



Nobelpriset i Fysiologi eller Medicin 2016

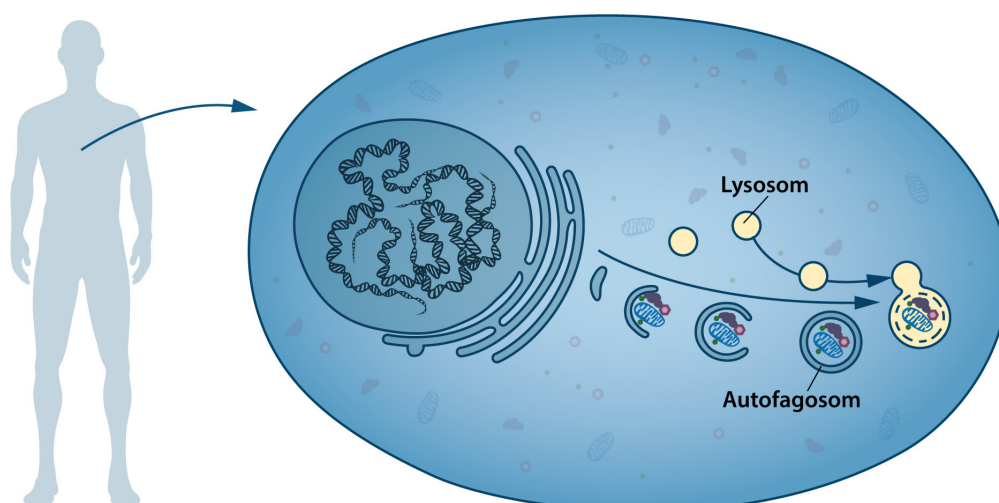
Cellens livsnödvändiga återvinningssystem

2016 års Nobelpris i fysiologi eller medicin tilldelas Yoshinori Ohsumi för ”hans upptäckter av mekanismer för autofagi”. Via autofagi, eller självätande, kan cellen bryta ner sammansatta proteinkomplex och celldelar. Dessa kan sedan återvinnas och de resterande byggstenarna kan antingen användas för att bygga nya proteiner, eller ombildas till energi.

Nedbrytning och återvinning – två sidor av samma mynt

För kroppens celler är autofagi en nödvändighet. De behöver kontinuerligt ta hand om sådant som inte längre behövs, exempelvis proteiner som har blivit gamla eller som veckats ihop på fel sätt. Celler behöver också kunna bryta ner skadade organeller, specialiserade delar av cellen som omgärdas av membran. Exempel på organeller är cellens kraftverk, dess mitokondrier. Celler behöver också skapa nya proteiner. I kroppen omsätts sammanlagt ett par hekto proteiner varje dag. Att via kosten få i sig de byggstenar som krävs är svårt och därför måste dessa kompletteras genom återvinning. Med hjälp av autofagimaskineriet kan cellen bryta ner gamla proteiner och organeller i mindre delar, som aminosyror, socker och lipider. Själva nedbrytningen sker i en organell kallad lysosomen. De byggstenar som återstår kan sedan återanvändas för att bygga de nya proteiner eller organeller som behövs.

Autofagi är också livsviktigt vid svält. Då kan cellen med hjälp av autofagi bryta ner allt som inte är livsnödvändigt och omsätta beståndsdelarna i energi. På så vis kan cellen – och i förlängningen hela organismen – överleva akut näringsbrist.



Figur 1 Lysosmen är en organell och innehåller enzymer som kan bryta ner cellulära beståndsdelar. Inuti celler finns även en typ av vesiklar, autofagosomer. När de bildas tar de upp exempelvis skadade mitokondrier. Sedan sammansmälter de med lysosomen, varvid deras last bryts ner i beståndsdelar som därefter kan återvinnas.

Vad var känt innan Yoshinori Ohsumis upptäckter?

I mitten av 1950-talet upptäcktes lysosomen. Denna organell innehåller enzymer som kan bryta ner proteiner och sågs som ett slags ”soptunna” för cellens skräp. Lysomens upptäckare, Christian de Duve, tilldelades Nobelpris i fysiologi eller medicin år 1974. Han myntade också uttrycket autofagi. Ordet kommer från grekiskans auto, som betyder ”själv”, och phagein, som betyder ”äta”, alltså ”självätande”.

