

9. Kuno S., Sakurai F., Shimizu K., Matsumura N., Kim S., Watanabe H., Tashiro K., Tachibana M., Mizuguchi H. Development of mice exhibiting hepatic microsomal activity of human CYP3A4 comparable to that in human liver microsomes by intravenous administration of adenovirus vector expressing human CYP3A4. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2014, 29(4), 296–304.
10. Palut D., Kostka G., Struciński P. Rola receptorów jądrowych w indukcji form molekularnych cytochromu P450 pod wpływem substancji obcych. *Roczn. PZH.* 2002, 53(4), 321–332.
11. Pelkonen O., Maenpaa J., Taavitsainen P., Rautio A., Raunio H. Inhibition and induction of human cytochrome P450 (CYP) enzymes. *Xenobiotica.* 1998, 28, 1203–1253.
12. Peltz G. Can 'humanized' mice improve drug development in the 21st century? *Trends Pharmacol Sci.* 2013, 34(5), 255–260.
13. Rodrigues A.D., Rushmore T.H. Cytochrome P450 pharmacogenetics in drug development: in vitro studies and clinical consequences. *Curr Drug Metab.* 2002, 3, 289–309.
14. Tateno Ch. Yoshizane Y., Saito N., Kataoka M., Utoh R., Yamasaki Ch., Tachibana A., Soeno Y., Asahina K., Hino H., Asahara T., Yokoi T., Furukawa T., Yoshizato K. Near completely humanized liver in mice shows human-type metabolic responses to drugs. *Am J Pathol.* 2004, 165(3), 901–912.
15. Wójcikowski J., Basińska A., Daniel W.A. The cytochrome P450-catalyzed metabolism of levomepromazine: a phenothiazine neuroleptic with a wide spectrum of clinical application. *Biochem Pharmacol.* 2014, 90, 188–195.

■ Agnieszka Basińska-Ziobroń. E-mail: agabasinaska@gmail.com

POCZET MODELOWYCH ORGANIZMÓW BADAWCZYCH

Jolanta Górską-Andrzejak, Paweł Grzmił, Marta Labocha-Derkowska, Joanna Rutkowska, Wojciech Strzałka, Katarzyna Tomala, Dominika Włoch-Salamon (Kraków)

Streszczenie

Przedstawiamy przegląd siedmiu organizmów modelowych, szczególnie ważnych dla badań biologicznych. Poszczególne portrety zarysowują biologię danego organizmu, czynniki decydujące o jego wykorzystaniu w badaniach naukowych oraz główne odkrycia naukowe, które przyczyniły się do jego popularności. Portrety te zostały przygotowane przez badaczy na co dzień pracujących z opisywanymi organizmami.

Abstract

We present seven model organisms, which are highly important in biological studies. Each sketch describes the biology of the species, factors responsible for its use in scientific research and most important scientific discoveries, which made the species popular and even famous. Each description was written by a researcher who uses the species in his/her own studies.

Wprowadzenie

Świat przyrody zachwyca nas swoją ogromną różnorodnością. Część badań naukowych poświęcona jest właśnie bogactwu gatunków i procesom zachodzącym w dużych skalach przestrzennych i czasowych. Nie można ich jednak dogłębnie zrozumieć bez poznania sposobu funkcjonowania niższych poziomów organizacji biologicznej. Do tego często wykorzystuje się tzw. organizmy modelowe. Organizm modelowy to gatunek reprezentatywny dla innych gatunków ze swojej grupy taksonomicznej (rodzaju, rodziny, rzędu lub królestwa), posiadający

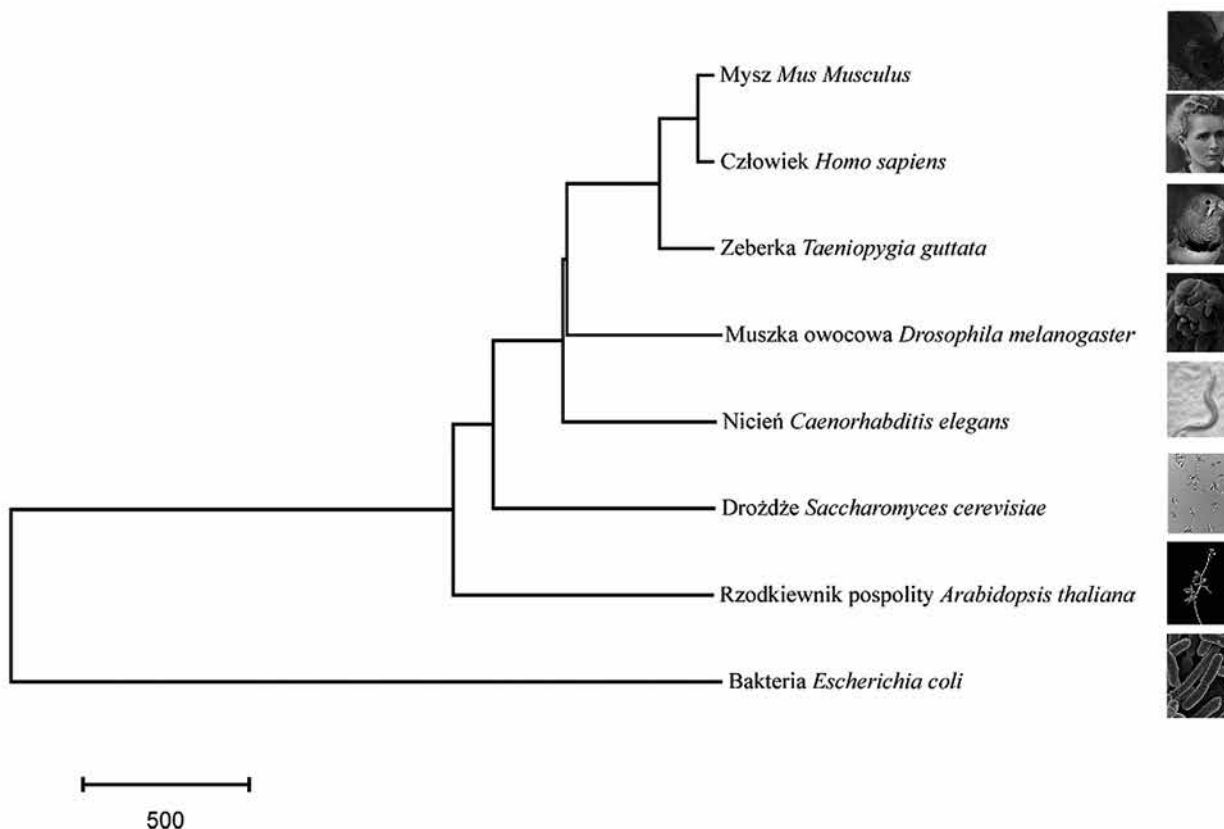
cechy, które ułatwiają badanie określonych procesów biologicznych. Celem badań naukowych prowadzonych na organizmach modelowych jest więc nie tyle samo poznanie tych organizmów, co poznawanie na ich przykładzie mechanizmów podstawowych procesów biologicznych, w tym również mechanizmów zachodzących w organizmie człowieka. Prowadzenie badań na tych samych organizmach modelowych, z wykorzystaniem opracowanych dla nich procedur, w wielu ośrodkach na świecie równocześnie, przez zespoły badawcze o różnej wiedzy, umiejętnościach i pomysłach, podnosi jakość badań i znacznie je przyspiesza.

Na ryc. 1. przedstawiamy ewolucyjne relacje pomiędzy opisywanymi organizmami a człowiekiem.

Bakteria *Escherichia coli*

Katarzyna Tomala, Instytut Nauk o Środowisku, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi UJ, katarzyna.tomala@uj.edu.pl

Escherichia coli dostarcza gospodarzowi syntetyzowane przez siebie witaminy: K i B12. Wydaje się również, że spełnia ona ważną rolę w utrzymaniu zdrowia jelit. Po pierwsze, bakteria ta zużywa tlen szkodliwy dla licznych mikroorganizmów beztlenowych, naturalnie występujących w jelicie grubym. Po drugie, w jej obecności nie dochodzi do kolonizacji jelita przez patogeny. Trzeba tutaj jednak wspomnieć,



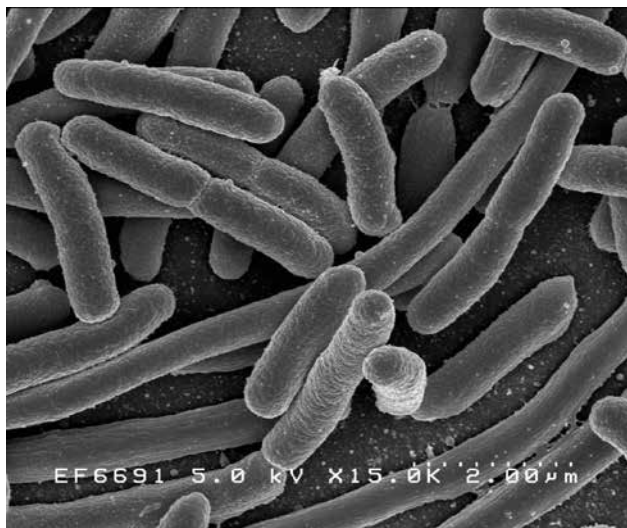
Ryc. 1. Drzewo prezentujące ewolucyjne relacje pomiędzy opisywanymi organizmami modelowymi i człowiekiem, zrekonstruowane przy użyciu macierzy dystansów ewolucyjnych wyrażonych w milionach lat do wspólnego przodka. Ryc. Piotr Zieliński i Joanna Rutkowska

W latach 1884–86 austriacki mikrobiolog i pediatra Theodor Escherich prowadził badania nad florą jelitową noworodków. Odkrył wtedy szybko rosnącą bakterię, która z biegiem lat stała się jednym z najważniejszych organizmów biologii eksperymentalnej.

