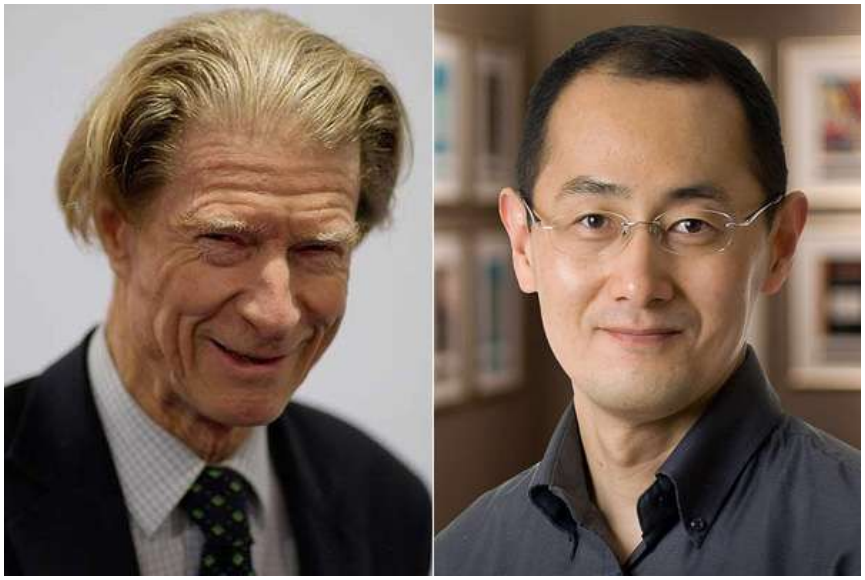
НОБЕЛЕВСКАЯ ПРЕМИЯ ПО ФИЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ — 2012

10.10.12 |



Лауреаты Нобелевской премии по физиологии и медицине 2012 года Джон Гёрдон (John Bertrand Gurdon) и Синъя Яманака (Shinya Yamanaka). Фото с сайтов www.smh.com.au и www.ucsf.edu

8 октября 2012 года началась очередная Нобелевская неделя. Традиционно первыми объявляют лауреатов премии по физиологии или медицине (почему-то по-русски ее обычно называют премией по физиологии *и* медицине). Лауреатами стали британец Джон Гёрдон (John Bertrand Gurdon) из кембриджского Гёрдоновского института (Gurdon Institute) и японец Синъя Яманака (Shinya Yamanaka), сотрудник Института сердечно-сосудистых заболеваний Глэдстона в Сан-Франциско (Gladstone Institute of Cardiovascular Disease in San Francisco) и профессор Университета Киото (Kyoto University). Как сказано в официальной формулировке Нобелевского комитета, традиционно оглашенной на шведском, русском, французском и немецком языках (на них свободно говорил сам Нобель), премия присуждена за «открытие возможности перепрограммирования дифференцированных клеток в плюрипотентные».

Лауреаты двух поколений

Нужно сказать, что два лауреата этого года, по прихоти судьбы, необыкновенным образом «рифмуются». Оба принадлежат к наиболее традиционным культурам — британской и японской. В тот год, когда родился второй, вышла «нобелевская статья первого» (Гёрдон почти на 30 лет старше: он родился в 1933 году, а Яманака — в 1962-м).

Кроме этого, «нобелевка» — это не первая премия, которую Гёрдон и Яманака получают вместе. В 2009 году они удостоились почетной премии Альберта Ласкера («вторая американская нобелевская премия по медицине» — так ее называют) в номинации Basic. Кстати, почти половина лауреатов этой номинации потом получают Нобелевскую премию.

А вот престижную израильскую премию Вольфа по медицине они получили оба, но порознь — Гёрдон в 1989 году, а Яманака в 2011-м. Помимо множества других премий, полученных обоими учеными, Яманака также лауреат престижнейшей «технологической» премии Millenium.

«Старший» же лауреат отмечен еще и более почетными наградами. В июне1995 года Джон Бертран Гёрдон получил звание рыцаря-бакалавра и право прибавлять к своему имени титул «сэр», а в 2004 году удостоился еще более весомого признания: кембриджский Институт клеточной биологии и рака при благотворительных фондах Wellcome Trust и Cancer Research UKбыл переименован в Гёрдоновский институт.

Практически все комментаторы отмечают работы Гёрдона и Яманаки как прорывные. Многие авторы поздравлений на «стене» Нобелевского комитета и вовсе называют их «новой эрой» в истории человечества.

Что же за прорыв в науке совершили эти ученые, принадлежащие к разным поколениям, чьи работы разделяет более 40 лет?

