

Skrivnost gliste

Nobelova nagrajenca Victor Ambros in Gary Ruvkun sta rešila uganko, zakaj so si celice različne, čeprav imajo enake gene

Tekst: **Silvestra Rogelj Petrič**

Informacije, shranjene v naših kromosomih, lahko primerjamo z navodili za vse celice v našem telesu. Vsaka celica vsebuje enake kromosome, zato vsaka celica vsebuje popolnoma enak niz genov in popolnoma enak niz navodil. Vendar pa imajo različne vrste celic, kot so mišične in živčne celice, zelo različne značilnosti. Kako nastanejo te razlike? Odgovor se skriva v genski regulaciji, ki vsaki celici omogoča, da izbere le ustrezna navodila. To zagotavlja, da je v vsaki vrsti celice aktiven samo pravi nabor genov. Kako to poteka, sta odkrila letošnja Nobelova nagrajenca za fiziologijo/medicino, 71-letni ameriški znanstvenik Victor Ambros, profesor naravoslovja na medicinski šoli univerze Massachusetts, Worcester, MA, in 72-letni Gary Ruvkun, prav tako ameriški znanstvenik, profesor genetike na medicinski šoli univerze Harvard.

Prav za njuno odkritje temeljnega načela, ki ureja uravnavanje genske aktivnosti, to je mikroRNK in njene vloge pri regulaciji genov po transkripciji, jima je Nobelova skupščina na Karolinskem inštitutu letos podelila to najbolj prestižno znanstveno odličje v medicini in/ali fiziologiji.

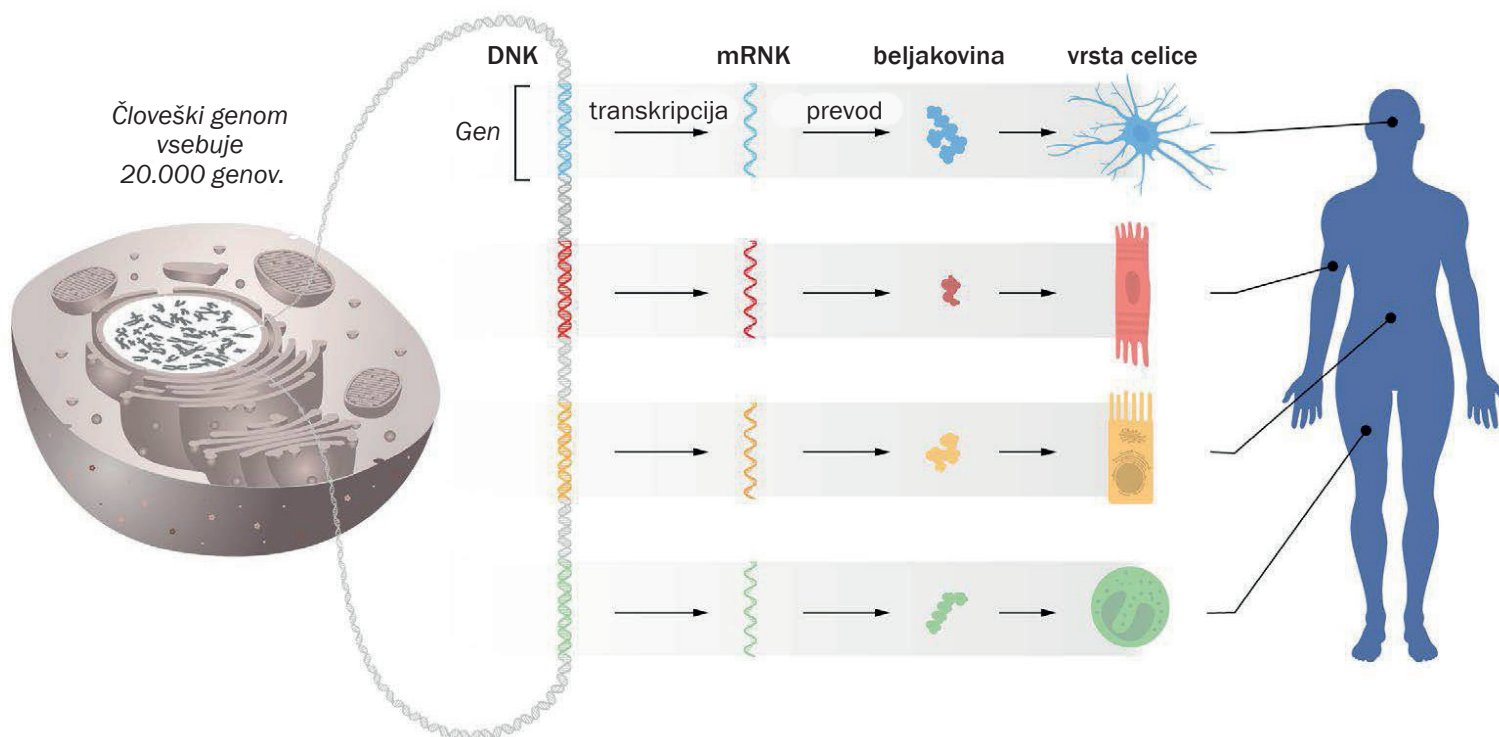
Vprašanje, kako to, da so celice tako zelo različne, čeprav imajo vse enake gene, je zelo očitno. Pričakovali bi, da so se trume znanstvenikov prizadevale to odkriti. Vendar ni bilo tako. Letošnja Nobelova nagra-