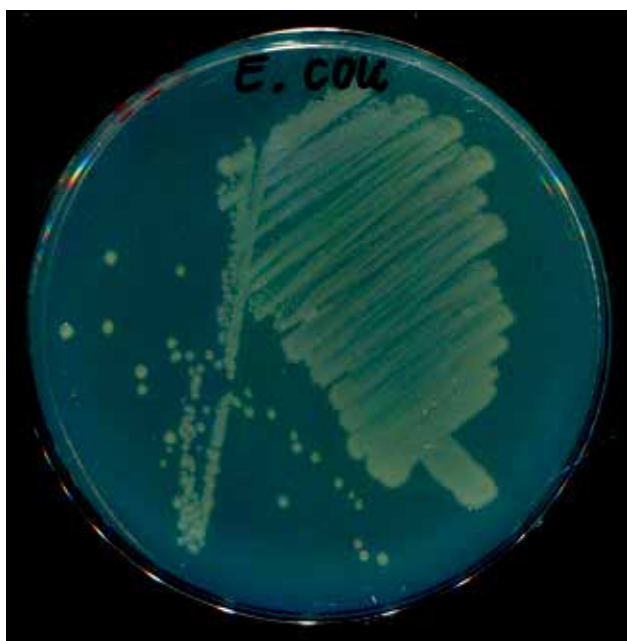
Pałeczka okrężnicy (łac. *Escherichia coli*, Ryc. 2, 3) jest gram-ujemną bakterią należącą do rodziny *Enterobacteriaceae*, do której zalicza się również takie patogeny jak *Salmonella*, czy też pałeczka dżumy (*Yersinia pestis*). *E. coli* jest bakterią fakultatywnie beztlenową, co oznacza, że może rosnąć również przy braku tlenu. Jej naturalnym środowiskiem życia jest jelito grube ssaków. Rzadziej znajduje się ją w jelitach innych kręgowców i w glebie. U człowieka *E. coli* stanowi zaledwie 0,1–5 % flory bakteryjnej jelita grubego, kolonizując ciekłą warstwę wyściełającego go śluzu. W warstwie tej rywalizuje ona z innymi mikroorganizmami o składniki odżywcze.

że ta zazwyczaj nieszkodliwa, a nawet pożyteczna bakteria, może być groźna, gdy dostanie się do narządów innych niż jelito. Szczególnie często jest ona przyczyną zatruc pokarmowych i infekcji dróg moczowych.

Pałeczka okrężnicy jest bez wątpienia jednym z najważniejszych organizmów modelowych. Początkowo eksperymentatorzy wybierali ją do badań, ponieważ była łatwa do pozyskania i hodowli. Dzisiaj dodatkowym atutem stają się ogromne zasoby wiedzy zgromadzonej na temat pałeczki okrężnicy przez kilka już pokoleń naukowców. Dla bakterii tej opracowano wiele technik molekularnych, a od 1997 roku znana jest także sekwencja jej genomu. Wszystko to spowodowało, że wiele spośród elementarnych procesów biologicznych, wspólnych dla wszystkich organizmów żywych, zostało odkrytych i zrozumianych dzięki badaniom z wykorzystaniem tej bakterii.



Ryc. 2. *Escherichia coli*: zdjęcie spod mikroskopu skaningowego (fot. udostępniona przez Rocky Mountain Laboratories, NIAID, NIH).



Ryc. 3. Wzrost *E. coli* na szalce agarowej, Fot. Katarzyna Tomala, Instytut Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Do najważniejszych z nich należały badania nad mechanizmem replikacji, transkrypcji DNA i translacji mRNA, rozszyfrowanie kodu genetycznego, poznanie sposobów regulacji ekspresji genów oraz wyjaśnienie zasady działania enzymu ATPazy. *E. coli* posłużyła także jako model do badań nad fizjologią i genetyką samych bakterii. Była wykorzystywana w eksperymentach dotyczących interakcji pomiędzy bakteriami i atakującymi je wirusami – bakteriofagami. Dzięki tym badaniom odkryto istnienie dwóch systemów ochrony bakterii przed obcym DNA: restrykcji-modyfikacji oraz CRISPR (ang. *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*). System restrykcji-modyfikacji opiera się na enzymach –

nukleazach, służących bakteriom do cięcia DNA atakujących je wirusów. Nukleazy te, rozpoznające krótkie, zazwyczaj palindromowe sekwencje DNA, stały się z czasem szeroko wykorzystywanym narzędziem w inżynierii genetycznej. W ostatnich latach coraz większym zainteresowaniem wśród naukowców cieszy się natomiast system CRISPR, który daje bakteriom rodzaj nabytej odporności. Co ważne, enzym Cas9, wchodzący w skład systemu CRISPR u innego gatunku bakterii (*Streptococcus pyogenes*), został zaadaptowany do modyfikacji materiału genetycznego u organizmów wyższych.

Pałeczka okrężnicy jest też ważnym organizmem wykorzystywanym przez biologów ewolucyjnych. To dzięki niej wykazano, że mutacje mają przypadkowy charakter. Ponadto *E. coli* jest często przedmiotem ewolucji eksperymentalnej. Bakterie hodowane w ściśle zdefiniowanych warunkach (np. w niskiej temperaturze lub w obecności antybiotyku) dzielą się, podlegając różnym procesom ewolucyjnym: mutacjom, dryfowi genetycznemu i naturalnej selekcji. W kolejnych pokoleniach bakterie stają się coraz lepiej przystosowane do zastosowanego w eksperymencie środowiska wzrostu. *E. coli* jest doskonałym organizmem do prowadzenia tego typu badań, ponieważ jedno pokolenie tej bakterii trwa bardzo krótko – w sprzyjających warunkach do podziału dochodzi co 20 minut. Ta cecha powoduje, że zmiany ewolucyjne zachodzące w populacjach pałeczki okrężnicy, można obserwować już po kilku tygodniach lub miesiącach. Istotna jest również możliwość zamrażania próbek ewoluujących populacji bakterii na każdym etapie trwania eksperymentu. Umożliwia to późniejsze bezpośrednie porównanie cech bakterii z wybranych punktów czasowych prowadzonego eksperymentu w tym również zmian w ich genomie. Dodatkowo, stosunkowo łatwo i tanio można uzyskać populacje *E. coli* o ogromnych liczebnościach, gdyż w 1 ml podłoża wzrostowego pomieścić się może aż 10^9 komórek bakteryjnych. Warto tutaj wspomnieć, że najdłuższa ewolucja eksperymentalna z wykorzystaniem *E. coli* została rozpoczęta w 1988 roku i trwa do dziś. W tym czasie uzyskano ponad 64 tysiące pokoleń. Dla porównania, aby zaobserwować zmiany ewolucyjne zachodzące podczas tej samej liczby pokoleń u człowieka, należałoby czekać ponad 1,5 miliona lat, to znaczy dużo dłużej, niż czas trwania gatunku *Homo sapiens*. Szczątki kopalne naszych przodków pochodzące sprzed 1,5 miliona lat należą jeszcze do gatunku *Homo erectus*, czyli człowieka wyprostowanego.

Lista zasług pałeczki okrężnicy dla nauki byłaby niepełna, gdyby nie uwzględnić roli, jaką odgrywa ona w laboratoriach prowadzących badania z zakresu

biologii molekularnej i biotechnologii. Bakteria ta niejednokrotnie wykorzystywana jest jako tani i bardzo wydajny „zakład produkcyjny”. Naukowcy, używając wektorów plazmidowych, mogą wprowadzać do komórek *E. coli* badane przez siebie odcinki DNA, na przykład geny pochodzące z innych organizmów. Bakterie rosnąc namnażają własny materiał genetyczny, jak również wprowadzone przez badacza obce DNA. Dodatkowo badacz może spowodować, by wprowadzone DNA służyło bakterii jako matryca do syntezy białka. Ta ostatnia możliwość jest wykorzystywana nie tylko w laboratoriach naukowych, ale również w firmach farmaceutycznych i biotechnologicznych. Wiele mających zastosowanie w medycynie białek, takich jak hormony (np. insulina, ludzki hormon wzrostu), białka odpowiedzi immunologicznej, czy też czynniki krzepnięcia krwi, jest produkowanych na masową skalę w komórkach pałeczki okrężnicy.

Wszystkie organizmy żywe są ze sobą spokrewnione. Badając organizmy tak proste jak *Escherichia coli*, poszerzamy zasób wiedzy dotyczący nie tylko tej bakterii, ale także nasze zrozumienie molekularnych mechanizmów podstawowych procesów biologicznych zachodzących u większości gatunków żyjących na ziemi. Doświadczenia z wykorzystaniem tej bakterii doprowadziły do wielu ważnych dla ludzkości odkryć naukowych. Najlepiej świadczy o tym fakt, że aż jedenaście spośród 106 przyznanych do tej pory w dziedzinie fizjologii lub medycyny nagród Nobla znalazło się w rękach badacza pracujących z pałeczką okrężnicy.

Bibliografia

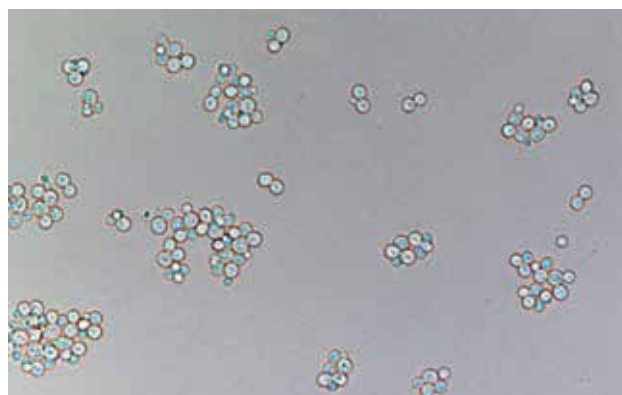
1. Blount ZD. (2015) The Natural History Of Model Organisms: The unexhausted potential of *E. coli*. eLife 2015;4:e05826

Drożdże *Saccharomyces cerevisiae*

Dominika Włoch-Salamon, Instytut Nauk o Środowisku, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi UJ, dominika.wloch-salamon@uj.edu.pl

Znane wszystkim drożdże piekarskie i winne to małe (o średnicy zaledwie 5–10 µm) jednokomórkowe grzyby o nazwie *Saccharomyces cerevisiae* (Ryc. 4, 5). Są one również jednym z najbardziej znanych organizmów modelowych używanych w badaniach naukowych. Świadczy o tym fakt, że drożdże bada się w ponad 2000 laboratoriach rozmieszczonych w ośrodkach naukowych na całym świecie.