Чтобы ответить на этот вопрос, придется начать издалека.

Стволовые клетки, или Туда и обратно

Каждый многоклеточный организм состоит из множества типов клеток, которые могут очень отличаться друг от друга — сравните, например, красные клетки крови, эритроциты, с клетками костной ткани, остеобластами. Однако генетическая информация, хранящаяся во всех соматических типах клеток — от гепатоцита до нейрона, — абсолютно идентична. Как же это возможно? Ответ прост: в разных типах клеток экспрессируются разные гены. То есть хотя *весь* геном во всех клетках одинаков, но *действующая*, рабочая часть генома в каждом типе клеток своя, и чем сильнее отличаются в двух клетках эти «рабочие» части генома, тем сильнее будут отличаться друг от друга сами клетки.

И вот тут возникает другой вопрос: *почему* разные типы клеток так отличаются по экспрессии генов? На этот вопрос уже замечательно ответил Александр Марков, я лишь расскажу об этом кратко.

Как известно, каждый многоклеточный организм развивается из одной-единственной клетки — зиготы. При первых делениях зигота дает почти одинаковые клетки, однако с каждым последующим делением различия между получающимися клетками увеличиваются. Причина этого в том, что разные клетки зародыша оказываются в разных условиях. Во-первых, зигота сама по себе несимметрична, и плотность различных веществ в разных ее участках отличается, поэтому при делении зиготы клетки, «получившие в наследство» тот или другой участок цито-плазмы, будут немного отличаться друг от друга. Во-вторых, на клетки в разных участках заро-дыша по-разному влияют определенные физические параметры, например сила тяжести: клетку в нижней части зародыша она будет «тянуть» в ту сторону, где нет других клеток, а клетку в верхней — наоборот, туда, где другие клетки есть. В-третьих, постепенно сами клетки начинают влиять друг на друга: выделяемые соседями вещества меняют метаболизм клетки, запускают или выключают в ней экспрессию определенных генов и таким образом определяют ее судьбу. И так далее.

Итак, с каждым делением клетки всё сильнее отличаются друг от друга и от зиготы, от которой они произошли. Постепенно клетки образовывают три слоя — наружный (эктодерму), срединный (мезодерму) и внутренний (энтодерму). Затем клетки и в этих трех слоях начинают всё сильнее отличаться друг от друга под влиянием соседних клеток и различных физических факторов и в конце концов образуют все органы и ткани организма. Таким образом из совершенно недифференцированной зиготы получаются терминально дифференцированные (то есть абсолютно специализированные) клетки.

Однако у терминально дифференцированных клеток есть один большой недостаток: они не могут делиться. А поскольку все они рано или поздно стареют, то, если где-то в организме не будет неисчерпаемых ресурсов дифференцированных клеток, организм очень быстро «износит-ся» и умрет.

И такой ресурс есть. Называется он (как вы, наверное, уже догадались) «стволовые клетки» Мне приятно отметить, что существование таких клеток постулировал и название для них придумал великий русский ученый Александр Максимов в 1908 году. Потомки стволовых клеток во взрослом организме постоянно обновляют ткани по схеме, изображенной на рис. 1. Свое депо стволовых клеток существует у каждой ткани, даже у сердечной и нервной, о которых раньше считалось, что они неспособны к восстановлению. Чем чаще обновляется ткань, тем больше у нее стволовых клеток: например, стволовых клеток кожи гораздо больше, чем нейтральных. Каждая ткань состоит из нескольких типов клеток, и стволовые клетки этой ткани могут дать начало любому из них, но не клеткам другой, «неродной» ткани. Например, гемопоэтические стволовые клетки могут дать начало только клеткам крови, а нейронам — не могут. Стволовые клетки делятся постоянно, но очень редко; в случае, если ткань повреждена и нуждается в срочном восстановлении, они начинают делиться активней. Больше всего (из зрелых организмов) стволовых клеток у новорожденных младенцев; с возрастом их количество постепенно уменьшается, однако функционировать они продолжают даже в глубокой старости.

