

Rafał Ciosk

Regulacja pluripotencji w
rozwoju organizmu
zwierzęcego

Autoreferat

1. Imię i nazwisko

Rafał Ciosk

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

1999 **Doktorat z genetyki**, Instytut Patologii Molekularnych i Uniwersytet Wiedeński (Wiedeń, Austria). Tytuł rozprawy doktorskiej: „Kohezja i rozdział chromatyd siostrzanych w mitozie u drożdży”. Promotor pracy doktorskiej: Prof. dr Kim Nasmyth.

1995 **Dyplom z Biologii Molekularnej i Biotechnologii**, Uniwersytet w Szegedzie (Szeged, Węgry).

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

styczeń 2006 – do chwili obecnej **Młodszy i Starszy Kierownik Zespołu** w Instytucie Badań Biomedycznych im. Friedricha Mieschera (Bazylea, Szwajcaria).

styczeń 2000 – grudzień 2005 **Post-doc** w laboratorium Dr Jamesa Priessa w Fred Hutchinson Cancer Research Center (Seattle, USA).

październik 1995 – grudzień 1999 **Doktorant i post-doc** w laboratorium Dr Kima Nasmytha w Instytucie Patologii Molekularnych (Wiedeń, Austria)

4. Osiągnięcie naukowe

a) Tytuł

Regulacja pluripotencji w rozwoju organizmu zwierzęcego.

b) Publikacje

i. **Ciosk R***, DePalma M, and Priess J (2006). Translational regulators maintain totipotency in the *Caenorhabditis elegans* germline. **Science** 311, 851-3.

* *Autor korespondujący*

- ii. Wright JE, Gaidatzis D, Senften M, Farley BM, Westhof E, Ryder SP, and **Ciosk R** (2011). A quantitative RNA code for mRNA target selection by the germline fate determinant GLD-1. **EMBO J** 30, 533-45.
- iii. Kalchauer I, Farley BM, Pauli S, Ryder SP, and **Ciosk R** (2011). FBF represses the Cip/Kip cell cycle inhibitor CKI-2 to promote self-renewal of germline stem cells in *C. elegans*. **EMBO J** 30, 3823-9.
- iv. Scheckel C, Gaidatzis D, Wright JE, and **Ciosk R** (2012). Genome-wide analysis of GLD-1 mediated mRNA regulation suggests a role in mRNA storage. **PLoS Genet** 8: e1002742.
- v. Wright JE and **Ciosk R** (2013). RNA-based regulation of pluripotency. **Trends Genet.** 29, 99-107.
- vi. Tocchini C, Keusch JJ, Miller SB, Finger S, Gut H, Stadler M, and **Ciosk R** (2014). The TRIM-NHL protein LIN-41 controls the onset of developmental plasticity in *C. elegans*. **PLoS Genet** 10, e1004533.

c) Omówienie osiągnięcia naukowego

Biologiczne mechanizmy molekularne, leżące u podstaw specjalizacji komórek i ich reprogramowania, mają kluczowe znaczenie dla rozwoju osobniczego. Dogłębne reprogramowanie odbywa się podczas rozwoju komórek rozrodczych, z których powstają komórki jajowe i plemniki. Dlatego komórki rozrodcze oraz pochodzące z nich różnorodne linie komórek macierzystych stanowią bezcenny materiał badawczy, pozwalający rozszyfrować mechanizmy regulujące plastyczność rozwojową, czyli pluripotencję. Głównym przedmiotem moich zainteresowań są mechanizmy molekularne – w szczególności posttranskrypcyjne – kontrolujące pluripotencjalność. Ponieważ pluripotencjalność ma krytyczne znaczenie dla trwania cyklu życiowego, zagadnienie to ma ogromne znaczenie dla badań nad komórkami macierzystymi i biologią rozwoju, jak również dla medycyny regeneracyjnej.

