



PROF. DR HAB. AGNIESZKA SIRKO

# PLAN NA ŚMIERĆ

O tym, do czego człowiekowi potrzebna jest wiedza o umieraniu komórek, mówi **prof. dr hab. Agnieszka Sirko** z Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN

## ACADEMIA: Czy komórki umierają tak jak organizmy?

AGNIESZKA SIRKO: Nic nie trwa wiecznie – powiedzenie to jest prawdziwe także w odniesieniu do komórek, czyli podstawowych „cegiełek”, z których zbudowane są organizmy wyższe. W cyklu życiowym organizmów wielokomórkowych ciągle powstają nowe komórki, które zastępują te, które podlegają procesowi starzenia i w pewnym momencie przestają spełniać swoją funkcję z powodu nagromadzenia uszkodzeń białek, lipidów czy DNA. Eliminowane są także komórki, których metabolizm jest niedostosowany do aktualnych potrzeb organizmu. Różne szkodliwe czynniki środowiska, takie jak toksyczne metale, mogą bezpośrednio uszkadzać istotne elementy komórki albo działać pośrednio, poprzez indukcję reaktywnych form tlenu. Takie formy tlenu, zwane wolnymi rodnikami, są dla komórki bardzo szkodliwe.

Ponadto organizm wielokomórkowy musi zachować homeostazę, czyli równowagę pomiędzy powstawaniem nowych komórek a „uśmiercaniem” starych. Z tego punktu widzenia śmierć komórek jest normalnym zjawiskiem fizjologicznym, zwłaszcza że w trakcie ontogenezy, czyli rozwoju osobnika, często konieczne są diametralne zmiany na poziomie metabolicznym. Takiego przestrojenia metabolizmu trudno dokonać z udziałem starych, wąsko wyspecjalizowanych komórek, które nie tylko nie potrafią już szybko się dzielić, ale także generują wiele błędów w trakcie podziałów. Przykładami mogą tu być przeobrażenie u owadów, tworzenie się gruczołów mlecznych u ssaków czy powstawanie ksylemu, czyli wiązek przewodzących u roślin.

## Jak wygląda śmierć komórki?

To może być skutek różnych procesów. Pierwszym jest nekroza, która wiąże się z degradacją błony komórkowej prowadzącą do rozpadu komórki. Jest skutkiem destrukcyjnego działania czynników zewnętrznych i na ogół obejmuje wiele komórek.

Znacznie bardziej skomplikowana jest apoptoza. Zjawisko to często określa się terminem „pro-

gramowalna śmierć komórki” (ang. Programmed Cell Death – PCD). Do jego indukcji może dojść na skutek działania zarówno czynników zewnętrznych, jak i wewnętrznych. W olbrzymim skrócie proces ten polega na stopniowym kurczeniu się komórki i rozpadzie cytoszkieletu przy zachowaniu organelli i błony komórkowej. W takiej komórce pojawiają się ciała apoptotyczne oraz zachodzi charakterystyczna fragmentacja DNA. Warto zaznaczyć, że typowa apoptoza obserwowana jest tylko u zwierząt, co w jakimś sensie wynika ze specyfiki komórki roślinnej, głównie obecności ściany komórkowej usztywniającej komórkę z zewnątrz. W trakcie apoptozy indukowana jest kaskada proteaz białkowych, tzw. kaspaz, które mają w centrum aktywnym cysteinę. Enzymy te tną białka w miejscu, gdzie znajduje się jeden specyficzny aminokwas – kwas asparaginowy. Dochodzi do inaktywacji białek kluczowych dla metabolizmu i w rezultacie do całkowitej blokady metabolizmu komórkowego. W roślinach, w przeciwieństwie do zwierząt, nie ma typowych kaspaz. Są natomiast białka kaspazopodobne, np. metakaspazy, które pełnią podobną funkcję – indukują programowalną śmierć komórki.

Ale w kontekście śmierci komórki trzeba koniecznie powiedzieć o jeszcze jednym procesie – autofagii.

## Czym on jest?

Termin autofagia pochodzi z języka greckiego i oznacza po prostu samozjadanie. Jest to proces kataboliczny, nazywany niekiedy – zwłaszcza w odniesieniu do komórek zwierzęcych – programowalną śmiercią komórki typu II. Sama jednak niechętnie używam tego terminu, ponieważ autofagia nie kojarzy mi się z uśmiercaniem komórek, ale raczej z utrzymaniem równowagi pomiędzy procesami syntezy i degradacji w komórce.

