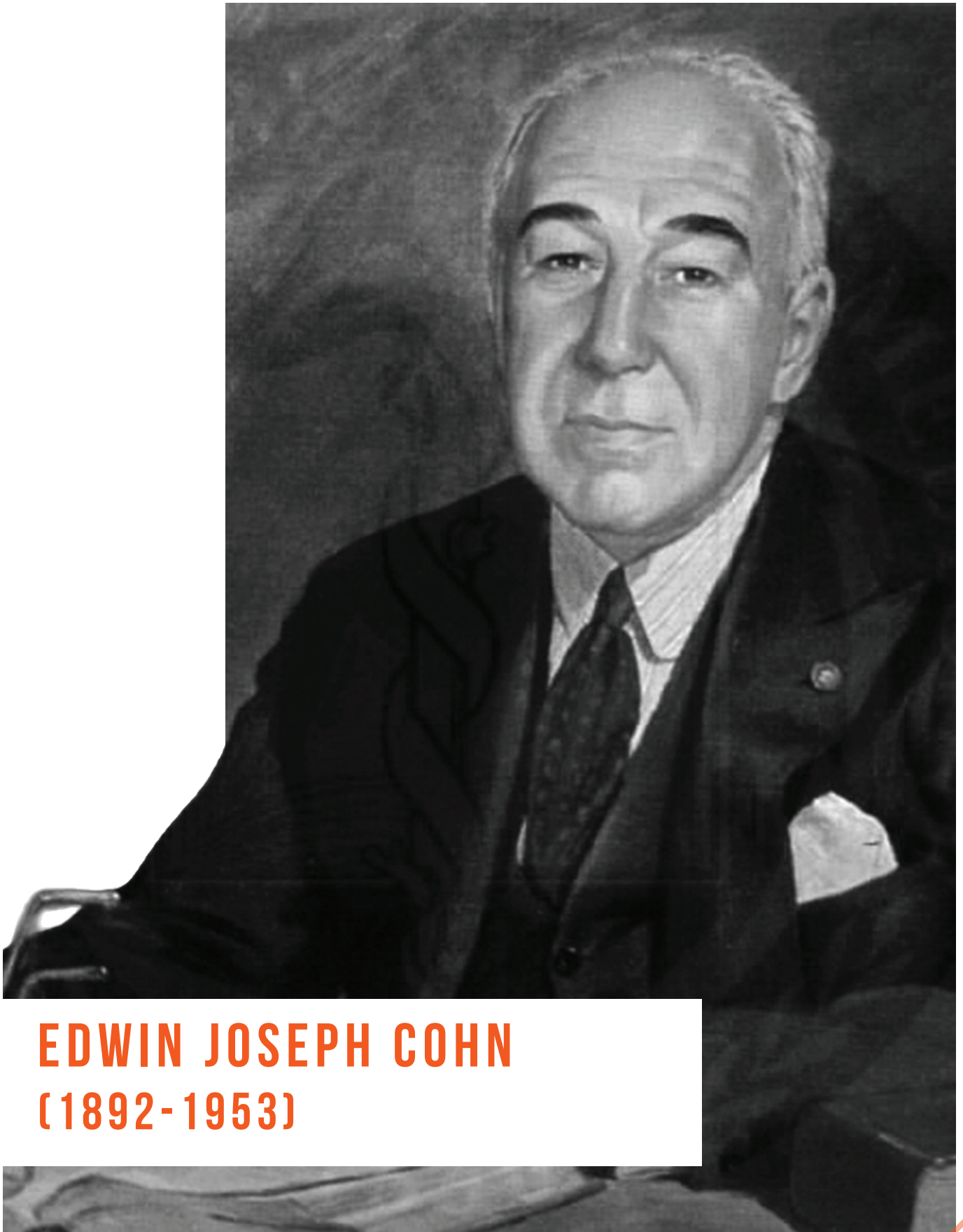




EDWIN JOSEPH COHN
(1892-1953)

Merve Çalışır ve Dr. Adil Denizli

Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Beytepe, Ankara

JOHN T. EDSALL TARAFINDAN YAZILMIŞ BİR BİYOGRAFİK ANI

EDWIN JOSEPH COHN, geniş ilgi alanlarına ve çeşitli yeteneklere sahip, son derece enerjik, güçlü ve kararlı bir kişiydi. Bilimsel kariyeri, tüm çeşitliliğine rağmen olağanüstü bir süreklilik sergilemiştir. 1917 civarında, doktora tezini tamamlarken, hayatını proteinlerin incelenmesine adanma kararı aldı. Bu amacını, proteinlerin yapıtaşları olan amino asitler ve peptitlerin fizikokimyası üzerine yoğunlaştığı yaklaşık on yıllık bir dönem dahil olmak üzere, hayatının geri kalanında ödünsüz bir şekilde takip etti. Bugün proteinler üzerine yapılan araştırmalar birçok araştırmacı için büyük ilgi konusu olsa da Cohn'un bu tür bir araştırmaya hayatını adanma kararı 1917 yılında o kadar şaşırtıcıdır. Ancak o dönemde, Emil Fischer, W.B. Hardy, John Mellanby, T.B. Osborne gibi birkaç seçkin araştırmacının önemli çalışmalarına rağmen, protein kimyacıları nadirdi. Svedberg'in ultra-santrifüjünün ilk modeli beş ya da altı yıl sonra ortaya çıkacaktı. Proteinlerin moleküler ağırlıkları son derece belirsizdi. Hatta bazı etkili bilim insanları, proteinlerin belirli moleküller olarak değil, kimyasal yapılarıyla pek ilgisi olmayan bir şekilde diğer moleküller ve iyonlarla fiziksel olarak absorpsiyon yoluyla etkileşime giren, biraz tanımsız kolloidal agregatlar olarak görülmesi gerektiğini savunuyordu.



Enzimlerin protein olabileceği görüşü gözden düşmüştü ve virüslerin nükleoprotein yapısı kavramının ortaya çıkmasına henüz yaklaşık yirmi yıl vardı. S.P.L. Sorensen, yumurta albümininin kimyası üzerine klasik çalışmalarını yeni tamamlamıştı. Jacques Loeb, bir savaşçı ruhuyla, proteinlerin fizikokimyanın yerleşik ilkeleriyle inceleyebileceği doktrinini savunarak dönemin kolloid kimyacılarıyla mücadele ediyordu.

Ancak o dönemin bilimsel atmosferinde, genç bir araştırmacının hayatını prote-

inlerin incelenmesine adanma kararı son derece sıra dışıydı; böyle bir karar cesaret, bağımsız düşünce ve büyük bir alanın keşfedilmeye hazır bir dizi önemli problemi seçme konusundaki içgüdüsel bir duygu gösteriyordu. Bir kez karar verdikten sonra, Cohn, proteinlerin incelenmesine kendine özgü olağanüstü enerji ve amaç yoğunluğuyla kendini adadı.

Cohn, 17 Aralık 1892'de New York'ta Abraham ve Maimie Einstein Cohn'un oğlu olarak dünyaya geldi. Abraham Cohn,

son derece başarılı ve zengin bir tütün tüccarıydı. Başlangıçta Sumatra'dan yaprak tütün ithalatıyla başlamış, daha sonra Amerika Birleşik Devletleri'nde bunu ilk yetiştirenlerden biri olmuştu. Tallahassee yakınlarındaki güneybatı Georgia'da geniş tütün plantasyonlarına sahipti, ancak çoğunlukla New York City'de yaşıyordu. Her yıl, genellikle ailesiyle birlikte, Amsterdam'daki Uluslararası Tütün Pazarı'na katılmak için Avrupa'ya seyahat ediyordu. Aile, bol miktarda maddi imkanlara sahipti. Seyahat, edebiyat ve sanatın keyfini çıkarma ve çeşitli entelektüel ilgi alanlarını geliştirme fırsatları fazlasıyla mevcuttu. Edwin Cohn, dört çocuğun en küçüğüydü; on üç yaş büyük ağabeyi Alfred E. Cohn, Rockefeller Enstitüsü'nde tıp bilimlerinde seçkin bir araştırmacıydı.

Edwin, Amherst College'daki ilk öğrencilik yıllarında edebiyat ve sanat çalışmalarına yoğunlaştı. Ancak üçüncü yılında bilimsel bir kariyere başlamak karar verdi. Ağabeyi Alfred ve Jacques Loeb'un tavsiyesi üzerine, Julius Stieglitz yönetiminde kimya ve R.A. Millikan yönetiminde fizik çalıştığı Chicago Üniversitesi'ne geçti; 1914 yılında B.S. ve 1917 yılında Ph.D. derecelerini aldı. Harvard Üniversitesi'nden Lawrence J. Henderson'ın ünlü kitabı "The Fitness of the Environment" üzerinde büyük bir etki bıraktı. Doktora için yaptığı çalışmaların büyük bir kısmı, Henderson ile Harvard ve Woods Hole'da, deniz suyunun fizikokimyası üzerineydi. Doktora tezinin diğer kısmı ise, Chicago Üniversitesi'nde F.R. Lillie'nin yönlendirmesinde, sperm hücrelerinin fizyolojisiyle ilgiliydi. Bu dönemde, proteinleri, canlı organizmalar için birincil öneme sahip maddeler olarak incelemeye hayatını adanma kararını verdi.

