

Vägen från genomstruktur till bot av sjukdom är lång och krokig

Forskare med molekylär inriktning och forskare som kan fysiologi bör samarbeta

Idag är ungefär en tredjedel av det mänskliga genomets struktur känd; inom halvtannat år lär hela det mänskliga genomet vara kartlagt. Detta innebär tvivelsutan en milstolpe i den biomedicinska vetenskapen. Det är emellertid viktigt att minnas att detta, med Churchills ord, inte är slutet; »det är inte ens början till slutet, men kanske är det slutet på början» av vår ignorans. Vägen från kännedom om struktur till förståelse av normal och patologisk funktion är oerhört lång och krokig.

Det kan exempelvis vara värt att minnas att vi i mer än tio år har haft fullständig kunskap om genomstrukturen hos vissa virus. Trots att virusgenomet kodar för endast ett hundratal proteiner vet vi idag inte ens vad hälften av dessa egentligen har för funktion. Ju mer komplext genomet är, desto svårare kommer det att bli att förstå hur alla genprodukter samverkar för att anpassa en organisms funktioner till en komplex miljö.

Historien om en misslyckad potatis

Dr Richard Trethvey och hans kolleger vid Max Planck-institutet för växtfysiologi i Golm tyckte att det vore en bra idé att framställa en potatis med ökad mängd stärkelse som framtida industriell råvara [1]. De gjorde därför det uppenbara och satte in en extra kopia av den gen som utförde det första, hastighetsbegränsande steget i stärkelseproduktionen. När de hade introducerat genen för detta enzym, invertas, fann de till sin stora förvåning att de hade fått fram livsdugliga potatisar, men att dessa potatisar hade endast 80 procent av

den normala stärkelsemängden. Detta berodde på att potatisens ämnesomsättning hade ändrats till produktion av glukos, inte stärkelse.

De introducerade därför ytterligare ett enzym, glukokinas, för att korrigera. Resultatet blev emellertid att stärkelsemängden sjönk med ytterligare närmare 20 procent.

Denna berättelse visar med all önskvärd tydlighet att vår kunskap om hur även relativt enkla reaktioner kontrolleras av specifika gener är mycket ofullständig. Särskilt dåliga är vi på att göra specifika förutsägelser. Det har exempelvis påpekats att vi inte ens kan förut säga hur många ben ett djur har genom att titta på strukturen av dess genom.

Vad som krävs är alltså en drastiskt ökad kunskap om hur genprodukterna fungerar. Detta brukar kallas »functional genomics».

Betydelsen av »functional genomics»

Det görs därför stora satsningar runt om i världen – vid universitet såväl som inom industrin – inom området »functional genomics». Bland annat satsar man stort på att öka förmågan att översätta kunskap om genomstruktur till kunskap om proteinstruktur [2]. Varje vecka klargörs den exakta tredimensionella strukturen hos ytterligare några proteiner. Härigenom har grunden lagts till en stor databas, där sambandet mellan proteiners aminosyrasekvens och deras tredimensionella struktur samlats.

Förhoppningen är att när databasen växer kommer det att bli möjligt att förut säga strukturen från sekvensen. Eftersom den tredimensionella strukturen hos ett protein bestämmer vilka andra molekyler proteinet kan interagera med får vi också en aning om vad proteinet gör: vi kan göra en begåvad gissning om huruvida det är ett enzym, vilkens sorts enzym det är, om det är ett transportprotein och vad det i så fall kan tänkas

transportera, om det är en transkriptionsfaktor osv.

Studier av enskilda proteiners funktion i provrör ...

Inget tvivel råder om att detta expanderande forskningsområde, som kan kallas »proteomics», är, och kommer att bli, av oerhörd betydelse för att nå förståelse av nya genprodukters funktion. Inget tvivel kan emellertid heller råda om att dessa förutsägelser från struktur till funktion endast är förutsägelser, och som sådana inte helt säkra.

Proteinernas funktion måste också undersökas i funktionella test. Vissa proteiner låter sig undersökas i lösning i provröret. Andra utövar sina funktioner endast i intakta celler. Sannolikt är det så, att en majoritet av cellens proteiner utövar sina verkligt väsentliga funktioner endast när de befinner sig på exakt rätt plats i en cell. Detta gäller uppenbarligen alla proteiner som ligger inbäddade i något av cellens lipidmembran. Men även många av de proteiner som vi traditionellt har betraktat som lösliga verkar i själva verket ingå i funktionella strukturer i cytoplasman.

