

ACADEMIA

ROZMOWA

# PRZEDE WSZYSTKIM CIEKAWOŚĆ

O enzymach degradujących RNA, roli drożdży w badaniach pomocnych ludziom oraz dwóch rodzajach naukowców mówi **prof. Andrzej Dziembowski** z Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN, laureat tegorocznej Nagrody Fundacji na rzecz Nauki Polskiej.

PROF. ANDRZEJ DZIEMBOWSKI



**FNP** Fundacja na rzecz  
Nauki Polskiej

**ACADEMIA: FNP uhonorowała pana „polskim Noblem” za „wyjaśnienie funkcji kluczowych enzymów degradujących RNA, których zaburzenia prowadzą do stanów patologicznych”. Czym są te enzymy i jak działają?**

ANDRZEJ DZIEMBOWSKI: Cała informacja o naszym organizmie jest zakodowana w genach. Genom składa się z części kodujących białka oraz części niekodujących, które mogą pełnić funkcje regulacyjne. Żeby na podstawie genów powstało białko, informacja z DNA musi być przepisana w procesie transkrypcji na RNA. Część RNA następnie podlega dość skomplikowanej obróbce, która polega na dołączeniu pewnych elementów na obu jej końcach i wycięciu pewnych sekwencji w środku. Taka dojrzała cząsteczka, nazywana mRNA, jest eksportowana z jądra do cytoplazmy, gdzie służy jako matryca do produkcji białka – litera m w nazwie oznacza właśnie matrycowy (lub messenger, informacyjny) RNA.

tyzm płodu i predyspozycja do rozwoju nowotworów. Ta RNaza odpowiada za degradację cząsteczek RNA uczestniczących w regulacji cyklu komórkowego, a więc jej dysfunkcja prowadzi do patologii – zbyt dużego wzrostu. Inna RNaza, czyli białko Dis3 wchodzące w skład egzozomu degradującego RNA w jądrze komórkowym, jest często zmutowana w szpiczakach. Ustalenie dlaczego jest przedmiotem naszych intensywnych badań.

#### **Dlaczego egzozom jest taki ważny?**

W genomie człowieka jest mniej więcej 20 tysięcy genów, tyle samo co u myszy. Nicienie albo muszka owocowa mają kilkanaście tysięcy genów, drożdże sześć tysięcy. Są to organizmy nieporównywalnie mniej złożone, ale mają zaledwie czterokrotnie mniej genów. Różnica między ludźmi a np. drożdżami nie polega więc na liczbie genów, ale na bardziej złożonych mechanizmach regulacji ekspresji.

Większość naszego genomu to obszary, które nie są genami, czyli nie kodują informacji o białkach. One też są przepisywane na RNA – obecnie szacuje się, że transkrypcji podlega 70% genomu. W ten sposób w komórce powstaje bardzo dużo niekodującego RNA. Niektóre z tych cząsteczek pełnią funkcje regulatorowe, ale wiele nie ma funkcji. Te niepotrzebne RNA muszą być usunięte, a w procesie tym uczestniczy właśnie egzozom. On niszczy też niepotrzebne lub wadliwe cząsteczki mRNA.

Egzozom składa się z pierścienia dziewięciu białek pozbawionych aktywności enzymatycznej, do którego przyłączają się różne RNazy. Wśród nich najistotniejszą funkcję pełni podjednostka Dis3, której mutacja wiąże się ze szpiczakiem.

#### **Na czym polega ta mutacja?**

Z wcześniejszych badań wiedzieliśmy, że mutacja nie powoduje całkowitej dezaktywacji enzymu, ponieważ jego brak prowadzi do śmierci komórki. W szpiczaku egzozom więc działa, tylko nieprawidłowo. Wykazaliśmy, że mutacja osłabia aktywność egzozymu odczynową.

#### **Trudny termin.**

RNA jest liniową cząsteczką, ma środek i dwa końce oznaczane jako 5' i 3'. RNazy dzielimy na dwa rodzaje w zależności od tego, od której strony zaczynają degradować RNA. Endonukleazy przecinają RNA w środku, a egzozonukleazy od końca. Główna aktywność egzozomu polega na degradacji RNA od końca 3'. Ale ponieważ to duże białko, ma dodatkową aktywność endonukleazy czyli cięcia od środka cząsteczki RNA.