jenca sta bila pri tem precej osamljena in njuno ključno delo v iskanju odgovora, kako se razvijajo različne vrste celic, je bilo razmeroma dolgo neopaženo, čeprav sta se dokopala do prelomnega odkritja – odkrila sta mikroRNK, nov razred drobnih molekul RNK, ki igrajo glavno vlogo pri regulaciji genov. Izkazalo se je, da je ta novi princip regulacije genov bistvenega pomena za večcelične organizme, vključno s človekom. Zdaj je znano, da človeški genom kodira več kot tisoč mikroRNK. A pot do sprejetja njunega odkritja ni bila gladka in kratka. Kako je potekala?

Skrivnost gliste: zgodba o regulaciji genov

Pred slabimi 40 leti sta se tedaj razmeroma mlada znanstvenika Victor Ambros in Gary Ruvkun znašla globoko v labirintu genetskih skrivnosti. Njuno izbrano bojišče? Ne bleščeč laboratorij, poln najsodobnejših pripomočkov, ampak skromna, 1 milimeter dolga okrogla glista, imenovana *C. elegans*. Kljub svoji majhnosti ima *C. elegans* veliko specializiranih tipov celic, kot so živčne in mišične celice, ki jih najdemo tudi pri večjih, kompleksnejših živalih, zaradi česar je uporaben model za raziskovanje, kako se tkiva razvijajo in zorijo v večceličnih organizmih.

To drobno bitje, ki se je zvijalo pod njunima mikroskopoma, je imelo veliko večje skrivnosti, kot je nakazovala njegova velikost. Kot vse velike skrivnosti so bili namigi subtilni, odgovori pa zakopani v kodo



Pretok genetskih informacij od DNK in mRNA do beljakovin. Enake genetske informacije so shranjene v DNK vseh celic našega telesa. To zahteva natančno regulacijo genske aktivnosti, tako da je v vsaki določeni vrsti celic aktiven samo pravi nabor genov.

življenja – DNK. Zlasti dva gena – *lin-4* in *lin-14* – sta očitno nadzorovala razvoj te male gliste. Toda nekaj je bilo hudo narobe. Pri mutiranih glistah so se ti geni obnašali nenavadno, kar je povzročalo zamude pri razvoju. Ambros in Ruvkun sta običajne osumljence – beljakovine – izključila, vendar pojava vseeno nista znala pojasniti. Je bil v igri skriti igralec?