Henderson'ın teşvikiyle, Thomas B. Osborne ile çalışmak üzere New Haven'a gitti; Osborne, otuz yıl boyunca bitki proteinleri üzerine klasik çalışmalarını sürdürüyordu. Ancak Amerika'nın Birinci Dünya Savaşı'na girişi bu çalışmayı yarıda kesti ve Cohn, Harvard'a döndü. T.W. Richards'ın laboratuvarında, savaş sırasında buğday ununun yetersizliği nedeniyle patates ve diğer

kaynaklardan çeşitli unların kullanımı gibi bir konu olan ekmek yapımının fizikokimyası üzerine Henderson ile bir savaş zamanı projesine katıldı. George Scatchard, Cohn'un 1948'de Amerikan Kimya Derneği'nin Richards Madalyasını aldığı sırada bu çalışmayı şöyle tanımladı:

"Bu, ekmek yapımının ilk fizikokimyasal çalışması değildi. Daha az protein açısından zengin olan diğer tahıllar buğdayın yerine geçtiğinde meydana gelen değişikliklerin bilimsel bir incelemesi ve diğer kaynaklardan protein ilavesi önerisiydi. Bir yan çalışma, serumun kurutulmasıydı; bu, büyük ölçüde spesifikasyonların o kadar sıkı olmaması nedeniyle, geçen savaştaki kurutmaya kıyasla oldukça ilkel. Ancak sıcaklığı düşük tutmak için düşük basınç,

çözünen proteinlerin ısıya kısa süreli maruz kalması ve pH kontrolünü içeriyordu. Ayrıca sebze sularının izoelektrik noktalarının bu suların kurutulmasıyla ilişkisi üzerine bir çalışma yaptı..."

1917'de Edwin Cohn, seçkin bir New York jinekoloğunun kızı Marianne Brettauer ile evlendi. Marianne, kariyerinin özellikle ilk yıllarında olduğu gibi, kişisel ve aile yaşamında da çalışmaları için önemli bir rol oynadı. Biyokimya üzerine bir kurs aldı, laboratuvarında yardımcı oldu. İlk sekreteri olarak görev yaptı ve günün veya gecenin herhangi bir saatinde yazı yazmak için çağrılabilirdi. Onun anlayışı, zarafeti ve bağlılığı, Cohn'un yoğun, dürtüsel ve bazen patlayıcı karakterine denge ve sükûnet sağlamaya yardımcı oldu.

Savaş sona erdiğinde ve yeniden seyahat etmekte özgür olduklarında, Edwin ve Marianne Cohn birkaç ay boyunca Güney Amerika'yı ziyaret etti. Ardından, araştırmalarına ve proteinler üzerine temel çalışmalara geri döndü. Yeni kurulan Ulusal Araştırma Konseyi burslarından birini aldı ve 1919 yılının Eylül ayında yurtdışına gitti. Sonraki altı ay boyunca Kopenhag'da S.P.L. Sorensen ile çalıştı; bu dönem, onun bir bilim insanı olarak tüm gelecekteki gelişimi için kritik bir öneme sahipti.

Sorensen'in yumurta albümini üzerindeki çalışmaları, bu proteinin, moleküler ağırlığı yaklaşık 40.000 olan büyük bir molekül olmasına rağmen, klasik fizikokimya yasalarına uygun bir şekilde tanımlanabile-





ceğini göstermiştir. Çözeltilerinin ozmotik basıncı, belirli bir moleküler ağırlığa sahip bir maddeninkine karşılık geliyordu. Tuz çözeltilerindeki çözünürlüğü, tuz derişimi, sıcaklık ve çözeltinin pH'ı tanımlandığı sürece Gibbs'in faz kuralına uygunluk gösteriyordu. Sorensen ve birkaç meslektaşının yaklaşık altı yıl boyunca gerçekleştirdiği bu önemli çalışma, protein kimyası tarihinde bir dönüm noktasıydı. Bu çalışma, Edwin Cohn gibi genç araştırmacılara, proteinlerin belirli kimyasal maddeler olarak incelenebileceği ve karakterize edilebileceği konusunda güven verdi. Ancak protein moleküllerinin karmaşık ve kararsız yapılar olması nedeniyle, bunları saflaştırırken ve karakterize ederken son derece dikkatli olunması gerektiği anlaşıldı. Sorensen'in laboratuvarında proteinlerin çözünürlüğü ve asit-baz dengeleri üzerine

yapılan çalışmalar, Cohn'un önümüzdeki yıllarda yürüteceği araştırmalar için bir başlangıç noktası oluşturdu.

Kopenhag'daki çalışmaları, onun Avrupa'daki araştırmalarında en önemli olay olmasına rağmen, Cohn bir süre İsveç'te Arrhenius ile de çalıştı; Arrhenius, o sırada Immunochimistry adlı eserini yayınlamıştı. Ayrıca Cambridge'de W.B. Hardy ve Joseph Barcroft ile de birlikte çalıştı. 1920'de, L.J. Henderson'ın daveti üzerine, Harvard Tıp Fakültesi'nde yeni kurulan Fizikokimya Bölümü'nde lider bir rol üstlenmek üzere Amerika Birleşik Devletleri'ne döndü. Resmi olarak bölüm başkanı Henderson olmasına rağmen, Cohn'a bölümün yönetiminde son derece serbest bir el ve yüksek bir sorumluluk verildi.

Cohn'un Osborne ve Sorensen ile aldığı eğitimden kaynaklanan 1920'lerin başlarındaki çalışmaları, özellikle proteinlerin çözünürlüğü ile asit ve baz özellikleriyle ilgileniyordu-bunlar arasında kazein, zein ve serum globulinleri dikkat çekiyordu. 1920'de protein kimyagerlerini bekleyen sorunların doğasını anlamak için o dönemde proteinler hakkında genel bilgi durumuna göz atabiliriz. Emil Fischer'in önderliğinde bir dizi parlak araştırmacının çalışmaları, proteinlerin hidroliz sırasında yaklaşık 20 farklı amino aside parçalandığı biliniyordu. Bu amino asitlerin genel formülü $H_2N \cdot CHR \cdot COOH$ idi; burada R ile belirtilen grup, glisinde olduğu gibi hidrojen ya da yaklaşık yirmi diğer grubun herhangi birini temsil edebiliyordu. Ayrıca Fischer ve F. Hofmeister'in çalışmaları, proteinlerdeki bu amino asit kalıntılarının, $CONH$ tipi peptit bağlarıyla $H_2N \cdot CHR \cdot CO \cdot NHCHR \cdot CO \cdot NH \cdot CHR$ şeklinde daha az veya daha fazla uzatılmış zincirler oluşturduğunu büyük ölçüde olası kılmıştı. Bu sonuçlar bugün genel kabul görmüş olsa da o dönemde hala tartışmalıydı ve 1920 ile 1930 arasında diketopiperazin halkaları gibi proteinler için alternatif yapılar önerildi.

R ile gösterilen bazı grupların asidik olduğu biliniyordu; örneğin, serbest karboksil

gruplarına sahip aspartik ve glutamik asitler. Diğer bazı gruplar ise histidin, arginin ve lizin kalıntılarında olduğu gibi bazik gruplardı. Ancak birçok kolloid kimyacı, protein moleküllerinin taşıdığı elektrik yüklerinin, yalnızca içerdikleri bu tür kimyasal grupların sayısı ile açıklanamayacağını, belirsiz adsorpsiyon süreçleri yoluyla iyonların bağlanmasıyla yük kazanabileceklerini savunuyordu. Cohn, en başından beri proteinlerin asit ve bazlarla titrasyonunun, protein molekülündeki bu yan zincirlerdeki asidik ve bazik gruplar temel alınarak açıklanabileceğini ve adsorpsiyon hipotezinin gereksiz bir karışıklık yarattığını şiddetle savundu. Bu konudaki görüşleri o zamandan bu yana fazlasıyla doğrulandı ve bugün evrensel olarak kabul edilmektedir. Ancak yorumlamada bazı önemli iyileştirmeler yapılmıştır.

Proteinlerin asidik çözeltilerde pozitif, bazik çözeltilerde negatif yüklendiği anlaşıldı; W.B. Hardy'nin 1899'da ilk kez deneysel olarak bulduğu gibi, net yükün sıfır olduğu ve proteinin elektrik alanında hareket etmediği bir ara nokta, izoelektrik nokta bulunmalıdır. Bu izoelektrik noktanın pH değeri, proteinden proteine değişiklik gösteriyordu. Genel olarak proteinler, izoelektrik noktalarında veya bu noktanın yakınında en az çözünürlüğe sahipken, asit veya alkali eklendiğinde daha çözünür hale geliyordu. Proteinlerin büyük bir sınıfı olan globulinler, izoelektrik noktalarına yakın veya bu noktalarda bile çözeltiye, çözeltide nispeten küçük miktarlarda tuzlar eklenerek dahil edilebiliyordu. Örneğin, T.B. Osborne'un gösterdiği gibi, kenevir tohumundan elde edilen tipik bir globulin olan edestin, izoelektrik noktasında saf suda neredeyse tamamen çözünmezken, 0.2 ila 0.4 M gibi derişimlerdeki birçok tuz çözeltisinde kolayca çözünür hale gelir. Çözeltideki tuz derişimi daha da arttıkça, bir globulinin çözünürlüğü maksimum bir değerden geçer ve daha yüksek tuz derişimlerinde hızla azalır. Bu son çözünürlük azalması, "tuzla çöktürme" etkisi olarak bilinir ve 19. yüzyılın ortalarından beri bilinmektedir. Bu yöntem, karışım içindeki bir proteini diğerinden ayırmak için uzun süre



kullanılmıştır. Çünkü tuzla çöktürme etkisinin büyüklüğü proteinden proteine büyük ölçüde değişiklik gösterir.

Proteinlerin bir diğer büyük sınıfı olan albüminler (örneğin serum albümini ve yumurta albümini), saf suda ve seyreltilmiş tuz çözeltilerinde son derece çözünürdür, ancak globulinler gibi çok yüksek tuz derişimlerinde çöktürülebilir. Bu protein sınıflarının tümü, genellikle diğer herhangi bir çözücüye kıyasla sulu ortamlarda çok daha çözünürdür; alkol, aseton veya eter gibi organik sıvıların eklenmesi güçlü bir çöktürme etkisine sahiptir ve bu işlem genellikle "denatürasyon" olarak bilinen, protein molekülünün bir değişikliğine yol açar, ardından genellikle koagülasyon gelir.