... eller i intakta celler

För att studera funktionen av sådana proteiner krävs alltså studier på celler. Proteinet kan uttryckas, eller dess uttryck kan slås ut, i celler i kultur. För att åstadkomma det förra kan mRNA, som kodar för det protein vars funktion man önskar studera, injiceras i en cell. Detta kan lättast åstadkommas i stora celler, och grodors äggceller har nyttjats för detta.

Cellernas membran kan också på olika sätt göras permeabla, så att mRNA passerar in i cellen. Flera av de celler som utsatts för detta har *transfekterats* med det nya proteinet, och dess funktion kommer förhoppningsvis att kunna studeras.

För att hindra uttrycket av funktionellt protein kan i stället cellerna transfekteras med antisensnukleotider, som

Författare

BERTIL B FREDHOLM

professor, institutionen för fysiologi och farmakologi, Karolinska institutet, Stockholm.

på en av flera lika mekanismer hindrar uttrycket av protein i den transfekterade cellen. När man vet mer om ett protein kan man ibland konstruera s k dominant negativa mutanter, dvs proteiner som så förändrats att de inte längre kan utföra sina normala funktioner.

Eftersom proteinet fortfarande besitter huvuddelen av sin struktur kommer det emellertid att tävla med det fungerande proteinet, vars funktion därmed blir undertryckt.

Dessa kraftfulla metoder gör det möjligt att studera hur enskilda genprodukter ingriper i normal signalering i celler. Det har emellertid visat sig i flera fall att en viss genprodukt kan ha olika funktioner beroende på vilken cell som studeras. Det är således inte alltid möjligt att dra generella slutsatser. De cellbiologiska metoderna visar vad genprodukterna har kapacitet att göra, inte nödvändigtvis vad de de facto gör i den intakta organismen.

Det bör i sammanhanget påpekas att de celler som studeras i kultur inte alls är typiska för celler i sitt funktionella sammanhang. Celler i kultur är i allmänhet tumörceller, med allt vad det innebär.

Modulär biologi

Det har nyligen påpekats att cellbiologin idag genomgår en förändring »från en vetenskap som sysslar med att tillskriva enskilda proteiner en funktion till en som söker handskas med komplexa uppsättningar av molekyler som samverkar i funktionella moduler» [3]. Detta kommer att kräva en helt ny uppsättning av metoder:

- Metoder att åstadkomma och följa dynamiska processer i enskilda celler eller i organismer.
- Metoder att återskapa funktionella moduler från sina delar.
- Metoder som kombinerar experiment med datormodellering. Dato-

” ”

Svensk fysiologi och farmakologi har – med få undantag – motstått den internationella tendensen att bedriva forskning i huvudsak på molekylär och cellulär nivå. Inom fysiologin har det internationella genomslaget för svensk forskning minskat. Farmakologin har hävdat sig betydligt bättre, och artiklar av svenska farmakologer är betydligt mer citerade än genomsnittet i världen.

Denna metodologiska konservatism innebär emellertid att vi står bättre rustade än kollegerna i andra länder att bedriva genetisk fysiologi.

terna blir nödvändiga därför att vi saknar förmåga att med ren hjärnkraft förutsäga hur olika studerade komponenter samverkar i en funktionell modul [2].

Insiktsfulla moderna cellbiologer understryker således att det mest simplistiska reduktionistiska forskningsparadigmet har nått en återvändsgränd. Studier av enskilda isolerade komponenter räcker inte för att verkligen förstå fysiologiska funktioner – ens i den enskilda cellen. Komplexiteten är helt enkelt för stor.

Behovet av genetisk fysiologi

Det finns således inga genvägar: vill man förstå funktionen i en intakt organism eller ett intakt organ måste man studera hela organismen eller hela organet. Det krävs ett ökat samarbete mellan forskare med en molekylär inriktning och forskare som kan fysiologi. Detta var utgångspunkten för ett nationellt möte finansierat av bl a Wallenbergstiftelsen som arrangerades på Karolinska Institutets Nobelforum i december förra året.

