

Tomasz Twardowski

Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Poznań

O projekcie „genom człowieka” nieco inaczej

Projekt badawczy „genom człowieka” wyróżnia się wieloma niezwykłymi cechami. Dla zrozumienia znaczenia i celów projektu genomu człowieka konieczne jest wyjaśnienie czego spodziewamy się po poznaniu sekwencji genomu człowieka, a co nadal pozostanie zupełnie nieznanym (1,2). Celem tego projektu jest poznanie genetycznych podstaw, w aspekcie molekularnym, gatunku *Homo sapiens*. Genom człowieka (w dużym uproszczeniu składa się z ok. 100 000 genów, które stanowią łańcuch uformowany z ok. 3×10^9 nukleotydów. Niezależnie od tego podstawowego problemu, wiele zagadnień musi zostać wyjaśnionych, a wśród nich m.in.: prawne, etyczne, bioinformatyczne, oraz badania modelowe i rozwój nowych technik analitycznych.

DNA jest matrycą dla syntezy innych kwasów nukleinowych i odgrywa kluczową rolę w procesach regulacyjnych. W odpowiedzi na zmianę warunków zewnętrznych ma miejsce wzrost szybkości i efektywności syntezy odpowiednich kwasów nukleinowych lub białek. W strukturze DNA zawarta jest informacja o funkcjonowaniu specyficznych „wyłączników” i „załączników” czynności biologicznych.

Jednakże te nader ważne i złożone funkcje pełnione przez DNA są niewystarczające dla kontroli funkcjonowania komórki. Stan dotychczasowych badań pozwala przypuszczać, że DNA może pełnić także i inne funkcje niż dotąd poznane. Stwierdzamy jednocześnie, iż szereg procesów kluczowych dla procesu biosyntezy białka przebiega bez udziału DNA. Przykładowo: rozpoznanie właściwego aminokwasu przez transferowy RNA, jak również formowanie prawidłowej (czyli gwarantującej aktywność biologiczną) konformacji przestrzennej białek; także transport wewnątrzkomórkowy oraz pomiędzy komórkami przebiega – jak dziś wiemy – bez udziału DNA. Funkcja biologiczna białek jest uzależniona od ich struktury i połączeń z innymi molekułami. Przypuszcza się, że proces formowania struktur wewnątrzkomórkowych jest niezależny od kwasów nukleinowych, lecz sposób kodowania tej kluczowej informacji jaką jest struktura przestrzenna molekuł pozostaje dotąd nieznany.

W tym celu, aby jakikolwiek proces biologiczny mógł zaistnieć, konieczna jest obecność właściwych komponentów (białek, jonów metali, kwasów nukleinowych) w odpowiednim momencie i ilościach oraz w stosownym miejscu. Białka, a także jony metali występujące w niewłaściwej ilości czy miejscu będą po prostu szkodliwe dla komórki. Jedność tych 4 czynników (czas, miejsce, jakość i ilość) wydaje się oczywista, jednakże brak jest danych dotyczących sposobu regulowania tego procesu czy też przekazu właściwych informacji. Wiadomo jedynie (bez znajomości mechanizmu tych procesów), że uczestniczą w tym złożonym mechanizmie błony wewnątrzkomórkowe, które tworzą pewne wydzielone obszary w komórce organizmów wyższych, charakteryzujące się specyficznymi parametrami. Stwierdzono również obecność w komórkach prostszych (np. bakteryjnych) lokalnych stężeń wielokrotnie wyższych (lub niższych) od średniej dla całej komórki. Jednakże komórka bakterii nie ma błon wewnątrzkomórkowych. W konsekwencji powstaje intrygujące pytanie jakie mechanizmy utrzymują i wytwarzają granice lokalnych stężeń. Potrafimy dzisiaj podać jakie jest średnie stężenie, np. jonów magnezu w komórce, nie wiemy natomiast, jakie jest ono w poszczególnych organellach komórkowych.

W komórce ludzkiej muszą być zakodowane jeszcze w innym miejscu ważne informacje (np. dotyczące transportu międzykomórkowego).