Podobnie jak człowiek, drożdże są eukariontami (posiadają jądro komórkowe oraz wewnątrzkomórkowe organelle, takie jak np. mitochondria) i przez większą część swojego życia w warunkach naturalnych są diploidalne (mają po dwie kopie każdego z chromosomów). Charakterystyczne dla drożdży jest rozmnażanie przez pączkowanie, czyli wytwarzanie komórki potomnej będącej klonem rodzica. Kiedy warunki środowiska się pogorszą i brakuje pożywienia, komórki przechodzą tzw. podział mejotyczny. Komórki diploidalne produkują wtedy cztery komórki przetrwalnikowe, tzw. spory, zamknięte we wspólnej otoczce zwanej workiem (łac. *ascus*). W takiej formie drożdże mogą czekać na lepsze warunki do rozwoju nawet kilkadziesiąt lat! Każda ze spor ma tylko jeden komplet chromosomów i charakteryzuje się określonym typem kojarzeniowym: typem a lub typem alfa (można je porównać do płci: męskiej lub żeńskiej). Spory kiełkują i pączkują tworząc klonalną populację haploidalną. Komórki rosnąc wydzielają hormony płciowe, co przyciąga haploidy przeciwnej „płci”. Dotychczas okrągłe komórki zmieniają kształt tworząc małe wypustki. To pozwala im się ze sobą skojarzyć (koniugować) i odtworzyć komórkę diploidalną. W ten sposób cykl życiowy drożdży zostaje zamknięty.

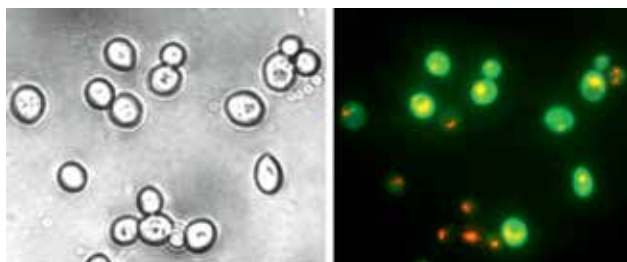


Ryc. 4. Zdjęcie drożdży *Saccharomyces cerevisiae* zrobione przy użyciu mikroskopu świetlnego. Komórki mają średnicę 5–10 µm. Fot. Dominika Włoch-Salamon.

Populacje naturalne drożdży występują w lasach, często na korze dębu i oczywiście na słodkich owocach. Już ponad 7 tysięcy lat temu ludzie zgniatali winogrona uzyskując wino. To właśnie wykorzystywana przez ludzi zdolność drożdży do fermentacji glukozy, w wyniku której wytwarzany jest etanol i dwutlenek węgla, spowodowała, że uważane są za jeden z najstarszych gatunków udomowionych. Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* są nierozzerwalnie związane z naszą cywilizacją „chleba i wina”. Ale dopiero w latach 80 osiemnastego wieku zaczęto poznawać bliżej ten wyjątkowy organizm. Pierwsze naukowe

eksperymenty prowadzone przez Christiana Hansena w browarze Carlsberga doprowadziły do odkrycia technik pozyskiwania i utrzymywania jednorodnych hodowli drożdży. Obecnie istnieją ogromne kolekcje różnych szczepów drożdży używanych w przemyśle i w nauce. Każdy szczep ma swoje unikalne właściwości i charakterystykę i jest on klonem pojedynczego osobnika założycielskiego.

W laboratorium drożdże można hodować w podłożu płynnym lub na szalkach z podłożem stałym, gdzie formują one kolonie (Ryc. 6). W 1 mililitrze optymalnej pożywki wyrasta aż 100 milionów komórek



Ryc. 5. Zdjęcie drożdży *Saccharomyces cerevisiae* zrobione przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego. Widoczny preparat wybarwiony bez wzbudzenia fluorescencji oraz efekt wzbudzenia barwników fluorescencyjnych. Komórki świecące na zielono są żywe, komórki zabarwione na czerwono są martwe. Komórki mają średnicę 5-10 μm . Fot. Dominika Włoch-Salamon, Instytut Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego.

drożdży! Te ogromne populacje można w dowolnym momencie zamrażać i przechowywać w temperaturze -80°C przez długie lata, bez uszczerbku na ich żywotności. Za to w dobrych dla nich warunkach, gdy jest dużo cukru (glukozy) i jest ciepło (około 30°C), już w ciągu 90 minut potrafią wyprodukować komórkę potomną. Tak więc dla drożdży zaledwie jeden tydzień to 100 pokoleń. Dzięki temu badacze ewolucji mogą łatwo porównać cechy przodka i potomka.

W 1978 roku po raz pierwszy na świecie przeprowadzono transformację komórki eukariotycznej. Do komórki drożdży wprowadzono plazmid (materiał genetyczny) pochodzący z bakterii *Escherichii coli*. Technika ta, pozwalająca na powielenie i włączenie do genomu drożdży różnych genów, zapoczątkowała zawrotną karierę drożdży jako organizmu modelowego. Obecnie genetycy mogą łatwo mutować geny i badać widoczne efekty tych mutacji w żywych komórkach drożdży. Społeczność genetyków ma dostęp do ogromnej kolekcji szczepów, z których każdy jest pozabawiony innego z ok. 6000 genów drożdży. Kolekcja ta zawiera haploidy z usuniętymi genami nieistotnymi dla przeżywania (ang. *non-essential*), których jest ponad 5000, oraz diploidy z usuniętymi wszystkim poznanymi genami drożdżowymi. W miejsce genów wstawiono znaczniki – markery pozwalające na identyfikację każdego ze szczepów. Markerami mogą

być geny odpowiedzialne za oporność na antybiotyki, umożliwiające wzrost na podłożu zawierającym, np. genetycynę (tzw. markery troficzne). Inny rodzaj markerów tzw. genetycznych to geny powodujące, że komórka produkuje białko świecące, np. żółte (ang. YFP, *yellow fluorescent protein*). Mogą to być również krótkie, specyficzne sekwencje DNA, tzw. *bar codes* (porównywalne do znaków paskowych, którymi oznakowane są poszczególne towary w sklepie). Tak więc cała dostępna kolekcja szczepów z delecjami genów to ponad 21 tysięcy dobrze scharakteryzowanych szczepów drożdży. Jest ona niezwykle przydatna w analizach genetycznego podłoża chorób ludzkich. Drożdże są pierwszym jednokomórkowym organizmem eukariotycznym, którego cały genom zsekwencjonowano (odczytano) (w 1996 roku). Szacuje się, że około 23% genomu drożdży jest takie samo, jak u ludzi.



Ryc. 6. Zdjęcie kolonii drożdży *Saccharomyces cerevisiae* wyrosłej z jednej komórki na podłożu stałym. Kolonia ma około 1 cm średnicy i może zawierać nawet 100 ml komórek. Fot. Dominika Włoch-Salamon, Instytut Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Celem stosowania organizmów modelowych jest nie tyle poznanie badanego organizmu, co raczej zrozumienie ogólnych mechanizmów dotyczących świata ożywionego, w tym również organizmu człowieka. Badania prowadzone na komórkach drożdży mają fundamentalne znaczenie dla biologii komórki eukariotycznej. Dotyczą one tak ważnych zagadnień jak: naprawa mutacji (uszkodzeń) DNA, wzrost komórek, odpowiedź komórek na stres, regulacja podziału komórkowego, starzenie i długowieczność, powstawanie nowotworów. Badania nad strukturą i zachowaniem białek u drożdży mają bezpośrednie znaczenie dla badań nad chorobą Alzheimera i Huntingtona. Wiele białek ludzkich zostało odkryte poprzez wcześniejsze badania ich homologów (odpowiedników) drożdżowych. Badania nad tymi zagadnieniami zaowocowały dwiema nagrodami Nobla (w 2001 i 2009 roku).

Nie mniej ważne z punktu widzenia człowieka jest stosowanie drożdży do produkcji różnorodnych cząstek aktywnych biologicznie, takich jak na przykład insulina. Firmy biotechnologiczne z sukcesem używają

drożdży do produkcji związków organicznych wykorzystywanych w przemyśle kosmetycznym oraz jako biopaliwa. Takie praktyczne zastosowanie drożdży jest możliwe dzięki odkryciom Randy Schekmana dotyczącym ogólnych mechanizmów wydzielania substancji przez komórki drożdży (Nagroda Nobla 2013).

Wszystkie wspomniane powyżej metody i techniki laboratoryjne, wiele z uzyskanych dzięki nim wyników, jak również sekwencje genomów licznych szczepów drożdży są opublikowane w ogólnodostępnej bazie danych Saccharomyces Genome Database. Osobom zainteresowanym tematem drożdży polecam zagłębienie na stronę internetową bazy SGD, www.sgd.org.

