

ANDRZEJ JERZMANOWSKI

*Paracownia Biologii Molekularnej Roślin, UW
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN
Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa
e-mail: andyj@tbb.waw.pl*

OD CZĄSTECZEK DO ORGANIZMÓW

W 1969 r. kończyłem studia na Wydziale Biologii UW. Specjalizowałem się w biochemii, a moja praca magisterska dotyczyła syntezy



Andrzej Jerzmanowski urodzony w 1946 r. w Warszawie, ukończył Wydział Biologii na Uniwersytecie Warszawskim. Przez cały okres pracy zawodowej związany z Wydziałem Biologii UW. Do 1991 r. w Instytucie Biochemii, od 1992 w Instytucie Biologii Eksperymentalnej UW, którego obecnie jest dyrektorem. Od 1994 r. jest także pracownikiem Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie. Kieruje Paracownią Biologii Molekularnej Roślin. Tytuł profesora uzyskał w 1998 r. Od 1995 r. — International Scholar w Howard Hughes Medical Institute (USA).

triterpenoidów w pędach nagietka. Wiosną 1969 r., tuż przed obroną pracy magisterskiej, DNA — już wtedy kultowa cząsteczka biologów — pozostawał dla mnie wciąż substancją obcą i tajemniczą. Po części wynikało to z faktu, że tradycje Instytutu Biochemii UW (dawniej Katedry Biochemii) niewiele miały wspólnego z biologią, za to znacznie więcej z chemią związków naturalnych. Założycielka Katedry Biochemii na Wydziale Biologii, Profesor Irena Chmielewska, była wybitnym chemikiem. Habilitowała się na Wydziale Chemii UW. W sali posiedzeń Rady Wydziału Chemii do dziś oglądać można Jej udany portret, śladu pamięci po Niej próżno by natomiast szukać w budynkach Wydział Biologii. Być może ma to jakiś związek z tym, że Profesor w głębi duszy zawsze pozostawała chemikiem. Jej punkt widzenia udzielał się również nam, studentom i młodym pracownikom Instytutu Biochemii Uniwersytetu. Nie prowadziliśmy badań po to, by wyjaśnić zjawiska biologiczne, lecz raczej po to, by wykazać, jak jedne substancje chemiczne przechodzą w inne. Rzeczywistość istniejąca ponad szlakami przemian metabolicznych i mechanizmami reakcji enzymatycznych była mglista i obca, a co najgorsze — mało interesująca. Z trudem zauważaliśmy komórkę. Do dobrego tonu należało lekceważące odnośnienie się do klasycznych dyscyplin bio-

Jego zainteresowania naukowe dotyczą mechanizmów regulacji genetycznej i molekularnych mechanizmów rozwoju organizmów eukariotycznych. Od wielu lat zaangażowany w popularyzację biologii. W 1995 r. uzyskał I Nagrodę im. Hugo Steinhausa za książkę „Geny i Ludzie”. W wydawnictwie „Pruszyński i S-ka” ukaże się wkrótce jego nowa książka „Skąd i dokąd — niepokojące przeobrażenie biologii”. Inetersuje się także problemami nauczania biologii w szkole, jest autorem podręczników szkolnych, współpracuje z Centralną Komisją Egzaminacyjną.

