

Struktura genomu

PAWEŁ GOLIK
Instytut Genetyki i Biotechnologii, Wydział Biologii,
Uniwersytet Warszawski, Instytut Biochemii i Biofizyki,
Polska Akademia Nauk, Warszawa
pgolik@igib.uw.edu.pl

Kombinacje z klocków Lego

O odczytywaniu i zadaniach genomu mówi prof. dr hab. Paweł Golik, który zajmuje się m.in. badaniem roli kodowanych jądrowo białek zaangażowanych w metabolizm RNA w mitochondriach, a także wykorzystaniem drożdży do modelowania ludzkich chorób związanych z zaburzeniami jądrowej kontroli ekspresji genomu mitochondrialnego

Academia: Na jakich poziomach możemy mówić o strukturze genomu?

Paweł Golik: Na bardzo wielu. Najbardziej podstawowy to tzw. struktura pierwszorzędowa, czyli po prostu ciąg (sekwencja) nukleotydów, które kodują informację genetyczną. U prostych organizmów, takich jak bakterie czy drożdże, genom składa się z genów kodujących białka albo RNA, wyposażonych dodatkowo w sekwencje regulujące ich funkcjonowanie. Struktura pierwszorzędowa jest znacznie bardziej skomplikowana w złożonych genomach, takich jak ludzki, gdzie geny stanowią tylko niewielki procent sekwencji DNA, a cała reszta to ogromne obszary niekodujące. Wśród naukowców ciągle nie ma zgody, jaką pełnią one funkcję. Niektórzy uważają je za „śmie-

ciowe DNA” pozbawione funkcji, inni twierdzą, że prawie całe to niekodujące DNA jest regulacyjne. Prawda zapewne leży gdzieś pośrodku.

Muszą też istnieć struktury wyższego rzędu.

Drugi poziom organizacji genomu to jego ułożenie przestrzenne i tutaj mamy do czynienia ze strukturą w znaczeniu dosłownym. Od dawna wiadomo, że DNA w komórce jest ponawijane na różne białka. W skomplikowanych genomach, takich jak ludzki, sposób tego nawinięcia wpływa na funkcjonowanie genów. Jądro komórkowe, w którym znajduje się genom, to także bardzo uporządkowana struktura – określone geny znajdują się w konkretnych rejonach, a kiedy dany gen jest potrzebny, przemieszcza się we właściwy



Jakub Ostrowski

obszar jądra. W tak samo zorganizowany sposób w określonych miejscach przebiega przepisywanie DNA na RNA i jego transport do cytoplazmy.

W tradycyjnym ujęciu biochemicznym komórkę wyobrażano sobie jako rodzaj zupy, w której pływają poszczególne składniki.

Tak było. Rozbijano komórkę na kawałki, izolowano z niej białka, DNA lub inne elementy i próbowano odtworzyć ich funkcjonowanie w probówce. Czasami się to udawało, czasami nie. Stąd się pewnie wzięło wyobrażenie, że w komórce wszystko sobie pływa. Ale w ten sposób tracono informację o strukturach wyższego rzędu. Dopiero od pewnego czasu rozumiemy, że komórka to gęsta i ściśle zorganizowana na wszystkich poziomach struktura – od sekwencji DNA do struktury przestrzennej w trzech wymiarach.

Żeby przybliżyć hierarchiczną organizację w biologii, lubię korzystać z analogii do Lego. Chodzi o zestawy dawnego typu, które składały się z raptem kilku czy kilkunastu rodzajów klocków. Tworząc odpowiednie kombinacje, można z nich było zbudować właściwie wszystko, co tylko wyobraźnia podpowiedziała. Nowe struktury i funkcje powstawały nie przez zakup nowego, specjalnego klocka, ale przez nowe ułożenie starych klocków.

Ta analogia widoczna jest w biologii w wielu miejscach, na przykład kwasy nukleinowe DNA czy RNA zbudowane są z czterech klocków (nukleotydów), które po połączeniu w długie sekwencje tworzą praktycznie nieograniczoną liczbę kombinacji. Tak samo jest z białkami. Ich budulec stanowi 20 aminokwasów, co daje tak wiele możliwości, że gdybyśmy spróbowali zsyntetyzować wszystkie kombinacje aminokwasów w białku średniej wielkości (300 aminokwasów), zabrakłoby nam atomów we Wszechświecie. Ułożenie aminokwasów w białku to struktura pierwszorzędowa, a za nią idzie oczywiście struktura przestrzenna – zwijają się one w kilka-kilkanaście typowych struktur, takich jak helisy, fałdy, które z kolei tworzą domeny, a domeny, łącząc się w różne kombinacje, tworzą białka.

