

PROFESOR WAĆLAW SZYBALSKI – PREKURSOR TERAPII GENOWEJ

Józef Dulak (Kraków)

W dniu 28 września 2012 roku Uniwersytet Jagielloński nadał swoje najwyższe wyróżnienie – doktorat honoris causa profesorowi Waćlawowi Szybalskiemu, emerytowanemu profesorowi McArdle Laboratory for Cancer Research University of Wisconsin w Madison, USA. Ta wyjątkowa uroczystość zgromadziła w Auli Collegium Maius, obok rodziny Profesora, grono jego przyjaciół i współpracowników z całej Polski, w szczególności z Uniwersytetu Jagiellońskiego oraz uczelni Trójmiasta: Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego oraz Politechniki Gdańskiej.

Prof. Waćlaw Szybalski urodził się 9 września 1921 roku we Lwowie. W 1939 ukończył VIII Gimnazjum im. Kazimierza Wielkiego a następnie, już w trakcie okupacji sowieckiej miasta, podjął studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Lwowskiej. Ukończył je w roku 1944, uzyskując stopień inżyniera chemii. W czasie okupacji niemieckiej Lwowa pracował także w Instytucie Badań nad Tyfusem Plamistym i Wirusami w słynnym zespole prof. Rudolfa Weigla jako kierownik grupy karmicieli wszy. Jak powszechnie wiadomo, wynikiem badań prof. Weigla było opracowanie szczepionki przeciw tyfusowi plamistemu, a praca w jego Instytucie dawała ochronę wielu polskim uczonym.

Po wysiedleniu ze Lwowa, profesor Szybalski wyjechał z rodziną do Końskich, a potem do Gdańska. W roku 1945 nostryfikował lwowski dyplom na Wydziale Chemii Politechniki Śląskiej, uzyskując stopień magistra inżyniera chemii. Pracował aktywnie przy organizacji Zakładu Technologii i Fermentacji Żywności na Politechnice Gdańskiej i tam w roku 1949 uzyskał stopień doktora nauk chemicznych pod kierunkiem prof. Ernesta Szyma.

W roku 1947 pracował nad genetyką drożdży u profesora Øjvinda Winge w laboratorium Carlsberga w Kopenhadze. Powrócił tam ponownie po uzyskaniu doktoratu, a w roku 1950 na zaproszenie M. Demereca wyjechał do USA, gdzie w latach 1950–1955 pracował w Cold Spring Harbor Laboratory, a potem – od 1955 do 1960 – w Instytucie Mikrobiologii Rutgers University w New Brunswick w zespole laureata Nagrody Nobla, profesora Waksmana. Od roku 1960 jest profesorem onkologii w McArdle Laboratory Uniwersytetu Wisconsin-

Madison w USA. Mimo oficjalnego przejścia na emeryturę w roku 2003 profesor Szybalski prowadzi nadal aktywną działalność naukową.

Zainteresowania naukowe rozbudził w Waćlawie Szybalskim prof. Adolf Joszt z Politechniki Lwowskiej. Dotyczyły one zagadnień mikrobiologicznych, które prof. Szybalski kontynuował w trakcie pracy w Politechnice Gdańskiej, w laboratorium Carlsberga w Kopenhadze i w Cold Spring Harbor Laboratory w USA. Z tego okresu aktywności naukowej prof. Szybalskiego pochodzą odkrycia, które w latach 1950–1955 stworzyły m.in. podstawy wiedzy na temat genetycznej oporności bakterii na leki. Prof. Szybalski jest twórcą i propagatorem terapii wielolekowej w leczeniu chorób bakteryjnych, np. gruźlicy. W okresie pracy w CSHL prof. Szybalski działał w słynnej amerykańskiej grupie fagowej, a wśród jego studentów był m.in. James D. Watson, jeden z odkrywców struktury DNA. W tym czasie prof. Szybalski opracował oryginalną metodę fizycznego rozdzielania komplementarnych pasm DNA fagów za pomocą wirowania w gradiencie chlorku lub siarczanu cezu, co umożliwiło dokładną analizę struktury i funkcji DNA, szczególnie mechanizmu kontroli transkrypcji.