Bibliografia

1. Duina AA, Miller ME, Keeney JB. (2014). Budding yeast for budding geneticists: a primer on the *Saccharomyces cerevisiae* model system. *Genetics*. 197:33–48. (doi: 10.1534/genetics.114.163188)

Rzodkiewnik pospolity *Arabidopsis thaliana*

Wojciech Strzałka, Zakład Biotechnologii Roślin, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, wojciech.strzalka@uj.edu.pl

Rzodkiewnik pospolity (łac. *Arabidopsis thaliana*) został odkryty w górach Harz w Niemczech przez botanika Johanna Thal w XVI wieku. Jest to jednoroczna roślina dwuliścienna z rodziny kapustowatych, do której należy około 350 rodzajów i 3000 gatunków. Rzodkiewnik zasiedla tereny Europy, Azji, Afryki oraz Ameryki Północnej; rośnie zarówno na glebach piaszczystych, jak i gliniastych. W trakcie cyklu życiowego przechodzi dwie fazy rozwojowe. Pierwsza, zwana fazą wegetatywną, rozpoczyna się w momencie kiełkowania rośliny i trwa do momentu, w którym inicjowany jest proces tworzenia pierwszego pędu kwiatowego. W trakcie tej fazy powstaje rozeta zbudowana z liści, których liczba uzależniona jest zarówno od panujących warunków środowiskowych, jak i genotypu rośliny. Przejście z fazy wegetatywnej do drugiego etapu rozwojowego, zwanego fazą generatywną, jest sterowane zarówno sygnałami wewnętrznymi (jak np. wiek), jak i zewnętrznymi (np. zmianą długości dnia). Rzodkiewnik, podobnie jak wiele innych roślin, tworzy kwiaty poza możliwością zapylenia ziarnami pyłku pochodzącymi z pręcików innego osobnika, bardzo łatwo ulegają procesowi samozapylenia. Jest to niezwykle korzystna cecha, dzięki której kolejne pokolenia mogą dziedziczyć niezmienną informację genetyczną. Liczba nasion

wytwarzanych przez jedną roślinę może dochodzić nawet do 10 tysięcy. Dorosłe okazy rzodkiewnika mogą osiągnąć rozmiary do około 20–30 cm wysokości ze średnicą rozety około 5–10 cm (Ryc. 7). W warunkach optymalnych czas od momentu wykiełkowania do wytworzenia nasion wynosi około sześciu do ośmiu tygodni.



Ryc. 7. Zdjęcie rzodkiewnika pospolitego. Fot. Aleksandra Giza.

Koncepcja wykorzystania rzodkiewnika jako organizmu modelowego została zaproponowana w 1943 roku przez pioniera genetyki, botanika Friedricha Laibacha, a więc na długo przed poznaniem sekwencji genomu tej rośliny. Argumentami przemawiającymi za wykorzystaniem rzodkiewnika jako modelu były

m.in.: (i) niewielkie rozmiary, dzięki którym roślina ta jest dogodnym obiektem badawczym w warunkach laboratoryjnych, (ii) krótki czas uzyskania kolejnych pokoleń, (iii) możliwość wzrostu w hodowli ziemnej, jak i wykorzystaniem sterylnych, zdefiniowanych pożywek agarowych, (iv) możliwość otrzymywania nasion powstałych w wyniku samozapylenia, jak i krzyżowania dwóch różnych osobników, a także (v) duża wydajność produkowanych nasion. W kolejnych dekadach rzodkiewnika wielokrotnie wykorzystywano w badaniach dotyczących mutagenyzy DNA. Przykładowo na przełomie lat 80. ubiegłego wieku prowadzono m.in. badania dotyczące wpływu promieniowania kosmicznego na rośliny. Nieco później opublikowano wyniki eksperymentów opisujących wpływ promieniowania emitowanego z terenów zniszczonych wybuchem elektrowni jądrowej w Czarnobylu na dynamikę mutacji w genomie roślinnym.

Diploidalny genom jądrowy ($2n$) rzodkiewnika zbudowany jest z pięciu par chromosomów homologicznych. W porównaniu do genomów innych gatunków roślin, szczególnie użytkowych, takich jak np. ziemniak, kukurydza czy pszenica, haploidalny genom jądrowy rzodkiewnika jest odpowiednio około 6, 18 i 111 razy mniejszy. Liczba par zasad przypadających na zestaw pięciu chromosomów ($1n$) wynosi około 135 milionów par zasad. W roku 2000 w czasopiśmie *Nature* ukazała się publikacja opisująca analizę pierwszego zsekwencjonowanego genomu roślinnego, którym był właśnie rzodkiewnik. Dane zgromadzone w bazie The Arabidopsis Information Resource (TAIR) wskazują, iż w genomie rzodkiewnika obecnie adnotowanych jest 27 416 genów kodujących białka, 4827 pseudogenów lub transpozonów oraz 1359 genów kodujących regulatorowy RNA (niekodujący RNA, z ang. *non-coding RNA*, ncRNA). Pomyślnie zrealizowany projekt sekwencjonowania genomu rzodkiewnika umożliwił skonstruowanie „biblioteki” zawierającej spis niemalże pełnej sekwencji jądrowego DNA, co otworzyło nowe możliwości badania funkcji nie tylko genów, ale przede wszystkim elementów pozagenowych. Kolejnym ważnym osiągnięciem okazało się opracowanie metody *transformacji organów* generatywnych rzodkiewnika wykorzystującej bakterię *Agrobacterium tumefaciens*. Wyniki prowadzonych prac eksperymentalnych wykazały, iż występująca naturalnie w przyrodzie bakteria glebowa *Agrobacterium* posiada zdolność przekazywania fragmentu własnego materiału genetycznego, określanego jako T-DNA (transferowe DNA), żeńskim komórkom rozrodczym rzodkiewnika. Opracowana metoda transformacji umożliwiła konstrukcję kolekcji

mutantów T-DNA, które zostały udostępnienie naukowcom na całym świecie. Rezultatem tych działań są publikowane od wielu lat wyniki badań dotyczące funkcji genów rzodkiewnika, związanych z różnymi aspektami biologii tej rośliny. Przykładowo mutanty T-DNA genów kodujących białka uczestniczące w cyklu komórkowym, czy też syntezie hormonów wykorzystuje się w badaniach mechanizmów kontrolujących wzrost i rozwój roślin. Z kolei mutanty T-DNA genów kodujących białka zaangażowane w naprawę DNA dostarczają wielu cennych informacji, m.in. na temat szlaków naprawy materiału genetycznego u roślin, czy też typu uszkodzeń, w których naprawie uczestniczy produkt badanego genu. Innym przykładem są badania, w których korzystając z puli mutantów T-DNA, na podstawie analizy porównawczej wydajności działania fotoukładu określanego nazwą fotosystemu II, zidentyfikowano nowe geny zaangażowane w proces fotosyntezy.

Arabidopsis znalazł szerokie zastosowanie nie tylko w badaniach naukowych, ale wykorzystywany jest również w celach edukacyjnych. W ramach bazy TAIR udostępniono szereg zestawów edukacyjnych, dzięki którym uczniowie oraz studenci mogą praktycznie zapoznać się, m.in. z: i) prawami Mendla (poprzez obserwacje zmian cech fenotypowych roślin w zależności od ich genotypu), ii) efektem wyłączenia wybranych genów grawitropizmu, czyli ruchu roślin ukierunkowanego działaniem przyciągania ziemskiego, iii) konsekwencjami wynikających z naturalnej zmienności genotypu roślin w kontekście odpowiedzi roślin na zmieniające się czynniki środowiskowe, iv) rolą hormonów roślinnych należących do grupy giberelin w procesie kiełkowania, czy też iv) funkcją fotoreceptorów w rozwoju i wzroście roślin.

Chociaż rzodkiewnik jest niepozornym i pospolitym chwastem, to z punktu widzenia nauki jest to wyjątkowa roślina. Ze względu na swoje cechy oraz oferowane możliwości badawcze rzodkiewnik jest bezcenny dla tysięcy naukowców na całym świecie zaangażowanych w badania różnych aspektów funkcjonowania organizmów roślinnych. Możliwości wykorzystania rzodkiewnika jako modelu roślinnego do prowadzenia zaawansowanych badań molekularno-fizjologicznych przyczyniły się i z pewnością w dalszym ciągu będą prowadzić do kolejnych, spektakularnych odkryć naukowych opisujących mechanizmy szerokiego spektrum procesów u roślin.

Bibliografia

1. Arabidopsis. An Atlas of Morphology and Development. 1994. Edytor: John Bowman, (DOI:10.1007/978-1-4612-2598-0)

2. The Arabidopsis Information Resource: <https://www.arabidopsis.org/portals/education/aboutarabidopsis.jsp>

Nicień *Caenorhabditis elegans*

Marta Labocha-Derkowska, Instytut Nauk o Środowisku, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi UJ, marta.labocha@uj.edu.pl

Caenorhabditis elegans, w literaturze anglojęzycznej zwany “worm” (robak), jest niewielkim, dorastającym do 1 mm, wolno żyjącym nicieniem. W naturze żywi się głównie bakteriami odżywiającymi się martwą materią organiczną. Dlatego też najłatwiej jest go znaleźć np. w sadach, tam gdzie rozkładowi ulegają owoce, które spadły na ziemię. Spotykany jest na wszystkich kontynentach za wyjątkiem Antarktydy. W laboratorium *C. elegans* jest zwykle hodowany na szalkach agarowych pokrytych warstwą bakterii *Escherichia coli*, stanowiących jego pożywienie.

C. elegans ma dwie płcie, hermafrodytę oraz samca, przy czym w większości naturalnych populacji samce występują bardzo rzadko (0,1–0,5%). Obie płcie posiadają 5 par autosomów (5AA), natomiast różnią się liczbą chromosomów płci. Hermafrodyty posiadają dwa chromosomy płci (XX), natomiast samce mają tylko jeden chromosom płci (X0). Hermafrodyty rozmnażają się albo poprzez samozapłodnienie, albo poprzez kojarzenie z samcem. W wyniku samozapłodnienia hermafrodyta produkuje około 300 osobników potomnych, natomiast hermafrodyta zapłodniony przez samca może wyprodukować do 1000 potomków. Przy samozapłodnieniu produkowane są prawie wyłącznie hermafrodyty. Przy zapłodnieniu przez samca połowa potomstwa to samce.

