

Kazimierz Kloskowski

Genom ludzki: wyobrażenia a stan faktyczny badań genetycznych

Studia Philosophiae Christianae 30/1, 130-139

1994

Artykuł został zdigitalizowany i opracowany do udostępnienia w internecie przez Muzeum Historii Polski w ramach prac podejmowanych na rzecz zapewnienia otwartego, powszechnego i trwałego dostępu do polskiego dorobku naukowego i kulturalnego. Artykuł jest umieszczony w kolekcji cyfrowej bazhum.muzhp.pl, gromadzącej zawartość polskich czasopism humanistycznych i społecznych.

Tekst jest udostępniony do wykorzystania w ramach dozwolonego użytku.

nieprawidłowości w rozwoju dziecka i ich leczeniu. Diagnostykę prenatalną ogólnie określił jako maoralnie godziwą.

W imieniu zespołu lekarzy z II Kliniki Pediatrii Śląskiej Akademii Medycznej referat pt. *Intensywna terapia noworodka* wygłosił dr Janusz Świetliński. Mówił o problemach związanych z pracą na Oddziale Intensywnej Terapii Noworodka. W wykładzie ilustrowanym licznymi przezroczami podkreślał specyfikę swojego oddziału.

Ks. dr hab. Kazimierz Kłoskowski, ATK, poruszył temat: *Genom ludzki. Wyobrażenia a stan faktyczny badań genetycznych*. Stan wiedzy o genomie ludzkim jest nadal znikomym, tym bardziej zagadnienia te stanowią pasjonujące pole badań.

Prof. dr hab. Michał Troszyński z Centrum Zdrowia Dziecka w wykładzie *Aktualne problemy medycyny okolorodowej* dzielił się uwagami dotyczącymi opieki nad kobietą przed i w czasie ciąży oraz bezpośrednio po porodzie. Zwrócił uwagę na znaczenie opieki medycznej w tym okresie, przy wczesnej i ciągłej ocenie ryzyka. Jako bardzo ważny aspekt ukazał nobilitujące dla rodziców znaczenie porodu. W związku z tym konieczne jest uwzględnienie przez lekarzy życzeń matki i ojca dotyczących przebiegu samego porodu.

O *uwarunkowaniach postaw prokreacyjnych* mówiła Prof. dr hab. Krystyna Ostrowska, ATK i UW. Różnice występujące w obrębie danych kultur zostały ukazane na przykładzie Polski, Szwajcarii i Niemiec.

Na przykładzie tych samych państw ks. prof. dr hab. Bernard Hałaczek omówił zagadnienie *Uwarunkowań postaw pro- i antyaborcyjnych*.

Problem animacji w świetle współczesnych poglądów chrześcijańskich etyków i moralistów podjął w swym wystąpieniu ks. prof. dr hab. Tadeusz Ślipko. Precyzując, Prelegent stwierdził, że w swym referacie zajmie się nie tylko problemem animacji jako takiej ale problemem momentu, w którym substancjalny pierwiastek duchowy zespała się z materialnym, biologicznym podłożem.

Ks. dr Grzegorz Stephan z Wyższego Śląskiego Seminarium Duchownego w Katowicach mówił na temat: *Początek życia ludzkiego w myśli wczesnochrześcijańskiej*. Zwrócił uwagę na podkreślanie przez Ojców Kościoła podmiotowości płodu ludzkiego.

Ostatnią prelegentką była dr Janina Buczkowska, AK i ATK. Tematem jej wystąpienia był: *Ontyczny status embrionu ludzkiego*. Embrion w jej ujęciu różni się od narodzonego dziecka tak, jak różni się od siebie poszczególne fazy rozwoju tego samego organizmu.

Symposium podsumowane zostało interesującą dyskusją. Poniżej drukujemy pełne teksty trzech referatów. Pozostałe zostały opublikowane w innych czasopiśmiech.

oprac. Andrzej Abdank-Kozubski

KAZIMIERZ KŁOSKOWSKI

GENOM LUDZKI WYOBRAŻENIA A STAN FAKTYCZNY BADAŃ GENETYCZNYCH

1. UŚCIŚLENIA TERMINOLOGICZNE I SFORMUŁOWANIE PROBLEMU

Od czasów A. Vesaliusa¹, twórcy anatomii, jest sprawą oczywistą, że bez znajomości szczegółów anatomicznych ciała ludzkiego nie jest możliwe określenie jego funkcji.

¹ Andreas Vesal lub Vesalius żył w latach 1514-1564. Jego podstawowe dzieło to *De homini corporis fabrica* z 1543 r.

Podobnie uwarunkowana jest współczesna genetyka, której zadaniem jest „rozszyfrowanie” ludzkiego genomu, czyli uzyskanie pełnej informacji na temat dziedzicznego wyposażenia człowieka.

Już dziś z całą pewnością wiadomo, że wiele chorób jest natury dziedzicznej. Zapobieganie tymże chorobom bądź ich leczenie nie jest możliwe bez znajomości wyposażenia genetycznego. Terminem naukowym określającym owo wyposażenie jest genotyp. Stanowi on zespół wszystkich genów organizmu. Organizm, oprócz genotypu, składa się z fenotypu, czyli zespołu wszystkich cech organizmu, które powstają pod wpływem genotypu we współdziałaniu ze środowiskiem. Genotyp jest zlokalizowany w chromosomach i stanowi strukturę genetyczną osobnika.