Nie sposób nie wspomnieć także o opracowaniu przez prof. Szybalskiego jeszcze w trakcie jego studiów na Politechnice Lwowskiej metody rozdzielania mieszanin cząsteczek chemicznych za pomocą chromatografii bibułowej. Na to odkrycie wpadł niezależnie od dwóch badaczy brytyjskich – A. Martina i R. Synge'a, którzy za swoje badania otrzymali w roku 1953 Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii.

Pod koniec lat 50. XX wieku prof. Szybalski opracował metodę wykrywania mutagenów za pomocą krążków bibułkowych. Zmodyfikowana wersja tej techniki znana jest i powszechnie stosowana jako tzw. test Amesa. W tym okresie zajął się też zagadnieniami, które były katalizatorem wielu badań z zakresu biologii molekularnej i przyczyniły się niewątpliwie do rozwoju nowoczesnych technik terapii medycznych. Mowa tutaj o terapii genowej i wypracowanie podwalin metody produkcji przeciwciał monoklonalnych.

Na początku lat 60. XX wieku profesor Waćlaw Szybalski, pracując wraz z żoną Elisabeth opracował pożywkę HAT do hodowli komórek. Pożywka

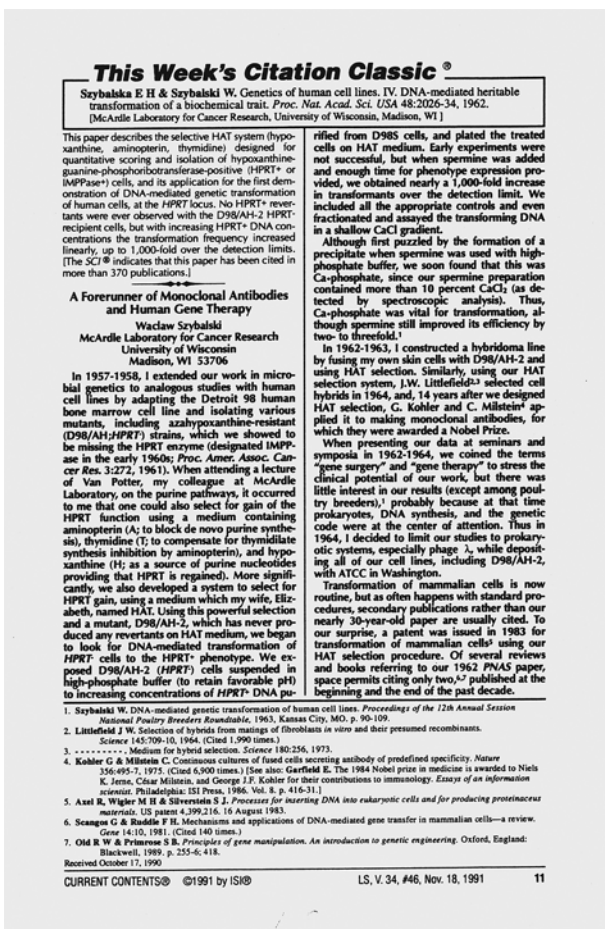
ta, zawierająca hipoksantynę aminopterynę i tymidynę uniemożliwia rozwój komórek pozbawionych niektórych enzymów. Dzięki temu pożywka ta może być stosowana do selekcji nowych komórek powstałych metodą transformacji genetycznej albo hybryd, powstałych w wyniku fuzji komórek. Pożywka HAT (od pierwszych liter wymienionych wyżej związków) umożliwiła opracowanie metody produkcji przeciwciał monoklonalnych, za którą w roku 1984 przyznana została nagroda Nobla Georgesowi Koehlerowi i Cesarowi Milstenowi. W roku 1962 profesor Szybalski wykorzystał ją natomiast do przeprowadzenia doświadczeń, które pokazały możliwość stosowania transferu genów w celach leczniczych. Wyniki tych badań opublikował w pracy w PNAS w roku 1962 (Szybalska, E. H., Szybalski, W. 1962. *Genetics of human cell lines. IV. DNA mediated heritable transformation of a biochemical trait*. Proc. Nad. Acad. Sci. 48, 2026–2034) (Ryc. 1). Była to pierwsza pra-

Profesor Szybalski zaproponował, iż za pomocą terapii genowej możliwe będzie w przyszłości leczenie chorób. Obecnie mija 50 lat od czasu tego epokowego odkrycia, które położyło podwaliny nie tylko pod kliniczne wykorzystanie transferu genów, ale i zastosowanie tej metody w inżynierii genetycznej. Oprócz terminu „terapia genowa”, użytego po raz pierwszy przez profesora Szybalskiego w roku 1962, jest on także twórcą pojęcia „biologia syntetyczna” („*synthetic biology*” – 1974), która - tak obecnie aktywnie rozwijana dziedzina nauki - narodzić się mogła dzięki niewątpliwemu udziałowi profesora Szybalskiego.