Under 1970 och 1980-talen undersöktes ett annat cellsystem för att bryta ner proteiner, det så kallade ubiquitinsystemet. Här märks uttjänta proteiner med en ”svans”, så att de kan kännas igen och brytas ner ett i taget av en cellulär arbetsstation kallad proteasomen. Inom detta fält belönades Aaron Ciechanover, Avram Hershko och Irwin Rose med Nobelpris i kemi år 2004.

Efter upptäckten av lysosomen och ubiquitinsystemet återstod dock den gäckande frågan: hur går det till när cellen med hjälp av autofagi bryter ner proteinkomplex och organeller, och vad har detta system för betydelse? Det var denna biologiska gåta som Yoshinori Ohsumi löste.

Yoshinori Ohsumis väg från bakterier till jäst

På sin väg mot de banbrytande experiment som skulle komma att utgöra grunden för att förstå autofagi, bedrev Yoshinori Ohsumi forskning inom en rad olika områden. Hans forskarbana inleddes i början av 1970-talet, när han gjorde sin doktorandutbildning inom molekylärbiologi och studerade hur bakterien *E.coli* tillverkar de proteiner den behöver. Efter avslutade doktorandstudier sökte han sig till Rockefeller University i New York, USA, där han anslöt sig till Gerald Edelmans grupp. Hans projekt bestod inledningsvis av att sätta upp ett system för så kallad in vitro-fertilisering i möss, vilket var långt ifrån den forskning om bakterier som han var van vid. Själv har han i efterhand i intervjuer beskrivit arbetet som frustrerande – dels då han inte hade så god kunskap om tidig fosterutveckling, dels för att han bara hade ett fåtal äggceller att arbeta med. Ett och ett halvt år senare, när Mike Jaszewski anlände till samma laboratorium, tog Yoshinori Ohsumi tillfället i akt att byta projekt. Han började istället studera hur arvsmassan replikeras i bagerijäst, på latin *Saccharomyces cerevisiae*. Det var hans första bekantskap med jäst som modellsystem, och han lärde sig hur den odlas och hur dess organeller kan prepareras fram. Dessa färdigheter tog han sedan med sig hem till Japan.

Valde sin egen bana

I intervjuer har Yoshinori Ohsumi sagt att han inte är särskilt tävlingssinnad och var därför inte heller road av att ge sig in i dåtidens heta forskningsfält. Istället intresserade han sig för en av jästens organeller, dess vakuol. I däggdjursceller finns en mängd små lysosomer, medan deras motsvarighet hos jäst, vakuolen, är en enda stor organell. Han kartlade en rad transportsystem i jästens vakuol, forskning som skedde i Yasuhiro Anraku's laboratorium vid den botaniska institutionen vid University of Tokyo.

År 1988 kunde Yoshinori Ohsumi, 43 år gammal, inrätta sitt eget laboratorium, där han fokuserade på studier av autofagi.

Det banbrytande experimentet

För sina studier om autofagi valde Yoshinori Ohsumi att fortsätta sitt arbete med jästceller eftersom de är enklare än däggdjurscellen och därför en utmärkt modell. Med hjälp av ljusmikroskop går de stora vakuolerna inuti jästceller att observera, och eventuella morfologiska förändringar kan identifieras. Det var vid den här tiden känt att vakuoler innehåller enzymer som kan klippa upp proteiner, på liknande vis som också

sker i lysosomer. För sitt experiment valde Yoshinori Ohsumi dock att studera jästceller som saknade vissa nedbrytningsenzymer. De fick växa i odlingsmedium utan kväve, vilket för jästceller är en svältsituation. Efter en halvtimme såg han att vakuolerna började fyllas av små blåsor och efter tre timmar var vakuolerna proppfulla. Med hjälp av elektronmikroskopi, som ger bättre upplösning än vanlig ljusmikroskopi, syntes att de små blåsorna var omslutna av membran. När han sedan undersökte deras innehåll fanns där proteiner, socker, peptider och organeller. De fanns kvar i blåsorna eftersom det i vakuolerna saknades nedbrytningsenzymer.