W szpiczaku osłabiona jest aktywność białka Dis3 w zakresie aktywności egzozonukleazy. Jeśli dodatkowo zahamuje się jej aktywność endonukleazy, wówczas taka wada będzie letalna, spowoduje śmierć komórki. Pokazaliśmy to na modelu mysim. Myszy z wyłączono-

”  
 Postępując się mysim modelem, możemy wykazać, że faktycznie dana mutacja RNA jest przyczyną schorzenia i spróbować zrozumieć, dlaczego tak się dzieje.

Ponieważ obróbka RNA jest procesem skomplikowanym, mogą powstawać wadliwe cząsteczki mRNA, których komórka musi się pozbyć. Prawidłowe cząsteczki po przejściu do cytoplazmy służą do syntezy białka, ale mają określony czas życia, np. RNA kodujące białka regulatorowe kontrolujące podział komórki żyją krótko, a RNA kodujące podstawowe enzymy metabolizmu komórki – długo.

W degradację RNA zaangażowanych jest wiele różnych białek, wśród których najważniejsze są enzymy zwane RNazami. To dzięki ich działaniu jedne cząsteczki mRNA pozostają w komórce dłużej, inne krócej. Mogą one działać samodzielnie lub tworzyć duże kompleksy zbudowane z wielu podjednostek. Jednym z takich kompleksów jest egzozom, któremu poświęciliśmy wiele uwagi w naszych badaniach.

Mutacje RNaz mogą prowadzić do różnych chorób. Uszkodzenie jednej z badanych przez nas RNaz ma związek z syndromem Perlmana – jest to gigan-

PROF. ANDRZEJ DZIEMBOWSKI

na aktywnością endonukleolityczną miały się dobrze, a po wyłączeniu aktywności egzozonukleolitycznej umierały. A więc zablokowanie aktywności endonukleazy w komórkach z mutacją Dis3 doprowadzi do śmierci komórek, ale tylko komórek szpiczaka. I to jest pomysł na terapię tego nowotworu. Oczywiście nie dotyczy wszystkich nowotworów tego typu, a tylko około 10%, gdzie występuje mutacja Dis3.

Było to możliwe dzięki postępom technologicznym w ostatnich latach. Jedną z rewolucji metodologicznych jest rozwój metod sekwencjonowania DNA, który pozwala na identyfikację mutacji nawet w pojedynczych komórkach.

**Czy wiadomo dokładnie, jak ta mutacja egzozomu wiąże się z nowotworem? Jak wygląda droga od stwierdzenia, że jakaś mutacja występuje częściej u pacjentów z danym schorzeniem, do ustalenia, jaki za tym stoi mechanizm?**

Kompleks egzozomu w jakiś sposób uczestniczy w skomplikowanym procesie dojrzewania przeciwciał w limfocytach B. W jego trakcie powstają niekodujące transkrypty, w których degradacji uczestniczy egzozom. Wydaje się, że mutacja podjednostki Dis3 powoduje jakieś zmiany w limfocytach w trakcie tego procesu. Prawdopodobnie mają one efekt mutatorowy, czyli zwiększają ryzyko kolejnych mutacji, ale nad wyjaśnieniem szczegółów tego mechanizmu dopiero pracujemy.

Żeby to ustalić, posłużyliśmy się określonym modelem badawczym. Najpierw we współpracy z naukowcami z Francji stworzyliśmy myszy z taką samą mutacją jak w komórkach szpiczaka u człowieka. Następnie zapytaliśmy, czy taka manipulacja zwiększa u myszy ryzyko wystąpienia szpiczaka. Kiedy ustaliliśmy, że tak, mogliśmy zająć się mechanizmem działania. Posługując się mysim modelem, możemy nie tylko wykazać, że faktycznie dana mutacja jest przyczyną schorzenia, lecz także spróbować zrozumieć, dlaczego tak się dzieje.