Organizm człowieka składa się z 10^{14} komórek, czyli że 100 bln komórek. Większość z nich (oprócz czerwonych ciałek krwi) posiada jądro komórkowe, w którym znajduje się pełne wyposażenie genetyczne, czyli genotyp. Sam genotyp zlokalizowany jest w chromosomach – jednostkach morfologicznych dających się zaobserwować pod mikroskopem świetlnym. W komórkach człowieka jest 46 chromosomów; jest to tzw. liczba diploidalna, czyli podwójna, chromosomy bowiem występują parami. W każdej parze jeden chromosom pochodzi od ojca, drugi zaś od matki. Tak więc na diploidalny zestaw chromosomów składają się dwa garnitury haploidalne.

Z kolei gen jest to odcinek DNA (kwas dezoksyrybonukleinowy). Stanowi on swoistą jednostkę funkcji w tym sensie, że koduje kolejność aminokwasów w jednym łańcuchu peptydowym bądź kolejność nukleotydów w cząsteczce kwasu rybonukleinowego (RNA), przenoszącego informację genetyczną na białka. Gen może mieć długość od kilkuset do kilkudziesięciu tysięcy nukleotydów. Zespół genów znajdujących się w jednym haploidalnym garniturze chromosomów nazywamy genomem. Jest on zatem najmniejszą całością ludzkiego genotypu. Inaczej mówiąc – genotyp składa się z dwóch genomów, z których każdy wyposażony jest w 23 haploidalne chromosomy². Głównym składnikiem chromosomów jest kwas dezoksyrybonukleinowy. Jest to cząsteczka, której elementy składowe tworzą bardzo długie łańcuchy. Gdybyśmy ułożyli wszystkie łańcuchy DNA znajdująca się w jednym genomie (czyli w 23 haploidalnych chromosomach) – ich długość wynosiłaby 1 m, a w ich skład weszłyby 3 mld nukleotydów (3×10^9), a dokładniej – par nukleotydów – gdyż cząsteczka DNA złożona jest z dwóch łańcuchów spiralnie splecionych według modelu F.H.C. Cricka, J.D. Watsona, M.H.F. Wilkina. Tak więc w każdej ludzkiej komórce (oprócz czerwonych ciałek krwi) występuje DNA długości 2 metrów. Jest to nadzwyczajne, że w każdej ludzkiej komórce, ledwo dostrzegalnej pod mikroskopem, DNA jest tak „upakowana”; mieści się w jądrze komórkowym o średnicy kilku mikrometrów, czyli milionowych części metra. DNA jest biopolimerem. Składa się z pojedynczych cegiełek, tworzących specjalny łańcuch. Tymi cegiełkami są nukleotydy. W DNA wyróżniamy cztery typy nukleotydów: guaninę, cytozynę, adeninę i tyminę. O kolejności tych zasad organicznych decyduje dany gen. Geny zaś mieszczą się w chromosomach, przy czym nie jest tak, że w jednym chromosomie znajduje się jeden gen. Najczęściej w jednym chromosomie jest bardzo dużo genów. Przyjmuje się dziś, że ludzki a genom składa się z około 100.000 (lub nawet ponad) genów, z czego około 5000 zostało już częściowo rozszyfrowanych. „Gdyby zodziennie odczytywano 1000 „liter” chemicznego alfabetu, którym zapisany jest ludzki genom ... rozszyfrowanie całości trwałoby 10 tysięcy lat ... Gdyby genetyczne instrukcje zawarte w całej nici DNA zapisać drukiem, zajęłoby, licząc z grubszą, 50 pełnych, trzynastotomowych wydań *Wielkiej Encyklopedii Powszechnej* PWN. Czy bardziej się zdumiewać ilością zawartych w genomie informacji czy raczej dziwić, że pełna instrukcja budowy

² Pogląd ten opieram na konsekwencjach wynikających z precyzacji logicznej. Gdybym przyjął, że genom stanowi 46 chromosomów, wówczas genom oznaczałoby to samo co genotyp, a przecież żaden rozsądny genetyk nie jest w stanie zaakceptować takiego poglądu.

człowieka mieści się w kilkuset tomach encyklopedii?³. W takim kontekście, fascynujące zdają się być badania nad ludzkim genomem polegające na: 1) lokalizowaniu poszczególnych genów w określonych chromosomach, 2) sekwencjonowaniu poszczególnych genów, czyli poznawaniu kolejności nukleotydów DNA. To właśnie są zadania stanowiące istotę tzw. *Human Genome Project* – *Projektu Poznania Ludzkiego Genomu*, mającego doprowadzić do zrozumienia mechanizmu dziedziczenia określonych cech, a także do terapii genowej chorób dziedzicznych, umożliwiającej usuwanie przyczyn większości chorób oraz zrozumienie procesu rozwoju człowieka. W ramach projektu „Genom” przede wszystkim skoncentrowano się na pierwszym z wymienionych celów. Jeszcze nie podjęto sekwencjonowania poszczególnych genów człowieka. Uczyniono to m.in. z oblicem *Caenorhobditis elegans*; zsekwencjonowano 40.000 par nukleotydów⁴.

2. MAPOWANIE GENÓW – HISTORIA I METODY BADAŃ

Jak wyżej zaznaczyłem, w ramach projektu *Human Genome* podejmuje się tzw. mapowania genów, czyli 1) lokalizowanie genów w określonym chromosomie, 2) ustalenie kolejności genów w tymże chromosomie, wreszcie 3) określenie odległości pomiędzy genami⁵.

