

Badania modelowe nad procesem starzenia się

Cykle życia, cykle śmierci



Profesor Grzegorz Bartosz jest kierownikiem katedry Biofizyki Molekularnej na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego oraz członkiem prezydium Komitetu Biochemii i Biofizyki PAN. Wykłada też na Uniwersytecie Rzeszowskim. Od lat zajmuje się popularyzacją nauki, pisząc między innymi do „Wiedzy i Życia”

GRZEGORZ BARTOSZ
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki, Łódź
Komitet Biochemii i Biofizyki
Polska Akademia Nauk
gbartosz@biol.uni.lodz.pl

Identyfikacja genów długowieczności drożdży może być podstawą do badania ortologów tych genów u człowieka. Czy drożdże okażą się doskonałym organizmem modelowym do badań gerontologicznych?

Dlaczego się starzejemy? Czy ten proces jest nieuchronny, czy można go zatrzymać lub wręcz cofnąć? Te pytania nurtowały człowieka od tysiącleci, jednak dopiero pod koniec XIX wieku starzenie się stało się przedmiotem badań naukowych. Udzielenie odpowiedzi na postawione pytania okazało się nielatte. Jedną z przeszkód, jakie napotyka nauka o starzeniu się – gerontologia, zainteresowana głównie starzeniem się człowieka, jest długi czas życia obiektu obserwacji – nas samych. Można badać proces starzenia się, porównując ludzi w różnym wieku. Prowadzone są badania osób dożywających bardzo sędziwego wieku zmierzające do określenia, jakie czynniki mogą przyczyniać się do długowieczności. Jednak oczywiste są ograniczenia tego podejścia metodycznego. Porównujemy osoby, których życie przebiegało w różnych warunkach, na które miały wpływ odmienne zwyczaje dietetyczne i dostępność żywności. Znacznie bardziej wartościowe i jednoznaczne wyniki mogłyby przynieść badania grupy osób od narodzenia do zgonu. Takie badania wymagałyby jednak współpracy kilku pokoleń badaczy, a niezależnie od tej trudności nawet ich planowanie jest nierealne. W ciągu kilkudziesięciu, a tym bardziej ponad stu lat nie tylko metodyka badań, lecz także poziom zrozumienia zjawisk zachodzących w komórkach i organizmach zmienia się na tyle, że założenia projektu badawczego wkrótce stałyby

się archaiczne i dla następnych pokoleń badaczy miałyby znaczenie głównie muzealne.

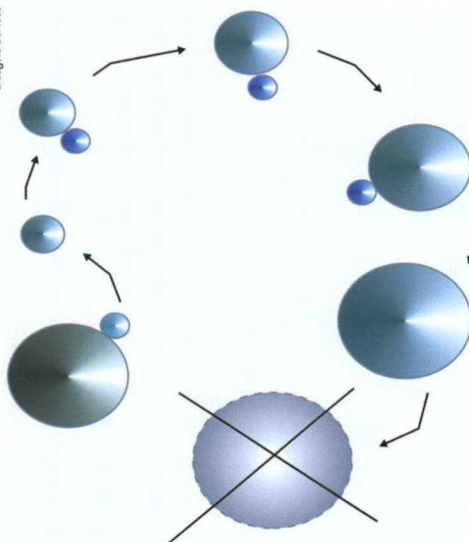
Organizmy modelowe

Tę trudność gerontologii można obejść, zmieniając obiekt badań i analizując starzenie się organizmów modelowych. Decydując się na takie podejście, zakładamy, że mechanizmy starzenia się są podobne u różnych organizmów, a wnioski będzie można odnieść do człowieka.

Najbardziej oczywistymi organizmami „zastępczymi” wydają się gryzonie laboratoryjne żyjące znacznie krócej niż człowiek (około 3 lat). Niestety, niewystarczająco krótko: kilka lat to dla współczesnej biologii, w której w każdym roku dzieje się wiele, okres bardzo długi. Do tego dochodzi kwestia, o której ponoć nie rozmawiają dzentelmeni: badania gerontologiczne prowadzone na dużej liczbie gryzoni przez cały (oby zresztą jak najdłuższy) okres ich życia są po prostu bardzo kosztowne. Te względy decydują o stosowaniu bardziej odległych, lecz wygodniejszych organizmów modelowych: ryby danio (*Danio rerio*), muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*) czy nicienia (*Caenorhabditis elegans*).