**Najbardziej znane regulatorowe niekodujące RNA to bardzo krótkie cząsteczki?**

Nazywamy je mikroRNA – są to krótkie, 20-nukleotydowe fragmenty RNA, których rola polega na rozpoczęciu procesu degradacji mRNA. Repertuar mikroRNA różni się bardzo między tkankami, a żeby zrozumieć ich działanie, musimy przyjrzeć się budowie mRNA. Powiedzieliśmy, że główna aktywność RNaz polega na niszczeniu cząsteczki od końca, natomiast aktywność endonukleaz jest bardzo słaba, prawie zaniedbywalna. Na końcach dojrzałego mRNA przyłączone są więc elementy chroniące ją przed degradacją. Na końcu 5' jest to tzw. czapeczka 7-metyloguaniny, a na końcu 3' dodawany jest ciąg adenozyń, zwany ogonem poli-A. Żeby RNaza w cytoplazmie mogła rozpocząć degradację RNA od tego końca, najpierw

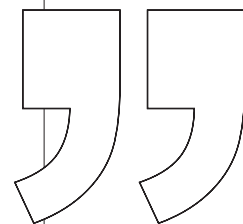
trzeba usunąć ten ogon. Dzieje się to dzięki cząsteczkom mikroRNA, które przyczepiając mRNA przyciągają deadenulazy czyli enzymy potrafiące uciąć ogon poli-A.

**Skąd taka cząsteczka mikroRNA „wie”, do jakiego mRNA się przyczepić? Czy ten proces jest selektywny, czy raczej losowy?**

Komplementarność mikroRNA z przeznaczoną do degradacji cząsteczką mRNA nie jest stuprocentowa. W komórkach eukariotycznych, gdzie toczy się jednocześnie bardzo dużo różnych procesów, nie ma jednak wiele miejsca na przypadkowość. Komórka nie jest zupą, w której beładnie pływają różne cząsteczki. Wiele energii zużywa na kontrolę zachodzących w niej procesów, na uniknięcie przypadkowych oddziaływań między białkami i na usuwanie wadliwych białek.

Oczywiście pewne procesy w organizmie są do pewnego stopnia losowe – na przykład podczas

Dzięki badaniom na drożdżach poznaliśmy podstawy działania enzymów degradujących RNA. Pytanie o analogiczne mechanizmy ludzi było naturalnym kolejnym krokiem.



różnicowania komórek ich losy mogą potoczyć się w rozmaity sposób, często nie jest to zdeterminowane. Powstawanie transkryptów z DNA też jest do pewnego stopnia losowe – mówiłem, że na RNA przepisywana jest większość genomu, a zaraz potem to RNA ulega degradacji. Tę losowość zresztą zaczynamy dopiero badać, dzięki takim technikom jak sekwencjonowanie RNA z pojedynczych komórek. Jeśli zastosujemy tę metodę do różnych komórek w obrębie tkanki, możemy wykryć te przypadkowe różnice między pojedynczymi komórkami wchodzącymi w jej skład.

**Wspomniał pan, że różnimy się od drożdży właśnie pod względem złożoności tych mechanizmów kontrolnych.**

Wiele procesów molekularnych, które zostały odkryte w drożdżach, występuje również u człowieka. Niektóre mechanizmy, takie jak te związane mikroRNA, nie występują u z drożdży z gatunku *Saccharomyces*

*cerevisiae*, ale na przykład u *Schizosaccharomyces pombe* już są. W pracy badawczej zajmują się procesami ekspresji zachodzącymi na poziomie molekularnym i one są raczej podobne. Ale istnieją dalsze poziomy złożoności, chociażby sposób uorganizowania komórki, na co procesy ekspresji nie do końca mają wpływ i raczej ich nie wyjaśniają. Tak samo jest w neurobiologii: dobrze wiemy, jak działa pojedynczy neuron, ale to niekoniecznie przekłada się na zrozumienie, jak działa mózg jako całość.

**Od badań na drożdżach zaczęła się pana kariera. Jak to się stało, że przeszedł pan do badań ludzkich chorób?**

Dwadzieścia lat temu drożdże dawały unikatowe możliwości, bo już wtedy znany był ich genom – to pierwszy organizm, którego genom zsekwencjonowano

w całości. Poza tym drożdże mają specyficzne cechy sprawiające, że łatwo wprowadzić do nich określone mutacje, np. wyłączyć dowolny gen. Jest to możliwe także w komórkach mysich czy ludzkich, ale dużo trudniejsze.

Dzięki badaniom na drożdżach poznaliśmy podstawy działania wybranych enzymów degradujących RNA. Pytanie o analogiczne mechanizmy ludzi było naturalnym kolejnym krokiem. Oczywiście u ludzi procesy te okazały się dużo bardziej skomplikowane. Na przykład u drożdży w kompleksie egzozomu znajduje się jedna, najważniejsza podjednostka odpowiedzialna za degradację RNA, a u ludzi dwie.

