

Rozmowa z Dr Agnieszką Żmieńko z Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN

Dobrze to sobie poukładałam

AGNIESZKA ŻMIENKO

Europejskie Centrum Bioinformatyki i Genomiki, Poznań
Instytut Chemii Bioorganicznej, Poznań
Polska Akademia Nauk
akisiel@ibch.poznan.pl

Dr Agnieszka Żmieńko opowiada *Academii*, na czym polega jej praca naukowa i jak godzi ją z życiem prywatnym

Prowadzę badania z zakresu genomiki funkcjonalnej. To taki obszar badania genomu, który skupia się na jego bezpośrednich produktach, czyli RNA. Od kilku lat badam transkryptom, czyli całościowy zestaw RNA produkowanych przez komórkę w danym stanie, warunkach, okolicznościach. Kiedyś aktywność każdego genu trzeba było badać niezależnie, to była zmutna praca.

Aż pojawiły się mikromacierze, którymi Pani się zajmuje.

Ta technika pozwala na badanie wielu RNA jednocześnie. Na płytkę, która wygląda jak szkiełko mikroskopowe, nanosimy sondy oligonukleotydowe – każda z nich służy do wykrycia konkretnego RNA w próbce. Możemy badać tyle RNA, ile sond zmieścimy. Przy obecnych technikach – kilkaset tysięcy. Analiza jest oparta na hybrydyzacji. Materiał, który nas interesuje, musimy wyizolować, wyznakować fluorescencyjnie, dodać na szkiełko i hybrydować – jeśli dany RNA znajduje się w próbce wyjściowej, to zwiąże się z odpowiednią sondą. Na podstawie intensywności sygnału jesteśmy w stanie względnie oszacować jego zawartość w komórce.

Dzięki temu można badać całość RNA, nie tylko te kodujące białka, ale też te regulacyjne.

Tak. Jesteśmy jednak ograniczeni tym, co znajduje się na szkiełkach. Nie mogę zbadać RNA, które nie są reprezentowane przez sondy mikromacierzowe. Na szczęście jest już nowa metoda, która pozwala nam iść o krok dalej, czyli zbadać cały transkryptom bez żadnej wcześniejszej wiedzy na jego temat. To wysokoprzepustowe sekwencjonowanie – next generation sequencing. Techniki masowego badania transkryptów zmieniały się, ewoluowały. Miałam do czynienia ze wszystkimi tymi technikami, w miarę jak one powstawały. Mój doktorat polegał na analizie fragmentów licznych RNA za pomocą klasycznego sekwencjonowania – to były tak zwane sekwencje EST, na podstawie których próbowaliśmy się domyślić, jaki transkrypt reprezentują. Niedługo potem rozwinęliśmy w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu pracownię mikromacierzową. Pracowaliśmy i dalej pracujemy z mikromacierzami DNA,

ale zaczęliśmy też sekwencjonowanie nowej generacji. Wszystkie metody ustawialiśmy od zera.

Pionierska robota. A z kim współpracujecie?

Mamy bardzo szeroką współpracę w kraju. Od zagranicznych instytutów raczej się uczymy, wyjeżdżamy do nich na szkolenia, czerpiemy wiedzę. Gdy tworzyliśmy pierwszą w Polsce pracownię z kompletną aparaturą mikromacierzową, na świecie ta metoda miała już prawie 10 lat. Ale w wypadku sekwencjonowania nowej generacji to technika, która ma zaledwie kilka lat i my tę technikę w Polsce też już mamy. Pozwala ona na jednoczesne sekwencjonowanie milionów sekwencji. Przygotowujemy próbkę z transkryptomu i w zasadzie jej jednorazowe sekwencjonowanie prowadzi do uzyskania de novo wiedzy o sekwencjach RNA, na temat których nie mieliśmy wcześniej żadnych danych. W porównaniu z tradycyjnym sekwencjonowaniem tu sekwencje są bardzo krótkie: od 35 do 150 zasad w jednym odczycie. Krótkie sekwencje trzeba potem, używając bardzo wyrafinowanych narzędzi komputerowych, złożyć w transkrypty i odczytać rzeczywisty RNA. Pomagają w tym internetowe bazy danych, lecz nie jest to konieczne. Możemy je składać od początku, co daje niepowtarzalną możliwość odkrywania zupełnie nowych transkryptów, nowych izoform, produktów alternatywnego składania, alternatywnej transkrypcji. Coś, czego mikromacierze nie były w stanie nam dać. Problemem jest za to ilość informacji. Najnowocześniejszy wysokoprzepustowy sekwenator HiSeq 2000 potrafi wyprodukować 600 miliardów nukleotydów danych w ciągu jednej analizy, która trwa kilka dni. To są miliony odczytywanych równocześnie sekwencji. Nie da się ich zanalizować bez narzędzi bioinformatycznych.