logicznych, takich jak botanika czy zoologia. Nowinki genetyczne przenikały do nas głównie za pośrednictwem barwnych i pełnych pasji wykładów Profesora Wacława Gajewskiego, jednak była to przede wszystkim wiedza teoretyczna, od której bardzo daleko było do praktycznych umiejętności. Naturalnie, czytaliśmy literaturę i wiedzieliśmy, że w niektórych laboratoriach, przede wszystkim w Stanach Zjednoczonych, prowadzi się fascynujące badania nad replikacją DNA, kodem genetycznym i biosyntezą białka. Wtedy było to coś w rodzaju obserwowania aktywności na innej planecie. Zastanawiam się jednak, skąd brała się nasza fascynacja tymi badaniami. Chyba już wówczas, pomimo wąskiej, chemicznej specjalizacji, podświadomie docenialiśmy szczególną wagę informacji w biologii. Prace dotyczące cząsteczek i procesów bezpośrednio związanych z informacją genetyczną pobudzały wyobraźnię. Pamiętam podziw i zazdrość, które odczuwałem czytając, chyba w 1969 r., wywiad jakiego udzielił tygodnikowi „Kulisy” wracający wówczas ze stażu w Ameryce, Profesor Przemysław Szafranski. Objasniał w tym wywiadzie zasady biosyntezy białka i opisywał, jak można zsyntetyzować białko w probówce. To było naprawdę coś niezwykłego. Na co dzień wszakże pozostawało się z własnym tematem badawczym, którym mogła być analiza etapów biosyntezy glikozydów, czyszczenie jakiegoś enzymu lub nieśmiertelne zmagania z aktywnością łańcucha oddechowego poddanego działaniu którejś z wielu trucizn.

Biochemia długo jawiła mi się jako zbiór wąskich, wyraźnie od siebie oddzielonych zagadnień. Widziałem w tym odbicie niezliczonych bytów komórkowego mikroświata umieszczonych, niczym gwiazdy w kosmicznym eterze, gdzieś w nieokreślonej przestrzeni cytoplazmy. Każdy z tych bytów można było badać w oderwaniu od innych, tworząc coraz to bardziej szczegółowe ich opisy. Nasza metoda poznawcza opierała się na powszechnym wówczas redukowaniu biologii do chemii z tym tylko, że my nie zdawaliśmy sobie dokładnie sprawy z tego, co i w jakim stopniu redukujemy.

Okolo połowy lat 70. pojawiła się inżynieria genetyczna, którą na początku traktowaliśmy, jak czarną magię. Piotr Węgleński i jego zespół w Zakładzie Genetyki UW, jako pierwsi w Polsce odważyli się praktykować tę magię w laboratorium. Reszta patrzyła z podziwem i zazdrością na ich pionierskie zmagania z wydzielaniem plazmidów, przecinaniem ich własnoręcznie otrzymanymi enzymami restrykcyjnymi, elektroforezą DNA, ligacją i klonowaniem. Same nazwy tych technik brzmiały tajemniczo, jak nazwy kwiatów w niedostępnym zwykłym

śmiertelnikom, czarodziejskim ogrodzie nowej nauki. Ale niedostępność czarodziejskiego ogrodu trwała krótko. Okalające go mury prędko runęły, okazało się bowiem, że technologia pracy z DNA nadaje się wprost idealnie do standaryzacji, a handel masowo produkowanymi zestawami odczynników do obróbki tej cząsteczki stanowi złotą żyłę zarówno dla wielkich, jak i dla małych producentów. Inżynieria genetyczna, niemal z dnia na dzień, stała się najpowszechniej stosowaną technologią biologiczną. Świat opanowała gorączka DNA, a w naszym słownictwie pojawił się nowy termin, który — niczym zaklęcie — otwierał sejfy instytucji finansujących naukę. Ten termin brzmiał „biologia molekularna”. Uważam, że lepszą nazwą byłaby na przykład biologia cząsteczek informacyjnych. Uniknęlibyśmy wielu nieporozumień. Także pretensji starszych biochemików, którzy nie mogli zrozumieć, dlaczego odmawia się im finansowania, mimo że przez całe życie uważali się za biologów molekularnych.