Cykl życiowy *C. elegans* – od jaja, poprzez cztery stadia larwalne, do dorosłego osobnika składającego jaja – w temperaturze 20°C trwa około 3,5 dnia. Dorosły hermafrodyta (Ryc. 8) składa jaja przez kilka dni, po czym reprodukcja ustaje, ale nicienie żyje jeszcze przez kilka do kilkunastu dni (co stanowi ponad połowę całkowitej długości jego życia, która wynosi około 3 tygodnie). Tak długie życie po zakończeniu reprodukcji (typowe także dla człowieka) jest ewenementem w świecie zwierząt.

Ponieważ zasoby pokarmowe tego nicienia ulegają w naturze dużym wahaniom, wykształcił on, jako formę przetrwalnikową, alternatywną formę larwy zwaną dauerem. Stadium dauer powstaje nie tylko przy braku pożywienia, ale też w przypadku bardzo dużego zagęszczenia populacji. Larwy dauer mogą

przeżyć do kilku miesięcy bez pożywienia i są odporne na różnorodne czynniki stresogenne. Gdy pojawią się sprzyjające warunki, nicienie ponownie podejmuje normalny rozwój.



Ryc. 8. *Caenorhabditis elegans*. Na zdjęciu dorosły hermafrodyta oraz dwa jaja. Fot. Marta Labocha-Derkowska, Instytut Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Historia *C. elegans* jako organizmu modelowego zaczęła się w latach 60. ubiegłego wieku, kiedy to znany biolog, Sidney Brenner, zaproponował go jako model organizmu wielokomórkowego do badań z dziedziny biologii rozwoju oraz neurobiologii. Badania te doprowadziły do dwóch bardzo ważnych odkryć. Po pierwsze, prześledzono rozwój wszystkich komórek somatycznych (959 hermafrodyty i 1031 samca) *C. elegans*, od zapłodnionego jaja do osobnika dorosłego (wszystkie dorosłe nicienie tego gatunku, w przeciwieństwie do człowieka, mają niezmienną liczbę komórek somatycznych, czyli nierozrodczych). Jak do tej pory, nie udało się tego zrobić dla żadnego innego organizmu. Po drugie, opracowano „mapę” układu nerwowego *C. elegans*, zawierającą opis budowy wszystkich 302 neuronów dorosłego hermafrodyty oraz połączeń pomiędzy nimi. Badania te były możliwe między innymi dzięki temu, że *C. elegans* jest przezroczysty, co umożliwia obserwacje mikroskopowe poszczególnych jego komórek, także w osobnikach żywych.

C. elegans jest szeroko stosowany w badaniach genetycznych. Nicienie ten był pierwszym organizmem wielokomórkowym, u którego zsekwencjonowano cały genom (rok 1998). Ponad 60% ludzkich genów ma swoje odpowiedniki w genomie *C. elegans*. Dodatkowo około 40% genów związanych u ludzi z różnymi chorobami ma swoje odpowiedniki u *C. elegans*. Sprawia to, że wiele badań z użyciem *C. elegans* ma znaczenie dla badań poświęconych ludzkiemu zdrowiu. Przykładem mogą być badania nad genami związanymi u ludzi z chorobami

neurodegeneracyjnymi (układu nerwowego), takimi jak: choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, stwardnienie zanikowe boczne czy płasawica Huntingtona. Także niektóre geny związane z rozwojem raka u człowieka mają swoje odpowiedniki u *C.elegans*. Przykładem takiego genu jest gen *brc-1*, którego odpowiednikiem u człowieka jest gen BRCA1, którego mutacje są obserwowane u kobiet z rakiem piersi oraz jajników.

Badania genetyczne z wykorzystaniem *C. elegans* rozwinęły się między innymi dlatego, że dzięki samozapłodnieniu możliwa jest hodowla szczepów wywodzących się od pojedynczego osobnika. W praktyce oznacza to, że potomstwo takiego osobnika jest jego klonami. Ponadto samozapłodnienie pozwala na łatwe utrzymanie szczepów homozygotycznych, czyli posiadających dwie identyczne kopie danego genu na obu chromosomach, jako że w przypadku samozapłodnienia obie kopie genu potomka pochodzą od jednego rodzica. Jest to bardzo ważne przy utrzymaniu szczepów obarczonych mutacją konkretnych genów. Inną ważną charakterystyką tego nicienia sprzyjającą badaniom genetycznym jest możliwość jego zamrażania w bardzo niskich temperaturach (poniżej -80°C). Zamrożone osobniki mogą być rozmrożone po wielu latach i ponownie podjąć rozwój. Dzięki temu szczepy z konkretnymi mutacjami mogą być zamrożone i przechowywane przez wiele lat bez obawy nagromadzenia się w nich nowych mutacji.

Możliwość mrożenia, niewielkie rozmiary, łatwość hodowli i krótki cykl życiowy przyczyniły się do sukcesu tych nicieni także w badaniach ewolucyjnych. Ich charakterystyka pozwala na prowadzenie wielopokoleniowych badań na dużych populacjach w stosunkowo krótkim czasie i niewielkim kosztem. Pozwala to na badanie ewolucji „w akcji”, a możliwość zamrożenia pokolenia wyjściowego umożliwia porównywanie potomstwa z przodkami i to przodkami żywionymi z zamrożonych próbek!

Przez ostatnie 60 lat *C. elegans* był także używany do badań z wielu innych dziedzin biologii, takich jak np. biologia komórki czy badania nad starzeniem się. Obecnie ponad 1000 laboratoriów na świecie używa *C. elegans* do swoich badań, publikując rocznie ponad 1200 artykułów naukowych. Badania na *C. elegans* zaowocowały trzema nagrodami Nobla. W 2002 roku w dziedzinie fizjologii lub medycyny za badania nad genetyczną regulacją rozwoju organów oraz apoptozy (zaprogramowanej śmierci komórki). W 2006 roku, również w dziedzinie fizjologii lub medycyny, za odkrycie metody interferencji RNA – wyciszania ekspresji genów przy użyciu dwuniciowego RNA. Natomiast w roku 2008 w dziedzinie chemii, za odkrycie oraz rozwój metodologii

używania białka zielonej fluorescencji (GFP).

Ogromna społeczność badaczy stosujących *C. elegans* jako organizm modelowy rozwinęła wiele zasobów internetowych dostępnych bez ograniczeń. Jedne z najważniejszych to: www.wormbook.org (kompedium wiedzy na temat biologii i ekologii *C. elegans*, ale też metod badawczych używanych w pracy z tym organizmem), www.wormbase.org (opis wszystkich znanych genów *C. elegans*), czy www.wormatlas.org (atlas anatomiczny *C. elegans*).

Z uwagi na łatwość hodowli *C. elegans* oraz jego nieszkodliwość dla ludzi (nie może on przeżyć w organizmie ludzkim, nie są też znane przypadki alergii na tego nicienia u ludzi) może być on stosowany do przeprowadzania prostych badań i obserwacji biologicznych na poziomie gimnazjum lub liceum. Jednym z przykładów może być badanie zachowania nicienia w odpowiedzi na różne substancje chemiczne (chemotaksji – odpowiedzi ruchowej organizmu na bodziec kierunkowy). Dostępność szczepów ze zmutowanymi pojedynczymi genami pozwala na obserwację wpływu genów na fenotyp, a prowadzenie krzyżówek przy użyciu mutantów na obserwację segregacji genów w trakcie rozmnażania. Kolejny zasób internetowy, www.wormclassroom.org, zawiera opisy doświadczeń i obserwacji, które można przeprowadzić z użyciem *C. elegans* nie tylko w warunkach akademickich, ale także szkolnych.

Bibliografia

1. Corsi AK, Wightman B, Chalfie B (2015) A Transparent Window into Biology: A Primer on *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 200: 2 387-407 (DOI: 10.1534/genetics.115.176099)

Muszka owocowa *Drosophila melanogaster*

Jolanta Górską-Andrzejak, Zakład Biologii i Obrazowania Komórki, Instytut Zoologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi UJ, e-mail: j.gorska-andrzejak@uj.edu.pl

Drosophila melanogaster (łac.) – wywilżna karłowata, to 2–3 milimetrowej wielkości muszka (rząd: muchówki), najlepiej znana pod potoczną nazwą muszka owocowa lub muszka owocówka (Ryc. 9.). Pod koniec lata i jesienią, gdy w sadach dojrzewają owoce, widzimy chmary tych maleńkich owadów. Są dość uciążliwe, bo wystarczy, że weźmiemy do ręki jakiś owoc, a przywabione jego zapachem pojawiają się nie wiadomo skąd. *Drosophila* jest prawdziwą koneserką gnijących i fermentujących owoców,

w których szuka pożywienia, czyli drożdży. W gnijących owocach składa też jaja i tam rozwijają się jej larwy. W rozwoju postembrionalnym muszki owocowej występują trzy stadia larwalne oraz stadium poczwarki, podczas którego larwa przechodzi metamorfozę w owada doskonałego (*imago*). Samica kopuluje już kilka godzin po opuszczeniu poczwarki i wkrótce potem składa jaja. Samice są bardzo płodne



Ryc. 9. Głowa *Drosophila melanogaster* na mikrografii z mikroskopu elektronowego skaningowego (SEM). Powiększenie 100 x. Fot. Grzegorz Tylko. Zdjęcie wykonano w Pracowni Nauk Biologicznych i Geologicznych Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego.

– jedna składa do 3000 jaj. Cykl życiowy *D. melanogaster* trwa od 10 do 14 dni (jego tempo zależy od temperatury otoczenia).

Atrakcyjność modelu *Drosophila melanogaster* wynika przede wszystkim z prostej biologii i łatwej hodowli. Utrzymanie nawet dużych hodowli laboratoryjnych jest tanie i nie zajmuje dużo miejsca, gdyż muszki hodowane są w specjalnych kolbach przypominających kształtem butelki lub w małych fiolkach. Hodowane są na sztucznej pożywce gotowanej na bazie mączki kukurydzianej, miodu lub melasy, drożdży i agaru. Szybka przemiana pokoleń sprzyja badaniom genetycznym. Także występowanie w komórkach gruczołów śliniankowych ich larw tzw. chromosomów olbrzymich, nazywanych inaczej chromosomami politenicznymi, ułatwia badania genetyczne. Umożliwia obserwowanie za pomocą mikroskopu świetlnego aktywności określonych fragmentów chromosomów lub zmian powstałych w strukturze chromosomów na skutek manipulacji genetycznych, np. delekcji.