Profesor Szybalski wniósł także istotny wkład w badania nad poznaniem sekwencji genomu ludzkiego (*Human Genome Project*), m.in. dzięki uzyskaniu tzw. „uniwersalnego” enzymu restrykcyjnego, który tnie DNA w wybranym przez badacza miejscu.

Dorobek profesora Szybalskiego liczy niemal 400 publikacji, które ukazywały się w takich czasopismach jak „*Science*”, „*Nature*”, „*Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*”, „*Virology*”, „*Molecular and General Genetics*”. W roku 1976 profesor Szybalski założył czasopismo „*Gene*”, którego redaktorem był przez 20 lat, był członkiem redakcji kilku prestiżowych czasopism naukowych, m.in. „*Molecular Pharmacology*”, „*Journal of Virology*” i „*Cancer Research*”. W latach 1975–1977, po słynnej konferencji w Asilomar w Kalifornii, był członkiem NIH Advisory Committee on the Recombinant DNA Molecule Program.

Profesor Szybalski utrzymywał i nadal utrzymuje bliski kontakt z Polską. W jego laboratorium pracowało kilkudziesięciu badaczy z kraju, którzy następnie przynosili uzyskaną wiedzę i umiejętności do swoich zespołów. Wśród jego wieloletnich współpracowników była Profesor Anna Podhajaska, organizatorka pierwszego w Polsce Wydziału Biotechnologii na Uniwersytecie Gdańskim i Gdańskiej Akademii Medycznej. Profesor Szybalski przyjeżdżał i wykladał od roku 1995 na szkołach letnich organizowanych dla studentów nie tylko tego wydziału. Wspomagał finansowo organizację tych spotkań, w których brał udział także wielu studentów biologii, a później biotechnologii Instytutu Biologii Molekularnej Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UJ (obecnie Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ). Badania profesora Szybalskiego stały się inspiracją do wprowadzenia przez badaczy naszego Wydziału nowoczesnych i licznych technik transferu genów w zakresie najszerszym w Polsce. Metody produkcji przeciwciał monoklonalnych, do opracowania których tak bardzo przyczynił się profesor Szybalski, zostały kilkanaście lat temu wdrożone na naszym Wydziale, stając się



Ryc. 1. Kopia pierwszej strony tekstu z Current Contents z roku 1991 (tzw. *citation classics*) opisującego publikację Waława Szybalskiego i Elisabeth Szybalskiej z PNAS z roku 1962, w której przedstawili pierwszą udaną i stabilną modyfikację genetyczną komórek ssaków.

ca udowodniająca możliwość wprowadzenia genu w postaci oczyszczonego DNA do eukariotycznych, w tym ludzkich komórek. W tym samym czasie

jednym z pierwszych produktów biotechnologicznych Wydziału BBiB UJ.

O uznaniu zasług Profesora Szybalskiego dla rozwoju polskiej biologii molekularnej i biotechnologii świadczy liczba wyróżnień, jakie otrzymał już wcześniej od polskich instytucji. Profesor Szybalski jest doktorem honoris causa Politechniki Gdańskiej (w roku 2001), Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (w roku 2000), Uniwersytetu Gdańskiego (w roku 1989) i Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie (w roku 1980). Od roku 1995 jest członkiem zagranicznym Polskiej Akademii Nauk, a w roku 1975 został członkiem honorowym Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów. W roku 2004 otrzymał Krzyż Oficerski Orderu Zasługi RP, a w dniu 3 maja 2011 r. Prezydent RP Bronisław Komorowski wręczył profesorowi Szybalskiemu Krzyż Wielki z Gwiazdą Orderu Odrodzenia Polski, „w uznaniu wybitnych osiągnięć w pracy naukowo-badawczej w dziedzinie biotechnologii i genetyki, za działalność dydaktyczną”. W roku 1977 Profesor Szybalski został laureatem nagrody w dziedzinie biologii Fundacji Alfreda Jurzykowskiego w Nowym Jorku, otrzymał także liczne wyróżnienia zagraniczne, m.in. w roku 1970 nagrodę Karl-August-Forester Niemieckiej Akademii Nauki i Literatury, nagrodę Hilldale – najwyższe odznaczenie Uniwersytetu Wisconsin w roku 1994 oraz w roku 1995 złoty medal Grzegorza Mendla, przyznawany przez Akademię Nauk Republiki Czeskiej.

