuda a composição do núcleo (cromatina), identificando uma substância distinta das substâncias albuminosas, características do protoplasma, a nucleína. A relação entre a nucleína e a hereditariedade é entretanto estabelecida, pela observação da variação da sua quantidade ao longo da mitose, ainda que muitos investigadores achassem que o volume de nucleína, face ao do protoplasma, era demasiado pequeno para transmitir os caracteres hereditários. (Fruton, 1999)

Ainda durante o séc. XIX, surgem duas figuras importantes, D'Arcy W. Thomson e Jacques Loeb, que interpretam a visão protoplasmática da vida de duas formas distintas, originando duas correntes de influência que se propagariam para o séc. XX, afetando a forma como as gerações seguintes de cientistas viriam a encarar a vida. As suas interpretações refletem as das categorias aristotélicas de forma (visão estrutural) e matéria (visão bioquímica).

D'Arcy W. Thomson detém a visão estrutural, influenciando os cristalógrafos. A sua ideia é a de que o crescimento está relacionado com a organização e empacotamento das moléculas no protoplasma, à semelhança do crescimento de um cristal. Jacques Loeb, focando-se na matéria, defende que toda a atividade biológica e todos os processos biológicos são fruto das características físico-químicas das proteínas, o principal constituinte da vida (Kay L. E., 1993).

Estes foram os desenvolvimentos conceptuais que colocaram as proteínas no centro dos temas de pesquisa relacionados com a natureza da vida, incluindo a transmissão genética. (Kay L. E., 1993)

Em 1910 Thomas Hunt Morgan prova a ligação entre os genes e os cromossomas (já sugerida por Theodor Boveri, 20 anos antes). Morgan consegue localizar genes¹⁷ em posições específicas nos cromossomas da *Drosófila*, responsáveis por vários fenótipos (Clayton & Dennis, 2003). Uma vez que os cromossomas são compostos por proteína e DNA, e dada a simplicidade do DNA face à complexidade das proteínas, generalizou-se que o material genético é de natureza proteica. Este dogma proteico não se tratou de um desvio ou de uma corrente, mas sim a teoria dominante durante quase 40 anos. Formou toda uma teoria consistente internamente e com metodologia laboratorial estabelecida, oferecendo explicações para os processos biológicos.

A genética de Morgan foi alheia à pesquisa das estruturas das moléculas biológicas durante muito tempo. Uma vez que o seu objeto de pesquisa era a mecânica da transmissão genética, a sua validação não dependia da determinação da natureza do gene. Não obstante a isto,

¹⁷ O termo "gene", não corresponde ao significado atual, nesta fase tinha acabado de ser definido apenas como "unidade de hereditariedade" por Wilhelm Johansen.

Morgan inferiu uma importante ideia com repercussões estruturais quando concluiu que os genes estavam dispostos linearmente e em sequência.

Morgan iniciou o seu trabalho sobre as mutações da *Drosófila* em 1908, na sequência da (re)descoberta do trabalho de Mendel em 1900. Identificou 100 tipos de mutantes espontâneos e relacionou essas mutações com localizações específicas nos cromossomas. A sua pesquisa foi feita recorrendo a incontáveis xadrezes mendelianos e análise citológica. Estamos a falar de um corpo de conhecimento quantitativo, formulado por um método experimental estatístico.

Enquanto a genética de Morgan se estabelece, começam a isolar-se as primeiras enzimas, ainda que de forma bruta. Descobriu-se que algumas eram autocatalíticas, o que se associa automaticamente aos processos de crescimento do organismo e de reprodução – e consequentemente à hereditariedade. O pico desta ideia culmina com a formulação de Richard Goldsmith, de que o próprio gene será uma enzima autocatalítica. É uma resolução do problema da hereditariedade, mediada por proteínas.

Morgan, que como já se referiu tinha inicialmente pouca preocupação com a natureza do gene, rejeita esta teoria. Considerou toda a ideia especulativa, e chama a atenção para o facto de que uma reação autocatalítica não reflete, necessariamente, a ação do gene, podendo tratar-se de uma reação muitos graus abaixo do gene. Não se opõe, no entanto, à ideia de que o gene tenha realmente natureza proteica, cuja atividade seja produzir enzimas que, uma vez livres no citoplasma, produzem reações catalíticas diversas¹⁸.

No que diz respeito aos ácidos nucleicos, os grandes desenvolvimentos são feitos por Levene, entre 1909 e 1929, que identifica os seus componentes. Distingue DNA e RNA e o seu carácter ácido. Levene ainda teoriza a existência de quatro nucleótidos, presentes em quantidades fixas e numa estrutura regular repetitiva (Crick, 1988), a chamada teoria tetranucleotídica, e dada a simplicidade desta estrutura, atribui-lhes uma atividade secundária, talvez regulatória dos processos genéticos. Esta estrutura monótona era incompatível com a complexidade da hereditariedade, pelo que sai dos alvos de pesquisa relevante, em detrimento das proteínas que parecem um candidato muito mais óbvio ao armazenamento da informação genética (Kay L. E., 1993).

Este estudo da composição do DNA foi uma pequena exceção, inconsequente, ao que era realmente o assunto da ordem do dia, a estrutura das proteínas, cuja pesquisa estava a ser estimulada financeiramente, de forma quase universal.

¹⁸ Já se tinha concluído que a proteína tinha uma estrutura linear, de sucessivos aminoácidos de definida sequência, as únicas características físicas que Morgan atribui ao gene.

Com toda a atenção, entenda-se orientação e financiamento, captada pelas proteínas, a partir dos anos 30 a pesquisa orienta-se para a elucidação das suas estruturas. Até aqui o interesse estava apenas na descoberta da composição, a ideia de que a estrutura era importante surge com o estudo da desnaturação das proteínas. A desnaturação desativa as proteínas, o que sugeriu que a sua atividade estava inteiramente dependente da sua estrutura tridimensional (Crick, 1988). Nesta altura, devido às limitações técnicas, a ultracentrifugação, a eletroforese e a cristalografia de raios X estão ainda no início do seu desenvolvimento, há um desequilíbrio muito grande na qualidade da pesquisa, de acordo com os equipamentos disponíveis em cada local. No que diz respeito à investigação das proteínas, há um domínio da rede Uppsala-Rockefeller, detentora de muitos equipamentos únicos no mundo, capazes de fornecer desenvolvimentos exclusivos que viriam a influenciar fortemente as linhas de investigação no Caltech¹⁹ (Kay L. E., 1993).

Um destes grandes desenvolvimentos é a Ultracentrifuga Analítica, criada por Svedberg, que permitiu pela primeira vez determinar os pesos moleculares de grandes proteínas, como a hemoglobina. Este equipamento foi singular e exclusivo durante dez anos e responsável por invalidar a teoria coloidal proposta por Ostwald na década de 1910 (Kay L. E., 1993), a principal concorrente a Fischer, que propunha que as proteínas consistiam em cadeias lineares de aminoácidos, unidos por ligações peptídicas.

O avanço seguinte, por influência de Svedberg, foi o desenvolvimento da eletroforese, por Arne Tiselius, em 1937, que permitiu pela primeira vez a separação fiável de misturas de proteínas (Kay L. E., 1993).

O Caltech, com Linus Pauling enquanto figura de proa, dedica-se ao estudo da estrutura das proteínas através da construção de modelos físicos. O modelo era construído primeiro e a cristalografia dos raios X era utilizada para confirmar a estrutura proposta. Esta forma de investigação só foi possível porque Pauling, apesar da construção dos modelos envolver sempre um componente de tentativa e erro, tinha um conjunto específico de conhecimentos e funcionamentos mentais que lhe permitiam pensar de forma automática sobre vários aspetos. John Bernal refere-se a estas características como a) Profunda compreensão de Química Quântica, e b) Compreensão geométrica da estrutura de Cristais (Bernal, 1968). Isto não implicava que os modelos eram construídos no vazio. Pauling baseava-se em dados experimentais, sendo o ponto de partida algumas determinações de estruturas de aminoácidos e alguns pequenos péptidos. O modelo era uma proposta de resolução com base em dados que não eram suficientes para comprovar uma estrutura, mas suficientes para sugerir um conjunto restrito de hipóteses, que a

¹⁹ California Institute of Technology.

construção de modelos permitia especificar. Este método só se tornou viável a partir do momento em que Pauling estabelece que a ligação peptídica não permite rotação, mas sim grupos amido planares. Este pressuposto reduziu substancialmente as hipóteses estruturais, tornando a construção de modelos viável e, simultaneamente contribuiu para o avanço da interpretação dos resultados da cristalografia de raios X das proteínas.

O primeiro grande passo na resolução da estrutura das proteínas foi a sua definição como polipéptido, por Emil Fisher, deslocando o problema para a estrutura dos aminoácidos constituintes e para a sua forma de ligação. Seguidamente as proteínas são classificadas em dois grupos, solúveis e fibras, sendo ambos os grupos sensíveis ao método da cristalografia dos raios X. E, a partir de 1926, Astbury começa a estudar as fibras da lã com recurso a esta técnica. Os resultados, apesar de imprecisos, permitiram-lhe identificar uma estrutura alfa e uma estrutura beta, sob a qual estas proteínas podem existir. A alfa, mais compacta, pode ser transformada na beta, esticando reversivelmente a fibra, que se torna mais longa e regular, idêntica à da seda.

Em 1934, Bernal começa a estudar as proteínas solúveis, descobrindo que estas possuem uma estrutura cristalina regular, abrindo caminho para a pesquisa por cristalografia de raios X.

Nos anos 40, do lado da química, começam a obter-se resultados sobre a estrutura das proteínas. Primeiro apenas proporções por aminoácido e, a partir de 1941, quando Synge desenvolve a cromatografia por papel, torna-se possível determinar a sequência dos aminoácidos na cadeia proteica.

Em 1944 Avery²⁰, McLeod e Macarty publicam um artigo, com muito pouca aceitação, que indicava que o DNA fosse o portador da informação genética. O principal opositor era um bioquímico importante, Alfred Mirsky, que atribuía os resultados de Avery a uma impureza no DNA, que estaria a causar a transformação. No geral, toda a experiência tinha pouca credibilidade, era apenas uma evidência com fraca fundamentação. Ainda que fortemente posta em causa, esta experiência era bem conhecida pela comunidade científica (Crick, 1988).

Da mesma forma que havia oposição a esta teoria, também havia uma série de cientistas que reconhecia a importância do trabalho de Avery. O Phage Group era um desses casos e Salvador Luria que, inclusivamente conhecia pessoalmente o Avery (Olby, 1974).

Em 1945 Salvador Luria descobre que as mesmas mutações ocorriam espontaneamente tanto nos bacteriófagos como nas bactérias infetadas. Daqui teorizou que o DNA do bacteriófago

²⁰ Uma das razões para se ter dado este desenvolvimento, é a avançada idade de Avery, que o impediu de ser chamado para a guerra e, por isso, não interrompeu o seu trabalho.

tinha, de alguma forma, passado para o DNA da bactéria. Apesar de não fazer muito por contrariar a corrente defensora das proteínas como material genético, acabou por contribuir para a descoberta da dupla hélice, uma vez que James Watson era seu aluno, e foi influenciado por esta ideia.

1951-1953 – A Descoberta da Dupla Hélice

O caminho para a descoberta da dupla hélice do DNA tem cinco grandes protagonistas e decorreu em três grandes centros de investigação: no Cavendish, com James Watson e Francis Crick, no King's College, com Maurice Wilkins e Rosalind Franklin, e no Caltech, com Linus Pauling. Há ainda um conjunto de intervenientes secundários que têm influência direta na forma como a descoberta se processou: Max Perutz, Alex Stokes, John Randall, Raymond Gosling, e Jerry Donahue. Temos ainda de ter em conta alguns contribuidores externos, como Erwin Chargaff, que faz dois grandes contributos. O primeiro foi invalidar a teoria tetranucleotídica que Levene formulara várias décadas antes, ao provar que as bases não existiam sempre na mesma quantidade. O segundo contributo é mais direto, e tomou a forma da regra de Chargaff que foi essencial para que Watson e Crick dessem os passos finais da resolução da estrutura.

A forma como a descoberta da dupla hélice se desenrolou deveu-se, em grande parte, aos percursos individuais dos cientistas envolvidos, quer no que diz respeito à sua carreira profissional, quer no que diz respeito à sua vida pessoal e personalidade, pelo que devemos considerar antecedentes ao período de 1951-1953. Ou seja, é essencial analisar o percurso dos intervenientes principais, até ao momento em que esta corrida começa.

Não será desenvolvido o acompanhamento detalhado do lado de Linus Pauling. Para efeitos do presente trabalho, o seu papel será reduzido ao de figura/ameaça de competição.

Rosalind Franklin

Rosalind Franklin é inglesa e vem de uma família judia com alguma influência. Apesar do pai ser conservador no que diz respeito ao que uma filha de uma família judia devia fazer com a

sua vida²¹, dado o interesse obstinado que Rosalind demonstra desde cedo em relação à ciência, permite-lhe perseguir essa carreira.

Faz o liceu em Sr. Paul's, onde estudou química, física e matemática, evitando biologia e botânica, que eram mais orientadas para a área da saúde. St. Paul era uma escola conceituada no que diz respeito ao ensino das ciências, no entanto a ciência que era ensinada às raparigas era diferente da que era ensinada aos rapazes. Não lhes era permitido tanto acesso aos laboratórios, e Brenda Maddox (Maddox, 2002) observa que a ciência ensinada às raparigas estava centrada na ordem, repetição e detalhe ao invés da excitação e ousadia, para o sexo feminino havia um grande ênfase em classificar, tirar notas, fazer diagramas e arquivar.

Franklin entra na Universidade de Cambridge em 1938, para o curso de química, ingressa em Newnham, uma das faculdades femininas da Universidade de Cambridge²². Na altura, Cambridge não reconhecia mulheres como alunas da universidade, apenas como alunas de Newnham, pelo que em vez de receberem uma graduação, era-lhes atribuído apenas um certificado²³. Rosalind fazia parte da quota de quinhentas²⁴ mulheres a quem era permitido o ingresso.

Durante o curso, Rosalind estudou química, física, matemática e mineralogia. Participou em diversas atividades extracurriculares, tendo assistido a conferências sobre diversas temáticas, por cientistas influentes como J.J. Thomson, J. B. N. Haldane e William Lawrence Bragg. No final decide especializar-se em química física. Em 1941 termina o curso com distinção e é-lhe atribuída uma bolsa de investigação. Franklin, dada a sua herança judia, sentia-se compelida a contribuir para os esforços de guerra²⁵ e, podendo optar entre ser incluída na investigação estatal com fins militares (onde se arriscava a receber uma tarefa rotineira), ou fazer o seu próprio trabalho de doutoramento numa área com contributo relevante para a guerra, decide-se pelo doutoramento. Passa quatro anos a estudar as microestruturas de carvões e em 1945 tem uma tese de doutoramento e cinco artigos publicados.

No final da guerra, Franklin procura um novo posto de trabalho e é auxiliada por Adrienne Weill, uma cientista francesa, refugiada de guerra, que fora acolhida em Cambridge

²¹ Casar-se com alguém de outra família judia influente e fazer trabalho comunitário.

²² Ainda hoje esta faculdade só admite mulheres.

²³ Em 1948, Cambridge finalmente reconhece as mulheres e concede os graus retroativamente, como no caso de Rosalind Franklin.

²⁴ A quota para garantir que as mulheres não perfaziam mais de 10% do número de homens *undergraduate*.

²⁵ A sua família estava envolvida em esforços humanitários relacionados com os judeus que chegavam ao Reino Unido.

durante o curso e que, entretanto, já regressara a Paris. Em 1947, Franklin muda-se para Paris, para trabalhar no *Laboratoire Central des Services Chimique de l'Etat* com Jacques Mering. Este laboratório utilizava a cristalografia de raios X para estudar a estrutura dos carvões.

A técnica tinha sido trazida para este laboratório por Marcel Mathieu, um aluno de William H. Bragg, e fora adaptada ao estudo da estrutura do carvão. Esta utilização da difração dos raios X estava otimizada para a análise de estruturas não cristalinas, através da utilização de raios X monocromáticos e muito focados. O padrão resultante consiste em barras e não em pontos isolados, como tem sido descrito ao longo deste trabalho.

Durante os três anos que passa neste laboratório, Franklin especializa-se na cristalografia de raios X, não só na sua aplicação, mas também em todo o funcionamento e manutenção dos próprios equipamentos. Os seus pares reconhecem-lhe uma particular aptidão para a planificação e execução de trabalho experimental.

A estadia de Franklin em Paris é muito bem-sucedida, tornando-se notório o seu trabalho sobre os carvões. Publica vários artigos importantes para a caracterização dos carvões e para a aplicação deste conhecimento a nível industrial.

Após o seu sucesso em Paris, Franklin decide regressar ao Reino Unido. Primeiro tenta ir para Birkbeck mas não é aceite. Entra então em contacto com a King's College, onde se proporciona um lugar. Quem faz a proposta de trabalho a Rosalind Franklin é John Randall, o diretor do departamento de física da King's College. A proposta original é estudar a aplicação da análise de raios X para elucidar as variações estruturais de proteínas em solução. Quando a chegada de Franklin já é iminente, este plano é alterado, sendo-lhe proposto estudar antes um assunto mais relevante, sobre certas fibras biológicas, trabalho que ficaria à sua responsabilidade, juntamente com um aluno de doutoramento que passaria a orientar, Raymond Gosling.

Franklin aceita e, em Janeiro de 1951, apresenta-se na King's College. Sobre o seu novo trabalho, comenta: "I am, of course, most ignorant about all things biological, but I imagine most x-ray people start that way" (Maddox, 2002, p. 83).