Autofagia indukowana jest przez różne stresy środowiskowe, w tym stresy abiotyczne, z których najbardziej charakterystyczny jest proces głodzenia oraz tzw. stresy biotyczne w rodzaju np. infekcji wirusowej. Podobnie jak apoptoza jest naturalnym procesem fizjologicznym, czyli zjawiskiem niezbę-

## Prof. dr hab. Agnieszka Sirko

pracuje w Zakładzie Biochemii Roślin IBiB PAB. Jej zespół prowadzi badania nad rolą selektywnej degradacji białek w odpowiedzi roślin na stresy abiotyczne, szczególnie związane z niedoborem siarki. Jednym z jego osiągnięć jest wykazanie, że tytoniowe białko Joka2/NBR1 jest receptorem selektywnej autofagii w tytoniu.

nym do prawidłowego rozwoju i różnicowania tkanek i organów. Pozwala na ponowne wykorzystanie cegiełek budulcowych pochodzących z niepotrzebnych fragmentów komórki. Degradacji mogą ulegać różnego rodzaju elementy komórki, np. agregaty białkowe, pojedyncze białka, fragmenty błon, a nawet całe organella komórkowe: peroksysony, rybosomy, mitochondria itp. lub ich części. Elementy te są w odpowiedni sposób oznaczane i specyficznie rozpoznawane, a proces autofagii przebiega w ściśle kontrolowany sposób i dzięki temu degradacji ulegają jedynie zbędne lub uszkodzone elementy, a nie cała zawartość komórki.

### **W kontekście apoptozy wspomniała pani o różnicach między zwierzętami i roślinami, czy z autofagią jest podobnie?**

Autofagia jest bardzo starym i konserwowanym ewolucyjnie procesem występującym w komórkach drożdży, zwierząt i roślin. Dla ścisłości warto zaznaczyć, że znane są trzy główne typy autofagii: mikroautofagia, autofagia zależna od białek opiekuńczych oraz makroautofagia. Ten ostatni typ jest najbardziej skomplikowany i przyciąga najwięcej uwagi badaczy, dlatego najczęściej w skrócie określany jest po prostu terminem „autofagia” – ja też dalej będę stosować ten skrót myślowy. Autofagia jest procesem wieloetapowym.

Po pierwsze, musi zostać zaindukowana. Najbardziej znanym negatywnym regulatorem autofagii jest kinaza białkowa TOR – zablokowanie aktywności tego enzymu prowadzi do rozpoczęcia procesu autofagii. Właściwość tę często wykorzystuje się w badaniach naukowych, gdzie wystarczy podać inhibitory kinazy TOR, żeby zaobserwować silną indukcję autofagii. Po indukcji uruchamiana jest skomplikowana seria procesów, które na każdym etapie angażują różne kompleksy białkowe. Warto zaznaczyć, że znanych jest co najmniej 40 białek biorących udział w autofagii, zwanych białkami ATG. Białka te kolejno kontrolują poszczególne etapy autofagii. Pierwszym etapem jest inicjacja polegająca na uformowaniu półksiężycowatego tworów błonowego określanego nazwą autofagofor. W kolejnych etapach podwójna błona stopniowo zamyka się wokół „ładunku”, czyli fragmentu komórki przeznaczonego do degradacji, który kierowany jest do tworzącego się pęcherzyka dzięki rozpoznaniu go przez tzw. receptory selektywnej autofagii. Całkowicie zamknięty dwubłonowy pęcherzyk określany jest nazwą autofagosom. Jest on następnie transportowany z wykorzystaniem cytoskieletu komórkowego do organelli litycznych (lizosomów w komórkach zwierzęcych, wakuoli w komórkach roślinnych lub drożdżowych). Później następuje degradacja „ładunku” oraz wiążącego go receptora i uwolnienie produktów tej degradacji do cytoplazmy. Produkty degradacji mogą być wykorzystywane

przez komórkę do nowej syntezy. Autofagia jest więc typowym recyklingiem komórkowym.