W laudacji wygłoszonej podczas uroczystości wręczenia doktoratu niżej podpisany charakteryzując sylwetkę Profesora powiedział m.in.:

„Doktorat honorowy Uniwersytetu Jagiellońskiego dla Pana Profesora Wacława Szybalskiego, przyznany za jego wybitne osiągnięcia naukowe i zasługi dla nauki polskiej, pomoc i inspiracje, jakie rozdzielał także obecnym tutaj pracownikom Uniwersytetu, przypada w momencie szczególnym. Mija bowiem właśnie 50 lat od doświadczeń Profesora Wacława Szybalskiego i dr Elisabeth Szybalskiej, żony Pana Profesora. Eksperymentów, które dały początek terapii genowej. To w roku 1962 Państwo Szybalscy postanowili zmienić przeznaczenie komórek. Komórek zmutowanych, pozbawionych prawidłowego genu, określanego skrótem HPRT. Bez enzymu kodowanego przez ten gen komórki nie są zdolne do wzrostu w specjalnej pożywce zwanej HAT, opracowanej przez Wacława i Elisabeth Szybalskich, a obecnie powszechnie używanej do produkcji przeciwciał monoklonalnych. To właśnie przed pół wiekiem Profesor Szybalski wpadł na pomysł, by do takich komórek dodać DNA wyizolowany z komórek normalnych, zdolnych do wzrostu w tej pożywce.

Idea niby prosta – łatwo powiedzieć z perspektywy pięćdziesięciu lat. Ale w czasie, gdy się ten genialny pomysł objawił, był wręcz niemożliwy do zrealizowania. Wiemy bowiem obecnie, że tzw. nagi DNA, z reguły nie potrafi wnikać do komórek ssaków bez specjalnego wspomaganie. W doświadczeniach Państwa Szybalskich stało się jednak inaczej – kilka komórek potraktowanych takim DNA przetrwało w pożywce HAT, co więcej, zaczęło się dzielić i doskonale sobie radzić. Wniosek mógł być tylko jeden. DNA przedostał się do komórek pozbawionych HPRT, wśród tego DNA był prawidłowy gen HPRT. Modyfikacja została dokonana, przeznaczenie komórek zmienione. Narodziła się nowa era w inżynierii genetycznej.

To właśnie pół wieku temu, publikując wyniki tych doświadczeń w czasopiśmie akademii nauk Stanów Zjednoczonych i prezentując je na konferencjach naukowych Profesor Szybalski zaproponował termin „terapia genowa”. Zasugerował, że w przyszłości w taki właśnie sposób, poprzez wprowadzanie prawidłowych genów będzie można leczyć choroby.

Nie wiedział wtedy, że wkrótce, bo już w roku 1964, badacze amerykańscy Michael Lesch i William Nyhan odkryją podłoże genetyczne strasznej choroby. Nazwana od ich nazwisk choroba dotyka chłopców. Choroba Lescha-Nyhana spowodowana jest właśnie mutacją genu HPRT, a brak enzymu sprawia, że chłopcy wbrew swojej woli i niestety przy świadomości wykazują niepohamowane impulsy samookaleczeń. Nie ma na tę chorobę lekarstwa i chorzy muszą całe życie spędzać ze skrepowanymi rękami, by chronić ich w ten sposób przed autoagresją. Ale jeśli kiedyś będzie – a musimy wierzyć, że tak się stanie – lekarstwo na tę chorobę, to terapia genowa jest pierwszą kandydatką.



