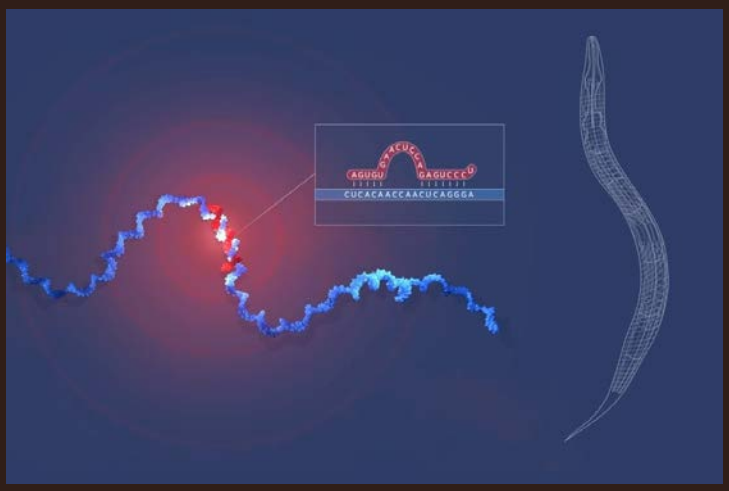
# Η ανακάλυψη του microRNA και ο ρόλος του στη μετα-μεταγραφική γονιδιακή ρύθμιση

## Νόμπελ Φυσιολογίας ή Ιατρικής 2024




Το βραβείο απονεμήθηκε στους Αμερικανούς επιστήμονες **Victor Ambros** και **Gary Ruvkun** για την ανακάλυψη των microRNA, μικρών μορίων RNA που παίζουν κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Η έρευνά τους αποκάλυψε πώς αυτά τα μικρά μόρια καθορίζουν ποια γονίδια είναι ενεργά σε κάθε τύπο κυττάρου, γεγονός που είναι θεμελιώδες για την ανάπτυξη και λειτουργία πολυκύτταρων οργανισμών.

Το φετινό βραβείο Νόμπελ τιμά δύο επιστήμονες για την ανακάλυψη μιας θεμελιώδους αρχής που διέπει τον τρόπο ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Οι πληροφορίες που είναι αποθηκευμένες στα χρωμοσώματά μας μπορούν να παρομοιαστούν με ένα εγχειρίδιο οδηγιών για όλα τα κύτταρα του σώματός μας. Κάθε κύτταρο περιέχει τα ίδια χρωμοσώματα, επομένως κάθε κύτταρο περιέχει ακριβώς το ίδιο σύνολο γονιδίων και ακριβώς το ίδιο σύνολο οδηγιών. Ωστόσο, διαφορετικοί τύποι κυττάρων, όπως τα μυϊκά και τα νευρικά κύτταρα, έχουν πολύ διαφορετικά χαρακτηριστικά.

