

# BIOLOGIA KOMÓRKI W MINIONYM PÓŁWIECZU



Warszawa, 1 grudnia 2012



Celem konferencji jest przedstawienie problemów współczesnej biologii komórki w kontekście wielkich odkryć ostatnich 50 lat - w tym uhonorowanych nagrodą Nobla i dyskusja na takie tematy:

1. Najważniejsze dokonania w latach 1961-2011
2. Stan badań w Polsce
3. Zadania Komitetu Cytobiologii

Naszym przesłaniem jest przełamywanie barier między biologią i medycyną, co jest atutem naszego Komitetu, który od dziesięcioleci jest jedynym forum w Polsce, gdzie lekarze medycyny harmonijnie współpracują z biologami różnych specjalności.

Wśród tematów omawianych na konferencji będą liczne przykłady odkryć biologicznych, które znalazły i nadal znajdują zastosowania medyczne szczególnie w schorzeniach o podłożu genetycznym, immunologicznym i metabolicznym, w tym najbardziej nowatorskie terapie celowane umożliwiające dobranie sposobu leczenia po zsekwencjonowaniu genomu pacjenta. W gronie zaproszonych naukowców znaleźli się Polacy pracujący z sukcesami zagranicą: w USA i Anglii – wszyscy wykształceni w naszym kraju.

W trakcie konferencji przełamujemy też inne bariery: typów komórek/tkanek oraz dyscyplin/dziedzin w obszarze nauk biologicznych, sięgając do osiągnięć biochemii, genetyki i teorii ewolucji organelli.

*Elżbieta Wyroba*

Przewodnicząca Komitetu

## PROGRAM

9.45 – 10.00

**Otwarcie konferencji**

**Elżbieta Wyroba**

Przewodnicząca Komitetu Cytobiologii PAN

10.00 – 10.30

**Jan Barciszewski**

Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, Poznań

**Od sekwencji nukleotydowej kwasów nukleinowych do medycyny molekularnej**

10.30 – 11.15

**Wojciech Wiszniewski**

Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston; Texas Children's Hospital, Houston, USA

**Analiza genomu w diagnostyce i leczeniu chorób człowieka**

11.15 – 11.45

**Beata Wojciak-Stothard**

Department of Experimental Medicine and Toxicology, Imperial College London, Wielka Brytania

**Rho GTPases in the regulation of endothelial function**

11.45 – 12.15 przerwa

12.15 - 12.45

**Magdalena Żernicka-Goetz**

University of Cambridge, Wielka Brytania

**How do our cells become different for the very first time and body plan develop?**

**12.45 - 13.15**

**Marek Jakóbiak**

Zakład Immunologii, Centrum Biostruktury, Warszawski Uniwersytet Medyczny

**Czy udaje się nam "ulepszanie" układu odpornościowego?**

**13.15 - 13.45**

**Jacek M. Witkowski**

Katedra i Zakład Fizjopatologii, Akademia Medyczna, Gdańsk

**Starzenie komórkowe a starzenie się organizmu.**

**13.45 – 14.20 LUNCH (parter)**

**14.30 - 15.00**

**Katarzyna Nałęcz**

Instytut Biologii Doświadczalnej im M. Nenckiego PAN, Warszawa

**Jak białko trafia pod właściwy adres w komórce?**

**15.00 - 15.30**

**Andrzej Bodył**

Katedra Biologii Ewolucyjnej i Ekologii, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski

**Od endosymbionta do organellum: współczesne poglądy na ewolucję mitochondriów oraz plastydów**

**15.30 - 16.00**

**Jan M. Kwiatowski**

Uniwersytet Warszawski oraz University of California (USA)

**Meta-filogenomika Euglenales**

**16.00 - 16.30**

**Dyskusja ogólna przy kawie i podsumowanie konferencji**

## Informacje o prelegentach

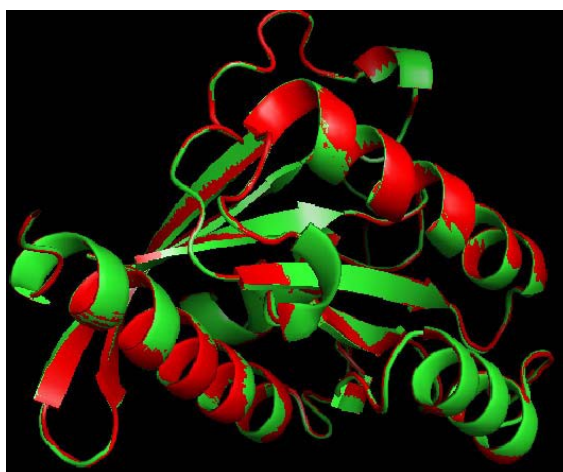
<b>Jan Barciszewski</b>	Prof. dr hab., Kierownik, Samodzielny Zespół Epigenetyki, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, Poznań
<b>Andrzej Bodył</b>	Dr, Zakład Biologii, Ewolucji i Ochrony Bezkręgowców, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski
<b>Marek Jakóbisiak</b>	Prof. dr hab. med., Zakład Immunologii, Centrum Biostruktury Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
<b>Jan Kwiatowski</b>	Prof. dr hab., Zakład Systematyki i Geografii Roślin, Instytut Botaniki, Uniwersytet Warszawski; Visiting Researcher at the Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of California, Irvine, USA
<b>Katarzyna Nałęcz</b>	Prof. dr hab., Zakład Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego, PAN, Warszawa
<b>Wojciech Wiszniewski</b>	Assistant Professor, Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine; Attending Physician, Texas Children's Hospital, Houston, USA
<b>Jacek M. Witkowski</b>	Prof. dr hab. med., Kierownik, Katedra i Zakład Fizjopatologii, Gdański Uniwersytet Medyczny
<b>Beata Wojciak-Stothard</b>	Dr, MSc, PhD, Lecturer in Vascular Biology, Department of Experimental Medicine and Toxicology, Imperial College London, UK
<b>Magdalena Żernicka-Goetz</b>	Prof., The Gurdon Institute, Department of Physiology, Development and Neuroscience, University of Cambridge, UK

### Organizator Konferencji:

**Prof. dr hab. Elżbieta Wyroba – Przewodnicząca Komitetu Cytobiologii PAN**

**Konsultacja merytoryczna: Prof. dr hab. Leszek Kuźnicki - członek rzeczywisty PAN**

# STRESZCZENIA WYKŁADÓW



# OD SEKWENCJI NUKLEOTYDOWEJ KWASÓW NUKLEINOWYCH DO MEDYCINY MOLEKULARNEJ

**Marta M. Gabryelska, Jan Barciszewski**

Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, Poznań

e-mail: Jan.Barciszewski@ibch.poznan.pl

Jednym z kluczowych zagadnień biologii XX wieku, a także obecnie, jest natura oraz mechanizmy funkcjonowania genów. Wielokierunkowe badania genetyczne i biochemiczne doprowadziły do rozpoznania kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA), jako materiału genetycznego w 1944 roku i ostatecznie zaproponowania w 1953 roku modelu jego struktury w postaci podwójnej prawoskrętnej helisy [1]. Odkrycie to stało się przełomem w poznaniu i zrozumieniu mechanizmów dziedziczenia oraz kodu genetycznego. U podstaw tego osiągnięcia leżą wczesne doświadczenia szwajcarskiego lekarza, Friedricha Miescher'a, który w 1869 roku po raz pierwszy wyizolował DNA (nazwany „nukleiną”). Od tamtego czasu zgromadzono ogromną ilość informacji o funkcjach, strukturze, zastosowaniu „nukleiny”, co stało się podstawą współczesnej biologii molekularnej, biologii chemicznej i biotechnologii [2].

Możliwość klonowania genów i postępująca rewolucja w naukach biologicznych była w większości możliwa dzięki zastosowaniu enzymów modyfikujących DNA jak polimerazy, ligazy, nukleazy, których odkrycie było konsekwencją prac Arthura Kornberga nad replikacją DNA [3]. DNA polimeraza I oraz wiele jej analogów stało się kluczowymi reagentami technologii reakcji łańcuchowej polimerazy (ang. polymerase chain reaction, PCR) oraz sekwencjonowania genomu ludzkiego i innych [4].

Kolejny przełom w badaniach kwasów nukleinowych przyszedł wraz z automatyzacją sekwencjonowania z wykorzystaniem znaczników fluorescencyjnych zamiast radioaktywnych izotopów [5]. W latach 90-tych poznano sekwencję genomów wielu wirusów, organelli, mikroorganizmów i małych organizmów wielokomórkowych. Spowodowało to rozwój kolejnych kierunków badań, jak kontrola ekspresji genów oraz poznawanie kolejnych „omów” - transkryptomu, proteomu, interaktomu, metabolomu oraz genomiki nowotworów. Powstała koncepcja wykorzystania komórki, jako zintegrowanego systemu procesorów informacyjnych.

25 czerwca 2000 roku w Białym Domu prezydent Bill Clinton i premier Tony Blair wspólnie ogłosili rozszyfrowanie wstępnej wersji sekwencji nukleotydowej genomu człowieka w ramach projektu finansowanego przez rząd USA oraz Celera. Wyniki tych prac zostały opublikowane w kolejnym roku w Science i Nature [7, 8]. Pojawienie się nowych technologii umożliwiło redukcję kosztów i przyspieszenie procesu uzyskiwania danych. W 2008 roku Nature ogłosiło grupę kilku, rozwiniętych niezależnie od siebie technik sekwencjonowania jako „Metodę Roku 2007”, głównie ze względu na szeroki zakres ich zastosowań oraz fakt, że wykroczyły one już poza swoje oryginalne zastosowanie. Istnieje wiele implementacji cyklicznego sekwencjonowania, które zostały w ostatnich latach skomercjalizowane, takie jak metoda 454, technologia Solexa, platforma SOLiD i inne [9].