Raziskovalca sta se še bolj poglobila v problem. Ambrosu je uspelo ugotoviti, da gen *lin-4* nekako blokira aktivnost *lin-14*. Toda kako to naredi? Mehanizem je bil izmuzljiv in je nasprotoval vsem običajnim modrostim. Šele ko je Ambros kloniral *lin-4* v svojem laboratoriju na univerzi Harvard, je naletel na tako nepričakovano sled, da je spremenila potek preiskave: *lin-4* je proizvedel majhno molekulo RNK, vendar ta ni kodirala nobene beljakovine. To je bilo nekaj nezaslišanega v tistem času. A na to ugotovitev drugi raziskovalci tedaj niso reagirali – njihova tišina je bila za Ambrosa oglušujoča.

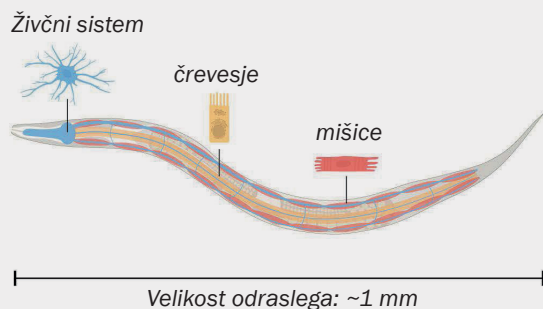
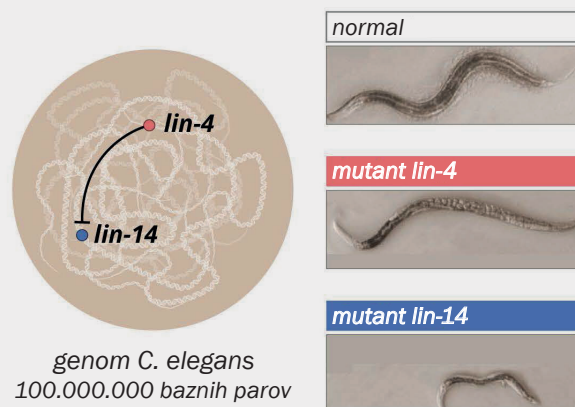
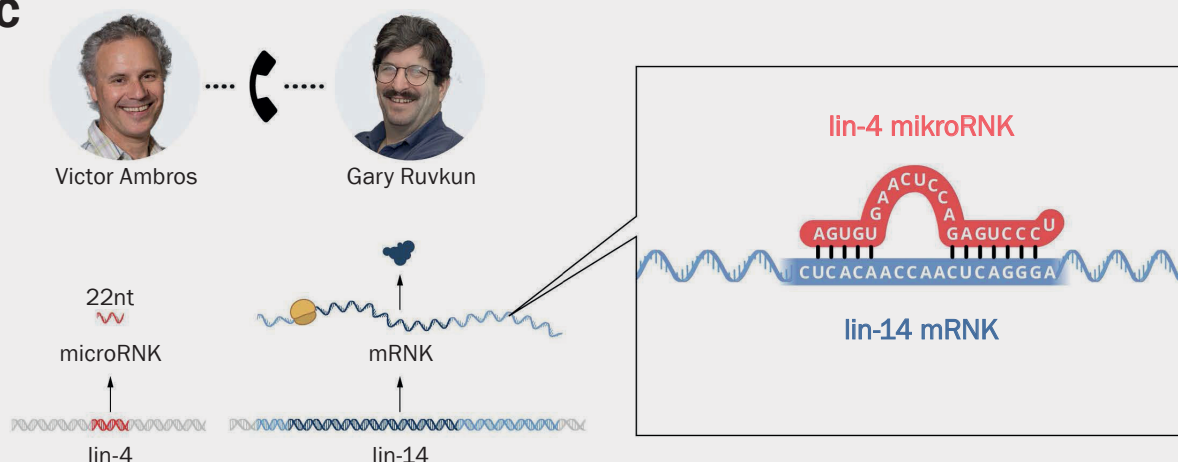
Objavljeni rezultati v reviji *Cell* leta 1993 so tako sprva naleteli na molk znanstvene skupnosti. Čeprav so bili rezultati zanimivi, se je nenavaden mehanizem regulacije genov štel za posebnost *C. elegans*, ki za ljudi in druge bolj zapletene živali verjetno ni pomembna.