W tym okresie biologiczne czasopisma naukowe, jedno po drugim, zmieniały tytuły na takie, w których widniało słowo „molecular”. Sidney Brenner napisał w jednym z felietonów, że w 1990 r. umarły równocześnie komunizm i biochemia. Nie wiem, czy w tym obfitym w wydarzenia roku biochemia rzeczywiście umarła lub, jeśli ktoś woli, zakończyła swoją misję. Wiem za to, że już w kilka lat później można było powiedzieć to samo o biologii molekularnej. Przynajmniej o tej biologii molekularnej, którą w ciągu ostatniego dziesięciolecia praktykowała większość z nas, a która sprowadzała się do identyfikowania, klonowania i charakteryzowania pojedynczych genów. To prawda, stosowaliśmy niezwykłą, innowacyjną metodykę. Ale jeśli idzie o filozofię poznawczą, nasza działalność nie różniła się w gruncie rzeczy aż tak bardzo od szufladkowego podejścia adeptów nieboszczki biochemii. Nadal obracaliśmy się wyłącznie w obszarze własnych wąskich problemów, które teraz opisywaliśmy za pomocą sekwencjonowania odpowiednich genów, nadal stosowaliśmy z pełnym zaufaniem skrajnie redukcjonistyczne podejście do organizmów (w istocie, w ogóle nie biorąc ich pod uwagę), nadal traktowaliśmy ogólną wiedzę biologiczną jako coś abstrakcyjnego w stosunku do przedmiotu naszych badań.

Najnowsza rewolucja przyszła w postaci genomiki. Nie można powiedzieć, by przyszła niepostrzeżenie. Wiedzieliśmy przecież wszyscy o rosnących zasobach sekwencji w bazach danych, korzystaliśmy na co dzień z niezwykle skutecznych narzędzi bioinformatycznych, choćby takich jak programy BLAST czy FASTA,

umożliwiający przypisanie funkcji biologicznej znalezionej sekwencji na podstawie jej homologii do innych sekwencji. Zaskakujące są natomiast głębsze konsekwencje tego, co się tak niedawno zaczęło i co rozwija się w pełni właśnie teraz, wprost przed naszymi oczami. Przypuszczam, że doświadczenia mojej własnej małej grupy badawczej są w tym względzie typowe. Można je odnieść do setek i tysięcy podobnych grup rozsianych po całym świecie.

Od wielu lat przedmiotem naszego zainteresowania są histony, niewielkie zasadowe białka, które wraz z DNA tworzą chromosomy organizmów jądrowych. Techniki biologii molekularnej są wspaniałym narzędziem do badania funkcji tych białek. Mieliśmy dużo szczęścia, okazało się bowiem, że wyłączenie genów kodujących niektóre rodzaje histonów w tytoniu prowadzi do powstania bardzo wyraźnych i niezmiernie ciekawych zmian fenotypowych (wyłączenie pojedynczego genu często nie powoduje wyraźnych zmian w cechach organizmu). Zyskaliśmy zatem konkretny pogląd na to, jakie zjawiska w biologii przedstawiciela roślin kwiatowych wymagają niezakłóconej proporcji interesujących nas białek (PRYMAKOWSKA-BOSAK i współaut. 1996, 1999). Taka wiedza umożliwia planowanie bardzo interesujących doświadczeń, pozwala też na pewne uogólnienia dotyczące ewolucji funkcji histonów. Jednak każdy kto zajmuje się podobnymi badaniami wie, jak trudno zbudować wiarygodny model, który wyjaśnia molekularne podłoże skomplikowanego zjawiska biologicznego. Wielość interakcji między białkami, redundancja szlaków sygnałowych i regulacyjnych, różne rozwiązania tych samych problemów spotykane nawet u blisko spokrewnionych gatunków — te wszystkie, znane nam dobrze, właściwości organizmów czynią je bardzo niewdzięcznym obiektem modelowania. W wypadku opisanych wyżej wyników dotyczących histonów tytoniu, czeka nas długa praca polegająca na szczegółowej analizie zmian w molekularnym tle zaobserwowanej aberracji fenotypowej i ustalaniu istniejących między tymi zmianami relacji przyczynowo-skutkowych. W trakcie prac nad histonami w tytoniu, rozpoczęliśmy także badania dotyczące molekularnych mechanizmów regulujących dostępność DNA chromosomowego dla białek o różnej funkcji. Tym razem, jako obiekt badań wybraliśmy rzodkiewnik (*Arabidopsis thaliana*), małą roślinę kwiatową bez znaczenia gospodarczego, za to o ogromnym znaczeniu w biologii roślin. Rzodkiewnik był jednym z pierwszych organizmów modelowych, których genomy miały być w całości sekwencjonowane. Decydując się na ten obiekt, braliśmy oczywiście ten fakt