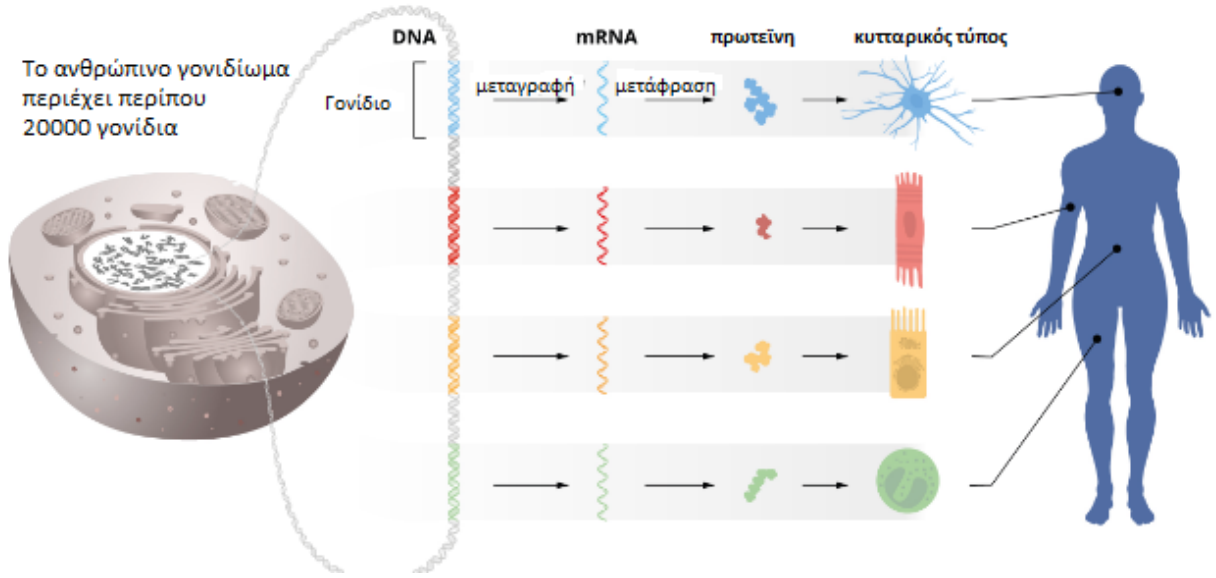
Πώς προκύπτουν αυτές οι διαφορές; Η απάντηση βρίσκεται στη γονιδιακή ρύθμιση, η οποία επιτρέπει σε κάθε κύτταρο να επιλέγει μόνο τις σχετικές οδηγίες. Αυτό εξασφαλίζει ότι μόνο το σωστό σύνολο γονιδίων είναι ενεργό σε κάθε κυτταρικό τύπο.

Ο Victor Ambros και ο Gary Ruvkun ενδιαφέρθηκαν για το πώς αναπτύσσονται οι διαφορετικοί τύποι κυττάρων. Ανακάλυψαν τα microRNA, μια νέα κατηγορία μικροσκοπικών μορίων RNA που παίζουν καθοριστικό ρόλο στη γονιδιακή ρύθμιση. Η πρωτοποριακή ανακάλυψή τους αποκάλυψε μια εντελώς νέα αρχή του γονιδιακής ρύθμισης, η οποία αποδείχθηκε απαραίτητη για τους πολυκύτταρους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Είναι πλέον γνωστό ότι το ανθρώπινο γονιδίωμα κωδικεύει πάνω από χίλια microRNA. Η εκπληκτική ανακάλυψή τους αποκάλυψε μια εντελώς νέα διάσταση της γονιδιακής ρύθμισης. Τα microRNA αποδεικνύονται θεμελιωδώς σημαντικά για τον τρόπο με τον οποίο οι οργανισμοί αναπτύσσονται και λειτουργούν.


## Η βασική ρύθμιση

Το φετινό βραβείο Νόμπελ επικεντρώνεται στην ανακάλυψη ενός ζωτικού ρυθμιστικού μηχανισμού που χρησιμοποιείται στα κύτταρα για τον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης. Η γενετική πληροφορία ρέει από το DNA στο αγγελιοφόρο RNA (mRNA), μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται μεταγραφή, και στη συνέχεια στον κυτταρικό μηχανισμό για την παραγωγή πρωτεϊνών. Εκεί, τα mRNA μεταφράζονται έτσι ώστε οι πρωτεΐνες να παράγονται σύμφωνα με τις γενετικές οδηγίες που είναι αποθηκευμένες στο DNA. Από τα μέσα του 20ού αιώνα, αρκετές από τις πιο θεμελιώδεις επιστημονικές ανακαλύψεις έχουν εξηγήσει πώς λειτουργούν αυτές οι διαδικασίες.