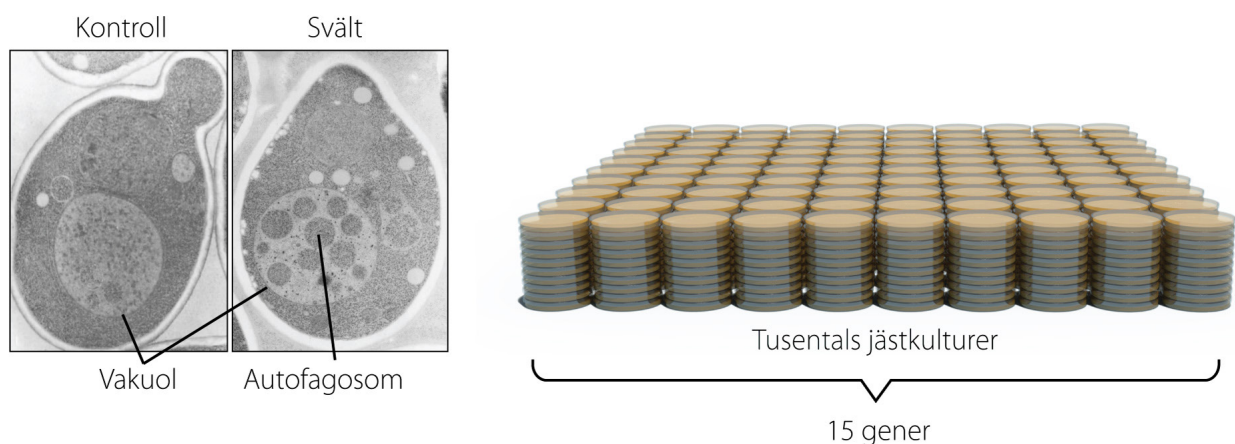
År 1992 publicerade Yoshinori Ohsumi en vetenskaplig rapport om experimentet och förekomsten av autofagosomer i jäst. Experimentet slog fast att jäst använder autofagi, precis som man tidigare hade kunnat se i däggdjursceller.

Han identifierar generna bakom autofagi...

Nu hade han ett modellsystem som gjorde det möjligt att karakterisera de gener som ligger bakom att autofagosomer kan bildas. I sin jakt efter dessa gjorde Yoshinori Ohsumi ett väl genomtänkt och ambitiöst experiment. Han använde samma slags jästceller som i det inledande experimentet, sådana som saknade nedbrytningsenzymer i vakuolen. Men nu utsattes de för kemikalien etylmetansulfonat. När jästcellen växer och delar sig skapar kemikalien en rad slumpmässiga felslag i arvsmassan, så kallade mutationer. Ibland kan dessa felslag skada en gen som normalt utgör mall för ett protein i autofagi-maskineriet. Om proteinet inte kan bildas, kan inte heller den nya jästcellen använda sig av autofagi.

Jästceller fick återigen växa i näringsfattigt odlingsmedium för att stimulera autofagi. I mikroskop letade forskarna nu efter jästceller vars vakuoler inte fylldes med blåsor, ett synligt tecken på att deras autofagimaskineri var satt ur funktion. Hos de utvalda jästcellerna tog de sedan reda på vilka gener som var trasiga. Sammanlagt hittades femton gener som, i jäst, utgör mallen för de proteiner som tillsammans krävs för att bilda autofagimaskineriet. De femton generna kallades ursprungligen apg 1-15, efter engelskans "autophagy gene". Idag benämns de istället atg-gener.

Detta genombrott publicerades år 1993, ett år efter det att Ohsumi för första gången visade att autofagi förekommer i jäst.

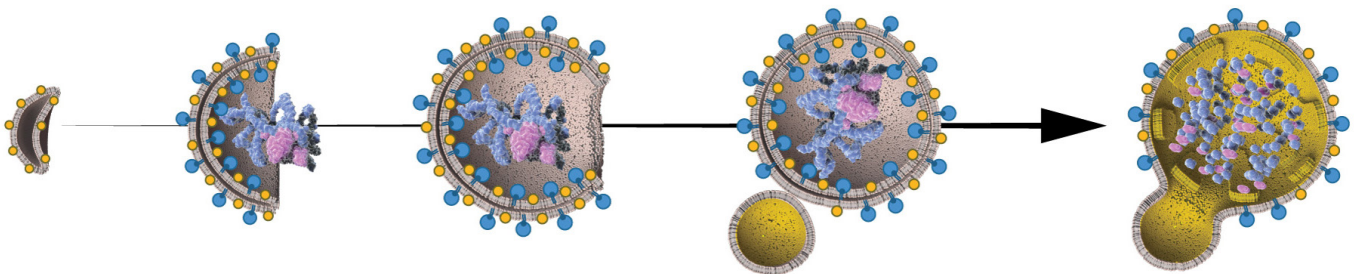


Figur 2 | jästceller finns en stor vakuol som motsvarar lysosomen i däggdjursceller (tv). När jästceller utan nedbrytningsenzymer utsattes för stress, fylldes vakuolen av autofagosomer som inte kunde brytas ned (th). Experimentet slog fast att autofagi förekommer i jäst. I nästa steg identifierade Ohsumi de 15 första generna som behövs för att skapa autofagimaskineriet.

