

EWA BARTNIK

Zakład Genetyki

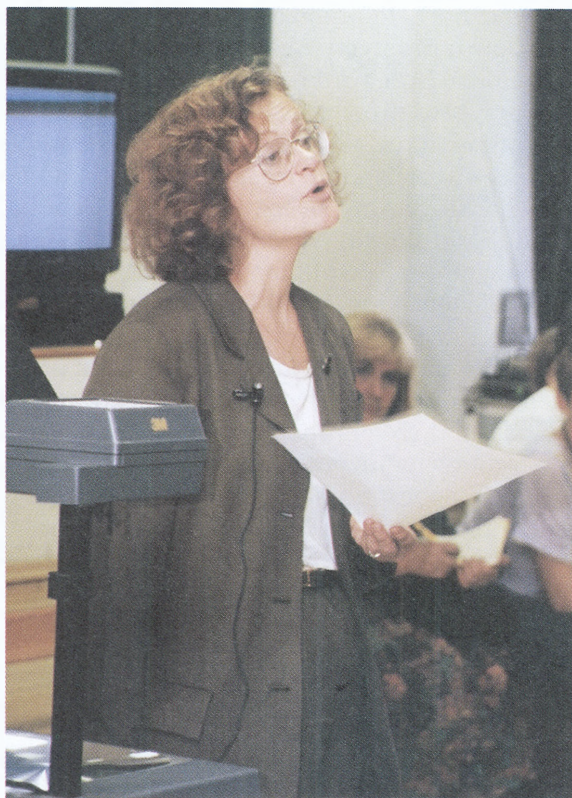
Uniwersytetu Warszawskiego i Instytut Biochemii i Biofizyki PAN,

Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa

email:ebartnik@ibb.waw.pl

## GENETYKA — OD MENDLA DO GENOMIKI

Początki genetyki wiążą się ściśle z praktyką — dawno temu nasi przodkowie wybierali rośliny czy zwierzęta o pożądanym cechach i wykorzystywali je do uzyskiwania kolejnych, coraz lepszych pokoleń potrzebnych im organizmów.



Urodziłam się w Warszawie w 1949 r. To, że zostałam biologiem jest wynikiem szeregu przypadków. Pierwszym był wyjazd do Holandii kiedy miałam osiem lat, i nauka w szkole amerykańskiej. Dzięki temu ominęło mnie (poza klasą maturalną) nieprawdopodobnie głupie i drętwe nauczanie biologii w polskiej szkole. Drugim był wprowadzony na rok przed moim wyjazdem z Holandii znakomity program nauczania chemii, a ostatnim książka „Z tajemnic biochemii”

Tak powstały konie arabskie i perszerony, jarmniki i bernardyny, różne rodzaje zbóż i tak dalej.

Jednak początek genetyki klasycznej — czyli Grzegorz Mendel, jego groszki i prawa przekazywania cech, to dopiero druga połowa XIX w. Wybitne jego osiągnięcia od dawna już wykorzystywane są do maltretowania uczniów liceum, a także kandydatów na Akademii Medycznej. Pierwsza połowa XX w. była okresem rozkwitu genetyki klasycznej — wykryto chromosomy, ustalono, że geny mają stałe położenia na chromosomie i wprowadzono pojęcie odległości.

Nie jest jednak moim celem pisanie o genetyce klasycznej, dziedzinie nadal przydatnej i niezbędnej, ale może jednak mało fascynującej w momencie, gdy znamy już pełne sekwencje genomów kilkudziesięciu organizmów i niebawem ustalimy to, co nas najbardziej interesuje — sekwencję ludzkiego DNA.