Wiadomo również, że DNA jądrowy nie jest jedynym źródłem informacji dla procesów życiowych człowieka. Z całą pewnością istotne znaczenie dla naszego „zestawu” informacji genetycznej odgrywa jeszcze jeden przynajmniej rodzaj DNA, a mianowicie mitochondrialny (mtDNA) (3). Znajduje się on w mitochondrium komórki, a zatem poza jądrem. Jest on bardzo małej (w porównaniu z jądrowym DNA); składa się zaledwie z 16 569 nukleotydów, uformowanych w kulistą strukturę. Ta liczba nukleotydów wystarcza do kodowania 13 białek. Jednakże **tylko** te 13 białek jest kluczowych dla procesów oddychania i pozyskiwania przez komórkę energii. Związek między mtDNA a chorobami genetycznymi został wykazany jednoznacznie. Porównana została sekwencja mtDNA jedenastu osób cierpiących na zespół chorobowy Lebera (utrata wzroku i degeneracja nerwu ocznego) z analogiczną sekwencją pozyskaną od osobników zdrowych. W 9 wypadkach (na 11 testowanych) stwierdzono pojedynczą (!) zmianę nukleotydu w genie: guanina (G) została zamieniona na adeninę (A). W wyniku tej konwersji w białku kodowanym przez ten gen aminokwas numer 340 uległ przekształceniu z argininy na histydynę. W kontrolnych testowanych mtDNA (pozyskanych od osobników zdrowych) nie stwierdzono takiej punktowej mutacji! Fakt, że w 2 wypadkach (na 11) nie stwierdzono tej modyfikacji pozwala domniemywać istnienia jeszcze innego mechanizmu powstawania tej choroby. Niewątpliwa jest natomiast zbieżność zmiany sekwencji mtDNA z chorobą genetyczną, a w konsekwencji związek genomu mitochondrialnego z przekazem genetycznym. Aktualnie, w większym lub mniejszym stopniu, związek takowy jest już oczywisty dla kilku chorób genetycznych (m.in. zespół chorobowy Kearns–Sayre, choroba Parkinsona, Huntingtona).

W tak złożonej sytuacji, jakich informacji można oczekiwać po pełnej analizie genomu człowieka? Po to, żeby ta informacja była zrozumiała, konieczne jest posiadanie pewnego wzorca dla celów porównawczych (4). Dlatego prowadzone są intensywnie prace modelowe, np. realizowane są projekty badawcze mające na celu ustalenie sekwencji genomu m.in. *E. coli*, drożdży, *nematodes*. Prowadzone są również badania porównawcze takie jak w przypadku mtDNA (1). Jednocześnie, jak już wspomniałem, istotne jest już dzisiaj zastanowienie się nad potencjalnymi konsekwencjami znajomości genomu człowieka oraz umiejętności interpretacji tej wiedzy.

Dyrektor Human Genome Research – James Watson, w ramach budżetu projektu badawczego „genom człowieka” przeznaczył początkowo 3%, a następnie podwyższył do 5%, nakłady na badania etyczne i prawne tego zagadnienia (5). Wynika to z faktu, że aspekty moralne rzucają dosyć ponury „cień” na badania podstawowe. Dotyczy to nie tylko spekulacji intelektualnych, ale już istniejących faktów. Znajomość już tylko małych fragmentów genomu człowieka umożliwia diagnostykę genetyczną, a więc wskazanie zwiększonego prawdopodobieństwa pewnych chorób genetycznych, np. *cystic fibrosis*, nowotworu piersi czy też chorób serca i innych. Pierwszy możliwy problem to pytanie, kto będzie testowany – wybrane jednostki, grupy społeczne czy cała populacja? Następnie, czy osoby u których stwierdza się zwiększone prawdopodobieństwo będą:

- a) naznaczone, „napiętnowane” (przykładowo sytuacja osób chorych na AIDS), czy też
- b) mają większe szanse przyspieszonego podjęcia badań i leczenia profilaktycznego.

