



TGGGATAGCGACGAGCCAGTCTGCTCTAGACAGACGTAGCATATGGGATAGCGACAGACGACGACGTAGCATATGGGAT

CIEMNOBRĄZOWE PLAMKI na źrenicy mogą być świadectwem działania ukrytego genomu. Pewne cechy są przekazywane nie przez zwykłe geny, lecz na drodze chemicznych modyfikacji chromosomów, które z kolei są częściowo regulowane przez śmieciowy DNA. W przeciwieństwie do mutacji wspomniane modyfikacje są odwracalne i mogą powodować, że określone cechy pojawiają się w niektórych komórkach w innych zaś nie. (Biały krąg na tęczęwce jest odbiciem światła).

*Gdy już wydawało się,
że zagadka DNA
jest rozwikłana,
naukowcy odkryli
w chromosomach
dwa ogromne zasoby
informacji mających
wpływ na dziedziczenie,
rozwój i choroby*

Genomowe klejnoty i śmieci

W. WAYT GIBBS

TGGGATAGCGACGAGCCAGTCTGCTCTAGACAGACGTAGCATATGGGATAGCGACAGACGACGACGTAGCATATGGGAT

Jakieś 20 lat temu

astronomowie doszli do przekonania, że galaktyki

poruszają się w sposób niemożliwy do wyjaśnienia, jeśli wziąć pod uwagę prawa grawitacji i rozkład świecącej materii we Wszechświecie. Musieli się zgodzić, że Wszechświat nie jest aż tak pusty, jak się im zdawało, ale dominuje w nim jakiegoś rodzaju ciemna materia. Choć nikt nie wie, z czego ona się składa ani jakie ma własności, uczeni mogą wnioskować o jej obecności na podstawie wpływu, jaki wywiera na świecąca materię. Próby zrozumienia, czym jest ciemna materia (a ostatnio także ciemna energia), oznaczały korektę lub odrzucenie dotychczasowych teorii. W konsekwencji przyspieszyło to rozwój astrofizyki i kosmologii.

Podobnie dzieje się obecnie w genetyce molekularnej. W tym roku genetycy obchodzili 50 rocznicę odkrycia podwójnej helisy DNA, ponadto ogłoszono „ostateczny szkic” sekwencji DNA człowieka. Wydawało się, że naukowcy posiadli władzę nad DNA. Jednak porównując materiał genetyczny daleko spokrewnionych gatunków i przyglądając się bliżej funkcjonowaniu chromosomów w komórkach, można zauważyć zjawiska niewytłumaczalne w ramach obowiązujących obecnie teorii.

W czasopiśmie i na konferencjach roi się od nowych dowodów, zaprzeczających przyjętemu pojęciu genów jako odcinków DNA kodujących białka. Coraz więcej jest doniesień, że nie są one jedynym źródłem dziedziczności i pełnym zapisem informacji, jak stworzyć życie. Podobnie jak tajemnicza ciemna materia wpływa na los galaktyk, tak niezbadane części genomu sprawują kontrolę nad cechami wszystkich organizmów, od bakterii po ludzi.

Genom jest sceną dla wielu aktorów. Ich role są jeszcze nieznanne, ale wiadomo, że na pewno istnieją co najmniej dwa przykłady informacji zapisanej poza tradycyjnie rozumiany-

mi genami. Jeden z nich to rozległe obszary sekwencji „niekodujących”, występujących w obrębie genów i pomiędzy nimi. Dawno temu opisano je jako nieistotne, ponieważ nie determinują syntezy białek. Jak jednak wytłumaczyć fakt, że wiele z nich nie zmieniło się przez miliony lat ewolucji? Ich stabilność pozwala przypuszczać, że są do czegoś niezbędne. Ten pogląd okazał się słuszny – wiele niekodujących obszarów jest transkrybowanych na RNA, który pełni zdecydowanie więcej funkcji, niż wcześniej sądzili biolodzy. Obecnie część naukowców jest zdania, że tym, co czyni konkretną osobę niepowtarzalną, są różnice w „klejnotach” ukrytych wśród naszego śmieciowego DNA.

W chromosomach znajduje się jeszcze inne źródło informacji. Są to modyfikacje epigenetyczne. Pewne czynniki, zatopione w mieszaninie białek i innych związków chemicznych, otaczają, podtrzymują i lepią się do DNA. Ich oddziaływanie jest na razie tajemnicą. W przeciwieństwie do genów czynniki epigenetyczne są tworzone i usuwane na bieżąco. A zatem nie pozostają na zawsze, a błędy epigenetyczne, wywołujące wady wrodzone, nowotwory i inne choroby (ich lista stale rośnie), mogą być odwracalne. Uwzględniając to, lekarze poddają eksperymentalnym terapiom chorych na białaczkę.