Istnieje szczególna zależność pomiędzy komórkami rozrodczymi a pluripotencjalnością. Komórki rozrodcze mogą dawać początek różnym liniom komórek pluripotencjalnych, a cytoplazma komórki jajowej ma zdolność przeprogramowywania jąder komórek somatycznych. Ponadto, w stanie chorobowym, zarówno męskie, jak i żeńskie komórki rozrodcze mogą ulegać różnicowaniu do wielu typów komórek somatycznych, tworząc potworniaki. Jednakże, w czasie normalnego rozwoju, zdolność różnicowania do wszystkich trzech listków zarodkowych ograniczona jest do komórek wczesno-zarodkowych. Łącznie, obserwacje te sugerują, że do czasu po zapłodnieniu pluripotencjalność komórek rozrodczych jest kontrolowana przez mechanizmy represyjne. Rzeczywiście, używając nicienia *Caenorhabditis elegans* jako organizmu modelowego, wykazałem, że konserwatywne białko wiążące RNA (RBP), GLD-1/Quaking, ma krytyczne znaczenie w zapobieganiu przedwczesnemu reprogramowaniu komórek rozrodczych

(Ciosk *et al.*, 2006). U mutantów *gld-1*, komórki rozrodcze różnicują się w komórki somatyczne, tworząc struktury odpowiadające potworniakom. Spostrzeżenia te po raz pierwszy powiązały regulację posttranskrypcyjną z pluripotencjalnością, oraz pozwoliły na opracowanie prostego modelu genetycznego do badań nad pochodzeniem potworniaków. Bazując na tym odkryciu, w moim własnym laboratorium, dokonaliśmy ilościowej analizy interakcji pomiędzy GLD-1 a docelowymi cząsteczkami mRNA, oraz opisaliśmy wpływ GLD-1 na transkryptom komórek rozrodczych (Wright *et al.*, 2011; Scheckel *et al.*, 2012). Zrobiliśmy także duży krok w kierunku zrozumienia roli GLD-1 w kontroli pluripotencjalności, po raz pierwszy wykazując związek pomiędzy posttranskrypcyjną regulacją cyklu komórkowego i pluripotencjalnością, a także przedstawiliśmy możliwe wyjaśnienie etiologii potworniaków (Biedermann *et al.*, 2009). Badania te doprowadziły dodatkowo do wyjaśnienia roli innego konserwatywnego białka wiążącego RNA, FBF/Pumilio, w kontroli samoodnawiania rozrodczych komórek macierzystych (Kalchauer *et al.*, 2011). Ostatnio wykonaliśmy genetyczne badania przesiewowe pod kątem nowych regulatorów pluripotencji. Badanie to pozwoliło na identyfikację kilku czynników, włącznie z białkiem TRIM-NHL, LIN-41, jako nowych regulatorów pluripotencji (Tocchini *et al.*, 2014). LIN-41 ulega ekspresji w cytoplazmie rozwijających się komórek jajowych, gdzie hamuje zdolność oocytu do reprogramowania. Co ważne, większość zidentyfikowanych dotychczas molekularnych inhibitorów pluripotencjalności to czynniki epigenetyczne. Jednakże sugerujemy, że – przynajmniej w komórkach rozrodczych – posttranskrypcyjne regulatory pełnią analogiczną rolę. Poza nowym paradygmatem w badaniach nad pluripotencjalnością, nasze odkrycia mają możliwe implikacje dla produkcji ludzkich komórek macierzystych w technologii przenoszenia jąder komórek somatycznych.

Opis poszczególnych publikacji składających się na osiągnięcie naukowe

i. **Ciosk R***, DePalma M, and Priess J (2006). Translational regulators maintain totipotency in the *Caenorhabditis elegans* germline. **Science** 311, 851-3.

* *Autor korespondujący*

Komórki rozrodcze są uważane za uniwersalne komórki macierzyste, ponieważ stanowią punkt wyjścia dla rozwoju wszystkich typów komórek nowego osobnika, a przez to zapewniają ciągłość cyklu życiowego. Ogromny potencjał rozwojowy, czyli pluripotencjalność, komórek rozrodczych ujawnia się w niektórych stanach chorobowych poprzez rozwój nietypowych nowotworów, określanym mianem potworniaków, w których komórki rozrodcze ulegają różnicowaniu we wszystkie rodzaje tkanek somatycznych, np. skórę, kości lub zęby. Śledząc rolę konserwatywnych regulatorów mRNA, GLD-1 i MEX-3, w komórkach rozrodczych stwierdziłem, że niektóre z tych komórek w mutantach *gld-1 mex3* ulegają różnicowaniu do różnorodnych komórek somatycznych, pomijając normalny program powstawania komórki jajowej i jej zapłodnienia. Wykazałem, że wynika to po części ze zniesienia represji matczynego mRNA kodującego czynniki transkrypcji (takie jak PAL-1/Caudal/Cdx), które określają los embrionalnych komórek somatycznych. Odkrycia te po raz pierwszy powiązały regulację posttranskrypcyjną z pluripotencjalnością, oraz

pozwoili na opracowanie modelu, bazujcego na bezkręgowcach, do badań nad pochodzeniem potworniaków.