Ostatnio popularność zyskał jeszcze jeden, bardzo prosty organizm modelowy: drożdże

Grzegorz Bartosz



Cykl życiowy komórki *Saccharomyces cerevisiae* rozpoczyna się od stadium nowo utworzonego pączka. Nowa komórka produkuje komórki kolejnej generacji, ciągle zwiększając swoją objętość, wreszcie traci zdolność do dalszego pączkowania i umiera



Gert-Jan Kappert, www.sxc.hu

Prowadzone są badania osób dożywających sędziwego wieku zmierzające do określenia, jakie czynniki mogą przyczynić się do długowieczności. Niestety, nie jest to doskonała metoda badawcza

piekarnicze *Saccharomyces cerevisiae*. Laikowi pomysł użycia drożdży w charakterze obiektu badań zmierzających do wyjaśnienia mechanizmów starzenia się człowieka może wydać się zupełnie niezrozumiały. Mamy przecież do czynienia z organizmem jednokomórkowym, który sprawia wrażenie nieśmiertelnego. Wszyscy, którzy mieli do czynienia z praktycznym zastosowaniem drożdży – czy to do sporządzenia ciasta drożdżowego, czy też do domowego wyrobu wina – wiedzą, że nie ma problemu z pozyskaniem preparatu komórek drożdży, które po wrzuceniu do odpowiedniej pożywki szybko zaczną się rozmnażać. Podobnego zdania byli do niedawna mikrobiolodzy namnażający drożdże pobrane z zamrożonej hodowli. Taka procedura może być powtarzana w nieskończoność. Gdzie tu jest miejsce dla starzenia się, które byłoby odpowiednikiem starzenia się człowieka?

Drożdże zamiast myszy?

Drożdże piekarnicze rozmnażają się przez pączkowanie: na komórce-matce wyrasta mniejsza od niej komórka-córka, oddziela się od niej i rozpoczyna samodzielne życie. Pączkowanie wiąże się z równym podziałem genomu, lecz nierównym podziałem cytoplazmy pomiędzy matkę i córkę. Przed półwieczem wykazano, stosując żmudną procedurę obserwacji mikroskopowej pojedynczych pączkujących komórek drożdży, że zdolność komórki *S. cerevisiae* do wytwarzania pączków jest ograniczona. Komórka może wyprodukować kilkadziesiąt pączków, potem staje się niezdolna do pączkowania i po pewnym czasie umiera. Każda komórka w populacji drożdzy