Dziś popularność muszki owocowej jako obiektu badań jest spowodowana przede wszystkim tym, że wiedza na temat tego modelu jest ogromna (i łatwo dostępna, np. na stronie FlyBase; <http://flybase.org>), a metodyka badań niezwykle rozwinięta – obfituje np. w unikalne procedury genetyczne pozwalające na ukierunkowaną zmianę ekspresji genów tego organizmu. Genom muszki owocowej jest znany od 2000 roku. Jest zbudowany z około 165 milionów par zasad tworzących około 14 tys. genów i mieści się tylko na czterech parach chromosomów, przy czym czwarty chromosom jest bardzo mały. Nie bez znaczenia jest fakt, że około 50% genów *D. melanogaster* ma swoje odpowiedniki u ssaków, a około 75% ludzkich genów związanych z chorobami genetycznymi ma odpowiedniki u *D. melanogaster*. Oprócz dzikich szczepów muszki owocowej dysponujemy licznymi mutantami i szczepami transgenicznymi. Tysiące cennych dla nauki szczepów jest przechowywane w bankach szczepów, które udostępniają je badaczom z całego świata. Dzięki prostym krzyżówkom genetycznym między osobnikami odpowiednich szczepów rodzicielskich można uzyskać potomstwo charakteryzujące się np. podwyższonym lub obniżonym poziomem ekspresji interesującego nas genu wyłącznie w określonym typie komórek. Umożliwia to badania nad funkcją genu oraz białka, które on koduje *in vivo*, czyli w organizmie. Poza tym umożliwia badanie funkcji genów kodujących tak ważne dla organizmu białka, że osobniki, u których jeden z takich genów uległ mutacji, giną już na etapie rozwoju. Muszki, u których tak ważny gen jest wyłączony nie we wszystkich, jak u mutantu, lecz tylko w niektórych komórkach, żyją, a badania nad grupą komórek pozbawionych funkcjonalnego genu i jego białka pokazują, jaką funkcję gen ten pełni w komórce.

Jako pierwszy użył tego maleńkiego owada jako modelu w badaniach genetycznych amerykański biolog i genetyk Thomas Hunt Morgan. Dzięki badaniom na muszce owocowej Morgan doświadczalnie wykazał, że opisywane przez Grzegorza Mendla „cząstki dziedziczności”, które później nazwano „genami”, mieszczą się w chromosomach i sformułował chromosomową teorię dziedziczności. Za te przełomowe badania otrzymał w roku 1933 Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii. Była to pierwsza z czterech Nagród Nobla, jakie zdobyli badacze prowadzący badania na modelu *Drosophila melanogaster*. W latach sześćdziesiątych XX, w laboratorium, które kiedyś należało do Morgana, tj. w słynnym „Pokoju Much” w California Institute of Technology (Caltech) w Pasadenie, badania na muszce prowadził

Seymour Benzer, amerykański fizyk, biolog molekularny i genetyk behawioralny. Wraz ze studentem, Ronem Konopką, udowodnił on, że zachowanie, podobnie jak inne cechy fenotypowe, może być determinowane przez pojedyncze geny. Konopka i Benzer znaleźli i opisali gen *period* (*per*), którego mutacja wywołuje zaburzenia dobowej rytmiki aktywności muszek. W populacji *Drosophila* widoczny jest dobowy (o okresie równym 24 h) rytm wychodzenia z poczwerek (z maksimum przypadającym na wczesne godziny poranne) oraz rytm aktywności lokomotorycznej (z maksimum w godzinach porannych i wieczornych). Znalezione przez Konopkę mutanty wykazywały rytmikę, ale o okresie krótszym lub dłuższym od 24 godzin, albo jej w ogóle nie przejawiały (osobniki arytmiczne). Przyczyną tego były mutacje w genie *per*. Badania pokazujące, że *per* kontroluje dobową rytmikę muszki owocowej, stanowiły dowód na to, że podłoże genetyczne wpływa na zachowanie organizmu. *per* był także pierwszym odkrytym genem z grupy tzw. genów zegarowych, których cykliczna, okołodobowa ekspresja stanowi podłoże molekularnego mechanizmu endogenego zegara biologicznego, generującego okołodobową rytmikę organizmu. (Mechanizm zegara ssaków także opiera się na rytmicznej ekspresji genów zegarowych, wśród nich również genów *Per*: *Per1*, *Per2*.) Badania Konopki i Benzera położyły zatem podwaliny pod genetykę behawioralną i zapoczątkowały prace nad molekularnym mechanizmem endogenego oscylatora (zegara), obecnego u organizmów żywych jako przejaw ich adaptacji do życia na Ziemi. Zegar ten umożliwia organizmom generowanie rytmiki różnorodnych procesów biologicznych i jej synchronizację z rytmem zmian (np. dnia i nocy) zamieszkiwanego środowiska.

W 1995 roku Edward Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard i Eric Wieschaus uzyskali Nagrodę Nobla za badania nad genetyczną kontrolą wczesnych etapów rozwoju embrionalnego, które na przykładzie *Drosophila* wyjaśniły, w jaki sposób z zapłodnionej komórki jajowej powstaje organizm o charakterystycznej budowie ciała. Geny regulujące rozwój zastały zidentyfikowane u mutantów o zaburzonym planie budowy ciała, u tzw. mutantów homeotycznych posiadających np. odnóża kroczone na głowie, w miejscu czułek. Co najciekawsze, okazało się, że odkryte dzięki tym mutacjom geny homeotyczne, kontrolujące proces segmentacji ciała u *D. melanogaster*, mają swoje odpowiedniki (homologi) w genomach kręgowców. Badania te wykazały podobieństwo programów rozwoju embrionalnego organizmów tak odległych od siebie jak muszka owocowa i człowiek.

D. melanogaster jest obecnie także uznanym organizmem modelowym w neurobiologii, w tym również w badaniach nad chorobami neurodegeneracyjnymi człowieka, czyli chorobami prowadzącymi do stopniowej utraty komórek nerwowych (np. choroba Parkinsona, Alzheimer, czy tzw. poliglutaminopatie). Na *D. melanogaster* badany jest patomechanizm tych neurodegeneracji, przy czym dla każdej jednostki chorobowej występuje zazwyczaj kilka modeli. Są to mutanty i/lub szczepy transgeniczne, wykazujące charakterystyczne dla danego schorzenia cechy fenotypowe.

Różnorodność badań, jakie prowadzi się dzisiaj na tym modelu i jakie prowadzono przez ponad 100 lat jego stosowania, jest ogromna. Oprócz badań genetycznych i badań z zakresu biologii rozwoju, są to badania ewolucyjne, populacyjne, behawioralne, neurobiologiczne, chronobiologiczne, toksykologiczne, farmakologiczne i wiele innych. *Drosophila* była także umieszczana w przestrzeni kosmicznej i wysyłana w lotach balonowych w górne warstwy atmosfery. Być może dlatego Jeffrey C. Hall, emerytowany profesor w Brandeis University (Boston, USA), który na modelu *Drosophila* prowadził badania nad rytmami okołodobowymi, stwierdził, że: „każde zjawisko biologiczne na Ziemi lub we Wszechświecie jest teraz badane u *Drosophila*” (na podst. książki Jonathana Weinerja pt. „Time, Love, Memory”). Oczywiście przesada tego stwierdzenia dobrze obrazuje różnorodność wykorzystania tego modelu w badaniach naukowych. *D. melanogaster*, podobnie jak inne, stosunkowo proste organizmy modelowe, umożliwia szybsze rozwiązanie problemów badawczych, a przy tym bez dylematów etycznych, które zawsze towarzyszą badaniom na modelach zwierząt kręgowych.

Bibliografia

1. Janathan Weiner. „Czas, miłość, pamięć. Wielki biolog i jego poszukiwanie genezy zachowań”, Prószyński i S-ka, Warszawa 2006

Zeberka *Taeniopygia guttata*

Joanna Rutkowska, Instytut Nauk o Środowisku, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi UJ, joanna.rutkowska@uj.edu.pl

Zeberki (łac. *Taeniopygia guttata*) są małymi ziarnojadami z grupy ptaków wróblowatych (do których należy około połowa wszystkich gatunków ptaków), zamieszkującymi suche i półsuche tereny Australii i Indonezji. Żerują zwykle w stadach, często

przekraczających 100 osobników. Zeberki przystępują do rozrodu w okresie obfitości pokarmu, który następuje zwykle po opadach deszczu stymulujących dojrzewanie nasion traw. Samica i samiec tworzą trwałą parę i razem uczestniczą w konstrukcji gniazda, wysiadywaniu jaj i karmieniu piskląt.

Obie płcie mają podobną masę ciała (około 12–15 g), ale różnią się wyglądem – samce mają czerwone dzioby i kasztanowe plamy na policzkach. Na podgardlu i piersi samca są poziome czarno-białe paski, a po bokach ciała brązowe pióra z białymi plamkami. Samice mają mniej intensywnie czerwone dzioby i generalnie nie są tak barwne jak samce. Osobniki

lub czwartego jaja. Pisklęta wykluwają się po 11–13 dniach. Potomstwo zyskuje niezależność od rodziców już po miesiącu, a dojrzałość płciową osiąga po około trzech miesiącach. (Dla porównania, kanarki w niewoli nie rozmnażają się wcale, a jeżeli już, to dopiero po roku. Tak jest również w przypadku wielu innych gatunków ptaków wróblowatych). W warunkach hodowlanych zeberki żyją parę lat.