Na wstępie chciałabym przedstawić pewną niezbyt formalną definicję — czym różni się genetyka od biologii molekularnej, jako że są to dziedziny mające wiele wspólnych elementów i

B. Filipowicza, po której uznałam, że należy zostać biochemikiem.

Po ukończeniu Biologii na Uniwersytecie Warszawskim (specjalność biochemia) rozpocząłam pracę w Zakładzie Genetyki UW. W czasie pracy przeszłam od genetyki biochemicznej (z której robiłam doktorat), do biologii molekularnej (habilitacja) i genetyki człowieka (obecnie zajmuję się chorobami związanymi z mutacjami w mitochondrialnym DNA). Dla rozwoju moich zainteresowań bardzo istotne były dwa wyjazdy — w 1976–1977 do Massachusetts Institute of Technology gdzie zapoznałam się z technikami inżynierii genetycznej i w 1986–1988 do Uniwersytetu w Kolonii, gdzie mogłam zapoznać się z pracą z komórkami ssaków.

Moim hobby jest muzyka operowa.

trudno je od siebie oddzielić. Na pewno klasyczna genetyka nie wchodzi w skład biochemii, a analiza struktury lipidów nie jest częścią genetyki, ale poza tym naprawdę trudno jest wprowadzić sztywne odgraniczenie. Istotne jest jednak zrozumienie różnicy między genetyką klasyczną a molekularną — genetyka klasyczna w formalny sposób opisuje zjawiska nie wnikając w ich podłoże molekularne, genetyka molekularna zajmuje się właśnie tym, czego genetyka klasyczna objąć nie może. Jednak i to jest trochę sztucznym rozgraniczeniem — jeszcze w genetyce klasycznej sformułowano hipotezę jeden gen — jeden enzym, czy — znacznie wcześniej — hipotezę uszkodzeń metabolicznych wymyśloną przez Garroda dla alkaptonurii.

Dla mnie początkiem genetyki molekularnej jest 1953 r. — odkrycie struktury DNA przez J. Watsona i F. Cricka. Okres po tym odkryciu jest eksplozją technik umożliwiających analizę DNA, ustalenie kodu genetycznego i badania regulacji ekspresji genów u Prokariota. Być może należałoby się cofnąć jeszcze wcześniej — do udowodnienia, że to DNA a nie białko jest materiałem genetycznym (lata 40.).

W 1966 r. kiedy rozpoczynałam studia i w zasadzie — choć jeszcze tego nie wiedziałam — zrobiłam pierwszy krok w kierunku genetyki wiadomo było, że DNA jest materiałem dziedzicznym, że gen składający się z DNA koduje syntezę białka, jak wygląda tablica kodonów i jak regulowane są geny u bakterii (model operonu). Nic nie było wiadomo o regulacji ekspresji genów u organizmów wyższych — choć podejrzewano, że jest taki jak u bakterii, ale trochę bardziej skomplikowany. Aby uświadomić polskich czytelnikom ówczesne realia nic z tego nie przeciekło do podręcznika do ostatniej klasy liceum pod redakcją W. Michajłowa, w którym nadal występował Miczurin i w którym poddawano krytyce teorię — jakże słuszną i stanowiącą w zasadzie podstawę genetyki organizmów wyższych — oddzielenia komórek rozrodczych od „somy” — reszty ciała. Był to wyraźny ślad wpływu Łysenki na nauczanie biologii w naszym kraju — jeżeli komórki rozrodcze są oddzielone od pozostałych nie można dziedziczyć cech nabytych — czyli Weissman nie mógł mieć racji. Nie bardzo byłam w stanie to zrozumieć (idea, że w podręczniku szkolnym może być bzdura nie przyszła mi wówczas do głowy).

W 1966 r. na szczęście wyszło drugie wydanie tłumaczenia „Biologii” Claude A. Villee’a, w którym to co było wiadomo z dziedziny genetyki zajęło prawie 100 stron i ułatwiło mi zrozumienie wielu rzeczy. Książka, która wówczas uchodziła za świetną dziś wygląda dość smętnie, przydługie akapity, mały druk, słabe ilustracje.