Proteinlerin bir sınıfı olan prolamınler (örneğin mısırdaki zein veya buğdaydaki gliadin), saf alkol veya saf sudan ziyade

bir alkol-su karışımında çözünür. Cohn'un 1920 sonrasındaki yıllarda yaptığı araştırmalar, tuzların veya organik çözücülerin eklenmesiyle yukarıda açıklanan çözünürlük değişimlerinin doğasını açıklığa kavuşturmaya yönelikti. Sorensen'in önemli çalışması, yumurta albümininin çözünürlüğünün, sabit sıcaklık, pH ve tuz derişimine sahip sistemlerde faz kuralı terimleriyle tanımlanabileceğini ve dolayısıyla proteinlerin belirli kimyasal bileşikler olarak görülebileceğini göstererek bu soruna rasyonel bir yaklaşım için yolu açmıştı. Sorensen'in çözünürlük verilerini kullanarak Cohn, 1925 yılında birçok proteinin tuzla çöktürülmesinin, daha önce birçok basit gaz veya organik molekülün tuzla çöktürülmesini tanımlamak için kullanılan bilinen bir doğrusal denklemle açıklanabileceğini gösterdi.

Bu formül, çözünürlüğün (SS) logaritması iyonik güç (μ) ile ilişkilendirir. Burada

katsayısı, yüksek iyonik güçlerdeki çözünürlük verilerinin $\mu=0$ 'a doğru geri ekstrapolasyonu ile elde edilen sıfır iyonik güçteki "ideal" sınırlayıcı çözünürlüğün logaritmasını temsil eder:

$$\log S = -K_s \mu + \beta$$

K_s katsayısı, tuzla çöktürme sabitini ifade eder ve belirli bir protein ve tuz için karakteristiktir; bu katsayının pH ve sıcaklıktan bağımsız olduğu görülürken, bu değişkenlerin her ikisinin de bir fonksiyonudur. O zamandan beri birçok araştırmacı bu denklemi proteinlerin tuzla çöktürülmesini tanımlamak için kullanmıştır.

Cohn'un laboratuvarında yapılan daha ileri çalışmalar-özellikle 1930'da M. Florkin'in fibrinojen üzerinde ve 1931-1932'de A.A. Green'in at hemoglobini üzerinde yaptığı kapsamlı çalışmalar-proteinlerin tuzla çöktürülmesi konusundaki bilgiyi büyük

ölçüde genişletti ve tuzla çöktürme etkisinin pH, sıcaklık, kullanılan tuz ve protein türüne bağlı olarak nasıl değiştiğini tanımladı.

Ancak Cohn'u proteinlerin çözünürlüğü üzerindeki çalışmalarında daha fazla ilgilendiren, düşük iyonik güçteki çözeltilerde gözlemlenen globulinlerin "tuzla çözünmesi" (salting-in) etkisiydi. Bu etki, 1905 yılında yayımlanan klasik bir makalede, bir tuzun çözücü etkisinin iyonlarının değerliklerinin karelerinin toplamı ile orantılı olduğunu öne süren John Mellanby tarafından İngiltere'de incelenmişti. Mellanby'nin ifadesi, 1921'de G.N. Lewis tarafından açıkça formüle edilen iyonik güç ilkesinin özel bir biçimiydi. Bir iyonun aktivite katsayısının (γ_i) logaritmasının, iyonun değerinin karesi ve iyonik gücün karekökü ile orantılı olduğu bulunmuştu:

$$-\log \gamma_i = \text{const.} \cdot z_i^2 \mu$$

1923'te Debye ve Huckel'in iyonlar arası çekim teorisi, iyonik güç kavramına teorik bir temel sağladı. Bu denklemin sabiti hesaplandı ve ortamın dielektrik sabiti, sıcaklık ve bazı evrensel fiziksel sabitlerin bir fonksiyonu olduğu gösterildi. Cohn, bu kavramların proteinlerin çözünürlüğünün anlaşılmasında büyük potansiyel önemini fark etti. Çünkü proteinler çok yüksek değerlikli iyonlar oluşturabilir ve bunların aktivite katsayıları denkleme göre iyonik güçteki değişimlere son derece duyarlı olmalıdır. Çözünürlük, aktivite katsayısıyla ters orantılı olarak değiştiğinden, $\log \gamma_i$ 'deki bir azalma, çözünürlüğün ($\log S$) logaritmasında buna karşılık gelen bir artış olarak yansır.

Ancak globulinlerin tuzla çözünmesi, protein izoelektrik noktasında olduğunda bile dikkat çekici bir özelliktir. Bu durum, Debye-Huckel teorisinin basit formuyla açıklanamaz, ancak amino asitlerin yapısı üze-

rine iki önemli çalışmadan ipuçları elde edilebilir. E.Q. Adams (1916) ve N. Bjerrum (1923) klasik formülle ($\text{H}_2\text{N}-\text{CHR}-\text{COOH}$ - $2\text{N}-\text{CHR}-\text{COOH}$) temsil edilen bir izoelektrik amino asidin doğru yapısının dipolar iyon (zwitter-iyon) yapısıyla gösterilmesi gerektiğini öne sürdüler:

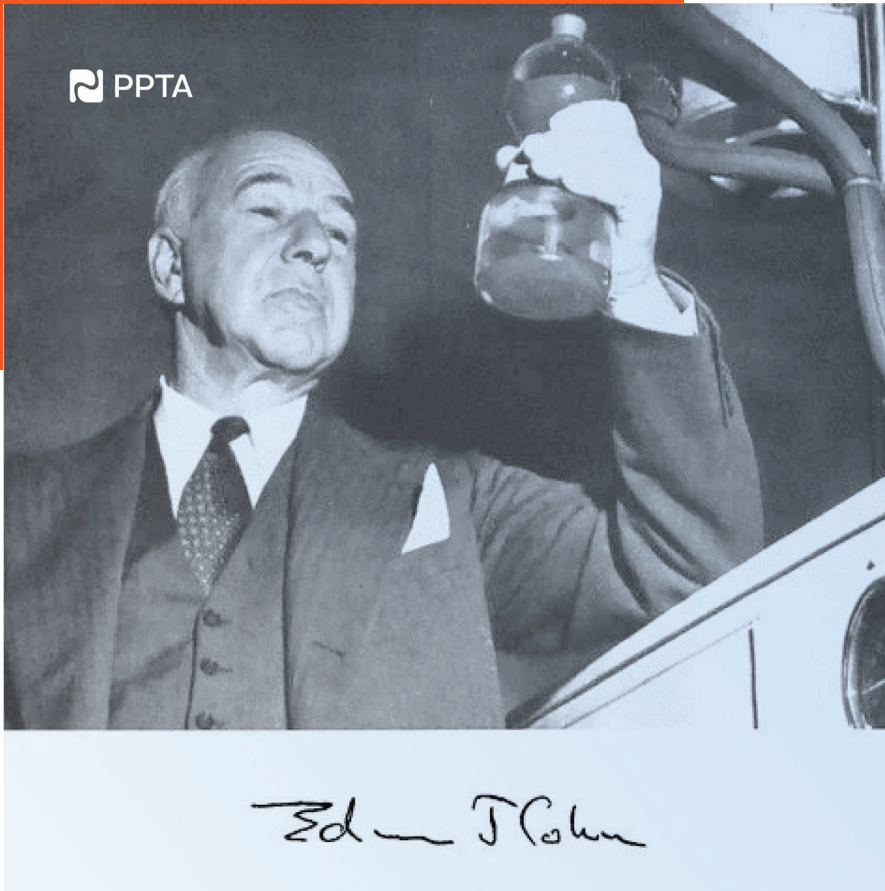


Adams ve Bjerrum, bu sonuca yönelik ikna edici bulgular sundular; bunlar öncelikle amino asitlerin ayrışma sabitlerinin, karboksilik asitler ve aminler gibi ilişkili bileşiklerinkilerle karşılaştırılmasını içeriyordu. Ayrıca amino asitlerin çok yüksek erime noktaları, dipolar iyonların pozitif ve negatif yüklü grupları arasındaki elektrotatik kuvvetlerle açıklanabilecek yüksek kristal örgü enerjilerine işaret ediyordu.

Dipolar bir iyonun net yükü sıfırdır, bu nedenle bir elektrik alanında hareket etmez. Ancak bu iyonlar yüksek elektrik momentli dipoller olmalı ve bireysel yüklü gruplar, yakın komşu moleküller ve iyonlarla etkileşimde bulunacak kadar ayrı olmalıdır. Bu gerçekler bugün açık ve temel gibi görünse de, Bjerrum'un klasik makalesinden hemen sonra bu alanın çoğu çalışması için apaçık bir çıkarım değildi.

Cohn, iyonların dipolar iyon çözeltilerine eklenmesinin, iyonik çekimlere benzer şekilde aktivite katsayısını düşürebileceğini ve çözünürlüğü artırabileceğini öngördü. Bu tür bir etki, izoelektrik noktasında çok sayıda pozitif ve negatif yüklü gruplar içeren bir protein molekülü için büyük ölçüde büyütülerek, seyreltilmiş tuz çözeltilerinin globulinler üzerindeki güçlü çözücü etkisini açıklayabilirdi.

Bu fikir niteliksel olarak çekici olsa da, Cohn bunun proteinler gibi karmaşık moleküller üzerinde kesin bir şekilde test edilmesinin zor olduğunu fark etti. Bu nedenle, yaklaşık 1928'de, bilinen yapıya sahip basit amino asitler ve peptitlerin özelliklerini, tuz çözeltileri ve değişen polariteye sahip organik çözücülerle etkileşimlerini incelemeye başladı. Sonraki



yaklaşık on yıl boyunca bu daha küçük moleküllerle ilgilendi ve çözmek istediği birçok sorunu ilgili kapsamlı bilgiler edindi.