U roślin i zwierząt wykorzystano do zmapowania genów zjawisko *crossing-over*, które polega na wymianie materiału genetycznego podczas mejozy pomiędzy chromosomami homologicznymi. Wykorzystując to zjawisko już kilkadziesiąt lat temu wykreślono mapy genetyczne chromosomów muszki owocowej, myszy, kur, pomidorów, kukurydzy. Oczywiście, wykreślone mapy genetyczne nie dowodzą, że poznano wszystkie geny znajdujące się w chromosomach wymienionych istot żywych, ale jedynie rozpoznano jakąś grupę genów, zlokalizowano, ustalono ich kolejność oraz odległość między nimi. Oczywiście, metoda ta nie jest możliwa do zastosowania u człowieka, gdyż człowieka nie można kojarzyć tak jak zwierzęta czy rośliny; człowiek wydaje mało potomstwa, potomstwo rośnie długo, pokolenia zaś następują po sobie po bardzo długim czasie.

Za zwiastuna możliwości zmapowania ludzkich genów uważa się schemat genalogicznego dziedziczenia zabarwienia skóry w rodzinie przedstawiony w 1876 r. przez Johanna Friedricha Hornera z Zurychu⁶. Następnym krokiem było odkrycie chromosomów w 1877 r. przez Walthera Fleminga z Kilonii. Ogromne znaczenie miały badania Grzegorza Mendla nad zjawiskiem dziedziczności grochu (1865). Na podstawie doświadczeń z muszką owocową, Thomas Hunt Morgan w 1911 r. wykazał, że geny są zlokalizowane w chromosomach (chromosomowa teoria dziedziczenia). W tym samym roku Edmund Beecher Wilson po raz pierwszy przyporządkował określony gen określonemu chromosomowi, mianowicie gen odpowiedzialny za daltonizm związał z ludzkim chromosomem X⁷.

W 1968 roku dokonano pierwszego przyporządkowania autosomatycznego (bada-

³ M. Iłowiecki, *Genetyczny horoskop*, Spotkanie, nr 50/51 (1991) 16; por. S. Brenner, *That lonesome grail*, Nature, 358, (2 luty 1992) 27-28; P.N. Goodfellow, L. Sefton, *Language of the genome*, Nature, 353 (12 wrzesień 1991), 117-118.

⁴ P. Little, *Mapping the way ahead*, Nature, 359 (1 October 1992), 368; por. tenże, *Complementary questions*, Nature, 352 (4 lipca 1991), 20-21.

⁵ B. Jordan, *Les cartes du génome humain*, La Recherche, 20 (1989) nr 216, 1486-1494; P.N. Goodfellow, *Variation is now the theme*, Nature, 359 (29 październik 1992), 777-778.

⁶ B.J. Culliton, *Mapping Terra Incognita (Humani Corporis)*, Science, 250 (12 October 1990), 210.

⁷ V.A. McKusick, *Current trends in mapping human genes*, The FASEB Journal, 5 (1991), 12.

nia Rogera Donahue odkryły, że gen odpowiedzialny za grupę krwi tzw. Duffy, znajduje się na 1 chromosomie) oraz 68 genów zostało przyporządkowanych do chromosomu X na podstawie szczególnych wzorów genealogicznych. Z kolei w kilka lat później Torbjorn Gaspersson i Lore Zech z Instytutu Karola w Sztokholmie zabarwili chromosomy „quinacrine mustard”, dzięki czemu świeciły one w świetle ultrafioletowym. W konsekwencji odkryto, że każdy chromosom posiada charakterystyczne prążki⁸.

Duże znaczenie dla mapowania genów miało odkrycie przez francuskiego uczonego, a pochodzące z Polski J. Barskiego tzw. fuzji komórek somatycznych. Stwierdził on, że podczas hodowli (poza organizmem) komórek różnych organizmów zachodzi zjawisko hybrydyzacji, łączenia się. Hybryda posiada chromosomy obu gatunków, ale w sposób losowy jedne z nich traci. W końcu pozostaje komórka z chromosomami jednego gatunku. Przykładowo, w hybrydzie złożonej z komórek człowieka i myszy „giną” chromosomy człowieka. Stosując tę metodę badano różne cechy biochemiczne, np. obecność poszczególnych enzymów. Najczęściej okazywało się, że jeśli dany chromosom zanikał w komórce, „zanikała” również dana cecha, tj. zdolność wytwarzania danego enzymu.

Ważną dziedziną badań, niezwykle przyspieszającą proces mapowania genów, stała się genetyka myszy. Niektóre geny odpowiedzialne za choroby człowieka zostały precyzyjnie oznaczone w chromosomach dzięki badaniom porównawczym pozwalającym odwoływać się do zmapowanych genów u myszy. Zdaniem Rodericka, jednego z głównych uczonych zajmujących się mapowaniem genów mysich, „genetyczne i fizyczne mapy ludzkiego genomu będą zmieniały się coraz szybciej i wzrosnie wiedza o nich, gdy uwzględni się mapy genów mysich”⁹.

W 1966 r. Victor A. McKusick opublikował pierwszy tom Mendelian Inheritance in Man – katalogu 1487 własności genetycznych. Dziewiąte wydanie tegoż katalogu z 1990 roku zawiera już wykaz 4937 dziedzicznych cech¹⁰. Nadto do 10 września 1990 r. przyporządkowano do poszczególnych chromosomów 1867 genów i zlokalizowano 4859 fragmentów DNA¹¹. Reasumując trzeba powiedzieć, że mapowanie genów człowieka opiera się na czterech metodach¹²:

1. badanie sprzężeń w rodzinach,
2. metoda dawki genu,
3. hybrydyzacja *in situ*,
4. międzygatunkowa hybrydyzacja komórek somatycznych.

