

## Barbara McClintock

### —laureat nauk medycznych

*Prof. dr Wacław GAJEWSKI, członek rzeczywisty PAN*



Przyznanie w 1983 roku nagrody Nobla Barbarze McClintock jest w pewnym sensie niecodziennym wydarzeniem. Młode pokolenie genetyków molekularnych, zajmujące się klonowaniem i sekwencjonowaniem DNA, zapewne słabo orientuje się, kim jest laureatka i na czym polegały jej osiągnięcia. W tym przypadku bowiem nagroda Nobla przypadła za badania wykonane prawie 40 lat temu. Warto więc przypomnieć trochę danych z życia i działalności Barbary McClintock. Urodzona 16 czerwca 1902 r., w latach 1927—40 pracuje jako cytolog i genetyk w Cornell University, gdzie duży i prężny zespół genetyków pod kierownictwem profesorów R. A. Emersona i M. M. Rhoadesa opracowywał wówczas cytogenetykę kukurydzy. Prace te w owym czasie miały duży rozgłos na świecie i potwierdzały hipotezę T. H. Morgana o lokalizacji i stałym położeniu genów w chromosomach organizmów. Dzięki wybitnym talentom cytologicznym Barbary McClintock zespół ten ustalił dokładne mapy genetyczne 10 chromosomów kukurydzy. Kukurydza stała się najlepiej genetycznie poznaną rośliną, co walenie przyczyniło się następnie do szybkiego postępu w jej hodowli — dzięki czemu Stany Zjednoczone stały się największym producentem światowym tego podstawowego składnika paszy zwierzęcej.

W tym okresie Barbara McClintock istotnie przyczyniła się do dalszego utrwalenia poglądu, iż geny zajmują stałe i ściśle określone położenie w chromosomach. Była to osoba bardzo utalentowana, świetny cytolog, jednak trudna w kontaktach, pracująca samotnie i bez reszty oddana pracy naukowej.

Barbara McClintock pracując nad kukurydzą natknęła się na dziwne i zaskakujące zjawisko: geny zwykle stałe, o określonym efekcie fenotypowym (tzn. obserwowalnym), w niektórych odmianach kukurydzy zachowywały się nienormalnie i wykazywały olbrzymią niestałość swych efektów fenotypowych. Np. gen kodujący syntezę czerwonego barwnika antocjanowego, powodujący czerwone zabarwienie ziaren kukurydzy, w odmianach owych stawał się nagle niestały. Jego działalność zostawała wyłączona i nasiona były bezbarwne — żółtawe. W trakcie rozwoju nasion mutacja ta była jednak niestała i z dużą częstością gen odzyskiwał swą aktywność. W wyniku tego powstawały nasiona plamiste z licznymi czerwonymi plamami i paskami na jasnym bezbarwnym tle. Zjawisko to zaintrygowało B. McClintock i od roku 1944 zajęła się wyłącznie badaniem natury tej niestałości. Carnegie Institute w Waszyngtonie zaproponował jej w tym czasie pracę w znanym laboratorium w Cold Spring Harbor, gdzie pracowała od roku 1941 do roku 1967 i gdzie po przejściu na emeryturę pracuje do dziś jako „distinguished service member”. Od tego czasu zaczyna się długi okres jej życia prowadzący do wykrycia zaskakujących przyczyn niestałości genów kukurydzy. Wyniki tych badań były całkowicie nieoczekiwane i jak na owe czasy szokujące i nie pasujące do ówczesnych pojęć panujących w genetyce.