„Badacze powoli zdają sobie sprawę, że wszystko, co może wydarzyć się w genomie, na pewno się wydarzy” – mówi Carmen Sapienza z Temple University, która podjęła badania nad mechanizmami epigenetycznymi, gdy były jeszcze uważane za nieistotne anomalie. Sapienza uważa, że „zbliża się najbardziej interesujący moment w genetyce – zapewne uda się odkryć jakiś podstawowy mechanizm”.

Dogmat się chwieje

MINĄ LATA, a może dziesięciolecia, nim powstanie teoria wyjaśniająca, jak DNA, RNA i mechanizmy epigenetyczne tworzą spójny, ząbający się i samoregulujący system. Nie ma już najmniejszych wątpliwości, że potrzebna jest nowa teoria, która zastąpi dogmat, od lat pięćdziesiątych będący podstawą genetyki molekularnej i biotechnologii

Do tej pory wszystko było proste: DNA koduje RNA, RNA koduje białka, a białka pełnią prawie wszystkie najważniejsze funkcje biologiczne. Informacja przechowywana jest w skręconej drabinie DNA, a konkretnie w zasadach azotowych (powszechnie oznaczanych A, T, G i C), które łączą się w pary, tworząc szczeble tej drabiny. Gen – to zasady występujące po jednej stronie drabiny, w określonej kolejności.

Przegląd / Ukryte geny

- Genetycy przez długi czas byli skupieni na tych fragmentach genomu, które są matrycą dla białek. Pozostała część – u ludzi 98% DNA – była uznawana za śmieci. Jednak odkrycie wielu genów, które kodują jedynie RNA, a nie białka, zmieniło to przekonanie.
- Na ogół geny kodujące tylko RNA są krótkie i trudne do identyfikacji. Mimo to niektóre z nich odgrywają decydującą rolę w rozwoju i zdrowiu roślin i zwierząt.
- Aktywne formy RNA pomagają regulować informację zawartą w czynnikach epigenetycznych. Znajduje się ona w chromosomach, ale poza sekwencją DNA.



DUŻE RÓŻNICE w wyglądzie i zdrowiu organizmów mogą mieć źródło w zmianach małych, nietypowych genów. Rzodkiewnik normalnie ma liście łyczekowatego kształtu (z *lewej*), ale gdy naukowcy zakłócili działanie pewnego mikroRNA, powstałego wyłącznie na podstawie genu zakodowanego w RNA, w zmutowanej roślinie wystąpiły poważne anomalie (z *prawy*). Ten mikroRNA prawdopodobnie kontroluje wiele genów.

Dogmat zakłada, że geny kodują białka. Proces ten przebiega w czterech fazach: najpierw odpowiedni enzym zakotwicza się na chromosomie i przeslizgując się wzdłuż genu, przepisuje jedną z nici DNA na RNA. Następnie wszystkie niekodujące części transkryptu RNA – czyli introny – są usuwane, a to, co pozostanie, składane jest w całość. Tak tworzy się RNA informacyjny. Zawarte w nim dane ruszają z jądra do zasadniczej części komórki, gdzie maszyny molekularne „tłumaczą” je na łańcuchy aminokwasów. W końcu każdy łańcuch skręca się i zwiija do trójwymiarowej postaci białka.

To właśnie kształt czyni białka tak wszechstronnymi. Niektóre tworzą mięśnie i narządy, inne działają jako enzymy, katalizując, metabolizując lub przekazując sygnał. Białka regulują geny, zakotwicząc się w określonych regionach DNA lub RNA. Nic dziwnego, że wielu biologów (i dziennikarzy) uznało, że tylko sekwencje kodujące białka to geny. Oczywiście z nielicznymi wyjątkami.

„Zazwyczaj, gdy pojawiają się informacje, że ludzki genom zawiera około 27 tys. genów, odnosi się to do genów kodujących białka” – podkreśla Michel Georges, genetyk z Uniwersytetu w Liège w Belgii. Nawet biorąc pod uwagę, że liczba ta nie jest ostatecznie ustalona – szacunki wahają się od 20 do 40 tys. genów – wydaje się ona potwierdzać brak wyraźnej zależności pomiędzy liczbą genów danego organizmu a stopniem jego złożoności”. Muszki owocowe mają mniej genów niż robaki obłe, a ryż ma ich więcej niż człowiek – zauważa John S. Mattick, dyrektor Institute for Molecular Bioscience w University of Queensland w Brisbane w Australii. – Jednak ilość niekodującego DNA wydaje się odpowiadać skali złożoności organizmu”.

U organizmów wyższych geny „składają się z fragmentów kodujących białka, oddzielonych od siebie rozległymi obszarami niekodującymi” – wyjaśnia Mattick. Tak naprawdę obszary kodujące stanowią mniej niż 2% ludzkiego DNA zawartego w chromosomach. Musi być jakiś powód, dlaczego

w prawie każdej naszej komórce znajdują się 3 mld nonsensownych par zasad. Mimo to introny „natychmiast zaczęto uważać za ewolucyjne śmieci” – mówi Mattick.