Τα όργανα και οι ιστοί μας αποτελούνται από πολλούς διαφορετικούς τύπους κυττάρων, όλοι με πανομοιότυπες γενετικές πληροφορίες αποθηκευμένες στο DNA τους. Ωστόσο, αυτά τα διαφορετικά κύτταρα εκφράζουν μοναδικά σύνολα πρωτεϊνών. Πώς είναι αυτό δυνατόν; Η απάντηση βρίσκεται στην ακριβή ρύθμιση της γονιδιακής δραστηριότητας, έτσι ώστε μόνο το σωστό σύνολο γονιδίων να είναι ενεργό σε κάθε συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο. Αυτό επιτρέπει, για παράδειγμα, τα μυϊκά κύτταρα, τα κύτταρα του εντέρου και οι διάφοροι τύποι νευρικών κυττάρων να επιτελούν τις εξειδικευμένες λειτουργίες τους. Επιπλέον, η γονιδιακή έκφραση πρέπει να ρυθμίζεται συνεχώς ώστε να προσαρμόζονται οι κυτταρικές λειτουργίες στις μεταβαλλόμενες συνθήκες του σώματος και του περιβάλλοντος. Εάν η γονιδιακή ρύθμιση είναι λανθασμένη, μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές ασθένειες όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης ή οι αυτοάνοσες νόσοι. Ως εκ τούτου, η κατανόηση της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης αποτελεί σημαντικό στόχο εδώ και πολλές δεκαετίες.




Η γενετική πληροφορία ρέει από το DNA στο mRNA στις πρωτεΐνες. Πανομοιότυπες γενετικές πληροφορίες είναι αποθηκευμένες στο DNA όλων των κυττάρων του σώματός μας. Αυτό απαιτεί ακριβή ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων, έτσι ώστε μόνο το σωστό σύνολο γονιδίων να είναι ενεργό σε κάθε συγκεκριμένο τύπο κυττάρου.

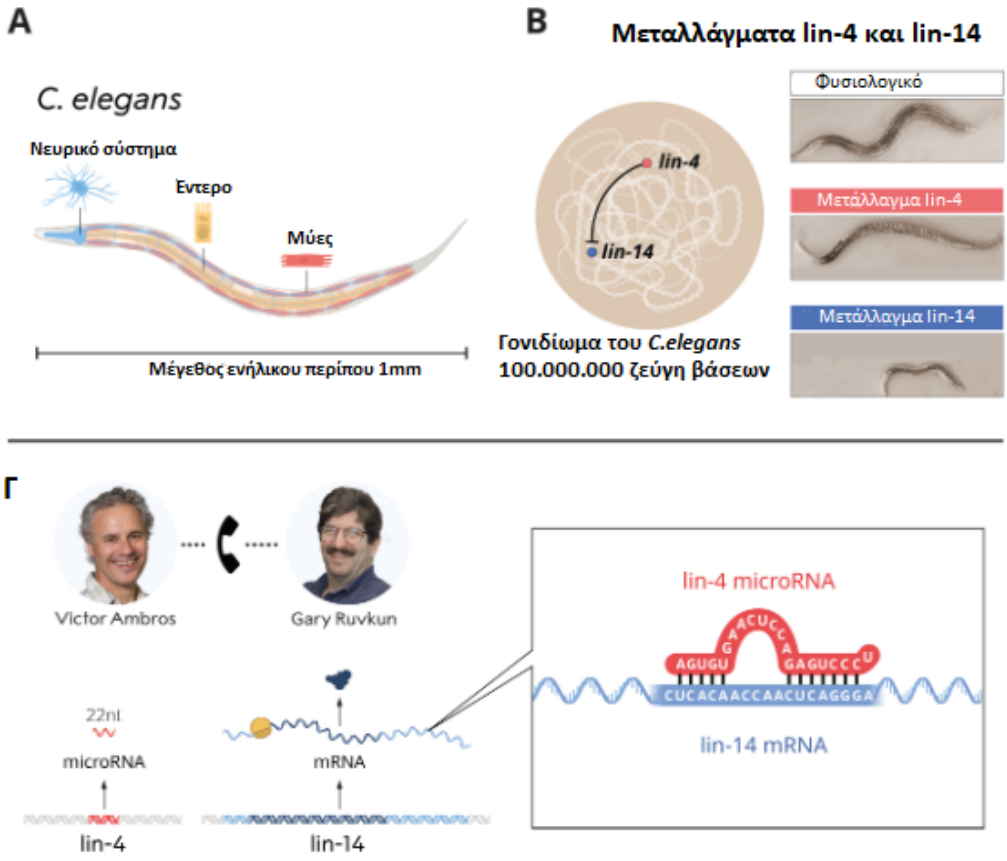
Τη δεκαετία του 1960, αποδείχθηκε ότι εξειδικευμένες πρωτεΐνες, γνωστές ως μεταγραφικοί παράγοντες, μπορούν να συνδέονται σε συγκεκριμένες περιοχές του DNA και να ελέγχουν τη ροή της γενετικής πληροφορίας καθορίζοντας ποια mRNA θα παραχθούν. Έκτοτε, έχουν ταυτοποιηθεί χιλιάδες μεταγραφικοί παράγοντες και για μεγάλο χρονικό διάστημα θεωρήθηκε ότι οι βασικές αρχές της γονιδιακής ρύθμισης είχαν επιλυθεί. Ωστόσο, το 1993, οι φετινοί νομπελίστες δημοσίευσαν απροσδόκητα ευρήματα που περιέγραφαν ένα νέο επίπεδο γονιδιακής ρύθμισης, το οποίο αποδείχθηκε ότι ήταν εξαιρετικά σημαντικό και διατηρήθηκε σε όλη την εξέλιξη.