Ryc. 2. Uroczystość wręczenia doktoratu honorowego UJ – na pierwszym planie: prof. Wojciech Nowak, Rektor UJ oraz prof. Wojciech Froncisz, dziekan Wydziału BBiB UJ. Fot. Anna Wojnar.

Obecnie, pięćdziesiąt lat od przełomowych doświadczeń Państwa Szybalskich terapia genowa zaczyna już odnosić sukcesy i przywraca zdrowie

dzieciom pozbawionym układu odpornościowego, inne chroni przed utratą wzroku, stwarza nadzieję chorym na hemofilię, talasemię czy nowotwory”.

Nie sposób przecenić wszechstronny i wielostronny wkład Profesora Szybalskiego do nauki światowej. Zaslugi te podkreślają takie wyróżnienia, jak doktorat honorowy Uniwersytetu Jagiellońskiego (Ryc. 2, 3),



Ryc. 3. Profesor Waclaw Szybalski w towarzystwie Rektora UJ, profesora Wojciecha Nowaka opuszczają Aulę Collegium Maius. Fot. Anna Wojnar.

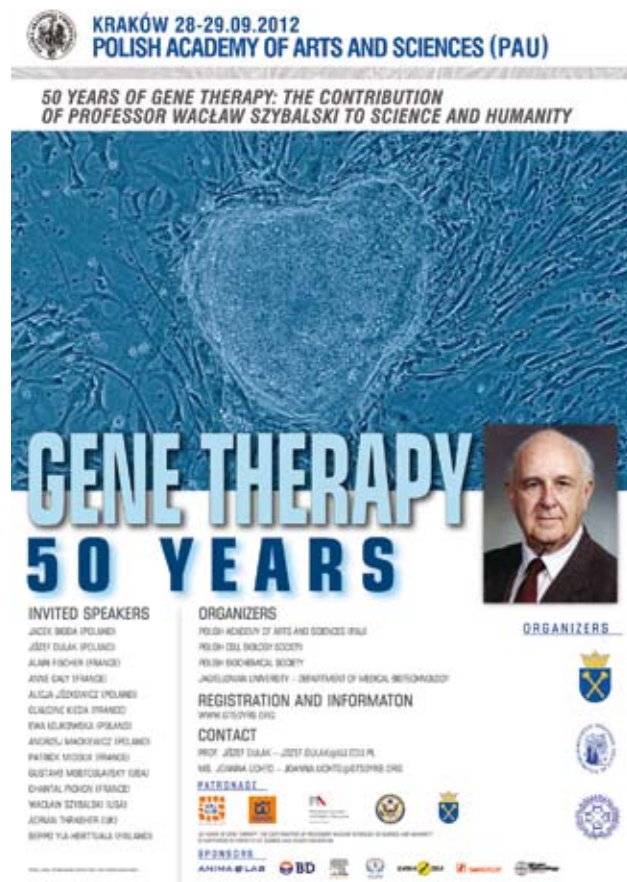
a także członkostwo zagraniczne Polskiej Akademii Umiejętności, nadane profesorowi w tym samym dniu, 28 września, po południu, w siedzibie PAU



Ryc. 4a i b. Wręczenie profesorowi Szybalskiemu dyplomu członka zagranicznego PAU przez prof. Andrzeja Białasa, prezesa PAU oraz prof. Krystynę Grodzińską, dyrektora Wydziału Przyrodniczego PAU.

przy ul. Sławkowskiej 17 w Krakowie. Członkostwo zagraniczne PAU, przyznane na wniosek Wydziału Przyrodniczego PAU, profesor Szybalski otrzymał z rąk Prezesa Akademii, profesora Andrzeja Białasa oraz profesor Krystyny Grodzińskiej, dyrektora Wydziału Przyrodniczego PAU (Ryc. 4a, b). Wśród licznych gratulacji i życzeń, jakie w tym dniu (także swoich imienin) otrzymał profesor Szybalski wymienić należy list Prezydenta Rzeczypospolitej Polskiej, pana Bronisława Komorowskiego, który odczytał i wręczył laureatowi prof. Maciej Żylicz, prezes Fundacji na rzecz Nauki Polskiej.