Dalszą konsekwencją jest dostępność tych danych, czy wyniki analizy genetycznej będą własnością prywatną, czy będą dostępne dla pracodawcy, dla firmy ubezpieczeniowej? Czy winny być udostępnione życiowym partnerom? Z pewnością diagnostyka genetyczna będzie również wykorzystana dla ewaluacji stawki ubezpieczeniowej (6). Te zagadnienia sformułowane jako pytania dotyczące dużej populacji ludzkiej są dość oczywiste. Jednakże formułowanie odpowiedzi na nie jest bardzo trudne. Jeszcze bardziej złożona staje się sytuacja w przypadku podejmowania decyzji osobistych przez pojedyncze osoby. W opinii zgłoszonej przez American Society of Human Genetics (ASHG) (Amerykańskie Towarzystwo Genetyki Człowieka) podkreśla się znaczenie sformułowania „wzrost prawdopodobieństwa” (3). W większości wypadków

określenie prawdopodobieństwa ryzyka choroby genetycznej nie przekracza 70–75%, a w przypadku cech recesywnych, które muszą być potomstwu przekazane przez rodziców prawdopodobieństwo ulega obniżeniu do 50%. W opinii ASHG jest to niezadowalający procent. Informacja ta ma zbyt mały współczynnik wiarygodności, przy bardzo dużym ładunku emocjonalnym. Należy być bardzo ostrożnym przy realizacji takich testów i publikowaniu ich wyników. W szczególności, że bezbłądność oznaczania sekwencji DNA budzi istotne obiekcje wśród specjalistów, którzy szacują, że na tysiąc oznaczonych zasad jest "kilka" błędów (4). Zwiększenie poprawności (czyli wiarygodności) oznaczeń jest nie tylko trudne, ale także kosztowne.

Aspekty etyczne projektu „genom człowieka” mają i będą miały coraz większe znaczenie. Istotne jest zrozumienie tych zagadnień przez społeczeństwo, tak aby możliwa była nie tylko kontrola prac badawczych, ale również właściwe czerpanie korzyści z wiarygodnych rezultatów, przeprowadzonych badań.

Podsumowując należy postawić pytanie: jakie są walory a jakie wady przedstawionego tematu?

Podstawowym efektem będzie poznanie molekularnych podstaw genetyki człowieka. Znajomość sekwencji genomu stworzy ogromną szansę dla nowoczesnej medycyny i farmacji, a poznanie mechanizmów chorób genetycznych ułatwi opracowanie diagnostyki i terapii. Rozmach i zakres problemu powoduje rozwój nowych technik, w szczególności w zakresie metod sekwencjonowania oraz bioinformatyki. Z pewnością nastąpi unowocześnienie przepisów prawnych i patentowych. Ważnym aspektem jest również zwrócenie uwagi społeczeństwa na biologię jako na naukę, jak również można założyć z dość dużym prawdopodobieństwem, że istotne korzyści wynikną w trakcie realizacji badań, w aspektach obecnie nie oczekiwanych.