Konsorcjum badawcze ENCODE (ang. Encyclopedia of DNA elements) opracowało listę elementów funkcjonalnych sekwencji DNA człowieka, w tym genów kodujących (~2%) i niekodujących białek (~80%), elementów regulatorowych oraz sekwencji determinujących strukturę i dynamikę chromosomów. Powstała nowa definicja genu, jako „związku sekwencji genomowych kodujących spójny zestaw potencjalnie nakładających się funkcjonalnych

produktów” [6]. Okazało się, że wbrew wcześniejszym obliczeniom liczba genów dla białek szacowana początkowo na ok. 100 000 jest ponad trzykrotnie mniejsza i wynosi ok. 20 000, a same regiony kodujące białka stanowią zaledwie 1.5-2% całkowitego DNA jądrowego. Pozostała część ludzkiego genomu (ok. 98%) to sekwencje, których funkcje pozostają w znacznym stopniu niewyjaśnione. Kluczem do zrozumienia ewolucji oraz mechanizmów rozwojowych wydają się być obecnie słabo poznane obszary genomów, które nie ulegają ekspresji w formie białek, lecz są odpowiedzialne za kontrolę i zarządzanie informacją genetyczną.

W ostatnich 10 latach ponownie zainteresowano się epigenetyką, dziedziną, która narodziła się w 1939 roku. Jest to dziedzina zajmująca się zmianą dziedzicznych funkcji genomu, które nie zależą od zmian w sekwencji DNA. Rozwijane technologie takie jak określanie profilu metylacji w oparciu o wykorzystanie żeli, macierzy, sekwencjonowania, a także bisulfidowy PCR (łańcuchowa reakcja polimerazy) dają nadzieje na określenie swoistego metylomu. Podjęto szersze badania epigenomu człowieka (ang. human epigenome project, HEP), których celem jest identyfikacja chemicznych modyfikacji oraz zależności pomiędzy elementami chromatyny, które określają funkcję kodu DNA [10]. Pozwoli to na pełniejsze zrozumienie rozwoju fizjologicznego, starzenia, niekontrolowanej ekspresji genów w nowotworach oraz innych chorobach, a także wpływu środowiska na zdrowie człowieka.

Wyraźny potencjał regulacyjny RNA spowodował powstanie gałęzi biologii molekularnej – RNomiki, której celem jest poznanie struktury i funkcji niekodujących RNA. Zastosowanie technik eksperymentalnych dla wyodrębnienia małych RNA i sekwencjonowanie na wielką skalę cDNA (ang. coding DNA) w połączeniu z metodami bioinformatycznymi doprowadziło do zidentyfikowania wielu nowych grup niekodujących RNA ze względu na ich biogenezę i funkcję. Odkrycie regulatorowych cząsteczek RNA stanowi niewątpliwie jedno z najbardziej przełomowych wydarzeń w historii biologii molekularnej i medycyny. Nie uszło to uwadze już w 1953 roku, że tworzenie par zasad niesie w sobie bezpośrednie wskazówki, co do możliwego mechanizmu kopiowania materiału genetycznego, a co za tym idzie praktycznego wykorzystania [1].

Konwencjonalne metody terapeutyczne mają na celu ograniczenie syntezy lub aktywności biologicznej enzymu, białka strukturalnego lub receptora. Dowolny lek reguluje transkrypcję docelowego genu, etapu potranskrypcyjnego lub potranslacyjnego w komórce. Przełomem w poszukiwaniu nowych preparatów medycznych okazały się wykonane ponad 30 lat temu badania antysensownych kwasów nukleinowych [11]. Nieco później pojawiły się ich trójniciowe kompleksy, rybozomy oraz aptamery i 10 lat temu interferencja RNA. Zalicza się je do technologii anty-mRNA. Pierwsze badania RNAi wzbudziły wielkie zainteresowanie, jakiego nie obserwowano wcześniej, chociaż jej sukces zależy głównie od możliwości wprowadzenia aktywnego RNA do komórek. Każdy lek oparty o RNAi musi być stabilny, selektywny, nietoksyczny i łatwo pokonywać barierę w postaci błon komórkowych.

Cząsteczki mikroRNA wykorzystują zjawisko interferencji RNA i uczestniczą w różnych procesach komórkowych, takich jak: rozwój i różnicowanie komórek, fizjologia komórkowa i ustrojowa, stabilność i komórkowa lokalizacja mRNA [12]. Założenie, że proces nowotworzenia związany jest ze zmianami w profilu ekspresji mikroRNA znajduje potwierdzenie poprzez ich udział w rozwoju i różnicowaniu komórek oraz utrzymywaniu swoistego dla tkanek profilu ekspresji genów. Transformacja nowotworowa charakteryzuje się głębokimi zmianami w realizacji programu genetycznego i epigenetycznego, małym



zróznicowaniem komórek, zwiększoną zdolnością do wzrostu i proliferacji oraz zaburzeniami systemów kontrolujących programowaną śmierć komórki (apoptozę). Profilowanie ekspresji mikroRNA może być wykorzystane do oceny złośliwości nowotworu, dając jednocześnie informację o rokowaniach pacjenta oraz prawdopodobnej odpowiedzi na istniejące leki.

Wielkim przełomem było odkrycie, że RNA są nie tylko nośnikami informacji, ale także enzymami. Katalityczne kwasy nukleinowe (tzw. rybozomy, DNazy) charakteryzują się obecnością wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań trzeciorzędowych i katalizują wiele reakcji chemicznych [13]. Rybozym o strukturze typu głowa młotka (ang. hammerhead ribozyme) ma niewielkie rozmiary i wykazuje dużą aktywność w obniżaniu poziomu docelowego transkryptu. Od 25 lat stanowi dobry model do badań relacji struktury i funkcji RNA. Pomimo faktu, że siRNA mogą być efektywnymi czynnikami hamującymi ekspresję genów w stosunku do większości RNA cytoplazmatycznych, nie są aktywne względem niekodujących RNA, intronów, i innych RNA zlokalizowanych w jądrze komórkowym. Ponadto, niektóre wirusy wykształciły mechanizmy obronne wobec RNAi, a technologia ta nie jest wolna od niespecyficznego efektów ubocznych (ang. off-target effects). W takich przypadkach, opracowanie efektywnych leków w oparciu o siRNA jest niemożliwe. W tym kontekście, bardzo atrakcyjną alternatywę stanowią nadal cząsteczki małych katalitycznych RNA a w szczególności rybozomy typu hammerhead.

DNA został odkryty 140 lat temu, a biologia molekularna w XIX wieku dopiero formowała swoje podstawy. XX wiek przyniósł ogromny postęp wiedzy oraz rozwój nowych technik, które pozwoliły na wyodrębnienie nowych obszarów naukowych, takich jak biotechnologia, medycyna molekularna, kryminologia i inne. Obecnie wydaje się, że zainteresowanie kwasami nukleinowymi oraz nowe perspektywy badań doprowadzą do nowych wielkich odkryć XIX wieku w biologii i medycynie molekularnej.

#### Literatura:

1. Watson J.D., Crick F.H.C. (1953) A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* 171, 737-738.
2. Dahm R. (2005) Friedrich Miescher and the discovery of DNA. *Dev. Biol.* 278, 274-288.
3. Lehman R.I. (2008) Historical perspective: Arthur Kornberg, a giant of 20th century biochemistry. *Trends Biochem. Sci.* 33, 291-296.
4. Klug A. (2004) The discovery of the DNA double helix. *J. Mol. Biol.* 335, 3-26.
5. Smith L.M., Sanders J.Z., Kaiser R.J., Hughes P., Dodd C., Connell C.R., Heiner C., Kent S.B., Hood L.E. (1986) Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature* 321, 674-679.
6. ENCODE Project Consortium, Bernstein B.E., Birney E., Dunham I., Green E.D., Gunter C., Snyder M. (2012) An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 489: 57-74.
7. Lander E.S., Linton L.M., Birren B. et al. (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409, 860-921.
8. Venter J.C., Adams M.D., Myers E.W., et al. (2001) The sequence of the human genome. *Science* 291, 1304-1351.
9. Shendure J., Ji H. (2008) Next-generation DNA sequencing. *Nat. Biotech.* 26, 1135-1145.
10. Holliday R. (2006) Epigenetics. A historical overview. *Epigenetics* 1, 76-80.
11. Kurreck J. (2003) Antisense technologies improvement through novel chemical modifications. *J. Biochem.* 270, 1628-1644.
12. Agrawal N., Dasaradhi P.V.N., Mohammed A., Malhotra P., Bhatnagar R.K., Mukherjee S.K. (2003) RNA interference: biology, mechanism, and applications. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67, 657-685.
13. Scott W.G. (2010) What can the new hammerhead ribozyme structures teach us about design? *RNA technologies and their applications*. Eds: V.A. Erdmann, J. Barciszewski, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 305-323.