Pierwsza metoda oparta jest na zasadzie, że jeżeli dwa dokładnie zlokalizowane geny na chromosomach (2 locusy) są powiązane ze sobą, wówczas rodzeństwo nie wykazuje przypadkowego związku cech określonych przez geny w tych locusach. Niezwykle pomocna okazuje się tutaj tzw. metoda *finger-printing* (odcisków palców). Opiera się ona na tym, że w genomie znajdują się określone sekwencje nukleotydowe, które pod wpływem działania tzw. enzymów restrykcyjnych ulegają rozerwowaniu przez przecięcie. Tak więc nukleaza restrykcyjna rozpoznaje daną sekwencję kilku- lub kilkunastonuk-

⁸ V.A. McKusick, *Current trends in mapping human genes*, 13.

⁹ Cyt. za B.J. Culliton, *Mapping Terra Incognita*, 211.

¹⁰ B.J. Culliton, *Mapping Terra Incognita*, 211.

¹¹ J.D. Watson, M. Gilman, J. Witkowski, M. Zoller, *Recombinat DNA*, New York 1992, 605.

¹² M.J. Connor, M.A. Ferguson-Smith, *Podstawy genetyki medycznej*, tłum. z ang. E. Fidziańska, Warszawa 1991, 89-101; K.J. Harrison-Lavoie, R.M. John, D.J. Porteous, P.F.R. Little, *A cosmid clone map derived from a small region of human chromosome 11*, *Genomics*, 5 (1089), 501-509; R.L. Stallings, D.C. Torney, C.E. Hildebrand, J.L. Longmire, L.L. Deaven, J.H. Jett, N.A. Doggett, R.K. Moyzis, *Physical mapping of human chromosomes by repetitive sequence fingerprinting*, *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 87 (1990), 6218-6222.

leotydomą i rozcina DNA. W ten sposób uzyskuje się porozcinane fragmenty DNA. Inaczej mówiąc, dzięki zadziałaniu enzymów restrykcyjnych na genom uzyskuje się zbiór różnych odcinków DNA, unikatowy dla każdego człowieka, podobnie jak niepowtarzalne są linie papilarne palców.

W drugiej metodzie tzw. dawki genu wykorzystuje się różne aberracje strukturalne chromosomów. Zdarza się mianowicie, że w określonym chromosomie brakuje jakiejś jego części np. prążka (zjawisko delecji) albo nastąpiło podwojenie jakiegoś fragmentu. Badając takie chromosomy i stwierdzając ubytek genu lub jego podwojenie stwierdzamy, że ilość enzymu, który jest kodowany przez dany gen, może się zwiększać lub zmniejszać; pośrednio metoda ta pozwala więc zlokalizować, że dany gen znajduje się w określonym miejscu.

Trzecia metoda opiera się na możliwości uzyskiwania łańcuchów DNA o znanej sekwencji w sposób sztuczny. Łańcuch taki znakuje się radioaktywnie, a następnie łączy się go z DNA wypreparowanym z komórki. Następuje wówczas zjawisko łączenia się tych dwóch różnych łańcuchów DNA w sposób komplementarny. Dzięki takiemu połączeniu można ustalać poszczególne sekwencje nukleotydów odnosząc je do wyznakowanego sztucznie DNA. Inaczej mówiąc, dzięki metodzie *sequence-tagged site mapping* („sekwencja wyznacza miejsce”) można ustalać kolejność krótkich markerowych sekwencji (znana i zlokalizowana sekwencja) na chromosomach.

Czwarta metoda wykorzystuje hybrydyzację komórek somatycznych, otrzymywanych dzięki fuzji dwóch komórek somatycznych. Hybryda składa się z podwójnego zestawu chromosomów, pochodzących z dwóch różnych gatunków np. od człowieka i od myszy. Chromosomy myszy i człowieka odróżnia się na podstawie różnej ich morfologii oraz poprzez barwienie wg Giemsy w zasadowym pH. Dzięki tej metodzie przyporządkowano locus kinazy tymidynowej chromosomowi 17.

3. SEKWENCJONOWANIE I MAPOWANIE GENÓW – WYNIKI

Projekt Poznania Genomu Ludzkiego zakłada stopniowe, coraz bardziej uszczegółowione tworzenie trzech map DNA komórkowego. Pierwsza mapa genetyczna ma zlokalizować geny kodujące różne cechy fenotypowe. Chodzi tutaj o pokazanie sprzężeń genetycznych tj. odległości pomiędzy markerami (znany i zlokalizowany gen) w danym chromosomie. Gdy bada się sprzężenie genetyczne (czyli występowanie dwóch genów w jednym chromosomie w stosunkowo niewielkiej odległości od siebie) oraz z czym jest sprzężony dany gen, to chodzi o określenie, z którym markerem ten gen występuje w danym chromosomie. Przyjmuje się, że odległość jednych markerów od drugich wynosi około 100.000 zasad. „Takie punkty odniesienia pozwolą naukowcom prześledzić geny w rodowodach i umożliwią stwierdzenie, jak często geny związane na przykład z chorobami pojawiają się w pobliżu określonych markerów”¹³. Druga mapa jest mapą fizyczną¹⁴. Jej składnikami są odcinki DNA pochodzące z chromosomu, które mogą być zwielokrotniane (klonowane). Owe poszczególne odcinki są dopasowywane do siebie jak klocki lego wypełniając cały chromosom. Celem tej mapy jest określenie rzeczywistej liczby nukleotydów znajdujących się pomiędzy markerami. Wreszcie trzecią mapę tworzy komplet uporządkowanych sekwencji zasad G, C, A, T we wszystkich chromosomach identyfikujących geny i kodowanych przez nie białek¹⁵. Lokalizowanie genów rozpoczęto w 1970 roku. Do dziś udało się już ustalić, że miażdżycą jest związana z wadliwym genem w chromosomie nr 6. Z kolei

¹³ D. Erickson, *Rozszyfrowanie ludzkiego genomu*, Świat Nauki, nr 6 (10) 1992, 83.