## Η έρευνα για ένα μικρό σκουλήκι οδηγεί σε μια μεγάλη ανακάλυψη

Στα τέλη της δεκαετίας του 1980, ο Victor Ambros και ο Gary Ruvkun ήταν μεταδιδακτορικοί συνεργάτες στο εργαστήριο του Robert Horvitz, ο οποίος τιμήθηκε με το βραβείο Νόμπελ το 2002, μαζί με τον Sydney Brenner και John Sulston. Στο εργαστήριο του Horvitz, μελέτησαν ένα σχετικά ταπεινό στρογγυλό σκουλήκι μήκους 1 χιλιοστού, το *C. elegans*. Παρά το μικρό του μέγεθος, το *C. Elegans* διαθέτει πολλούς εξειδικευμένους κυτταρικούς τύπους, όπως νευρικά και μυϊκά κύτταρα που βρίσκονται και σε μεγαλύτερα, πιο πολύπλοκα ζώα, καθιστώντας το ένα χρήσιμο μοντέλο για τη διερεύνηση του τρόπου με τον οποίο οι ιστοί αναπτύσσονται και ωριμάζουν σε πολυκύτταρους οργανισμούς.

Οι Ambros και Ruvkun ενδιαφέρθηκαν για τα γονίδια που ελέγχουν το χρόνο ενεργοποίησης των διαφόρων γενετικών προγραμμάτων, εξασφαλίζοντας ότι οι διάφοροι κυτταρικοί τύποι αναπτύσσονται τη σωστή στιγμή. Μελέτησαν δύο μεταλλαγμένα στελέχη σκουληκιών, το *lin-4* και το *lin-14*, που εμφάνιζαν ελαττώματα στο συγχρονισμό της ενεργοποίησης γενετικών προγραμμάτων κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης. Οι βραβευθέντες ήθελαν να ταυτοποιήσουν τα μεταλλαγμένα γονίδια και να κατανοήσουν τη λειτουργία τους. Ο Ambros είχε δείξει προηγουμένως ότι το γονίδιο *lin-4* φαινόταν να

είναι αρνητικός ρυθμιστής του γονιδίου *lin-14*. Ωστόσο, ο τρόπος με τον οποίο παρεμποδίζεται η έκφραση του *lin-14* ήταν άγνωστος. Οι Ambros και Ruvkun γοητεύτηκαν από αυτά τα μεταλλάγματα και την πιθανή σχέση τους και ξεκίνησαν να επιλύσουν αυτά τα μυστήρια.