# ANALIZA GENOMU W DIAGNOSTYCE I LECZENIU CHOROÓB CZŁOWIEKA

**Wojciech Wiszniewski**

Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, USA  
e-mail: wkw@bcm.edu

Rozwój technik analizy kwasów nukleinowych jaki nastąpił w okresie ostatnich kilku lat umożliwił całościowe badanie genomu i zapoczątkował erę medycyny genomowej. Pojęcie medycyny genomowej, które często jest używane wymiennie z pojęciem medycyny spersonalizowanej odnosi się do postępowania klinicznego, w którym diagnozowanie oraz leczenie chorób jest możliwe dzięki informacjom uzyskanym na drodze badania indywidualnych cech genomu pacjenta. Przełomem w pracach nad badaniem genomu było wprowadzenie mikromacierzy, które umożliwiają analizę zmienności liczby kopii fragmentów DNA (ang. copy number variation, CNV) i/lub identyfikację regionów utraty heterozygotyczności (ang. absence of heterozygosity, AOH). Mikromacierze genomowe (aCGH) umożliwiają identyfikację CNV często tak małych jak jeden ekson. Z kolei mikromacierze oparte na analizie SNPów (ang. single nucleotide polymorphism), tzw. mikromacierze SNPowe, pozwalają na identyfikację zarówno CNV jak i genomowych regionów AOH. Mikromacierze odgrywają rosnącą rolę zarówno w diagnostyce chorób genetycznych jak i badaniach podstawowych, których celem jest dalsze poznawanie genomu i identyfikacja genów, których mutacje warunkują wystąpienie chorób. Badania nad genomem człowieka uległy gwałtownemu przyspieszeniu w ostatnich kilku latach dzięki wprowadzeniu nowych technik sekwencjonowania DNA, tzw. sekwencjonowania następnej generacji (ang. next generation sequencing, NGS). Techniki te umożliwiają szybką analizę zarówno części kodującej (ang. whole-exome sequencing, WES), ale także i całego genomu (ang. whole-genome sequencing, WGS) osoby badanej. Zastosowanie sekwencjonowania genomowego dodało impetu badaniom nad zmiennością i dynamiką genomu oraz przyczyniło się do lawinowego wzrostu liczby znanych genów warunkujących wystąpienie chorób i cech fenotypowych człowieka. NGS odgrywa rosnące znaczenie w klinice, szczególnie w diagnostyce chorób genetycznych. Obecnie szacuje się, że sekwencjonowanie eksomów pacjentów z podejrzeniem choroby genetycznej pozwala na określenie defektu molekularnego u około 25% badanych. Uzyskane informacje umożliwiają optymalizację opieki medycznej oraz poradnictwo genetyczne w dotkniętej chorobą rodzinie. W niektórych przypadkach, identyfikacja podłoża molekularnego warunkującego wystąpienie choroby może prowadzić do zmiany postępowania leczniczego. Przykładem może być historia pary bliźniąt z rzadką chorobą neurologiczną – zespołem Segawy, u których dane uzyskane z sekwencjonowania genomu umożliwiły wykrycie mutacji w genie *SPR* i optymalizację leczenia farmakologicznego [*Sci Transl Med.* 2011 Jun 15; 3(87):87re3]. Należy się spodziewać, że badania genomu będą odgrywały rosnącą rolę także w diagnostyce i leczeniu chorób nowotworowych. Już w obecnej chwili, sekwencjonowanie genomu komórek nowotworowych pozwala często na identyfikację zmian na poziomie DNA oraz zastosowanie terapii celowanej.

# RHO GTPASES IN THE REGULATION OF ENDOTHELIAL FUNCTION

**Beata Wojciak-Stothard**

Centre for Experimental Medicine & Therapeutics, Faculty of Medicine, Imperial College London, UK

e-mail: b.wojciak-stothard@imperial.ac.uk

Rho GTPases belong to the Ras superfamily of proteins and are approximately 25% identical to Ras oncoproteins. Rho proteins are involved in the process of tumorigenesis and mediate Ras-induced transformation. Rho GTPases, best known for their regulatory role in actin dynamics, stimulate a variety of processes important in the control of vascular function, including morphogenesis, migration, cell proliferation and adhesion, cell survival, gene expression, vesicle transport and microparticle formation. Approximately one percent of the human genome encodes proteins that either regulate or are regulated by direct interaction with members of the Rho family of small GTPases [1]. This lecture will give a brief overview of the role of Rho GTPases in the regulation of vascular endothelial function, with a particular focus on pulmonary endothelium.

The first Rho GTPase gene to be isolated was the marine snail *Aplysia californica* Rho, which was then used to identify the human RhoA, RhoB and RhoC genes [2]. First insights into the role of Rho GTPases were provided in the early 1990s. Rho, Rac, and Cdc42 were shown to induce specific filamentous actin structures in fibroblasts; stress fibers, lamellipodia/membrane ruffles, and filopodia, respectively [3]. Over the intervening years, evidence has accumulated to show that in all eukaryotic cells, Rho GTPases are involved in most, if not all, actin-dependent processes such as those involved in migration, adhesion, morphogenesis, axon guidance, and phagocytosis.

In the vascular system, Rho GTPases are activated by a number of vaso-active substances such as thrombin, histamine, angiotensin II, endothelin-1 (ET-1), platelet derived growth factor (PDGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), prostaglandin E2 via heterotrimeric G protein coupled receptors, tyrosine kinase receptors, or integrin clustering. In addition, Rho proteins are also activated by mechanical and physical stimuli such as shear stress, stretch, pressure and hypoxia [4].

Dysregulation of Rho GTPases is an underlying cause of several pulmonary vascular diseases. We have shown that hypoxia and NO deprivation, both factors contributing to pulmonary hypertension (PH), activate RhoA and inhibit Rac1 in cultured pulmonary artery endothelial cells (PAECs) [5-8]. This dysregulation compromises pulmonary endothelial barrier function and inhibits VEGF-induced angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. Our recent data demonstrated a first account for the role for RhoB in the development of hypoxia-induced PH. Activation of RhoB by hypoxia, coincidental with the activation of RhoA, is required for the hypoxia-induced changes in endothelial barrier function and pulmonary vascular smooth muscle cell migration and proliferation<sup>9</sup>. Chronically hypoxic RhoB knockout mice show reduced pulmonary vascular remodelling and reduced right ventricular hypertrophy, likely to result from reduced hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) and PDGF signalling [9]. Consistent with our data, RhoB has recently been identified as a primary target in PH by a network-based bioinformatics approach.

In the few past years, considerable progress has been made towards understanding the role of Rho GTPases in the regulation of pulmonary vascular function. While several signalling pathways downstream of Rho GTPases have been described *in vitro*, their function *in vivo* is still poorly understood. Further effort is required to understand what signals activate Rho GTPases and how their activity changes in a spatial and temporal manner in healthy and diseased lung.

#### References:

1. Jaffe AB, Hall A. (2005). *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2005; 21:247-69.
2. Madaule P, Axel R. (1985). *Cell.* 41(1):31-40
3. Hall A. (1998). *Science.* 23;279:509-14.
4. Wojciak-Stothard B and Ridley AJ. (2002). *Vascul Pharmacol.* 39:187-99.
5. Wojciak-Stothard B et al. (2005). *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 288:L749-60.
6. Wojciak-Stothard B et al. (2007). *J Cell Sci.* 120:929-42.
7. Wojciak-Stothard B et al. (2009). *Mol Biol Cell.* 20(1):33-42.
8. Leiper J et al. (2007) *Nat Med.* 13:198-203.
9. Wojciak-Stothard B et al. (2012). *Circ Res.* 110:1423-34.

# HOW DO OUR CELLS BECOME DIFFERENT FOR THE VERY FIRST TIME AND BODY PLAN DEVELOP?

**Magdalena Zernicka-Goetz**

Department of Physiology, Development and Neuroscience, University of Cambridge, UK  
e-mail: m.zernicka-goetz@gurdon.cam.ac.uk

The mystery of how cells of the mouse embryo first become different from each other to follow either the path towards pluripotency or the path towards differentiation has been attracting interest for many years. Undeniably it raises two of the most important questions for our own development: “How do our cells start to develop their unique identity to establish the shape, size and pattern of our own body?” and “When does this all begin to happen?” Understanding the answers will help us in many diverse ways, from how best to generate stem cells, to how to select cells for genotyping embryos developing *in vitro*.

In the embryos of most model organisms, the earliest differences between cells arise as a result of polarisation of the egg, which causes regulatory molecules - ‘determinants’ - to become asymmetrically localised. But our own, human, way is, most likely, different - more democratic. Cells of mammalian embryos have not been observed, thus far, to inherit maternally provided instructions: they make up their own minds what to do and then influences the majority decision. So how does shape and form begin to develop in the mammalian embryo?

Two critical cell fate decisions have to be taken before the mouse embryo implants in the uterus of the mother. These decisions set apart a group of pluripotent cells, progenitors for all cells of the future body, from the distinct extra-embryonic lineages of trophoblast and primitive endoderm. I will present our new molecular, cellular and developmental insights that help to understand the interplay of transcriptional regulation, epigenetic modifications, cell position and cell polarity in these two cell fate decisions (for example: Piotrowska and Zernicka-Goetz, *Nature* 2001; Plusa et al., *Nature* 2005; Torres-Padilla et al., *Nature* 2007; Bischoff et al., *Development* 2008; Morris et al., *PNAS* 2010; Morris et al., *Cell Reports*, 2012). I will discuss how mechanisms previously proposed as distinct and not overlapping might work in concert to progressively reinforce cell fate decisions through feedback loops. Finally, I will present our new culture system that we have recently established to enable us to study development of the embryos beyond implantation outside the body of the mother (Morris et al., *Nature Comm*, 2012).