¹⁴ G.A. Evans, K.A. Lewis, *Physical mapping of complex genomes by cosmid multiplex analysis*, Proceedings of National Academy of Sciences USA, 86 (1989), 5030-5034.

¹⁵ J.C. Stephens, M.L. Cavanaugh, M.I. Gradie, M.L. Mador, K.K. Kidd, *Mapping the human genome: current status*. Science, 250 (1990), 237-244.

w chromosomie nr 16 znalezionoa geny odpowiedzialne za białaczkę i niektóre choroby nerek. Chromosom nr 21 posiada geny wywołujące choroby Alzheimera; w tym samym chromosomie jest gen decydujący o pojawieniu się zespołu Downa. Wiadomo też, że w chromosomie nr 19 znajdują się geny – obrońcy, niwelujące uszkodzenia w genomie spowodowane różnymi czynnikami np. zanieczyszczeniem środowiska, promieniowaniem radioaktywnym. Z kolei chromosom Y zawiera geny odpowiedzialne za spermatogenezę i inne funkcje ważne dla metabolizmu organizmu mężczyzn. Trzeba mieć świadomość, że są to zaledwie niewielkie rozpoznane fragmenty ludzkiego genomu. Do dziś rozszyfrowano, i to zaledwie częściowo, około 5000 genów na ogólną liczbę około 100.000.

Niezwykle cenne dla zmapowania i zsekwencjonowania poszczególnych genów człowieka okazują się badania nad genami innych gatunków. Badacze uważają, że „wiele genów zsekwencjonowanych obecnie w dżdżownicy *Caenorhabditis elegans* i u drożdży *Saccharomyces cerevisiae* niezwykle przypomina te znalezione w innych organizmach, od ssaków do bakterii. Waterson uważa, że znaczne podobieństwo między enzymami obleńców i ssaków świadczy o spełnianiu tej samej funkcji”¹⁶. John Hodgson dokonał bardzo interesującego zestawienia; podane dane pochodzą z 4 czerwca 1992 r. z Biblioteki Biologii Molekularnej (*European Molecular Biology Laboratory Data Library*)¹⁷:

Organizm	Wielkość genomu w Mb	Ilość par nukleotydowych	Zsekwencjonowanie genomu (w %)
<i>Escherichia coli</i>	4,8	3,4 x 10 ⁶	76,0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14,4	4,0 x 10 ⁶	27,0
<i>Caenorhabditis elegans</i>	100,0	1,1 x 10 ⁶	1,1
<i>Drosophila melanogaster</i>	165,0	3,0 x 10 ⁶	1,8
<i>Mus musculus</i>	3000,0	8,2 x 10 ⁶	0,3
<i>Arabidopsis thaliana</i>	100,0	6,0 x 10 ⁵	0,6
<i>Homo sapiens</i>	3000,0	1,8 x 10 ⁷	0,6

Drożdże (*Saccharomyces cerevisiae*) jako eukaryota mają najlepiej scharakteryzowane DNA. Okazało się, że pełna sekwencja chromosomu nr 3 posiada 315.000 par nukleotydów. To odkrycie stanowi wynik 16-miesięcznego skoordynowanego procesu mapowania 35 europejskich laboratoriów. Największym jednak sukcesem było zidentyfikowanie w tym chromosomie ponad 100 dotąd nie znanych *open reading frames* (ORF). Do roku 1993 planuje się zsekwencjonowanie chromosomu nr 2, a do 1995 pięć z 8, 9, 10, 13, 14 i 16 chromosomu. Z kolei muszka owocowa (*Drosophila melanogaster*) posiada już dziś najdokładniejszą fizyczną mapę wśród wszystkich gatunków, co jednak stanowi 1,8% zsekwencjonowanego genomu. Genom myszy zsekwencjonowano zaledwie w 0,3%, a człowieka w 0,6. Stosunkowo najwięcej wiemy o bakterii *Escherichia coli*, gdyż do tej pory zsekwencjonowano 76% jej genomu¹⁸. Niemniej jednak planuje się wstępne przedstawienie układu całego genomu myszy *Mus Musculus* do roku 1995; badania tego typu przeprowadza się głównie w USA. Jedyne dwa spośród 21 mysich chromosomów podjął się zmapować komitet złożony przez

¹⁶ J. Rennis, *Ile jest genów*, Świat Nauki, 3/19 (1993), 8; por. F.W. Stahe, If it smells like a unicorn, *Nature*, 346 (30 sierpień 1990); 791-792.

¹⁷ J. Hodgson, Sequencing and Mapping Efforts in „Model Organisms” *BioTechnology*, 10(1992), 760; por. P. Siciński, *Podstawy inżynierii genetycznej*, w: *Genetyka klasyczna i molekularna*, pod red. W. Sawickiego, Warszawa 1991, 164-170.

¹⁸ J. Hodgson, *Sequencing and Mapping Efforts in „Model Organisms”* 760-761.

MUGO (*Mus Musculus Genome Organisation*) działający w Europie. Ostatnio dzięki badaniom tzw. Centrum Genomowym przy Massachusetts Institute of Technology, a także Whitehead Institute (Cambridge) i Rockefeller University w Nowym Jorku dodano 317 markerów do mysiej mapy genomu. W ciągu następnych dwóch lat zamierza się określić kolejnych 100 markerów niezbędnych do zmapowania chromosomu nr 19¹⁹. Możliwość szybszego sekwencjonowania genów coraz częściej upatruje się w wykorzystaniu komputerów, problemem jednak pozostaje język bazy danych. W przypadku np. *Escherichia coli* „wygenerowano na całym świecie więcej danych niż o jakimkolwiek innym wolno żyjącym organizmie, jednak do tej pory «nie było sposobu na połączenie tych zbiorów danych»”²⁰.

