

Badania nad rolą białka c-Fos w procesach związanych z pamięcią

# Molekularne korzenie pamięci

LESZEK KACZMAREK

Instytut Biologii Doświadczalnej, Warszawa

Polska Akademia Nauk

L.Kaczmarek@nencki.gov.pl

**Na rozwój neurobiologii uczenia się i pamięci wielki wpływ ma olbrzymi postęp metodyczny wniesiony do badań mózgu przez biologię molekularną. Przełomowe okazały się badania nad złożonymi procesami regulacji ekspresji niektórych genów**

W latach 60. wykazano, że jeśli podać do mózgu zwierząt substancje uniemożliwiające powstawanie nowych białek, to zwierzęta te nie są w stanie zapamiętać niczego na dłużej niż kilka godzin. Wyciągnięto stąd wniosek,

że w trakcie procesu uczenia powstają jakieś białka, które decydują o pamięci długotrwałej. Niedługo potem pokazano, że podobny, hamujący wpływ na pamięć mają również substancje blokujące syntezę RNA (hamujące ekspresję, czyli aktywność genów). Zupełnie niezależnie na przełomie lat 70. i 80. odkryto, że onkogeny, czyli geny wywołujące nowotwory, mają swoje prawidłowe odpowiedniki, tzw. protoonkogeny, które biorą udział w kontroli cyklu podziałowego w zdrowych komórkach. Takie właśnie badania prowadziłem w połowie lat 80., będąc na stażu doktorskim w USA. Wykazały one, że białko c-Myc, kodowane przez tzw. protoonkogen jądrowy, jest zdolne do uruchomienia cyklu komórkowego. Ponieważ jądro to obszar komórki, w którym są geny, a tam właśnie znajdowało się białko c-Myc, natychmiast pojawiła się hipoteza, że to i inne podobne białka (jak c-Fos) mają wpływ na regulację (np. pobudzenie) genów. To by z kolei oznaczało, że te białka są