Svensk fysiologi och farmakologi

har – med få undantag – motstått den internationella tendensen att bedriva forskning i huvudsak på molekyllär och cellulär nivå. Inom fysiologin har det internationella genomslaget för svensk forskning minskat. Farmakologin har hävdat sig betydligt bättre, och artiklar av svenska farmakologer är betydligt mer citerade än genomsnittet i världen. Denna metodologiska konservatism innebär emellertid att vi står bättre rustade än kollegerna i andra länder att bedriva genetisk fysiologi.

Genetisk fysiologi kan definieras som den disciplin som studerar betydelsen av enskilda genprodukter eller grupper av genprodukter i intakta system, med syfte att förstå betydelsen av de genetiska förändringar som är associerade med mänsklig sjukdom. Målet med denna forskning är att snabbt om-sätta genetisk och molekyllär information till ny terapi. En metodologisk tyngdpunkt för sådan forskning kommer att vara studiet av genetiskt förändrade djur.

Genetiskt förändrade djur kräver nya metoder

Under de senaste tio åren har tekniken att överuttrycka genprodukter generellt eller specifikt i vissa organ utvecklats. Dessa metoder kan i princip användas på alla däggdjur, men flertalet studier utförs på råttor eller mus. Än mer dramatisk har utvecklingen inom tekni-

kerna att specifikt slå ut, »knock out», gener varit. Av tekniska skäl låter sig detta utföras endast på mus. Sådana »knock out»-möss har blivit ett ovärderligt medel att avgöra hur specifika genprodukter modifierar individens utveckling. De har också gett viktig information om betydelsen av specifika genprodukter i fysiologiska och patofysiologiska tillstånd.

Troligen kommer nya varianter av knock out-teknikerna, där t ex genprodukter kan inaktiveras på ett kontrollerat sätt och endast i vissa organ, att ytterligare bidra till sådan förståelse.

För att kunna ta tillvara den kunskap som dessa genetiskt modifierade djur kan ge krävs emellertid adekvata metoder att studera fysiologiska och patofysiologiska processer hos möss. Många av de metoder som har utvecklats för att studera exempelvis kardiovaskulär funktion, respiration eller njurfunktion hos större djur kan miniaturiseras och användas på mus. Detsamma gäller de tekniker som använts för att studera isolerade organ. Användningen av mus i dessa försök kräver dock investering i ny apparatur samt god träning i mikrotekniker.

För andra funktioner kan helt nya testmodeller komma att krävas. Inte minst gäller detta studiet av centralnervösa funktioner. För sådana studier krävs forskare som kan utvärdera djurs beteenden. Många beteendemodeller har utvecklats för råttor, men dessa kan inte a priori översättas till mus. Av denna anledning pågår över hela världen intensiva studier för att förstå musens normala beteende och för att kunna tolka beteendeförändringar. Även här krävs investeringar, inte minst i ny kompetens.

Svensk forskning på väg

Vi är på väg in i en postgenomisk era av biomedicinsk forskning. Även om man har stora förhoppningar om att förbättrad databehandling skall göra det

möjligt att från struktur förutsäga funktion är vägen dit mycket lång. Speciellt behövs mycket information rörande funktion såväl i intakta organismer som i intakta organ.

Svensk forskning kan här spela en mycket viktig roll. För att det skall ske krävs emellertid målmedveten kompetensuppgygnad.

Referenser

1. Chircurer M. The bigger picture. *New Scientist* 1999; 164: 39-42.
2. Bray D. Reductionism for biochemists: How to survive in the protein jungle. *Trends Biochem Sci* 1997; 22: 325-30.
3. Hartwell LH, Hopfield JJ, Liebler S, Murray AW. From molecular till modular cell biology. Impacts of foreseeable science. *Nature* 1999; 402 suppl: C47- C52.

*Se även reportaget
på sidan 2098 i detta nummer.*

Medicinsk kommentar är Läkartidningens forum för signerade medicinska ledare. Merparten av dessa är beställda av redaktionen, och vi välkomnar förslag om aktuella frågor som bör tas upp i denna form. Vi vill där även fånga in och belysa aktuella medicinska rön presenterade annorstädes.

Finns något i din specialitet att kommentera? Ta kontakt med redaktionen innan du börjar skriva för att undvika dubbelarbete!