4. CHOROBY DZIEDZICZNE

Niewątpliwie jest faktem to, że mapowanie ludzkich genów postępuje w ogromnym tempie. Niemniej jednak ze sekwencjonowaniem poszczególnych tych genów nie jest sprawa prosta. Badacze uczestniczący w Projekcie Poznania Ludzkiego Genomu planują do roku 2005 zbadać wszystkie geny²¹. Niezwykle ambitne przedsięwzięcie, które jak wielu sądzi może okazać się bardzo pomocne w leczeniu w ogóle chorób, a szczególnie chorób dziedzicznych. Choroby te można podzielić na trzy grupy. Pierwszą grupę tworzą choroby chromosomowe i wiążą się z dostrzegalnymi pod mikroskopem świetlnym zmianami w budowie chromosomów. Druga grupa to tzw. choroby wielogenowe, pojawiające się w wyniku współdziałania wielu genów. Wreszcie trzecia grupa dotyczy chorób jednogenowych, które zależą w zasadzie od jednego genu.

Zanim przyjrzymy się bliżej tym chorobom, koniecznym wydaje się aby w tym miejscu parę słów napisać o kariotypie. Kariotyp to zespół chromosomów jednej komórki uporządkowany według malejącej wielkości tych chromosomów. I dzięki barwieniu (a można każdy chromosom wybarwić metodą prążkową) uzyskuje się charakterystyczny wzór dla poszczególnych chromosomów. Obecnie można dość dokładnie określić różne zaburzenia ilościowe i jakościowe chromosomów (pierwsza grupa chorób), tzw. aberracje ilościowe i strukturalne. Te ostatnie polegają na tym, że jakiś odcinek może być utracony (delecja), podwojony (duplikacja), odwrócony o 180°. Czasami się zdarza, że odcinek jednego chromosomu jest przeniesiony na inny. To wszystko miewa bardzo poważne konsekwencje dziedziczne. Tego typu zmiany chromosomowe decydują o chorobach chromosomowych. I właśnie do rozpoznania danej choroby potrzebne jest badanie kariotypu.

Najbardziej znana choroba chromosomowa to tzw. zespół Downa (mongolizm), która polega na tym, że w 21 parze zamiast dwóch chromosomów pojawiły się 3 chromosomy.

Drugą grupę chorób dziedzicznych stanowią choroby wielogenowe. Wiadmo już, że nie jest tak, aby jeden gen wyznaczał jedną cechę. Jeden gen koduje jeden łańcuch polipeptydowy. A jeden enzym może składać się z kilku łańcuchów polipeptydowych.

¹⁹ J. Hodgson, *Sequencing and Mapping Efforts in „Model Organisms”*, 761; por. Ch.J. Farr, P.N. Goodfellow, *Hidden Messages in Genetic Maps*, Science, 258 (2 październik 1992), 49-50.

²⁰ D. Erickson, *Rozszyfrowywanie ludzkiego genomu*, 90; por. E.S. Lander, R. Langridge, D.M. Saccocio, *Mapowanie i interpretacja informacji biologicznej*, Communications of the ACM, 34 (listopad 1991) nr 11.

²¹ U.S. Congress, *Office of Technology Assessment Mapping Our Genes – The Genome Project: Now Big, How Fast: OTA-BA-373*, U.S. Government Printing Office, Washington 1988; U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Energy, *Understanding Our Genetic Inheritance – The U.S. Human Genome Project: The First Five Years FY 1991-1995*, Springfield 1990.

Konsekwentnie więc, jakaś cecha, przykładowo, barwa oczu, włosów, skóry najprawdopodobniej wymaga kilkunastu lub kiludziesięciu genów. Podobnie i różne choroby, pojawiają się w wyniku współdziałania różnych genów. O dziedziczeniu tych chorób jeszcze stosunkowo mało wiemy. Rozpoznajemy taką chorobę wielogenową w ten sposób, że ona częściej występuje w danej rodzinie. Zauważono, że jest większa zgodność pomiędzy bliźniętami jednojajowymi niż bliźniętami dwujajowymi. Stąd wiemy, że ta choroba jest dziedziczna, jeśli pojawia się (powtarza się) częściej w jakiejś rodzinie. Do takich chorób wielogenowych zalicza się: cukrzycę typu młodzieńczego, schizofrenię, cyklofrenię. W wymienionych chorobach ale i w wielu innych istnieje jakiś składnik dziedziczny, o którym jeszcze nic nie wiemy. Można jedynie mówić, że dany osobnik ma większe ryzyko empiryczne zachorowania na daną chorobę. Jeżeli ktoś w rodzinie jest chory, to kolejny członek rodziny ma większe ryzyko zachorowania. Co więcej, nie wiemy, czy za daną chorobę wielogenową odpowiada 10 czy 15 genów, a może więcej.