W następczej pracy (Biedermann *et al.*, 2009, należącej do punktu 5-go gdyż kontakt z jednym współpracownikiem się urwał), moje laboratorium wykazało, że GLD-1 działa, przynajmniej częściowo, jako supresor nowotworu poprzez represję translacyjną mRNA cykliny E. Opisaliśmy również istnienie związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy cyklem komórkowym, zarodkową aktywacją genów i pluripotencjalnością.

ii. Wright JE, Gaidatzis D, Senften M, Farley BM, Westhof E, Ryder SP, and **Ciosk R** (2011). A quantitative RNA code for mRNA target selection by the germline fate determinant GLD-1. **EMBO J** 30, 533-45.

Białka wiążące RNA (RBPs) są krytycznymi regulatorami ekspresji genów zarówno w okresie rozwoju, jak i podczas homeostazy. To, czy określona cząsteczka mRNA ulegnie translacji, represji, czy rozpadowi, zależy od jej interakcji z regulacyjnymi RBPs i RNAs. Tak więc, by zrozumieć i przewidzieć jak dane RBP wpływa na los komórki, konieczna jest całościowa analiza interakcji tego RBP z informacyjnym RNA. Aby uzyskać całościowy obraz interakcji pomiędzy GLD-1 a transkryptomem, zidentyfikowaliśmy cząsteczki mRNA związane z GLD-1. W oparciu o ilościową analizę danych, stworzyliśmy model predykcyjny, w którym wiązanie pomiędzy GLD-1 i mRNA zależy od siły i liczby 7-merowych motywów wiążących GLD-1 (GLD-1 binding motifs - GBMs), które znajdują się głównie w regionach nie ulegających translacji (untranslated regions – UTRs). Dokonaliśmy weryfikacji tego modelu zarówno *in vitro*, poprzez eksperymenty mające na celu określenie względnego powinowactwa pomiędzy GLD-1 a GBMs, jak i *in vivo*, włącznie z eksperymentami „transplantacyjnymi”, w których słabe i silne GBMs powodowały represję translacyjną, o wzrastającej sile, cząsteczek mRNA. W przeciwieństwie do innych badań nad RBPs i ich docelowymi mRNAs, udało nam się „zmierzyć” oddziaływanie pomiędzy GLD-1 a jego docelowymi cząsteczkami mRNA. Stanowi to pierwszy krok w kierunku ilościowego zrozumienia jakiegokolwiek posttranskrypcyjnej sieci regulacyjnej. Praca ta umożliwiła także odkrycie nowej roli GLD-1, przedstawionej poniżej (Scheckel i wsp.). Sumując, nasze badania wykazały, że przeprowadzana na skalę całego transkryptomu identyfikacja docelowych cząsteczek mRNA dla danego RBP, połączona z ilościową analizą, może wykreować model posttranskrypcyjnej sieci regulacyjnej o wysokiej mocy predykcyjnej.

iii. Kalchhauser I, Farley BM, Pauli S, Ryder SP, and **Ciosk R** (2011). FBF represses the Cip/Kip cell cycle inhibitor CKI-2 to promote self-renewal of germline stem cells in *C. elegans*. **EMBO J** 30, 3823-9.

Ponieważ kontrola translacyjna jest zasadnicza dla różnicowania komórek rozrodczych, zadaliśmy pytanie, czy istnieje posttranskrypcyjny mechanizm kontrolujący samoodnawianie rozrodczych komórek macierzystych. Rzeczywiście, stwierdziliśmy, że represja mRNA kodującego białko CKI-2, które jest członkiem rodziny zależnych od cykliny inhibitorów kinazy (cyclin-dependent kinase inhibitors - CKIs), odgrywa ważną rolę w utrzymaniu zarodkowych komórek macierzystych (germline stem cells - GSCs). Represja ta jest mediowana przez konserwatywne elementy w *cki-2* mRNA 3'UTR, które rekrutują białko FBF/Pumilio, będące dobrze poznanym białkiem wiążącym RNA. Odkrycie to