Ancak, 1926'dan itibaren enerjisinin büyük bir kısmı, Minot ve Murphy'nin zararlı kansızlık (pernisiyöz anemi) için karaciğer tedavisini keşfetmesinin ardından başka bir yöne kaydı. Cohn, aktif bileşeni karaciğerden ayırmayı üstlendi ve birkaç iş birliğiyle yıllarca bu çalışmayı sürdürdü. Pratik açıdan sonuç büyük bir zaferdi; Cohn'un yöntemleriyle hazırlanan karaciğer özü, zararlı kansızlığın tedavisinde tam karaciğerin yerini aldı. Ancak aktif bileşenin tamamen saflaştırılması başarmadı ve bu madde (şimdi bilinen adıyla kobalamin veya B12 vitamini) ancak yaklaşık yirmi yıl sonra başka araştırmacılar tarafından saf halde elde edildi. Cohn, bu araştırmanın sonuçlarından tam anlamıyla memnun olmamasına rağmen, klinisyenler ve biyolojik ürünlerle ilgilenen endüstrilerle iş birliği yapma konusunda önemli deneyimler kazandı.

Ağustos 1929'da, Boston'da düzenlenen ilk Uluslararası Fizyolojik Kongre olan On Üçüncü Uluslararası Fizyolojik Kongre'ye ev sahipliği yaptı. Edwin ve Marianne Cohn, Harvard Tıp Fakültesi Fizyoloji Bölümü'nden arkadaşları Alfred C. Redfield ile, Kongre'nin düzenlenmesi ve hazırlanması için etkili bir şekilde büyük bir çalışma üstlendiler. Diğer birçok etkinliğin yanı sıra, dünya fizyologlarının bir kart dizinini hazırladılar. Bu dizin, gerekli revizyonlarla hâlâ kullanılmaktadır. Bu faaliyetler, proteinler, amino asitler ve peptitler üzerine yapılan araştırmaların ilerlemesini hiçbir zaman kesintiye uğratmadı; bu çalışmalara giderek daha fazla sayıda araştırmacı dahil oldu. Bu kişiler arasında Cohn'un laboratuvarında T.L. McMeekin, J.P. Greenstein, Harvard Biyolojik Laboratuvarları'ndan J. Wyman, ve Massachusetts Teknoloji Enstitüsü'nden George Scatchard ve John G. Kirkwood bulunuyordu. Wyman ve McMeekin'in amino asitler ve peptitlerin çözeltilerindeki son derece yüksek dielektrik sabitleri üzerine yaptıkları çalışmalar, bu maddelerin çoğu polar organik bileşikler

çok daha yüksek dipol momentlere sahip olduğunu ve bu momentlerin pozitif ve negatif yüklü grupları ayıran atom sayısı arttıkça büyüdüğünü açıkça ortaya koydu. Scatchard ve Kirkwood, bu son derece polar moleküllerin termodinamik özellikleri için ilk teorik modeli geliştirdiler; Kirkwood daha sonra bu modeli ayrıntılandırdı. Greenstein ve McMeekin, yapı ile fiziksel özellikler arasındaki ilişkileri keşfetmek için kullanılabilecek geniş bir amino asit, peptit ve diğer organik bileşikler dizisi sentezledi.

Edwin Cohn, bu araştırmacılarla yakın bir ilişki içindeydi ve değişen dielektrik sabitleri ve iyonik güce sahip ortamlar üzerindeki çözünürlük çalışmalarıyla büyük bir enerjiyle ilgilendi. Karakteristik olarak, organik veya teorik fizikokimya konusunda daha derin bilgiye sahip diğerlerinin uzmanlık ve becerilerinden yararlandı. Yukarıda bahsedilen araştırmacı grubu, fikir alışverişiyle birbirlerini teşvik eden, ancak kendi araştırma hatlarını özgürce takip eden esnek bir bireyler grubuydu.

Proteinler gibi amino asitlerin de suda çok çözünür ve daha düşük dielektrik sabitine sahip organik ortamlarda nispeten çözünmez olduğu uzun zamandır bilinmekteydi. Örneğin glisin, etanolden yaklaşık 2.000 kat daha fazla suda çözünürken, bir CH₂ grubu daha içeren α-alanin, suda yaklaşık 700 kat daha çözünürdür. Ancak Cohn'un laboratuvarında çözünürlüğün yapı ile ilişkisini sistematik olarak inceleyen bir araştırma başlatıldı. Kalitatif olarak, amino asitlerin ve peptitlerin sudaki yüksek çözünürlüğü ile polar olmayan ortamlardaki çözünmezliği, dipolar iyon yapılarının doğal bir sonucu olarak açıkça görülüyordu. Scatchard ve Kirkwood, farklı dielektrik sabitlerine sahip ortamlarda bu maddelerin davranışlarını açıklamak için bazı geçici modeller önerdi. Aynı zamanda birçok düzenlilik ampirik olarak keşfedildi. Örneğin, bir homolog amino asit serisine her eklenen CH₂ grubu, su/alkol çözünürlük oranını yaklaşık 3 kat azaltıyordu. Yukarıda glisin ve -alanin için verilen değerler, bunun basit bir örneğidir. Moleküle diğer

grup türlerinin eklenmesinin etkilerini tanımlamak için de benzer faktörler bulunmuş ve organik moleküllerin büyük sınıflarının su ve organik çözücülerdeki göreceli çözünürlüğünü yaklaşık olarak tahmin etmeyi mümkün kılan sistematik bir ampirik ilişkiler dizisi geliştirilmiştir.

Teorik olarak daha doğrudan tahmin edilebilir olan, farklı dielektrik sabitlerine sahip ortamlarda iyonik gücün dipolar iyonların çözünürlüğü üzerindeki etkisinin hesaplanmasıydı. Kirkwood'un teorik analizi, düşük iyonik güçlerde sınırlayıcı formda şu şekilde yazılabilen bir denklemle sonuçlandı:

$$\lim_{\mu \rightarrow 0} \log(S/S_0) = KR(Dw/D)2\mu$$

Burada S₀ sıfır iyonik güçte, dielektrik sabiti D olan bir ortamda çözünürlük; S, iyonik gücün μ olduğu çözünürlük; Dw, standart ortam olarak alınan suyun dielektrik sabiti; ve KR dipolar iyonun dipol momentinin bir fonksiyonu olan tuzla çözünme katsayısıdır. Kirkwood'un denklemi, $\log(S/S_0)$ 'nin düşük iyonik güçlerde iyonik gücün lineer bir fonksiyonu olması gerektiğini ve farklı dielektrik sabitlerine sahip ortamlarda, $d\log(S/S_0)/d\mu$ katsayısının ortamın dielektrik sabitinin karesi ile ters orantılı olarak değişmesi gerektiğini öngörmektedir. Ancak bu yalnızca bir sınırlayıcı denklem olup, yüksek dielektrik sabitine sahip çözücülerde önemli hale gelen tuzla çöktürme etkilerini göz ardı eder.

Teorik öngörüler, Cohn ve McMeekin tarafından glisinin çözünürlüğünün farklı iyonik güçlerde ve geniş ölçüde değişen dielektrik sabitine sahip bir dizi alkol-su karışımında incelenmesiyle etkileyici bir şekilde doğrulandı. Çözücünün dielektrik sabiti, çözücüdeki alkol oranı artırılarak azaltıldıkça S₀ hızla azaldı; ancak eklenen tuzun çözücü etkisi, dielektrik sabit D azaldıkça arttı ve $\log(S/S_0)$ 'nin D₂ ile ters orantılı olması gerektiğini öngören denklem (3) ile tutarlı bir şekilde hareket ettiği gözlemlendi. Ayrıca, glisinin dipol momenti, Kirkwood'un teorisi ile KR katsayısından belirlenmiş olup yaklaşık 15 Debye birimine çok yakın bulundu; bu, glisin mole-

külünün boyutları ve amino ile karboksil grupları arasındaki yaklaşık 3 Å'lık beklenen yük ayrılığı ile mükemmel bir uyum içindeydi.

Farklı dipol momentlere sahip bir dizi amino asit ve peptitin incelenmesi, KR'nin bu tür bir seride dipol momentin yaklaşık olarak doğrusal bir fonksiyonu olduğunu gösterdi-bu, yüklerin eksende bulunduğu elipsoidal dipolar iyonlar için Kirkwood'un teorisiyle mükemmel bir uyum içindedir.

Cohn, McMeekin ve Blanchard, iki pozitif ve iki negatif yüke sahip olan izoelektrik molekül formundaki amino asit sistein üzerinde dikkate değer bir ölçümler serisi gerçekleştirdi. Sisteinin çözünürlüğü, sulu çözeltilerde bile çok düşüktür ve düşük dielektrik sabitine sahip ortamlarda daha da düşer. Sulu çözeltilerde sistein, düşük iyonik güçte tuzların ilavesiyle hızla daha çözünebilir hale gelir; daha yüksek iyonik güçlerde çözünürlük bir maksimumdan geçer ve çok yüksek iyonik güçlerde (örneğin amonyum sülfat gibi tuzlarda) belirgin bir tuzla çöktürme etkisi gözlenir. Çözünürlük eğrisi genel olarak bir proteininkine (örneğin globulinlere) benzer; tuzla çözünme ve tuzla çöktürme etkileri proteinlere kıyasla çok daha küçüktür, ancak eğrinin genel formu bir proteininkine çarpıcı bir şekilde benzerdir.