Medtem je Ruvkun v drugem laboratoriju sledil *lin-14* in odkril, da *lin-4* ne izklopi *lin-14* na ravni transkripcije DNK, kot je večina pričakovala. Ne, bilo je nekaj veliko bolj zapletenega: drobna RNK iz

- Zgodba raziskovalnega dela letošnjih Nobelovih lavreatov govori o več kot le reševanju biološke uganke. Gre za odkrivanje zapletene mreže nadzora, ki omogoča življenje, in razkrivanje skrite plasti genske regulacije, ki je bila stoletja neopažena.
- Celični stroji za proizvodnjo funkcionalnih mikroRNK se uporabljajo tudi za proizvodnjo drugih majhnih molekul RNK v rastlinah in živalih, na primer kot sredstvo za zaščito rastlin pred virusnimi okužbami. Andrew Z. Fire in Craig C. Mello, ki sta leta 2006 prejela Nobelovo nagrado, sta opisala interferenco RNK, kjer se specifične molekule mRNA inaktivirajo z dodajanjem dvojnoverižne RNK celicam.
- Poleg kartiranja novih mikroRNK so poskusi več raziskovalnih skupin razjasnili mehanizme, kako se mikroRNK proizvajajo in dostavljajo komplementarnim ciljnim zaporedjem v reguliranih mRNA. Vezava mikroRNK povzroči zaviranje sinteze beljakovin ali razgradnjo mRNA. Zanimivo je, da lahko posamezna mikroRNK uravnava izražanje številnih različnih genov, in obratno, en sam gen lahko uravnava več mikroRNK, s čimer usklajuje in natančno uravnava celotne mreže genov.

lin-4 se je vezala neposredno na messenger RNK (mRNA) *lin-14* in ji preprečila, da bi proizvajala beljakovine.

Ambros in Ruvkun sta združila svoje ugotovitve in odkrila novo vrsto regulatorja – mikroRNK. Majhen, izmuzljiv, a dovolj močan, da narekuje, kateri geni v celici so aktivni. MikroRNK je delovala kot molekularni detektiv, ki je lovil svojo tarčo in jo utišal v pravem trenutku.

A***C. elegans*****B****mutant *lin-4* in *lin-14*****C**

Vir: Nobelov odbor za fiziologijo ali medicino, II. Mattias Karlén

(A) *C. elegans* je uporaben model organizma za razumevanje, kako se razvijajo različne vrste celic.

(B) Ambros in Ruvkun sta preučevala mutanta *lin-4* in *lin-14*.

Ambros je pokazal, da se zdi, da je *lin-4* negativni regulator *lin-14*.

(C) Ambros je odkril, da gen *lin-4* kodira majhno RNK, mikroRNK, ki ne kodira proteina. Ruvkun je kloniral gen *lin-14* in oba znanstvenika sta ugotovila, da se zaporedje mikroRNK *lin-4* ujema s komplementarnim zaporedjem v mRNA *lin-14*.