References:

Piotrowska, K., and Zernicka-Goetz, M. (2001). Role for sperm in spatial patterning of the early mouse embryo. *Nature*. *409*, 517-521.

Piotrowska-Nitsche, K., Perea-Gomez, A., Haraguchi, S., and Zernicka-Goetz, M. (2005). Four-cell stage mouse blastomeres have different developmental properties. *Development*. *132*, 479-490.

Plusa, B., Hadjantonakis, A.K., Gray, D., Piotrowska-Nitsche, K., Jedrusik, A., Papaioannou, V.E., Glover, D.M., and Zernicka-Goetz, M. (2005). The first cleavage of the mouse zygote predicts the blastocyst axis. *Nature*. *434*, 391-395.

Morris, S.A., Teo, R.T., Li, H., Robson, P., Glover, D.M., and Zernicka-Goetz, M. (2010). Origin and formation of the first two distinct cell types of the inner cell mass in the mouse embryo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *107*, 6364-6369.

Torres-Padilla, M.E., Parfitt, D.E., Kouzarides, T., and Zernicka-Goetz, M. (2007). Histone arginine methylation regulates pluripotency in the early mouse embryo. *Nature*. *445*, 214-218.

Bischoff, M., Parfitt, D.E., and Zernicka-Goetz, M. (2008). Formation of the embryonic-abembryonic axis of the mouse blastocyst: relationships between orientation of early cleavage divisions and pattern of symmetric/asymmetric divisions. *Development*. *135*, 953-962.

Morris, S.A., Guo, Y., and Zernicka-Goetz, M. (2012). Developmental Plasticity Is Bound by Pluripotency and the Fgf and Wnt Signaling Pathways. *Cell. Rep.* *pii*, S2211-1247.

Morris SA, Grewal S, Barrios F, Patankar SN, Strauss B, Buttery L, Alexander M, Shakesheff KM, Zernicka-Goetz M. (2012). Dynamics of anterior-posterior axis formation in the developing mouse embryo. *Nature Commun.* *3*:673.

## CZY UDAJE NAM SIĘ „ULEPSZANIE” UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO?

**Marek Jakóbisiak**

Zakład Immunologii, Centrum Biostruktury Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego,  
Warszawa

e-mail: marek.jakobisiak@wum.edu.pl

W miarę coraz głębszego poznawania funkcji układu odpornościowego dokonano szeregu odkryć, które wykorzystuje się już w zapobieganiu i leczeniu wielu chorób. Najważniejsze odkrycia w dziedzinie immunologii dotyczą walki z chorobami zakaźnymi i nowotworowymi. Koncentrując się na okresie ostatnich 50 lat warto pamiętać, że każde odkrycie naukowe ma swoich prekursorów i każde ma lub będzie miało swoich następców, którzy pogłębią jego znaczenie. Mówiąc o dokonaniach i sukcesach nie można jednak zapomnieć o popełnionych błędach i porażkach, po to choćby, żeby zmniejszyć ryzyko ich powtórzenia.

Niewątpliwie wielkim sukcesem ostatniego półwiecza, wynikającym z zastosowania wiedzy o odporności do wytworzenia szczepionek było wyeliminowanie z naszej planety ospy prawdziwej oraz konsekwentne zbliżenie do realizacji kolejnego celu, jakim jest likwidacja porażenia dziecięcego (polio). Niedoceniona, choć ratująca od śmierci głodowej miliony Afrykańczyków, była również likwidacja, dzięki szczepionkom, zarazy bydłowej. Ponieważ planowana jest eliminacja z naszej planety kolejnych chorób zakaźnych warto pamiętać również o błędach popełnionych w walce z ospą i porażeniem dziecięcym.

Lekarze często pytani są, jak możemy wzmocnić naszą odporność. Tę odporność mamy już wzmocnioną właśnie dzięki szczepionkom przeciw chorobom zakaźnym. Jak na ironię, ten właśnie olbrzymi sukces medycyny jest coraz częściej lekceważony i z tragicznymi następstwami zaniechany. Sięgamy natomiast po nieskuteczne, szarlatańskie metody wzmacniania odporności. Rezygnacja rodziców ze szczepienia ich dzieci jest w dużym stopniu następstwem sfalszowanej publikacji pewnego lekarza, który „wykazywał” w niej, że niektóre szczepienia zwiększają u dzieci ryzyko rozwoju autyzmu.

Fascynacja sukcesami szczepionek w prewencji groźnych chorób zakaźnych rozbudziła olbrzymie nadzieje, że podobnym sukcesem uwieńczone zostanie zastosowanie szczepionek w walce z chorobami nowotworowymi. Niestety, na tym polu spotkało nas rozczarowanie mimo prób wykonanych na dziesiątkach tysięcy pacjentów, a pierwsza szczepionka przeciwnowotworowa zatwierdzona w USA w leczeniu zaawansowanego raka prostaty będzie prawdopodobnie wycofana z użycia. Jeden z najczęściej badanych typów szczepionek oparty jest na podawaniu izolowanych od pacjenta, aktywowanych i wyposażonych w antygeny nowotworowe komórek dendrytycznych. Za wykrycie i scharakteryzowanie tych komórek Ralph Steinman otrzymał w ubiegłym roku nagrodę Nobla. Pracując nad szczepionkami przeciwnowotworowymi zlekceważyliśmy jednak fakt, że szczepionki przeciwwakcyjne stosujemy prewencyjnie, szczepiąc zdrowych ludzi ze sprawnym układem odpornościowym, natomiast stosując szczepionki przeciwnowotworowe szczepimy pacjenta z rozwiniętym nowotworem, u którego komórki nowotworowe „unieszkodliwiły” już mechanizmy odpornościowe, które próbujemy pobudzić szczepionką.

Na szczęście inne odkrycia dotyczące układu odpornościowego, dokonane w ciągu ostatnich lat, doprowadziły do konkretnych rozwiązań terapeutycznych i diagnostycznych

w onkologii i przyniosły pięciu badaczom nagrody Nobla (Gerald Edelman i Rodney Porter w 1972; Rosalyn Yalow w 1977 oraz César Milstein i Georges Köhler w 1984). Chodzi tu oczywiście o przeciwciała. Trzydzieści przeciwciał monoklonalnych i ich pochodnych zostało już zatwierdzonych do leczenia różnych chorób nowotworowych. Należą one do grupy najczęściej zatwierdzanych leków w onkologii. „Nieuzbrojone” przeciwciała mogą indukować zabijanie komórek w nowotworach poprzez wiele mechanizmów. Jeszcze większą skuteczność terapeutyczną wykazały koniugaty przeciwciał z radioizotopami takimi jak jod ( $I^{131}$ ) lub itr ( $Y^{90}$ ), emitującymi wysokoenergetyczne cząsteczki  $\beta$  lub koniugaty przeciwciał z lekiem przeciwnowotworowym. Zaaprobowano je już do leczenia niektórych chłoniaków. W terapii nowotworów znajdują również zastosowanie przeciwciała blokujące sygnały hamujące rozwój odpowiedzi immunologicznej. Sygnały te w warunkach fizjologicznych chronią nas przed autoagresją, czyli atakiem naszych limfocytów przeciw naszym komórkom, a także przed rozwojem zbyt gwałtownej odpowiedzi przeciw drobnoustrojom. Ta ostatnia mogłaby bowiem uszkodzić również nasze własne tkanki.

Coraz lepsze wyniki daje również podawanie limfocytów T cytotoksycznych pacjenta, to znaczy zdolnych do rozpoznania i zabijania jego komórek nowotworowych. Niestety, limfocyty zdolne do tego efektu, są już w organizmie pacjenta „unieszkodliwione”. Dlatego po pobraniu limfocytów od chorego, pozaustrojowo, nie tylko aktywuje się je i namnaża, ale drogą manipulacji genetycznych wyposaża się w receptory rozpoznające komórki nowotworowe.

Wielka szkoda, że zupełnie marginalny udział w omawianych odkryciach mają, jak dotychczas, badacze pracujący w Polsce, choć znaczna grupa odkrywców, którzy otrzymali nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii ma polskie korzenie. Czy kraj nasz ma pozostać miejscem znikomych szans na uprawianie rzetelnych badań naukowych?