To twierdzenie okazało się zbyt pochopne. „Coraz częściej przyjmuje się, że istnieje duży zbiór genów, które ewidentnie są funkcjonalne, choć nie kodują żadnych białek”, są odpowiedzialne jedynie za powstanie RNA – zauważa Georges. Termin „gen” nigdy nie był ściśle zdefiniowany; a geny kodujące tylko RNA czynią tę definicję jeszcze bardziej niejasną. Aby uniknąć nieporozumień, „staramy się nie mówić o genach. Odcinek DNA, który jest przepisywany na RNA, raczej określamy jako jednostkę transkrypcyjną” – mówi Claes Wahlestedt z Karolinska Institutet w Szwecji.

Na podstawie analizy mysiego genomu „szacujemy, że takich jednostek będzie od 70 do 100 tys. – ogłosiła Wahlestedt na Międzynarodowym Kongresie Genetyki, który odbył się w lipcu br. w Melbourne. – Połowa z nich może być niekodująca”. Jeśli to prawda, na każdą sekwencję DNA kodującą białko przypada jedna, która wytwarza aktywne cząsteczki RNA, niebędące matrycą białka. Potrafią one jednak bezpośrednio oddziaływać na zachowanie komórki.

To, co jest prawdą w przypadku myszy, zwykle sprawdza się także u człowieka i pozostałych zwierząt. Zespół naukowców z National Human Genome Research Institute (NHGRI – Państwowego Instytutu Badawczego Ludzkiego Genomu) porównał ostatnio fragmenty genomów człowieka, krowy, szczura, psa, świni i siedmiu innych gatunków ssaków. Analiza komputerowa ujawniła, że u kilku gatunków zwierząt występują 1194 prawie identyczne odcinki DNA. To nieoceniona wskazówka ich wkładu w ewolucyjne dostosowanie gatunku. Ku zdziwieniu badaczy tylko 244 z nich koduje białka. Około dwóch trzecich sekwencji leży w obrębie intronów, a reszta jest rozproszona pośród międzygenowego śmieciowego DNA.

„Myślę, że to klasyczny przypadek ignorowania faktów przez dominujący trend w nauce. W tym wypadku trwało to ćwierć wieku – mówi Mattick. – Niezauważone następstwa

tych faktów, szczególnie możliwości równoległego przekazywania informacji pod postacią cząsteczek samego RNA, może z powodzeniem przejść do historii jako jedna z największych pomyłek w historii biologii molekularnej”.

Więcej niż postaniec

TERAZ BIOLODZY ponownie zwrócili uwagę na RNA. Odkryli, że cząsteczka ta ma niezwykle zdolności. Podobnie jak białka niektóre transkrypty RNA mogą oddziaływać z innymi cząsteczkami RNA, DNA, białkami lub nawet z niskocząsteczkowymi związkami.

Białka wiążą się z cząsteczką docelową bardziej na zasadzie klucza i zamka. „Piękno RNA polega na tym, że ma on określoną sekwencję, a zatem jest czymś w rodzaju kodu

pii bezpieczeństwa, ponieważ komórka może jej użyć, aby naprawić uszkodzenia genu.

W pewnych wypadkach kopia bezpieczeństwa ma własny plan. Podczas gdy gen koduje sensowną informację w postaci RNA, jego alter ego może kodować masowo antysensowny RNA o komplementarnej sekwencji. Gdy sensowny i antysensowny RNA się spotkają, dopasowują się i tworzą dwuniciową drabinę. Taka konstrukcja blokuje zdolność genu do ekspresji białka.

Biolodzy wiedzieli, że bakterie i rośliny mogą wytwarzać antysensowny RNA, lecz większość uważała, że u ssaków proces ten zachodzi rzadko. W kwietniu Galit Rotman i jej współpracownicy z CompuGen, firmy biotechnologicznej mieszczącej się w Tel Awiwie-Jaffie, zweryfikowali te przy-

Przekonanie o małym znaczeniu intronów może przejść do historii jako jedna z największych pomyłek w biologii molekularnej.

pocztowego” – zauważa Mattick. Cząsteczka RNA krąży po komórce, aż wpadnie na DNA (albo inną cząsteczkę RNA) o komplementarnej sekwencji; wtedy dwie połówki drabinki łączą się szczeblami.

Rozważmy pseudogeny jako przykład nieocenionej potęgi RNA. Analizy ludzkiego DNA wykazują istnienie niemal identycznej liczby genów i pseudogenów. Są one uszkodzonymi kopiami funkcjonalnych genów i przez dziesięciolecia były spisane na straty jako molekularne skamieniałości, pozostałości genów rozbite przez mutacje i porzucone przez ewolucję. W maju ub.r. grupa japońskich genetyków, kierowana przez Shinji Hiotsune z Akademii Medycznej Saitama w Japonii, ogłosiła odkrycie pierwszego działającego pseudogenu.