Maurice Wilkins, John Randall e a MRC Unit do King's College

Maurice Wilkins nasceu na Nova Zelândia. Ainda criança, a sua família mudou-se para Dublin, e depois para Londres. Interessou-se por ciência desde cedo. Inicialmente por astronomia, fase durante a qual construiu os seus próprios telescópicos na íntegra, aprendendo inclusivamente

a fabricar os espelhos e as lentes. Fez o seu percurso académico primeiro no St. John's College, uma vez que se tratava de uma universidade reputada pelo ensino da física. Abandonou progressivamente o interesse pela astronomia, em detrimento de ciências com maior aplicação prática. Além de aulas de física, estudou também geologia e mineralogia. É neste contexto que conhece Marcus Oliphant²⁶, o seu supervisor. Wilkins considera relevante para o seu desenvolvimento científico dois aspetos científicos de Oliphant, uma abordagem simplificada da física²⁷, e a valorização da relação entre o físico e o equipamento de trabalho, nomeadamente na sua construção de raiz.

Nesta altura, Wilkins conhece a cristalografia de raios X e interessa-se pelo trabalho de John Bernal na aplicação da técnica ao estudo da estrutura de moléculas biológicas.

Com a ascensão do nazismo na Alemanha, muitos cientistas judeus, ou opositores do regime nazi, começam a emigrar, e alguns são acolhidos em Cambridge. Um deles, que Wilkins vem a conhecer, é o alemão Paul Ewald, um pioneiro da cristalografia de raios X com quem discute algumas ideias.

Wilkins termina o curso na altura em que William Lawrence Bragg se torna diretor do Cavendish, e interessa-se pelo movimento de eletrões em cristais luminescentes (termoluminescência), tema que decide perseguir, mas ao obter uma nota fraca nos exames finais é impedido de o fazer em Cambridge.

Face a este revés, Wilkins recorre a Marcus Oliphant, que entretanto se tinha tornado professor na universidade de Birmingham, expondo o seu interesse no estudo da luminescência. Por acaso, tinha acabado de chegar a essa universidade um especialista nessa mesma área, que estava à procura de um assistente. Esse professor era John Randall, e Wilkins inicia o que se tornaria uma longa relação profissional com ele.

Durante a Segunda Guerra Mundial, Wilkins e Randall são chamados para trabalhar num importante projeto de preparação para a entrada do Reino Unido na guerra, o aperfeiçoamento do Radar. Era necessário tornar a tecnologia de Radar potente o suficiente para não ser afetada por nuvens e nevoeiro, e ter uma resolução da ordem dos 10 centímetros, de forma a detetar, por exemplo, periscópios emergidos. Wilkins fez pequeno contributo no melhoramento dos ecrãs do

²⁶ Marcus Oliphant é um físico, ex-aluno de Rutherford, e faz a primeira demonstração de fusão nuclear. Mais tarde teria um papel relevante no desenvolvimento de armas nucleares no Projeto Manhattan.

²⁷ Por exemplo, recorrer a explicações mecânicas para explicar fenómenos habitualmente vistos através da física quântica.

Radar, mas Randall desenvolveu o magnetrão de cavidade²⁸, solucionando o problema da potência, um avanço técnico imenso que deu às forças aliadas uma clara supremacia aérea.

Após este trabalho, e tendo entretanto finalizado o seu doutoramento, Wilkins demonstrou vontade de participar em algo "maior". Birmingham era um grande centro de estudos atômicos e estava a decorrer um projeto relacionado com o desenvolvimento da bomba atômica. Wilkins vai para esse projeto com o objetivo de estudar a possibilidade de separar isótopos de urânio por evaporação. Marcus Oliphant, que liderava esta pesquisa, tinha obtido um conjunto de cálculos muito relevantes, no que diz respeito às quantidades de urânio necessário para produzir a bomba, que partilha com os homólogos americanos. Em resultado, Wilkins, juntamente com outros cientistas deste grupo, é integrado no projeto Manhattan, nos EUA. O resultado direto deste projeto, nos dias 6 e 9 de Agosto de 1945, foi o extermínio de 129 000 seres humanos. De acordo com o próprio Wilkins, foi no momento em que se apercebeu que viveria com o peso da morte destas pessoas que decidiu dedicar-se à ciência da vida. Tal está registado na sua autobiografia (Wilkins, 2003), onde recorda um diálogo crucial: "*He said 'This is Black Monday – I always hoped it would never work.' I felt rather small, and gradually the penny dropped*" (p. 85).

No seguimento das ideias presentes no livro *What is life?* de Erwin Schrödinger, Maurice Wilkins interessa-se pelo estudo da estrutura dos genes. É a comparação dos genes com cristais aperiódicos que tem ressonância, dada a proximidade conceptual com os cristais luminescentes da pesquisa anterior de Wilkins.

Em 1944, Randall torna-se professor na Universidade de St. Andrews, na Escócia, e em 1945 Wilkins junta-se a ele. Randall, fazendo uso do seu sucesso, funda um novo departamento de física. Recruta investigadores e obtém um novo edifício. O programa de investigação é grande e dedicado a estudos celulares ligando física e biologia.

Nesta fase, Wilkins pretende trabalhar sobre os cromossomas, reconhecendo já quão central o tema era para a biologia. Na altura já se estavam a fazer avanços no estudo do DNA por análise de raios X (Bill Astbury), mas Wilkins, tal como a grande maioria dos cientistas do mesmo período, não achava que o DNA tivesse mais do que um papel acessório na hereditariedade, que seria provavelmente levada a cabo por uma proteína (Wilkins, 2003).

A linha de pesquisa que decide seguir é o estudo da influência dos ultrassons na produção de mutações genéticas, que não produz quaisquer resultados.

²⁸ Este equipamento caiu em desuso nos radares, mas é hoje completamente ubíquo, como componente dos fornos de micro-ondas.

Em 1946, o novo departamento de Randall já havia adquirido notoriedade, reconhecendo-se a sua capacidade. Randall é então convidado para ser diretor do Departamento de Física do King's College em Londres, uma das mais importantes faculdades da Universidade de Londres. Aceita e leva Wilkins consigo.

É importante frisar que Randall era um cientista fora do normal, na medida em que além de ser competente cientificamente, tinha uma grande facilidade em mover-se numa série de círculos que a maioria dos cientistas evitava. Era capaz de estruturar a pesquisa de uma forma mais ampla, projetando necessidades futuras e, provavelmente o que mais permitiu o seu sucesso, sabia captar fundos.

Raymond Gosling (2013) em entrevista, frisa a importância de Randall na descoberta da estrutura do DNA, chamando a atenção para o facto de ele acreditar muito antes da maioria dos cientistas no papel do DNA como agente da hereditariedade e a importância de determinar a sua estrutura.

O percurso de Randall é um pouco diferente dos grandes cientistas desta época. As suas raízes são humildes, mas não se trata de um caso em que a sua genialidade ou potencial científico se começou a revelar precocemente. Pelo contrário. Em diversos momentos da sua carreira foi aconselhado fazer um trabalho mais simples. William Lawrence Bragg, por exemplo, não reconheceu o seu potencial académico e encaminhou-o para a *General Electric Company*, para fazer investigação industrial, e uma vez lá, aconselharam-no a dar aulas na escola. Entre as décadas de 20 e 30, Randall foi aprendendo com os falhanços, melhorando a sua capacidade de investigação, mas o que desenvolveu realmente foi uma intuição para a escolha de temas e uma capacidade de se mover dentro das instituições para seu proveito.

Randall tinha ideias muito específicas sobre o tipo de pesquisa que deve ser feita, juntando físicos e biólogos, uma ideia que não se adequava, de todo, à estrutura habitual da pesquisa feita no King's College. Randall conseguiu ter as suas ideias aprovadas e foi criada no King's a *Biophysics Research Unit* (BRU), com Randall como diretor. Acompanhando esta vitória, além do financiamento atribuído pelo *Medical Research Council* (MRC), Randall consegue também que lhe sejam atribuídos fundos pela Fundação Rockefeller.

A BRU toma forma física pela construção de um novo edifício, que é construído sobre uma cratera de bomba. A grande contribuição que se segue para a descoberta que acompanhamos é o recrutamento de investigadores. Randall estava ao corrente de quais os cientistas a fazer progressos interessantes em várias áreas e tinha visão para perceber de que forma os poderia

combinar. Esta visão é, talvez, o que torna Randall uma idiossincrasia; de tal forma acreditava na importância de abrir as várias ciências à colaboração que conseguiu persuadir os vários departamentos a formar, em conjunto, a *School of Biological Sciences*. O projeto de Randall tornou-se um sucesso.

O tipo de organização também é de alguma forma inovador, fora as linhas gerais de investigação. Randall permitia que os investigadores fizessem as suas próprias pesquisas, e que se organizassem em grupos conforme entendessem²⁹. Esta dinâmica contribuiu para que se formasse um ambiente altamente cooperativo e comunitário que muito terá contribuído para o avanço da pesquisa. Havia também um espírito de novidade, uma vez que dada a natureza interdisciplinar, todos os cientistas recrutados estavam a explorar novas áreas. De referir ainda que outra particularidade de Randall e deste centro de investigação era a sua receptividade à entrada de mulheres na ciência (Wilkins, 2003) (Maddox, 2002).

Em apenas três anos, o laboratório de Randall tornou-se um grande sucesso, estabelecendo-se como um líder mundial na investigação em biologia molecular³⁰. Este sucesso de Randall deu-lhe um grande reconhecimento institucional, que lhe permitiu, mais tarde, ter a influência necessária para lhe permitirem criar um laboratório especialmente dedicado à aplicação da física aos problemas da biologia, a *Biophysics Research Unit*.

Verificando que Maurice Wilkins não estava a obter resultados na sua investigação do papel dos ultrassons na indução de mutações, Randall decide alocá-lo ao estudo do crescimento e movimentação do DNA dentro da célula. Esta pesquisa não envolvia raios X, mas sim a combinação de luz ultravioleta e microscopia para seguir as movimentações do DNA dentro da célula, e contribuiu para a confirmação dos genes enquanto DNA, garantindo apoios do MRC e a promoção de Maurice Wilkins a Diretor Assistente da Unidade de Biofísica.

Durante esta fase, Wilkins conhece Francis Crick, que está interessado na aplicação da física na biologia. Forma-se uma amizade entre os dois e Wilkins pede a Randall que o contrate. Randall recusa.³¹ Crick, na altura, ainda não está interessado no DNA, e diz frequentemente a Wilkins que este está a perder tempo e que se devia dedicar antes ao estudo das proteínas. Wilkins (2003) realça uma outra vantagem do tipo de ambiente no King's College: tratando-se de uma

²⁹ Este espírito de liberdade, bem como outras particularidades, como a frequência de festas e outras atividades lúdicas, atribuíram a este laboratório a alcunha de "O Circo de Randall".

³⁰ O termo é utilizado aqui para designar as temáticas que se associam à biologia molecular, e não ao conceito de biologia molecular enquanto especialidade, que ainda não estava bem definido.

³¹ Segundo Crick, o próprio Crick é que achou a pesquisa desinteressante e não quis trabalhar lá.

equipa nova, não havia o peso de autoridades científicas a impedir o aparecimento e teste de novas ideias.

O interesse que Randall demonstra no estudo do DNA não é acidental. Dois anos antes dos resultados de Avery serem publicados, a equipa do King's já estava ao corrente das experiências. Wilkins estava, entretanto, afastado da física, e a sua pesquisa, que muito agradava ao MRC, recorria à microscopia, pelo que teve dificuldade em voltar às metodologias da física que eram exigidas para prosseguir o estudo da molécula de DNA.

É o americano Gerald Oster, que estava ao corrente do trabalho de pesquisa da estrutura dos vírus através da cristalografia de raios X, feita por Wendell Stanley na Califórnia, quem estimula Wilkins a pensar em utilizar a difração de raios X e a conduzir pesquisa sobre o vírus do mosaico do tabaco. Geoffrey Brown, também em contacto com os desenvolvimentos americanos, aconselha Wilkins aplicar a análise de raios X ao estudo da estrutura do DNA, apesar de, no imediato, Wilkins prosseguir o estudo microscópico do DNA.

O momento em que o King's College entra na “corrida para a dupla hélice”, acontece de forma fortuita³². Numa conferência em Londres, estava presente o bioquímico Rudolph Signer, da Universidade de Berna, com amostras de DNA altamente purificado, com métodos muito cuidadosos que garantiam a preservação da estrutura do DNA³³. Signer oferece estas amostras a qualquer cientista presente que estivesse interessado no estudo do DNA, e Wilkins leva uma amostra de volta para o King's.

De volta ao laboratório, Wilkins decide analisar a amostra de DNA ao microscópio de luz ultravioleta polarizada e descobre que este DNA se organizava em fibras uniformes e transparentes. Terá intuído nesse momento que talvez a estrutura fosse regular o suficiente para ser cristalina e, portanto, examinável por cristalografia dos raios X (Wilkins, 2003).

As primeiras tentativas de análise de DNA através da cristalografia de raios X não produziram resultados. Havia vários problemas, mas principalmente, o equipamento era inadequado e não havia ninguém na King's especializado em cristalografia dos raios X. Estranhamente, John Randall nunca tinha dado muita importância a esta técnica. O único equipamento que existia era muito rudimentar e preparado para cristais muito maiores. O aluno que estava a trabalhar com esse equipamento era Raymond Gosling. Em 1950 Randall tinha-lhe

³² Se é que podemos chamar fortuito a um evento que não podia deixar de acontecer e que pouco teve de aleatório.

³³ Neste caso, mais do que determinar a estrutura, Signer tinha interesse em provar que a molécula do DNA era uma macromolécula, daí todo o cuidado em preservar as moléculas intactas.

pedido para, em conjunto com Wilkins fazer estudos de raios X a DNA, extraído do esperma de carneiro, em complemento à microscopia eletrónica. Raymond não consegue obter nenhum resultado e pede a Wilkins uma amostra do DNA do Signer, apenas com o propósito de fazer calibrações. Wilkins improvisa um suporte onde consegue alinhar várias fibras em paralelo. Apesar do sucesso em conseguir montar um conjunto de fibras para análise, o resultado foi apenas um borrão. É Randall que faz a sugestão que coloca toda a possibilidade de análise em marcha, ele sabia que o ar existente dentro da câmara, com uma composição fundamentalmente semelhante à do DNA, também produziria refração, gerando ruído, e que substituindo o ar por hidrogénio se minimizava este problema. Para conseguir controlar a quantidade de hidrogénio dentro da câmara, Gosling utilizou água, para borbulhar o hidrogénio a um ritmo controlado. Por acaso, isto também introduziu vapor de água na câmara, que foi absorvida pelas fibras produzindo, pela primeira vez na história, cristais de DNA. O DNA de Signer cristalizava aos 92% de humidade, esse valor foi atingido por acaso, mas a sua importância foi imediatamente reconhecida por Gosling (Gosling, 2013). Wilkins e Gosling adaptam o equipamento de forma a incluir uma câmara de vapor, permitindo manter a humidade das amostras. Tendo estes ajustes feitos, Wilkins e Gosling começam a obter padrões de difração do DNA, provando que a estrutura do DNA era regular e que seria de facto possível deduzir a sua estrutura através da análise de raios X.

Raymond Gosling e Alex Stokes fazem a medição dos pontos obtidos nas refrações e deduzem que as moléculas de DNA se orientam de acordo com o sistema Monoclínico. Stokes, experiente em cristalografia, repara que não há difração na mesma direção da direção da fibra. Esta ausência sugere-lhe que a molécula DNA poderá ser uma hélice. É a primeira vez que esta ideia surge, o que interessa muito a Wilkins, que dada a sua inexperiência em cristalografia dos raios X, ainda não tinha qualquer pista para a interpretação dos padrões obtidos.

Para prosseguir os estudos de difração dos raios X, era preciso dar um salto técnico e é encomendado novo equipamento. Wilkins também reconhece que é preciso aumentar a equipa alocada ao estudo do DNA, recorrendo, em particular, a alguém experiente em cristalografia dos raios X. Wilkins sabia que Randall tinha chamado um especialista em raios X para trabalhar sobre proteínas em solução. Esse especialista era Rosalind Franklin que, como Wilkins nota, não tem experiência em materiais cristalinos, mas conhece bem a técnica. Wilkins, alegando que o trabalho com DNA é muito mais promissor do que o trabalho sobre as proteínas em solução, pede a

Randall que Franklin seja antes alocada ao DNA, e para sua surpresa, Randall aceita imediatamente a sugestão³⁴.

Wilkins não está presente quando Franklin chega e é apresentada e inteirada dos assuntos. Quando Wilkins e Franklin se conhecem, de acordo com o relato de Wilkins (2003), ele avalia-a como competente e antevê que será uma boa colaboração. Inicialmente, uma vez que Franklin ainda está a finalizar escrita do seu trabalho anterior³⁵, o DNA não é discutido entre os dois.

Stokes e Gosling terminam a montagem do novo equipamento de raios X no final de 1950, com uma fonte de raios X vinda de Birkbeck. Tratava-se de um tubo de foco-fino. A expansão e contração das fibras de DNA consoante o conteúdo de água foi o primeiro objeto de estudo e uma das primeiras contribuições técnicas de Rosalind Franklin no projeto foi a implementação de soluções salinas para controlar o nível de humidade dentro da câmara. De seguida Franklin dedicou-se a reconstruir todo o equipamento, adaptando-o à sua pesquisa.

Em 1951, Wilkins foi a Nápoles no lugar de Randall, participar numa conferência onde mostrou os primeiros padrões de DNA que obteve. Bill Astbury estava presente e é um dos interessados na análise do DNA que elogia o trabalho de Wilkins. É também durante esta conferência que Wilkins conhece James Watson. Watson ficou muito empolgado com os resultados de Wilkins, ao perceber que implicavam que o DNA tinha uma estrutura cristalina, o que tornava a determinação da sua estrutura tangível, e que era possível utilizar a cristalografia de raios X para determinar a sua estrutura. Esta conferência foi um importante ponto de viragem para Watson, sendo o primeiro momento em que este obtém a primeira pista palpável sobre o caminho a percorrer para descobrir a estrutura do DNA.