# STARZENIE KOMÓRKOWE A STARZENIE SIĘ ORGANIZMU

**Jacek M. Witkowski**

Katedra i Zakład Fizjopatologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

e-mail: jawit@gumed.edu.pl

Organizmy ssaków (w tym człowieka), a także większości innych wielokomórkowców podlegają procesowi starzenia. Nieliczne wyjątki wydają się nie starzeć w ogóle lub też proces ten zachodzi w organizmach należących do tych gatunków w tak wolnym tempie, że ukuto dlań określenie „negligible senescence” [1]. Proces starzenia się można zdefiniować roboczo, jako stopniowe zmniejszanie zdolności organizmu do „bezobjawowej” adaptacji do zmieniających się warunków środowiska wewnętrznego i zewnętrznego, określane jako redukcja homeodynamiki - homeostenozą [2]. Zjawiska homeostenotyczne rozpoczynają się typowo po okresie maksymalnego zdrowia (i największych zdolności adaptacyjnych) odpowiadającym fazie młodości, „przewidzianej” przez ewolucję jako okres intensywnej reprodukcji. Powyższa definicja obowiązuje niezależnie od tego, czy rozważamy starzenie się organizmów jako całości, starzenie się poszczególnych układów, narządów, tkanek, a wreszcie budujących je komórek. Można więc – upraszczając – powiedzieć, że starzenie się organizmu jest wypadkową starzenia się (homeostenozą) jego komórek. Przyczyny starzenia się organizmów nie są w pełni poznane, a dotychczasowe próby ich zrozumienia doprowadziły do powstania kilkuset (!) teorii tego procesu [3]. Spośród nich, najważniejsze proponowane obecnie teorie mające wyjaśnić obserwowaną w starzejących się organizmach utratę zdolności adaptacyjnych na poziomie pojedynczych komórek to te, które opierają się na mechanizmach uszkodzenia genomu (teorie mutacyjne) lub jego białkowych produktów. Najbardziej popularne i najlepiej udokumentowane doświadczalnie to: teoria wolnorodnikowa [4], ściśle z nią związana i oryginalnie zaproponowana przez tego samego autora teoria mitochondrialna [5], teoria glikacji [6] oraz teorie proliferacyjnej starości komórek (senescencji) wynikające ze skracania się telomerów [7] a także z zaburzenia metabolicznej ścieżki mTOR [8]. Bardzo ciekawym uzupełnieniem tej ostatniej jest niedawna obserwacja niekorzystnego wpływu komórek senescentnych na młodsze (zdolne do podziału) komórki w tkance [9]. Dwie ostatnie teorie mają potencjalne znaczenie praktyczne, wykazano bowiem „odmładzający” wpływ zastosowania inhibitora mTOR (rapamycyny), a także specyficznej eliminacji starych komórek. Osobną grupę stanowią teorie próbujące wyjaśniać biologiczny sens/cel starzenia się komórek. Tu najciekawsza wydaje się niedawna propozycja Campisi, wg której starzenie się komórek jest sposobem ucieczki przed transformacją nowotworową [11].

Aczkolwiek teorie ‘uszkodzeniowe’ zakładają zjawiska i procesy stochastyczne, proces starzenia się komórek tworzących różne narządy i tkanki nie jest jednorodny (niektóre rodzaje komórek starzeją się szybciej, inne wolniej); na dodatek, rytm starzenia się poszczególnych narządów i rodzajów komórek organizmu jest zindywidualizowany (różny u różnych osób), co dodatkowo utrudnia zbadanie i systemowe opisanie procesu komórkowego starzenia się ludzi. Szczególny „przypadek” stanowi tu starzenie się komórek tzw. układów integracyjnych organizmu – ośrodkowego układu nerwowego, dokrewnego, odpornościowego i sercowo-naczyniowego), których homeostenozą zaburza nie tylko ich własne działanie w starzejącym się organizmie, ale wpływa na komórki pozostałych układów i narządów. Problem ten będzie w wykładzie szerzej omówiony na przykładzie procesów komórkowego i układowego starzenia

się układu odpornościowego i jego skutków dla starzenia się ludzkiego organizmu, w kontekście teorii skąpoobjawowego procesu zapalnego, jako jednej z sił sprawczych starzenia się (ang. inflamm-ageing [12]), a także komórkowych mechanizmów procesów chorobowych przyspieszających starzenie się, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów i choroba Alzheimera.

#### Literatura:

- [1] Finch CE. Update on slow aging and negligible senescence--a mini-review. *Gerontology*. 2009; 55(3):307-13
- [2] Rattan SI. Increased molecular damage and heterogeneity as the basis of aging. *Biol Chem*. 2008 Mar; 389(3): 267-72; Demirovic D, Rattan SI. Establishing cellular stress response profiles as biomarkers of homeodynamics, health and hormesis. *Exp Gerontol*. 2012 Feb 22.[Epub ahead of print] PubMed PMID: 22525591
- [3] Cefalu CA. Theories and mechanisms of aging. *Clin Geriatr Med*. 2011 Nov; 27(4): 491-506
- [4] HARMAN, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol. Soc.* (1956). 11: 298–300; Harman, D. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* (2006) 1067: 10–21
- [5] von Zglinicki T. A mitochondrial membrane hypothesis of aging. *J Theor Biol*.1987 Jul 21; 127(2):127-32; de Grey AD. A proposed refinement of the mitochondrial free radical theory of aging. *Bioessays*. 1997 Feb; 19(2):161-6; Passos JF, von Zglinicki T, Saretzki G. Mitochondrial dysfunction and cell senescence: cause or consequence? *Rejuvenation Res*. 2006 Spring; 9(1):64-8;
- [6] Yin D. Studies on age pigments evolving into a new theory of biological aging. *Gerontology*. 1995;41 Suppl 2:159-72. Review. PubMed PMID: 8821329; Kristal BS, Yu BP. An emerging hypothesis: synergistic induction of aging by free radicals and Maillard reactions. *J Gerontol*. 1992 Jul;47(4):B107-14
- [7] Vaziri H, Benchimol S. From telomere loss to p53 induction and activation of a DNA-damage pathway at senescence: the telomere loss/DNA damage model of cell aging. *Exp Gerontol*. 1996 Jan-Apr;31(1-2):295-301; Harley CB. Telomere loss: mitotic clock or genetic time bomb? *Mutat Res*. 1991 Mar-Nov;256(2-6):271-82; Tümpel S, Rudolph KL. The role of telomere shortening in somatic stem cells and tissue aging: lessons from telomerase model systems. *Ann N Y Acad Sci*. 2012 Aug;1266:28-39
- [8] Weichhart T. Mammalian target of rapamycin: a signaling kinase for every aspect of cellular life. *Methods Mol Biol*. 2012;821:1-14; McCormick MA, Tsai SY, Kennedy BK. TOR and ageing: a complex pathway for a complex process. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2011 Jan 12;366(1561):17-27; Bartke A. Growth hormone, insulin and aging: the benefits of endocrine defects. *Exp Gerontol*. 2011 Feb-Mar;46(2-3):108-11. Epub 2010 Sep 17; Wang M, Miller RA. Fibroblasts from long-lived mutant mice exhibit increased autophagy and lower TOR activity after nutrient deprivation or oxidative stress. *Aging Cell*. 2012 Aug;11(4):668-74
- [10] Baker DJ, Wijshake T, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Childs BG, van de Sluis B, Kirkland JL, van Deursen JM. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature*. 2011 Nov 2; 479(7372):232-6; Davalos AR, Coppe JP, Campisi J, Desprez PY. Senescent cells as a source of inflammatory factors for tumor progression. *Cancer Metastasis Rev*. 2010 Jun;29(2):273-83
- [11] Campisi J. Aging, Cellular Senescence, and Cancer. *Annu Rev Physiol*. 2012 Nov 8. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23140366; Coppé JP, Desprez PY, Krtolica A, Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol*.2010;5:99-118; Beausejour CM, Campisi J. Ageing: balancing regeneration and cancer. *Nature*. 2006 Sep 28;443(7110):404-5
- [12] Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, Panourgia MP, Invidia L, Celani L, Scurti M, Cevenini E, Castellani GC, Salvioli S. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev*. 2007 Jan;128(1):92-105

## JAK BIAŁKO TRAFIA POD WŁAŚCIWY ADRES W KOMÓRCE?

**Katarzyna Nalęcz**

Zakład Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej, Instytut Biologii Doświadczalnej im.

M. Nenckiego, PAN, Warszawa

e-mail: k.nalecz@nencki.gov.pl

Badania nad mechanizmami kierującymi białka do poszczególnych przedziałów komórkowych rozpoczęły się od obserwacji Blobela i Dobbersteina [1] pokazującej, że w przypadku białek ulegających sekrecji pewien odcinek ich końca aminowego ulega proteolitycznemu odcięciu w trakcie translokacji przez błonę. Doprowadziło to do sformułowania tzw. hipotezy sygnałowej, która zakładała, że w mRNA kodującym sekwencję aminokwasową powstającego białka zawarta jest informacja kierująca to białko do endoplazmatycznego retikulum. Hipoteza ta zapoczątkowała nowy kierunek badań w biologii komórki i biochemii, a mianowicie poszukiwanie sekwencji kierujących poszczególne białka do odpowiednich przedziałów komórkowych a także badanie mechanizmów ułatwiających translokację tych białek do docelowego, oddzielonego błoną lub dwiema, przedziału w komórce. Postawiona hipoteza stymulująca wiele grup badawczych do zajęcia się tym problemem, a także późniejsze badania Güntera Blobela nad mechanizmami kierującymi białka do jądra komórkowego zostały uwieńczone przyznaniem mu w 1999 r. Nagrody Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny.

Obecnie wiadomo, że istnieją specyficzne sekwencje kierujące do poszczególnych przedziałów komórkowych, najczęściej fragmenty końca aminowego są odcinane przez specyficzne proteiny jak ma to miejsce w przypadku białek kierowanych do siateczki śródplazmatycznej, macierzy mitochondriów, chloroplastów, czy części białek kierowanych do peroksysomów. W przypadku białek kierowanych do jądra, a także niektórych białek mitochondrialnych i peroksysomalnych informacja kierująca zawarta jest w obrębie sekwencji aminokwasowej dojrzałego białka. Sekwencje kierujące różnią się, w zależności od docelowego przedziału, ładunkami, hydrofobowością i pewnymi cechami struktury drugorzędowej. Za translokację do docelowego przedziału komórkowego, po rozpoznaniu sekwencji kierującej, odpowiedzialne są albo kompleksy rybonukleoproteinowe albo białka opiekuńcze w przypadku transportu potranslacyjnego. Następnie takie kompleksy transportowanego polipeptydu z innymi białkami rozpoznawane są przez swoiste receptory na powierzchni poszczególnych organelli i w końcu transportowane do ich wnętrza lub wbudowywane do właściwej błony dzięki specjalnym białkom o właściwościach kanałów.