pozwoili na wskazanie pierwszego bezpoedniego związku pomiędzy konserwatywnym regulatorem dorosłych komórek macierzystych a cyklem komórkowym. Dodatkowo, nasze odkrycie sugeruje, że posttranskrypcyjny obwód regulacyjny, składający się z białek FBF i GLD-1, kontroluje decyzję o samoodnowie lub różnicowaniu komórek rozrodczych poprzez wpływ na aktywność kinazy Cdk2 (zależnej od cykliny E). Według naszego modelu, wysoka aktywność Cdk2 w GSCs promuje ich samoodnowę, a niską aktywność Cdk2 w komórkach przechodzących mejozę promuje ich różnicowanie. Nasze wnioski zostały potwierdzone w niezależnych badaniach, których wyniki opublikowały laboratoria Judith Kimble i Tim'a Schedl'a.

iv. Scheckel C, Gaidatzis D, Wright JE, and **Ciosk R** (2012). Genome-wide analysis of GLD-1 mediated mRNA regulation suggests a role in mRNA storage. **PLoS Genet** 8: e1002742.

Represji translacyjnej towarzyszy zwykle degradacja mRNA. Jednak wiele matczynej mRNA zostaje „zmagazynowanych” w cytoplazmie oocytu w zahamowanej, ale stabilnej formie, umożliwiając ich translację na późniejszym etapie rozwoju. W przeciwieństwie do represji, stabilizacja cząsteczek mRNA jest procesem słabo poznanym. Aby zrozumieć, w jaki sposób GLD-1 wpływa na transkryptom komórek rozrodczych, przeprowadziliśmy całościowy przegląd represji i stabilizacji mRNA zależnej od GLD-1. Pozwolił on na odkrycie nowej roli GLD-1 w magazynowaniu mRNA, ponieważ stwierdziliśmy, że GLD-1 powoduje zarówno represję, jak i stabilizację określonych cząsteczek mRNA. Stabilizacja ta zależy także od DDX6-podobnej helikazy RNA, CGH-1, która jest składnikiem represyjnych ziarnistości komórek rozrodczych oraz ciałek P. Cząsteczki mRNA stabilizowane przez GLD-1 i CGH-1 kodują białka niezbędne do przekształcenia oocytu w zarodek, zapewniając wgląd w to, jak RBPs mogą kontrolować późniejsze etapy rozwoju. Potencjalnie, odkrycia te mają implikacje dla jakości komórek jajowych, zdolności reprodukcyjnej, a także dla magazynowania cząsteczek mRNA w komórkach innych typów, np. w neuronach.

v. Wright JE and **Ciosk R** (2013). RNA-based regulation of pluripotency. **Trends Genet.** 29, 99-107.

Jest to zamówiona praca przeglądowa. Większość zidentyfikowanych molekularnych inhibitorów pluripotencjalności to czynniki regulujące transkrypcję w jądrze komorowym. W tej pracy, opisaliśmy regulację pluripotencjalności poprzez cytoplazmatyczne mechanizmy posttranskrypcyjne, przedstawiając nowy paradygmat kontroli pluripotencjalności.

vi. Tocchini C, Keusch JJ, Miller SB, Finger S, Gut H, Stadler M, and **Ciosk R** (2014). The TRIM-NHL protein LIN-41 controls the onset of developmental plasticity in *C. elegans*. **PLoS Genet** 10, e1004533.

We wcześniejszej pracy opublikowanej przez mój zespół (Biedermann i wsp.), wykazaliśmy, że przedwczesnemu nabyciu pluripotencjalności przez komórki rozrodcze towarzyszy aktywacja genów zarodkowych (EGA). Związek pomiędzy EGA a pluripotencją był także postulowany u innych gatunków, w oparciu o korelację czasową pomiędzy EGA a występowaniem pluripotencjalnej topografii chromatyny. Obserwacje te skłoniły nas do użycia przedwczesnej aktywacji EGA w komórkach rozrodczych jako odczytu