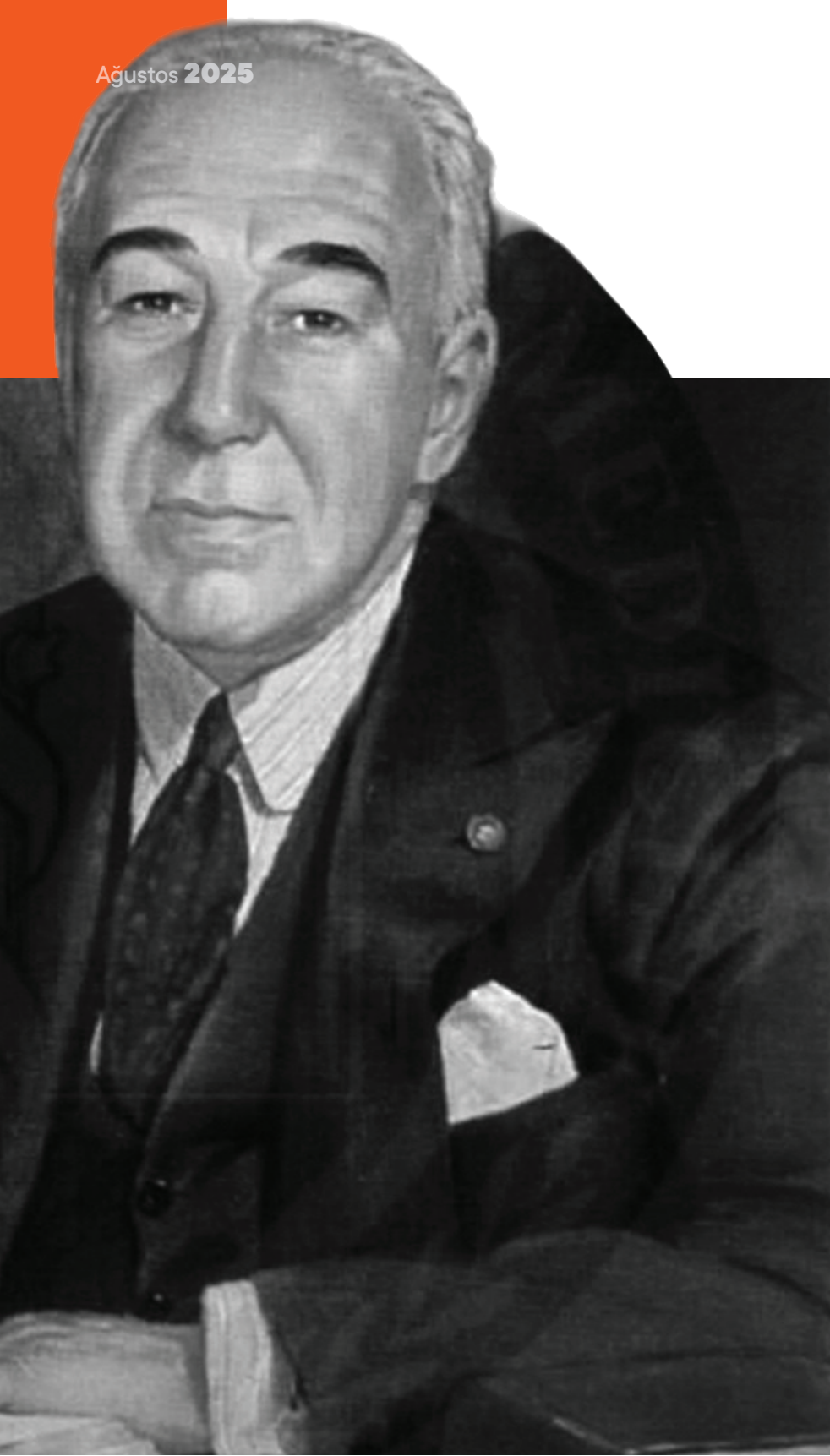
Ayrıca Cohn ve McMeekin, sisteini yalnızca düşük dielektrik sabitine sahip etanol-su karışımlarında değil, dielektrik sabiti 145'e kadar çıkan diğer amino asit çözeltilerinde de incelediler. Tüm aralık boyunca, tuz bulunmayan ortamlarda sisteinin çözünürlüğü, ortamın dielektrik sabiti arttıkça yükseldi; ancak eklenen tuzun çözücü etkisi, dielektrik sabiti arttıkça daha küçük hale geldi.

Proteinlerin davranışlarıyla ilgili benzerlikler dikkat çekici ve aydınlatıcıydı. İlk olarak 1933'te keşfedilen önemli bir bulgu, amino asitlerin görünür molal hacimlerinin - yani bir çözeltiliye eklenen amino asit başına düşen hacim artışının - izomerik, yüksüz maddelere göre belirgin şekilde daha düşük olduğuydu. Bu fark, bir -amino asit için mol başına yaklaşık 13 cm³, pozitif ve



negatif yüklü gruplar arasında geniş bir ayırım bulunan bir dipolar iyon için ise mol başına 20 cm³ kadar büyük olabiliyordu. Bu etkinin, dipolar iyonun yüklü gruplarının çözücü su molekülleri üzerinde yarattığı elektrostriksiyon sonucunda oluştuğu kısa sürede anlaşıldı. Bu çalışma, F.T. Gu-

ker ve diğerlerinin dipolar iyon çözeltilerinin alışılmadık derecede düşük görünür molal ısı kapasitesi ve sıkıştırılabilirliği üzerine daha ileri araştırmaları teşvik etti. Bu çalışmalar, bu alışılmadık özelliklerin de elektrostriksiyon etkilerinden kaynaklandığına dair kesin kanıtlar sağladı.



Raman spektrumları üzerine yapılan çalışmalar, bu bileşiklerin dipolar iyon yapısına dair daha açık kanıtlar sundu.

1936'da J.L. Oncley, laboratuvara katıldığına ve protein çözeltilerinin dielektrik sabitlerini incelemek için güçlü bir yöntem geliştirdiğinde, proteinlerinde, beklendi-

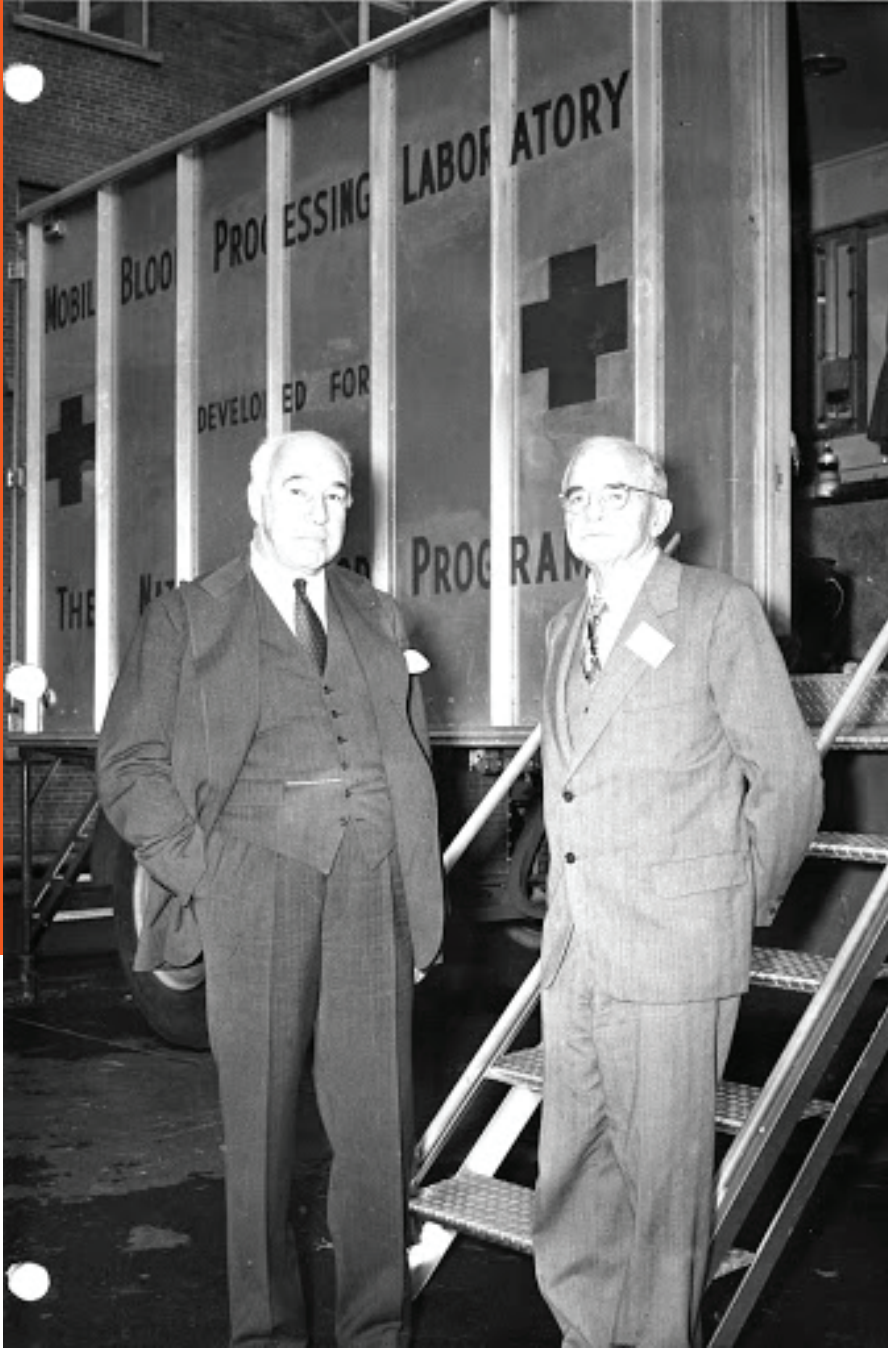
ği gibi, çok yüksek bir büyüklükte dipol momentlere sahip olduğu açıkça görüldü. Böylece Bjerrum'un dipolar iyon hipotezinin, amino asitler, peptitler ve proteinlerin neredeyse her fiziksel özelliği için geniş kapsamlı sonuçlara sahip olduğu yavaş yavaş kabul edildi. Bu alanın tama-

mı, 1943'te yayımlanan "Proteins, Amino Acids and Peptides" adlı monografide incelendi.