De volta à King's, Wilkins tenta obter padrões de difração de raios X de DNA de outras fontes. Nenhuma produz resultados com a clareza das de Signer, mas todas produzem uma estrutura semelhante, com um típico padrão em X. Stokes volta a interpretar essa estrutura como sinal de uma estrutura em hélice. Wilkins ainda propõe, com base na consistência dos resultados, que a estrutura do DNA será idêntica, ou muito semelhante, de espécie para espécie, o que também implica uma maior facilidade no seu estudo, ao contrário das proteínas que apresentam variação de espécie para espécie (Wilkins, 2003). Wilkins apresenta estes resultados em conferência, em Julho de 1951, incluindo a indicação de que se trataria de uma hélice. Nesta conferência estavam presentes Francis Crick e Max Perutz.

³⁴ Não se sabe exatamente qual era a ideia de Randall, e possivelmente ele próprio já tinha decidido colocar Franklin a trabalhar no DNA.

³⁵ Aparentemente, foi o próprio Randall que incentivou Franklin a escrever um artigo sobre o seu trabalho em Paris, a ser enviado pelo próprio Randall aos Proceedings of the Royal Society.

Foi a partir do final desta conferência que a dinâmica de trabalho na King's começou a correr mal. É o momento em que Rosalind Franklin exige a Wilkins que abandone o trabalho sobre o DNA. Wilkins só perceberia a origem deste episódio e de todos os problemas subsequentes vários anos depois, após a morte de Franklin. Não tinha conhecimento dos detalhes da carta que Randall enviara a Franklin, realocando-a ao trabalho do DNA como única responsável do projeto. Franklin, por seu lado, assumiu que Wilkins estava ao corrente de tudo, e que estava a fazer comunicações baseadas no trabalho dela³⁶.

Wilkins, em retrospectiva, acha que J.T. Randall queria liderar a pesquisa da estrutura do DNA, com a ajuda de Franklin e Gosling, afastando-o e a Stokes. Em retrospectiva, Wilkins admite que sem esta confusão de posições teria certamente sido possível trabalhar em conjunto com Franklin e Stokes, e que teria sido muito provável que esta equipa chegasse à estrutura do DNA muito antes de Watson e Crick. Wilkins (2002) diz em entrevista: *"I think it was all very sad. Because had we talked, we might all join together in this scientific work"*

A interpretação de Gosling, que também só tomou conhecimento da carta mais tarde, é diferente, sugere que Randall terá criado a situação propositadamente, para que a competição entre os dois estimulasse a pesquisa (Gosling, 2013).

No ano seguinte, Wilkins foi novamente a uma conferência no lugar de Randall, desta vez nos EUA, onde conheceu Erwin Chargaff, que, dado o seu próprio interesse no estudo do DNA, se interessou pelo trabalho de Wilkins. Chargaff põe Wilkins ao corrente da Regra de Chargaff³⁷. Em retrospectiva, Wilkins acha que Chargaff já tinha pensado nos pares de bases, mas que nunca as sugeriu por excesso de zelo (Wilkins, 2003). Chargaff também partilhou com Wilkins amostras de DNA de várias fontes. Nesta conferência, Wilkins também encontra o seu amigo John Kendrew, com quem discute a contenda que mantém com Franklin. Kendrew sugere a Wilkins que aprenda a técnica, tal como ele, mas Wilkins recusa-o, pois, por princípio, pretende um grupo multidisciplinar a trabalhar sobre o DNA. Durante esta conferência, Wilkins recebe nova carta de Randall, que transmitia o interesse do conselho do MRC em que abandone a pesquisa do DNA, o que recusa, alegando a importância crescente do DNA (Wilkins, 2003).

Em Setembro de 1952, Franklin, utilizando o equipamento ajustado por si, demonstra o seu elevado nível de habilidade técnica, obtendo, pela primeira vez, um novo tipo de padrão, e portanto de estrutura, a partir de DNA extremamente húmido (92%). Esta estrutura tomou o

³⁶ A ausência de Wilkins no dia em que Franklin foi apresentada e posta ao corrente contribuiu para que a situação se mantivesse obscura.

³⁷ Atenção que o próprio Chargaff não justifica o ratio de 1:1 através de emparelhamento.

nome de B-DNA. Este padrão era semelhante ao descoberto anteriormente, mas o nível de definição tornava a sua interpretação muito promissora. Em paralelo, o DNA com que Wilkins e Gosling produziram os primeiros resultados, agora chamado A-DNA, não tinha o conteúdo de água que estimaram, apenas 75%. É a partir destes resultados que Franklin propõe que a forma A se transforma na forma B, reversivelmente, com passagem do conteúdo de água de 75% para 95%.

Por esta altura, dada a dificuldade em trabalharem em equipa, Wilkins propõe que Franklin prossiga com o trabalho sobre o DNA do Signer, enquanto ele, recorrendo a um novo equipamento, trabalharia sobre as amostras cedidas por Chargaff. Franklin aceita essa proposta. Randall também intervém por esta altura, e sugere que Franklin trabalhe a forma A do DNA, a passo que Wilkins trabalharia a forma B. O que explica, em parte, a insistência de Franklin no estudo da forma A.

No Verão de 1951, Linus Pauling publicou o seu artigo sobre a hélice- α . A nova forma de investigação utilizada por Pauling, misturando a construção de modelos com a obtenção de dados quantitativos, sugeriu a Wilkins que talvez a construção de modelos fosse útil para a determinação da estrutura do DNA. Wilkins também percebe que Pauling verifica a sua estrutura invertendo os dados: a partir da estrutura, calcula o padrão de difração que pode depois ser verificado com resultados reais de cristalografia de raios X. Wilkins fala com Stokes sobre isto, e Stokes formula uma função de Bessel para cálculo da difração de uma hélice. O resultado coincidia com os padrões obtidos por Franklin no DNA B. Quando este desenvolvimento é partilhado com Franklin, esta reage negativamente pelo facto de terem utilizado os seus resultados sem autorização.

Em Outubro de 1951, o King's organiza um colóquio sobre o trabalho de análise através da cristalografia dos raios X, ao qual James Watson vem assistir. Wilkins refere na sua palestra a ocorrência do padrão em X em todas as amostras de diferentes espécies, o que sugere que esta estrutura em hélice é universal³⁸. Stokes expõe a sua função de Bessel demonstrando o padrão que uma hélice deverá produzir. Franklin faz uma exposição de basicamente todos os resultados, fundamentados e obtidos por si, ou seja, as razões pelas quais os grupos fosfato têm de estar no lado de fora da molécula e a importância de perceber o papel da água na ocorrência da forma A e da forma B. Não menciona nenhuma hélice³⁹, mas menciona que se tinha determinado que o

³⁸ Wilkins não se recorda se falou ou não no trabalho de Chargaff.

³⁹ Nas notas desta conferência, encontradas após a morte de Franklin, encontram-se referências à estrutura em hélice do DNA, que Franklin terá optado por omitir. Wilkins interpreta essa opção como uma forma de se distanciar do trabalho de Wilkins e Stokes.

DNA cristalizava de acordo com o sistema monocínico (grupo espacial C2), informação que Watson não compreende nem transmite a Crick.

Em Dezembro do mesmo ano, Franklin identifica no padrão do DNA B duas concentrações de matéria, separadas por três oitavos da distância de repetição ao longo do comprimento da fibra, e fica de tal forma intrigada que procura a opinião de Wilkins. Nenhum dos dois coloca a hipótese de se tratar de uma dupla hélice⁴⁰.

Pouco tempo depois, a equipa da King's é chamada a Cambridge. Watson e Crick tinham construído um modelo que solucionava a estrutura do DNA. Este era composto por três cadeias, unidas no seu eixo pelos grupos fosfato. No que diz respeito ao número de cadeias, não é uma ideia que Franklin ou Wilkins rejeitem, mas se havia certeza que Franklin tinha, era a de que os grupos fosfato estavam do lado de fora da molécula, em contacto com a água.

Este episódio teve uma consequência institucional. Considerando que a pesquisa do DNA tinha começado na King's, o Cavendish devia-lhes a cortesia de não fazer essa pesquisa em simultâneo (muito menos com base nos seus próprios dados). Bragg combina com Randall que seria a King's a ter prioridade, e Watson e Crick são proibidos de trabalhar sobre o DNA⁴¹.

Por esta altura há um certo impasse no que diz respeito à pesquisa do DNA. Franklin, aliviada pelo falhanço do Cavendish, sente-se reforçada na sua postura no que diz respeito à construção de modelos. Franklin não era contra a construção de modelos, mas era contra o seu uso especulativo, isto é, os modelos só seriam uma opção a partir do momento em que houvesse informação suficiente para sugerir uma estrutura quase completa. Em relação à questão da hélice, com base nos conteúdos de água nas cadeias, acha que a forma B poderá ser uma dupla hélice, mas não a forma A. Acha que terão que existir mais de duas cadeias.

Do lado de Wilkins, apesar da montagem de um novo equipamento, com uma câmara superior à de Franklin, não obtém resultados com as amostras de Chargaff, que não produzem bons resultados, pois estavam preparadas para análise da estrutura química e as suas fibras estavam muito danificadas. John Kendrew convida Wilkins para ir trabalhar no Cavendish, com Watson e Crick, mas este recusa, inibido pelos problemas organizacionais que isso geraria. Alex Stokes, entretanto, desinteressa-se do DNA e deixa de contribuir para este projeto.

⁴⁰ Apesar de se descobrir, pela investigação patente nas suas anotações, que na altura em que Watson e Crick estavam a construir o seu modelo final, Franklin estava a estudar a hipótese de uma dupla hélice.

⁴¹ Gosling acha que este evento fez com que Franklin se tivesse apercebido da circulação da informação, e tenha, em consequência, partilhado menos os seus avanços com o resto da equipa.

Em Julho de 1952, dá-se um episódio engraçado. Franklin convida Wilkins e Stokes para o funeral da hélice do DNA. Uma nova análise do padrão de refração do DNA A faz com que Franklin conclua que o DNA não tem uma estrutura em hélice⁴², numa altura em que já tinha obtido a célebre fotografia 51, uma imagem particularmente clara do padrão do DNA B, com fortes indícios da estrutura em hélice. Wilkins receberia esta fotografia a 30 de Janeiro de 1953, e nunca perceberia exatamente porque é que Franklin não mostrou esta fotografia, que colocava em causa a sua teoria anti hélice (Wilkins, 2003).

Ainda em meados de 1952, são escritos relatórios para o MRC, que depois circulariam pelos outros laboratórios (não esquecer que o Cavendish também é um laboratório do MRC). Por esta altura há uma conferência em Paris em que Wilkins conhece uma série de investigadores, um deles Alfred Hershey. Está no ar a confirmação da teoria de Avery, e Wilkins regressa com uma crença renovada da importância em descobrir a estrutura do DNA.

No regresso, já em Janeiro de 1953, Franklin está de partida e Wilkins recebe a fotografia do padrão de difração de raios X, particularmente boa, demonstrando de forma inequívoca o característico X de uma estrutura em hélice. Alguns dias depois, Watson visita o King's, e quando Wilkins o encontra, este mostra-lhe a fotografia^{43 44}.

No dia 28 de Janeiro de 1953, Franklin apresenta, a propósito da sua saída do laboratório, os seus desenvolvimentos. A palestra incide apenas sobre o DNA-A e não há grandes progressos. Wilkins pergunta-lhe sobre a evidência da estrutura em hélice do DNA B e Franklin dá uma resposta muito simples e surpreendente: o DNA-B era uma hélice, o DNA-A não. Nunca tinha ocorrido a Wilkins que Rosalind achasse isto. Wilkins e Stokes achavam que sendo o DNA-B uma hélice, o DNA-A também teria de ser uma hélice. Mais tarde, a própria Franklin chegaria a essa conclusão.

Pouco depois deste colóquio, Wilkins foi chamado a Cambridge para falar com Watson e Crick. Tinham recebido o rascunho do artigo de Linus Pauling com a sua tripla hélice do DNA, que reconheceram imediatamente como errada, embora reconhecessem que Pauling rapidamente poderia descobrir a estrutura real se se apercebesse do erro. Os dois pedem a Wilkins autorização

⁴² Os visados ficam perplexos com a brincadeira de Franklin. Aparentemente, e segundo Gosling, Franklin sempre achou que a forma B era uma hélice e que o cálculo de Stokes estava correto. Este episódio referia-se apenas à estrutura A.

⁴³ Este é o momento do confronto dramático, ou tornado dramático por Watson. Segundo Brenda Maddox, biógrafa de Rosalind Franklin, esta já teria apanhado alguém a ler os seus apontamentos e sabia da promiscuidade entre o King's e o Cavendish (Maddox, 2002).

⁴⁴ Brenda Maddox afirma também que Watson ainda janta com Wilkins e obtém o valor da repetição e da distância entre as bases (Maddox, 2002).

para voltar a construir modelos. Bragg, diretor do Cavendish, impelido pela possibilidade de Pauling chegar primeiro à estrutura do DNA, também quer que Watson e Crick prossigam com o trabalho, e Wilkins, apesar de territorial com o DNA, aceita (não que uma recusa tivesse impedido os seus esforços)⁴⁵.

Enquanto Wilkins deixa Watson e Crick a tratar do seu modelo, começa a planear como resolver o problema do DNA com a saída de Franklin, e começa a montar um novo grupo multidisciplinar. Escreve uma carta ao grupo de Cambridge, a 7 de março de 1953, a “avisar” do seu plano de uma nova e reforçada investida. A carta chega no dia em que James Watson e Francis Crick terminam o seu novo modelo. O grupo da King’s é novamente convidado para ir ao Cavendish ver o novo modelo.

James Watson, Francis Crick e o Cavendish

James Dewey Watson interessa-se pela biologia desde criança, em particular por ornitologia. Ingressou com apenas 15 anos na Universidade de Chicago⁴⁶ onde se licenciou em Zoologia. No final do curso o seu interesse deslocou-se para a genética, interesse que Watson atribui à leitura de *What is Life?* de Schrödinger, em 1946. Teve oportunidade de seguir o seu novo interesse ao longo do seu doutoramento, na Universidade de Indiana, onde pesquisou a influência dos raios X na inativação de bacteriófagos, sob a orientação de Salvador Luria.

Há vários relatos de Watson como alguém extremamente obstinado nos seus interesses, conduzindo toda a sua vida na faculdade a tentar cumprir os seus objetivos. Ao invés de estabelecer amizades com colegas, o habitual para Watson era procurar pessoas mais velhas e experientes nos assuntos que lhe interessavam, e falar com eles (Olby, 1974).

Salvador Luria era um dos líderes, juntamente com Max Delbrück, do Phage Group. Esta rede informal de cientistas originou-se em 1938, quando Delbrück iniciou o seu trabalho com bacteriófagos, e conclui que estes são um objeto de estudo ideal da autorreplicação biológica e, consequentemente da natureza física da hereditariedade. Mais tarde, conhecendo Salvador Luria e Alfred Hershey, origina-se o Phage Group: uma rede de cientistas cujo objetivo era perceber de que forma um bacteriófago se replica, no interior da célula hospedeira, originando centenas de

⁴⁵ Na realidade, Watson e Crick já tinham começado a construir o modelo antes desta conversa.

⁴⁶ Através de um programa experimental de ingressos precoces.

réplicas. Este grupo foi responsável por introduzir uma série de preceitos na microbiologia genética, como desenho de experiências, lógica dedutiva e avaliação de informação. Foi ainda importante pela atribuição da função genética ao DNA muito cedo, apesar de, inicialmente, interpretarem a deteção de fragmentos precursores de bacteriófago, compostos apenas por proteína, durante a fase de eclipse, como indício de que era esta a substância genética. Em 1952, uma importante experiência levada a cabo por Martha Chase e Hershey, demonstrou que era o DNA que constituía o genoma viral (Stent, 1968) (Hershey & Chase, 1952) (Mullins, 1972).

Em 1950, com apenas 22 anos, Watson vai fazer o seu primeiro ano pós-doutoral na Universidade de Copenhaga. Esta ida para a Dinamarca não foi fortuita, Salvador Luria tinha optado por atribuir ao DNA, e não à proteína, o papel de portador da hereditariedade, segundo Watson (1980) esta decisão foi tomada com base nos resultados obtidos por Avery em 1944⁴⁷, que indicavam o DNA como responsável pela hereditariedade. Luria defendia também que só pela elucidação da estrutura química, seria possível compreender a natureza do gene. Era, portanto, necessário trazer conhecimento de química estrutural para o grupo. É com este propósito que Watson é enviado para Universidade de Copenhaga para trabalhar com Herman Kalckar. Eram muito raros os químicos a trabalhar o DNA e, os poucos que o faziam, não tinham em vista as suas possibilidades genéticas. Kalckar era bioquímico, tinha participado no Phage Course⁴⁸ de Max Delbrück em 1945, e estava a pesquisar o DNA, sendo a escolha disponível para que Watson ganhasse os conhecimentos necessários de química para que fosse possível determinar a estrutura do DNA (Watson, 1980). É importante referir a razão pela qual Watson não é enviado, antes, para um laboratório onde possa aprender difração de raios X. Para Luria e, provavelmente, para o restante Phage Group, a cristalografia era uma área da física altamente hermética, acessível apenas através de um grande conhecimento matemático e técnico. Nesta altura, ainda não tinham sido feitas grandes descobertas através deste método nem, tão pouco, se sabia que o DNA era cristalizável e, portanto, passível de ser estudado através desta técnica.

Este ano que Watson passa da Dinamarca não corre como pretendido, Watson percebe rapidamente que a pesquisa de Kalckar não tinha a aplicação esperada, nem consegue sequer acompanhar a sua pesquisa, que se focava no metabolismo dos nucleótidos⁴⁹. Desinteressado da pesquisa que era suposto estar a fazer, acaba por passar o resto do ano, e um ano subsequente que

⁴⁷ A Avery-Macleod-McCarty Experiment, foi uma experiência feita com o objetivo de clarificar os resultados obtidos em 1928 por Frederick Griffith, sobre o princípio transformador responsável pela transmissão de características de uma estirpe de bactéria para outra.