umożliwiającego identyfikację nowych regulatorów pluripotencjalności. Z pomocą przesiewowego badania genetycznego zidentyfikowaliśmy jeden taki nowy regulator pluripotencjalności, RBP LIN-41. Tak zwany szlak „heterochroniczny” kontroluje czas występowania zmian rozwojowych w komórkach somatycznych. Szlak ten obejmuje *let-7* miRNA oraz jego konserwatywną cząsteczkę docelową, mRNA kodujące LIN-41, należące do rodziny białek TRIM-NHL, do której należą też tak znane regulatory komórek macierzystych jak Brat, Mei-P26 i TRIM32. Opisaliśmy, że dzięki hamowaniu reprogramowania w oocytach, LIN-41 jest niezbędne dla pomyślnej zmiany pokoleniowej. Jest to pierwszy przykład istnienia takiego regulatora w komórkach jajowych, tzn. komórkach gotowych na rozwój zarodkowy. Co ciekawe, choć LIN-41 kontroluje czas zmian rozwojowych zarówno w komórkach somatycznych, jak i w linii zarodkowej, nasze badania nad jego strukturą i funkcją sugerują, że odbywa się to za pośrednictwem odmiennych mechanizmów.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych

A. Regulacja kohezji i separacji chromatyd siostrzanych

Prawidłowa segregacja chromosomów podczas mitozy ma zasadnicze znaczenie dla wszystkich organizmów eukariotycznych. Dla osiągnięcia tego celu, podczas fazy S cyklu komórkowego, chromosomy ulegają podwojeniu, tworząc chromatydy siostrzane, które pozostają związane do momentu anafazy w mitozie. W anafazie, siostrzane chromatydy oddzielają się od siebie i segregują do komórek potomnych. Badania jakie prowadziłem w ramach pracy doktorskiej skupiały się na mechanizmach promujących kohezję i separację chromatyd w cyklu komórkowym pączkujących drożdży.

- i. Odkrycie kohezyn: białek odpowiedzialnych za fizyczną więź pomiędzy chromatydami siostrzanymi.

W czasie gdy zaczynałem swoją pracę doktorską, natura kohezji chromatyd siostrzanych oraz szlak wiodący do jej utraty w anafazie nie były znane. Drożdże pączkujące są ważnym modelem badań nad cyklem komórkowym, lecz badanie kohezji chromatyd w drożdżach było trudne, ponieważ indywidualne chromosomy nie są widoczne w standardowym barwieniu DNA. Aby pokonać tę trudność, opracowałem nowatorską technikę umożliwiającą szybką wizualizację chromosomów. Cel ten osiągnąłem integrując liczne prokariotyczne operatory tetracykliny (tetO) w genomie drożdży i wywołując w tych komórkach ekspresję białka fuzyjnego represora tetracykliny i GFP (tetR-GFP). Wiązanie tetR-GFP do tandemowych powtórzeń tetO umożliwiło wizualizację loci chromosomowych zarówno w żywych, jak i utrwalonych komórkach. Ta technika (wraz z podobną opracowaną niezależnie w laboratorium Andrew Murray'a) stanowiła znaczące osiągnięcie i jest używana do wiązania białek z chromatyną.

We współpracy z C. Michaelis zastosowaliśmy tę technikę do badania kohezji chromatyd u mutantów, u których podejrzewano przedwczesną separację chromatyd. Nasze pionierskie badania doprowadziły do identyfikacji kilku białek koniecznych do

kohezji chromatyd. Nazwaliśmy te białka „kohezynami”. Później ustaliłem, że kilka z tych białek tworzy kompleks, nazwany przez nas „kohezyną”, który, poprzez wiązanie się z chromatydami siostrzanymi, wytwarza pomiędzy nimi fizyczne spoiwo.

Michaelis, C., Ciosk, R., and Nasmyth, K. (1997). Cohesins: chromosomal proteins that prevent premature separation of sister chromatids. Cell 91, 35–45.

Tóth, A., Ciosk, R., Uhlmann, F., Galova, M., Schleiffer, A., and Nasmyth, K. (1999). Yeast cohesin complex requires a conserved protein, Eco1p(Ctf7), to establish cohesion between sister chromatids during DNA replication. Genes Dev 13, 320–333.

ii. Identyfikacja odrębnego kompleksu białkowego koniecznego do ‘załadowania’ kohezyny na chromosomy.

Nasze wcześniejsze badania sugerowały, że spośród białek koniecznych do kohezji chromatyd, jedno białko (Scc2) reguluje łączenie kompleksu kohezyny z chromatyną. Rzeczywiście, odkryłem, że Scc2 wiąże inne białko, nazwane przez nas Scc4, i oba te białka są konieczne dla załadowania wstępnie uformowanych kompleksów kohezyn na chromatynę w celu ustanowienia kohezji pomiędzy chromatydami siostrzanymi. Kolejne badania wykazały, że – podobnie do kompleksu kohezyn – kompleks Scc2/Scc4 odgrywa konserwatywną rolę w innych organizmach.