Poszczególne etapy procesu autofagii oraz struktura uczestniczących w nim białek są ściśle konserwowane ewolucyjnie. Oznacza to, że jest to proces niezbędny do życia i prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych, który przetrwał przez setki tysięcy lat w niezmienionej formie. Oczywiście między różnymi typami organizmów istnieją różnice związane np. z udziałem w tym procesie różnych białek regulacyjnych lub różną liczbą izoform poszczególnych białek. Są one najbardziej widoczne u roślin, które nie są mobilne i w związku z tym muszą sobie radzić ze stresem inaczej niż zwierzęta. U roślin liczba izoform różnych białek ATG jest znacznie większa niż u zwierząt: np. u drożdży występuje tylko jedno białko ATG8, u człowieka jest sześć takich białek, a u modelowej rośliny *Arabidopsis thaliana* jest ich aż dziewięć. Białko ATG8 jest tzw. efekтором autofagii. Jest ono zakotwiczone w błonie autofagosomalnej, gdzie oddziałują z nim tzw. receptory autofagii, czyli białka wiążące „ładunek” przeznaczony do degradacji.

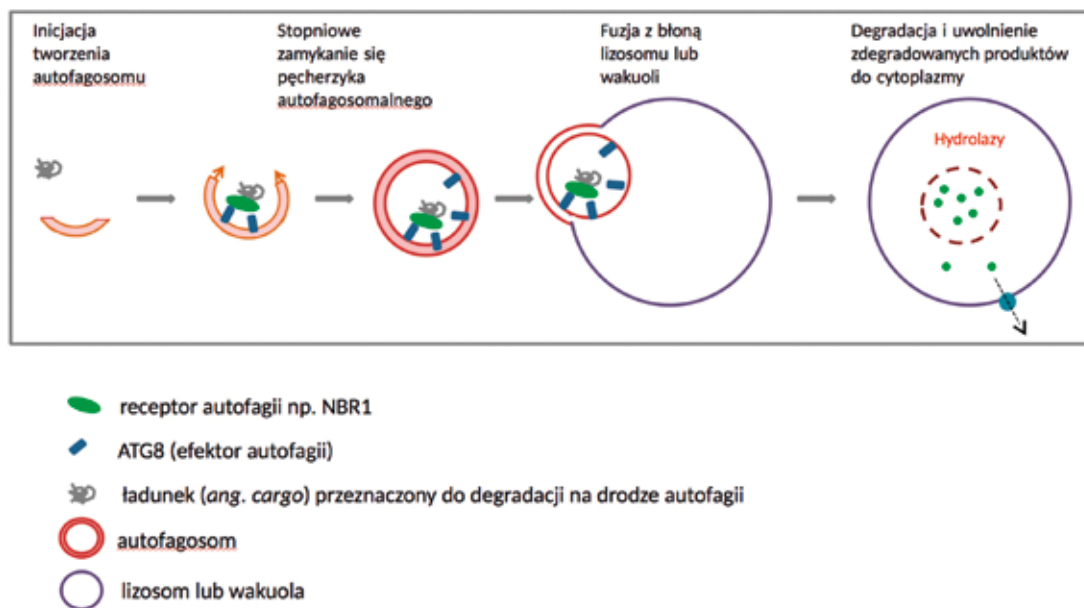
### **Od czego zależy, czy komórka wejdzie na drogę apoptozy, czy autofagii?**

Oba procesy w pewien sposób kontrolują homeostazę komórkową i obrót zasobami komórki. Są jednak zupełnie niezależne, chociaż wzajemnie na siebie wpływają. Zwykle autofagia indukowana jest w komórce jako pierwsza, dzięki czemu zwiększa się stopień tolerancji stresu działającego na tę komórkę. Dzięki autofagii nie tylko usuwane są szkodliwe lub zbędne elementy, ale także możliwe jest ich ponowne wykorzystanie w innych procesach komórkowych. Autofagia przebiega w sposób ściśle kontrolowany, dzięki czemu zwykle nie prowadzi do śmierci komórki. Z kolei apoptoza to jakby dalszy etap, kończący się śmiercią komórki. Myślę, że do pełnego zrozumienia mechanizmów i wzajemnych powiązań tych procesów potrzeba jeszcze wielu badań – także po to, żeby w przyszłości móc je w odpowiedzialny sposób wykorzystywać w praktyce.