W licznych, niesłychanie pomysłowych doświadczeniach popartych obserwacjami cytologicznymi Barbara McClintock wykazała, że niestałość genów jest wynikiem działalności ruchomych elementów genetycznych, które mogą „przeskakiwać” z jednego miejsca w drugie w obrębie jednego chromosomu, a także z jednego chromosomu do drugiego. Gdy ruchomy element zostanie włączony do chromosomu w obrębie czy w pobliżu określonego genu, powoduje on niestałość efektów tego genu, włączając bądź wyłączając ów gen w trakcie rozwoju rośliny. Te różnice w aktywności genów związane są z ruchliwością i przenoszeniem ruchomych elementów w nowe położenia. Przy zmianach położenia elementu ruchomego — czyli przy jego transpozycji — mogą zachodzić bardzo drastyczne zmiany w strukturze chromosomów, jak np. wypadanie różnej długości odcinków chromosomu (tzw. delekcje)..

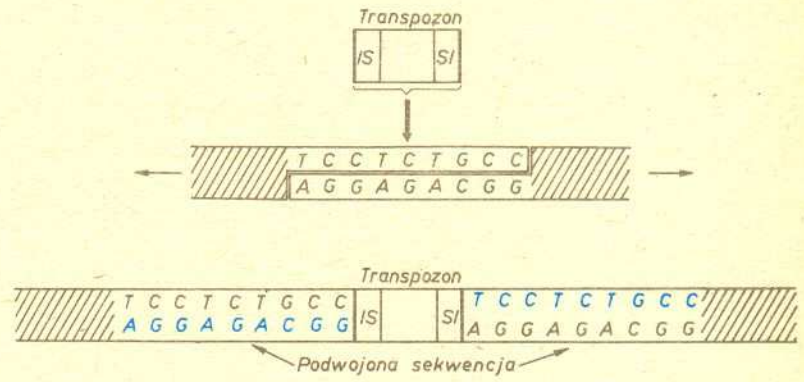
Przyznawaniu Nagród Nobla często towarzyszyły drobne skandale. Na przykład w 1905 roku, kiedy Henryk Sienkiewicz na zakończenie ceremonii oficjalnej wznosił toast na cześć Polski, wszyscy powstali, tylko ambasador Niemiec demonstracyjnie pozostał na swym miejscu (wzmiankę o tym incydencie znaleźliśmy w październikowym numerze pisma *La Recherche* z 1983 r.).



W ciągu 6 lat intensywnej i samotnej pracy Barbara McClintock opisała szereg różnych rodzajów elementów ruchomych, których przemieszczenia w różne pozycje chromosomów śledziła przy pomocy bardzo pomysłowych doświadczeń genetycznych. W roku 1950 na sympozjum w Cold Spring Harbor przedstawia ona wyniki swych sześcioletnich samotnych badań. Większość słuchaczy albo w ogóle nie była w stanie śledzić owych wyników, albo pozostała bardzo sceptyczna, a niektórzy nie mogli wręcz pojąć, jak pojedyncza osoba mogła otrzymać tego rodzaju rezultaty. Co więcej, Barbara McClintock przypisywała wykrytym przez siebie ruchomym elementom genetycznym rolę w procesach różnicowania i nazwała je elementami kontrolującymi sugerując, iż włączanie i wyłączanie aktywności genów w procesach różnicowania się komórek może być także wynikiem ich działalności. Twierdzenie to niewątpliwie było trochę na wyrost i przyjęte zostało bardzo sceptycznie.