Hiotsune metodami inżynierii genetycznej wprowadzał do myszy gen muszki owocowej, zwany *sex-lethal* (płeć-śmiertelna). Większość myszy radziła sobie z obcym genem, lecz jedna linia mutantów umierała wkrótce po urodzeniu. Po dokładnych obserwacjach tych myszy naukowcy stwierdzili, że gen *sex-lethal* włączył się w środek pseudogenu zwanego *makorin1-pl*. Jest on skróconą wersją genu *makorin1*, który występuje zarówno u myszy, jak i muszki owocowej, robaków i wielu innych gatunków. Naukowcy nie potrafili określić, co robi *makorin1*, ale wiedzą, że myszy mają mnóstwo kopii jego pseudogenów. Żaden z nich nie koduje białka. Skoro pseudogeny nie pełnią żadnej roli, to dlaczego myszy umierają, gdy tracą jeden z nich?

Z jakiegoś powodu *makorin1* – i najwidoczniej tylko on – nie chce się wyłączyć, gdy jego pseudogen jest uszkodzony. Inaczej mówiąc, RNA powstały z pseudogenu kontroluje ekspresję „prawdziwego” genu, którego sekwencję naśladuje, mimo że oba leżą na innych chromosomach. Nie ma w tym niczego pseudo.

Jest jeszcze zbyt wcześnie, by stwierdzić, czy pseudogeny dają początek aktywnym cząsteczkom RNA. W zakamarkach genomu ukrywają się także inne ich źródła. Każdy zwykły gen, który koduje białko, ma komplementarną sekwencję po przeciwnej stronie drabiny i zazwyczaj nie jest ona transkrybowana na RNA. Biolodzy lubią o niej myśleć jako o ko-

puszczenia. Naukowcy przeszukali bazy danych ludzkiego genomu i stwierdzili, że przynajmniej 1600 genów (a prawdopodobnie wiele więcej) ma swoje odpowiedniki kodujące antysensowny RNA. Mogą one tłumić ekspresję genu, wiążąc się z jego RNA informacyjnym.

Rotman przypuszcza, że cząsteczki te działają jako genomowy cenzor, znany również pod nazwą interferencji RNA. Naukowcy wciąż pozostają pod wrażeniem odkrytego kilka lat temu schematu selektywnego wyciszania konkretnych genów. Kiedy w komórce pojawia się dwuniciowy RNA, enzymy natychmiast go szatkują i oddzielają od siebie dwie nici. Następnie jeden fragment RNA używany jest do wykrywania i niszczenia każdego RNA informacyjnego, który do niego pasuje. Taki system chroni komórkę przed wirusami, które często przechowują swój genom właśnie w formie dwuniciowego RNA. Istnienie genomowej cenzury dostarcza naukowcom wygodnego sposobu na precyzyjne wyłączenie genów [patrz: Nelson C. Lau i David P. Bartel „Cenzorzy genów”; *Świat Nauki*, wrzesień 2003].

Niemniej jednak ani pseudogeny, ani antysensowny RNA nie wyjaśniają pochodzenia pofałdowanych liści, które Detlef Weigel z Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie w Tybindze w Niemczech zaobserwował tego lata u rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana*). Normalnie rośliny te mają gładkie liście liżeczki kształtu. Weigel wykazał w *Nature* (w sierpniu 2002 roku), że po części jest to spowodowane aktywnością pewnego rodzaju RNA, zwanego mikroRNA.