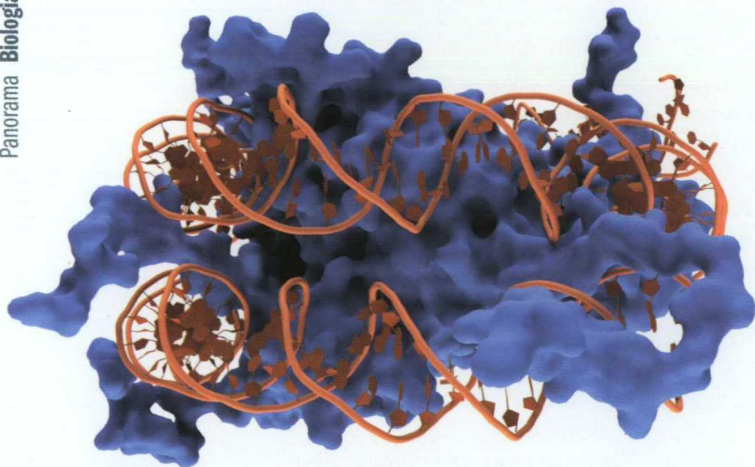
Jak wiedza o strukturze genomu przekłada się na zrozumienie jego funkcjonowania?

Do tej pory udało się wypracować dość dobre pojęcie o tym, jak działa pojedynczy gen i jak jest zbudowany. Wiele jednak pozostało do odkrycia. Największym wyzwaniem jest przejście od opisu pojedynczego genu do zrozumienia wzajemnego oddziaływania 20 tysięcy genów wchodzących w skład genomu człowieka. Jest to prawdziwe wyzwanie, bo nawet tak prosta cecha jak wzrost zależy od współdziałania 150-200 genów. Tutaj nie wystarczy zwykły opis, potrzebna jest współpraca z matematykami i solidna teoria, która pozwoli te interakcje prześledzić. Obecnie dysponujemy praktycznie nieograniczonymi możliwościami, jeśli chodzi o sekwencjonowanie, czyli odczytywanie genomu. Ale terabajty danych nie wystarczą. Żeby zrozumieć ten zapis, potrzebujemy opisu teoretycznego, systemowego i tutaj dopiero biologia zaczyna stawiać pierwsze kroki.

Na dodatek genom jądrowy to niejedyny źródło informacji genetycznej w komórce.

Komórki eukariotyczne są ewolucyjną mozaiką. Nawet na obrazku w szkolnym podręczniku można zobaczyć, że są to złożone struktury. Zawierają różne organella, a niektóre z nich, takie jak mitochondria czy chloroplasty u roślin, mają własny genom. Jego obecność doprowadziła naukowców do hipotezy, że organella te były kiedyś odrębnymi organizmami, które dawno temu weszły w symbiozę z komórką gospodarza. Genom mitochondrialny jest szczątkowy, ponieważ większość zawartej w nim informacji przez miliardy lat ewolucji została utracona albo zastąpiona przez funkcje kodowane w jądrze. Ciągle jeszcze jednak koduje

Struktura genomu



DNA (pomarańczowe) związane z białkami histonowymi (niebieskie), które stanowią „rusztowanie” do przechowywania DNA w jądrze komórkowym

on kilkanaście-kilkadziesiąt białek, w większości zaangażowanych w oddychanie komórkowe. Co ciekawe, nie jest to ich najważniejsza funkcja, ponieważ niektóre organizmy mogą oddychać beztlenowo i mogą sobie nawet poradzić z utratą DNA mitochondrialnego (np. mutanty *petite* drożdży). Najważniejszą funkcją mitochondriów, bez której żadna komórka nie potrafi się obejść, jest produkowanie tak zwanych grup żelazowo-siarczkowych, które są niezbędnym elementem wszystkim enzymów komórkowych.