Naprodukowaliśmy informacji i teraz musimy znaleźć narzędzia, żeby sobie z nimi radzić.

W tym roku w Poznaniu otwarto Europejskie Centrum Bioinformatyki i Genomiki. To wspólne przedsięwzięcie Politechniki Poznańskiej i IChB PAN, który reprezentuje. Zadaniem Centrum jest połączenie biologów i informatyków. Mamy doskonale wyposażone laboratoria, pracujemy razem i obok siebie. My, biolodzy, wiemy, co chcemy wyciągnąć z tego natłoku informacji, ale nie wiemy jak. Informatycy nie wiedzą, co jest ważne z biologicznego punktu widzenia, ale potrafią poruszać się w gąszczu danych, który nas przytłacza.

A potem pracujecie od ogółu do szczegółu?

Jeśli to nasz projekt (bo robimy też analizy dla wielu innych ośrodków w kraju), to tak. Poza tym po latach pracy z transkryptomami



Archiwum prywatne Agnieszki Zmienieko

Autorka w swojej pracowni w Europejskim Centrum Bioinformatyki i Genomiki

postanowiłam się przyjrzeć strukturze genomów i jak ta struktura wpływa na to, co się dzieje z organizmem. Kiedyś badałam różne aspekty odpowiedzi roślin na stres na poziomie RNA, a w tej chwili chcę zobaczyć, jak stres wpływa na zmianę struktury genomu. Nie na to, co genom w danym momencie produkuje, ale czy sama struktura genomu ulega zmianie i czy ta zmiana jest trwała. Wykorzystam sekwencjonowanie nowej generacji i kilka innych technik, w modelowej roślinie *Arabidopsis thaliana*. Będę szukać fizycznych zmian w genomach, np. ubytków sekwencji, które generują się pod wpływem stresu. Być może stanowią rodzaj adaptacji rośliny. Interesuje mnie, czy te zmiany utrwalają się w kolejnych pokoleniach, a więc czy poddanie rośliny określonemu stresowi może powodować zmiany kierunkowe.

To może Łysenko miał trochę racji?

[Śmiech] Takie zmiany dotyczące liczby kopii fragmentów genomu są już od kilku lat badane w genomie ludzkim. Wiele z nich odpowiada za różne schorzenia. U człowieka widać bardzo silny efekt fenotypowy, trudno jest natomiast badać, jak to się dziedziczy i jakie są wpływy środowiska. W przypadku *Arabidopsis thaliana*, mamy roślinę o małym genomie, która szybko się rozmnaża. Możemy wyprodukować cykl pokoleń osobników pochodzących z konkretnej rośliny i badać, jak dana cecha się zmienia.

A jak sobie Pani radzi z taką intensywną pracą naukową, będąc mamą trójki dzieci?

I życie rodzinne, i życie naukowe mogą pochłonąć człowieka bez reszty. Poradziłam sobie z tym tak, że ubrałam życie rodzinne i naukowe w sztywne ramy godzinowe. Podzieliłam dzień. Najpierw jestem naukowcem, potem wsiadam do samochodu, odbieram córki i zamieniam się w 100-procentową mamę, a o 22 odzyskuję siebie, lecz żeby być uczciwą – albo siadam do komputera i odrabiam zaległości w pracy, albo krzątam się i odrabiam zaległości w domu. Przyjemności są odłożone na dalszy plan. To niesamowicie intensywny i niezwykle trudny moment w moim życiu, bo równolegle buduję podwaliny zarówno rodziny, jak i kariery naukowej.

A miała Pani poczucie, że koledzy naukowcy szli do przodu, a Pani zostawała z tyłu?

Ci, którzy nie mieli urlopów macierzyńskich i małych dzieci, niewątpliwie! Ale nie mam takiego poczucia, że coś przegrałam, raczej że sobie wszystko bardzo dobrze poukładałam. To długoletnia inwestycja. Chciałam mieć wszystko. Wiedziłam, że jak tylko się da, to nie zrezygnuję z niczego. Staram się utrzymywać równowagę. Nauka to moja pasja, rodzina daje mi szczęście i poczucie sensu we wszystkim, co robię. To nie są zastępniki, one się uzupełniają. ■