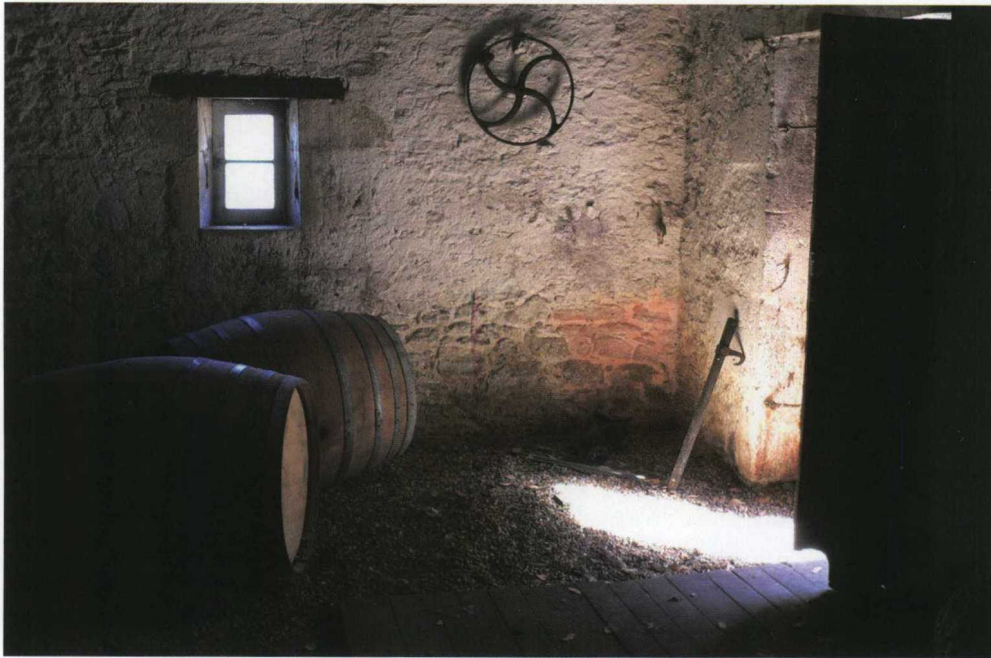
rozpoczyna swój cykl życiowy jako nowo utworzony pączek, po osiągnięciu pewnej minimalnej wielkości zaczyna sama pączkować, by wreszcie po dokonaniu ograniczonej liczby podziałów dojść do kresu możliwości podziałowych. Wykres frakcji komórek zdolnych do wykonania kolejnego podziału jest bardzo podobny do wykresu przeżywalności populacji ludzkich. Możliwości funkcjonalne komórek drożdży zmieniają się w czasie. To odpowiada definicji procesu starzenia się. Jest to *starzenie replikacyjne*. Parametrem określającym „wiek biologiczny” komórki jest liczba dokonanych podziałów. Nie wyklucza to, że cała populacja *Saccharomyces* jest wciąż w pewnym sensie nieśmiertelna. Cecha ograniczenia zdolności podziału nie jest bowiem dzielona równo między komórki potomne. W optymalnych warunkach laboratoryjnych komórki drożdży (póki mogą) dzielą się ciągle. W efekcie ich populacja składa się głównie z młodych pączków i komórek, które dokonały jednego-dwóch podziałów. Frakcja komórek dobiegających kresu swych możliwości podziałowych jest znikoma i nie ma wpływu na losy populacji.

Matki i córki

Co decyduje o tym, że każde pączkowanie zmniejsza dalsze możliwości podziałowe komórki-matki? Komórka drożdżowa otoczona jest ścianą komórkową. Ściana musi ulec strawieniu w miejscu tworzenia się pączka. Po oddzieleniu się komórki-córki wyrwa w ścianie jest wypełniana materiałem zawierającym chitynę, pozostawiając bliźnię podziałową. W tym miejscu nie może utworzyć się następny pączek. W zapelnieniu ściany bli-

Badania modelowe nad procesem starzenia się

Każdy, kto kiedykolwiek stosował drożdże do sporządzenia ciasta lub domowej roboty wina, wie, że nie ma problemu z pozyskaniem preparatu komórek drożdży, które po wrzuceniu do odpowiedniej pożywki rozmnażają się szybko. Taka procedura może być powtarzana w nieskończoność



John Evans, www.ssc.hu

znami upatrywano przyczyny ograniczenia zdolności podziałowych. Hipoteza okazała się nietrafna. Kolejni badacze postulowali nierówny podział pomiędzy matkę i córkę „czynnika starzenia”. Część badaczy jest skłonna identyfikować go z kolistymi pozachromosomalnymi fragmentami rDNA, których liczba zwiększa się z każdym podziałem komórki, i które – poprzez wiązanie czynników transkrypcyjnych – mogą zapewne ograniczać, a w końcu uniemożliwiać dalsze funkcjonowanie komórki. Obserwowano jednak sytuacje, w których gromadzenie pozachromosomalnych fragmentów rDNA jest nieznaczne, a mimo to komórki drożdży starzeją się replikacyjnie. Inna intrygująca obserwacja dotyczyła nierównomiernego podziału między matkę i córkę oksydacyjnie uszkodzonych białek. W każdej komórce powstają reaktywne formy tlenu, które uszkadzają między innymi białka. Podczas pączkowania znakomita większość oksydacyjnie uszkodzonych białek pozostaje w komórce-matce. W tym nie do końca jasnym mechanizmie uczestniczy cytoskielet i białka opiekuńcze.