Cohn ailesi, Cambridge'deki ilk yıllarında Ash Street'te bir evde yaşıyordu, ancak 1930 civarında 183 Brattle Street'teki daha büyük bir eve taşındılar ve hayatlarının geri kalanında burada ikamet ettiler. Edwin ve Marianne Cohn, insanlara ve fikirlere geniş bir ilgi duyuyorlardı ve evlerindeki akşam yemeklerinde sürekli bir arkadaş ve ziyaretçi akışı olurdu. Sohbetler, politika, edebiyat, sanat, tarih ve bilim gibi geniş bir yelpazeye yayılırdı. İkinci Dünya Savaşı öncesindeki bu yıllarda Edwin Cohn, bu toplantılarda neşeli ve mizah doluydu. Çeşitli konularda keskin, nüfuz edici ve sıklıkla tartışmalı fikirleri olan parlak bir sohbet ustasıydı. Örneğin, üniversitelerin hem tarih boyunca hem de günümüzdeki işlevleri üzerine geniş çapta okumuş ve derinlemesine düşünmüştü. Sanat ve mimarlık konusundaki bilgisi olağanüstüydü; örneğin, bir öğle yemeğinde Fransa'daki en iyi Romanesk kiliselerin yerlerini bir kartın arkasına yazabilir ve bunlardan herhangi birini ayrıntılı bir şekilde tanımlayabilirdi. İtalyan sanatı ve mimarlığı konusundaki bilgisi de benzer bir düzeydeydi. Enerjisi, açık sözlülüğü ve yoğun duygularıyla bazen konuşmayı domine etme eğilimindeydi, ancak evinde yapılan tartışmalar asla sıkıcı olmazdı.

Evdeki sorumluluklarına dair net ve belirgin fikirlere sahipti ve bu sorumlulukların nerede sona erdiğini iyi bilirdi. Örneğin, bir sabah kahvaltı sona ererken, hizmetçi banyodaki bir borunun patladığını ve suyun her yere sıçradığını haber verdiğinde, Cohn ayağa kalktı, "Bu benim işim değil," dedi, şapkasını ve paltosunu alıp laboratuvara gitti.

1931 civarında, Cohn'un kişisel hayatında ciddi bir kriz ortaya çıktı. Doktoru, tansiyonunun tehlikeli derecede yüksek olduğunu tespit etti. Ayrıca, alerjik türde olduğu düşünülen, aniden ve sık sık ortaya çıkan, bazen korkutucu ödem atakları



geliştirdi. Bu ataklar, her yere yanında taşıdığı adrenalin enjeksiyonlarıyla kontrol edilebiliyordu. Doktorlar durumunu son derece ciddiye aldı ve ona nispeten sakin bir yaşam sürmesini ve çoğu sorumluluğunu bırakmasını şiddetle tavsiye etti. Cohn, laboratuvar başkanlığı görevinden daha önce planladığı bir yıl izin aldı ve 1931-1932 yıllarında Marianne Cohn ve iki küçük oğlu Edwin Jr. ve Alfred ile yurtdışına gitti. O dönemdeki doktoru Joseph C. Aub, ödem ataklarına neden olduğu düşünülen

balık ve yumurtadan kaçınmasını tavsiye etti. Ancak Cohn, hiçbir zaman çok uyumlu bir hasta olmadı ve iyi yaşamaktan keyif alıyordu. Atlantik yolculuğu sırasında oldukça iyi bir yemek yedikten sonra Dr. Aub'a kabloyla şu mesajı gönderdi: "Balık eksi, yumurta eksi eşittir havyar artı!" Bu tür taktikler, doktorlarını çaresiz bırakıyordu, belki de suskun hale getiriyordu.

Yine de, Avrupa'daki bu yıl genel olarak mutlu ve hareketli geçti. Çocuklarla birlik-

te Yunanistan'ı ziyaret ettikleri ve Münih'te birkaç ay geçirdikleri bir dönem vardı. Burada, Alman ve Amerikalı arkadaşlarıyla eğlenceli zamanlar geçirdiler, dağlarda kayak yaptılar ve ilerideki araştırmaları için fikirler geliştirdiler. Eylül 1932'de, yakın arkadaşı Alexander von Muralt ile birlikte, İtalya'yı yavaş bir yolculukla geçerek Roma'daki On Dördüncü Uluslararası Fizyoloji Kongresi'ne katıldılar.

1932 bahar ve yaz aylarında Münih'te yaşam hala keyifli olabilse de, Almanya kasvetliydi ve Weimar Cumhuriyeti, çöküşünün son sancılarını yaşıyordu. Cohn, olayların ilerleyişini derin bir endişeyle izledi. Boston'a döndüğünde, Cumhuriyet'in mahkûm olduğunu düşünüyordu, ancak Nazilerin iktidara gelmeyeceğine inanıyordu. Bu umut kısa sürede paramparça oldu ve sonraki yıllardaki olayları derin bir dehşet ve öfke duygusuyla, yaklaşan genel bir savaşın kaçınılmazlığına dair artan bir inançla izledi.

Ancak bu endişeler, yoğun araştırma faaliyetlerinden sapmasına neden olmadı. Bu dönem, Harvard'daki görevinden izin aldığı tek zamandı ve tıbbi tavsiyelere rağmen faaliyetlerine tam yoğunlukla devam etme kararıyla geri döndü. Bu karardan asla vazgeçmedi ve savaş yıllarında ve sonrasında işine neredeyse ezici bir enerjiyle kendini adadı. Daha sakin bir yaşam seçmiş olsaydı muhtemelen daha uzun yaşayabilirdi, ancak böyle bir karar, doğasıyla tamamen uyumsuz olurdu.

1938 civarında, laboratuvar yoğun bir şekilde proteinler üzerine çalışmaya geri döndü; amino asitler ve peptitler üzerindeki çalışmalar büyük ölçüde ilk hedeflerine ulaşmıştı. Proteinlerin karakterizasyonu için güçlü fiziksel yöntemler, esas olarak Svedberg'in ultrasantrifüjünün geliştirilmesi ve Tiselius tarafından elektroforez çalışmaları için geliştirilen tekniklerdeki muazzam ilerlemeler sayesinde kullanılabilir hale geldi.

Amino asitler ve peptitlerin etanol-su karışımlarındaki çözünürlük çalışmaları, pro-

teinlerin seçici çöktürülmesi için etanol gibi organik reaktiflerin kullanımını vurgulamıştı. Kan plazması proteinlerinin fraksiyonlanması üzerine sistematik bir çalışma iki hat üzerinde başlatıldı: Bir fraksiyonlama sistemi, klasik amonyum sülfat çöktürme tekniklerini yakından takip ederken, diğeri düşük sıcaklıklarda etanol ile fraksiyonlama yöntemini kullanıyordu. Gerçekten, etanol fraksiyonlaması daha önce birkaç protein kimyacı tarafından protein karışımlarının belirli bileşenlerini ayırmak için kullanılmıştı. Ancak Cohn'un öngördüğü şey, kan plazması gibi bir sistemde bulunan karmaşık bileşen karışımının mümkün olduğu kadar çok sayıda saf formda ayrıldığı bir protein fraksiyonlama sistemiydi. Ayrıca, bu tür bir sistemin etkili olabilmesi için, sürecin her aşamasında özellikle pH, sıcaklık, protein derişimi, etanol derişimi ve iyonik gücün kontrolünü içermesi gerektiğini fark etti. Ayrılan fraksiyonlar, ultrasantrifüjü, elektroforez, çeşitli kimyasal analiz türleri ve ilgili fraksiyonlar için uygun görülen diğer tüm yöntemlerle karakterize edilmeliydi. Etanol fraksiyonlama sisteminde ayrıca, protein denatürasyonu riskini en aza indirmek için sıcaklık düşük tutulmalıydı.

Cohn'un bu tür çalışmaları 1938 veya 1939'da öngördüğü ve McMeekin, Oncley ve diğerleriyle birlikte plazma fraksiyonlaması üzerine iki önemli makalenin 1940'ta yayımlandığı görülmektedir. 1941'de "Plazma Proteinlerinin Özellikleri ve Fonksiyonları ve Ayrılma ve Saflaştırma Yöntemleri Üzerine Bir Değerlendirme" başlıklı önemli bir derleme yayımladı (Chem. Rev. 28:395). Bu gelişmelerin hızı, İkinci Dünya Savaşı'nın patlak vermesi ve Amerika'nın savaşa katılma olasılığıyla büyük ölçüde hızlandı. Protein çözeltilerinin çok düşük sıcaklıklara hızla dondurulması ve ardından vakum altında dondurulmuş halde kurutulması tekniği, proteinlerin büyük miktarlarda kurutulmasını ve suyun basitçe ilavesiyle esasen denatüre olmadan yeniden çözünmesini sağlayacak şekilde yeni geliştirilmişti. Klinik kullanım için kurutulmuş kan plazmasının büyük ölçekli hazırlıkları ticari olarak zaten üretilmekteydi.