(Α) Ο C. elegans είναι ένας χρήσιμος οργανισμός-μοντέλο για την κατανόηση του τρόπου ανάπτυξης των διαφόρων κυτταρικών τύπων. (Β) Οι Ambros και Ruvkun μελέτησαν τα μεταλλάγματα *lin-4* και *lin-14*. Ο Ambros είχε δείξει ότι το *lin-4* εμφανιζόταν να είναι αρνητικός ρυθμιστής του *lin-14*. (Γ) Ο Ambros ανακάλυψε ότι το γονίδιο *lin-4* κωδικεύει ένα μικροσκοπικό RNA, microRNA, που δεν κωδικεύει μια πρωτεΐνη. Ο Ruvkun κλωνοποίησε το γονίδιο *lin-14* και οι δύο επιστήμονες συνειδητοποίησαν ότι η αλληλουχία του microRNA *lin-4* ταίριαζε με μια συμπληρωματική αλληλουχία στο mRNA του *lin-14*.

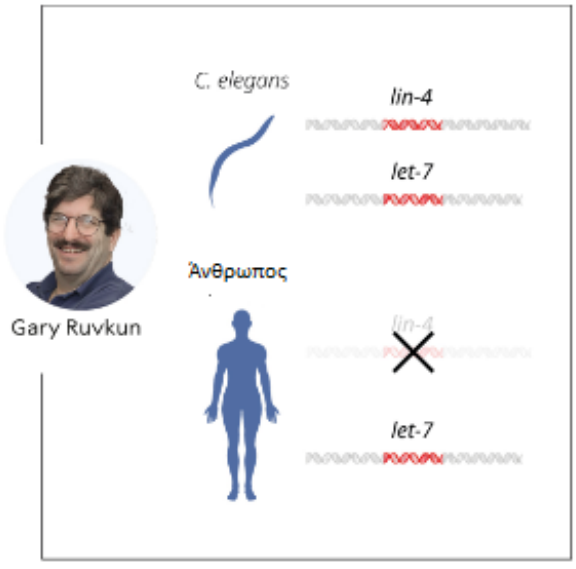
Μετά τη μεταδιδακτορική του έρευνα, ο Victor Ambros ανέλυσε το μεταλλαγμένο *lin-4* στο νεοσύστατο εργαστήριό του στο Πανεπιστήμιο του Χάρβαρντ. Η μεθοδική χαρτογράφηση επέτρεψε την κλωνοποίηση του γονιδίου και οδήγησε σε ένα απροσδόκητο εύρημα. Το γονίδιο *lin-4* παρήγαγε ένα ασυνήθιστα σύντομο μόριο RNA που στερείτο κώδικα για την παραγωγή πρωτεϊνών. Αυτά τα εκπληκτικά αποτελέσματα υπέδειξαν ότι αυτό το μικρό RNA από το *lin-4* ήταν υπεύθυνο για την αναστολή του *lin-14*. Πώς θα μπορούσε να λειτουργήσει αυτό;

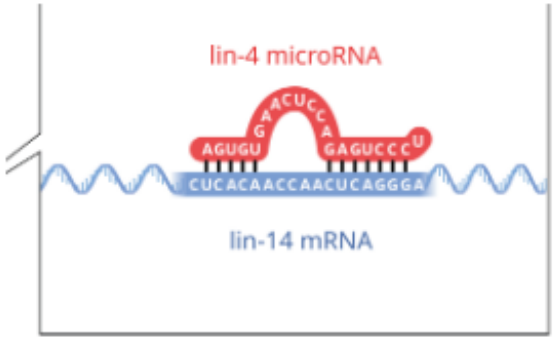
Ταυτόχρονα, ο Gary Ruvkun διερεύνησε τη ρύθμιση του γονιδίου *lin-14* στο νεοσύστατο εργαστήριό του στο Γενικό Νοσοκομείο της Μασαχουσέτης και στην Ιατρική Σχολή του Χάρβαρντ. Σε αντίθεση με τον τρόπο με τον οποίο ήταν τότε γνωστή η λειτουργία της γονιδιακής ρύθμισης, ο Ruvkun έδειξε ότι δεν είναι η παραγωγή mRNA από το *lin-14* που αναστέλλεται από το *lin-4*. Η ρύθμιση φάνηκε να συμβαίνει σε μεταγενέστερο στάδιο της διαδικασίας γονιδιακής έκφρασης, μέσω της διακοπής της παραγωγής πρωτεϊνών. Τα πειράματα αποκάλυψαν επίσης ένα τμήμα στο mRNA του *lin-14*