Oprócz starzenia replikacyjnego drożdże mogą się starzeć chronologicznie. Gdy populacja wyczerpie dostępne składniki odżywcze, komórki przestają się dzielić i stopniowo zamierają. Odsetek komórek żywych zmniejsza się w czasie. Wielu badaczy uważa, że o ile starzenie replikacyjne jest odpowiednikiem starzenia się komórek naszego organizmu

zdolnych do podziałów, o tyle starzenie chronologiczne może modelować starzenie komórek niedzielających się (jak komórki mięśniowe czy neurony).

Idealne dla badaczy?

Jeśli założymy, że główne mechanizmy starzenia się – podobnie jak kod genetyczny czy szlaki metaboliczne – są zasadniczo takie same u wszystkich organizmów, w przypadku drożdży mamy do czynienia z organizmem, którego cykl życiowy zamyka się w kilkudziesięciu godzinach. W dodatku ma prosty genom (około 6000 genów) o znanej strukturze, jego hodowla jest łatwa i tania, łatwo można na nim wykonywać manipulacje genetyczne, a eksperymenty nie budzą obiekcyj natury etycznej. Najciekawsza w badaniach gerontologicznych wydaje się identyfikacja genów wpływających na długość życia i zachowanie sprawności funkcjonalnej. Drożdże mogą być idealnym obiektem dla tego typu badań przesiewowych, a potem bardziej szczegółowych, obejmujących cały genom. Identyfikacja genów długowieczności drożdży może być podstawą do badania wpływu ortologów tych genów u organizmów wyższych, w tym człowieka. Oczywiście prawdopodobna jest sytuacja, że znaczącymi determinantami długości życia człowieka są geny nieobecne w drożdżach. Jednak badania drożdży powinny pozwolić na ocenę roli znacznej części genomu w tym zakresie. Badania droż-

dzy zwróciły m.in. uwagę na możliwy wpływ sirtuin (deacetylaz histonowych) na długość życia organizmów. Rezweratrol, związek, któremu przypisuje się korzystne właściwości zdrowotne czerwonego wina, wydłuża replikacyjną długość życia komórek drożdży, stymulując aktywność sirtuin.

Szczypta soli

Być może użycie drożdży jako organizmu modelowego w badaniach gerontologicznych przyniesie informację dotyczącą tylko starzenia się... drożdży. Badania zespołu kierowanego przez profesora Tomasza Bilińskiego, z którym mam przyjemność współpracować, wykazały, że pokrewne szczepy drożdży różniące się obecnością lub brakiem istotnych enzymów ochrony antyoksydacyjnej i w związku z tym liczbą podziałów, których mogą dokonać, przestają się dzielić po osiągnięciu tej samej objętości końcowej. Może więc nie istnieje żaden „czynnik starzenia”, a mechanizmem ograniczającym podziały jest po prostu osiągnięcie przez komórkę-matkę zbyt dużej objętości. Wzrost komórki-matki wytwarzającej pączki jest nieuchronny. Jeśli podziały są rzadsze, komórka-matka rośnie szybciej i szybciej osiąga objętość graniczną. Jeśli nie ma innego „czynnika starzenia” drożdży poza wzrostem objętości, to przesiewowe poszukiwania genów wpływających na „replikacyjną długość życia” doprowadzą głównie do identyfikacji genów regulujących wielkość, ograniczających komórki o zbyt dużych rozmiarach. Odpowiedniki tych genów także mogą wpływać na długość życia ssaków, ale należy oczekiwać, że wpływ ten będzie jedynie pośredni.