Od tego czasu, jeszcze bardziej osamotniona, pracuje nad wykrytym przez siebie zjawiskiem w przekonaniu, że jest na tropie prowadzącym do poznania zupełnie nowych i istotnych zjawisk genetycznych. To jej głębokie przekonanie zostało potwierdzone dopiero w ostatnich kilkunastu latach. Najpierw jednak genetycy pracujący z bakteriami i fagami (wirusami bakteryjnymi) w latach siedemdziesiątych wykryli analogiczne ruchome elementy genetyczne u bakterii. Był to już okres, w którym genetyka przechodziła na poziom molekularny i geny jako określone odcinki DNA można było izolować, a następnie także określać ich strukturę ustalając kolejność ułożenia — czyli sekwencję — czterech różnych rodzajów nukleotydów (T, C, A, G; tworzących komplementarne pary: A—T, G—C). Jak wiadomo, sekwencja nukleotydów wzdłuż łańcuchów DNA stanowi zakodowaną informację genetyczną przede wszystkim o syntezie białek — bezpośrednich produktów aktywności genu. W krótkim czasie opisano zauważone u bakterii dziesiątki rodzajów ruchomych elementów genetycznych. Mogą to być stosunkowo krótkie odcinki DNA, złożone z 700 do 1400 nukleotydów, które zwane są obecnie elementami (sekwencjami) insercyjnymi (IS). Mogą też one być znacznie dłuższe — zawierające od kilku do ponad 20 tysięcy nukleotydów — i nazywane są wówczas transpozonomi. Te ostatnie zostały dokładnie zanalizowane, gdyż zawierają one zwykle geny oporności bakterii na różne antybiotyki (np. ampicilinę, tetracyklinę czy kanamycynę). Dzięki tej właściwości można łatwo śledzić ich kolejne transpozycje nie tylko w obrębie jednego chromosomu bakteryjnego, ale także wtedy, gdy z chromosomów przenoszą się do plazmidów czy do DNA fagów lub też w kierunku odwrotnym.

Plazmidy — autonomiczne twory zbudowane z DNA pozachromosomowego o cząsteczkach znacznie mniejszych od cząsteczki chromosomowej, zawierające własną informację genetyczną.



Gdy poznano strukturę jednostek IS oraz transpozonów, można było wyjaśnić naturę procesów prowadzących do „przeskakiwania” ich w różne miejsca chromosomu czy też do odrębnych cząsteczek DNA plazmidów czy fagów. Wszelkie ruchome jednostki genetyczne mają przede wszystkim na obu końcach identyczne, powtórzone sekwencje nukleotydowe w układzie prostym (IS) lub odwróconym (SI), które są konieczne, aby cały element miał zdolność do transpozycji. Poza tym wykazano, że przy włączaniu transpozonu w nowe miejsce DNA rozpoznawana jest krótka sekwencja złożona z pięciu do dziewięciu nukleotydów. Tylko w takich miejscach transpozon może być włączony, przy czym po jego włączeniu ową krótką sekwencję odnajdujemy w dwóch kopiach



po obu stronach włączonego transpozonu. Ponieważ tego rodzaju krótkich sekwencji w cząsteczkach DNA złożonych z milionów nukleotydów (jak np. w chromosomie bakteryjnym) jest bardzo wiele, to transpozony mogą być włączane w liczne nowe pozycje — zarówno wewnątrz, jak i w sąsiedztwie bardzo różnych genów. Niektóre z większych transpozonozów zawierają oprócz genów oporności na antybiotyki także gen kodujący specjalny enzym warunkujący ich zdolność do transpozycji. Enzym ten, zwany transpozazą, rozpoznaje specyficzne sekwencje powtórzone na końcach transpozonozów, jak i krótkie sekwencje miejsca włączenia transpozonozów i, nacinając pojedyncze łańcuchy podwójnej helisy DNA na końcach rozpoznawanych sekwencji, powoduje najpierw przecięcie łańcuchów, a następnie połączenie końców transpozonozów z łańcuchami DNA biorcy. W wyniku dalszych dość złożonych procesów powiązanych z częściową replikacją DNA, następuje włączenie transpozonozów w nowym położeniu w DNA. Procesom tym towarzyszy często reorganizacja większych obszarów DNA i np. wypadanie (delecje) różnej długości odcinków DNA — co obserwowała też Barbara McClintock. Również u bakterii włączenie takich ruchomych elementów genetycznych w obrębie genu czy w jego bliskim sąsiedztwie wywołuje podobne efekty niestałości przejawiania się genów. Tak więc realność transpozonozów została udowodniona i poznano przynajmniej częściowo mechanizmy leżące u podstawy ich ruchliwości. Teraz dopiero wszyscy przypomnieli sobie prace McClintock!