pod uwagę, jednak — jeśli mam być szczery — nie zdawaliśmy sobie do końca sprawy z tego, co on oznacza. Ostatni rok wiele nas nauczył. Pierwsze osiągnięcie, z którego byliśmy bardzo dumni, polegało na zidentyfikowaniu w rzodkiewniku kluczowego białka, wchodzącego w skład dużych wielo-białkowych kompleksów zdolnych do udostępniania DNA chromosomów dla transkrypcji (BRZESKI i współaut. 1999). Na ten wynik złożyły się liczne i pracochłonne doświadczenia polegające na klonowaniu genów, mikrosekwencjonowaniu ich białkowych produktów, uzyskiwaniu przeciwciał, czyszczeniu dużych kompleksów białkowych i manipulacjach aktywnością odpowiednich genów w roślinach. Jednak początkiem tego wszystkiego była analiza niekompletnego jeszcze, ale już bardzo pokaznego zbioru danych zawierającego sekwencje genów rzodkiewnika. Poszukując sekwencji homologicznych do scharakteryzowanych już pod względem funkcji genów z drożdży i z *Drosophila* prędko uchwyciliśmy ślad właściwego genu rzodkiewnika. Od tego czasu wypadki zaczęły się toczyć bardzo szybko. Szukując białek, które mogą oddziaływać z produktem zidentyfikowanego przez nas genu wpadliśmy na trop prowadzący do aparatu odpowiedzialnego za metylację DNA oraz do aparatu odpowiedzialnego za integrację do genomu obcego DNA. Te wyniki miały sens. U człowieka, białko homologiczne do tego, które zidentyfikowaliśmy w rzodkiewniku, jest odpowiedzialne za kontrolę włączania DNA wirusa HIV do genomu. W międzyczasie, wspólnie z laboratorium w Purdue w USA, wykazaliśmy, że znaleziony przez nas białkowy element kompleksu regulującego dostępność chromosomowego DNA oddziałuje wysoce specyficznie z białkiem z rzodkiewnika, które jest odpowiednikiem białek z grup Trithorax i Polycomb u *Drosophila*. Białka te pełnią kluczową rolę w systemie aktywacji i represji genów homeotycznych kontrolujących rozwój zarodkowy *Drosophila*. Ważnych informacji było więcej niż mogliśmy przetrwać. Cała ta sytuacja stanowi dobry przykład na to, że analiza funkcjonalna skupiająca się na pojedynczym genie, a nawet na pojedynczej grupie genów, jest dalece niewystarczająca, co więcej, musi prowadzić do wniosków o wątpliwej wartości biologicznej. Ogrom dostępnej już informacji sekwencyjnej sprawił, że praca polegająca na szufladkowaniu straciła sens. Co więc należy robić? W wypadku naszego białka z rzodkiewnika, nie zaprzestając wysiłków zmierzających do oczyszczenia rzeczywistego kompleksu, rozpoczęliśmy także jego rekonstrukcję *in silico*. To podejście polega na poszukiwaniu oddziałujących z sobą białek w przestrzeni obejmującej

około 300 tysięcy znanych dziś sekwencji białkowych. Najcenniejszych informacji dostarcza porównanie białek z organizmów, których genomy zostały już zsekwencjonowane w całości. Poszukiwania nie mogą być oparte wyłącznie na homologiach sekwencyjnych, bo oddziałujące białka rzadko są homologami. Trzeba tu wykorzystać znacznie szerszą wiedzę dotyczącą biologii, a także ewolucyjnej historii analizowanych organizmów. Identyfikacja kompleksów białkowych, to jednak dopiero początek drogi. Prawdziwe wyzwanie stanowi ustalenie ich roli fizjologicznej.