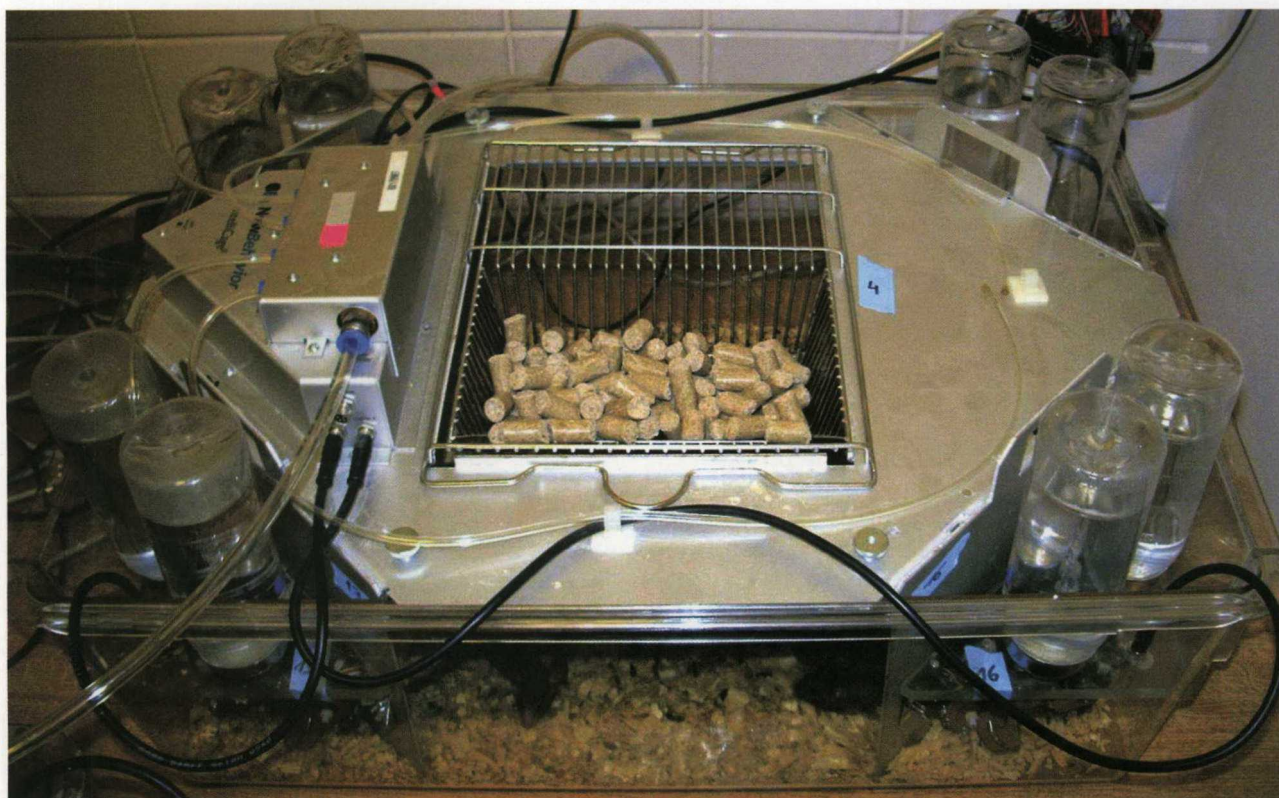


PHOTOGRAPHY/REXUS

Badania nad powstawaniem nowych białek w modelowych sytuacjach uczenia się przez szczury okazały się niezwykle znaczące dla neurobiologii molekularnej



## Badania nad rolą białka c-Fos w procesach związanych z pamięcią



Leszek Kacmarek

**Myszy laboratoryjne w specjalnie zaprojektowanej klatce. W mózgu myszy, w części zwanej jądrem środkowym ciała migdałowatego, w wyniku uczenia rozpoznawania rogu klatki ze słodką wodą pojawia się białko c-Fos**

bardzo istotne dla działania całej komórki. Warto podkreślić, że w zasadzie wszystkie nasze komórki wyposażone są w taki sam zestaw genów, a ogromna zmienność w budowie i działaniu różnych komórek wynika głównie z różnic w ekspresji genów. To przekłada się bezpośrednio na charakterystyczny dla każdej komórki zestaw białek. Ekspresja genów jest najpierw kontrolowana na poziomie transkrypcji (pierwszy etap polegający na „przepisaniu” informacji genetycznej) przez tzw. czynniki transkrypcyjne.

### Ważne protoonkogeny

W czasie gdy wracałem z USA do Polski, opublikowałem pracę przeglądową poświęconą protoonkogenom w cyklu komórkowym. Sugerowałem w niej, że protoonkogeny mogą odgrywać równie wielką rolę i w innych procesach biologicznych, w których postulowany był udział ekspresji genów. W tym samym 1986 r. podobne poglądy wyrazili także inni badacze. To skłoniło nie tylko nasz zespół do poszukiwania genów, które byłyby aktywowane w mózgu pod wpływem bodźców zewnętrznych dla komórek nerwowych (neuronów). Niemal natychmiast pojawiło się na ten temat kilka publikacji (w tym i nasza). Pokazaliśmy, że podanie do mózgu kwasu glutaminowego, ważnego neuroprzekaźnika, który pobudza neurony do wyładowań elektrycznych, w bardzo szybkim czasie prowadzi do aktywacji genu kodującego białko c-Fos.