Badania naukowe z wykorzystaniem zeberki dotyczą dwóch głównych nurtów – neurobiologii i ekologii ewolucyjnej. Badania neurobiologiczne w większości skupiają się na neurologicznych podstawach uczenia się i wykonywania piosenki przez



Ryc. 10. Zdjęcie rodziny zeberki. Pierwszy z lewej – samiec, trzecia z lewej – samica. Potomstwo z czarnymi dziobami, wiek – około 4 tygodnie po wykłuciu. Zdjęcie podświetlonego jaja zeberki po paru dniach inkubacji. Widoczny jest embriion i naczynia krwionośne oplatające żółtko. Długość jaja to około 1 cm. Fot. Joanna Rutkowska, Instytut Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego.

młode są podobne do samic, ale mają czarne dzioby (Ryc. 10). Charakterystyczne dla płci ubarwienie zyskują po około dwóch miesiącach życia.

Ciekawy wygląd zeberki przyciągnął uwagę hodowców i w połowie XIX wieku zostały one sprowadzone do Europy jako zwierzęta domowe. Szybko stały się bardzo popularne wśród hodowców amatorów, którzy z upodobaniem wyprowadzali odmiany o specyficznym ubarwieniu warunkowanym mutacjami, których dziedziczenie odbywa się zgodnie z prawami Mendla. W badaniach naukowych zeberki zostały po raz pierwszy wykorzystane w 1954 roku. Od tego czasu opublikowano ponad 1500 prac naukowych opartych na tym modelu. O tym, że zeberki stały się gatunkiem modelowym, zdecydowała przede wszystkim łatwość ich rozmnażania w warunkach hodowlanych. W ciągu kilku dni od połączenia się w pary są w stanie zbudować gniazdo i rozpocząć składanie jaj. Samice składają zwykle od 5 do 6 jaj, po jednym (ważącym około 1 grama) każdego dnia. Ich wysiadywanie rozpoczyna się po złożeniu trzeciego

samców oraz jej rozpoznawania przez samice. Te procesy można traktować jako modelowe dla uczenia się mowy ludzkiej. W okresie młodocianym zeberki uczą się piosenki od swojego ojca, podobnie jak noworodki uczą się mowy od swoich rodziców – słuchając ją i zapamiętując. W wieku około miesiąca zeberki zaczynają naukę senso-motoryczną, która wiąże się z wydawaniem coraz doskonalszych dźwięków, co jest odpowiednikiem gaworzenia, a następnie coraz lepiej rozwiniętej mowy ludzkich dzieci. Dojrzałe samce zeberki mają utrwaloną piosenkę, która nie ulega żadnym zmianom. Można to odnieść do nauki języka obcego przez człowieka – jest ona najefektywniejsza w młodości, a niektórych trudnych dźwięków nie jesteśmy w stanie się nauczyć, jeżeli nie poznaliśmy ich jako dzieci. U zeberki i u ludzi do prawidłowej nauki konieczne jest słyszenie wydawanych przez siebie dźwięków i słuchanie piosenek innych osobników (stąd też diagnozując opóźnienia w mówieniu u dzieci sprawdza się, czy dziecko dotknięte tym problemem dobrze słyszy). Nie jest to powszechna

prawidłowość w świecie zwierząt. Nawet wśród naczelnych jesteśmy w tym osamotnieni, a spośród ssaków tylko nietoperze i walenie cechują się komunikacją wokalną. Choć mózg ptasi różni się od ludzkiego, podstawowe procesy nerwowe są na tyle uniwersalne, że badając zeberki możemy stosunkowo łatwo dowiedzieć się wiele o funkcjonowaniu naszego mózgu. Dla przykładu, obok kanarków, zeberki były pierwszymi spośród wyższych kręgowców, dla których opisano proces powstawania nowych neuronów u osobników dorosłych. Obecnie wiadomo, że proces ten zachodzi również u ssaków, w tym u ludzi.

Badania z zakresu ekologii ewolucyjnej najczęściej dotyczą behawioru związanego z rozrodem, w tym doboru płciowego, czyli mechanizmów wyboru partnera i konkurencji o partnerów do rozrodu. Badania na zeberkach pokazały, że taka konkurencja może zachodzić nawet na poziomie plemników. Przykładową techniką eksperymentalną stosowaną u tego gatunku jest manipulacja atrakcyjnością samca za pomocą kolorowych obrączek nakładanych przez eksperymentatora na nóżki ptaka. Nałożenie czerwonych obrączek podnosi, a zielonych lub niebieskich obniża atrakcyjność samca w oczach samicy i wpływa na jej inwestycję rodzicielską. Wykazano między innymi zdolność zeberek do manipulowania proporcją płci potomstwa w odpowiedzi na atrakcyjność rodziców, ich kondycję, jakość dostępnego pokarmu i poziom hormonów w organizmie matki. Zeberki są też obiektem badań ekotoksykologicznych (np. dotyczących niesławnego DDT), fizjologicznych (np. związanych z adaptacjami do życia w suchym środowisku) oraz dotyczących funkcjonowania układu odpornościowego i procesów starzenia się. Przeprowadzenie wielu z tych badań nie byłoby możliwe w warunkach terenowych.

Na istotną pozycję zeberek jako organizmu modelowego wskazuje opublikowanie w 2010 roku jej genomu, drugiego zsekwencjonowanego genomu ptasiego po genomie kury domowej *Gallus gallus*. Linie ewolucyjne zeberek i kury rozeszły się około 100 milionów lat temu. Porównanie ich genomów pozwoliło zatem wskazać geny wspólne dla ptaków i takie, które są typowe tylko dla ptaków śpiewających. Generalnie genomy tych dwóch gatunków są bardzo podobne, a większą liczbę genów zidentyfikowanych u zeberek, tj. ponad 17 tys. (w porównaniu do kury, która ma ponad 15 tys.), przypisuje się właśnie komunikacji wokalnej rozwiniętej u tego gatunku.

Zainteresowanym czytelnikom warto zwrócić uwagę na fakt, że zeberki są dostępne w większości sklepów zoologicznych, a zatem każdy może kupić sobie parkę, zaopatrzyć ją w miejsce na gniazdo

i prowadzić własne obserwacje nad zachowaniem tych ciekawych ptaków.

Bibliografia

1. Griffith SC. & Buchanan KL. (2010). The Zebra Finch: the ultimate Australian supermodel. *Emu* 110, v–xii. (http://dx.doi.org/10.1071/MUv110n3_ED)

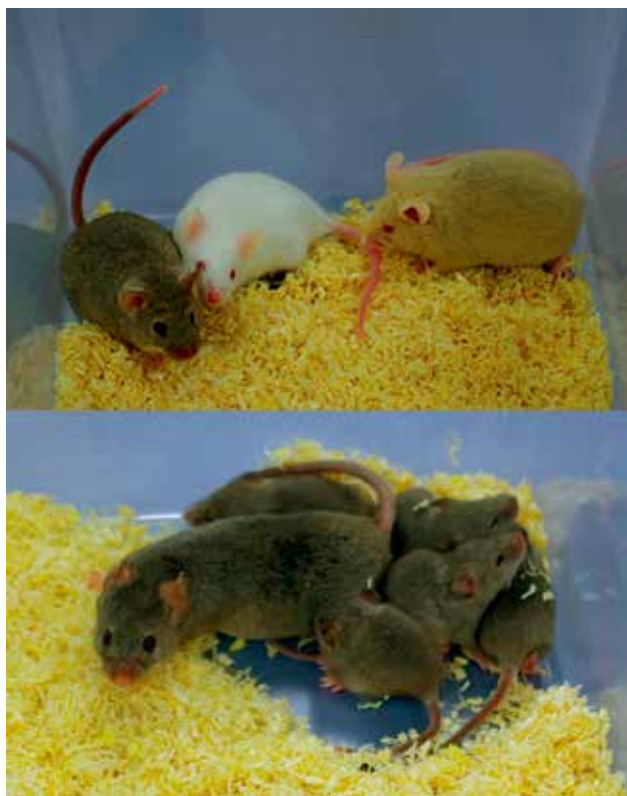
Mysz *Mus musculus*

Paweł Grzmil, Zakład Genetyki i Ewolucjonizmu, Instytut Zoologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi UJ, pawel.grzmil@uj.edu.pl

Mysz domowa (*Mus musculus*) to mały gryzoń z rodziny myszowatych, występujący praktycznie na wszystkich kontynentach. Jako gatunek synantropijny, czyli przystosowany do życia w środowisku przekształconym przez człowieka, prawdopodobnie towarzyszy ludziom od czasów pierwszych osad rolniczych. W XVIII wieku w Azji myszy były hodowane w domach, a od XIX wieku także w Europie. Nie dziwi więc fakt, że szybko przykuły uwagę naukowców. W czasie długiego współwystępowania myszy i ludzie spotykały się z tymi samymi patogenami, co doprowadziło do wytworzenia podobnych mechanizmów odpornościowych. Mysz stała się więc doskonałym modelem w badaniach immunologicznych. W laboratoriach zaczęto kolekcjonować nietypowo wyglądające osobniki i od nich zaczęto wyprowadzać różne szczepy. Początkowo zwracano uwagę na cechy łatwe w obserwacji, jak kolor futra. Wyhodowano bardzo wiele odmian barwnych, od białych myszek, kojarzonych głównie z typową myszą laboratoryjną, poprzez myszy brązowe, cynamonowe, beżowe czy czarne. Obecnie mamy bardzo szeroką gamę umaszczeń różnych szczepów myszy tak w laboratoriach, jak i hodowlach zwierząt domowych (Ryc. 11). Od 1900 roku, po ponownym odkryciu praw Mendla, okazało się, że wiele cech fenotypowych myszy dziedziczy się zgodnie z tymi prawami, są więc determinowane genetycznie. Mysz zyskiwała na popularności jako zwierzę modelowe w badaniach genetycznych.

