

analiz poszczególnych teorii fizycznych, choćby te ostatnie były najbardziej współczesne, nie są wiążące dla poszczególnych stanowisk w filozofii fizyki dopóty, dopóki nie wejdzie się z nimi w bezpośrednią dyskusję. Literatura przedmiotu jest jednak tak bogata i różnorodna, że nie sposób podważać tez realizmu bądź instrumentalizmu bez uprzedniej szczegółowej analizy tych stanowisk na podstawie ich reprezentatywnych przedstawicieli. Jeżeli się tego nie uczyni, świadomie lub nieświadomie, to wnioski będą zawsze zrelatywizowane do przyjętych mniej lub bardziej świadomie ograniczeń. Tak też jest i w przypadku omawianej pracy. Nie można bowiem *a limine* odrzucać instrumentalizmu na podstawie krytyki jednego z możliwych stanowisk w całym spektrum istniejących i możliwych. Z drugiej zaś strony argumentacja na rzecz realizmu nie może być zupełna bez uwzględnienia np. stanowiska tak wpływowego współcześnie filozofa nauki, jakim jest Ian Hacking, tym bardziej że jego stanowisko w sprawie istnienia desygnatów terminów teoretycznych pokrywa się z krytykowanym stanowiskiem Nancy Cartwright. Dyskusyjne jest również częste używanie przez autorkę terminu „realizm naiwny” w odniesieniu do pewnych stanowisk epistemologicznych, bowiem we współczesnej filozofii nikt nie przyznaje się do realizmu naiwnego, zakładając, że jest to również pewna forma realizmu krytycznego.

*Zenon Eugeniusz Roskal*

*Stress-induced proteins*. Ed. M. L. Pardue, J. R. Feramosco, S. Lindquist. Alan R. Liss, Inc. New York 1989 ss. XVIII + 294.

Reakcja komórek na szok cieplny (*heat shock* = hs) jest przedmiotem rozlicznych i stale zwiększających się badań i publikacji naukowych. Obecnie badania w tej dyscyplinie należą do najbardziej interesujących z zakresu biologii molekularnej. Okazało się, że prawie wszystkie grupy organizmów: bakterie, rośliny i zwierzęta, włączając w to człowieka, reagują na hs zasadniczo w taki sam sposób. Chociaż stanowią młodą dyscyplinę naukową (odkrycie białek szoku cieplnego zostało dokonane w 1974 r. u *Drosophila melanogaster* przez Tissieresa), odbyły się już trzy znaczące sympozja badaczy tego zjawiska. Pierwsze miało miejsce w 1982 r. w Nowym Jorku, a trzecie w dniach 10-16 kwietnia 1988 r. To ostatnie zostało zorganizowane przez UCLA w Keystone, CO, a dotyczyło białek indukowanych przez szok cieplny. Zgromadziło 186 biologów z całego świata, zajmujących się zjawiskiem odpowiedzi organizmu na szok cieplny. Owocem tego sympozjum jest m.in. książka *Stress-induced proteins*, której redaktorami są: M. L. Pardue (Massachusetts Institute of Technology), J. R. Feramosco (University of California, Cancer Center, La Jolla) i S. Lindquist (University of Chicago).

Reakcja na szok cieplny jest zasadniczo odpowiedzią pojedynczej komórki. Nawet w przypadku wielokomórkowych organizmów jest badana w homogenicznych kultu-

rach komórek danych organizmów. Szczególnie eksperymenty prowadzone na bakteriach i drożdżach przyczyniły się do zrozumienia hs na poziomie molekularnym. Jednak nadal jest aktualne pytanie dotyczące roli hs w procesach fizjologicznych, przede wszystkim u organizmów wielokomórkowych. U zwierząt bowiem wielokomórkowych liczne stesy są odbierane przez określony rodzaj komórek czy tkanek, np. system nerwowy czy immunologiczny. Sposób, w jaki reaguje organizm na szok/stres cieplny, stanowi przedmiot licznych badań.

Równocześnie z sympozjum dotyczącym białek indukowanych szokiem w Keystone odbyło się inne sympozjum, także zorganizowane przez UCLA, na którym uczestnicy dyskutowali o wpływie stresu na organizm w ujęciu całościowym. Obie grupy uczestników odbyły wspólne sesje.