Trzecia grupa to choroby jednogenowe. Wymienia się choroby dominujące i recesywne. Dominujące są to takie, za które odpowiedzialne są dwa geny (allele) znajdujące się w jednym chromosomie (genomie). Inaczej mówiąc w parze chromosomów zlokalizowane są dwa geny odpowiedzialne za daną cechę tzw. allele. Aby wywołać chorobę dominującą wystarczy jeden taki allel, np. karłowatość chondrodystroficzna, wielopalczałość, tzw. płasawica Huntingtona – choroba układu nerwowego, występująca w wieku starszym. Są to choroby jednogenowe dominujące. Natomiast choroby jednogenowe recesywne występują, objawiają się, gdy dwa geny odpowiedzialne za daną chorobę muszą się „spotkać”, zarówno z chromosomu od ojca jak i od matki. Przykładem takich chorób są fenyloketonuria, mukowiscydoza – zwłóknienie torbielowate trzustki. Wymienia się także choroby autosomalne, tj. takie, których odpowiedzialne za te choroby geny znajdują się w jednakowych chromosomach zarówno u mężczyzny jak i u kobiety (patrz podane wyżej przykłady) oraz choroby sprzężone z płcią np. geny znajdujące się w chromosomie X. Przykładami drugiego rodzaju chorób są hemofilia, daltonizm, dystrofia mięśniowa czyli niedorozwój mięśnia.

Warto jeszcze sobie uświadomić, że istnieją geny, które mogą powodować pojawienie się różnych typów raka, np. białaczkę. Odpowiedzialne są za to tzw. ontogeny. Ontogeny ma każdy człowiek, bo one służą normalnemu rozmnażaniu się komórek. Niemniej jednak, gdy wirus wnieśnie dodatkowy onkogen lub gdy onkogen komórkowy ulegnie mutacji tj. zmianie genetycznej, to wówczas pojawia się nowotwór i następuje jego rozwój. Onkogeny znajdują się w różnych chromosomach. Zmapowano do tej pory kilkadziesiąt onkogenów komórkowych człowieka. Przy czym zaledwie dla czterech typów nowotworów jednoznacznie wskazano na ściśle określone zmiany genetyczne. Po prostu udało się dla nowotworów czterech typów stwierdzić analogiczną zmianę dziedziczną, np. uczeni są w stanie wskazać mutacje w onkogenie odpowiedzialnym za raka polipowatości jelita grubego²².

Projekt Poznania Ludzkiego Genomu²³ prawdopodobnie okaże się szczególnie pomocny w odkrywaniu genów odpowiedzialnych za najrozmaitsze choroby dziedziczne. Gdy bowiem pozna się sekwencje genów, równocześnie uzyska się informację na temat zaburzeń enzymów przy określonych chorobach, to będzie można stwierdzić, który gen kodujący dany enzym znajduje się w określonym chromosomie. Konsekwentnie, taka, wiedza pozwoli, przykładowo u rodziców określać stopień prawdopodobieństwa wystąpienia u ich dzieci każdej choroby dziedzicznej, w tym także

²² Informacja podana na Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej, nt. *Genetyka w diagnostyce nowotworów* – Szczecin 19 lutego 1993 r.

²³ J.E. Bishop, M. Waldholz, *Genome*, New York 1990; E.D. Green, R.H. Waterston, *The human genome project: prospects and implications for clinical medicine*, Journal of American Medicine Association, 266 (1991), 1966-1975.

wieloczynnikowej, czyli wielogenowej, które są najstabiliej rozpoznane pod względem sposobu dziedziczenia. Analogicznie, dzięki Projektowi Poznania Ludzkiego Genomu badacze mają nadzieję na zlokalizowanie wszystkich chorób jednogenowych. Obecnie część z tych chorób została wykryta przede wszystkim dzięki zastosowaniu wyżej omówionej metody *finger-printing* DNA (odcisków palców). Duże znaczenie mają tutaj także obserwacje różnorodnych zmian biochemicznych komórek. Tak więc, istotne staje się zmapowanie genomu ludzkiego a następnie jego zsekwencjonowanie, tj. zlokalizowanie materiału dziedzicznego i zrozumienie działania zsekwencjonowanych genów. Dopiero po tym będzie można podjąć się wymiany lub poprawiania „niewłaściwych” genów w genie.

5. TERAPIA GENOWA

Zabieg terapii genowej polega na „poprawianiu” mechanizmu kodowania białek, które utraciły aktywność biologiczną przez określone zmutowane geny.

Uważa się, że era terapii genowej²⁴ rozpoczęła się 14 września 1990 r. Wtedy to 4-letniej dziewczynce lekarze naukowcy z Narodowego Instytutu Zdrowia (*National Institutes of Health* – NIH) w Bethesda w stanie Maryland (USA): W. French Anderson, R.M. Blaese i K.W. Culver przeprowadzili specyficzną transfuzję krwi; dziewczynka cierpi na niedobór dezaminazy adenozykowej (DA). Okazuje się, że choroba ta jest dziedziczną i w swej istocie polega na braku zdolności wytwarzania DA przez organizm enzymu kluczowego dla systemu odpornościowego, co w konsekwencji prowadzi do łatwego ulegania najrozmaitszym infekcjom. Wspomniany zabieg przebiegał następująco. Pobrano od dziewczynki limfocyty (jedne z rodzajów białych ciałek krwi) i wprowadzono dodatkowe kopie genów wytwarzających brakujący enzym DA. Polegało to na tym, że sztucznie zsintetyzowane kopie genów połączono z DNA wirusa i wprowadzono je do limfocytów. Tak poprawione limfocyty namnożono i wprowadzono ponownie do jej krwiobiegu.