Ogromny postęp w pracach badawczych nastąpił dzięki metodzie CRISPR-Cas9, która pozwala na łatwe wprowadzenie mutacji do dowolnego organizmu, na przykład myszy. Mogą to na przykład być takie mutacje, jakie zidentyfikowano u ludzi w nowotworach czy w chorobach genetycznych. W ten sposób możemy poznać mechanizm tych mutacji zarówno na poziomie całego organizmu, jak i poszczególnych komórek. Od takich mysich modeli można wychodzić w kierunku wykorzystania tej wiedzy w terapii u ludzi.

Metodę CRISPR-Cas9 wprowadziliśmy u nas parę lat temu do tworzenia zmutowanych myszy we współpracy z prof. Ewą Borsuk. Okazała się ona do tego stopnia efektywna, że zaczęliśmy oferować takie mysie modele innym laboratoriom na zamówienie. Mam nadzieję, że ich dostępność przyspieszy rozwój nowoczesnych badań na zwierzętach w Polsce. Takie modele oczywiście były dostępne wcześniej, ale ich uzyskanie było bardzo pracochłonne, a teraz stało się to łatwe.

**Czy to będzie przedsięwzięcie komercyjne?**

Raczej nie. Jest to raczej działalność usługowa dla ośrodków badawczych. Przychód będziemy wykorzystywać do wprowadzania i rozwijania nowych metod, uzyskaliśmy zresztą na to grant FNP Team Core Facility. Potencjalnie nasze myszy mogą też być



**prof. Andrzej Dziembowski**

jest biologiem molekularnym, biochemikiem i genetykiem. Studiował i doktoryzował się na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, gdzie wciąż prowadzi zajęcia ze studentami. Habilitację uzyskał w 2009 r., a tytuł profesora – w 2014 r. Kieruje niezależnym laboratorium w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie. Przez kilka lat pracował w Centrum Genetyki Molekularnej CNRS w Gif-sur-Yvette. Oprócz stypendiów i grantów krajowych zdobył prestiżowy grant Europejskiej Rady ds. Badań Naukowych (ERC) dla badaczy rozpoczynających obiecujący projekt naukowy oraz granty 6. i 7. Programu Ramowego UE. Za swoje prace otrzymał dwie Nagrody Premiera, Nagrodę Narodowego Centrum Nauki oraz Krzyż Kawalerski Orderu Odrodzenia Polski.

Publikował artykuły naukowe w prestiżowych czasopismach z zakresu biologii molekularnej: „Nature”, „Cell”, „Nature Structural and Molecular Biology”, „Nature Communications”, „Genes and Development”, „Molecular Cell”, „EMBO Journal” czy „EMBO Reports”. Jest współautorem wielu artykułów przeglądowych w recenzowanych czasopismach międzynarodowych i rozdziałów w specjalistycznych książkach. Sam również pełni funkcje recenzenta.

PROF. ANDRZEJ DZIEMBOWSKI

wykorzystane przez firmy farmaceutyczne, ale akurat w Polsce w przemyśle farmaceutycznym nie prowadzi się raczej takich prac.

### **Chyba każdy biolog o tym marzy, żeby jego prace miały zastosowanie praktyczne, terapeutyczne.**

Na pewno tak, ale muszę podkreślić, że w moim zespole skupiamy się jednak na badaniach podstawowych. Próbuje wyjaśnić mechanizmy działania, a nie skonstruować potencjalną terapię, chociaż bardzo nas cieszy, jeśli zastosowania medyczne są możliwe.

### **Na sukces w naukach biologicznych składa się zwykle praca całego zespołu. Pan także używa liczby mnogiej: „zbadaliśmy”, a nie „zbadalem”.**

Zaczynałem od bardzo małego zespołu, który stopniowo się powiększał i obecnie jest dość duży. Myślę, że w pracy eksperymentalnej jest to jedna z najwspanialszych rzeczy: możliwość pracy w grupie, wspólnego poszukania rozwiązania danego problemu. Od każdego członka zespołu może wyjść pomysł, za którym potem podąży cała grupa. Nie da się tego dokładnie zaplanować, ustalić z góry. Dlatego publikowane przez nas prace mają zwykle kilku autorów, z których każdy miał w jej powstaniu wkład intelektualny.