⁴⁸ Curso anual, dirigido por Max Delbrück no Cold Spring Harbor Laboratory, onde eram ensinadas as técnicas de trabalho com bacteriófagos.

⁴⁹ Através desta pesquisa Kalckar identificou a nucleosídeo fosforilase.

entretanto pediu, a trabalhar com o microbiólogo Ole Maaløe, um membro do Phage Group, que estava a fazer uma pesquisa semelhante à que Watson tinha realizado durante o seu doutoramento (Watson, 1980).

Na primavera de 1951 Kalckar, cuja pesquisa não tem nada para oferecer a Watson no seu objetivo, acaba por fazer uma grande contribuição, por acaso, ao convidar Watson para ir com ele a um simpósio na Estação Zoológica de Nápoles. Watson aceita, não por ter um interesse especial em assistir às conferências, mas pela perspectiva de descansar e fruir do bom tempo de Nápoles, sem prever que era nessa viagem que se iria finalmente colocar no caminho para a descoberta da dupla hélice do DNA.

Para desapontamento de Watson, nem o tempo, nem as conferências são interessantes. Decide, ainda assim, assistir a uma conferência sobre a estrutura das macromoléculas biológicas, na esperança que seja mais fácil compreender a técnica de difração de raios X, do que estudando artigos. Interessou-lhe em particular assistir a uma apresentação sobre a estrutura dos ácidos nucleicos, por John Randall. Esta conferência acaba por ser feita não por John Randall, mas por Maurice Wilkins, que mostra a fotografia com o padrão de difração do DNA de Signer, que obtivera com Raymond Gosling e explica a forma como a sua obtenção significa que o DNA possui estrutura cristalina e, conseqüentemente uma estrutura química com regularidade e que isto implica que passa agora a existir um meio para determinar essa mesma estrutura – a difração de raios X.

Para Watson, este evento foi decisivo, colocando em marcha todos os eventos que se sucederam, na descoberta da dupla hélice. Só neste momento é que Watson tem o primeiro elemento palpável, que o faz pensar que há uma forma de resolver a estrutura, e provavelmente ao seu alcance. Até agora, Watson receava que a molécula do DNA tivesse uma estrutura muito irregular e, por isso, de determinação complexa.

Após este momento de clareza, Watson percebe que terá de aprender, pelo menos, a interpretar padrões de difração de raios X. Tenta imediatamente falar com Wilkins sobre a possibilidade de trabalhar com ele, mas tal conversa não se proporciona. Na versão de Watson (1980) há um suposto episódio com a sua irmã, de quem Wilkins teria interesse em aproximar-se, mas de acordo com Wilkins (2003), apesar do interesse de Watson no DNA, simplesmente não houve uma compreensão científica entre os dois. Watson não sabia nada sobre cristalografia, e

Wilkins não sabia nada sobre bacteriófagos. Watson identifica Cambridge⁵⁰, onde sabe estar Max Perutz a trabalhar na determinação da estrutura da hemoglobina através da difração de raios X.

Watson escreve a Luria, comunicando-lhe que afinal não seria através da química orgânica, mas sim da cristalografia de raios X que viriam as respostas sobre o DNA. Teria, portanto, de ser encontrada uma forma de o colocar no Cavendish, um problema, uma vez que Watson não possuía as competências científicas necessárias. Luria fala com John Kendrew, outro cristalógrafo do Cavendish que estudava a estrutura das proteínas, a mioglobina neste caso. Kendrew estava nos EUA na altura e Luria combina com ele a passagem de Watson para Cambridge.

Em Outubro de 1951 Watson é recebido no Cavendish por Max Perutz. Perutz não vê problema na falta de conhecimentos de Watson no que diz respeito a cristalografia de raios X⁵¹, recomendando-lhe alguns textos básicos. Watson tem dificuldade em seguir esses textos e não progride até conhecer Francis Crick, o outro principal interveniente na descoberta da dupla hélice do DNA.

Francis Crick assume na sua autobiografia “What Mad Pursuit” que, na altura em que foi para o Cavendish, era um físico com fraca formação, ou pelo menos esta era pouco ajustada aos problemas da época. O seu treino base incidira principalmente sobre física clássica, numa altura em que a física quântica já estava a emergir.

Depois de uma breve passagem num laboratório onde deveria trabalhar sobre a viscosidade da água, um trabalho que considerou cientificamente aborrecido. Quando rebenta a Segunda Guerra Mundial é chamado, enquanto físico, para o desenvolvimento de armas de guerra. Durante este serviço militar Crick foi alocado ao desenvolvimento, com grande sucesso, de minas aquáticas magnéticas e acústicas (Crick, 1988).

No final da guerra, Crick, sem qualquer interesse em retomar o trabalho sobre a viscosidade da água, decide permanecer no serviço público mas, não querendo continuar a trabalhar no desenvolvimento de armas, reconhece em si dois grandes interesses – o funcionamento da mente, e o funcionamento da vida. O emprego que lhe é oferecido, num novo laboratório do Medical Research Council, visa o estudo do funcionamento do olho, mas Crick

⁵⁰ Birkbeck tinha um dos laboratórios mais avançados de cristalografia de raios X, e no entanto nem é considerado uma opção o que é estranho uma vez que Bernal era um pioneiro da cristalografia.

⁵¹ Provavelmente porque ele próprio não sabia nada sobre o assunto quando foi para o Cavendish, e John Bernal aceitou ensiná-lo.

recusa. Tinha entretanto decidido que se dedicaria à compreensão do funcionamento da vida e ao estudo das moléculas biológicas (Crick, 1988).

Seguindo a recomendação de um ex-colega do trabalho de guerra, Crick é apresentado a Maurice Wilkins, cujo percurso lhe aparecia como exemplar: um físico que passou para a biologia. Crick considera a pesquisa feita no King's College demasiado virada para o estudo da célula e não se interessa por trabalhar lá. No entanto, resulta desta reunião uma amizade entre Crick e Wilkins que acabaria, muito tempo depois, por ter um papel na descoberta da dupla hélice. Pensa também em trabalhar com John Bernal, em Birkbeck, em cristalografia de raios X mas dificilmente seria aceite e, de qualquer forma o MRC não estaria disposto a financiar a sua estadia neste laboratório. Restando-lhe a Universidade de Cambridge, Crick visita vários laboratórios, um deles o Strangeways, dedicado à cultura de tecidos, onde trabalhava um físico que entretanto falecera, deixando um lugar em aberto. É-lhe proposto esse lugar (Crick, 1988).

A pesquisa que lhe é proposta não é particularmente interessante, mas estava perfeitamente ajustada à sua experiência. Consistia no estudo das propriedades físicas do citoplasma, a partir da manipulação de partículas de magnésio através da aplicação de campos magnéticos. Hidrodinâmica e magnetismo eram duas áreas em que Crick tinha especialização. Durante este tempo, Crick vai ficando sucessivamente mais interessado em moléculas (Crick, 1988).

Passado algum tempo, quando Crick apresenta um relatório de progresso em que menciona o seu interesse nas moléculas, coincidindo com a abertura da unidade de análise de raios X do Cavendish, a ser liderada por Max Perutz, sob supervisão de Sir Lawrence Bragg. Visto que Crick já reunia uma formação mista de física e biologia, propõe-se a passar para esse novo laboratório, para se poder dedicar à pesquisa sobre a estrutura das proteínas. Consequentemente, em 1949, junta-se a Perutz e John Kendrew no Cavendish, onde aprende a prática e teoria da cristalografia de raios X, com Perutz como seu orientador (Crick, 1988).

Watson (1980) adiciona alguns elementos ao retrato de Francis Crick, elucidando que em 1951 Crick estava ao corrente do trabalho de Astbury, acreditando na importância do DNA. Esta ideia parece contrariada pelo facto de Crick sugerir a Wilkins várias vezes, o abandono da pesquisa do DNA para pesquisar as proteínas (Wilkins, 2003). Independentemente deste facto, é certo que até Watson aparecer no Cavendish, Crick estava concentrado no estudo das proteínas.

A formação da dupla Watson e Crick é extremamente importante, porque vai permitir uma grande complementaridade. Watson está altamente motivado para descobrir a estrutura do

DNA mas não tem as ferramentas intelectuais para o fazer e Crick, por seu lado, não estava inicialmente motivado para o estudo do DNA mas é muito dirigido para a síntese e estabelecimento de novas relações e interpretações. Não era raro, por exemplo, Crick falar com colegas sobre as suas pesquisas e sugerir, automaticamente, interpretações, sugestões ou simplesmente derrubar toda a argumentação através de deduções informadas. Crick chega até a definir a real metodologia de trabalho através da qual, juntamente com Watson chegaram à dupla hélice como simplesmente: conversar. Na prática, a dinâmica é bem definida por Chargaff (2002) que diz em entrevista: “Watson was the fisherman, and Crick was the brains.”. Este diálogo constante também foi a forma através da qual Watson se foi tornando minimamente informado no que diz respeito à cristalografia. Crick explicava-lhe os princípios teóricos de uma forma simplificada, muitas vezes substituindo as partes complexas por descrições mais mecânicas e, apesar de Watson nunca aprender realmente a interpretar os resultados da difração de raios X, como é demonstrado pelos vários erros que transmite a Crick das informações que ouve na palestra de Franklin e da boca de Wilkins (como enganar-se na ordem de grandeza do conteúdo de água), consegue pelo menos reconhecer a importância de algumas coisas, como o padrão em X, indicativo de uma hélice. De acordo com Watson, esta relação era recíproca e, em troca, partilhou com Crick os seus conhecimentos sobre bacteriófagos.

É importante frisar que o Cavendish não estava preparado, nem orientado para o estudo da estrutura do DNA, o foco da pesquisa era a estrutura das proteínas, em particular da hemoglobina e a mioglobina, pesquisas de Max Perutz e John Kendrew, respetivamente. Mesmo que as condições para o estudo da estrutura do DNA existissem, não tinham acesso a amostras de DNA com o grau de pureza necessário, nem o conhecimento técnico para as produzir. Havia ainda um problema de territorialidade⁵²: o DNA era a pesquisa de John Randall e Maurice Wilkins, no King’s College.

Estando ao corrente da descoberta da hélice- α por Pauling, tiram muito rapidamente duas conclusões, uma delas partilhada pelos cientistas que acompanharam esta descoberta, que é a possível relevância desta estrutura para as moléculas biológicas, como Crick diz “helices were in the air” (Crick, 1988), isto é, torna-se uma ideia geral que esta estrutura possa ser muito comum na estrutura das moléculas biológicas. Watson e Crick esperam, desde o início, que a estrutura do DNA também seja uma hélice, não só por uma questão de intuição⁵³, mas também porque seria a única estrutura sobre a qual tinham elementos para a sua identificação, através do trabalho de

⁵² Facto particularmente relevante na cultura inglesa, acabava por ser uma questão de cavalheirismo.

⁵³ Por intuição, aqui, entende-se como o resultado de uma acumulação de atitudes, com base na experiência que origina um *educated guess*, que funcionará como ponto de partida e orientação de uma pesquisa (Wilder, 1967).

Linus Pauling. A segunda conclusão tem a ver com metodologia, percebendo que não teriam qualquer hipótese, iniciando do zero, uma pesquisa de cristalografia de raios X⁵⁴ e, vendo a forma “simples” como Pauling resolveu a estrutura da hélice- α , concluem que está ao alcance deles fazer esta pesquisa através da construção de modelos, desde que consigam obter uma quantidade mínima de informações para dar início ao processo, para complementar o que já é sabido sobre o DNA: a sua fórmula química, o empilhamento das bases azotadas a 0,34 μm umas das outras. Adicionalmente, apesar de não estar determinado, pressupõem que o esqueleto fosfatado é regular, consideram essa regularidade como condição necessária para a obtenção de cristais no King’s College e Wilkins também tinha, entretanto, partilhado com Crick que, dada a espessura da suposta hélice, esta teria de ser um composto de mais do que uma cadeia de nucleótidos. Era necessário, no entanto, tomar uma outra decisão, relativa à forma com as moléculas se mantinham unidas – pontes de hidrogénio ou sais envolvendo as cargas negativas dos grupos fosfato.

No final de 1951, a teoria de Pauling tinha causado grande furor mas ainda não tinha sido confirmada. Para tal, era preciso fazer uma previsão teórica, matemática, do padrão de difração que uma hélice produziria, e compara-lo com o da estrutura da hélice- α e com uma molécula real. Em Glasgow, um cristalógrafo chamado Vladimir Vand, responsável por importantes avanços na utilização de computadores na cristalografia de raios X, estava desde 1949 a desenvolver uma teoria para a determinação da forma de estruturas em hélice, através da qual se podiam estabelecer os parâmetros de moléculas, com essa estrutura, irradiadas por raios X (Šolcová & Křížcaronek, 2011). No final de 1951, o artigo contendo este modelo matemático, é enviado para Lawrence Bragg pra revisão que, por sua vez, passa a Crick e a outro cristalógrafo do Cavendish, William Cochran, que estava a tentar determinar a estrutura de um polipéptido sintético⁵⁵, obtido por Bragg. Cochran revê o artigo e percebe que está correto, mas para uma hélice contínua, não para os átomos de uma hélice. No dia seguinte, quando compara notas com Crick percebe que ambos chegaram à resposta correta, através de caminhos matemáticos diferentes. Algum tempo depois, Cochran apercebe-se que os padrões de difração do seu polipéptido sintético estava de acordo com previsto pelo modelo de Vand, tratava-se de uma estrutura em hélice baseada na hélice- α . Foi a primeira prova da existência de uma estrutura em hélice a nível das estruturas moleculares (Cochran, 1987) e de que a teoria de Pauling estava correta.

Em Novembro, Watson, que entretanto se havia tornado minimamente entendido em cristalografia de raios X graças aos esforços de Crick, vai ao King’s College assistir à apresentação de Rosalind Franklin sobre a sua pesquisa no DNA. O seu objetivo era recolher elementos para

⁵⁴ Nem, provavelmente, lhes seriam facultadas as ferramentas para tal pesquisa pelo Cavendish.

⁵⁵ Poly- γ -methyl-L-glutamato.

dar início à construção do modelo da estrutura de DNA, em particular procura obter nas fotografias de Franklin sustentação para provar que o DNA é uma hélice. Franklin, porém, não toca na temática das hélices, mas fala em dois aspetos químicos que Watson, dado o seu baixo nível de conhecimentos, não compreende inteiramente, o conteúdo de água e a razão pela qual os esqueletos fosfatados têm de estar do lado de fora da hélice. Assiste ainda à apresentação de Alex Stokes, que havia desenvolvido uma função de Bessel que demonstrava o padrão resultante de uma hélice, semelhante à teoria Cochran-Crick-Vand.

Em Cambridge, Crick identifica uma série de aspetos da conferência de Rosalind Franklin como importantes, mas Watson, que não fez esse reconhecimento na altura, consegue apenas relatar um valor errado do conteúdo de água. Crick integra os valores de Franklin na sua teoria Cochran-Crick, e percebe que esses valores apenas permitem a ocorrência de um número reduzido de soluções. O que não era possível resolver, era a questão do número de cadeias; a informação de raios X era compatível com 2 a 4 cadeias. A solução parecia estar próxima, e aparentemente, facilmente verificada pela construção de modelos.

Quando avançam para a construção de modelos, deparam-se com várias barreiras, como a inexistência de peças feitas especificamente para o DNA, tendo de recorrer aos materiais que John Kendrew tinha utilizado para fazer modelos de polipéptidos. Sem formação química, tiveram dificuldade em perceber os ângulos de ligação e, decidindo que o único meio de obter algum tipo de regularidade numa estrutura do género era colocando os esqueletos fosfatados no interior, restava-lhes perceber de que forma as cadeias se poderiam manter em posição. Decidem que serão pontes iónicas de Magnésio (Mg^{++}). Watson e Crick tinham esperança que ao longo das várias iterações surgisse um modelo que fizesse sentido. Depois de alguma tentativa e erro, resultou um modelo de três cadeias, com o esqueleto fosfatado no centro e uma repetição de 28 Å ao longo do eixo da hélice. Concluem que as reflexões deste modelo coincide com as localizações gerais das reflexões da fotografia de Wilkins. Para verificar se estava correto, era necessário verificar o modelo com as intensidades das difrações. Pedem, por isso, a Wilkins para se deslocar ao Cavendish e ver o modelo.

Quando chegam, Crick começa por apresentar a sua teoria sobre hélices, com pouca reação, uma vez que por esta altura Alex Stokes já tinha chegado aos mesmos resultados na King's. Quando revelam a estrutura, é Franklin quem toma as rédeas da situação, arrasando com todos os aspetos que Watson e Crick tomaram como pontos de partida: as pontes de magnésio não são possíveis, pois colocariam água no interior da estrutura; o conteúdo de água reportado por

Watson não estava correto, por uma ordem de 10, e esta quantidade de água multiplicava as possibilidades de modelos que encaixam nestes os parâmetros.

O resultado deste episódio é a proibição por Lawrence Bragg, de Watson e Crick prosseguirem o estudo do DNA. Quando Randall toma conhecimento da situação, vai falar com Bragg, indignado pelo grupo de Cambridge estar a trabalhar sobre o DNA e com base nos dados do King's. As peças utilizadas para a construção do modelo são inclusivamente enviadas para o King's.

Durante o tempo em que são forçados a abandonar o DNA, Crick empenha-se no seu trabalho de doutoramento e Watson decide dedicar-se ao TMV, o que lhe permite estudar o RNA que, sendo também um ácido nucleico, poderia fornecer algum elemento importante para desvendar a estrutura do DNA. Durante esta pesquisa, Watson formula uma hipótese para a resolução da estrutura do TMV que passa por provar que é uma hélice, e é “forçado” a fazer trabalho prático, aprendendo a tirar fotografias de raios X.