A krytyka? W dotychczasowej literaturze stosunkowo trudno jest znaleźć uwagi krytyczne (1,7). Niewątpliwie wynika to po części z faktu, że po stronie zwolenników tego przedsięwzięcia zadeklarowało się wielu wybitnych uczonych. Jednakże sceptycyzm dotyczący problemu jest uzasadniony. Pierwsza kwestia to pytanie, czy celowe jest inwestowanie tak znacznych środków w jeden temat, koncentrując nakłady, zamiast systematycznie rozwijać badania nad wieloma zagadnieniami. W pytaniu tym ukryta jest obawa, że środki finansowe przeznaczone na temat badawczy „genom człowieka” będą pozyskiwane kosztem innych badań. Wątpliwości budzi nawet cel podstawowy – poznanie pełnej sekwencji. Obecnie uważa się, że większość sekwencji DNA (ponad 90%) to obszary niekodujące, a zatem nie zawierające żadnej informacji, po prostu bezwartościowe. Tym bardziej, że (wbrew wstępnym zapowiedziom) projekt już został rozszerzony na szereg innych genomów (zwierzęcych i roślinnych) zarówno w aspekcie badań modelowych jak i porównawczych. Wiadomo również, że firmy farmaceutyczne już od dawna inwestują znaczne środki finansowe dla poznania sekwencji pojedynczych genów odpowiedzialnych za określone choroby genetyczne. Do tego celu nie jest potrzebna znajomość pełnej sekwencji genomu. Pewien sceptycyzm budzi również nakreślony plan finansowy i harmonogram realizowanych prac (4). Według założeń programu analiza sekwencji genomu człowieka winna być zakończona do 2005 r. kosztem 3 mld USD. Największy znany kompletny genom to *Cytomegalovirus*, wielkość ok. 240 000 zasad. Oznaczenie tej sekwencji trwało kilka lat i wymagało pracy 12 osób, a szacunkowy koszt sekwencjonowania wyceniono na 2,5 USD za jedną oznaczoną zasadę. Oczywiście zaawansowane są prace nad genomem *nematodes* i *E. coli*; oznaczono już kilkaset tysięcy par zasad przy koszcie ok. 1÷2 USD na jedną zasadę. Walter Gilbert zapewniał nawet, że w najbliższych 5 latach koszt sekwencjonowania zostanie obniżony do 20 centów za jedną zasadę przy dziennym sekwencjonowaniu 10 000 par zasad. Jednakże optymizm ten nie zmienia wątpliwości wielu uczonych odnośnie do równania: 3 mld USD + 15 lat + 3x10⁹ nukleotydów = genom człowieka. Wątpliwości budzi także aspekt szkoleniowy projektu, który należy określić jako raczej inżynierski dla 99% zaangażowanych badaczy. Praca koncepcyjna – w opinii krytyków – będzie wykonywana przez nieliczną grupę liderów tematu. Sytuacja taka może spowodować wykształcenie (w ciągu 15 lat trwania projektu) całej „armii” techników, biegłych

tylko w sekwencjonowaniu. Istotne jest również pytanie kto zakupi, a kto będzie chciał skopio-
wać niezwykle cenne wyniki badań?

Na wiele z tych pytań można udzielić ambiwalentnej odpowiedzi. Bezprzecznym jest jednak to,
że niedawno inżynieria genetyczna, a obecnie zagadnienie „genom człowieka”, zwróciły uwagę
społeczeństwa na problemy współczesnej biologii.

Literatura

1. Davis B. D., (1990), *Science*, 249, 342–343.
2. Stephens J. C., et al., (1990), *Science*, 250, 237–250.
3. Palca J., (1990), *Science*, 249, 1104–1105.
4. Roberts L., (1990), *Science*, 1336–1338.
5. Joyce Ch., (1990), *New Scientist*, 11 VIII, 52–55.
6. *Nature*, 20 IX 1990, 341, p. 214, 221, 220.
7. Rechsteiner M., (1990), *New Scientist*, 15 IX, 20.

Comments on “human genom” project

Summary

The project “Human Genom” (HuGO) is usually presented as a step to the 21st century. However, in
this article some scepticism is presented. Selected aspects of the problem concerning e.g. ethics, money,
significance of this project are discussed.

Adres dla korespondencji:

Tomasz Twardowski, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, ul. Noskowskiego 12/14, 61–704
Poznań.

NOWOŚCI!

Nowa metoda leczenia mukowiscydozy

Już w latach pięćdziesiątych zauważono, że DNaza wyizolowana z bydlęcej trzustki rozpusz-
cza nadmiar DNA w wydzielinach płuc chorych na genetyczną chorobę, mukowiscydozę. Le-
czenia tego typu nie wprowadzono, ponieważ większość chorych wykazywała immunologiczną
nietolerancję na bydlęcy enzym.

W Genentechu sklonowano ostatnio gen ludzkiej DNazy trzustkowej i sam enzym wydzielo-
no z hodowli zrekombinowanych komórek ssaków. Rozpoczęto kliniczne badania w fazie I tego
enzymu u pacjentów z mukowiscydozą.

M.F.

Opracowano na podstawie: (9 July 1990), *The Scientist*.