Na pewno nie mogę powiedzieć, że publikacje, których jestem współautorem, to mój wyłączny dorobek – to dorobek nas wszystkich. Tak się złożyło, że miałem trochę szczęścia w swojej karierze. Doktorat pod kierunkiem prof. Stępnia zakończył się sukcesem. W trakcie stażu podoktorskiego zająłem się kompleksem egzozomu, któremu potem poświęciłem dalsze prace, a sam staż był bardzo udany. Miałem szczęście, że nie było spektakularnych porażek, że nie spędziłem kilku lat nad projektem, z którego nic nie wyszło.

Prowadzenie zespołu jest zawsze trudne. Im większy zespół, tym większe ryzyko konfliktów. W nauce pracują ludzie o bardzo różnych osobowościach, niektórzy mają silne ego, inni słabsze. Staram się więc pozostawiać moim współpracownikom dużo samodzielności. Zespół badawczy zresztą też przechodzi zmiany, zmienia się skład osobowy, obecnie dryfujemy w stronę nowych pytań badawczych.

### **Czy odczuwa pan silnie konkurencję z innymi zespołami?**

Czuję silną presję, bo w naszej dziedzinie konkurencja faktycznie jest duża. Zawsze więc pozostaje obawa, że przegapiliśmy coś istotnego albo że ktoś nas ubiegnie w opisanie danego mechanizmu. Tu niestety cały splendor przypada pierwszemu, który opisze dane zjawisko. To jest wyścig, w którym łatwo przegrać.

Szczęśliwie dla nas to my częściej prześcigamy innych niż oni nas, ale ta obawa rośnie z czasem. Prowadziliśmy kiedyś pięcioletni projekt, który ostatecznie przyniósł prestiżową publikację w czasopiśmie „Cell”. Jednak im bliżej byliśmy zakończenia prac, tym bar-

dziej baliśmy się, żeby ktoś nas nie ubiegł. Na szczęście się udało, ale to pokazuje, że w badaniach eksperymentalnych istnieje pewien czynnik losowy, nie da się z góry zaplanować sukcesu.

### **Czy przy tak silnej presji możemy jeszcze mówić o wspólnocie świata naukowego?**

Na pewno istnieje wspólnota osób zajmujących się nauką, bo wzajemnie rozumiemy swoje cele i motywacje. Każdy z nas prowadzi badania, planuje eksperymenty, pisze granty, więc przeżywamy podobne doświadczenia. Ale w tej wspólnocie dochodzi do konkurencji, nie zawsze etycznej. Powiedziałbym raczej, że wspólnota może powstać w obrębie jednej dziedziny. Istnieje grupa ludzi, z którymi widuję się na konferencjach – chociaż spotykamy się wyłącznie w sytuacjach profesjonalnych, widzieliśmy się już tyle razy, że tworzymy swojego rodzaju wspólnotę.

Są naukowcy, których do działania motywuje uczestniczenie w wyścigu i chęć wyprzedzenia innych. Są też jednak osoby, które cieszy samo odkrywanie, jak działa świat.

Nie można jednak powiedzieć, że w świecie nauki istnieje wspólnota ideałów. Na pewno naukowcy nie są bardziej etyczni czy szlachetni niż ogół społeczeństwa. W grę wchodzi ambicja. Dlaczego człowiek zostaje naukowcem? Kluczowa jest ciekawość świata, chęć zrozumienia, jak to działa. Ale jednocześnie pojawia się konkurencja, presja, a my chcemy być pierwsi. Sukces przynosi pozycję w środowisku, co napędza ambicję, żeby tę pozycję jeszcze umocnić. Nie jest więc tak, że naukowcy zgodnie, wspólnie dążą do jednego odkrycia, wszyscy uczestniczymy w wyścigu. Dla niektórych ten aspekt jest głównym motorem działania, ale są też osoby, które nie mają tak rozumianych ambicji i cieszy ich samo odkrywanie, jak działa świat. Ja sam raczej przychyliam się do tej drugiej postawy. Ciekawość przeważa nad potrzebą wyprzedzenia innych.

Z PROF. ANDRZEJEM DZIEMBOWSKIM  
 ROZMAWIAŁ OLEK MICHAŁSKI  
 ZDJĘCIA JAKUB OSTAŁOWSKI