### **Jakie zastosowania mają badania autofagii?**

W ostatnich latach autofagia, zwłaszcza w komórkach ludzkich i zwierzęcych, stała się obiektem intensywnych badań. Wynika to z wielu przyczyn. Przede wszystkim dwa lata temu Nagrodą Nobla uhonorowano wybitnego badacza autofagii Japończyka Yoshinori Ohsumi. Chociaż proces autofagii znany był od lat 50.-60. XX w., kiedy także powstała jego nazwa, dopiero po identyfikacji genów kodujących białka ATG u drożdży możliwe stało się eksperymentalne badanie tego procesu. Ich odkrycia dokonał właśnie Ohsumi na początku lat 90. XX w. Dzięki temu możliwe było przejście z fazy obserwacji procesu do fazy badań genetycznych. Jego odkrycie

PROF. DR HAB. AGNIESZKA SIRKO



pozwoili także na identyfikację genów i białek ATG w innych organizmach.

Drugim powodem intensywnej pracy nad autofagią jest odkrycie, że zaburzenia tego procesu są związane z wieloma chorobami u ludzi. Chodzi tu przede wszystkim o schorzenia neurodegeneracyjne, ale także nowotwory. Autofagia pełni kluczową funkcję w odpowiedzi immunologicznej, tworzeniu stanów zapalnych i podczas infekcji. Warto podkreślić, że niektóre wirusy nauczyły się „manipulować” procesem autofagii gospodarza dla własnej korzyści. Istotne znaczenie przebiegu autofagii zarówno w zdrowiu, jak i chorobie jest siłą napędową do badań i sprawia, że są hojnie finansowane. Lawinowo wzrasta liczba publikacji naukowych dotyczących autofagii oraz liczba badań przedklinicznych i klinicznych badających skutki manipulacji tym procesem w walce z chorobami.

### Jakie aspekty autofagii bada pani ze swoim zespołem?

Wiedza o przebiegu autofagii u człowieka i zwierząt rozwija się dynamicznie, natomiast ciągle niewiele wiadomo o tym procesie u roślin. Moje badania dotyczą autofagii w komórkach roślinnych, a dokładniej – koncentruję się na roli białek powodujących, że autofagia jest procesem selektywnym. Te białka nazywane są receptorami selektywnej autofagii. Ich cechą charakterystyczną jest to, że wiążą zarówno „ładunek” przeznaczony do degradacji w autofagosomie, jak i białka ATG8, zakotwiczone w błonie autofagosomalnej, które umożliwiają specyficzne dostarczenie „ładunku”.

W roślinach jednym z takich białek jest NBR1, które jest kuzynem dwóch białek zwierzęcych: p62

zwanym także sequestosomem 1 (SQSTM1) i białka NBR1. Białko roślinne jest hybrydą zawierającą wybrane elementy każdego z białek zwierzęcych. W 2011 r. opublikowaliśmy w prestiżowym czasopiśmie „Autophagy” wyniki badań, w których udało się zidentyfikować białko Joka2 w tytoniu. Białko to jest właśnie takim receptorem autofagii i homologiem ssaczych białek p62 i NBR1. W tym czasie panowało przekonanie, że selektywna autofagia nie zachodzi w roślinach. Dzięki m.in. pracom mojej grupy i zidentyfikowaniu białek pełniących funkcję selektywnych receptorów autofagii w tytoniu oraz w *Arabidopsis*, co pokazali badacze z Norwegii, pogład ten uległ całkowitej zmianie.

Obecnie, w wielkim skrócie, zajmujemy się głównie identyfikacją regulatorów wpływających na funkcjonowanie roślinnego białka NBR1. Ponadto badamy wpływ regulatorów na identyfikację przez NBR1 białek, które po związaniu przez ten receptor przeznaczone są do degradacji. Proces ten w żadnym wypadku nie jest przypadkowy, a udział białka NBR1 w precyzyjnej regulacji homeostazy komórkowej, w tym homeostazy białek, jest kluczowy. Rola białka NBR1 ujawnia się przede wszystkim w odpowiedzi roślin na różnego rodzaju stresy środowiskowe, kiedy konieczne jest szybkie przestawienie metabolizmu komórki na „nowe tory”. Na razie prowadzimy w tym zakresie tylko badania podstawowe, ale mam nadzieję, że nasze prace znajdą kiedyś zastosowanie praktyczne w takich dziedzinach jak rolnictwo czy ochrona środowiska.

Z PROF. DR HAB. AGNIESZKĄ SIRKO  
 ROZMAWIAŁA AGNIESZKA KLOCH  
 ZDJĘCIE JAKUB OSTAŁOWSKI