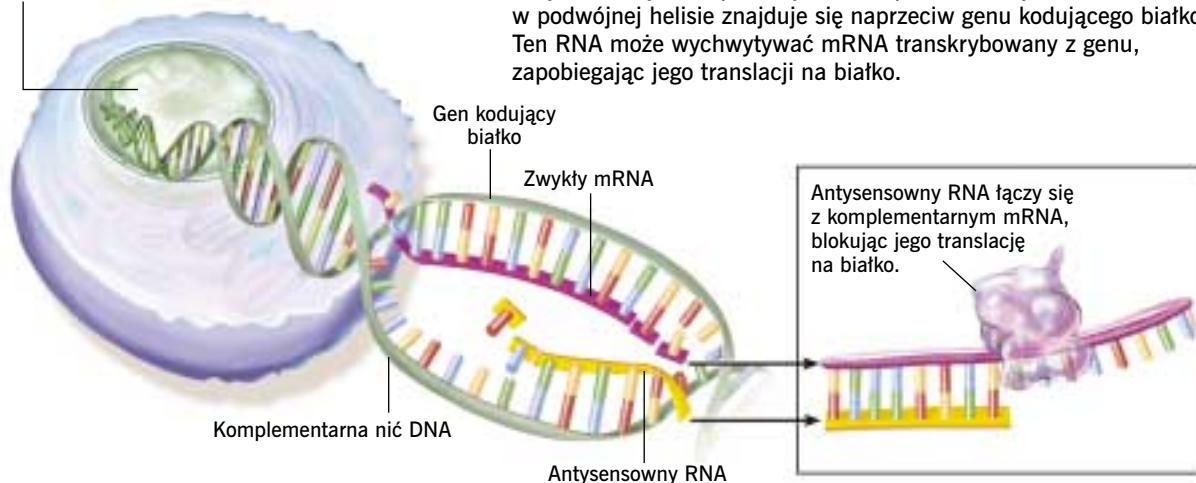
MikroRNA odkryto kilka lat temu u robaków obłych. Cząsteczki te są krótkimi niekodującymi RNA tworzącymi struktury podobne do szpilki do włosów. U rzodkiewnika sekwencje mikroRNA, zwane JAW, zginają się w pól, tworząc dwuniciowy RNA. Komórkowe mechanizmy interferencji RNA wychwytyują je tak samo jak materiał pochodzący z wirusa. Tyle tylko że sekwencja JAW odpowiada sekwencji grupy genów należących do rodziny kontrolującej rozmiar i kształt rośliny. Cenzor skrupulatnie hamuje ich ekspresję, tnąc większość wytwarzanego z tych genów mRNA. A zatem JAW, niewielki gen kodujący jedynie RNA, jest główną dźwignią, za pomocą której komórki rzodkiewnika regulują aktywność

MECHANIZM DZIAŁANIA NIETYPOWYCH GENÓW

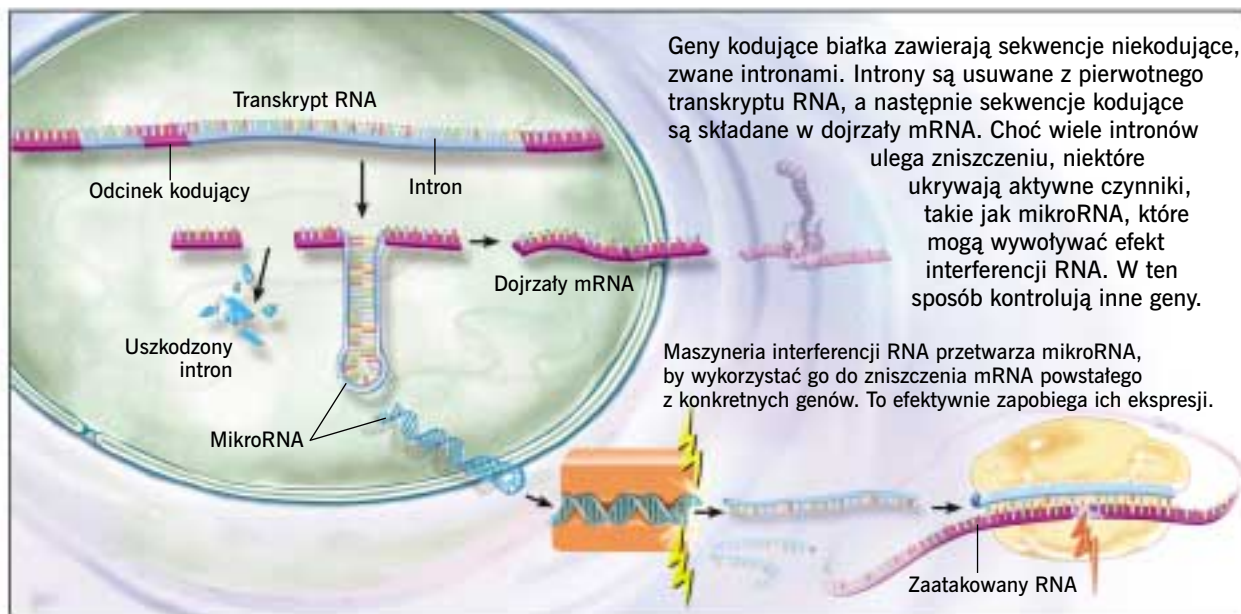
ZGODNIE Z OBIEGOWĄ WIEDZĄ geny są odcinkami DNA kodującymi funkcjonalne białka. Takie sekwencje stanowią jednak tylko 2% ludzkiego genomu. Reszta jest wypełniona niekodującym, beużytecznym

DNA. Naukowcy odkrywają, że z wielu takich genów powstaje zadziwiająco aktywny RNA, włączając w to cząsteczki, które wyciszają lub regulują zwykłe geny.