Em 1952 Watson recebe nesta altura comunicação de um novo argumento na prova da importância do DNA na hereditariedade – as experiências Hershey-Chase⁵⁶. A partir destas experiências, o DNA passaria definitivamente à frente da proteína como candidato a portador da informação genética, sendo uma questão de tempo até que outros grupos se dedicassem à elucidação da sua estrutura. O trabalho de Watson produz uma fotografia capaz de provar a estrutura em hélice no TMV, suficiente para justificar a sua estadia em Cambridge, cujo financiamento tinha sido posto em causa. Desinteressa-se pelo trabalho no TMV, uma vez que seria necessário um grande trabalho para descobrir mais detalhes da estrutura do RNA ainda, possivelmente alguns anos de trabalho até ter resultados. Adicionalmente, não acha que isso resulte em algum contributo para o seu interesse verdadeiro, o DNA.

Watson e Crick voltam a sua atenção para o DNA novamente. Esta nova investida começa pela discussão da regra de Chargaff que Watson reporta a Crick. Chargaff estabelece a regra, mas não sugere implicações⁵⁷. Há também alguma discussão sobre as duas principais correntes teóricas que justificam a duplicação do material genético, molde e complementaridade. Crick sabe que a questão é perceber de que forças de atracão se tratam, e sabe também que a resposta não pode ser pontes de hidrogénio, que neste caso não seriam específicas. Os átomos de hidrogénio das bases purinas e pirimidinas não tinham localizações específicas, saltando de

⁵⁶ Experiência que demonstrou que quando o vírus infecta uma bactéria, apenas o DNA penetra na bactéria, indicando que tinha de ser o DNA o material genético (Hershey & Chase, 1952).

⁵⁷ Wilkins acredita que Chargaff já tivesse intuído o emparelhamento das bases, mas que não o tenha mencionado por não ter provas.

posição em posição. A intuição de Crick era de que a replicação envolvia forças de atração entre as superfícies planares das bases. John Griffith sugere, com pouca segurança, que a adenina se devia atrair pela timina, e a mesma coisa para a guanina e citosina. A ideia é sugestiva, e Crick lembra-se da regra de Chargaff. No entanto, Griffith não tem grandes argumentos para sustentar a sua sugestão, e Crick percebe que a mecânica quântica da ideia não está devidamente fundamentada. A própria regra de Chargaff pode não ter a implicação que estão a pensar, podendo simplesmente corresponder a um reflexo do código genético. Convenientemente, o próprio Chargaff vem de visita a Cambridge, e Watson e Crick vão jantar com ele. O jantar não corre bem. Chargaff é químico e percebe que eles sabem muito pouco da sua área, não sendo sequer capazes de distinguir as estruturas das quatro bases durante a conversa.

Durante este Verão, Crick continua a dedicar-se ao seu doutoramento, enquanto Watson se mantém a par da literatura do DNA, para o caso de surgir algum elemento. Crick continuou a achar que a regra de Chargaff era essencial. Neste período, Watson atualiza-se na literatura bioquímica sobre RNA, e interpreta as evidências no que se chama mais tarde Dogma Central da Biologia. O DNA é o molde para o RNA, que por sua vez é o “molde” para a síntese das proteínas. Portanto, já é assumido que os nucleótidos compõem um código que significa sequências de aminoácidos.

Peter Pauling, que entretanto se juntara ao Cavendish, recebe a carta de Linus Pauling, informando que já chegou a uma estrutura para o DNA. No entanto, Watson e Crick percebem que dificilmente a estrutura poderá estar correta, uma vez que Pauling não tivera acesso ao trabalho de Rosalind Franklin.

E janeiro de 1953 e Franklin já está de saída para Birkbeck. Chega a carta com o artigo preliminar sobre a estrutura de três cadeias de Pauling. A estrutura está errada, sendo muito próxima do próprio modelo falhado de Watson e Crick, exceto que Pauling optou por pontes de hidrogénio para manter as cadeias unidas e, por razões pouco compreensíveis, os grupos fosfato não estavam ionizados, o que não fazia qualquer sentido a menos que Pauling acompanhasse a estrutura de alguma reavaliação nas propriedades ácido-base de macromoléculas.

Este é um momento-chave de toda a história. Apercebendo-se do erro de Pauling na projeção da estrutura de DNA, também percebem que esse erro seria percebido em poucas semanas quando o artigo fosse publicado e que, a partir daí, Pauling rapidamente chegaria à estrutura correta⁵⁸. Decidem, pressionados pela competição internacional, regressar ao estudo do

DNA. Para isso seria necessário pelo menos informar Wilkins, e Watson vai à King's. Encontrando Franklin antes de Wilkins, decide partilhar com ela as notícias sobre a nova estrutura de Pauling. Trata-se de um episódio que se tornou famoso, pelo confronto entre Watson e Franklin, que difere bastante de acordo com os testemunhos. Independentemente dos detalhes, o que é realmente importante é o que se passa depois, entre Wilkins e Watson. Wilkins mostra a Watson uma fotografia que Franklin tirou ao B-DNA, a melhor de todas – a Fotografia 51. Watson reconhece imediatamente o padrão em hélice. A forma A não apresenta uma evidência tão direta. Este foi o momento em que Watson teve a confirmação de que a sua ideia de hélice estava sustentada, no entanto, continua sem solução quanto à forma como as bases estariam empilhadas no centro da hélice. De acordo com o relato de Watson, este, ao regressar ao seu laboratório, fez um pequeno esquisso da estrutura no canto do jornal e decidiu, sem grande fundamento, fazer modelos com duas cadeias, “He knew that important biological objects come in pairs” (Watson, 1980).

No dia seguinte, Watson vai falar com Bragg, colocando-o a par das novas informações obtidas de Wilkins e da sua intenção de regressar aos modelos. Bragg, motivado pela possibilidade ultrapassar Linus Pauling, aprova a investida do Cavendish. São encomendadas novas peças para a construção do modelo – as bases purinas e pirimidinas.

Watson insiste que a reflexão dos 3.4 Å era muito mais forte que as outras, indicando que as bases (com uma espessura de 3.4 Å) tinham de estar empilhadas perpendicularmente ao eixo, e também achava que podiam assumir que o diâmetro da hélice era de 20 Å. Francis sabe que não há qualquer indicação favorável (ou desfavorável) de que se tratam de duas ou três cadeias, mas decidem começar pela hipótese de duas cadeias. Quando os átomos de fósforo chegam, Watson passa algum tempo a tentar montar dois esqueletos fosfatados, reunidos centralmente. Justifica esta insistência em colocar o fósforo no centro como uma forma de reduzir a quantidade de modelos possíveis com as bases no centro da estrutura.

Crick prefere a ideia da replicação complementar face à ideia de molde, e intui que a replicação do DNA envolve forças de atração entre as superfícies das bases. Se estiver correto, Crick espera encontrar forças de atração entre bases com estruturas diferentes, caso a replicação se dê de forma complementar; se se tratar de cópia idêntica, deverá encontrar forças de atração entre bases idênticas. Pedem então a Griffith para calcular a atração entre as bases, mas Griffith obtém resultados pouco sólidos quanto à hipótese de que a adenina deveria aderir à timina, e a guanina à

⁵⁸ Ou talvez não, o próprio Pauling admite que teria dificuldade em abandonar por completo a sua ideia das 3 cadeias.

citosina. Crick recorda-se dos resultados de Chargaff, e esta linha acaba por ser abandonada, uma vez que nem os cálculos de Griffith são sólidos o suficiente para sustentar a conclusão, como não conseguem explicar, tendo as bases duas superfícies, que lado seria escolhido. A regra de Chargaff também podia ser então fruto do próprio código genético, isto é, as quantidades similares podiam resultar de um mecanismo desconhecido na ordenação das bases.

“By then, [the model] had been checked out with Rosy’s precise measurements. Rosy, of course, did not directly give us her data. For that matter, no one at King’s realized they were in our hands.” (Watson, *The Double Helix - A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA*, 1980, pp. 104-105)

Watson e Crick tinham recebido estes dados através de Max Perutz, que recebera os relatórios entregues pela equipa da King’s ao Medical Research Council, do qual era membro.

Watson continua a tentar conceber uma estrutura com as bases no centro, mas rapidamente percebe que, dadas as diferentes dimensões dos anéis de cada base, não seria possível garantir a estabilidade e regularidade da estrutura (Watson, 1980). A permanente atualização de literatura sobre o DNA produz, contudo, alguns resultados. Watson e Crick põem de parte a hipótese de estabelecimento de pontes de hidrogénio entre as bases, assumindo que o hidrogénio disponível para essa ligação não teria uma posição fixa. Watson relê o trabalho de John Guland e Denis Jordan⁵⁹, que estabelece que praticamente todas, se não mesmo todas as bases, podem estabelecer ligações de hidrogénio entre si. (Watson, 1980)

Watson começa a pensar que se as bases se ligarem por pontes de hidrogénio, igual com igual, então uma molécula de DNA consiste de duas cadeias com sequências idênticas, ligadas por pontes de hidrogénio entre si. Isto cria alguns problemas com o esqueleto fosfatado, mas a ideia sugere que cada cadeia, por complementaridade, seria capaz de formar uma nova cadeia dupla. O requisito para este mecanismo funcionar é o de que cada tipo de base só forme ligações com o seu par homólogo. Watson percebe imediatamente que não haveria forma de, quimicamente, esta especificidade ser garantida, e admite que poderá haver um mecanismo enzimático que trate do assunto. A ideia não é muito sólida nos detalhes químicos, mas o mecanismo de replicação complementar já parece “certo”. Contudo, é deitada por terra no dia seguinte, quando Watson expõe a sua ideia a Jerry Donahue, cuja opinião é a de que as formas enol apresentadas na maior parte dos livros de química para a guanina e para a timina é incorreta e que, na realidade, Watson deve utilizar as formas keto. Donahue não tem argumentos que garantam que está correto, mas Watson considerava-o uma autoridade no assunto quase ao nível de Pauling, e por isso não

⁵⁹ “The chemistry of Nucleic Acids and Nucleoproteins”. Que referência é esta?

desconsiderou a sua ideia. Este argumento destruiu a possibilidade do emparelhamento igual com igual. Adicionalmente, Crick continuava seguro que a regra de Chargaff era chave, e este tipo de emparelhamento não a justificava. Watson não consegue pensar numa alternativa e, impaciente, decide não esperar que os modelos das bases que encomendaram fiquem prontos, e recorta em cartão representações à escala das bases. Este seria o passo final.

No dia seguinte, Watson começa a jogar com as peças que fez, tentando verificar se havia alguma configuração possível para o seu emparelhamento igual-com-igual, sem obter resultados. Decide experimentar outras combinações e apercebe-se que se juntar um par adenina-timina, unido por duas pontes de hidrogénio tem precisamente o mesmo tamanho que um par citosina-guanina, unidos por duas ou três pontes de hidrogénio. Adicionalmente, estas pontes parecem formar-se naturalmente, sem necessidade de forçar qualquer ângulo. Watson pede a Donahue para verificar se há alguma objeção àquela configuração e Donahue diz-lhe que ela é perfeitamente possível.

Watson apercebe-se imediatamente que tem a solução para a existência da regra de Chargaff: os pares têm especificidade na sua formação. Implica também que as duas cadeias têm complementaridade, o mecanismo de replicação estava também salvaguardado por esta solução. Watson mostra o seu desenvolvimento a Crick, que o complementa, percebendo que com a configuração sugerida, mesmo que se virem as bases ao contrário, as ligações glicosídicas ficam viradas na mesma direção. O que implica que uma única cadeia pode perfeitamente conter pirimidinas e purinas. Ao mesmo tempo, sugere que os dois esqueletos das duas cadeias deverão ter direções diferentes, isto é, as duas cadeias deverão ser antiparalelas. Restava portanto ver se o modelo completo permitia a ocorrência desta configuração de bases, mas a forma como todas as ideias estavam a encaixar já sugeria que tinham chegado à estrutura correta.

Os dias seguintes foram dedicados à construção do modelo final, e de facto, o esqueleto previamente construído, com as duas cadeias fosfatadas do lado de fora, era compatível com os pares de bases no centro, de acordo com o que Watson e Crick já haviam concluído. Aparentemente tudo estava a bater certo, apesar de terem consciência que o facto de estarem completamente focados no especto biológico da complementaridade das cadeias os poderia estar a cegar quanto a algum detalhe químico. Os detalhes finais foram tratados por Crick, que se encarregou de medir todas as distâncias atómicas (Watson, 1980).

Os últimos acertos são feitos e resta agora a revelação da descoberta. O ponto de desconforto é a equipa da King's. No mesmo dia em que finalizaram o modelo, receberam uma carta de Wilkins, dizendo que com a saída de Rosalind Franklin, o grupo ia finalmente empenhar-

se a desvendar a estrutura do DNA. Wilkins é chamado para ver o modelo, e acha-o perfeitamente viável; mesmo o facto de possuir apenas duas cadeias não é um problema, uma vez que no King's nunca tinham chegado a estabelecer o número exato de cadeias. Franklin vai ver o modelo, mais tarde, e concorda imediatamente com o que vê. Terá comentado, a propósito da publicação da estrutura, talvez com ironia, "It's very pretty, but how are they going to prove it?" (McCabe & McCave, 2008).

Surge agora um problema muito sensível. Watson e Crick chegam a uma estrutura do DNA mas não têm dados experimentais seus que a suportem. Adicionalmente caso creditassem as fontes reais, pelo menos duas delas originariam sérios problemas institucionais: A fotografia 51, que Wilkins mostra a Watson, e o relatório do MRC que Perutz dá a Crick. A primeira permitiu a certeza de que a estrutura era uma hélice, o segundo que o grupo de simetria era monoclinico C2, que permitiu a Crick concluir que se tratavam de duas cadeias antiparalelas, que o esqueleto fosfatado se encontrava do lado de fora e uma série de cálculos que permitiram refinar a estrutura. Assumir as fontes destas informações criaria um problema institucional, pelo que não o declaram no seu artigo, mencionam apenas: "We are most heavily indebted in this respect to the King's College group, and we wish to point out that without this data the formulation of our structure would have been most unlikely, if not impossible." (Watson & Crick, 1953). Frase que não credita, de forma nenhuma, as informações que não tinham sido comunicadas publicamente e que foram essenciais para a formulação da estrutura do DNA.

A questão da sustentação e publicação do artigo é resolvida pelo acerto da publicação de dois artigos do King's em conjunto com o de Watson e Crick. Em primeiro lugar foi publicado o artigo de Watson e Crick "A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid", descrevendo a sua proposta de dupla hélice do DNA; em segundo lugar o artigo de Wilkins, Stokes e Wilson "Molecular Structure of Deoxyribose Nucleic Acids", analisando os resultados de cristalografia e defendendo a ocorrência desta estrutura nos sistemas biológicos; em terceiro lugar o artigo de Franklin e Gosling "Molecular Configuration of Sodium Thymonucleate", em que se publicam vários dos resultados de cristalografia de raios X, provando tratar-se de uma hélice e o posicionamento do esqueleto fosfatado no exterior da estrutura. Na prática, a ordem de publicação colmata a falha, a nível de resultados experimentais do artigo de Watson e Crick, toda a sugestão feita neste artigo é sustentada pelos resultados dos dois artigos seguintes que, por si, não sugerem uma estrutura final⁶⁰.

⁶⁰ Ver Anexo II

São publicados, no seguimento da descoberta, mais dois artigos, um 30 de Maio de 1953 por Watson e Crick chamado “Genetical Implications of the Structure of Deoxyribonucleic Acid”, onde especulam sobre o mecanismo de replicação de acordo com a complementaridade das bases deixado em aberto no primeiro artigo e, outro de Franklin e Gosling chamado “Evidence for 2-Chain Helix in Crystalline Structure of Sodium Deoxyribonucleate”, onde detalham as diferenças entre a dupla hélice das formas A e B do DNA e são apresentadas provas analíticas do modelo Watson-Crick (Klug, 2004).

Rosalind Franklin abandona a King’s College em março de 1953, indo para Birkbeck onde se dedicaria ao estudo da estrutura do TMV. Na King’s College seriam necessários 7 anos para executar todas as análises detalhadas necessárias para provar que o modelo estava correto. Conseguindo obter padrões de difração com maior resolução graças à implementação de câmaras mais avançadas, computadores e novos meios analíticos. Durante estes anos o modelo não foi inteiramente aceite pela comunidade, especialmente pelos cristalógrafos que tinham dúvidas no que diz respeito ao emparelhamento das bases. A prova cristalográfica formal só foi obtida em 1979 (Drew & Dickerson, 1981) quando se resolveu a estrutura de uma molécula de DNA de sequência definida, utilizando a substituição isomorfa com átomos pesados (Klug, 2004) (Olby, 2003).

Em 1958 Rosalind Franklin morre, vítima de cancro e em 1962 Watson, Crick e Wilkins são laureados com o prémio Nobel da Medicina "for their discoveries concerning the molecular structure of nucleic acids and its significance for information transfer in living material" (The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962, 2014).

Conclusão

O ponto de partida deste trabalho foi o fascínio que as circunstâncias que circundam a descoberta da dupla hélice do DNA despertou em mim. O crédito negado a Rosalind Franklin constituiu uma primeira surpresa e foi imediatamente polarizante, mas a verdade é que rapidamente se percebe que esse é apenas um dos muitos fios que se podem puxar deste novelo. Em boa verdade, cada vez que se olha de perto para *qualquer* detalhe da descoberta (a análise de um percurso pessoal de um interveniente, a forma como um equipamento foi desenvolvido, ou a razão para um cientista estar no local onde está) abre uma janela, por exemplo, para a realidade da II Guerra Mundial, para a importância das relações pessoais e da personalidade, o papel dos Estados e da política e a herança de Descartes e Bacon.

Abrir estas janelas permite-nos olhar de um ponto de vantagem para a nossa realidade presente, perceber que o *status quo* não existe nem por acaso, nem desde sempre. Se capacitar para este tipo de visão não faz parte do que é formar um ser humano, então estamos de facto condenados à estagnação e a uma nova forma de obscurantismo individualizado.