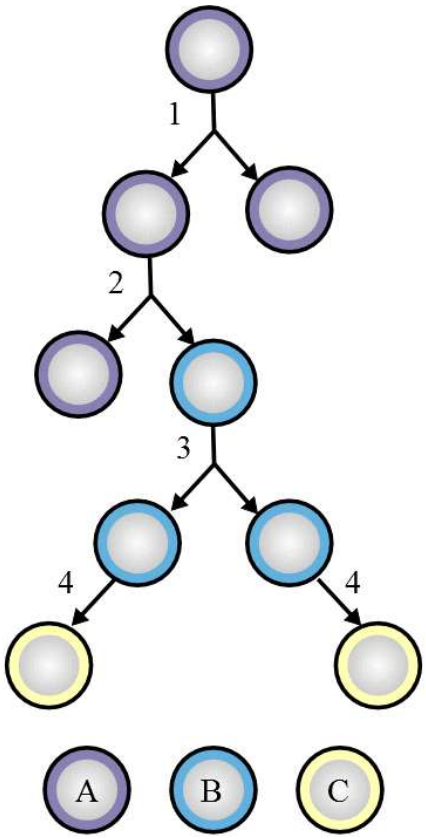


Рис. 1. Схема делений и дифференцировок стволовых клеток. **A** — стволовая клетка. **B** — клетка-предшественник. **C** — дифференцированная клетка. Каждая стволовая клетка может поделиться либо симметрично, дав две такие же стволовые клетки (**1**), либо несимметрично, дав одну стволовую клетку и одну клетку-предшественницу (**2**). Клетка-предшественница тоже делится (**3**); ее дочерние клетки дифференцируются (**4**) и занимают свое место в той или иной ткани организма. Изображение с сайта en.wikipedia.org., рис. 1)

Подведем итог. Перед нами несколько типов стволовых клеток.
Самая универсальная стволовая клетка — зигота. Она дает начало всем типам клеток организма, а также, скажем так, не совсем организма — например, клеткам плаценты. Теми же свойствами обладают бластомеры — клетки, образовавшиеся при нескольких первых делениях зиготы. Из зиготы или бластомера можно вырастить целый организм. Такие клетки называются *тотипотентными* стволовыми клетками.
Чуть менее универсальны клетки, образующиеся при нескольких последующих зародышевых делениях (до разделения на зародышевые листки). Они могут дать начало всем клеткам организма, но не плаценте, поэтому целый новый организм из одной такой клетки вырастить невозможно. Эти клетки называются *плюрипотентными* стволовыми клетками (ПСК).
Уже специализированы *мультипотентные* стволовые клетки — то есть те, которые могут дать начало множеству клеточных типов, характерных для организма, но не всем. Мультипотентные клетки бывают, если можно так выразиться, «более или менее потентными» — то есть могут давать начало большему или меньшему количеству типов клеток. К мультипотентным относятся и некоторые из стволовых клеток, активных во взрослом организме, о которых говорилось вы-ше.
Постепенная дифференцировка потомков мультипотентных клеток приводит к появлению *олигопотентных* (дающих начало только небольшому количеству типов клеток) и *унипотентных* (дающих начало только одному типу) клеток.
Итак, получается, что путь живого организма — это путь постепенной дифференцировки: все изменения в стволовых клетках приводят к уменьшению «потентности» (а то и полному ее исчезновению). Тотипотентные клетки превращаются в плюрипотентные, те — в мультипотентные, ну и так далее, и пути обратно, кажется, нет.

Но настоящий ученый как раз и должен искать путь там, где его, кажется, нет. Собственно, за этот поиск (оказавшийся успешным) и получили в понедельник Нобелевские премии Джон Гёрдон и Синъя Яманака.

Ab ovo

Начнем — по старшинству — с Гёрдона. Он проводил свои нобелевские эксперименты в 1962 году, в те полузабытые времена, когда никто не помышлял о секвенировании генома, знания о стволовых клетках помещались в годовой курс лекций, а знаменитой клеточной линии HeLa исполнилось всего десять лет.

Гёрдон пытался найти ответ на вопрос, несет ли ядро дифференцированной клетки достаточно информации, чтобы дать начало новому организму. (Мы знаем ответ, но пятьдесят лет назад этот ответ был совершенно не очевиден.)

И Гёрдон сделал очень простую вещь — взял и пересадил в яйцеклетку шпорцевой лягушки (*Xenopus laevis*) с разрушенным ядром ядро дифференцированной клетки (клетки эпителия кишечника) головастика того же вида. Потребовалось довольно много экспериментов, но в результате исследователю удалось получить из такой «химерной» яйцеклетки здорового головастика. (Отметим в скобках, что сходные, но неудачные эксперименты проводились и до Гёрдона. Видимо, Гёрдон отличался от своих предшественников просто бо́льшим терпением и настойчивостью).