Ponadto genetyka klasyczna była dziedziną trudną. Mnie wówczas interesowała nie genetyka, a biochemia — niestety nie posiadam już kopii rewelacyjnej książki Prof. B. Filipowicza pt. „Z tajemnic biochemii”, ale przez nią poszłam na biologię chcąc być biochemikiem. Książka w formie dialogu przedstawiała najnowsze osiągnięcia biochemii i z rozmów z wieloma osobami wiem, że nie tylko mnie zachęciła do studiowania tej dziedziny (jednym z zachęconych był syn Profesora Filipowicza). Reakcje, cykle, kataliza i tym podobne były wówczas dużo ciekawsze od krzyżówek trzypunktowych. Dlatego też pracę magisterską robiłam na biochemii, ale po czwartym roku przez 2 miesiące pracowałam w Zakładzie Genetyki Uniwersytetu Warszawskiego — gdzie zresztą jestem do dzisiaj. Zafascynowała mnie wówczas genetyka biochemiczna.

Przełom lat 60. i 70. był złotym okresem tej dziedziny — za pomocą bardzo prostych metod genetycznych (krzyżówki, robienie diploidów) i biochemicznych (oznaczanie poziomów enzymów) można było analizować regulację działania genów u prostych organizmów eukariotycznych. Różne pracownie stosowały różne modele, na przykład drożdże, *Neurospora crassa*, czy jak w przypadku Zakładu Genetyki *Aspergillus nidulans*. *Neurospora crassa* była tym obiektem, na którym na początku lat 40. Beadle i Tatum sformułowali zależność jeden gen — jeden enzym. Kierownikiem zakładu był prof. Wacław Gajewski, a w Zakładzie było tak sympatycznie, że postanowiłam tam pracować po studiach. Od 1971 r. byłam już formalnie genetykiem i choć tego nie wiedziałam, rozpoczynał się olbrzymi przełom metodyczny w tej dziedzinie, powstawała inżynieria genetyczna.

Choć na początku lat 70. już może nie każdy wierzył, że u słoni, podobnie jak u bakterii, też istnieją operony, nie było żadnego sposobu uzyskiwania i analizowania genów organizmów wyższych, a wyizolowanie genu bakterii było ewenementem i pracą w „Nature”. Geny ludzkie, te które były znane, określano za pomocą efektów, które wywoływały ich mutacje — mój pierwszy podręcznik do genetyki człowieka składał się w znacznym stopniu z niezbyt przyjemnych zdjęć. Dopiero wprowadzenie analizy restrykcyjnej i klonowania na początku lat 70. i nieco później sekwencjonowania DNA pozwoliło na posiadanie wyodrębnionych genów eukariotycznych i ich analizę. Rozdano za to parę Nobli i zaczęto ustalać różne sekwencje — „konsensusy” — czyli sekwencje najwyższej zgodności dla różnych regionów genów eukariotycznych. W którymś momencie uznano, że nie ma operonów u Eukariota (choć jeszcze w czasie robienia roz-

prawy doktorskiej obronionej w 1975 r. poszukiwałam mutacji w operatorze pewnego genu *Aspergillus nidulans* — na szczęście nie znalazłam) i, że cała regulacja opiera się na interakcji specyficznych białek z regionem promotora genu, z — w zależności od mody — mniejszą lub większą rolą białek chromatyny.

Techniki inżynierii genetycznej i rozwijające się niezależnie techniki hodowli komórek spowodowały absolutny wybuch tempa rozwoju badań nad nowotworami. Zidentyfikowano pierwsze ludzkie onkogeny, pierwsze supresory nowotworów, zrozumiano, że nie ma jednej przyczyny procesu nowotworzenia, ale że zmiany w wielu różnych genach związanych z regulacją funkcjonowania i podziałów komórki mogą łącznie dać zmianę powodującą niekontrolowane podziały.

W tym okresie też w dużym stopniu zrozumiano podstawy embriogenezy dwóch organizmów modelowych — nicienia *Caenorhabditis elegans* i muszki owocowej *Drosophila melanogaster*. Te dwa obiekty badań — ze znakomicie poznaną genetyką i rozwojem zarodkowym — pozwoliły na zrozumienie genetycznych podstaw wielu procesów zachodzących w czasie rozwoju.