Ciosk, R., Shirayama, M., Shevchenko, A., Tanaka, T., Toth, A., Shevchenko, A., and Nasmyth, K. (2000). Cohesin's binding to chromosomes depends on a separate complex consisting of Scc2 and Scc4 proteins. Mol Cell 5, 243–254.

iii. Odkrycie separazy: białka powodującego separację chromatyd siostrzanych.

Poza kohezją chromatyd siostrzanych, moim drugim celem było odkrycie w jaki sposób regulowana jest utrata kohezji podczas anafazy. Kompleks promujący anafazę (Anaphase Promoting Complex, APC) dodaje cząsteczki ubikwityny do białek, naznaczając je na ‘skonsumowanie’ przez proteasom. APC jest konieczny do rozpoczęcia anafazy (u mutantów *apc* występuje zahamowanie cyklu komórkowego w metafazie), więc proponowano, że, w normalnym cyklu komórkowym, musi dochodzić do degradacji domniemanego inhibitora anafazy, umożliwiając rozdzielenie chromatyd. Grupa Douglas’a Koshland’a zidentyfikowała inhibitor anafazy, Pds1, którego degradacja (zależna od APC) jest konieczna do rozdzielenia chromatyd. Stwierdziłem, że brak Pds1 u mutantów *apc* był wystarczający by kohezyny opuszczały chromatynę i następowała separacja chromatyd. Tak więc, degradacja Pds1 wydawała się być jedyną rolą APC w procesie separacji chromatyd siostrzanych. Wskazówki do tego, w jaki sposób Pds1 może hamować separację chromatyd siostrzanych, dostarczyło nasze odkrycie, że Pds1 wiąże się z białkiem o nazwie Esp1. Wykazaliśmy, że kompleks Esp1p/Pds1 jest kluczowym regulatorem separacji chromatyd siostrzanych. W kompleksie tym Pds1 działa jako inhibitor Esp1. Degradacja Pds1, zależna od APC, prowadzi do uwolnienia Esp1, które z kolei powoduje dysocjację kohezyn z chromosomów i separację chromatyd. Zgodnie z tym modelem, zmieniliśmy nazwę białka Esp1 na „separynę” (obecnie „separaza”), aby

uwypuklić jego rolę w separacji chromatyd siostrzanych. Ewolucyjnie konserwowana rola separazy została następnie wykazana w innych organizmach, włącznie z ludzkim.

Ciosk, R., Zachariae, W., Michaelis, C., Shevchenko, A., Mann, M., and Nasmyth, K. (1998). *An ESP1/PDS1 complex regulates loss of sister chromatid cohesion at the metaphase to anaphase transition in yeast. Cell* 93, 1067–1076.

B. Regulacja losu komórek podczas rozwoju organizmu zwierzęcego

Pod koniec moich studiów doktoranckich zainteresowałem się biologią rozwoju, a szczególnie pytaniem dotyczącym wyłącznie organizmów wielokomórkowych: w jaki sposób w czasie rozwoju określana jest i zachowywana „nieśmiertelna” linia rozrodcza. Nicień *Caenorhabditis elegans* jest organizmem oferującym wiele korzystnych cech dla badania tego problemu. Należą do nich: całkowicie opisany i pozbawiony zmienności los indywidualnych komórek embrionalnych, zsekwencjonowany genom, prosta genetyka, oraz możliwość analiz biochemicznych. Podjąłem decyzję o realizacji mojej pracy post-doktoranckiej we współpracy z Jim'em Priess'em, ze względu na jego fundamentalny wkład dla zrozumieniu rozwoju *C. elegans*.

i. Rola ataksyny-2 w regulacji mRNA.