Nie uda się tego dokonać bez analizy powiązań w obrębie całego genomu, a właściwie całego proteomu (suma wszystkich rodzajów białek danego organizmu). Chcąc nie chcąc, wkraczamy więc w świat analizy globalnej. Rozwiązanie problemu biologicznej roli konkretnego białka lub białkowego kompleksu (np. takiego, jak opisany wyżej kompleks z rzodkiewnika), wymaga przeanalizowania aktywności wszystkich genów danego organizmu w jak największej ilości pojedynczych, różniących się od siebie stanów fizjologicznych i morfologicznych. Technologia umożliwiająca taką analizę rozwija się w oszałamiającym tempie. Jej podstawowym elementem są mikrochipy (ang. DNA microarrays) — płytki zawierające wszystkie lub większość genów danego organizmu. Dzięki nim (i odpowiedniej technologii ich odczytywania) wystarczy dysponować preparatem mRNA, aby uzyskać profil wszystkich czynnych w danym momencie genów. Te płytki, zarówno w sensie dosłownym, jak i w przenośni, reprezentują genom *in silico*. Od pewnego czasu nasz projekt

badawczy w coraz większej mierze zależy od dostępności informacji o profilach ekspresji wszystkich genów rzodkiewnika w różnych częściach, stanach fizjologicznych i etapach rozwojowych tej rośliny. Nie mamy jednak złudzeń. Interpretacja danych o globalnych aktywnościach genomu wykracza poza możliwości zwykłego biologa. To świat wielopoziomowych skomplikowanych zależności. Jego analiza i przetworzenie na język zrozumiały dla biologa wymaga twórczego współdziałania specjalistów od logiki, informatyki, a może i kilku innych dyscyplin (np. inżynierii). Oznacza to, że biologia jako wyłączna dziedzina biologów skończyła się.

Interesujące, jak daleko odeszliśmy od niedawnego jeszcze wkładania problemów do osobnych szufladek. Kwestie, które jeszcze wczoraj wydawały się nam zbyt ogólne lub zbyt filozoficzne, by je w ogóle rozważać — jak choćby przydatność metody redukcjonistycznej w biologii — dziś stają się kwestiami praktycznymi. Coraz pilniej potrzebna jest odpowiedź na pytanie: czy analiza informatyczna jest w stanie rozwiązać odwieczny dylemat biologii — zanikanie istotnych właściwości biologicznych w miarę rozkładania organizmów na coraz drobniejsze części? Biologia staje się zwolna gigantyczną bazą danych, a nasz wysiłek intelektualny skupia się w coraz większym stopniu na opłataniu tej bazy siecią narzędzi analitycznych, za pomocą których będzie można zadawać pytania i uzyskiwać odpowiedzi.

Zakładając, że tempo zmian w biologii nie osłabnie, najciekawsze wydaje mi się pytanie, czym będę się zajmował za 10 lat?

LITERATURA

- PRYMAKOWSKA-BOSAK M., PRZEWŁOKA M., IWKIEWICZ J., EGIERSZDORFF S., KURAS M., CHAUBET N., GIGOT C., SPIKER S., JERZMANOWSKI A., 1996. *Histone H1 overexpressed to high level in tobacco affects certain developmental programs but has limited effect on basal cellular functions*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 10250–10255.
- PRYMAKOWSKA-BOSAK M., PRZEWŁOKA M. R., ŚLUSARZYK J., KURAS M., LICHOTA J., KILIAŃCZYK B., JERZMANOWSKI A., 1999. *Linker histones play a role in male meiosis and the development of pollen grains in tobacco*. The Plant Cell 11, 2317–2329.
- BRZESKI J., PODSTOLSKI W., OLCZAK K., JERZMANOWSKI A., 1999. *Identification and analysis of the Arabidopsis thaliana BSH gene, a member of the SNF5 gene family*. Nucleic Acids Res. 27, 2393–2399.