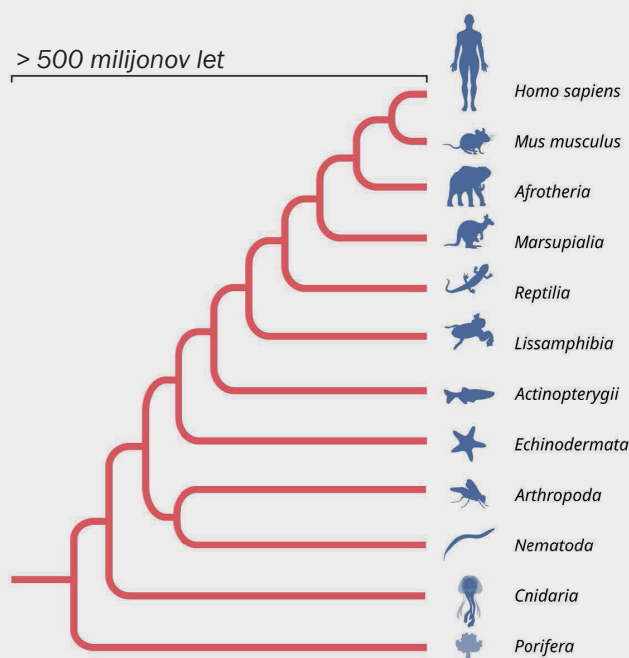
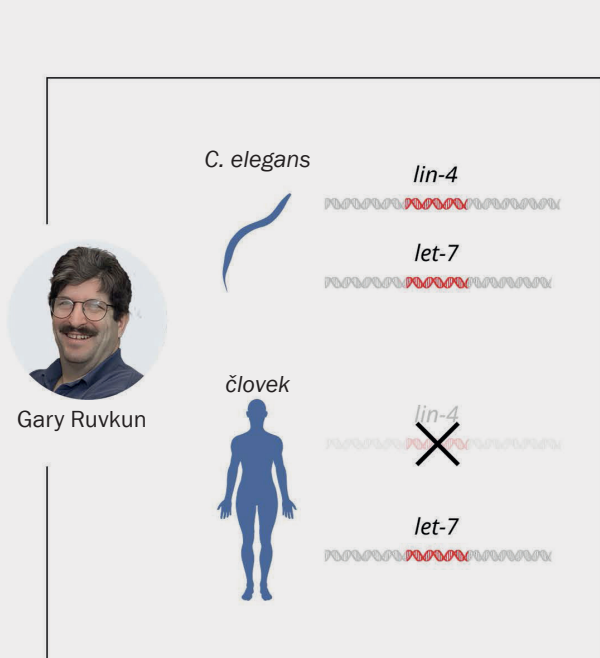
Drobna RNK z velikim fiziološkim pomenom

Toda kot vse velike skrivnosti je tudi to razodetje povzročilo več vprašanj, znanstvenega sveta pa ni takoj prepričalo. Konec koncev, kdo bi verjel, da ima lahko tako majhna molekula tako velik učinek? Šele ko je Ruvkun odkril drugo mikroRNK, *let-7*, ohranjeno med vrstami od črvov do ljudi, je bila znanstvena skupnost prisiljena to opaziti. Leta 2000 je Ruvkunova raziskovalna skupina objavila svoje odkritje druge mikroRNK, ki jo kodira gen *let-7*. Za razliko od *lin-4* je bil gen *let-7* visoko ohranjen in prisoten v celotnem živalskem kraljestvu.

Do takrat tiho odkritje mikroRNK se je tedaj razleglo kot glasen pok, ki se je slišal po bioloških laboratorijih po vsem svetu. V naslednjih letih je bilo identificiranih na stotine različnih mikroRNK. Danes vemo, da obstaja več kot tisoč genov za različne mikroRNK pri ljudeh in da

je regulacija genov z mikroRNK univerzalna med večceličnimi organizmi. Regulacija genov z mikroRNK, ki sta jo prva razkrila Ambros in Ruvkun, deluje že stotine milijonov let. Ta mehanizem je omogočil razvoj vse bolj kompleksnih organizmov. Iz genetskih raziskav vemo, da se celice in tkiva ne razvijajo normalno brez mikroRNK. Nenormalna regulacija mikroRNK lahko prispeva k raku, pri ljudeh pa so odkrili mutacije v genih, ki kodirajo mikroRNK, kar povzroča stanja,

Naši organi in tkiva so sestavljeni iz številnih različnih vrst celic, vse z enakimi genetskimi informacijami, shranjenimi v njihovi DNK. Vendar te različne celice izražajo edinstvene nize beljakovin. Kako je to mogoče? Odgovor je v natančni regulaciji genske aktivnosti, tako da je v vsaki določeni vrsti celic aktiven samo pravi nabor genov. To omogoča na primer mišičnim celicam, črevesnim celicam in različnim vrstam živčnih celic, da opravljajo svoje posebne funkcije. Poleg tega je treba gensko aktivnost nenehno prilagajati, da se celične funkcije prilagodijo spreminjajočim se razmeram v našem telesu in okolju. Če se regulacija genov pokvari, lahko povzroči resne bolezni, kot so rak, sladkorna bolezen ali avtoimunost. Zato je razumevanje regulacije genske aktivnosti že več desetletij pomemben cilj.