Rozpocząłem od badania białka zawierającego motyw palca cynkowego, PIE-1, kontrolującego zarówno transkrypcję, jak i translację dla zachowania pluripotencjalności w embrionalnej linii rozrodczej. Stwierdziłem, że PIE-1 tworzy kompleks z kilkoma białkami, i podjąłem decyzję o skupieniu swojej uwagi na jednym z nich, ATX-2, ponieważ jego ortolog w organizmie ludzkim bierze udział w chorobach neurodegeneracyjnych (ataksja rdzeniowo-mózdkowa typu 2, SCA2). Odkryłem, że ATX-2 tworzy kompleks z białkiem wiążącym ogon poli-A mRNA, oraz że ATX-2 jest konieczne dla embriogenezy i rozwoju komórek rozrodczych. Wykazałem, że defekty w mutancie *atx-2* wynikają ze zmian regulacji translacyjnej, normalnie zależnej od RBPs GLD-1 i MEX-3. W pracy tej zaproponowaliśmy również, że występująca u ludzi choroba neurodegeneracyjna powiązana z mutacjami w ataksynie-2, może być wynikiem nieprawidłowej regulacji translacyjnej.

Ciosk, R., DePalma, M., and Priess, J.R. (2004). *ATX-2, the C. elegans ortholog of ataxin 2, functions in translational regulation in the germline. Development* 131, 4831–4841.

ii. Interpretacja sygnalizacji receptora Notch przez kombinatoryczną ekspresję czynników transkrypcji.

Poza rozpoczętymi przeze mnie badaniami nad rozwojem komórek rozrodczych, zainteresowany byłem projektem prowadzonym w laboratorium Priess'a, dotyczącym sygnalizacji na szlaku receptora Notch. Podczas rozwoju osobniczego, sygnalizacja poprzez receptor Notch jest używana wielokrotnie i w różnych tkankach. Tak więc, zasadniczym problemem jest jak identyczny szlak sygnalizacji może indukować różne losy komórek. Wraz z kolegami odkryliśmy, że dwa czynniki transkrypcyjne należące do rodziny T-box odgrywają kluczową rolę w rozróżnianiu wyników dwóch kolejnych interakcji

mediowanych przez receptor Notch. Pierwsza interakcja hamuje ekspresję tych genów, umożliwiając odbierającym sygnał komórkom przyjęcie nowego, wtórnego losu. Następnie, te same geny T-box ulegają niezależnej od Notch ekspresji w innych komórkach i, współpracując z efektorami sygnalizacji Notch, promują los trzeciorzędowy. Tak więc, za pośrednictwem czynników transkrypcyjnych T-box, uzyskiwane są różne wyniki co najmniej niektórych zdarzeń sygnalizacyjnych mediowanych przez receptor Notch.

Good, K., **Ciosk, R.** *, Nance, J., Neves, A., Hill, R.J., and Priess, J.R. (2004). The T-box transcription factors TBX-37 and TBX-38 link GLP-1/Notch signaling to mesoderm induction in *C. elegans* embryos. **Development** 131, 1967–1978. * First co-author.

C. Regulacja pluripotencji w rozwoju organizmu zwierzęcego.

Pod koniec mojej współpracy z Jim'em Priess'em odkryłem, że RBP GLD-1 zapobiega powstawaniu potworniaków u bezkręgowca *C. elegans* (Ciosk et al., 2006). W następnej publikacji z mojego laboratorium wykazaliśmy, że GLD-1 działa, przynajmniej częściowo, jako supresor nowotworu poprzez represję translacyjną mRNA cykliny E. U organizmów posiadających zmutowaną formę *gld-1*, zniesienie represji mRNA cykliny E skutkuje ektopową aktywacją Cdk2, która z kolei promuje przedwczesne przejście do fazy M cyklu komórkowego, tym samym prowadząc do proliferacji i powstania guza. Co ważne, reaktywacja cyklu komórkowego w komórkach rozrodczych nieposiadających GLD-1 prowadzi do transkrypcyjnej aktywacji genów, które w normalnych warunkach ulegają ekspresji wyłącznie we wczesnym rozwoju zarodkowym, podczas tzw. embrionalnej lub zarodkowej aktywacji genów (EGA). EGA z kolei prowadzi do różnicowania komórek w potworniaki. Nasze odkrycie sugeruje istnienie związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy cyklem komórkowym, EGA i pluripotencjalnością. Przedstawia także możliwy scenariusz rozwoju potworniaków u ludzi.

Biedermann, B., Wright, J., Senften, M., Kalchhauser, I., Sarathy, G., Lee, M.-H., and **Ciosk, R.** (2009). Translational repression of cyclin E prevents precocious mitosis and embryonic gene activation during *C. elegans* meiosis. **Dev Cell** 17, 355–364.



Rafal Ciosk, PhD