Prace przedstawione na sympozjum dotyczącym białek indukowanych hs obejmowały liczne dziedziny biologii molekularnej reakcji na hs. Geny dla większości białek indukowanych hs (*heat shock protein* = HSP) zostały sklonowane i zsekwencjonowane u wielu organizmów. Wiadomo, że wszystkie te białka albo białka podobne do HSP, nazywane białkami spokrewnionymi z nimi (*heat shock cognate* = HSC), podlegają także ekspresji w komórkach nie poddanych stresowi. Chociaż rola tych białek w hs nie jest jeszcze zrozumiała, informacje przedstawione na sympozjum wskazywały na to, że bardziej znane są ich funkcje w normalnych warunkach życia komórek. Sympozjum ujawniło, że pod wpływem hs są modyfikowane liczne struktury i czynności komórkowe. Tak np. indukowane jest nowe nie kodujące RNA, następuje przebudowa cytoszkieletu, zmienia się aktywność enzymatyczna niektórych białek, odmiennej obróbce podlega RNA.

Dane przedstawione na sympozjum dostarczyły nowego wglądu w strukturę chromatyny, związanej z genami szoku cieplnego. Bardzo interesujące okazały się także wyniki badań czynników transkrypcji u *Drosophila*, drożdży, ssaków i człowieka.

Ewolucyjna konserwatywność reakcji hs jest silnym dowodem na to, że ta reakcja jest korzystna zarówno dla komórki, jak i dla całego złożonego organizmu. Najbardziej realną korzyścią dla organizmu jest uzyskiwanie termotolerancji na skutek hs. Tak indukowana termotolerancja jest jednak przejściowa i organizm traci ją po kilku godzinach albo po kilku dniach. Poznanie mechanizmu termotolerancji może mieć duże znaczenie praktyczne dla uzyskania adaptacji roślin użytkowych do wyższych temperatur wzrostu czy też uniknięcia u nich pewnych anomalii rozwojowych, spowodowanych wyższą temperaturą. Pełne zrozumienie tego zjawiska może też dostarczyć wskazówek w leczeniu raka, gdzie hipertermia jest stosowana jako jeden ze środków terapeutycznych.

Zaskakujące okazało się stwierdzenie, że HSP są większymi antygenami w wielu chorobach infekcyjnych. Określony stosunek między reakcją hs i systemem immunologicznym wskazuje na fundamentalne znaczenie tego zjawiska.

Omawiana książka *Stress-induced proteins* – owoc wspomnianego sympozjum – obejmuje 23 artykuły, z których każdy jest najczęściej wynikiem pracy szerszego zespołu. Są one zestawione w sześć rozdziałów, które ujmują najbardziej interesujące zagadnienia: organizacja genów szoku cieplnego (1), regulacja transkrypcji u prokariota i eukariota (2), różne reakcje komórki na szok cieplny (3), funkcje białek

szoku cieplnego (4), termotolerancja (5) i pewne kliniczne problemy związane z szokiem cieplnym (6).

W ramach omawianej organizacji genów *hs* (rozdz. 1) zwrócono uwagę (Bendena i in.) na specyficzny charakter locus szoku cieplnego, tzw. *hsr* (*heat shock RNA omega*). Produktem tego locus jest RNA, a nie białko. Trzy gatunki *Drosophila* produkują trzy większe RNA, zwane omega 1, omega 2 i omega 3. Te transkrypty są produkowane u większości typów komórek konstytutywnie, ale poziom transkryptów zwiększa się kilkakrotnie po szoku cieplnym. Okazało się również, że mogą być indukowane nie tylko szokiem cieplnym, ale także bardzo specyficznymi czynnikami, jak kolchicina. Mimo znacznej różnicy sekwencyjnej posiadają pewne regiony konserwatywne, które wskazują na podobieństwo ich funkcji. Są dane wskazujące, że *hsr* mogą koordynować pewne aktywności jądrowe (regulacja transkrypcji) i cytoplazmatyczne (regulacja translacji).

Pewien wgląd w mechanizm kierujący regulacją genu *hs* u eukariota udało się uzyskać przez określenie specyficznej interakcji białka-DNA na przykładzie genu *hsp 26* u *Drosophila*. Uczynił to Dietz ze współautorami. Okazało się, że regulacja jest związana z czynnikiem transkrypcji szoku cieplnego (*heat shock factor* = HSF), którego obecność zmienia strukturę DNA i umożliwia działanie polimerazy.

W ramach zagadnień związanych z regulacją transkrypcji (rozdz. 2) określono Bukau i in., że białka DnaK i GroE (jedne z najobficiej występujących białek szoku cieplnego u *Escherichia coli*) odgrywają dużą rolę w metabolizmie tego organizmu zarówno w niskich, pośrednich, jak i wysokich temperaturach. Duża konserwatywność białek DnaK i GroE wskazuje na wielką ich rolę biologiczną. Białka te odgrywają istotną i znaną rolę we wzroście różnych bakteriofagów w organizmie gospodarza. Natomiast ich funkcje dla samej komórki są nadal mało zrozumiałe. Istnieją pewne sugestie, że DnaK ma duże znaczenie w inicjacji replikacji DNA lambda, przynajmniej w wyższej temperaturze, a także w regulacji odpowiedzi na szok cieplny. Białka GroE – jak wynika – są wymagane do składania główki faga lambda w czasie jego morfogenezy.