Dziko żyjące myszy wykazują olbrzymią zdolność do adaptacji do warunków bytowych i pokarmowych, są praktycznie wszystkożerne. Myszy są uznawane za szkodniki mogące wywoływać straty w magazynach produktów spożywczych, uprawach oraz gospodarstwach domowych. Mogą rozmnażać się przez cały rok, średnio w miocie samica rodzi 6–8 młodych, ciąża trwa ok. 21 dni. Młode po 14–16 dniach poruszają

się samodzielnie i zaczynają jeść stały pokarm, po ok. 26 dniach całkowicie przestają pobierać mleko od matki. Dojrzałość płciową mogą osiągać już po 28 dniach, ale przeważnie zdolne do rozmnażania są ok. dwumiesięczne osobniki. W optymalnych warunkach myszy mogą dawać 6–8 miotów w roku. Dorosłe



Ryc. 11. Powyżej: dorosłe samce barwne pochodzące z różnych szczeptów o odmiennym umaszczeniu. Od lewej osobniki: niebieski agouti, albinos i beżowy. Poniżej: Dorosła samica z potomstwem. Młode są wieku 16 dni. Fot. Paweł Grzmil, Zakład Genetyki i Ewolucjonizmu, Instytut Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

osobniki osiągają wagę 20–30 g, długość ciała dochodzi do 11 cm, a ogona do 10 cm. Myszy przeważnie żyją ok. 2 lat, choć znane są przypadki osobników żyjących w hodowli ponad 3 lata.

Obecnie mysz jest jednym z najpopularniejszych modeli w badaniach genetycznych. Wyniki sekwencjonowania mysiego genomu zostały opublikowane w 2002 roku. Genom myszy składa się z 20 par chromosomów zawierających w sumie ponad sześć miliardów nukleotydów. Po porównaniu z ludzkim genomem okazało się, że mysz ma ok. 95 % sekwencji DNA podobnych do człowieka. Tak duże podobieństwo czyni z myszy doskonały model do badań nad genetyczną kontrolą wielu procesów, jak i poszukiwania przyczyn chorób dziedzicznych występujących u ludzi. Okazało się, że mutacje wielu genów, będące przyczyną ludzkich chorób, występują także u myszy, dzięki czemu można było prowadzić badania nad skutkami tych mutacji oraz nad opracowaniem

skutecznych terapii. Badań takich z oczywistych względów nie można prowadzić na ludziach. Spektakularnym przykładem jest mysz model choroby związanej z wrodzonym ciężkim złożonym niedoborem odporności (ang. *severe combined immunodeficiency, SCID*). Badania na tym modelu przyczyniły się do zrozumienia zaburzeń na poziomie molekularnym i opracowaniu terapii genowej stosowanej u ludzi.

Jednak analiza spontanicznych mutacji występujących u myszy ma swoje ograniczenia. Niskie tempo i przypadkowość mutacji znacznie ograniczały powszechność mysich modeli. Dlatego rozwinięto techniki inżynierii genetycznej, dzięki którym można było wprowadzać ukierunkowane zmiany w mysim genomie. Okazało się, że konstrukty genetyczne można wprowadzać do mysich komórek embrionalnych i z tak zmienionych komórek tworzyć myszy z odpowiednimi zmianami. Technika celowanej mutagenazy, nosząca nazwę nokautu genetycznego (ang. *genetic knockout*), bardzo się rozwinęła właśnie w oparciu o mysz model. Stworzono tysiące linii z wyłączonymi genami, dzięki czemu możliwe było poznanie ich funkcji. W 2007 roku trzech uczeni: M. R. Capecchi, M. J. Evans i O. Smithies otrzymali nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny lub fizjologii za znaczny wkład w rozwój techniki nokautu genetycznego. Początkowo, aby zastosować tę technikę, należało izolować komórki embrionalne z blastocyst myszy. Choć sama technika izolacji nie jest bardzo skomplikowana, jednak wymaga czasu i dużego doświadczenia. Okazało się jednak, że linie komórek embrionalnych (ang. *embryonic stem cells, ESC*) można przez długi czas hodować *in vitro*. Obecnie odpowiednie linie komórkowe są dostępne komercyjnie, co znacznie przyspiesza badania z ich zastosowaniem. Technika nokautu doczekała się wielu modyfikacji, które poprawiły jej wydajność i użyteczność. Dla przykładu, kiedy mysz z uszkodzonym genem wykazuje fenotyp letalny, czyli zamiera w trakcie rozwoju embrionalnego lub tuż po urodzeniu, badania dotyczące funkcji genu są mocno ograniczone. Niewiele można ustalić, poza dość ogólnym stwierdzeniem, że gen ten jest niezbędny do przeżycia myszy. W takich wypadkach z pomocą przychodzi technika nokautu warunkowego (ang. *conditional knockout*). Dzięki tej technice możemy wprowadzić do genomu myszy takie sekwencje DNA, które nie zaburzają prawidłowej pracy genu. Jednak dzięki ich obecności, w określonym momencie, czy w konkretnej tkance możemy wywołać uszkodzenie genu i badać efekty jego braku.

Ale mysz pozwala modelować nie tylko efekt wyłączenia poszczególnych genów. Opracowano technikę tworzenia zwierząt transgenicznych o wymuszonej

i podniesionej ekspresji genu. Podniesiona ekspresja może dotyczyć genu mysiego, ale też genów innych gatunków, w tym ludzi. Dzięki temu można badać efekt podniesionej aktywności genu niosącego interesującą nas mutację. Badania tego typu rozpoznały się szczególnie w analizie przyczyn chorób neurodegeneracyjnych. Takim celowi służy myszy model choroby Alzheimera. Również w badaniach innych chorób wielogenowych, jak np. cukrzyca, nadciśnienia czy nowotworów, transgeniczne myszy okazały się doskonałym modelem zwierzęcym.

Zupełnie innym rodzajem modyfikacji mysiego genomu jest technika „pułapek na geny” (ang. *gene-trap*). Ma ona szerokie zastosowanie przy poszukiwaniu nowych genów zaangażowanych w określony proces. Konstrukty do tworzenia pułapek na geny wprowadza się do komórek embrionalnych, w których może on integrować się w dowolne miejsce. Następnie badamy myszy powstałe z takich komórek w poszukiwaniu osobników z zaburzeniami interesującego nas procesu. Jeżeli znajdziemy takie linie, możemy bardzo łatwo zidentyfikować gen, który został uszkodzony u danego osobnika. Dzięki temu można identyfikować geny, których funkcja nigdy wcześniej nie była wiązana z analizowanym procesem. Dzięki tej technice opisano m.in. funkcje kilku czynników regulujących proces apoptozy.

Mysz jest doskonałym modelem w badaniach genetycznych, gdyż można stosunkowo łatwo manipulować jej genomem. Jednak niektóre efekty fenotypowe, wywołane wprowadzoną zmianą w genomie, mogą być bardzo nieznaczne, nieprzekraczające zmienności osobniczej, a tym samym trudne do zidentyfikowania. W takich przypadkach najbardziej użyteczny jest materiał jednolity genetycznie, czyli linie, w których zmienność osobnicza praktycznie nie występuje. Ze względu na długoletnie zainteresowanie myszami, naukowcy wyprowadzili ponad 400 różnych szczepów wsobnych tego gatunku. Szczep wsobny charakteryzuje się wysokim stopniem homozygotyczności, co prowadzi do tego, że wszystkie osobniki danego szczepu są praktycznie identyczne genetycznie. Poszczególne szczepy wsobne myszy są komercyjnie dostępne i bardzo dobrze scharakteryzowane, dzięki czemu badacze mogą dobrać sobie szczep najbardziej odpowiedni do konkretnych badań.

Niebagatelną kwestią decydującą o rozpowszechnieniu się myszy jako zwierzęcia modelowego jest łatwość ich hodowli. Te niewielkie gryzonie można przetrzymywać w klatkach, zajmujących stosunkowo niewielką powierzchnię hodowlaną. Wiele ośrodków naukowych specjalizuje się w hodowli myszy i udostępnia je innym instytucjom badawczym.

Największy tego typu ośrodek – Laboratorium Jackson – dysponuje ponad 7500 szczepami myszy ze zdefiniowanymi zmianami genetycznymi. Ponadto, popularność tego gryzonia przyczyniła się do rozwoju konsorcjów tworzących i kolekcjonujących linie myszy, bądź linie komórek embrionalnych z określonymi zmianami genetycznymi, które są dostępne dla zainteresowanych ośrodków naukowych. Największe tego typu przedsięwzięcie – KOMP (ang. *knockout mouse project*) zawiera katalog ponad 8500 linii z nokautem. Często więc nie musimy sami generować linii myszy z nokautem określonego genu, tylko zamówić gotową mysz w jednej z tego typu placówek, co znacznie przyspiesza prace badawcze. Ponadto najnowocześniejsze techniki modyfikacji mysiego genomu, wykorzystujące wewnątrzkomórkowe mechanizmy naprawy DNA i odpowiednio przygotowane konstrukty, rozbudzają nowe nadzieje nad przyspieszeniem rozwoju mysich modeli. Choć nie są one jeszcze zoptymalizowane, dotychczasowe wyniki pokazały, że czas potrzeby do stworzenia mysiego modelu, wynoszący przy technice nokautu ok. 24 miesiące, można skrócić dzięki technikom wykorzystującym specjalne sekwencje prokariotyczne i aktywność modyfikowanych endonukleaz (np. CRISPR/Cas9) do nawet 4–5 miesięcy.

Bibliografia

1. Archambeault DR, Matzuk MM. (2014). Disrupting the male germ line to find infertility and contraception targets. *Ann Endocrinol*, 75: 101–8.
2. Eppig JT, Blake JA, Bult CJ, Kadin JA, Richardson JE, The Mouse Genome Database Group. (2015). The Mouse Genome Database (MGD): facilitating mouse as a model for human biology and disease. *Nucleic Acids Res.* 28;43(Database issue): D726–36.