W chwili obecnej nie tylko sekwencja, ale i struktura większości białek zaangażowanych w tych procesach jest znana, a na podkreślenie zasługuje fakt, iż białka kierowane do siateczki śródplazmatycznej w trakcie translacji wykorzystują istniejący w strukturze rybosomu tunel, którego istnienie stwierdziła w badaniach krystalograficznych Ada Yonath [2], laureatka Nagrody Nobla w dziedzinie chemii w 2009 r. (razem z Venkatramanem Ramakrishnanem i Thomasem A Steitzem). Ostatnie lata to badania nad mechanizmami, które powodują, że to samo białko może być zlokalizowane w dwóch różnych przedziałach komórkowych. Może to wynikać z alternatywnego składania RNA lub rozpoczęcia translacji od innego kodonu START. Jednak istnieje coraz więcej danych wskazujących na rolę oddziaływań z innymi białkami.

Przykładem mogą być nasze własne badania nad peroksysomalną lokalizacją transportera karnityny OCTN3 [3] i interakcji tego białka z peroksyną PEX19.

Literatura:

1. Blobel G. i Dobberstein B. (1975). *J. Cell Biol.* 67, 835-851.
2. Yonath A. I Berkovitch-Yellin Z. (1993) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3, 175-181.
3. Januszewicz E., Pająk B., Gajkowska B., Samluk Ł., Djavadian R.I., Hinton B.Y. i Nałęcz K.A. (2009) *Int. J. Biochem Cell Biol.* 41, 2599-2609.

# OD ENDOSYMBIONTA DO ORGANELLUM: WSPÓŁCZESNE POGLĄDY NA EWOLUCJĘ MITOCHONDRIÓW ORAZ PLASTYDÓW

**Andrzej Bodyl**

Katedra Biologii Ewolucyjnej i Ekologii, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polska  
e-mail: bodyl@biol.uni.wroc.pl

W naszej biosferze istnieją dwa podstawowe rodzaje komórek: komórki prokariotyczne oraz komórki eukariotyczne. Cechą charakterystyczną komórek eukariotycznych jest obecność szeregu organelli, które otoczone są przez różną liczbę błon i pełnią odmienne funkcje metaboliczne. Zgodnie z teorią endosymbiotyczną, zaproponowaną we współczesnej wersji przez Lynn Margulis w 1967 r. [1], niektóre z tych organelli – takie jak mitochondria i plastydy (chloroplasty) – mają pochodzenie egzogenne, co oznacza, że wyewoluowały one na drodze endosymbiozy z organizmów wolnożyjących. Z czasem, pochodzenie endosymbiotyczne zaproponowano dla niemal wszystkich organelli komórki eukariotycznej (np. jądro, peroksysomy, undulipodium), ale dostępne obecnie dane wskazują, że jedynie mitochondria oraz plastydy mają taki rodowód.

Mitochondria wyewoluowały z bakterii  $\alpha$ -purpurowych (Proteobacteria), które mogły posiadać zdolność do inwazji nie tylko komórek eukariotycznych, ale również komórek prokariotycznych. Margulis zasugerowała początkowo, że gospodarzem dla bakterii  $\alpha$ -purpurowej był inny prokariot, ale pogląd ten przez wiele lat ostro krytykował Thomas Cavalier-Smith. Badacz ten zwracał uwagę, że tylko komórki eukariotyczne mają zdolność do pochłaniania innych komórek na drodze fagocytozy. Dlatego w 1983 r. zaproponował on koncepcję Archezoa, zgodnie z którą do dziś zachowali się przedstawiciele fazy przedmitochondrialnej w ewolucji komórki eukariotycznej [2]. Typowym reprezentantem tej grupy była *Giardia lamblia*. Jednak późniejsze badania wykazały obecność u wszystkich przedstawicieli Archezoa nie tylko genów pochodzenia  $\alpha$ -proteobakteryjnego, ale również zmodyfikowanych mitochondriów w postaci hydrogenosomów i mitosomów. Molekularne analizy filogenetyczne jasno pokazały, że typowe mitochondria, hydrogenosomy oraz mitosomy wywodzą się z jednej, wspólnej endosymbiozy. Opierając się na tych danych, William Martin i Miklós Müller (1998) zaproponowali model wodorowy, który zakłada, że mitochondrium wyewoluowało w wyniku symbiozy opartej na syntrofii wodorowej pomiędzy dwiema bakteriami: bakterią  $\alpha$ -purpurową (symbiont) i archebakterią metanogenną (gospodarz) [3]. Bardzo wczesne pojawienie się mitochondrium w ewolucji komórki eukariotycznej sugerują również analizy bioenergetyczne genomów prokariotycznych i eukariotycznych [4] oraz istnienie endosymbioz pomiędzy komórkami prokariotycznymi [5]. Wszystkie te nowe dane oraz hipotezy wskazują, że endosymbioza mitochondrialna zainicjowała proces eukariogenezy, czyli tak jak postulowała to przed wielu laty Margulis.

Plastydy wyewoluowały z sinic (Cyanobacteria), które były prawdopodobnie zdolne nie tylko do przeprowadzania fotosyntezy tlenowej, ale również wiązania azotu atmosferycznego. Endosymbioza ta doprowadziła do powstania plastydów pierwotnych z dwoma błonami otoczkowymi, które występują u glaukofitów, krasnorostów, zielenic oraz roślin wyższych, tworzących wspólnie supergrupę Archaeplastida (Plantae). Pierwotna endosymbioza była jednak tylko początkiem dalszej ewolucji plastydów. W 1978 r. Sarah P. Gibbs zaproponowała, że plastydy wielobłonowe, otoczone przez trzy lub cztery błony, wyewoluowały z eukariotów

fotosyntetycznych na drodze wtórnej endosymbiozy [6]. Endosymbiontami tymi były zielenice oraz krasnorosty, tj. glony posiadające już plastydy pierwotne. Z zielenic wyewoluowały plastydy euglenin i chlorarachniofitów, natomiast z krasnorostów – plastydy kryptofitów, heterokontów, haptofitów, bruzdnic i pasożytniczych apikopleksów. Interesującym dowodem na eukariotyczne endosymbiozy plastydowe są chlorarachniofity i kryptofity, które zachowały jądra ich zielenicowych i krasnorostowych endosymbiontów w postaci nukleomorfów [7]. W 1999 r. Cavalier-Smith zasugerował, że wszystkie plastydy uważane tradycyjnie za wtórne są wynikiem tylko dwóch endosymbioz: jednej zielenicowej (model Cabozoa) i jednej krasnorostowej (model Chromalweolata) [8]. Oba modele, które były oparte na zasadzie minimalizacji liczby endosymbioz w rekonstrukcjach filogentycznych i przez wiele lat silnie kształtowały badania w zakresie ewolucji plastydów, zostały ostatecznie odrzucone. Udowodniono, że plastydy euglenin oraz chlorarachniofitów wyewoluowały niezależnie z różnych zielenic. Ewolucja tzw. plastydów chromalweolatów wydaje się być znacznie bardziej złożona. Na drodze wtórnej endosymbiozy krasnorostowej powstały prawdopodobnie tylko plastydy kryptofitów, które zostały następnie przekazane poprzez endosymbiozy trzeciorzędowe, czwartorzędowe i pięciorzędowe do pozostałych linii chromalweolatów [9]. Dowodem na takie endosymbiozy wyższego rzędu są trzeciorzędowe endosymbiozy plastydowe u bruzdnic.

Kontrowersyjnym zagadnieniem w ewolucji plastydów pozostają ciągle ich możliwe utraty. Chociaż sugerowano wiele utrat plastydów u różnych heterotroficznych pierwotniaków, to jednak organelle te zostały później u nich odnalezione, co wynika z ich nefotosyntetycznych funkcji metabolicznych, takich jak biosynteza aminokwasów, kwasów tłuszczowych oraz hemu. Plastydy mogły zostać utracone u pasożytów wewnątrzkomórkowych, które pobierają te związki od swoich gospodarzy, np. u przedstawicieli Trypanosomatidae [10]. Jednak obligatoryjne pierwotniaki pasożytnicze należące do Apicomplexa (np. *Plasmodium falciparum* wywołujący malarię) ciągle utrzymują plastyd nefotosyntetyczny znany jako apikoplast.

W 1985 r. Cavalier-Smith oraz John J. Lee zaproponowali, że endosymbionty kodują wszystkie swoje białka, natomiast mitochondria i plastydy tylko niewielką ich część, podczas gdy pozostałe białka organellowe kodowane są przez genom jądrowy gospodarza, a następnie importowane do właściwego kompartmentu [11]. Zgodnie z tą definicją, która jest do dzisiaj przyjmowana, pierwszym etapem w transformacji endosymbionta w organellum jest masowy transfer genów z genomu endosymbionta do genomu jądrowego gospodarza. Tę specyficzną ‘ucieczkę’ genów endosymbionta tłumaczy kilka hipotez. Jedna z nich postuluje, że transfer taki jest popierany przez dobór naturalny, ponieważ mitochondria oraz plastydy są organellami, w których zachodzą intensywne procesy oksydoredukcyjne, w wyniku których powstają wolne rodniki, uszkadzające nie tylko DNA, ale również białka i błony. Następnym etapem w ewolucji organelli endosymbiotycznych jest nabycie przez przeniesione geny sekwencji kodujących peptydy kierujące ich produkty białkowe do odpowiednich kompartmentów. Procesowi temu towarzyszy ewolucja systemów transportujących białka w błonach nowych organelli. Najbardziej złożoną strukturę ma system importu białek w plastydach czterobłonowych. Jednak ewolucja tego systemu nie była aż tak skomplikowana jak mogłoby się pozornie wydawać, ponieważ powstał on z translokonów istniejących już zarówno u endosymbionta, jak i gospodarza [12].