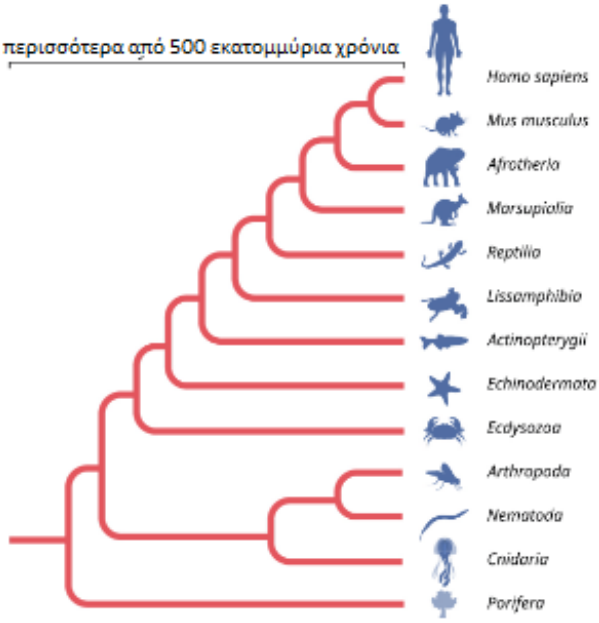
που ήταν απαραίτητο για την αναστολή του από το *lin-4*. Οι δύο βραβευθέντες συνέκριναν τα ευρήματά τους, γεγονός που οδήγησε σε μια επαναστατική ανακάλυψη. Η σύντομη αλληλουχία του *lin-4* ταίριαζε με συμπληρωματικές αλληλουχίες στο κρίσιμο τμήμα του mRNA του *lin-14*. Οι Ambros και Ruvkun πραγματοποίησαν περαιτέρω πειράματα που έδειξαν ότι το microRNA του *lin-4* απενεργοποιεί το *lin-14* συνδεόμενο με τις συμπληρωματικές αλληλουχίες στο mRNA του, εμποδίζοντας την παραγωγή της πρωτεΐνης *lin-14*. Μία νέα αρχή της γονιδιακής ρύθμισης, με τη μεσολάβηση ενός άγνωστου προηγουμένως τύπου RNA, του microRNA, είχε ανακαλυφθεί! Τα αποτελέσματα δημοσιεύθηκαν το 1993 σε δύο άρθρα στο περιοδικό Cell.

Τα δημοσιευμένα αποτελέσματα αντιμετωπίστηκαν αρχικά με σχεδόν εκκωφαντική σιωπή από την επιστημονική κοινότητα. Παρόλο που τα αποτελέσματα ήταν ενδιαφέροντα, ο ασυνήθιστος μηχανισμός γονιδιακής ρύθμισης θεωρήθηκε ιδιαιτερότητα του *C. elegans*, πιθανώς άσχετη με τον άνθρωπο και άλλα πιο πολύπλοκα ζώα. Η αντίληψη αυτή άλλαξε το 2000, όταν η ερευνητική ομάδα του Ruvkun δημοσίευσε την ανακάλυψη ενός άλλου microRNA, που κωδικοποιείται από το γονίδιο *let-7*. Σε αντίθεση με το *lin-4*, το γονίδιο *let-7* ήταν εξαιρετικά συντηρημένο και παρόν σε όλο το ζωικό βασίλειο.