Okres około 10 lat do połowy lat 80. był raczej okresem kolejnych kroków w rozumieniu, niż przeskoków. Niesłychanym, kolejnym bodźcem dla szybkiego rozwoju badań było opracowanie PCR — myślę, że jest to wzmocniacz nieprawdopodobieństwa wzięty z Cyberiady Stanisława Lema — technika ta pozwala na uzyskanie z jednej cząsteczki DNA olbrzymiej ilości jej replik i wprowadziła rewolucję nie tylko w genetyce, ale także w mikrobiologii medycznej, medycynie sądowej, diagnostyce wielu chorób, badaniach nad ewolucją, a nawet w dość odległych od genetyki molekularnej dziedzinach takich jak taksonomia.

W latach 80. zaczęto też poszukiwania genów związanych z powstawaniem chorób ludzkich. Do ich klonowania stosowano różne techniki, najbardziej owocną okazała się technika RFLP (ang. restriction fragment length polymorphism), którą lubię nazywać poszukiwaniem igły w stogu siana za pomocą rodowodów. Mając rodziny, w których występuje choroba genetyczna można za pomocą analizy bardzo wielu różnych polimorfizmów (w pewnym uproszczeniu to są znaki drogowe na ludzkich chromosomach występujące w dwóch postaciach każdy) ustalić, który z nich wydaje się zawsze segregować z badaną chorobą; daje to punkt zaczepienia na chromosomie i od tego można poszukiwać właściwego genu związanego z chorobą klonując i analizując kolejne odcinki DNA

w pobliżu określonego miejsca. W ten sposób sklonowano gen najczęstszej choroby genetycznej rasy białej, mukowiscydozy, i bardzo wiele innych genów.

Poszukiwania genów związanych z chorobami dały pewne wyniki, które mogłyby przerazić ojca genetyki, Grzegorza Mendla. Nie przypuszczam, że ucieszyłby go fakt, że przy krzyżówce roślin z czerwonymi kwiatami z roślinami z białymi kwiatami, barwa potomstwa zależy od tego, który rodzic jest czerwony. Akurat takiego zjawiska nie ma, ale u ssaków stwierdzono występowanie piętna genomowego — nie więcej niż 100 z około 80000 genów ssaków jest piętnowane unieczynniane — przy gametogenezie u samca bądź samicy — czyli w takim przypadku, choć dziedziczy się, jak zwykle, jeden allel od ojca i jeden od matki, jeden z nich jest „niemy”. Zjawiska te noszą też nazwę epigenetycznych, jako że nie zmienia się sama sekwencja DNA, tylko jakieś jego oznakowanie (m. in. metylacja), jednak jako genetyk nie przepadam za tą nazwą. Zaburzenia procesu piętnowania mogą prowadzić do szeregu chorób ludzkich (np. przy dziedziczeniu w wyniku zaburzeń w segregacji chromosomów dwóch nieczynnych alleli ojcowskich jakiegoś piętnowanego genu).

Drugie zjawisko, niejako antymendlewskie, to mutacje dynamiczne. „Normalne” mutacje, czyli zmiany w DNA, są czymś dość stabilnym, a tu, wręcz przeciwnie, istotą mutacji jest jej niestabilność. Pewne sekwencje DNA — na ogół powtórzone triplety — ulegają namnożeniu i to namnożenie może się powiększać w kolejnych pokoleniach. Chorób tego typu znanych jest już kilkanaście, amplifikacje tripletów mogą zachodzić w części genu kodującej białka (dotychczas wszystkie znane przypadki to kodony glutaminy, m.in. tak jest w stosunkowo częstej chorobie Huntingtona), ale także w regionach regulatorowych (zespół kruchości X) czy w intronach (ataksja Friedreicha).

W sposób odmienny od opisanego przez Mendla dziedziczą się też choroby związane z mutacjami w samym mitochondrialnym DNA. Takich chorób jest wiele, dotyczą głównie upośledzenia działania mięśni i nerwów, i dziedziczą się wyłącznie po matce.