Ameba *Paulinella chromatophora* posiada dwa endosymbionty sinicowe, które są silnie zintegrowane z komórką gospodarza. Do niedawna było niejasne, czy endosymbionty te są prawdziwymi organellami [13]. Jednak najnowsze eksperymenty [14] potwierdziły wcześniejsze

przypuszczenia, że osiągnęły one już status organelli komórkowych i importują białka kodowane przez jądro gospodarza [15]. Ponieważ endosymbionty – zarówno prokariotyczne, jak i eukariotyczne – występują powszechnie w komórkach współczesnych eukariontów, niektóre z nich mogą ulegać transformacji w organellum, poddając tym samym w wątpliwość paradygmat minimalizacji endosymbioz podczas rekonstrukcji ewolucji organelli pochodzenia endosymbiotycznego [16].

Odkrycie mitochondriów przez Alberta Claude i peroksyosomów przez Christiana R. de Duve zostało uhonorowane Nagrodą Nobla w roku 1974, którą badacze ci dzielili razem z G. Palade. Za odkrycia związane z bioenergetyką mitochondriów, Peter D. Mitchell otrzymał Nagrodę Nobla w 1978 r., natomiast John E. Walker w roku 1997.

#### Literatura:

1. Sagan L. (1967) *J. Theor. Biol.* 14, 255-274.
2. Cavalier-Smith T. (1993) *Microbiol Rev.* 57, 953-994.
3. Martin W, Müller M. (1998) *Nature* 392, 37-41.
4. Lane N, Martin W. (2010) *Nature* 467, 929-934.
5. von Dohlen et al. (2001) *Nature* 412, 433-436.
6. Gibbs S.P. (1978) *Can. J. Bot.* 56, 2883-2889.
7. Moore et al. (2009) *Annu. Rev. Genet.* 43, 251-264.
8. Cavalier-Smith T. (1999) *J. Eukaryot. Microbiol.* 46, 347-366.
9. Borył et al. (2009) *Trends Ecol. Evol.* 24, 119-121.
10. Borył A., Mackiewicz P. (2008) *Parasitology* 135, 1101-1110.
11. Cavalier-Smith T., Lee J.J. (1985) *J. Protozool.* 32, 376-379.
12. Bolte et al. (2009) *J. Eukaryot. Microbiol.* 56, 9-15.
13. Borył et al. (2007) *Trends Microbiol.* 15, 295-296.
14. Nowack E.C., Grossman A.R. (2012) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 109, 5340-5345.
15. Mackiewicz P., Borył A. (2010) *J. Phycol.* 46, 847-859.
16. Borył et al. (2012) *Curr. Biol.* 22, R304-R306.

## META-FILOGENOMIKA EUGLENALES

**Jan Kwiatowski**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of California, Irvine, USA;

<sup>2</sup>Zakład Systematyki i Geografii Roślin, Uniwersytet Warszawski

e-mail: jmkwiato@gmail.com

W ciągu ostatniego ćwierćwiecza w biologii miały miejsce dwie rewolucje technologiczne związane z opracowaniem nowych technik molekularnych: łańcuchowej reakcji polimeryzacji DNA (PCR) [1] i metod sekwencjonowania nowej generacji. Kary Mullis w roku 1993 roku otrzymał Nagrodę Nobla za opracowanie metody PCR. W 1980 roku Frederick Sanger, jako jedyny człowiek, otrzymał Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii po raz drugi, tym razem za opracowanie metody sekwencjonowania DNA. Sekwencjonowanie DNA nowej generacji w podobnej mierze przyczyniło się do rozwoju biologii. Jest kilka metod sekwencjonowania nowej generacji i nie wiadomo, która z nich odegra największą rolę w rozwoju biologii. Wszystkie one przyczyniły się w istotny sposób do burzliwego rozwoju genomiki i metagenomiki. Pionierem w tej dziedzinie jest Craig Venter, któremu bez wątpienia należy się Nagroda Nobla. Jedną z metod sekwencjonowania nowej generacji, zastosowaną w tej pracy, opracowano na początku obecnego stulecia w firmie Solexa i rozwijano dalej w firmie Illumina [2].

Rewolucja molekularna w systematyce dokonująca się od początku lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku, dotyczy głównie organizmów stosunkowo prostych, które nie posiadają wielu cech nadających się do porównania, takich jak pierwotniaki z grupy Euglenin. Do połowy XX wieku na podstawie danych morfologicznych wyodrębniono wiele rodzajów Euglenin, z których najintensywniej badane to *Euglena*, *Colacium*, *Cryptoglena*, *Lepocinclis*, *Monomorphina*, *Phacus*, *Strombomonas* i *Trachelomonas*. Molekularne analizy filogenetyczne, przeprowadzone na początku tego wieku, pokazały, że rodzaje te nie spełniają wymogów współczesnej systematyki ewolucyjnej. Nie stanowią one kładów, czyli naturalnych grup monofiletycznych. Analizy te przeprowadzone na dużej liczbie taksonów i wzrastającej stopniowo liczbie genów pozwoliły na ujednoczenie głównych rodzajów Euglenales i wyodrębnienie dwóch nowych: *Discoplastis* [3] i *Euglenaria* [4]. Ostatni z tych rodzajów nie różni się morfologicznie od rodzaju *Euglena* i został opisany wyłącznie na podstawie cech molekularnych. Rodzaj *Euglena*, od samego początku swego istnienia najbardziej zróżnicowany morfologicznie i genetycznie, nie był taksonem monofiletycznym. Szczególne problemy sprawia kilka gatunków *Euglena*, z których nie udało się uzyskać sekwencji pożądaných genów oraz *E. proxima*, której pozycja jest niestabilna.

Współczesne drzewa filogenetyczne tworzone są na podstawie wielu genów. Uzyskiwanie sekwencji tych genów przy pomocy amplifikacji PCR przestaje być praktyczne. Bardzo często, stosując PCR i konserwatywne startery, otrzymuje się, pochodzące z zanieczyszczeń, sekwencje bakteryjne a nie pożądanę sekwencję chloroplastową. Stosując podejście metagenomowe można pokonać jednocześnie wiele, nieprzewidywalnych do tej pory, trudności. W ostatnich latach zarówno metody sekwencjonowania nowej generacji jak i metody składania sekwencji zostały znacząco udoskonalone. Powstały komercyjne programy do składania całych genomów *de novo*, niewymagające zaawansowanej wiedzy informatycznej. Jednocześnie, samo sekwencjonowanie DNA metodą Solexa zostało udoskonalone w ten sposób,



iż możliwe stało się powiązanie odczytów w pary pochodzące z tego samego fragmentu DNA i wydłużenie wysokiej jakości odczytów sekwencji z 36 do 100 nukleotydów. Dzięki powiązaniu odczytów sekwencji w pary, możliwe jest automatyczne ustawienie fragmentów genomu we właściwej kolejności.

W ramach tego projektu, w pierwszej kolejności zsekwencjonowano DNA otrzymany z kultury *Euglena velata*. Występujące w wielu kopiach geny rRNA z rybosomów cytoplazmatycznych oraz geny mitochondrialne i chloroplastowe, potrzebne do analiz filogenetycznych, postanowiono wyizolować *in silico*, pomijając w ten sposób żmudne etapy frakcjonowania organelli. Gdy zastosowano to podejście po raz pierwszy w 2009 roku, zarówno sama metoda sekwencjonowania jak i metody składania sekwencji były w powijakach. Z całkowitej liczby około 26 milionów odczytów sekwencji o długości 36 nukleotydów otrzymano wiele sekwencji bakteryjnych i krótkie sekwencje genów z organelli *E. velata*. Jedynymi genami *E. velata*, które udało się uzyskać w całości były cztery geny rRNA, z dużej i małej podjednostki rybosomów cytoplazmatycznych i chloroplastowych. Przy użyciu tych sekwencji udało się ustalić pozycję filogenetyczną *E. velata* i *E. proxima* a także wykazać monofiletyczny charakter rodzaju *Euglena* [5].

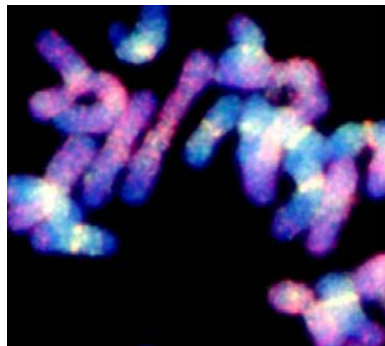
W kolejnych latach przeprowadzono sekwencjonowanie DNA *E. ehrenbergii* i ponownie *E. velata*. W roku 2010 z całkowitej liczby około 52 milionów sparowanych odczytów sekwencji o długości 60 nukleotydów uzyskano wiele, niekiedy bardzo długich sekwencji bakteryjnych. Tym razem udało się jednak złożyć sześć fragmentów genomu chloroplastowego *E. ehrenbergii* o długościach od 758 do 30491 nukleotydów, kodujących praktycznie wszystkie geny chloroplastowe [6]. Fragmentów tych nie udało się jednak złożyć *in silico* w ciągłą sekwencję genomu chloroplastowego. Wreszcie, w roku 2011 z około ćwierci miliarda sparowanych odczytów sekwencji, o długości 74 nukleotydów, uzyskano pięć fragmentów o długościach od 2734 do 43041 nukleotydów, które udało się złożyć w ciągłą, kolistą sekwencję genomu chloroplastowego *E. velata* o długości 104 tysięcy par zasad.