Uroczystość, uświetniona udziałem wielu innych wybitnych przedstawicieli nauki polskiej była zarazem pierwszym punktem konferencji międzynarodowej, dedykowanej profesorowi Szybalskiemu (Ryc. 5). W trakcie dwudniowych obrad uczestnicy konferencji „50 lat terapii genowej: wkład profesora Waclawa Szybalskiego do nauki i ludzkości” mieli



Ryc. 5. Plakat informujący o konferencji „50 years of gene Therapy: the contribution of professor Waclaw Szybalski to science and humanity” (autor: Tomasz Krawiec).

okazję wysłuchać wspomnień Profesora o jego prekursorskich badaniach, a także wykładów uczonych z kraju i zagranicy, w tym profesora Alain’a Fischera z Paryża oraz prof. Adriana Thrashera z Londynu, twórców pierwszej skutecznej terapii genowej ciężkiego niedoboru odporności typu X-SCID. (Ryc. 6.)

Informacje na temat konferencji oraz poprzedzającej ją uroczystości wręczenia doktoratu honorowego znajdują się na stronie internetowej <http://gt50yrs.org>. Podsumowaniem tych wydarzeń niech zaś będą słowa profesora Szybalskiego: „*moim głównym celem*



Ryc. 6. Uczestnicy konferencji. W środku prof. Waclaw Szybalski.

była zawsze chęć pomocy ludziom. Po co cierpieć, jeśli się nie musi. Zawsze można znaleźć coś złego. Ale najważniejszy jest wynik ostateczny, czy służy ludzkości czy nie”.

Profesora Szybalskiego spotkałem po raz pierwszy w roku 1994, gdy pracowałem na Uniwersytecie w Muenster w Niemczech. Później kilkakrotnie, podczas szkół letnich organizowanych przez jego współpracownicę, niezapomnianą Profesor Annę



Ryc. 7. Wizyta profesora Waclawa Szybalskiego i dr Jamesa Watsona na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii w dniu 28 czerwca 2008 roku.

Podhajską. To wtedy, w trakcie rozmów z Profesorem i podczas jego wykładów dojrzywała myśl, by

techniki, których był prekursorem, wprowadzić do naszych badań w Krakowie. Po paru latach stało się to możliwe i dlatego, gdy 27 i 28 czerwca 2008 r. Profesor Szybalski odwiedził nasz Uniwersytet wraz z Dr Jamesem Watsonem, laureatem Nagrody Nobla, mogliśmy się z radością podzielić z nim naszymi osiągnięciami i poinformować, że wykłady z terapii genowej dla studentów Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii rozpoczynają się od przywołania wydarzeń sprzed 50 lat (Ryc. 7).

Warto podkreślić, że Profesor Szybalski jest gorącym orędownikiem biotechnologii, jej obrońcą przed przekonaniem, dostrzegającym w modyfikacjach genetycznych nie dobro dla człowieka, ale zagrożenie. Takie obawy, podsycane przez media i niestety w niedostatecznym stopniu przez nas, naukowców, rozwiewane, są po wielokroć większym, bo rzeczywistym zagrożeniem niż wady przypisywane organizmom genetycznie zmodyfikowanym. Organizmom, które jak przypominam sobie z naszych spotkań, Profesor proponował nazywać organizmami ulepszonymi. Ulepszonymi... Warto o tym pamiętać.

Profesor swoimi odkryciami przeniósł nas do nowego świata, który 50 lat później dowodzi nie tylko realności swojego istnienia, ale zaczyna dostarczać owoców, o jakich marzył, o jakich marzymy wszyscy. Terapia genowa pozwala – lub pozwoli - zmienić przeznaczenie, odwrócić wyrok losu, pokazuje potęgę nauki i dobro, jakie nauka czyni.

Profesor Szybalski swoją postawą uczonego i inżyniera genetyka dowodzi, że oprócz zadziwienia, ciekawości, poszukiwania prawdy, tych podstawowych, niezbywalnych warunków nauki, ważne jest także zastosowanie jej odkryć. Na takie efekty czasem trzeba czekać bardzo długo. Ale świadomość, że kiedyś, nawet po wielu latach, odkrycia przyniosą korzyść tym najbardziej potrzebującym – jest niewątpliwie największą nagrodą.