Geny mitochondrialne są regulowane przez genom jądrowy. Genom mitochondrialny u człowieka ma zaledwie 16 tysięcy par zasad, czyli tyle, ile ma średniej wielkości pojedynczy gen jądrowy. W związku z tym uprościły się też w nim sekwencje regulujące włączanie lub wyłączenie genu i cały ciężar regulacji działania tych genów spoczywa na importowanych z cytoplazmy białkach kodowanych przez genom jądrowy. Właśnie tym zagadnieniem zajmuje się mój zespół badawczy. Genom mitochondrialny ewoluje bardzo szybko. Jądrowy musi za tymi zmianami nadążyć. Wydaje się, że w niektórych grupach organizmów ten proces może być motorem ewolucji i napędzać powstawanie nowych gatunków.

W centrum uwagi biologów molekularnych w ostatnich latach znajdują się tzw. małe RNA. Czym są te cząsteczki i jaką pełnią funkcję? Klasyczny obraz biologii molekularnej dawał RNA rolę pośrednika między DNA a białkiem, co Francis Crick trochę niefortunnie nazwał centralnym dogmatem biologii molekularnej. Ta funkcja RNA się nie zmieniła, ale okazało się, że jest też wiele innych. W początkach lat 80. XX wieku odkryto rybozomy i okazało się, że DNA może mieć aktywność enzymatyczną. Wtedy pojawiła się koncepcja mówiąca o tym, że na samym początku ewolucji życia RNA był jednocześnie materiałem genetycznym niosącym informację

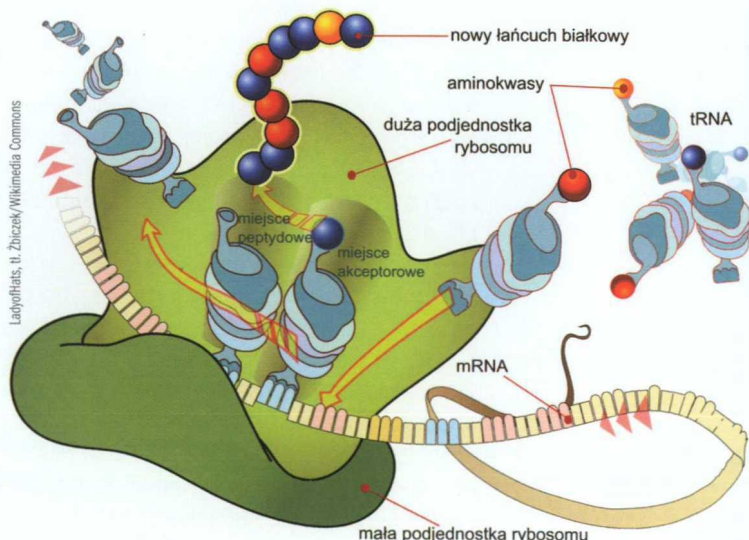
i enzymem, który ją realizował. Dopiero później funkcje te zostały podzielone na DNA i białka.

U człowieka, u którego są 20-22 tysiące genów kodujących białka, a różnych białek co najmniej 100 tysięcy, sekwencji białka na podstawie sekwencji DNA przewidzieć się nie da. Ale u prostych organizmów, za pomocą komputera, już tak. Geny są podzielone na segmenty zwane eksonami i intronami. W procesie transkrypcji introny są usuwane po przepisaniu DNA na RNA, a eksony składane ze sobą i następnie na ich podstawie powstaje białko. To składanie nie zawsze odbywa się w ten sam sposób. Różne fragmenty transkryptu mogą być wycięte jako introny albo pozostają w nim jako eksony i dzięki temu z jednego kawałka DNA może powstać wiele różnych RNA i w rezultacie wiele różnych białek.

Ten proces to wyjątek czy reguła?