Zachęteni tą obserwacją zadaliśmy pytanie, czy tzw. trening behawioralny, czyli po prostu epizod uczenia się przez szczury, ma takie same konsekwencje. W istocie tak było. Co ciekawe, pierwsze doświadczenia na ten temat prowadziliśmy w Polsce i w NRD, bo prof. H.J. Matthies z Magdeburga był wówczas prawdopodobnie najwybitniejszym specjalistą od powstawania nowych białek w modelowych sytuacjach uczenia się u szczurów. Właśnie prof. Matthies namówił w 1987 r. do współpracy. Podobne doświadczenia prowadzili w Moskwie z takimi samymi wynikami (aktywacja genu kodującego c-Fos) dr K.V. Anokhin i jego współpracownicy. I choć nasze wyniki ze względu na, jak dzisiaj domniemywam, swoją wielką oryginalność oraz „prowincjonalność” pochodzenia nie znalazły się w czołowych czasopismach, jednak zostały wkrótce powtórzone i potwierdzone przez innych. Stały się zaczynem neurobiologii molekularnej uczenia się i pamięci, dziedziny nauki, która do dzisiaj rozwija się bardzo dynamicznie. Na jej rozwój miał niewątpliwie wpływ olbrzymi postęp metodyczny, który do badań mózgu wniosła biologia molekularna. Przełomowe okazały się badania z zastosowaniem myszy modyfikowanych genetycznie. Dzięki nim można było śledzić udział pojedynczych genów w procesie zapamiętywania. Nie mniej ważne były prowadzone równoległe badania na takich modelowych gatunkach zwierząt jak ślimak *Aplysia californica* czy też muszka owocowa *Drosophila me-*



*lanogaster*. Okazało się, że wśród różnych gatunków zwierząt kręgowych i bezkręgowych panuje zasadnicza zgodność w najbardziej podstawowych molekularnych mechanizmach uczenia się. Inne badania pokazały z kolei, że badane przez nas tak intensywnie białko c-Fos rzeczywiście reguluje aktywność różnych genów, wchodząc w skład czynnika transkrypcyjnego AP-1.

### Genowa teoria pamięci

W końcu lat 80. zaproponowałem, że złożoność procesów regulacji ekspresji genów (każdy gen jest kontrolowany przez wiele czynników transkrypcyjnych i nie tylko przez nie) może być podstawą integracji informacji będącej istotą uczenia się i pamięci. Pamięć bowiem to przede wszystkim zdolność do łączenia ze sobą różnych składników odbieranego przez mózg przekazu (czuciowego, emocjonalnego, motywacyjnego, uwagi), a następnie magazynowanie i odzyskiwanie tych informacji. Droga do weryfikacji „genowej” teorii pamięci stało się poszukiwanie genów aktywowanych w trakcie uczenia się, a następnie poznanie ich funkcji oraz regulacji.

Przez ostatnie 20 lat badania ekspresji genu i białka c-Fos w mózgu zwierząt doświadczalnych były dominującym nurtem naszych prac. Na podstawie wyników uzyskanych zarówno w moim zespole, jak i wielu innych na świecie można wyciągnąć wniosek, że białko c-Fos w komórce nerwowej pojawia się jedynie wówczas, gdy komórka ta podlega przemianom, które mogą zakończyć się tzw. zmianą plastyczną. To oznacza, że współdziałanie komórki z innymi neuronami jest zmienione, co w konsekwencji zmienia całą sieć neuronalną. Możemy więc sobie wyobrazić, że droga, po której biegnie sygnał w mózgu, zmienia się. Taką właśnie zmienioną drogę można uznać za ślad pamięciowy. c-Fos jest zatem znacznikiem komórek nerwowych wprowadzanych na szlak zmian plastycznych. Co ważne, w aktywnych, ale niezmiennych neuronach białko c-Fos nie występuje, bo jego gen nie ulega ekspresji.

W ostatnich kilku latach zastosowaliśmy ten tok myślenia, wykazując m.in. zaangażowanie pewnych regionów kory mózgowej (tzw. przedniej kory zakrętu obręczy) specyficznie w pamięci bardzo długotrwałej, trwającej co najmniej kilka tygodni (prace prowadzone wspólnie z zespołem A.J. Silvy w Los Angeles) oraz szczególny udział tzw. części środkowej ciała migdałowatego w uczeniu się sytuacji przyjemnych (wspólnie z zespołem T. Werki z Instytutu im. Nenckiego). Wyniki tych prac pozwoliły nam m.in. na zaproponowanie w ubiegłym roku nowej teorii funkcjonowania ciała migdałowatego.