Porque é que a ciência já não é feita por grandes génios, mas sim por grandes equipas? Porque é que a bomba atómica existiu e porque é que foi lançada? De que forma o papel da mulher e das minorias se alterou nas últimas décadas? De que forma chegar a um resultado e receber o crédito influencia o curso da ciência e da história? De que forma o financiamento influencia a ciência? Porque é que determinados assuntos são estudados em detrimento de outros?

Nenhuma destas perguntas é realmente respondida ao longo deste trabalho, mas são assinalados e realçados elementos que contribuem não só para a sua resposta, mas especialmente para que o seu questionamento se torne importante. Para tal, este trabalho foi estruturado em torno de três grandes fases. Uma primeira fase, transitória, da ciência, em que se dão uma série de desenvolvimentos técnicos indispensáveis para que o DNA se tornasse importante, e em que surgem também as ferramentas e técnicas para a sua análise. Em paralelo com o desenvolvimento técnico, esta fase representa uma clara mudança de estatutos, quer do cientista, quer da ciência. Estamos perante o fim da ciência dos grandes génios (cartesiana) e a entrar na ciência de grupo e dos grandes laboratórios (baconiana). O laboratório montado no King's College por John Randall é uma das primeiras manifestações desta tendência. Podemos relacionar toda esta transformação com a instrumentalização mais profunda da ciência pelos estados, com um clímax marcado pela II Guerra Mundial que, teve uma outra consequência, mais direta: a migração dos cientistas Judeus para o Reino Unido e para os Estados Unidos, onde magnificaram o desenvolvimento científico

dos países acolhedores. A própria migração intelectual da física para a biologia pode ser vista como uma consequência da guerra, como Wilkins declara conscientemente na sua biografia. Provavelmente, há muito mais a dizer sobre o papel da II Guerra mundial na descoberta da dupla hélice do DNA e de muitas outras descobertas, pois praticamente todos os intervenientes, principais e secundários, foram influenciados direta ou indiretamente por esta guerra, quer pela participação ativa na ciência de guerra (causando mortes), pelo exílio (voluntário ou forçado), ou por empatia com as vítimas de perseguições (caso dos cientistas judeus). Mais do que uma curiosidade, James Watson é uma das exceções, e talvez isso esteja relacionado com a sua visão “egoísta” da descoberta da estrutura do DNA.

Podemos agora olhar para os desenvolvimentos técnicos e teóricos que permitiram diretamente a descoberta da dupla hélice do DNA: desenvolvimento da cristalografia dos raios X e sua adaptação ao estudo das moléculas biológicas, a construção de modelos e a descoberta da hélice- α , o estudo dos fagos e as experiências de Avery. Inclui-se nesta preparação, ainda, a formação ou consolidação dos centros de investigação do Cavendish e King's College, bem como a deslocação dos intervenientes diretos da descoberta para esses centros. Em combinação com o posicionamento dos intervenientes, temos de considerar que os seus esforços não teriam qualquer fruto se não tivessem ocorrido no momento certo. Estavam, de 1951 a 1953, reunidos os elementos necessários para dar início à descoberta. A fórmula química do DNA era conhecida, bem como o empilhamento das bases azotadas, horizontalmente a 0,34 μm umas das outras. Também se conhecia o rácio de 1 entre a adenina e a timina, e entre a citosina e a guanina. A única peça que faltava era o método para pesquisar essa estrutura, e esse método surge quando Wilkins e Gosling descobrem que o DNA cristaliza, indicando que é possível a sua análise através de estudos de difração de raios X.

Este percurso tem também algo de invulgar, nomeadamente, havendo ciências mais próximas da biologia e da química estrutural, porque teve de ser a física a tomar conta deste assunto. O caso da biologia é relativamente simples, havendo uma impossibilidade técnica. O caso da química, mesmo com os desvios para as sínteses e aplicações industriais. O próprio Watson (Hargittai, Hargittai, & Hargittai, 2014) em entrevista diz “The discovery of DNA was just waiting to be made[...] Any good chemist should've found the structure of DNA.”. Albert Eschenmoser e Vlado Prelog, que em retrospectiva se questionaram sobre a atraso com que os químicos se começaram a preocupar com a composição do DNA, chegam a uma justificação muito simples: o DNA não era um objecto apropriado ao estudo pela química, na altura. Não se sabia se era uma macromolécula, não se conseguia isolar nem purificar de acordo com os preceitos da química orgânica. Prelog ainda adiciona que nos anos 40 e 50, a química estava muito preocupada com a

sua própria validação, dedicando-se ao estudo de outras substâncias que constituíam problemas solúveis de acordo com as técnicas da química orgânica (Hargittai, Hargittai, & Hargittai, 2014).

Hoje, exercendo uma análise retrospectiva, podemos obter da descoberta um micromodelo do funcionamento da ciência, útil à aprendizagem de qualquer aluno das ciências. Para tal, é necessário identificar corretamente as constituintes mais importantes desta descoberta, admitindo que cada uma delas permite elaborar “lições” a futuros alunos.

Começamos pela construção de modelos. A construção de modelos consiste na utilização de representações físicas de átomos e ligações químicas, permitindo fixar algumas variáveis como ponto de partida, como as distâncias interatômicas e os ângulos das ligações, de forma a permitir avançar para a estrutura global da molécula. Linus Pauling foi o primeiro a utilizar esta metodologia. O ponto de partida foi dado por estudos químicos e de cristalografia de raios X, dados dos quais deriva a construção do modelo, que é dinâmico, e ao qual vão sendo aplicadas todas as novas informações que se encontrem. Este método obriga à angariação de informação para alimentar o modelo, nomeadamente palestras e artigos científicos de toda a comunidade científica. Obtendo-se um modelo-hipótese, foram testadas as suas propriedades, comparando os resultados que a estrutura proposta deveria produzir com os resultados obtidos sobre a molécula real. Para Watson e Crick, a escolha desta metodologia foi na verdade uma não-escolha, a única que tinham à sua disposição. Ao contrário do King's College, no Cavendish não havia amostras de DNA, e nem Watson nem Crick dominavam nenhuma das técnicas que teriam permitido a obtenção dos seus próprios dados e, especialmente no caso de Watson, os seus conhecimentos são muito reduzidos para serem capazes de interpretar, sozinhos, os resultados necessários para chegar a qualquer conclusão. Desta forma, a sua única possibilidade de resolver a estrutura do DNA era reunir o máximo de informação possível e, com base nesses dados e em tentativa e erro (ainda na esperança de que a estrutura fosse muito simples), construir um modelo da estrutura, até ser possível formular uma hipótese concreta, que pudesse ser verificada pelos investigadores capazes de fazer o trabalho de pesquisa, no sentido tradicional.

Adicionalmente, foi fundamental a cooperação e a partilha de conhecimento. A descoberta da dupla hélice do DNA envolveu cinco intervenientes principais, com formas de cooperação muito distintas. No King's College, Maurice Wilkins e Rosalind Franklin, num regime de cooperação institucional, que na prática era conflituosa e praticamente inexistente; na Universidade de Cambridge, James Watson e Francis Crick, que nem sequer estavam institucionalmente alocados à questão do DNA, mas que funcionavam numa cooperação altamente funcional; no Caltech, nos EUA, Linus Pauling, a trabalhar isoladamente na estrutura

do DNA. Devem ainda ser considerados vários intervenientes secundários: Raymond Gosling, Alexander Stokes e Herbert Wilson, os coautores dos artigos publicados em 1953 por Wilkins e Franklin e, ainda, dado o seu impacto através de um papel de supervisão e influência institucional, John Randall, Max Perutz e Lawrence Bragg.

O percurso da informação passou sempre por Watson e houve alguma reciprocidade no que diz respeito a Maurice Wilkins. Note-se, por exemplo, que quando no Cavendish recebem, informalmente, informações sobre a pesquisa de Linus Pauling, através de Peter Pauling, partilham essas informações com Maurice Wilkins. Já os resultados obtidos por Rosalind Franklin e Raymond Gosling circulam até ao Cavendish por duas vias: formalmente, através da divulgação feita em palestras (cuja compreensão Watson, em vários casos, falha, transmitindo informação incorreta a Crick e, relacionando-se com os problemas éticos a apontar a este episódio histórico, informalmente, ora quando Maurice Wilkins mostra a fotografia 51 a Watson, bem como outros dados obtidos por Franklin, precipitando a resolução da estrutura, ora através de Max Perutz, que facultava informação detalhada, contida nos relatórios de avaliação confidenciais apresentados ao MRC, que estavam em seu poder. Estes valores concretos permitiram completar o modelo final e suportá-lo teoricamente.

Em complemento, podemos também afirmar que é crucial a formação específica de cada cientista (bem como a importância das escolas de pensamento dentro das especialidades), e a forma como esta é responsável por visões dogmáticas que acabam por inibir ou desconsiderar certas ideias. Nos cromossomas, entretanto identificados como os portadores da informação genética, percebendo-se que eram compostos por DNA e proteína, é imediatamente atribuída à proteína a função genética, dado o ênfase na pesquisa proteica e na ideia de que a informação genética só poderia ser armazenada numa molécula extremamente complexa. Teriam de ser cientistas de outras especialidades, como Watson, no seguimento de Max Delbrück e Salvador Luria, livres destes preconceitos, a considerar seriamente a hipótese de ser o DNA o portador da informação genética.

Há um ângulo que é apenas tocado circunstancialmente ao longo deste trabalho, e a que não posso deixar de reconhecer a importância, trata-se do papel dos diferentes tipos de personalidade, que em jogo influenciaram a forma como a descoberta decorreu. Este aspeto é particularmente relevante quando olhamos para a equipa do King's College onde, independentemente do mal-entendido (intencional ou acidental), Wilkins e Franklin se incompatibilizaram, negando a possibilidade de uma verdadeira cooperação.

A descoberta da dupla hélice do DNA está assente num grande conjunto de acasos fundamentais para que esta descoberta tenha acontecido da forma que aconteceu. O verdadeiro salto de partida para a possibilitação da descoberta foi a obtenção do DNA de Signer por Maurice Wilkins, que por sua vez é obtida em consequência da decisão de Wilkins de, após a sua participação no Projeto Manhattan, investigar a base física da vida. Este DNA de alta qualidade era, provavelmente, o único disponível no mundo capaz de produzir difração de raios X. Ainda relacionado com a equipa do King's College, temos a existência da Fotografia 51. Esta fotografia, decisiva, foi obtida acidentalmente, durante uma exposição de tal forma longa, que o conteúdo de água da amostra se alterou, transformando-se o DNA-A em DNA-B, o que revelou um padrão de difração característico de uma hélice. A ideia de hélice, como o próprio Crick relembra, estava no ar. A descoberta da estrutura hélice- α por Linus Pauling circulava por todos os intervenientes, e, intuindo-se a possibilidade de a hélice ser uma forma comum nas moléculas biológicas, havia uma predisposição para a sua procura. O primeiro modelo para o DNA construído por Watson e Crick consistia numa tripla hélice e rapidamente se revela como um erro. Este erro permitiu-lhes reconhecer, quando recebem por via de Peter Pauling (que por acaso também se encontrava no Cavendish) o rascunho da proposta de Pauling, como igualmente errado. Tal permitiu também, apelando a um espírito de competição, convencer Lawrence Bragg a autorizar Watson e Crick a regressar à construção de modelos. Nas etapas finais da descoberta, quando o par precisa da estrutura das bases azotadas, recorre aos livros de química disponíveis no laboratório. Na altura as estruturas da timina e da guanina inscritas nesses livros estavam erradas, e só viriam a ser retificadas nas publicações no ano seguinte. Porque Jerry Donahue partilhava o gabinete com eles e estava ao corrente da estrutura correta, foi possível o contributo final para que Watson conseguisse chegar à complementaridade das bases e confirmar toda a estrutura.

Além dos aspetos já apontados, a descoberta revela problemas de ética e reconhecimento, desde logo porque o artigo de Watson e Crick em que é proposta a estrutura do DNA não credita devidamente contributos-chave. Em primeiro lugar, a fotografia 51, que Wilkins mostra a Watson, precipitando a confirmação da estrutura em hélice. Em segundo lugar, o relatório de avaliação dos laboratórios do MRC, contendo conhecimento pormenorizado e confidencial, na posse de Max Perutz, partilhado com Watson e Crick, que permitiram não só confirmar e corrigir uma série de aspetos, como colocar Crick ao corrente da conclusão de Rosalind Franklin, de que o DNA seguia o sistema monoclinico, o que lhe sugeriu que as cadeias teriam de ser antiparalelas. Adicionalmente, ao ter acesso a este relatório, e aos cálculos detalhados, teve também a certeza imediata de que estava em jogo um eixo em díade – duas cadeias. Crick deduziu isto a partir do grupo espacial C2 e da densidade calculados por Gosling. Crick consegue fazer esta dedução, ao

contrário de Gosling, porque estava a estudar a estrutura da hemoglobina com Lawrence Bragg, que tem precisamente o mesmo grupo espacial.

A questão com Rosalind Franklin é muito complexa, especialmente dada a sua morte precoce. Watson (2002) em entrevista deu a sua sugestão da resolução ideal da situação: Crick e Watson partilhariam o prémio Nobel da Medicina, e Wilkins e Franklin o da Química. Não sabemos realmente o que poderia ter acontecido, mas talvez fosse possível uma resolução desse género. O papel de Franklin só veio a público com a publicação da autobiografia de Watson, *The Double Helix*, em 1968, dez anos após a sua morte e da atribuição do prémio Nobel pela descoberta da estrutura do DNA. Não podemos saber o que teria acontecido, caso não tivesse falecido tão cedo, mas há algumas coisas a dizer sobre isso. É provável que, caso esse facto trágico não tivesse ocorrido, Franklin ainda assim não ganhasse o prémio Nobel. Hoje sabe-se, pela abertura dos registos relativos ao prémio Nobel de 1962, que Franklin nunca esteve na lista e, na realidade, até Wilkins não tinha sido incluído pela maioria dos nomeadores. O que é natural, uma vez que nem a própria sabia que os seus resultados tinham sido utilizados para resolver a estrutura⁶¹, o caso de Wilkins, provavelmente é indicativo da forma como o papel do King's College, foi menosprezado. A abertura dos registos Nobel revelaram uma interessante carta de Francis Crick para Jacques Monod, um dos nomeadores do prémio Nobel de 1963 (o processo de nomeação começou em 1960), onde se esforça por garantir que a contribuição de Wilkins para a descoberta do DNA e para a posterior verificação e correção de vários aspetos da estrutura dizendo:

“On the matter of Maurice Wilkins. I think his contribution was twofold. He indicated the careful x-ray work on DNA, and since 1953 he has done numerous extensive, accurate and painstaking studies on it. It is true that he has worked rather slowly, but then hardly anybody else has done anything.” (p. 1)

Crick acrescenta ainda uma pequena frase sobre Rosalind Franklin, muito digna de nota:

“However, the data which really helped us to obtain the structure was mainly obtained by Rosalind Franklin, who died a few years ago.” (p. 1)

Não é impossível pensar que, caso Franklin estivesse viva na altura das nomeações, Crick clarificasse a situação.

⁶¹ Raymond Gosling (2013) disse em entrevista que Rosalind estava ao corrente da utilização do seu trabalho por Watson e Crick, simplesmente nunca o reclamou. Esta ideia vai contra a opinião geral da literatura consultada.

Podemos ainda fazer uma outra projeção sobre o prémio Nobel e Rosalind Franklin, depois da sua saída do Kings College e estabelecimento em Birkbeck, fez trabalho muito inovador no estudo dos vírus e, no ano em que morreu já tinha garantido o maior financiamento alguma vez atribuído a Birkbeck bem como uma grande quantidade de publicações a sua idade. Em 1982, Aaron Klug aluno e investigador do grupo liderado por Franklin, recebeu o prémio Nobel da Química, pelo desenvolvimento de microscopia eletrónica e elucidação da estrutura de complexos proteína-ácido nucleico, trabalho que iniciou com Franklin. É plausível que ambos tivessem partilhado esse prémio.

A descoberta da dupla hélice permitiu o desenvolvimento da engenharia genética, do projeto Genoma Humano e muitas outras descobertas, demonstradas pela abundância de prémios Nobel atribuídos, dentro da categoria da medicina (48), à genética e à biologia molecular (21)⁶². O seu sucesso e impacto é inquestionável, podendo ser antevisto nos seus precedentes — mesmo quando estes investigadores não sabia onde procurá-lo, sabiam que o procuravam.

Tentemos, por fim, um olhar mais amplo. Cada pedra desta descoberta que se vira revela um ecossistema que não só elucida a circunstância específica, como abre uma janela para todo um contexto sobre o desenvolvimento da ciência, clarificando que a relação entre a ciência e a restante sociedade é muito mais íntima do que muitas vezes se faz parecer, formando uma teia. Como Roland Barthes poderia dizer, a descoberta científica pode ser vista uma narrativa, uma pequena constelação na galáxia que é a narrativa da ciência que, por sua vez faz parte do universo do que é a atividade humana. Tentei demonstrar nesta dissertação a disparidade entre a forma como a descoberta da dupla hélice do DNA é normalmente abordada, no contexto escolar, e uma narrativa mais complexa, que ainda assim é certamente incompleta, mas de onde se podem extrair múltiplas leituras. Essa exploração teve de ser ancorada em ocorrências factuais, mas teve de ir além delas. A ciência é tanto um inventário de informação factual como a história é uma cronologia de datas, pelo que não pode ser analisada criticamente sem o devido contexto.

A dupla hélice do DNA é uma das poucas descobertas científicas que dado o seu impacto, e certamente, dada a sua simplicidade, transcendeu o estatuto de descoberta científica para se fundir com a cultura contemporânea. Isto é algo muito raro e separado apenas por oito anos desde a última grande descoberta que produziu um efeito cultural proporcional, a bomba atómica. Como se o Homem, envergonhado por ter sido capaz de materializar a forma mais absoluta de destruição e morte, tenha ocorrido à procura da mais pura manifestação da vida, o DNA.