Opracowana metoda jest stosunkowo prosta i tania i ma zastosowanie wszędzie tam, gdzie frakcjonowanie organelli jest utrudnione. W tym wypadku motywowana była otrzymaniem długich sekwencji potrzebnych do analiz filogenetycznych i pozwoliła na zbudowanie drzew filogenetycznych na podstawie kilkudziesięciu genów, pozwalających na śledzenie ewolucji chloroplastów Euglenales.

#### Literatura:

1. Saiki, et al. (1988). Science 239, 487-491.
2. Bentley (2006) Curr. Opin. Genet. Dev. 16, 545-552.
3. Triemer et al. (2006) J. Phycol. 42, 731-740.
4. Linton et al. (2010) Protist 161, 603-619.
5. Kwiatowski et al. (2011) J. Phycol. 47, S1 12-12.
6. Kwiatowski et al. (2011) J. Phycol. 47, S2 19-19.

# INFORMACJE O KOMITECIE CYTOBIOLOGII PAN



## KOMITET CYTOBIOLOGII PAN

1972 - 2012

Komitet Cyto biologii utworzony został w 1972 przez prof. Lecha Wojtczaka i doc. Leszka Kuźnickiego z inicjatywy prof. Włodzimierza Niemierki – ówczesnego Przewodniczącego Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie.



Prof. Lech Wojtczak



Prof. Włodzimierz Niemierko  
(1897 – 1985)



Doc. Leszek Kuźnicki

Komitet współuczestniczył w tworzeniu podwalin badań w dziedzinie biologii komórkowej i molekularnej w Polsce:

- współtworząc ramy strukturalne tych badań – wieloletnie tzw. problemy węzłowe
- inicjując kierunki prac badawczych, oceniając ich postęp i wyznaczając wieloletnie perspektywy
- integrując środowisko naukowe uniwersytetów, placówek PAN i placówek resortowych
- współtworząc czasopisma naukowe o zasięgu międzynarodowym i ogólnopolskim
- finansując poszczególne programy badawcze (do roku 1989)
- organizując/współorganizując kongresy, konferencje, sympozja naukowe
- szkoląc młodych pracowników naukowych
- współpracując z zagranicą (w tym z: ECBO, EFCB, ELSO)
- reprezentując środowisko biologów wobec administracji centralnej
- popularyzując naukę w społeczeństwie

Przewodniczącymi Komitetu byli:

1972 – 1974	prof. dr Lech Wojtczak
1975 - 1980	prof. dr hab. Leszek Kuźnicki
1981 - 1986	prof. dr hab. med. Jerzy Kawiak
1987 - 1989	prof. dr hab. Wincenty Kilarski
1990 - 1996	prof. dr hab. Włodzimierz Korohoda
1997 - 2002	prof. dr hab. med. Maciej Zabel
2003 -	prof. dr hab. Elżbieta Wyroba

### Oceny i ekspertyzy:

1. L. Kuźnicki. Działalność Komitetu Cytobiologii PAN w latach 1972 - 1977. Nauka Polska 8, 99 - 101, 1978
2. Stan i perspektywy badań nad biologią komórki. L. Kuźnicki, J. Sikora i inni. Kosmos 1, 3 - 32, 1979
3. L. Kuźnicki, J. Sikora. W sprawie usprawnienia organizacji badań podstawowych w latach 1981 - 85. Nauka Polska 12, 65 - 69, 1979
4. L. Kuźnicki, Rozwój badań nad biologią komórki w Polsce w perspektywie XXI wieku. Kosmos 3, 441 - 454, 1985
5. Biologia Komórki – Stan badań w Polsce w: „Nauka w Polsce w ocenie Komitetów Naukowych PAN”, Warszawa 1995, tom II, 53 - 57 (praca zbiorowa)

### Organizowane/współorganizowane konferencje, sympozja – w tym:

1. Międzynarodowe Szkoły Biofizyki Transportu Błonowego - 13 edycji (1974 – 1997) zainicjowane i organizowane przez prof. dr hab. S. Przystańskiego
2. VI Międzynarodowy Kongres Protozoologiczny – 1981 (jedyne z tej serii kongresów zorganizowane w Polsce)
3. Osiem Ogólnopolskich Konferencji Biologii Komórki od roku 1983 (Komitet był głównym organizatorem pierwszych pięciu)
4. International Symposium on Cell Motility – 1978

5. Ogólnopolskie Sympozja na temat Błon Biologicznych – 1978, 1980, 1983, 1987, 1988, 1989
6. Szkoła Zastosowań Stereologicznych w Biologii - 1987
7. 'Cytometria w Diagnostyce Lekarskiej' – 6 konferencji 1997, 1999, 2000, 2003, 2005, 2009
8. Sympozjum: 'Postępy technik biologii komórkowej i molekularnej' – 2000
9. Konferencja 'Biophysics and Biology of Environmentally Important Membrane - Active Compounds' - 2001
10. Konferencja 'Molecular Mechanisms of Neurodegeneration and Neuroprotection' – 2003
11. Konferencja 'Od Cytometrii do Biologii Molekularnej' - 2004
12. 16<sup>th</sup> Meeting of the International Society for Evolutionary Protistology - 2006 (pierwsze z tej serii zorganizowane w Polsce)
13. Sesja 'Molekularne Mechanizmy Oddziaływań Komórek Prawidłowych i Nowotworowych ze Środowiskiem' w ramach 34 Szkoły Zimowej Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego - 2007
14. Konferencja 'Błony Biologiczne' - 2008
15. Konferencja 'Membrane Skeleton. Recent Advances and Future Research Directions' - 2008
16. Sympozjum Jubileuszowe: '*Homo* czy zawsze *sapiens*? – Człowiek z różnych perspektyw' – 2008
17. Sesja 'Komórki macierzyste – wyzwania biologiczne, biochemiczne i biomedyczne' w trakcie Kongresu Biochemii i Biologii Komórki (Olsztyn) - 2008
18. Konferencja 'Wyzwania Współczesnej Biologii Komórki: Genetyka Molekularna, Biologia Systemów, Bioinformatyka' – 2009
19. IV Biogerontological Meeting at the Nencki Institute – From Development to the Ageing of the Organism – 2009
20. Sympozjum: 'Wapń a Ekspresja Genów w Trakcie Różnicowania' - w ramach Zjazdu Europejskiego Towarzystwa Wapniowego (ECS) – 2010
21. Konferencja 'Od błony plazmatycznej do jądra komórkowego – szlaki sygnalizacyjne niezbędne do życia' – 2010
22. Konferencja 'Postępy w Hematologii, Onkologii i Terapii Komórkowej' - 2011

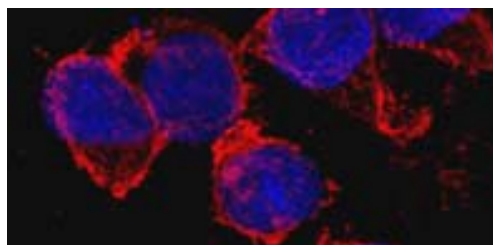
## **CZŁONKOWIE KOMITETU CYTOBIOLOGII PAN W DECYZYJNYCH GREMIACH NAUKOWYCH NASZEGO KRAJU**

**Przewodniczącym Komitetu Ewaluacji Jednostek Naukowych** jest **Prof. dr hab. med. Maciej Zabel** - Przewodniczący naszego Komitetu w latach 1998-2003 oraz Wiceprzewodniczący Rady Nauki i przewodniczący Komisji Badań na Rzecz Rozwoju Nauki w tej Radzie do 2010.

W **Komitecie Polityki Naukowej** jest **Prof. dr hab. Jacek Kuźnicki** - członek korespondent PAN i Dyrektor Międzynarodowego Instytutu Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie.

W 24-osobowym składzie **Rady Narodowego Centrum Nauki** jest **Prof. dr hab. med. Jakub Gołąb**, kierownik Zakładu Immunologii Centrum Biostruktury Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Warszawie.

W **Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów** w kadencji 2011-2014 są: **Prof. dr hab. Stanisław Przystański** - członek Honorowy naszego Komitetu i **Prof. dr hab. med. Maciej Zabel**.



**Członkowie Komitetu Cytobiologii PAN w kadencji 2011 - 2014  
wywodzą się z 24 placówek naukowych w całej Polsce**

**Uniwersytety: 10**

Uniwersytet Jagielloński  
Uniwersytet Łódzki  
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
Uniwersytet Śląski  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie  
Uniwersytet Warszawski  
Uniwersytet Wrocławski  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

**Uczelnie medyczne: 8**

Gdański Uniwersytet Medyczny  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu  
Pomorski Uniwersytet Medyczny  
Warszawski Uniwersytet Medyczny  
Akademia Medyczna we Wrocławiu

**Instytuty PAN: 3**

Instytut Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej PAN  
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN  
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN

**Instytuty rządowe: 2**

Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej;  
Instytut Ochrony Roślin-Państwowy Instytut Badawczy

**Inne: 1**

Wyższa Szkoła Medyczna w Białymstoku

<http://cytobiologia.nencki.gov.pl>