Το άρθρο προκάλεσε μεγάλο ενδιαφέρον και τα επόμενα χρόνια εντοπίστηκαν εκατοντάδες διαφορετικά microRNA. Σήμερα, γνωρίζουμε ότι υπάρχουν περισσότερα από χίλια γονίδια για διαφορετικά microRNA στον άνθρωπο και ότι η γονιδιακή ρύθμιση από microRNA είναι καθολική μεταξύ των πολυκύτταρων οργανισμών.




Ο Ruvkun κλωνοποίησε το *let-7*, ένα δεύτερο γονίδιο που κωδικεύει ένα microRNA. Το γονίδιο είναι συντηρημένο στην εξέλιξη, και είναι πλέον γνωστό ότι η ρύθμιση των microRNA είναι καθολική μεταξύ των πολυκύτταρων οργανισμών.

Εκτός από τη χαρτογράφηση νέων microRNA, πειράματα από διάφορες ερευνητικές ομάδες διαλεύκαναν τους μηχανισμούς του τρόπου με τον οποίο τα microRNA παράγονται και παραδίδονται σε συμπληρωματικές αλληλουχίες-στόχους στα ρυθμιζόμενα mRNA. Η πρόσδεση των microRNA οδηγεί σε αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης ή σε αποικοδόμηση του mRNA. Είναι ενδιαφέρον ότι ένα και μόνο microRNA μπορεί να ρυθμίζει την έκφραση πολλών διαφορετικών γονιδίων και αντίστροφα, ένα και μόνο γονίδιο μπορεί να ρυθμίζεται από πολλά microRNA, συντονίζοντας και ρυθμίζοντας έτσι ολόκληρα δίκτυα γονιδίων.

Ο κυτταρικός μηχανισμός για την παραγωγή λειτουργικών microRNA χρησιμοποιείται επίσης για την παραγωγή άλλων μικρών μορίων RNA τόσο στα φυτά όσο και στα ζώα, για παράδειγμα ως μέσο προστασίας των φυτών από μολύνσεις από ιούς. Andrew Z. Fire και Craig C. Mello, βραβείο Νόμπελ το 2006, περιέγραψε τη δράση του iRNA (παρέμβαση RNA), όπου συγκεκριμένα μόρια mRNA αδρανοποιούνται με την προσθήκη δίκλωνου RNA στα κύτταρα.

## Μικροσκοπικά RNA με σημαντική φυσιολογική σημασία.

Η γονιδιακή ρύθμιση μέσω microRNA, που αποκαλύφθηκε για πρώτη φορά από τους Ambros και Ruvkun, λειτουργεί εδώ και εκατοντάδες εκατομμύρια χρόνια. Ο μηχανισμός αυτός επέτρεψε την εξέλιξη όλο και πιο πολύπλοκων οργανισμών. Γνωρίζουμε από τη γενετική έρευνα ότι τα κύτταρα και οι ιστοί δεν αναπτύσσονται κανονικά χωρίς microRNA. Η μη φυσιολογική ρύθμιση από τα microRNA μπορεί να συμβάλει στον καρκίνο και μεταλλαγές σε γονίδια που κωδικεύουν τα microRNA έχουν βρεθεί σε ανθρώπους, προκαλώντας καταστάσεις όπως συγγενής απώλεια ακοής, οφθαλμικές και σκελετικές διαταραχές. Μεταλλαγές σε μία από τις πρωτεΐνες που απαιτούνται για την παραγωγή των microRNA οδηγούν στο σύνδρομο DICER1, ένα σπάνιο αλλά σοβαρό σύνδρομο που συνδέεται με καρκίνο σε διάφορα όργανα και ιστούς.

Η πρωτοποριακή ανακάλυψη των Ambros και Ruvkun στο μικρό σκουλήκι *C. elegans* ήταν απροσδόκητη και αποκάλυψε μια νέα διάσταση της γονιδιακής ρύθμισης, απαραίτητη για όλες τις πολύπλοκες μορφές ζωής.