Kan nakli için malzeme sağlama sorunu, 1940'ta Ulusal Araştırma Konseyi tarafından acil bir ihtiyaç olarak tanındı. O dönemde, çok halindeki hastaların tedavisi için plazma genişletici olarak kullanılacak saflaştırılmış sığır albümininin hazırlanabileceğine dair büyük bir umut vardı. Cohn, sığır albümini üzerinde çalışmayı memnuniyetle kabul etti. Ancak bunun insanlarda güvenli olmayabileceğini de vurguladı; bu nedenle, insan plazmasının fraksiyonlanması ve insan albümininin bir nakil ajanı olarak hazırlanmasına yönelik eşzamanlı çalışmalar yürütülmeliydi. Bu önerilerin kabul edilmesi şanslı bir durumdu, çünkü sığır albümini üzerine yapılan kapsamlı çalışmalar, kimyasal açıdan büyük ilgi çekici ve yüksek saflıkta bir materyal sağlasa da, insanlarda nakil için her zaman güvenli olduğu kanıtlanabilecek bir hazırlık yoktu. Ancak insan plazmasının fraksiyonlanması kararlılıkla devam etti ve büyük boyutlarda bir girişim haline geldi.

Cohn, en başından itibaren kan plazmasının, her biri kendine özgü bir işleve sahip birçok protein bileşeni içeren bir sistem olduğunu ve spesifik bir plazma bileşenine ihtiyaç duyan hastaların tedavisi için tüm plazmayı kullanmanın hem tedavi açısından daha az verimli hem de değerli malzemenin israfı olduğunu vurguladı. Örneğin, çok halindeki hastaların tedavisi için, esas olarak tükenmiş plazma hacmini hızla geri kazanacak bir protein çözeltilisine ihtiyaç duyulduğundan, albümin plazmanın en etkili fraksiyonu olarak görüldü. Belirli hastalıklara karşı bağışıklık gerektiren hastalar için, kandaki antikorların çoğunu içeren gama globulinler acil ihtiyaçtı. Fibrinogen veya protrombin gibi kanın pıhtılaşma süreciyle ilgili diğer fraksiyonlar, belirli pıhtılaşma eksiklikleri olan hastalar için en faydalı olanlardı. Bu nedenle Cohn, en başından itibaren, her biri diğerlerinden ayrılmış bir dizi farklı plazma bileşenini erişilebilir hale getirmek için kapsamlı bir plazma fraksiyonlama sisteminin önemini vurguladı.

Savaşın başında en acil ve pratik ihtiyaç albümin fraksiyonu için olduğundan, büyük

miktarlarda güvenli ve saflaştırılmış albümin elde edecek yöntemlerin geliştirilmesine yönelik yoğun bir çaba gösterildi. Bilimsel Araştırma ve Geliştirme Ofisi'nin desteğiyle ve Amerikan Kızıl Haçı'nın büyük savaş dönemi kan bağı programıyla bu vizyon olağanüstü bir başarıyla hayata geçirildi. 1942-1945 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık iki milyon kan bağışından elde edilen yarım milyondan fazla serum albümini nakil ünitesi hazırlandı. Bunun yanı sıra, bütün kan veya kurutulmuş plazma olarak kullanılan bağışların sayısı da çok fazlaydı. Bağışıklama için gama globulinler, nöro-cerrahilerde fibrin köpüğü ve filmi, kan gruplama için izo-aglütininler, fraksiyonlama programının diğer pratik ürünleriydi.

Çalışmalar ilerledikçe, daha az acil pratik kullanıma sahip ancak kan plazmasının ve işlevlerinin anlaşılması için önemli olduğu kanıtlanmış diğer plazma bileşenlerinin incelenmesinde büyük ilerlemeler kaydedildi. Bunlar arasında, yaklaşık %35 lipid içeren alfa lipoproteinler ve proteinlerden çok daha fazla lipid içeren, ancak tipik globulinler gibi seyreltik tuz çözeltilerinde kolayca çözünebilen beta lipoproteinler olmak üzere iki büyük gruba ayrılabilen plazma lipoproteinleri vardı. Bu yıllar boyunca ilk kez tanımlanan bir diğer bileşen ise plazmanın demir taşıyan beta globulini (siderofilin, transferrin) idi; bu madde daha sonra Cohn'un laboratuvarında kristalize edildi.

Burada bu yeni keşfedilen bileşenlerin tam bir listesini vermek amaçlanmamıştır, ancak 1940 ile 1946 yılları arasında kan plazması hakkındaki bilginin bir devrim geçirdiğini söylemek doğru olacaktır. Savaş dönemi programındaki operasyonların ölçeği gerçekten büyüktü ve kimyagerler, klinisyenler, immunologlar ve diğerleri arasında sıkı bir iş birliği ve Harvard pilot tesisinde geliştirilen süreçlerin hızlı bir şekilde endüstriyel uygulaması gerekiyordu. Cohn, programın itici gücüydü; büyük ölçüde kendisinin oluşturduğu bu büyük organizasyonu yönlendirme ve koordine etme konusundaki olağanüstü yeteneği, ilk kez tam anlamıyla devreye girdi.

Her sürecin her ayrıntısına odaklanması şaşırtıcıydı; geliştirme ve değişiklik planları, durmaksızın bir akış halinde ondan gelir ve meslektaşlarını her yeni fikri derhal uygulamaya koymaya yönelik coşkusu bazen bunaltıcı olabilirdi. Ancak ayrıntılara olan bu tutkusuna rağmen, hiçbir zaman genel durumu gözden kaçırmazdı. Burada, olağanüstü derecede çok yönlü ve karmaşık olan bir gelişimin yalnızca kısa bir özeti sunuldu. Bu geniş kapsamlı gelişim hakkında daha ayrıntılı bir anlatıma ulaşmak isteyenler, Cohn'un bizzat yazdığı ve *Advances in Military Medicine* (1948) adlı eserin I. cildinde yayımlanan kapsamlı bölüme başvurabilir.

Savaşta sonra Cohn'un laboratuvarı, protein kimyasının daha soyut sorunlarının incelenmesine geri döndü, ancak klinik araştırmalarla ilişkiler sürmeye devam etti. Plazma fraksiyonlaması üzerindeki çalışmaların ünü, dünyanın dört bir yanından araştırmacıları çekti. Cohn, savaş dönemi plazma fraksiyonlama yöntemlerinden, elde edilen pratik başarıları rağmen memnun değildi ve yeni tekniklerin geliştirilmesi için çabalarını sürdürdü. Hayatının son üç yılı boyunca, kanın hücresel bileşenlerini ve plazma bileşenlerini ayıracak bir makine tasarlamaya büyük önem verdi. Bu çaba, karakteristik bir şekilde hem pratik hem de teorik bir kaygıyı birleştiriyordu. Cohn, bu biyomekanik cihazı, kan toplama ve kullanım yöntemlerini devrim niteliğinde değiştirecek yeni bir teknik olarak görüyordu. Ayrıca bu makineyi, kan hücreleri ve plazma proteinlerinin doğal durumlarına daha yakın koşullarda ayırmasını sağlayacak teorik açıdan önemli bir gelişme olarak değerlendirdi.

İnsan kanının ve fraksiyonlama ürünlerinin yeterli miktarda topluma sunulmasının önemine derinden inanıyordu. Albümin ve gamma globulin gibi klinik değeri kanıtlanmış ürünleri sağlamak ve yeni fraksiyonlama ürünlerinin kimyası ve tıbbi kullanımları üzerinde daha fazla araştırma yapmak için bu ürünlerin geniş çapta erişilebilir olması gerektiğini tekrar tekrar vurguladı. Büyük bir ülke olan Amerika Bir-

leşik Devletleri gibi bir yerde, her yıl birkaç milyon bağış toplayacak geniş çaplı bir kan bağış programının değerini vurguladı. Bu bağışların, uygun fraksiyonlama teknikleri kullanılarak her bir bileşenin kendi özel klinik kullanımı için ayrı ayrı erişilebilir hale getirilmesi gerektiğini savundu. Bu malzemeyi, toplumun üzerine büyük bir sosyal sorumluluk olarak gördü; kimyasal ve klinik testlerin dikkatlice yapılmasıyla, fraksiyonlama ürünlerinin güvenliğinin ve yüksek kalitesinin sağlanması gerektiğini belirtti.

Yetersiz yöntemleri veya mevcut klinik kullanımlar için tatmin edici olabilecek, ancak yeterli kimyasal kalite ve saflık standartlarını karşılamayan ürünleri sert bir şekilde eleştirdi. Plazma fraksiyonlama ürünlerinden herhangi birinin genel klinik kullanım için piyasaya sürülmesinden önce, yetkin araştırmacılar tarafından uzun bir dizi titiz test yapılmasını şart koştu. Bu ürünlere savaş sırasında duyulan acil ihtiyaç bile, bu uzun ve dikkatli testlerin yapılması konusundaki ısrarından sapsına neden olmadı. Bu tutum, zaman zaman güçlü karşıt baskılara rağmen sürdürüldü ve deneyimler, bu tutumun ne kadar doğru olduğunu fazlasıyla kanıtladı.

Cohn'un çalışma yöntemi alışılmadık. Genelde sabah saat on birden önce laboratuvara gelmez, bazen öğleden sonraya kadar uğramazdı, ancak genellikle sabah boyunca yoğun bir şekilde çalışıyordu. Bazen bir makale taslağı hazırlıyor, bazen kimyagerlerin, klinisyenlerin, immünologların ve diğerlerinin iş birliğini içeren karmaşık bir operasyonu başlatmak ve organize etmek için çok sayıda telefon görüşmesi yapıyordu. Yirmi altı yıllık laboratuvar deneyimim boyunca, onun kendi elleriyle bir deney yaptığını neredeyse hiç görmedim—belki iki ya da üç kez olmuştur. Ancak, bir deneyin tam olarak nasıl yapılabileceğini ayrıntılı bir şekilde görselleştiren bir deneyci gibi düşünür ve hareket ederdi. İş arkadaşları üzerinde öyle bir etki bırakırdı ki, deneysel teknikler konusunda oldukça disiplinli bir yaklaşım benimserlerdi.