⁶² Ver Anexo I

Bibliografia

- Šolcová, A., & Křížcaronek, M. (2011). Vladimír Vand (1911-1968): Pioneer of Computational Methods in Crystallography. *IEEE Annals of the History of Computing* 33(4) , 38-44.
- Barthes, R. (1997). *Image - Music - Text*. London: Fontana Press.
- Bernal, J. D. (1968). The Pattern of Linus Pauling's Work in Relation to Molecular Biology. Em *Structural Chemistry and Molecular Biology: A Volume Dedicated to Linus Pauling By His Students, Colleagues and Friends*. San Francisco: W. H. Freeman.
- Bernal, J. D. (1939). The Structure of Proteins. *Nature* , 663-667.
- Bragg, L. (1965). First Stages in the X-ray Analysis of Proteins. *Reports on Progress in Physics* , 1-14.
- Brown, A. (2007). *J. D. Bernal - The Sage of Science*. Oxford.
- Chargaff, E. (2002). DNA - EPISODE 1 - THE SECRET OF LIFE PBS.
- Clayton, J., & Dennis, C. (2003). *50 Years of DNA*. Palgrave Macmillan.
- Cochran, W. (1987). Citation-Classic - The Structure of Synthetic Polypeptides. *Current Classics* , 16.
- Crick, F. (1988). *What Mad Pursuit*. Basic Books.
- Dickinson, R., & Raymond, A. (1923). The Crystal Structure of Hexamethylene-Tetramine. *Journal of the American Chemistry Society* , 22-29.
- Drew, & Dickerson. (1981). Structure of a B-DNA dodecamer: conformation and dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* , 2178-83.
- Eisenberg, D. (1994). Max Perutz's achievements: how did he do it? *Protein Science* , 1625-1628.
- Franklin, R., & Gosling, R. (1953). Molecular Configuration of Sodium Thymonucleate. *Nature* , 740-741.
- Fruton, J. (1999). *Proteins, Enzymes, Genes: The Interplay of Chemistry and Biology*.
- Gosling, R. (25 de Abril de 2013). Raymond Gosling: the man who crystallized genes. (N. Attar, Entrevistador)
- Haberer, J. (1969). *Politics and the Community of Science*. New York: Van Nostrand Reinhold Co.
- Hargittai, B., Hargittai, M., & Hargittai, I. (2014). *Great Minds - Reflections od 111 Top Scientists*. London: Oxford University Press.
- Hershey, A., & Chase, M. (1952). Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage. *J Gen Physiol* , 39-56.
- Hodgkin, D., & Riley, D. (1968). Some Ancient History of X-Ray Analysis. Em AAVV, *Structural Chemistry and Molecular Biology* (pp. 15-28). San Francisco: W H Freeman and Company.
- Huxley, T. (1869). *On the Physical Basis of Life*. New Haven: The College Courant.

- Jensen, W. P., Palenik, G. J., & Suh, I.-H. (2003). The History of Molecular Structure Determination Viewed through the Nobel Prizes. *Journal of Chemical Education* , 753-761.
- Kay, L. E. (1996). Protein Paradigm. In *The Molecular Vision of Life* (pp. 104-120). London: Oxford University Press.
- Kay, L. E. (1993). *The Molecular View of Life*. Oxford University Press.
- Klug, A. (2004). The discovery of the DNA double helix. *Journal of Molecular Biology* , 3-26.
- Maddox, B. (2002). *Rosalind Franklin - The Dark Lady of DNA*. Harper Prenal.
- McCabe, L., & McCave, E. (2008). *DNA: Promise and Peril*. University of California Press.
- Milne, C. (1998). Philosophically Correct Science Stories? Examining the Implications of Heroic Science Stories for School Science. *Journal of Research in Science Teaching* , 175-187.
- Mitchel, W. J. (1980). *On Narrative*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Mullins, N. C. (1972). The Development of a Scientific Specialty: The Phage Group and The Origins of Molecular Biology. *Minerva* , 51-82.
- Nils, R.-H. (2009). Why the distinction between basic (theoretical) and applied (practical) research is important in the politics of science. *Contingency and dissent in science* .
- Olby, R. (2003). Quiet Debut for the Double Helix. *Nature* , 402-405.
- Olby, R. (1974). *The Path to the Double Helix*. Dover Publications.
- Scholes, R. (1981). Language, Narrative and Anti-Narrative. Em W. Mitchell, *On Narrative* (pp. 200-208). Chicago: Chicago University Press.
- Stent, G. S. (1968). That Was the Molecular Biology That Was. *Science* , 390-395.
- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962*. (10 de September de 2014). Obtido de Nobelprize.org: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1962/
- Watson, J. (2002). DNA - Episode 1 - The Secret of Life PBS.
- Watson, J. (1980). *The Double Helix - A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA*. W W Norton & Company.
- Watson, J., & Crick, F. (1953). A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* , 737-738.
- Wilder, R. L. (1967). The Role of Intuition. *Science* , 605-610.
- Wilkins, M. (2002). DNA - Episode 1 - The Secret of Life PBS.
- Wilkins, M. (2003). *The Third Man of the Double Helix*. Oxford: Oxford University Press.
- Wilkins, M., Stokes, A., & Wilson, H. (1953). Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids. *Nature* , 738-740.

*"Of what use is your invention, Mr. Faraday?" demanded an important lady.
"Madam", he replied, "of what use is a new born child?"*

Michael Faraday

Anexos

Anexo I - Prémios Nobel na área da Genética e da Biologia Molecular

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1933

Thomas Hunt Morgan

"for his discoveries concerning the role played by the chromosome in heredity"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1946

Hermann Joseph Muller

"for the discovery of the production of mutations by means of X-ray irradiation"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1958

George Wells Beadle

"for their discovery that genes act by regulating definite chemical events"

Edward Lawrie Tatum

"for their discovery that genes act by regulating definite chemical events"

Joshua Lederberg

"for his discoveries concerning genetic recombination and the organization of the genetic material of bacteria"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1959

Severo Ochoa

"for their discovery of the mechanisms in the biological synthesis of ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid"

Arthur Kornberg

"for their discovery of the mechanisms in the biological synthesis of ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962

Francis Harry Compton Crick

"for their discoveries concerning the molecular structure of nucleic acids and its significance for information transfer in living material"

James Dewey Watson

"for their discoveries concerning the molecular structure of nucleic acids and its significance for information transfer in living material"

Maurice Hugh Frederick Wilkins

"for their discoveries concerning the molecular structure of nucleic acids and its significance for information transfer in living material"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1965

François Jacob

"for their discoveries concerning genetic control of enzyme and virus synthesis"

André Lwoff

"for their discoveries concerning genetic control of enzyme and virus synthesis"

Jacques Monod

"for their discoveries concerning genetic control of enzyme and virus synthesis"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1968

Robert W. Holley

"for their interpretation of the genetic code and its function in protein synthesis"

Har Gobind Khorana

"for their interpretation of the genetic code and its function in protein synthesis"

Marshall W. Nirenberg

"for their interpretation of the genetic code and its function in protein synthesis"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969

Max Delbrück

"for their discoveries concerning the replication mechanism and the genetic structure of viruses"

Alfred D. Hershey

"for their discoveries concerning the replication mechanism and the genetic structure of viruses"

Salvador E. Luria

"for their discoveries concerning the replication mechanism and the genetic structure of viruses"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1975

David Baltimore

"for their discoveries concerning the interaction between tumour viruses and the genetic material of the cell"

Renato Dulbecco

"for their discoveries concerning the interaction between tumour viruses and the genetic material of the cell"

Howard Martin Temin

"for their discoveries concerning the interaction between tumour viruses and the genetic material of the cell"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1978

Werner Arber

"for the discovery of restriction enzymes and their application to problems of molecular genetics"

Daniel Nathans

"for the discovery of restriction enzymes and their application to problems of molecular genetics"

Hamilton O. Smith

"for the discovery of restriction enzymes and their application to problems of molecular genetics"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1980

George D. Snell

"for their discoveries concerning genetically determined structures on the cell surface that regulate immunological reactions"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1983

Barbara McClintock

"for her discovery of mobile genetic elements"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1993

Richard J. Roberts

"for their discoveries of split genes"

Phillip A. Sharp

"for their discoveries of split genes"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1995

Edward B. Lewis

"for their discoveries concerning the genetic control of early embryonic development"

Christiane Nüsslein-Volhard

"for their discoveries concerning the genetic control of early embryonic development"

Eric F. Wieschaus

"for their discoveries concerning the genetic control of early embryonic development"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2001

Sir Paul M. Nurse

"for their discoveries of key regulators of the cell cycle"

Leland H. Hartwell

"for their discoveries of key regulators of the cell cycle"

Tim Hunt

"for their discoveries of key regulators of the cell cycle"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2002

Sydney Brenner

"for their discoveries concerning genetic regulation of organ development and programmed cell death"

H. Robert Horvitz

"for their discoveries concerning genetic regulation of organ development and programmed cell death"

John E. Sulston

"for their discoveries concerning genetic regulation of organ development and programmed cell death"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2004

Richard Axel

"for their discoveries of odorant receptors and the organization of the olfactory system"

Linda B. Buck

"for their discoveries of odorant receptors and the organization of the olfactory system"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006

Andrew Z. Fire

"for their discovery of RNA interference - gene silencing by double-stranded RNA"

Craig C. Mello

"for their discovery of RNA interference - gene silencing by double-stranded RNA"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2007

Mario R. Capecchi

"for their discoveries of principles for introducing specific gene modifications in mice by the use of embryonic stem cells"

Sir Martin J. Evans

"for their discoveries of principles for introducing specific gene modifications in mice by the use of embryonic stem cells"

Oliver Smithies

"for their discoveries of principles for introducing specific gene modifications in mice by the use of embryonic stem cells"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2009

Elizabeth H. Blackburn

"for the discovery of how chromosomes are protected by telomeres and the enzyme telomerase"

Carol W. Greider

"for the discovery of how chromosomes are protected by telomeres and the enzyme telomerase"

Jack W. Szostak

"for the discovery of how chromosomes are protected by telomeres and the enzyme telomerase"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012

Sir John B. Gurdon

"for the discovery that mature cells can be reprogrammed to become pluripotent"

Shinya Yamanaka

"for the discovery that mature cells can be reprogrammed to become pluripotent"

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2013

Randy W. Schekman

"for their discoveries of machinery regulating vesicle traffic, a major transport system in our cells"

Anexo II - Os três artigos publicados na revista Nature em 25 de Abril de 1953, pela ordem de publicação original

equipment, and to Dr. G. E. R. Deacon and the captain and officers of R.R.S. *Discovery II* for their part in making the observations.

- ¹ Young, F. B., Gerrard, H., and Jevons, W., *Phil. Mag.*, **40**, 149 (1920).
² Longuet-Higgins, M. S., *Mon. Not. Roy. Astro. Soc., Geophys. Supp.*, **5**, 285 (1949).
³ Von Arx, W. S., Woods Hole Papers in Phys. Oceanog. Meteor., **11** (3) (1950).
⁴ Ekman, V. W., *Arkiv. Mat. Astron. Fysik. (Stockholm)*, **2** (11) (1905).

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

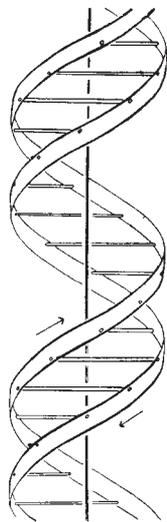
A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey¹. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three inter-twined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.

We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate di-ester groups joining β -D-deoxy-ribofuranose residues with 3',5' linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow right-handed helices, but owing to the dyad the sequences of the atoms in the two chains run in opposite directions. Each chain loosely resembles Furberg's² model No. 1; that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the atoms near it is close to Furberg's 'standard configuration', the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There



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

is a residue on each chain every 3.4 Å. in the z -direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical z -co-ordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol configurations) it is found that only specific pairs of bases can bond together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on these assumptions the other member must be thymine; similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.

It has been found experimentally^{3,4} that the ratio of the amounts of adenine to thymine, and the ratio of guanine to cytosine, are always very close to unity for deoxyribose nucleic acid.

It is probably impossible to build this structure with a ribose sugar in place of the deoxyribose, as the extra oxygen atom would make too close a van der Waals contact.

The previously published X-ray data^{5,6} on deoxyribose nucleic acid are insufficient for a rigorous test of our structure. So far as we can tell, it is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as unproved until it has been checked against more exact results. Some of these are given in the following communications. We were not aware of the details of the results presented there when we devised our structure, which rests mainly though not entirely on published experimental data and stereochemical arguments.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.

We are much indebted to Dr. Jerry Donohue for constant advice and criticism, especially on inter-atomic distances. We have also been stimulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Dr. M. H. F. Wilkins, Dr. R. E. Franklin and their co-workers at

King's College, London. One of us (J. D. W.) has been aided by a fellowship from the National Foundation for Infantile Paralysis.

J. D. WATSON
F. H. C. CRICK

Medical Research Council Unit for the
Study of the Molecular Structure of
Biological Systems,
Cavendish Laboratory, Cambridge.
April 2.

¹ Pauling, L., and Corey, R. B., *Nature*, **171**, 346 (1953); *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, **39**, 84 (1953).

² Furberg, S., *Acta Chem. Scand.*, **6**, 634 (1952).

³ Chargaff, E., for references see Zamenhof, S., Braverman, G., and Chargaff, E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **9**, 402 (1952).

⁴ Wyatt, G. R., *J. Gen. Physiol.*, **36**, 201 (1952).

⁵ Astbury, W. T., *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **1**, Nucleic Acid, 66 (Camb. Univ. Press, 1947).

⁶ Wilkins, M. H. F., and Randall, J. T., *Biochim. et Biophys. Acta*, **10**, 192 (1953).

Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids

WHILE the biological properties of deoxypentose nucleic acid suggest a molecular structure containing great complexity, X-ray diffraction studies described here (cf. Astbury¹) show the basic molecular configuration has great simplicity. The purpose of this communication is to describe, in a preliminary way, some of the experimental evidence for the polynucleotide chain configuration being helical, and existing in this form when in the natural state. A fuller account of the work will be published shortly.

The structure of deoxypentose nucleic acid is the same in all species (although the nitrogen base ratios alter considerably) in nucleoprotein, extracted or in cells, and in purified nucleate. The same linear group of polynucleotide chains may pack together parallel in different ways to give crystalline²⁻³, semi-crystalline or paracrystalline material. In all cases the X-ray diffraction photograph consists of two regions, one determined largely by the regular spacing of nucleotides along the chain, and the other by the longer spacings of the chain configuration. The sequence of different nitrogen bases along the chain is not made visible.

Oriented paracrystalline deoxypentose nucleic acid ('structure B' in the following communication by Franklin and Gosling) gives a fibre diagram as shown in Fig. 1 (cf. ref. 4). Astbury suggested that the strong 3.4-A. reflexion corresponded to the internucleotide repeat along the fibre axis. The ~ 34 A. layer lines, however, are not due to a repeat of a polynucleotide composition, but to the chain configuration repeat, which causes strong diffraction as the nucleotide chains have higher density than the interstitial water. The absence of reflexions on or near the meridian immediately suggests a helical structure with axis parallel to fibre length.

Diffraction by Helices

It may be shown⁵ (also Stokes, unpublished) that the intensity distribution in the diffraction pattern of a series of points equally spaced along a helix is given by the squares of Bessel functions. A uniform continuous helix gives a series of layer lines of spacing corresponding to the helix pitch, the intensity distribution along the n th layer line being proportional to the square of J_n , the n th order Bessel function. A straight line may be drawn approximately through

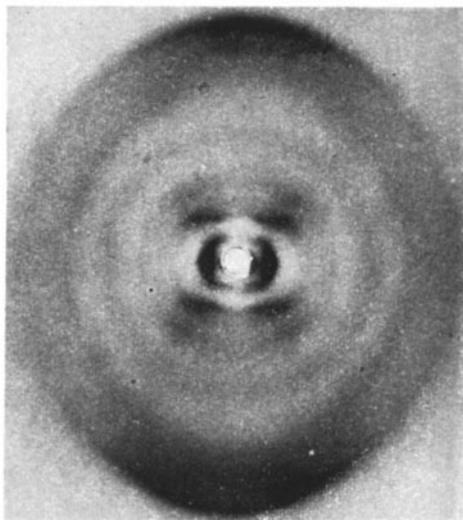


Fig. 1. Fibre diagram of deoxypentose nucleic acid from *B. coli*. Fibre axis vertical

the innermost maxima of each Bessel function and the origin. The angle this line makes with the equator is roughly equal to the angle between an element of the helix and the helix axis. If a unit repeats n times along the helix there will be a meridional reflexion (J_0^2) on the n th layer line. The helical configuration produces side-bands on this fundamental frequency, the effect⁶ being to reproduce the intensity distribution about the origin around the new origin, on the n th layer line, corresponding to C in Fig. 2.