Barbara Mc Clintock przypisywała transpozonom istotną rolę w procesach różnicowania się komórek i nazywała je elementami regulującymi. Te właściwości mogłyby one przejawiać jedynie u wyższych wielokomórkowych organizmów roślinnych i zwierzęcych. W ciągu ostatnich kilkunastu lat wykryto podobne lub zbliżone ruchome jednostki genetyczne — najpierw u drożdży, a następnie u muszki owocowej *Drosophila*. W ostatnich latach znaleziono je także u ssaków z człowiekiem włącznie. Wywołują one nie tylko te same zmiany w aktywności genów co u bakterii czy kukurydzy, ale mają również te same właściwości molekularne. Ich różnej długości sekwencje nukleotydowe są zawsze zakończone krótkimi sekwencjami powtórzonymi, a ich mechanizm transpozycji musi być bardzo zbliżony do transpozonozów bakteryjnych, albowiem również włączane są w miejscach krótkich 5—9 nukleotydowych sekwencji, które po włączeniu transpozonozów odnajdujemy podwojone po obu jego końcach. Obecnie w klasycznych mutantach niestałych kukurydzy opisanych przez Barbarę McClintock wykazano istnienie, wstawionych do genów, sekwencji rozmaitych transpozonozów. Transpozony występują więc w całym świecie ożywionym, od wirusów do człowieka. Wykazano nawet, że wirusy onkogenne (rakotwórcze) ptaków i ssaków — wywołujące u zwierząt różnego rodzaju raki, jak białaczki czy mięsaki — mają, po przekształceniu ich RNA w DNA, strukturę typową dla transpozonozów i są włączane do DNA chromosomów zwierzęcych w wyniku procesów zbliżonych do włączania transpozonozów bakteryjnych.

Pozostaje otwarte pytanie, czy tak powszechnie występujące w świecie ożywionym różnego rodzaju ruchome elementy genetyczne mogą rzeczywiście, jak to zakładała Barbara McClintock, odgrywać istotną rolę w procesach wzrostu i różnicowania się komórek i spełniać rolę „elementów regulujących” wzrost i różnicowanie się organizmów. Obecnie nie ma na to dowodów. Ostatnio jednak wykazano, że w procesie różnicowania się komórek produkujących przeciwciała (czynnych w procesach obrony immunologicznej zwierząt) zachodzą w chromosomach, zawierających DNA kodujące te przeciwciała, liczne, bardzo złożone reorganizacje struktury DNA; w wyniku owych zmian elementy, z których złożone są geny przeciwciał, leżące w komórkach embrionalnych daleko od siebie, znajdują się blisko siebie w komórkach zróżnicowanych — dzięki czemu następuje montowanie olbrzymiej ilości genów różnych przeciwciał z ograniczonej ilości elementów wyjściowych. W tych reorganizacjach, związanych z usuwaniem (delecją) różnych odcinków DNA, niektórzy badacze widzą procesy zbliżone do transpozycji elementów ruchomych DNA.



Rozwiązanie zadania M 362. Mamy  $376^n =$   
 $= 376^2 \cdot 376^{n-2} = 141376 \cdot 376^{n-2} =$   
 $= 141000 \cdot 376^{n-2} + 376 \cdot 376^{n-2} =$   
 $= 1000 \cdot 141 \cdot 376^{n-2} + 376^{n-1}.$

Wynika stąd, że trzy ostatnie cyfry  $376^n$  są takie same, jak trzy ostatnie cyfry  $376^{n-1}$ . Wynika stąd przez indukcję, że  $376^n$  kończy się tymi samymi cyframi, co  $376^1$ , a więc  $376^n = \dots 376$ .

Tak więc idee Barbary McClintock obecnie nikogo już nie szokują! Doczekała się ona czasu, w którym badane przez nią dziwne zjawiska u kukurydzy stały się jednym z bardziej aktualnych problemów genetyki molekularnej. Waga tych badań została właściwie oceniona przyznaniem jej nagrody Nobla w osiemdziesiątym drugim roku życia.