Vir: Nobelov odbor za fiziologijo ali medicino. Il. Mattias Karlén

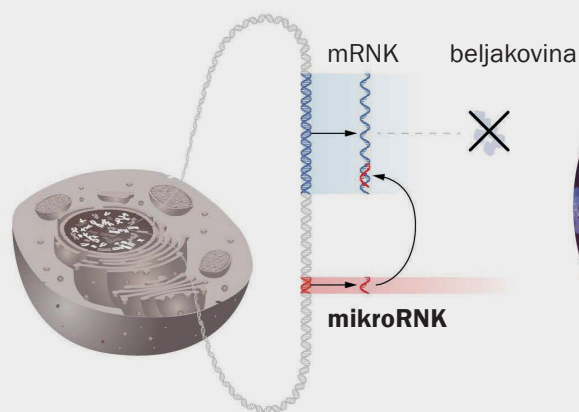
kot so prirojena izguba sluha, očesne in skeletne motnje. Mutacije v enem od proteinov, potrebnih za proizvodnjo mikroRNK, povzročijo sindrom DICER1, redek, a hud sindrom, povezan z rakom v različnih organih in tkivih.

O letošnjih nobelovcih za medicino in fiziologijo

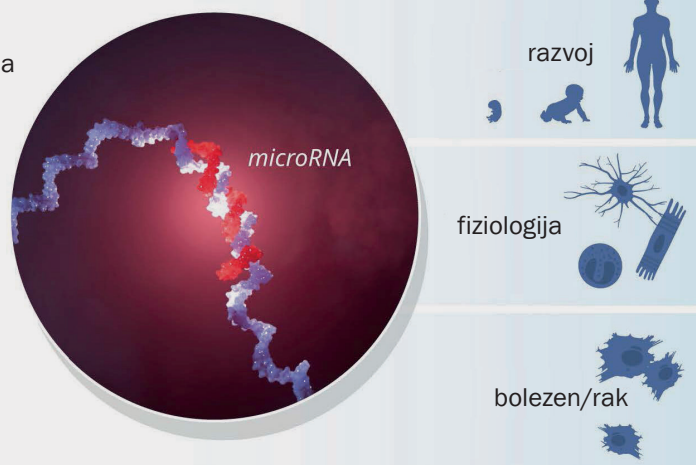
Victor Ambros se je rodil leta 1953 v Hannoveru v New Hampshiru v ZDA. Doktoriral je na Massachusetts Institute of Technology (MIT), Cambridge, MA, leta 1979, kjer je tudi podoktorsko raziskoval 1979–1985. Leta 1985 je postal glavni raziskovalec na univerzi Harvard, Cambridge, MA. Bil je profesor na medicinski šoli Dartmouth med letoma 1992 in 2007, zdaj pa je profesor naravoslovja na medicinski šoli univerze Massachusetts, Worcester, MA.

Ruvkun je kloniral *let-7*, drugi gen, ki kodira mikroRNK. Gen se v evoluciji ohranja in zdaj je znano, da je regulacija mikroRNK univerzalna med večceličnimi organizmi.

Gary Ruvkun se je rodil leta 1952 v Berkeleyju v Kaliforniji v ZDA. Doktoriral je na univerzi Harvard leta 1982. Bil je podoktorski sodelavec na Tehnološkem inštitutu Massachusetts (MIT), Cambridge, MA, 1982–1985. Leta 1985 je postal glavni raziskovalec v splošni bolnišnici Massachusetts in medicinski šoli Harvard, kjer je zdaj profesor genetike.



Prvotno odkritje mikroRNK je bilo nepričakovano in je razkrilo novo dimenzijo regulacije genov.



Ilustracije: © Nobelov odbor za fiziologijo ali medicino. Ilustrator: Mattias Karlén