Savaş döneminden bir örnek, laboratuvar çalışmasına olan yoğun ilgisini gösterebilir. 1942'nin başlarında, plazma fraksiyonlaması üzerindeki çalışmaları hızlandırmak için her biri sekiz saat çalışan üç vardiya-dan oluşan bir araştırma grubu kuruldu, böylece çalışmalar gece gündüz devam edebilirdi. Cohn, sabahın erken saatlerinde - belki sabah üç civarında - uyanık olurdu ve bu gibi durumlarda laboratuvardaki çalışanlarla telefonla konuşarak fraksiyonlama yöntemlerini geliştirmek için yeni teknikler önerir ve bunların hemen denenmesi konusunda ısrar ederdi.

Kişiliği unutulmazdı, ancak farklı insanlarda şaşırtıcı derecede farklı tepkiler uyandırıyor. Çalıştığı birçok kişide yoğun bir coşku ve hayranlık uyandırabiliyordu. Kendisine yüksek başarı standartları koyar ve hedeflerine yoğun bir kararlılıkla ilerlerdi. İş arkadaşlarından çok şey beklerdi. Özellikle laboratuvarın ilk yıllarında, onlara kendi yollarıyla özgürce çalışma imkânı tanırdı. Savaş yıllarında enerji ve tutkusuyla özellikle dikkat çekiciydi. Bu özellikler her zaman onun karakteristiği idi. Özellikle 1940'tan itibaren, genç meslektaşlarını kapasitelerinin sınırına kadar zorlayarak mevcut sorunları en hızlı şekilde çözmeye çalıştı. İşlerin yapılmasını sağlamak için baskı yaparken, sık sık otoriter ve talepkâr, bazen de kaba bir tutum sergilerdi. İnandığı şeyler için savaşmaya her zaman hazırı ve aptalca veya tehlikeli olduğunu düşündüğü politikaları ya da prosedürleri eleştirdiğinde yıkıcı olabilirdi.

Bu aşırı zorlayıcı ve açık sözlü tutumu nedeniyle birçok düşman edindi. Bununla birlikte, ilham ve coşku dolu bir atmosferin tüm zorluklara rağmen korunduğu laboratuvar ortamında, yaşamın getirdiği stres ve sıkıntılara katlanmaya hazır çok çeşitli iş arkadaşlarının sadakatini ve desteğini kazandı.

Laboratuvarının genç üyelerine derin bir ilgi ve kişisel bir özen gösterirdi. Eğer biri bir sorunla karşılaşır veya başka bir yerde bir pozisyon teklifi gibi önemli bir karar vermek durumunda kalırsa, ilgili tüm faktörleri dikkatlice tartışmak için o kişiyle günler boyunca birçok saat ayırırdı.

Kendi kendine yönelik değerlendirmesi bazen duygularının ve hırslarının yoğunluğu nedeniyle bulanıklaşsa da, başkalarının karakterlerini ve motivasyonlarını anlamada insan doğasına dair derin bir içgörü sergiledi. Çalışma arkadaşlarının yeteneklerini ve sınırlamalarını değerlendirme konusundaki yargısı, özellikle plazma fraksiyonlama programı sırasında belirgin bir şekilde ortaya çıktı. Bu son derece karmaşık programda, belirli bir iş için doğru kişiyi seçme kapasitesi olağanüstü bir sezgiyi gösteriyordu. Özellikle laboratuvarın büyüklüğünün arttığı sonraki yıllarda, çalışmalarını ağırlıklı olarak araştırma ekipleri aracılığıyla yürüttü; her ekipteki direktörler kendi gruplarının çalışmalarından sorumlu olup doğrudan Cohn ile iletişim kuruyordu. Bu farklı grupların sürekli toplantıları vardı, bazen öğle yemeği sırasında, bazen de öğleden sonra, ve bu toplantılar genellikle iki veya üç saat sürebiliyordu. Bu faaliyetlerin tümünde, güçlü ve yoğun bir kişiliğin baskısını hissetmek mümkündü; ancak tüm yönlendirme gücüne ve durumu domine etme eğilimine rağmen, Edwin Cohn, çok çeşitli yeteneklere sahip genç araştırmacıların gelişimine yardımcı olmayı başardı.

Hem İkinci Dünya Savaşı'ndan önce hem de sonra tatil dönemlerinde, Avrupa'da geniş çapta seyahat etti. Daha önce de belirtildiği gibi, sanat, tarih ve uluslararası ilişkilerle derin bir ilgisi vardı. 1947 yazında Marianne ile birlikte İsviçre'deki Oberhofen'de mutlu bir yaz geçirdi. 1948'de Marianne'in ölümünden sonra, hayatının son yıllarında sürekli bir yoldaşı olan Rebekah Higginson ile evlendi. 1952 yazında, Cenevre Gölü kıyısında güzel bir villa kiraladılar; burada hem çalışmayı hem de dinlenmeyi birleştirdi. Cohnlar birçok bilimsel ziyaretçileri ve arkadaşlarını ağırladılar. Kısa bir süre sonra, bu yazın hayatının en mutlu dönemlerinden biri olabileceğini söyledi.

Cohn, birçok onur ödülünün sahibi oldu. 1942'de Alvarenga Ödülü'nü aldı, 1943'te Ulusal Bilimler Akademisi'ne seçildi. 1945'te klinik tıbbı yaptığı hizmetlerden

dolayı Passano Ödülü'nü, 1948'de Theodore William Richards Madalyası'nı ve savaş çalışmaları nedeniyle ABD Hükümeti'nden 1948'de Liyakat Madalyası'nı aldı. Ölümünden hemen önce Amerikan Halk Sağlığı Derneği'nin Lasker Grup Ödülü laboratuvarına verildi. 1946'da Yale Üniversitesi'nde Silliman Konferanslarını sundu. Bu konferanslara dayalı olarak hazırlanacak kitabın başlığı, "Blood: A Study in Protein Chemistry" olacaktı; bu, L.J. Henderson'ın 1928'de yayımlanan ve "Blood: A Study in General Physiology" adlı Silliman Konferanslarına karşılık geliyordu. Ancak, yoğun çalışmaları nedeniyle, Cohn konferanslarına dayalı bu kitabı tamamlamadı.

Cohn, doğal bilimler alanında Harvard Üniversitesi Profesörü olarak ilk kez Üniversite Profesörü unvanını alan kişiydi. Bu atamanın bir sonucu olarak, 1949'da laboratuvarının statüsü değişti ve "Tıp ve Halk Sağlığı ile İlgili Fiziksel Kimya Üniversite Laboratuvarı" adını alarak üniversitenin bağımsız bir birimi haline geldi. Bu laboratuvarın organizasyonu, üniversite yapısı içinde yeni ve deneysel bir model oluşturuyordu. Cohn, laboratuvarında yapılan keşiflerin tıp ve halk sağlığına uygulanmasına derinden önem verdi - bu endişe, plazma fraksiyonlamasından geliştirilen ürünlerin klinik kullanım için serbest bırakılmadan önce etkili bir şekilde test edilmesi ve denetlenmesi için Plazma Fraksiyonlama Komisyonu'nu kurmasına yol açtı. Ayrıca, 1949'da özellikle kanın hücrel bileşenlerini incelemeye adanmış olan Jamaica Plain'de Kan Karakterizasyonu ve Koruma Laboratuvarı'nı kurdu. Bu laboratuvarın çalışmaları, Cohn'un yaşamının son yılında kurulmasına öncülük ettiği Protein Vakfı'nın himayesinde devam ettirildi.

Resmi olarak çok az ders verdi, ancak erken dönemlerde protein kimyasıyla ilgilenen araştırmacılar için gönüllü bir kurs düzenledi. Bu kursa daha sonra bilim ve tıpta lider olan birçok kişi katıldı. Tıbbi bilimlerdeki eğitim sorunlarına derinden önem verdi ve 1936-1949 yılları arasında Harvard Tıbbi Bilimler Bölümü Başkanlığı

yaptı. Ancak, bir eğitimci olarak en büyük etkisi, laboratuvarında çalışmak üzere gelen çok sayıda lisansüstü araştırmacı aracılığıyla oldu. Bu araştırmacılar, sıkı ancak yaratıcı bir disiplin altına girdiler. Bu yaklaşım, Amerika Birleşik Devletleri'nin tüm bölgelerine ve diğer birçok ülkeye giden bu kişilerin faaliyetlerine yansdı.

Kendi kişiliği ve başarıları ne kadar dikkat çekici olsa da, belki de bu öğrenciler üzerindeki etkisi onun en kalıcı anıtı olarak kalacaktır. Harvard Tıp Fakültesi Fiziksel Kimya Bölümü'nün Tarihi, J.T. Edsall tarafından kaleme alınmış ve University Laboratory of Physical Chemistry Related to Medicine and Public Health, Harvard University 1950 adlı kitapta yayımlanmıştır. Bu, 1950 yılına kadar bölümün tarihini ve burada ihmal edilen bir dizi ayrıntıyı içermektedir. Bu tarihin biraz kısaltılmış bir versiyonu, American Scientist, 38:580-599, Ekim 1950'de yayımlanmıştır. Daha önce de belirtildiği gibi, plazma fraksiyonlamasının tarihi, Dr. Cohn tarafından "Advances in Military Medicine (1948)" adlı eserdeki bir bölümde ayrıntılı olarak kaydedilmiştir. Bu anlatımdaki bazı bölümler, "Ergebnisse der Physiologie, Biologischen Chemie and Experimentellen Pharmakologie", 48:23-48, 1955'te yayımlanan Edwin J. Cohn hakkındaki makaleden alınmıştır. Bu makale ayrıca Edwin J. Cohn'un laboratuvarından çıkan ve burada listelenmeyen, çalışma arkadaşları tarafından yazılmış birçok makaleyi içeren kapsamlı bir bibliyografyayı da içermektedir.