.... och kartlade hela autofagimaskineriet

Yoshinori Ohsumi och hans medarbetare gjorde också en serie experiment för att ta reda på vad de enskilda proteinerna i maskineriet gör. De kunde då visa att ett enskilt protein och olika proteinkomplex samverkar i form av en kaskad, som sätts igång av en signal som kan komma utifrån cellen. De olika komplexen bildar stegvis autofagosomen som i cellens cytosol omsluter det material eller de organeller som ska brytas ned. Därefter dockar autofagosomen med vakuolen och smälter samman med den, så att vakuolens enzymer får möjlighet att bryta ned autofagosomens last.

När Yoshinori Ohsumi lyckats klarlägga hur autofagi fungerar på molekylär nivå i jäst, var ett naturligt nästa steg att ta fram den första genen som har samma funktion hos däggdjur. Detta resultat publicerade han tillsammans med kollegan Noboru Mizushima år 1998.



Figur 3 Ohsumi studerade de proteiner som autofagigenerna utgör mall för. Han visade hur de olika proteinkomplexen i autofagimaskineriet samverkar i en kaskad. Startpunkten kan vara en stressignal utifrån, som leder till att de olika komplexen stegvis formar ett membran som omsluter olika beståndsdelar och bildar autofagosomen.

Autofagi är livsnödvändigt

Detalj kunskaperna om autofagimaskineriet har lett till bättre förståelse för vad det gör och hur viktigt det är, både för cellernas grundläggande funktion och för uppkomsten av olika sjukdomar.

Autofagiprocessen är exempelvis central under fosterutvecklingen, när alla olika celltyper ska bildas i embryot. Hos nyfödda däggdjur är det också livsavgörande att med hjälp av autofagi kunna bryta ner material i cellerna för att frigöra energi – denna behövs innan modern börjat producera mjölk. Detta gick att visa genom att studera musungar som genetiskt modifierats så att de saknade ett autofagi-protein. De drabbades av akut näringsbrist och överlevde inte sitt första dygn.

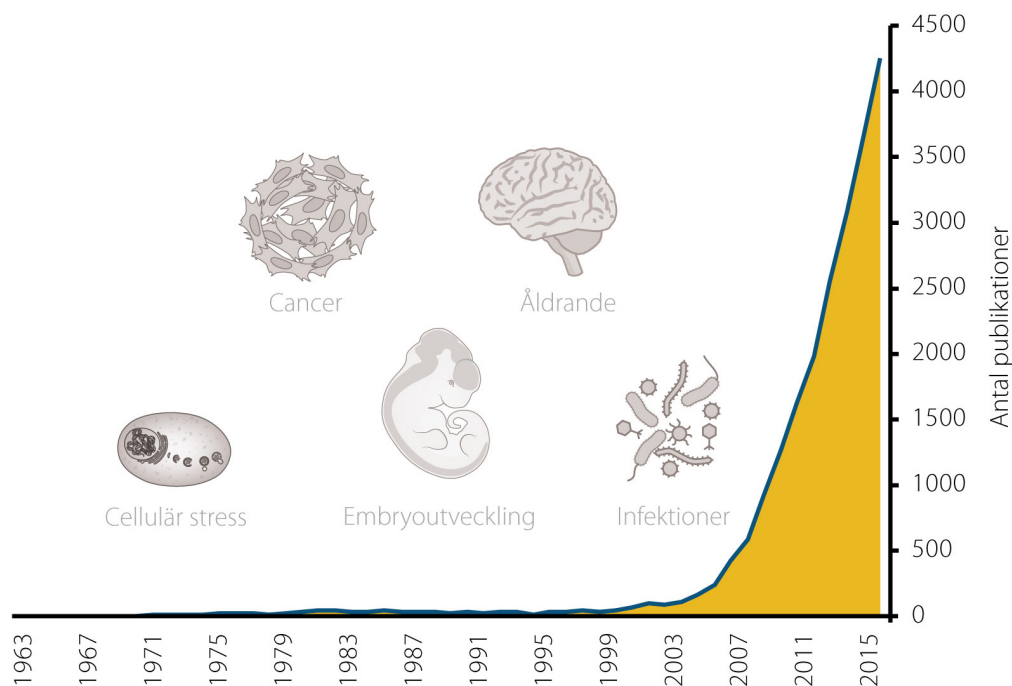
Med hjälp av autofagi kan cellen försvara sig mot invaderande virus och bakterier, genom att dessa inkräktare tas upp av autofagosomen och bryts ned i lysosomen.