Jądro komórkowe



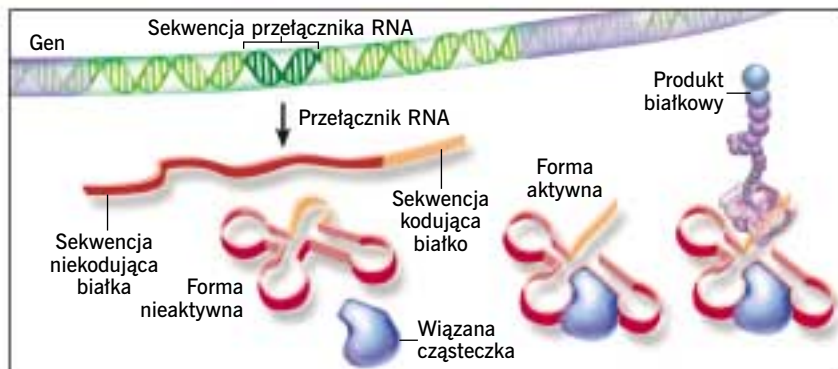
Antysensowny RNA powstaje na komplementarnej nici DNA, która w podwójnej helisie znajduje się naprzeciw genu kodującego białko. Ten RNA może wychwytywać mRNA transkrybowany z genu, zapobiegając jego translacji na białko.



Geny kodujące białka zawierają sekwencje niekodujące, zwane intronami. Introny są usuwane z pierwotnego transkryptu RNA, a następnie sekwencje kodujące są składane w dojrzały mRNA. Choć wiele intronów ulega zniszczeniu, niektóre ukrywają aktywne czynniki, takie jak mikroRNA, które mogą wywoływać efekt interferencji RNA. W ten sposób kontrolują inne geny.

Maszynaria interferencji RNA przetwarza mikroRNA, by wykorzystać go do zniszczenia mRNA powstałego z konkretnych genów. To efektywnie zapobiega ich ekspresji.

Przełączniki RNA są nowo odkrytymi formami działającymi jak precyzyjne przełączniki genetyczne. W wielu wypadkach są one produkowane przez niekodujące fragmenty DNA znajdujące się między znanymi genami. Przełącznik RNA związa się w skomplikowaną strukturę. Jedna jego część może wiązać określoną cząsteczkę chemiczną lub białko, a druga zawiera RNA kodujący białko. Przełącznik RNA produkuje kodowane przez siebie białko tylko w obecności określonej cząsteczki.



wielu istotnych genów białkowych. Kiedy zespół Weigla zmodyfikował rośliny tak, że mikroRNA nie mógł pełnić swej roli, stały się one chore i zdeformowane.

W ciągu trzech lat naukowcy znaleźli setki cząsteczek mikroRNA. U samego człowieka odkryto ich ponad 150. Wydaje się, że za ich pomocą organizmy kontrolują aktywność genów. Prawie połowa ludzkiego mikroRNA jest niemal identyczna z obecnym w genomie ryby z rodziny kolcobrzuchowatych *Fugu rubripes*. A przecież drogi obu tych gatunków rozszły się jakieś 400 mln lat temu!

Co dokładnie robią cząsteczki mikroRNA u człowieka, pozostaje tajemnicą. Anna M. Krichevsky z Harvard Medical School podejrzewa, że m.in. pełnią one istotną rolę w rozwo-

gulowany w trakcie wzrostu mózgu. Nie ma bezpośredniej zależności, ale – jak zauważa Diya Banerjee z Yale University w zeszłorocznym przeglądzie naukowym o mikroRNA – „jestemy na krawędzi eksplozji wiedzy w tej dziedzinie”.

Cyfrowo i analogowo

NAWET JEŚLI BIAŁKA są końmi pociągowymi komórki, to czasami aktywne cząsteczki RNA trzymają bat. Istnieją pewne rodzaje RNA, które świetnie sobie radzą w żmudnej pracy: katalizują, sygnalizują oraz przełączają. Robią to tak dobrze jak białka.

Długo nie można było ustalić podłoża niektórych chorób genetycznych, ponieważ naukowcy, uparcie szukając zmuto-

To co genetycy uznali za śmieci, prawdopodobnie okaże się podstawą złożoności człowieka.

ju mózgu. Jej laboratorium użyło chipu genowego do poszukiwań 44 różnych rodzajów mikroRNA w mysich neuronach. We wrześniu Krichevsky donosiła, że u myszy poziom przynajmniej dziewięciu różnych mikroRNA jest precyzyjnie re-

wanych białek, zignorowali aktywny RNA, który mieli pod nosem. Lekarze przez ponad dziewięć lat próbowali wytropić gen odpowiedzialny za hipoplazję chrząstkowo-włosową (CHH – cartilage hair hypoplasia). Ta recesywna choroba po raz pierwszy została zidentyfikowana u amiszów. W tej grupie jedna osoba na 19 ma kopię uszkodzonego genu, który powoduje karłowatość. Ludzie z CHH są nie tylko drobnej postury, ale należą także do grupy podwyższonego ryzyka zachorowania na raka i wystąpienia zaburzeń immunologicznych. Genetyk Maaret Ridanpää z Uniwersytetu w Helsinkach doszedł do wniosku, że podejrzany gen znajduje się na chromosomie 9, którego duży obszar ten naukowiec zsekwencjonował. Niestety, sprawdzenie 10 genów kodujących białka, które leżały w wybranym rejonie, nie przyniosło oczekiwanych rezultatów. Żaden z nich nie powodował choroby.