Do niedawna sądzono, że wyjątek. Ale teraz wiadomo, że podlega mu ponad 90% genów. Widać więc, że zdezaktualizowała się definicja genu jako odcinka DNA kontrolującego powstawanie jednego produktu. Z jednego genu może powstać dwa, trzy, a nawet dziesięć tysięcy różnych białek. Żeby zrozumieć złożoność informacji genetycznej u zwierząt czy u roślin wyższych, należy więc patrzeć nie na geny, tylko na różne RNA, na różne transkrypty. Do tego dochodzi kwestia regulacji działania genów. Kiedyś uważano, że służą do tego wyłącznie białka regulatorowe, ale pod koniec XX wieku okazało się, że istnieje cały system regulacyjny oparty na tzw. mikroRNA. One są kodowane w obszarach genomu uważanych wcześniej za „śmieciowe”. Działają zwykle przez wyciszenie działania genu albo przez degradację

Rybosom RNA (rRNA) połączony z białkami tworzy rybosom, który pełni funkcję enzymatyczną i służy do tworzenia w komórce białek w procesie translacji. W rybosomie białko jest budowane na podstawie matrycy mRNA z aminokwasów dostarczanych przez tRNA (transportowe RNA)





Nukleosom to jednostka strukturalna chromatyny, czyli DNA związanego z białkami – w taki sposób materiał genetyczny jest przechowywany w jądrze komórkowym

mRNA i zablokowanie translacji. Istnieją jednak także małe RNA modyfikujące strukturę chromatyny, czyli oddziaływania DNA z białkami strukturalnymi. Każdy mikroRNA działa na setki albo na tysiące różnych genów, a każdy gen podlega kontroli wielu różnych mikroRNA.

Na krótkich RNA historia się kończy?

Nie. Dzięki metodom pozwalającym na wykrycie małych ilości niestabilnych RNA pokazano, że ogromna część genomu jest aktywna i podlega przepisywaniu na RNA. W klasycznym obrazie na RNA miały być przepisywane tylko geny, a obszary między nimi – nie. Tymczasem odkryto tak zwane długie niekodujące RNA powstające w wyniku transkrypcji obszarów międzygenowych. Czy pełnią one jakąś funkcję? Wydaje się, że przynajmniej niektóre z nich mogą uczestniczyć w regulacji, ale tutaj jeszcze wiele zostało do odkrycia.

Czy wielkość genomu odpowiada jego złożoności?

Początkowo myślano, że złożoność organizmu zależy od liczby genów. Genom człowieka ma 3 miliardy nukleotydów, a bakterii 4 miliony, a więc człowiek jest bardziej skomplikowany, bo ma więcej DNA. Ale na przykład płazy ogoniaste mają sto razy więcej DNA niż człowiek, a najwięcej ze wszystkich organizmów ilościowo mają niektóre ameby. Wydaje się więc, że nie jest ważna ilość DNA, ale złożoność mechanizmów ich kontroli. Niektóre pierwotniaki mają więcej genów niż ludzie, bo mają prostsze mechanizmy regulacji i tam, gdzie nam wystarczy jeden, one potrzebują dwóch wyspecjalizowanych. U zwi-

erząt są to systemy bardziej wyrafinowane, ale przez to niesłychanie delikatne, co widać w przypadku niektórych chorób. W zespole Downa nie jest uszkodzony żaden gen. Chory ma po prostu jeden chromosom za dużo i to wystarczy, żeby cały mechanizm regulacyjny nie działał prawidłowo.

W przypadku roślin zaś możemy praktycznie dowolnie zmieniać liczbę chromosomów. Większość organizmów wyższych jest diploidalna, czyli ma dwie kopie każdego chromosomu, ale pszenica ma sześć albo cztery w zależności od odmiany, a tatarak może mieć aż osiem zestawów chromosomów. Zauważył to też pionier polskiej genetyki profesor Waław Gajewski. W latach 30. XX wieku badał jaskry i odkrył, że rośliny o podobnym wyglądzie mogą bardzo się różnić pod względem liczby chromosomów.

Jakie wyzwania stoją przed biologią, kiedy weźmie się pod uwagę tę wiedzę?

Ewolucja chodzi różnymi drogami i wiele zależy właśnie od regulacyjnych systemów wyższego poziomu. Zadaniem biologii XXI wieku jest ich zrozumienie – przejście od opisu poszczególnych cegiełek do opisu całych budowli. Nie damy sobie rady sami, potrzebujemy pomocy matematyków, fizyków, którzy z teorią złożoności borykają się trochę dłużej od biologów. Jeśli więc ktoś chciałby dziś zostać biologiem, nie może zaniedbywać matematyki i fizyki, bo czasy opisu pojedynczych elementów się kończą. Musimy przejść do opisu systemowego. A tu sobie bez teorii nie poradzimy. ■

Rozmawiała Agnieszka Kloch