W listopadzie 1991 roku National Institutes of Health zatwierdził kolejne zabiegi terapii genowej. Dotyczą one tzw. rodzinnej postaci hiperchloraerterolemii. Jak pisze D. Erickson: „do pobranych od pacjenta komórek wątroby, niezdolnych do przetworzenia tłuszczów pokarmowych, wprowadza się brakujący gen. Umożliwia on komórkom produkcję cząsteczki receptora przyjmującego tłuszcze do wątroby, gdzie ulegają rozłożeniu. Zmienione komórki wprowadza się z powrotem do żyły wątrobowej”²⁵. Natomiast w kwietniu 1992 roku zatwierdzono niezwykle interesujące badania terapeutyczne nad rakiem skóry. Planuje się przerzutowe guzy czerniaka bezpośrednio nastrzykiwać „genem produkującym antygen, który pobudza układ immunologiczny do ataku na guz. W tym doświadczeniu po raz pierwszy nie planuje się pobierania komórek by je poddać terapii genowej poza organizmem”²⁶. Należy w tym miejscu podkreślić, że na wszelkiego typu eksperymenty związane z terapią genową w USA musi udzielić zezwolenia: National Institute of Health: NIH (Narodowy Instytut Zdrowia USA), Recombinant DNA Advisory Committee: RAC (Komitet Doradczy do spraw Rekombinacji DNA) a także Food and Drug Administration: FDA (Urząd do spraw Żywności i Leków). Jak dotąd wydano zezwolenia jedynie na ingerencje genetyczne w komórkach konkretnych pacjentów. Nie słyszałem, aby wydano zgodę na manipulacje w komórkach rozrodczych. Niemniej jednak, co jakiś czas pojawiają się publikacje, w których autorzy zastanawiają się nad problemem możliwości wszczepienia do komórki rozrodczej człowieka, geny pobrane od jakiegoś wybitnego muzyka, uczonego czy polityka. Czy

²⁴ R.A. Morgan, W.F. Anderson, *Human Gene Therapy: Perspectives for the Future*, *Helix*, 2(1993) 1, 30.

²⁵ D. Erickson, *Geny za zamówieniem*, *Świat Nauki*, nr 8 (12) (1992), 89.

²⁶ Tamże.

na tej drodze nie możnaby „stworzyć” ich sobowtóra? B.J. Culliton²⁷ zastanawia się nad niebezpieczeństwem przekształcenia człowieka dzięki wprowadzonemu do organizmu obcego genu, w potwora. Nadto terapia genu może pośrednio powodować pobudzenie onkogenów, a w konsekwencji rozwój nowotworów. Wreszcie podkreśla się wysokie koszty terapii genowej.

Jak się wydaje manipulowanie genami poszczególnych komórek celem wyeliminowania chorób jest, jak sędzę, wskazane a nawet pożyteczne. Niemniej jednak od tego typu manipulacji do eksperymentów na materiale dziedzicznym człowieka jest niewielka odległość. Obawiam się, że przejście z jednego typu manipulacji do drugiego może zostać dokonane w sposób nieprzemyślany tj. bez uwzględnienia aspektów etycznych terapii genowej. Co więcej, przynajmniej dzisiaj uczeni nie są w stanie przewidzieć reakcji organizmów ze zmienionymi genetycznie komórkami.

6. ZAMIĄST ZAKOŃCZENIA

Stan wiedzy na temat ludzkiego genomu jest niemal zerowy. Są całe obszary DNA, o których nic nie wiemy. Nie wiadomo czy znajdują się tam geny. Być może te niepoznane obszary w ogóle nie służą ekspresji genetycznej tj. wyrażaniu się genów w fenotypie, powstanie danej cechy pod wpływem genu.

Co więcej, same geny są tak zbudowane, że pewne odcinki zawierają informację genetyczną tzw. egzony, ale pomiędzy nimi są odcinki, które nie zawierają informacji genetycznej tzw. introny. *Nota bene* introny są w ogóle wyrzucane w czasie ekspresji z RNA i uważa się, że one w ogóle niczemu nie służą. Nie wiadomo więc po co one istnieją. Możliwe, że przyspieszają proces ewolucji.

Nadto pomiędzy genami znajdują się bardzo długie odcinki, o których też nic nie wiemy. Wiadomo jedynie, że w tych obszarach mieszczą się tzw. geny regulatorowe, które regulują tzw. ekspresję genów czyli włączają lub wyłączają funkcjonowanie genów. Być może, że w tych obszarach znajdują się też innego typu geny. Osobiście uważam, że posiadamy wiele genów odziedziczonych po naszych przodkach, które zostały wyciszone. Albowiem nie jest tak, że jeśli powiedzmy zmienia się gatunek, to geny które znajdowały się w poprzednim gatunku giną. One są raczej wyciszone, ale istnieją. Geny regulatorowe je wyłączają, często na trwałe. Ale właśnie czasami pojawia się jakiś atawizm, jakaś cecha odległych przodków u konkretnego człowieka. I, moim zdaniem – świadczy to, że geny naszych praprzodków istnieją, ale są wyciszone. I tutaj widzę niebezpieczeństwo. Majsterkowanie ludzkimi genami może mieć szalone konsekwencje, może bowiem okazjonalnie wywołać niepożądane cechy wymarłych przodków np. ogon, wywołane właśnie z braku naszej wiedzy o genach. Tak więc manipulacje genetyczne mogą okazać się przydatne i użyteczne, ale mogą też okazać się zmorą ludzkości. Refleksja jednak nad tego typu alternatywą domaga się analiz przyjmowanych założeń filozoficzno-etycznych uczonych prowadzących badania mapowania i sekwencjonowania genów ludzkich, terapeutów genowych i ich pacjentów.

Podziękowanie

Chciałbym w tym miejscu wyrazić swoją wdzięczność prof. dr hab. Andrzejowi Bomirskiemu z Akademii Medycznej w Gdańsku za merytoryczną pomoc w przygotowaniu tegoż artykułu, a prof. dr hab. Ewie Bartnik z Zakładu Genetyki Uniwersytetu Warszawskiego za życzliwość i udostępnienie materiałów oraz przekazanie odbitek z fachowych czasopism zagranicznych.

²⁷ B.J. Culliton, *Nature*, 429 (1991), 429.