Ostatecznie, w 2001 roku Ridanpää i jego współpracownicy zidentyfikowali sprawcę. Okazał się nim gen kodujący jedyną RNA, zwany *RMRP*. RNA transkrybowany z *RMRP* łączy się z białkami i tworzy enzym działający wewnątrz mitochondriów – komórkowych centrów energetycznych. Zamiana jednej zasady w krytycznym punkcie tego RNA może oznaczać różnicę pomiędzy długim i zdrowym życiem a krótkim i trudnym (jeśli mutacja jest dziedziczona po obojgu rodzicach). Ostatnio odkryto, że taki analogowy RNA, który zwija się w złożone struktury, tak jak to robią białka, jest niezbędny dla działania enzymów chroniących chromosomy. Towarzyszy także białkom sygnałowym transportowanym na zewnątrz komórki.

Możliwe, że najbardziej intrygującą odkrytą dotychczas formą RNA jest przełącznik RNA. Został on wyizolowany w zeszłym roku w laboratorium Ronalda R. Breakera w Yale University. Naukowcy zastanawiali się, jak miliony lat temu, zanim powstały białka i DNA, prekursorzy życia radzili sobie w świecie RNA. Podejrzewano, że takie protoorganizmy musiały używać RNA jako czujników i przełączników, aby reagować na zmiany środowiska i własnego metabolizmu. Aby sprawdzić tę hipotezę, spróbowano stworzyć RNA o takich właściwościach.

„Nasze laboratorium z powodzeniem wyprodukowało wiele syntetycznych przełączników RNA” – przypomina Breaker. Podwójne przełączniki składające się z długich łańcuchów

Genetyko, naprzód!

OD KIEDY WYNALEZIENIE technik rekombinacji DNA umożliwiło zaistnienie inżynierii genetycznej, większość badań tego typu była prowadzona od końca. Jest to określane jako tzw. odwrotna genetyka i polega na zidentyfikowaniu genu, którym potem naukowiec „bawi się”, zmieniając go, a następnie wprowadzając do hodowli tkankowych, lub do żywego organizmu. W ten sposób badacz próbuje odgadnąć jego funkcję. Jest to klasyczne podejście i może ono dawać bardzo dobre efekty.

Jednak odkrycie, że DNA zawiera ukryte geny – funkcjonalne sekwencje mylnie sklasyfikowane jako śmieci – ujawnia główny problem odwrotnej genetyki; może ona ograniczać pole widzenia. Dlatego wielu naukowców wraca do dawnej praktyki – badań genetycznych „wprost” – jako sposobu identyfikacji nieznanymi genów, zarówno konwencjonalnych, jak i niekonwencjonalnych.

Phenomix, firma biotechnologiczna z La Jolla w Kalifornii, ma nadzieję zarobić na takim podejściu do problemu. Założyli ją w zeszłym roku naukowcy z najlepszych zespołów genetycznych. W Phenomix opracowano rodzaj linii produkcyjnej transgenicznym myszy. W każdej grupie gryzoni losowo wywołuje się mutacje w zwykłych genach kodujących białka i w tych ukrytych, kodujących aktywne formy RNA. Phenomix używa myszy zdrowych i takich, które cierpią na odpowiedniki ludzkich chorób: cukrzycę, astmę, schorzenia reumatyczne czy chorobę Parkinsona. Niektóre mutacje nasilają, a inne łagodzą objawy tych schorzeń. Badacze przeszukują genom, próbując ustalić, która mutacja powoduje określony efekt. Zobaczymy, czy to podejście przyczyni się do opracowania nowych leków. Dzięki badaniom „wprost” już udało się wykryć takie zjawiska, na przykład funkcjonalne pseudogeny, których istnienia nikt nie podejrzewał (*patrz tekst główny*).



PRAWIE IDENTYCZNE. Te myszy pochodzą z jednego miotu szczepu otrzymanego w wyniku długotrwałego chowu wsobnego. Wszystkie mają praktycznie taki sam DNA, a mimo to kolor ich sierści waha się od złocistożółtego po mahoniowy brąz. Jest to spowodowane zróżnicowaniem czynników epigenetycznych – chemicznych modyfikacji określonych fragmentów DNA na odcinkach niepokrywających się z którymkolwiek ze znanych genów. Obecnie żadna z teorii genetycznych nie potrafi przewidzieć barwy futra tych myszy.