O roli białek szoku cieplnego *E.coli* we wzroście bakteriofaga lambda przedstawia opracowanie Georgopoulou i jego współautorów. Inicjacja regulacji DNA faga lambda w komórce *E.coli* jest zależna od wielu czynników gospodarza, a m.in. DnaK, DnaJ i GroE, które należą do białek szoku cieplnego. Natomiast białka GroES i GroEL, które są także *hsp*, wpływają na morfogenezę główki bakteriofaga przez wytwarzanie łącznika główki i ogonka. Bakteriofag lambda nie tylko w znacznym stopniu zależy od *hsp E.coli* w swym wzroście, ale także modyfikuje reakcję następującą po jego infekcji. Pewne elementy regulacji transkrypcji u eukariota przedstawia praca Craiga i in. dotycząca kompleksu regulacyjnego trzech indukowanych ciepłem genów *hsp 70* u *Saccharomyces cerevisiae*, a mianowicie genów SSA 1, SSA 3 i SSA 4. Oprócz ogólnych mechanizmów indukcji ciepłem, te ostatnie zawierają bardziej skomplikowany mechanizm, w którym biorą udział występujące w regionie promotorowym specyficzne sekwencje, tzw. elementy szoku cieplnego (*heat shock element* = HSE), które są w stanie wiązać specyficzny HSF. Daje to możliwość zróżnicowanej regulacji wielu różnych genów HSP w prawie identycznych lub spokrewnionych funkcjach.

Tamaka i in. wykazali, na podstawie analizy transkrypcyjnej genów szoku cieplnego UBI 4 i SSA 1, że ekspresję tych genów u drożdży reguluje cAMP i hs; natomiast indukcja ich przez hs nie jest pośredniczona przez cAMP. Lis i in. przedstawili wyniki licznych badań, w tym także swoich, nad strukturą regionu regulatorowego genów szoku cieplnego. Szczególnie zainteresowano się HSE, który został zsekwencjonowany. Ustalono, że istotny element stanowi 5 par zasad (-GAA-). Dwie takie kopie są wymagane dla wysokich poziomów ekspresji indukowanej szokiem cieplnym hsp 70 u *Drosophila*. Sekwencje te łączą się ze specyficznym białkiem, HSF. Badania nad regulacją transkrypcji w ludzkich genach hs przedstawił Morimoto i in. Transkrypcja genu ludzkiego HSP 70 jest indukowana przez warunki stresowe, takie jak: hs, jony metali ciężkich (np. kadm), analogi aminokwasów oraz infekcję wirusową (np. adenowirusem E1A). Indukcja transkrypcji ludzkiego genu HSP 70 infekcją wirusową wymaga obecności w promotorze między -68 a -64 sekwencji CCAAT; dla indukcji szokiem cieplnym i kadmem wymagany jest pojedynczy element szoku cieplnego w -107. Zostały zidentyfikowane zarówno HSE, jak i HSF, a także zbadano charakter ich wiązania. Transkrypcja genów hs takich, jak hsp 70 zależy od wzajemnego oddziaływania HSF z HSE. HSF wiąże HSE tylko w czasie stresu, ale HSF istnieje w nieaktywnej formie w normalnych komórkach i jest aktywowane dopiero poprzez stres. Próbę wyjaśnienia mechanizmu tej aktywacji przez hs podjął Bonner wspólnie ze współpracownikami w artykule *Genetyczna analiza reakcji na szok cieplny u Drosophila*.

Rozdz. 3 obejmuje wiele aspektów reakcji komórkowych na hs. Hallberg i in. przedstawili wyniki badań nad metabolizmem małych RNA indukowanych stresem u *Tetrachymena*. W czasie hs następuje gwałtowna akumulacja małych RNA, tzw. G8 RNA, które wiąże się z dużą podjednostką rybosomalną. Może być ono strukturalnym RNA, odgrywając rolę w regulacji syntezy białka. Sekwencja nukleotydów G8 RNA jest podobna do dwu innych małych RNA, a mianowicie 4.5S RNA u *E.coli* oraz eukariotycznego 7S RNA, które również wiążą się z rybosomami i mogą modyfikować albo regulować syntezę białka w komórce.