Om autofagimaskineriet inte fungerar som det ska kan det få allvarliga konsekvenser. Det är en faktor bakom det normala åldrandet, och sjukdomar som associeras med ökande ålder. Celler som inte kan dela sig, som nervceller, är särskilt sårbara. Ett exempel är hur nervceller fylls av felveckade proteinfragment som ansamlas

i cellen och skadar den. Detta sker bland annat vid Alzheimers sjukdom och Parkinsons sjukdom.

Vid cancer har autofagisystemet en mer komplicerad roll. Innan en tumörcell bildats verkar autofagi kunna fungera skyddande, men när tumörceller väl uppstått kan ökad autofagi hjälpa dem att överleva och spridas. Troligen kan de med hjälp av autofagi bättre anpassa sig till olika slags stress, som en näringsfattig miljö eller cellgifter.

Om det gick att styra nivån av autofagi skulle det kanske kunna bli en del i framtida cancerbehandling. När detta skrivs pågår kliniska studier på området, exempelvis kring en viss form av bröstcancer där man studerar effekterna av en autofagihämmare kallad klorokin.



Figur 4 Upptäckten av autofagigenerna gjorde att fältet expanderade kraftigt, vilket avspeglas i antalet publicerade artiklar om autofagi. Tack vare Ohsumi och hans efterföljare vet vi i dag att autofagi styr fundamentala fysiologiska processer, exempelvis när celler ska hantera näringsbrist eller infektioner. Störningar i autofagimaskineriet kan också bidra till sjukdom, som neurodegenerativa sjukdomar och cancer.

Grundade ett nytt forskningsfält

När Yoshinori Ohsumi inledde sina studier av autofagi kunde antalet publicerade vetenskapliga rapporter i ämnet räknas i tiotal per år. Upptäckten av generna på 1990-talet var ett genombrott som innebar att forskare gavs tillgång till molekylärbiologiska verktyg som kan användas för att i detalj studera autofagi. Det gör det exempelvis möjligt att i patienters arvs massa se om generna bakom autofagi är skadade. Det går också att i försök med djur både öka och minska autofagiaktiviteten, för att studera dess betydelse. Yoshinori Ohsumis banbrytande upptäckter har, ironiskt nog med tanke på hans tidigare nämnda önskan att verka inom ett eget fält, lockat tiotusentals forskare att börja studera olika aspekter av autofagi.

Av Lotta Fredholm, vetenskapsjournalist

Viktiga vetenskapliga publikationer:

Takeshige K., Baba M., Tsuboi S., Noda T., Ohsumi Y. (1992). Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *Journal of Cell Biology* 119, 301-311

Tsukada, M., Ohsumi, Y. (1993). Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Letters* 333, 169-174

Mizushima N., Noda, T., Yoshimori, T., Tanaka, Y., Ishii, T., George, M. D., Klionsky, D. J., Ohsumi, M., Ohsumi, Y. (1998). A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature* 395, 395-398

Ichimura, Y., Kirisako T., Takao, T., Satomi, Y., Shimonishi, Y., Ishihara, N., Mizushima, N., Tanida, I., Kominami, E., Ohsumi, M., Noda, T., Ohsumi, Y. (2000). A ubiquitin-like system mediates protein lipidation. *Nature*, 408, 488-492

Översiktsartiklar om autofagi:

Eaten alive: a history of macroautophagy. Zhifen Yang and Daniel J. Klionsky. *Nature Cell Biology*, vol 12, nr 9, September 2010.

Autophagy in Human Health and Disease. Augustine M. K. Choi, Stefan W. Ryter and Beth Levine. *New England Journal of Medicine*, 368;7, 14 February 2013.

Historical landmarks of autophagy research. Yoshinori Ohsumi *Cell Research*, vol 24 No 1, January 2014.

Fördjupning:

Scientific Background. Discoveries of Mechanisms for Autophagy. Nils-Göran Larsson and Maria G. Masucci (www.nobelprize.org)

The Nobel Laureate in Physiology or Medicine 2016



Yoshinori Ohsumi

Vetenskaplig granskning: Thomas Perlmann

Textbearbetning: Lotta Fredholm

Illustrationer och layout: Mattias Karlén

© 2016 Nobelkommittén för fysiologi eller medicin, Karolinska Institutet
Nobelpriset® och Nobelmedaljen® är Nobelstiftelsens registrerade varumärken