A jednak śmiertelne

Do niedawna sądzono, że symetrycznie dzielące się organizmy jednokomórkowe są nieśmiertelne. Komórki *S. cerevisiae*, obok pantofelka *Paramecium*, jeśli rozmnaża się wegetatywnie, i asymetrycznie dzielącej się bakterii *Caulobacter crescentus*, uważano za jedyne śmiertelne wyjątki. Mikrobiolodzy żartowali, że marzeniem komórki bakteryjnej jest stać się dwiema komórkami bakteryjnymi. Nie ma nieboszczyka – nie ma śmierci. Rozwój populacji bakteryjnej mógłby być opisany drzewkiem dychotomicznie rozgałęziających się odcinków. Ten pozornie oczywisty obrazek został zakwestionowany przed trzema laty, kiedy automatyczna rejestracja mi-

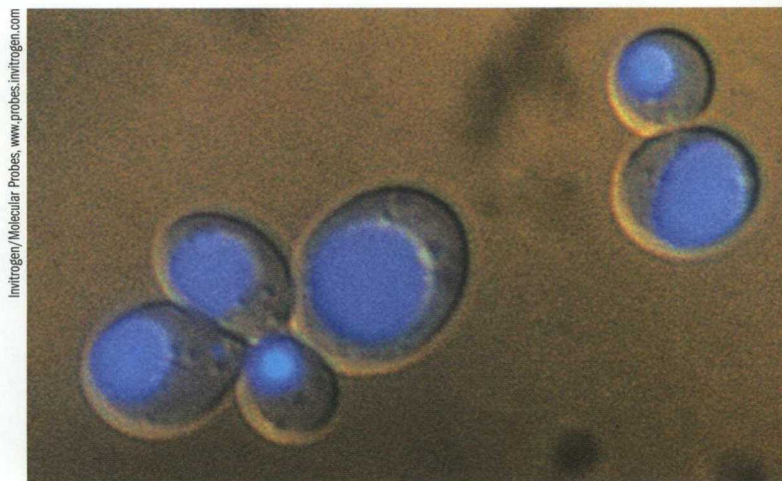
kroskopowa podziałów ponad 30 tysięcy komórek bakterii *Escherichia coli* wykazała, że tempo podziałów komórkowych potomstwa jednej komórki nie jest identyczne. Komórka dzieli się na dwie komórki pozornie identyczne, dzieli się jednak poprzecznie, podobnie jak powstające z niej komórki potomne. Gdy zaznaczymy jeden biegun, widzimy, że odziedziczy go tylko jedna z komórek potomnych. Ściana komórkowa drugiej powstanie w całości drogą biosyntezy *de novo*, podobnie inne elementy, w tym DNA. Obserwacje mikroskopowe ogromnej liczby komórek powstających z jednej komórki bakteryjnej wykazały, że te, które odziedziczyły „stary biegun”, dzielą się wolniej niż te, które nie zawierają „starych” części składowych. Czy podziały jednokomórkowców są więc w pełni symetryczne? Jeśli nie, to rozwój populacji bakteryjnych powinien być opisany przez zbiór cykli życiowych o skończonej długości, podobnie jak w przypadku drożdży.

Jeśli mikroorganizmy jednokomórkowe także skazane są na starzenie się, to biologiczny obraz świata żywego wymaga kolejnej korekty. Trudno powiedzieć, czy przybliży nas ona do wyjaśnienia mechanizmów starzenia się człowieka i czy może mieć znaczenie praktyczne, ale tak już było z niejednym ważnym odkryciem w historii nauki.

Chcesz wiedzieć więcej?

- Zadrag R., Bartosz G., Bilinski T. (2005). Replicative aging of the yeast does not require DNA replication. *Biochem Biophys Res Commun*, 333 (1), 138-41.
- Steinkraus K.A., Kaeberlein M., Kennedy B.K. (2008). Replicative aging in yeast: the means to the end. *Annu Rev Cell Dev Biol.*, 24, 29-54.

Zdjęcie pokazuje komórki drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Krzywe zachowania zdolności do podziału populacji komórek drożdży są podobne do krzywych przeżywalności populacji ludzkich i można je opisać tym samym wzorem



Imitrogen/Molecular Probes, www.probes.imitrogen.com