Pewne inhibitory transportu anionów w błonie komórkowej indukują zmiany w ekspresji genów i wzroście komórki typowe dla reakcji na hs w komórkach *Kc Drosophila*. Dokładniejsze badania nad tym zjawiskiem podjął Sherwood ze współpracownikami w przekonaniu, że odkryje pełniejsze mechanizmy fizjologiczne, ważne dla indukcji i regulacji odpowiedzi na hs.

Qian i in. przedstawili pracę nad wyizolowaniem i scharakteryzowaniem u *Drosophila* genu kodującego białko rybosomalne rpA 1. Autorzy skonstruowali antysensowny gen rpA 1, zależny od promotora genu hsp 70. Taki gen wprowadzili do embriona *Drosophila*. Jego indukcja w transformowanych muszkach wpływała silnie na oogenezę. Tworzyły się nienormalne i niepłodne jaja. Autorzy usiłują wyjaśnić mechanizm powstawania takiego fenotypu.

Zmiany molekularne w fibroblastach kurcząt, poddanych stresowi cieplnemu czynnika chemicznego, przedstawił Schlesinger i in. W warunkach stresu zmniejsza się nieco synteza białek, podczas gdy synteza DNA jest zatrzymana, spada także całkowita synteza RNA, inhibowana jest obróbka rRNA, zmniejsza się pula wolnej ubikwityny, a równocześnie zwiększa się ilość związanej (jednakowoż ubikwityna związana z histonem H2A (U-H2A) jest uwalniana prawie natychmiast po rozpo-

części stresu), geny dla ubikwityny są aktywowane dla zwiększenia ich produktu. Ani wewnątrzkomórkowa pula ATP i fosfokreatyny, ani wewnątrzkomórkowe pH i poziom wapnia nie ulegają znacznym zmianom. W komórkach poddanych stresowi HSP 24 agreguje się, przyjmując postać dużych granuli. Zaobserwowane zmiany autorzy próbują powiązać dla wyjaśnienia, w jaki sposób większa HSP funkcjonują w ochronie komórek poddanych stresowi i ich powrocie do normalnego funkcjonowania po ustąpieniu stresu.

Wyniki badań (Pratt i in.) nad metabolizmem ubikwityny (jedno z małych HSP) w komórkach ssaków poddanych stresowi arsenianem, etanolem i podwyższoną temperaturą wykazały, że ubikwityna w tych przypadkach brała udział w metabolizmie białek, w regulacji odpowiedzi na hs oraz różnie wiązała się z histonami. Konserwatywność tych białek i powszechne występowanie wśród wszystkich organizmów potwierdziły przypuszczenie, że reakcja na hs była jednym z pierwszych homeostatycznych mechanizmów organizmów prymitywnych, a także aktualnie żyjących.

Cztery artykuły zebrane w rozdz. 4 dotyczą funkcji białek szoku cieplnego. Waters i in. oczyścili i opisali produkty dwu genów, działających konstytutywnie Ssa 1p i Ssa 2p i wykazali, że białka te, podobnie jak białka dnaK, stymulują postranslacyjną translokację pewnego czynnika do wnętrza mikrosomów drożdży. Mechanizm tej stymulacji nie jest jeszcze zrozumiały.

Małe HSP są syntetyzowane już we wczesnym okresie rozwoju poczwarki *Drosophila* jako globularne 16s cząsteczki, które agregują się po hs w duże, szybko sedymentujące kompleksy (Haass i in.). Te małe HSP mogą być także indukowane przez warunki stresowe, np. szok cieplny. Małe HSP, niezależnie od sposobu indukcji, mogą pełnić bardzo podobne, a nawet identyczne funkcje biologiczne. Synteza małych HSP jest dobrze skorelowana z uzyskiwaniem tolerancji termicznej. Jest to zgodne z wynikami uzyskanymi w badaniach na *Dictyostelium* czy komórkach pomidora.

W artykule *Struktura i funkcja białek szoku cieplnego występujących u ssaków*, Welch ze współautorami przedstawili aktualny stan wiedzy, związany z morfologicznymi i fizjologicznymi zmianami zachodzącymi w komórkach ssaków po stresie oraz zidentyfikowaniu, oczyszczeniu i charakterystyce poszczególnych białek stresowych.

Wiadomo, że hormony steroidowe są regulatorami transkrypcji. Działają poprzez łączenie się ze specyficznymi receptorami będącymi specyficznymi białkami, których jest pięć rodzajów, a więc tyle, ile rodzajów/kategorii hormonów steroidowych. Z badań przedstawionych przez Baulieu i in. wynika, że hsp 90 może być prototypem „antyreceptora” i odgrywać bardziej ogólną rolę regulatora transkrypcji. Nie łączy się bezpośrednio z DNA, ale współdziała z białkami regulacyjnymi, z tych ich miejscem, który łączy się z DNA.