We will now briefly analyse in physical terms some of the effects of the shape and size of the repeat unit or nucleotide on the diffraction pattern. First, if the nucleotide consists of a unit having circular symmetry about an axis parallel to the helix axis, the whole diffraction pattern is modified by the form factor of the nucleotide. Second, if the nucleotide consists of a series of points on a radius at right-angles to the helix axis, the phases of radiation scattered by the helices of different diameter passing through each point are the same. Summation of the corresponding Bessel functions gives reinforcement for the inner-

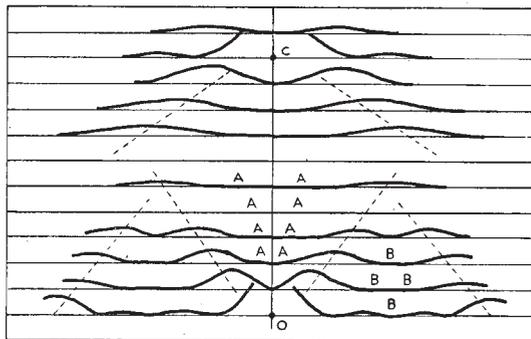


Fig. 2. Diffraction pattern of system of helices corresponding to structure of deoxypentose nucleic acid. The squares of Bessel functions are plotted about 0 on the equator and on the first, second, third and fifth layer lines for half of the nucleotide mass at 20 A. diameter and remainder distributed along a radius, the mass at a given radius being proportional to the radius. About C on the tenth layer line similar functions are plotted for an outer diameter of 12 A.

most maxima and, in general, owing to phase difference, cancellation of all other maxima. Such a system of helices (corresponding to a spiral staircase with the core removed) diffracts mainly over a limited angular range, behaving, in fact, like a periodic arrangement of flat plates inclined at a fixed angle to the axis. Third, if the nucleotide is extended as an arc of a circle in a plane at right-angles to the helix axis, and with centre at the axis, the intensity of the system of Bessel function layer-line streaks emanating from the origin is modified owing to the phase differences of radiation from the helices drawn through each point on the nucleotide. The form factor is that of the series of points in which the helices intersect a plane drawn through the helix axis. This part of the diffraction pattern is then repeated as a whole with origin at *C* (Fig. 2). Hence this aspect of nucleotide shape affects the central and peripheral regions of each layer line differently.

Interpretation of the X-Ray Photograph

It must first be decided whether the structure consists of essentially one helix giving an intensity distribution along the layer lines corresponding to J_1, J_2, J_3, \dots , or two similar co-axial helices of twice the above size and relatively displaced along the axis a distance equal to half the pitch giving J_2, J_4, J_6, \dots , or three helices, etc. Examination of the width of the layer-line streaks suggests the intensities correspond more closely to J_1^2, J_2^2, J_3^2 than to $J_2^2, J_4^2, J_6^2, \dots$. Hence the dominant helix has a pitch of ~ 34 A., and, from the angle of the helix, its diameter is found to be ~ 20 A. The strong equatorial reflexion at ~ 17 A. suggests that the helices have a maximum diameter of ~ 20 A. and are hexagonally packed with little interpenetration. Apart from the width of the Bessel function streaks, the possibility of the helices having twice the above dimensions is also made unlikely by the absence of an equatorial reflexion at ~ 34 A. To obtain a reasonable number of nucleotides per unit volume in the fibre, two or three intertwined coaxial helices are required, there being ten nucleotides on one turn of each helix.

The absence of reflexions on or near the meridian (an empty region *AAA* on Fig. 2) is a direct consequence of the helical structure. On the photograph there is also a relatively empty region on and near the equator, corresponding to region *BBB* on Fig. 2. As discussed above, this absence of secondary Bessel function maxima can be produced by a radial distribution of the nucleotide shape. To make the layer-line streaks sufficiently narrow, it is necessary to place a large fraction of the nucleotide mass at ~ 20 A. diameter. In Fig. 2 the squares of Bessel functions are plotted for half the mass at 20 A. diameter, and the rest distributed along a radius, the mass at a given radius being proportional to the radius.

On the zero layer line there appears to be a marked J_{10}^2 , and on the first, second and third layer lines, $J_9^2 + J_{11}^2, J_8^2 + J_{12}^2$, etc., respectively. This means that, in projection on a plane at right-angles to the fibre axis, the outer part of the nucleotide is relatively concentrated, giving rise to high-density regions spaced c. 6 A. apart around the circumference of a circle of 20 A. diameter. On the fifth layer line two J_5 functions overlap and produce a strong reflexion. On the sixth, seventh and eighth layer lines the maxima correspond to a helix of diameter ~ 12 A. Apparently it is only the central region of the helix structure which is well divided by the 3.4-A. spacing, the outer

parts of the nucleotide overlapping to form a continuous helix. This suggests the presence of nitrogen bases arranged like a pile of pennies¹ in the central regions of the helical system.

There is a marked absence of reflexions on layer lines beyond the tenth. Disorientation in the specimen will cause more extension along the layer lines of the Bessel function streaks on the eleventh, twelfth and thirteenth layer lines than on the ninth, eighth and seventh. For this reason the reflexions on the higher-order layer lines will be less readily visible. The form factor of the nucleotide is also probably causing diminution of intensity in this region. Tilting of the nitrogen bases could have such an effect.

Reflexions on the equator are rather inadequate for determination of the radial distribution of density in the helical system. There are, however, indications that a high-density shell, as suggested above, occurs at diameter ~ 20 A.

The material is apparently not completely paracrystalline, as sharp spots appear in the central region of the second layer line, indicating a partial degree of order of the helical units relative to one another in the direction of the helix axis. Photographs similar to Fig. 1 have been obtained from sodium nucleate from calf and pig thymus, wheat germ, herring sperm, human tissue and T_2 bacteriophage. The most marked correspondence with Fig. 2 is shown by the exceptional photograph obtained by our colleagues, R. E. Franklin and R. G. Gosling, from calf thymus deoxyribose nucleate (see following communication).

It must be stressed that some of the above discussion is not without ambiguity, but in general there appears to be reasonable agreement between the experimental data and the kind of model described by Watson and Crick (see also preceding communication).

It is interesting to note that if there are ten phosphate groups arranged on each helix of diameter 20 A. and pitch 34 A., the phosphate ester backbone chain is in an almost fully extended state. Hence, when sodium nucleate fibres are stretched³, the helix is evidently extended in length like a spiral spring in tension.

Structure *in vivo*

The biological significance of a two-chain nucleic acid unit has been noted (see preceding communication). The evidence that the helical structure discussed above does, in fact, exist in intact biological systems is briefly as follows:

Sperm heads. It may be shown that the intensity of the X-ray spectra from crystalline sperm heads is determined by the helical form-function in Fig. 2. Centrifuged trout semen give the same pattern as the dried and rehydrated or washed sperm heads used previously⁴. The sperm head fibre diagram is also given by extracted or synthetic¹ nucleoprotamine or extracted calf thymus nucleohistone.

Bacteriophage. Centrifuged wet pellets of T_2 phage photographed with X-rays while sealed in a cell with mica windows give a diffraction pattern containing the main features of paracrystalline sodium nucleate as distinct from that of crystalline nucleoprotein. This confirms current ideas of phage structure.

Transforming principle (in collaboration with H. Ephrussi-Taylor). Active deoxyribose nucleate allowed to dry at ~ 60 per cent humidity has the same crystalline structure as certain samples⁵ of sodium thymonucleate.

We wish to thank Prof. J. T. Randall for encouragement; Profs. E. Chargaff, R. Signer, J. A. V. Butler and Drs. J. D. Watson, J. D. Smith, L. Hamilton, J. C. White and G. R. Wyatt for supplying material without which this work would have been impossible; also Drs. J. D. Watson and Mr. F. H. C. Crick for stimulation, and our colleagues R. E. Franklin, R. G. Gosling, G. L. Brown and W. E. Seeds for discussion. One of us (H. R. W.) wishes to acknowledge the award of a University of Wales Fellowship.

M. H. F. WILKINS
Medical Research Council Biophysics
Research Unit,

A. R. STOKES
H. R. WILSON

Wheatstone Physics Laboratory,
King's College, London.
April 2.

¹ Astbury, W. T., *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 1, Nucleic Acid (Cambridge Univ. Press, 1947).

² Riley, D. P., and Oster, G., *Biochim. et Biophys. Acta*, 7, 526 (1951).

³ Wilkins, M. H. F., Gosling, R. G., and Seeds, W. E., *Nature*, 167, 759 (1951).

⁴ Astbury, W. T., and Bell, F. O., *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 6, 109 (1938).

⁵ Cochran, W., Crick, F. H. C., and Vand, V., *Acta Cryst.*, 5, 581 (1952).

⁶ Wilkins, M. H. F., and Randall, J. T., *Biochim. et Biophys. Acta*, 10, 192 (1953).

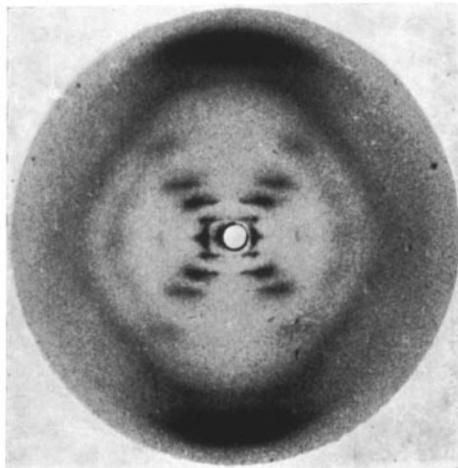
Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate

SODIUM thymonucleate fibres give two distinct types of X-ray diagram. The first corresponds to a crystalline form, structure *A*, obtained at about 75 per cent relative humidity; a study of this is described in detail elsewhere¹. At higher humidities a different structure, structure *B*, showing a lower degree of order, appears and persists over a wide range of ambient humidity. The change from *A* to *B* is reversible. The water content of structure *B* fibres which undergo this reversible change may vary from 40–50 per cent to several hundred per cent of the dry weight. Moreover, some fibres never show structure *A*, and in these structure *B* can be obtained with an even lower water content.

The X-ray diagram of structure *B* (see photograph) shows in striking manner the features characteristic of helical structures, first worked out in this laboratory by Stokes (unpublished) and by Crick, Cochran and Vand². Stokes and Wilkins were the first to propose such structures for nucleic acid as a result of direct studies of nucleic acid fibres, although a helical structure had been previously suggested by Furberg (thesis, London, 1949) on the basis of X-ray studies of nucleosides and nucleotides.

While the X-ray evidence cannot, at present, be taken as direct proof that the structure is helical, other considerations discussed below make the existence of a helical structure highly probable.

Structure *B* is derived from the crystalline structure *A* when the sodium thymonucleate fibres take up quantities of water in excess of about 40 per cent of their weight. The change is accompanied by an increase of about 30 per cent in the length of the fibre, and by a substantial re-arrangement of the molecule. It therefore seems reasonable to suppose that in structure *B* the structural units of sodium thymonucleate (molecules or groups of molecules) are relatively free from the influence of neighbouring



Sodium deoxyribose nucleate from calf thymus. Structure *B*

molecules, each unit being shielded by a sheath of water. Each unit is then free to take up its least-energy configuration independently of its neighbours and, in view of the nature of the long-chain molecules involved, it is highly likely that the general form will be helical³. If we adopt the hypothesis of a helical structure, it is immediately possible, from the X-ray diagram of structure *B*, to make certain deductions as to the nature and dimensions of the helix.

The innermost maxima on the first, second, third and fifth layer lines lie approximately on straight lines radiating from the origin. For a smooth single-strand helix the structure factor on the *n*th layer line is given by:

$$F_n = J_n(2\pi rR) \exp i n(\psi + \frac{1}{2}\pi),$$

where $J_n(u)$ is the *n*th-order Bessel function of *u*, *r* is the radius of the helix, and *R* and ψ are the radial and azimuthal co-ordinates in reciprocal space²; this expression leads to an approximately linear array of intensity maxima of the type observed, corresponding to the first maxima in the functions J_1, J_2, J_3 , etc.

If, instead of a smooth helix, we consider a series of residues equally spaced along the helix, the transform in the general case treated by Crick, Cochran and Vand is more complicated. But if there is a whole number, *m*, of residues per turn, the form of the transform is as for a smooth helix with the addition, only, of the same pattern repeated with its origin at heights mc^* , $2mc^*$. . . etc. (*c* is the fibre-axis period).

In the present case the fibre-axis period is 34 Å and the very strong reflexion at 3.4 Å lies on the tenth layer line. Moreover, lines of maxima radiating from the 3.4-Å reflexion as from the origin are visible on the fifth and lower layer lines, having a J_5 maximum coincident with that of the origin series on the fifth layer line. (The strong outer streaks which apparently radiate from the 3.4-Å maximum are not, however, so easily explained.) This suggests strongly that there are exactly 10 residues per turn of the helix. If this is so, then from a measurement of R_n the position of the first maximum on the *n*th layer line (for $n \gg 5$), the radius of the helix, can be obtained. In the present instance, measurements of R_1, R_2, R_3 and R_5 all lead to values of *r* of about 10 Å.

Since this linear array of maxima is one of the strongest features of the X-ray diagram, we must conclude that a crystallographically important part of the molecule lies on a helix of this diameter. This can only be the phosphate groups or phosphorus atoms.

If ten phosphorus atoms lie on one turn of a helix of radius 10 Å., the distance between neighbouring phosphorus atoms in a molecule is 7.1 Å. This corresponds to the P . . . P distance in a fully extended molecule, and therefore provides a further indication that the phosphates lie on the outside of the structural unit.

Thus, our conclusions differ from those of Pauling and Corey⁴, who proposed for the nucleic acids a helical structure in which the phosphate groups form a dense core.

We must now consider briefly the equatorial reflexions. For a single helix the series of equatorial maxima should correspond to the maxima in $J_0(2\pi rR)$. The maxima on our photograph do not, however, fit this function for the value of r deduced above. There is a very strong reflexion at about 24 Å. and then only a faint sharp reflexion at 9.0 Å. and two diffuse bands around 5.5 Å. and 4.0 Å. This lack of agreement is, however, to be expected, for we know that the helix so far considered can only be the most important member of a series of coaxial helices of different radii; the non-phosphate parts of the molecule will lie on inner co-axial helices, and it can be shown that, whereas these will not appreciably influence the innermost maxima on the layer lines, they may have the effect of destroying or shifting both the equatorial maxima and the outer maxima on other layer lines.

Thus, if the structure is helical, we find that the phosphate groups or phosphorus atoms lie on a helix of diameter about 20 Å., and the sugar and base groups must accordingly be turned inwards towards the helical axis.

Considerations of density show, however, that a cylindrical repeat unit of height 34 Å. and diameter 20 Å. must contain many more than ten nucleotides.

Since structure *B* often exists in fibres with low water content, it seems that the density of the helical unit cannot differ greatly from that of dry sodium thymonucleate, 1.63 gm./cm.³ 1,5, the water in fibres of high water-content being situated outside the structural unit. On this basis we find that a cylinder of radius 10 Å. and height 34 Å. would contain thirty-two nucleotides. However, there might possibly be some slight inter-penetration of the cylindrical units in the dry state making their effective radius rather less. It is therefore difficult to decide, on the basis of density measurements alone, whether one repeating unit contains ten nucleotides on each of two or on each of three co-axial molecules. (If the effective radius were 8 Å. the cylinder would contain twenty nucleotides.) Two other arguments, however, make it highly probable that there are only two co-axial molecules.

First, a study of the Patterson function of structure *A*, using superposition methods, has indicated⁶ that there are only two chains passing through a primitive unit cell in this structure. Since the $A \rightleftharpoons B$ transformation is readily reversible, it seems very unlikely that the molecules would be grouped in threes in structure *B*. Secondly, from measurements on the X-ray diagram of structure *B* it can readily be shown that, whether the number of chains per unit is two or three, the chains are not equally spaced along the

fibre axis. For example, three equally spaced chains would mean that the n th layer line depended on J_{3n} , and would lead to a helix of diameter about 60 Å. This is many times larger than the primitive unit cell in structure *A*, and absurdly large in relation to the dimensions of nucleotides. Three unequally spaced chains, on the other hand, would be crystallographically non-equivalent, and this, again, seems unlikely. It therefore seems probable that there are only two co-axial molecules and that these are unequally spaced along the fibre axis.

Thus, while we do not attempt to offer a complete interpretation of the fibre-diagram of structure *B*, we may state the following conclusions. The structure is probably helical. The phosphate groups lie on the outside of the structural unit, on a helix of diameter about 20 Å. The structural unit probably consists of two co-axial molecules which are not equally spaced along the fibre axis, their mutual displacement being such as to account for the variation of observed intensities of the innermost maxima on the layer lines; if one molecule is displaced from the other by about three-eighths of the fibre-axis period, this would account for the absence of the fourth layer line maxima and the weakness of the sixth. Thus our general ideas are not inconsistent with the model proposed by Watson and Crick in the preceding communication.

The conclusion that the phosphate groups lie on the outside of the structural unit has been reached previously by quite other reasoning¹. Two principal lines of argument were invoked. The first derives from the work of Gulland and his collaborators⁷, who showed that even in aqueous solution the —CO and —NH₂ groups of the bases are inaccessible and cannot be titrated, whereas the phosphate groups are fully accessible. The second is based on our own observations¹ on the way in which the structural units in structures *A* and *B* are progressively separated by an excess of water, the process being a continuous one which leads to the formation first of a gel and ultimately to a solution. The hygroscopic part of the molecule may be presumed to lie in the phosphate groups ((C₂H₂O)₂PO₂Na and (C₃H₇O)₂PO₂Na are highly hygroscopic⁸), and the simplest explanation of the above process is that these groups lie on the outside of the structural units. Moreover, the ready availability of the phosphate groups for interaction with proteins can most easily be explained in this way.

We are grateful to Prof. J. T. Randall for his interest and to Drs. F. H. C. Crick, A. R. Stokes and M. H. F. Wilkins for discussion. One of us (R. E. F.) acknowledges the award of a Turner and Newall Fellowship.

ROSALIND E. FRANKLIN*
R. G. GOSLING

Wheatstone Physics Laboratory,
King's College, London.
April 2.

* Now at Birkbeck College Research Laboratories, 21 Torrington Square, London, W.C.1.

¹ Franklin, R. E., and Gosling, R. G. (in the press).

² Cochran, W., Crick, F. H. C., and Vand, V., *Acta Cryst.*, **5**, 501 (1952).

³ Pauling, L., Corey, R. B., and Branson, H. R., *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, **37**, 205 (1951).

⁴ Pauling, L., and Corey, R. B., *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, **39**, 84 (1953).

⁵ Astbury, W. T., Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol., **12**, 56 (1947).

⁶ Franklin, R. E., and Gosling, R. G. (to be published).

⁷ Gulland, J. M., and Jordan, D. O., Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol., **12**, 5 (1947).

⁸ Drushel, W. A., and Felty, A. R., *Chem. Zent.*, **89**, 1016 (1918).