Rozwój klonowania genów, w połączeniu z techniką PCR i znacznym przyspieszeniem sekwencjonowania DNA po wprowadzeniu automatów do sekwencjonowania (zwanymi po polsku sekwencjatorami lub sekwenserami), umożliwił diagnostykę wielu chorób uwarunkowanych przez mutacje genetyczne. Dotychczas badania tego typu ogranicza się do diagnostyki prenatalnej lub ewentualnej diagnostyki nosicielstwa w rodzinach, w których już raz wystą-

piła dana choroba genetyczna, ale przewiduje się w przyszłości, że dla każdego noworodka można będzie sporządzić jego paszport genetyczny — z podaną podatnością na nowotwory, cukrzycę, i tak dalej. Chwilowo koszt ustalenia obecności konkretnej mutacji w 1–2 genach wynosi około 2000 dolarów, ale koszty badań spadają dramatycznie — kiedy rozpoczęto około 10 lat temu planowanie ustalenia sekwencji ludzkiego DNA koszt jednej pary zasad wynosił 3 dolary, teraz jest poniżej 50 centów. W filmie GAATACA dziejącym się w chyba niezbyt odległej przyszłości, bohater wręcza bohaterce parę swoich włosów, aby sprawdziła, czy będzie jej odpowiadał (zapewne pod względem genetycznym). Po minucie automat wypuszcza sekwencję jego DNA, którą ona (Uma Thurman) ogląda z zainteresowaniem. Film ten oglądałam na video na Letniej Szkole Wydziału Biotechnologii z Gdańska i wszystkie osoby obecne na sali roześmiały się w tym momencie. Ale niebawem tak pewnie będzie — może nie cały DNA (3 miliardy nukleotydów to przesada), ale może 10, 50 czy 100 genów kluczowych dla jakości życia? Oczywiście możliwości, nawet te już istniejące, rodzą wiele pytań i problemów natury etycznej, ale to już jest odrębne zagadnienie.

Obecnie najnowsza i niesłychanie prężna dziedziną jest genomika, czyli analiza całych genomów. Nie istniała jeszcze parę lat temu, bo jedyne w pełni znane sekwencje dotyczyły genomów dość specyficznych — organelarnych, wirusowych czy plazmidowych. Pierwsze genomy bakteryjne zsekwencjonowano pod koniec lat 90., jest ich już kilkadziesiąt. Najmniejsze mają około 500 genów, największe kilka tysięcy, znana jest też w pełni sekwencja trzech organizmów eukariotycznych, akurat szczególnie lubionych

przez genetyków — drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (ok. 6500 genów), nicienia *Caenorhabditis elegans* (ok. 20000 genów) i muszki owocowej *Drosophila melanogaster* (ok. 15000 genów). Te wszystkie „ok.” to nie znaczy, że nie wiemy ile genów mają te organizmy, ale ja lubię okrągłe liczby. Teraz naukowcy i komputery pracując razem starają się porównywać jedne genomy z drugimi i wyciągać z tego jakieś prawidłowości. Inni analizują nie genom tylko transkryptom (czyli RNA powstające na DNA w procesie transkrypcji), czy proteom (czyli białka). Ponieważ nadal nie jest znana, mimo określenia sekwencji, tożsamość olbrzymiej ilości genów, mamy jeszcze wiele pracy przed sobą.

Niebawem będzie znany i genom człowieka. Na początku niewiele z tego wyniknie — chwilowo znane są sekwencje dwóch najmniejszych chromosomów człowieka, 21 i 22, a reszta jest już na tyle poznana, że w tym, najdalej w przyszłym roku dowiemy się ile mamy genów. Do czego służą i praktyczne aplikacje, takie jak terapia genowa, to jeszcze sprawa przyszłości.

Bardzo celowo w artykule tym nie robiłam odnośników literaturowych. Historia nauki jest dziedziną bardzo ciekawą, ale genetyka jest za młoda, żeby ją utopić w odnośnikach i nazwiskach. Chciałabym polecić osobom, które chcą wiedzieć więcej dwie książki — dwóch „ojców” struktury DNA — „Podwójny heliks” Jamesa Watsona opisujący okrycie struktury DNA i znacznie moim zdaniem ciekawszą książkę Francisca Cricka, niedawno wydaną po polsku pod tytułem „Szaleńczy pościg”, opisującą nie tylko DNA, ale także ustalanie kodu genetycznego i fenomenalnie pokazującą istotę badań naukowych.