### Plastyczność synaptyczna

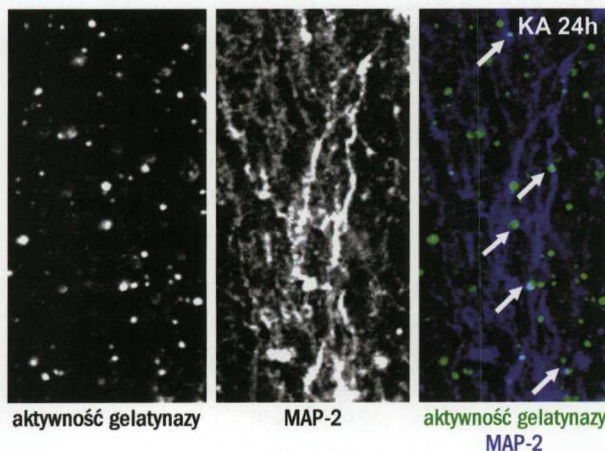
Ponieważ białko c-Fos jest regulatorem genów, to kolejnym wielkim wyzwaniem stało się poznanie genów kontrolowanych przez c-Fos. Odpowiedź na to wyzwanie stanowi obecnie najważniejszy obszar naszych badań. Pokazaliśmy

np., że c-Fos aktywuje gen kodujący TIMP-1 (ang. tissue inhibitor of matrix metalloproteinases), białko kontrolujące enzym zewnątrzkomórkowy: MMP-9 (matrix metalloproteinase-9). W ostatnich latach wykazaliśmy, że zarówno białko TIMP-1, jak i MMP-9 są istotne dla pamięci długotrwałej. To w pewnym sensie weryfikuje hipotezę, którą postawiłem ponad 20 lat temu. Co więcej, stwierdziliśmy, że białko MMP-9 działa na synapsach, czyli miejscach kontaktu neuron-neuron i jest wydzielane tamże po pobudzeniu komórek nerwowych kwasem glutaminowym. Te wyniki doskonale pasują do aktualnie dominujących teorii uczenia się, które zakładają, że kluczowa dla uczenia się i pamięci jest modyfikacja efektywności przenoszenia informacji pomiędzy neuronami poprzez synapsy (plastyczność synaptyczna).

Opisane powyżej wyniki badań wydawały się mieć charakter wyłącznie podstawowy, pomagając zrozumieć istotę fascynującej cechy naszego umysłu – pamięci. Okazuje się jednak, że mają one także swoją drugą, medyczną i potencjalnie aplikacyjną stronę. Nasze ostatnie prace wskazują, że badając ekspresję c-Fos oraz MMP-9/TIMP-1, dotykamy biologicznego podłoża poważnych patologii: padaczki, chorób psychicznych, uzależnienia od alkoholu etylowego czy kokainy. We wszystkich tych schorzeniach mamy bowiem do czynienia z zaburzeniami plastyczności neuronalnej, w tym i synaptycznej. Badania tych zjawisk zaczynają powoli dominować w pracach naszego zespołu. ■

#### Chcesz wiedzieć więcej?

- Kaczmarek L. (2002). *c-Fos in learning: Beyond the mapping of neuronal activity*. [W:] Kaczmarek L., Robertson H.A. (Red.). *Handbook of Chemical Neuroanatomy*. Vol. 19. Elsevier, s. 189–220.
- Frankland P.W., Bontempi B., Talton L.E., Kaczmarek L., Silva A.J. (2004). The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science*, 304, 881–883.
- Knapka E., Radwanska K., Werka T., Kaczmarek L. (2007). Functional internal complexity of amygdala: focus on gene activity mapping following behavioral training and drugs of abuse. *Physiol. Rev.*, 87, 1113–1173.



Aktywność enzymatyczna białka MMP-9 (zielony) na synapsach w mózgu szczura. Wypustki komórek nerwowych (niebieski) wyznakowane MAP-2

Gregorz Wilczyński