RNA są kodujące i niekodujące zarazem. Podczas związania się RNA niekodujący koniec staje się czułym receptorem konkretnego związku chemicznego. Zderzenie z nim uruchamia przełącznik, powodując zmianę kształtu jego przeciwnego końca, zawierającego matrycę do syntezy białka. A zatem przełącznik RNA daje początek białku, ale tylko wtedy, gdy wykryje odpowiedni związek.

Zespół Breakera rozpoczął polowanie na takie cząsteczki RNA występującego w naturze i wkrótce znalazł je ukryte w międzygenowym DNA. Te precyzyjne narzędzia genetyczne występują we wszystkich trzech królestwach organizmów żywych (aktualnie wyróżnia się najczęściej pięć królestw – przyp. red.). „To sugeruje, że miał je ostatni wspólny przodek, wkrótce po rozpoczęciu się ewolucji” – dowodzi Breaker.

W sierpniu Breaker ze współpracownikami poinformował, że jedna z rodzin przełączników RNA reguluje ekspresję co najmniej 26 genów *Bacillus subtilis*, pospolitej glebowej bakterii. Nie są to jakieś tam geny – bakteria potrzebuje ich do metabolizmu tak niezbędnych substancji jak siarka i aminokwasy. Breaker szacuje, że przynajmniej 68 genów *B. subtilis* znajduje się pod kontrolą przełączników RNA. To blisko 2% genomu tej bakterii. W jego laboratorium już zaczęto konstruować hybrydy składające się z analogowo-cyfrowych cząsteczek. Naukowcy chcą je zatrudnić na przykład do selektywnego zabijania patogenów.

Obraz całości

NOWY RODZAJ genów kodujących aktywny RNA odkryto w długich pomijanych fragmentach DNA – intronach i obszarach międzygenowych. Wówczas genetycy zdali sobie sprawę, że naukowcy nadal są daleko od ustalenia kompletnej listy składowych człowieka czy dowolnego organizmu wyższego. W przeciwieństwie do genów białkowych, mających standardowe sygnały „start” i „stop”, geny RNA są tak bardzo zróżnicowane, że wyławiając je z sekwencji DNA, nie można polegać tylko na programach komputerowych. Aby usprawnić tę technikę, National Human

Genome Research Institute uruchamia ambitny projekt – Encyclopedia of DNA Elements. Jego celem jest skatalogowanie w ciągu trzech lat wszystkich rodzajów RNA i białek wytwarzanych przez wybrany 1% ludzkiego genomu. Koszt projektu jest szacowany na 36 mln dolarów.

Nikt jeszcze nie wie, jaki będzie obraz biologii, gdy zostaną ujawnione ukryte dotąd zasoby informacji. „Rzeczywiście, to, co zostało uznane za śmieć, może się okazać fundamentem złożoności człowieka” – sugeruje Mattick. Pseudogeny czy przełączniki RNA są prawdopodobnie najlepszym dowodem na to, że tak jest. Okazuje się, że aktywny RNA w dużej mierze pomaga kontrolować strukturę chromosomów oraz nadzoruje jedne z najbardziej istotnych zmian, jakim one ulegają – modyfikacje na poziomie informacji epigenetycznej zawartej w genomie.

Wyniki badań informacji epigenetycznej pozwalają odpowiedzieć na odwieczne pytania: jak ludzki genom przetrwał z taką ilością pozornie bezużytecznych śmieci czy wręcz pasożytniczych odcinków DNA?, dlaczego tak trudno sklonować dorosłe zwierzę, choć tak łatwo embrion?, dlaczego pewne cechy „przeskakują” o pokolenie w nieprzewidywalny sposób? W następnym numerze w uzupełnieniu tego artykułu przedstawimy ostatnie odkrycia wyjaśniające działanie chromosomalnych zasobów informacji epigenetycznej i opiszemy wstępne próby wykorzystania tych zjawisk w biotechnologii i medycynie. ■

W. Wayt Gibbs jest redaktorem Scientific American.

JEŚLI CHCESZ WIEDZIEĆ WIĘCEJ

Non-Coding RNA Genes and the Modern RNA World. Sean R. Eddy *Nature Reviews Genetics*, tom 2, s. 919-929; XII/2001.

An Expanding Universe of Noncoding RNAs. Gisela Storz; *Science*, tom 296, s. 1260-1263; 17 V 2002.

Widespread Occurrence of Antisense Transcription in the Human Genome. Rodrigo Yelin i in.; *Nature Biotechnology*, tom 21 s. 379-385; IV/2003.

Challenging the Dogma: The Hidden Layer of Non-Protein-Coding RNAs in Complex Organisms. John S. Mattick; *BioEssays*, tom 25, s. 930-939; X/2003.