Rozdz. 5 przedstawia pewne zagadnienia dotyczące termotolerancji uzyskiwanej przez organizmy poddane hs. Komórki ssaków poddane hs zmieniają pewne swoje cechy, przynajmniej czasowo, co wzbudziło zainteresowanie badaczy, czy te komórki – w czasie stresu lub po nim – są bardziej odporne na działanie przeciwrakowe niż komórki tego samego typu, które wcześniej nie były wystawione na hs. Hipertermia bywa stosowana jako terapia przeciwrakowa w licznych klinikach.

W związku z tym należałoby rozważyć, czy komórki przeżywające hs są czasowo lub stale odporne na leki przeciwrakowe. Próbę odpowiedzi podejmuje Hahn i in. w artykule *Przeżycie komórek potraktowanych lekami przeciwrakowymi po stresie*.

Duża różnorodność defektów, zwanych fenokopiami, może być indukowana przez ogrzewanie poczwarki *Drosophila* do 40°C przez 30-40 min. Uważa się, że indukcja jest skutkiem braku syntezy produktów specyficznych genów, wymaganych do normalnego rozwoju. Wszystkie poznane fenokopie nie powstaną, jeśli poczwarki uczyni się poczwarkami termotolerancyjnymi przez podgrzewanie ich przez 30 min. przy 35°C przed hs. Carper i in. przeprowadzili prace nad wyjaśnieniem mechanizmu zarówno indukcji, jak i zabezpieczenia przed defektami rozwojowymi.

Ostatni (6) rozdział zawiera artykuły dotyczące białek indukowanych stresem w związku z pewnymi problemami klinicznymi. Hipertermię stosuje się do leczenia pewnych typów raka u ludzi. Wzrastająca temperatura komórki wpływa na różne procesy fizjologiczne i biochemiczne zachodzące w komórce. Jednym ze specyficznych wpływów hs jest indukcja katabolizmu poliamin. Szok cieplny indukuje acetylację poliamin jako pierwszy stopień katabolizmu. Stwierdza się to zarówno w komórkach prokariotycznych, jak i eukariotycznych. Acetylotransferaza spermidyny (SAT), enzym odpowiedzialny za acetylację spermidyny, jest indukowany przez ciepło we wszystkich badanych liniach komórek raka ludzkiego, choć w różnym stopniu (Carper i in.).

Organizm ludzki reaguje na zapalenie lub uszkodzenie tkanki gorączką i licznymi zmianami metabolicznymi. Ta tzw. ostra faza reakcji jest przypuszczalnie wynikiem aktywacji licznych genów. Wyodrębniono i zidentyfikowano kilka mediatorów dla aktywacji i ekspresji tych genów. Zauważono parę podobieństw reakcji ostrej fazy i reakcji stresowej, m.in. stwierdzono występowanie homologicznych elementów w promotorze genów hs i niektórych genów ostrej fazy. Nie ma jednak dowodu, aby podczas ostrego zapalenia (indukcja genów ostrej fazy) były indukowane geny hs. Perlmutter stwierdził, że poszczególne geny ostrej fazy muszą być regulowane przez kilka różnych czynników. Przytacza dotychczasowe badania i dołącza swoje własne w tym zakresie.

Young ze współautorami wykazują w ostatnim artykule, że antygeny, wytwarzane przez różne bakterie (*Mycobacterial*, *Coxiella*, *Legionella*, *Treponema*, *Borrelia*) i pasożyty (np. *Plasmodia*, *Schistosomes*, *Brugia*, *Trypanosomes*, *Leishmonia*), należą do konserwatywnej rodziny białek szoku cieplnego, takich jak hsp 70, GroEL i niskomolekularne hsp18. Ostatnio liczba takich przykładów wzrasta i prawdopodobnie jeszcze będzie wzrastać. Stwierdzono to na podstawie izolowania licznych antygenów i przeprowadzonych szczegółowych analiz ich interakcji z komponentami systemu obronnego. Rozważano znaczenie tych białek, także w procesie adaptacji patogena do życia wewnątrz komórki gospodarza; indukując tolerancję względem patogenu, umożliwia się uniknięcie nadzoru immunologicznego podczas wczesnej fazy infekcji.

Książka *Stress-induced proteins* stanowi wszechstronne źródło wiadomości dla badaczy na tym polu w zakresie biologii molekularnej, biologii komórki, biochemii, immunologii, fizjologii i genetyki.

Stanisław Kyć