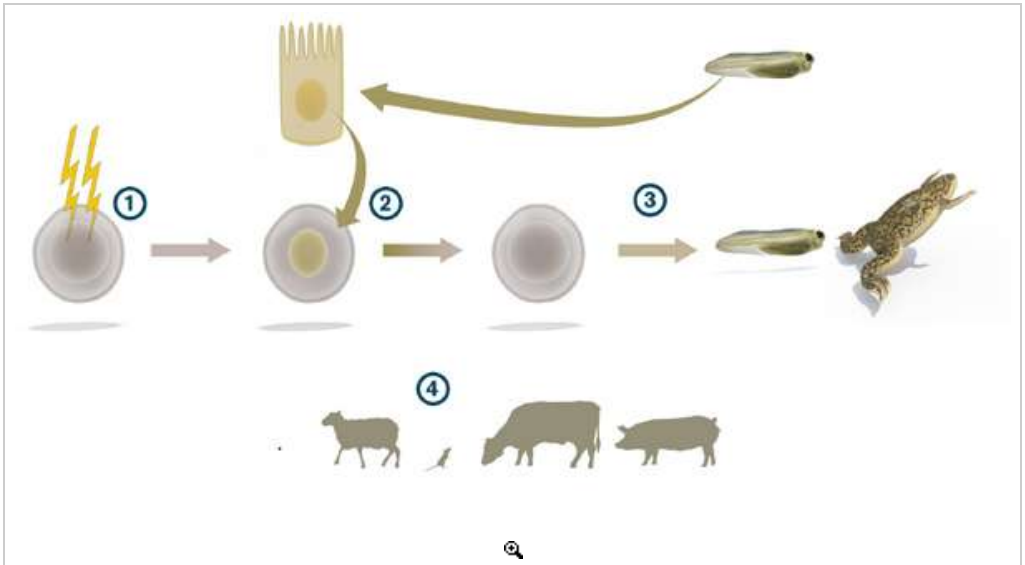


Рис. 2. Схема экспериментов Гёрдона. Он уничтожил ультрафиолетом ядро в икринке шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* (**1**), пересадил туда ядро, взятое из дифференцированной клетки кишечника головастика того же вида (**2**), в результате чего из икринки развился головастик, а затем и взрослая лягушка (**3**). Таким же образом можно получать и организмы млекопитающих (**4**). Изображение с сайта www.nobelprize.org

Это был огромный прорыв. Из результатов Гёрдона следовало сразу множество выводов, главный из которых таков: дифференцировка — вещь обратимая. Даже ядро дифференцированной клетки, будучи помещено в подходящие условия, способно дать начало новому организму. Открытие Гёрдона перевернуло все предыдущие представления о дифференцировке и «стволовости» и вызвало целый вал многочисленных исследований — от клонирования млекопитающих (первой, как все помнят, была клонирована овечка) до работ Синъи Яманаки.

Кстати, и само слово «клонирование» появилось в связи с работами Гёрдона. В 1963 году известный британский биолог и популяризатор науки Джон Холдейн описывал результаты Гёрдона и одним из первых употребил слово «клон» в применении к вылупившемуся из «взрослого» ядра головастику. А шпорцевая лягушка по-прежнему остается любимой «игрушкой» Гёрдона — на персональной страничке ученого опубликованы ссылки на его прошлогодние работы, где он по-прежнему экспериментирует с яйцеклетками *Xenopus*.

40 лет спустя

А что сделал Яманаки? Нечто еще более революционное и неслыханное, чем Гёрдон.

В 2006 году ему удалось — безо всякой пересадки ядра — превратить вполне дифференцированный мышиный фибробласт (клетку кожи) в плюрипотентную стволовую клетку (такие клетки получили названиеиндуцированные плюрипотентные стволовые клетки, ИПСК или iPSC). Перед

тем как рассказать, каким образом ему это удалось, сделаем небольшую историческую справку. Со времен экспериментов Гёрдона наука далеко шагнула вперед, и были разработаны тонкие методики, позволяющие вставить в клетку какой-либо ген и таким образом вызвать в этой клетке экспрессию белка, кодируемого данным геном. Одним из главных «транспортных средств», используемых для засовывания генов в клетку, являются вирусы, в частности ретровирусы.
В геноме вируса «освобождают место», вырезая опасный генетический материал, и на это место вшивают гены необходимых белков. Вирус заражает клетку, но вместо своей вирусной ДНК вставляет в геном клетки эти гены. Гены начинают экспрессироваться, влиять на различные физиологические процессы в клетке и на экспрессию других генов и таким образом меняют судьбу клетки. Подробнее обо всём этом можно прочесть в статье «Молекулярное клонирование, или Как поместить в клетку чужеродный генетический материал»).
Вернемся к экспериментам Яманаки. Как уже было сказано, клетки различных типов отличаются друг от друга различной экспрессией тех или иных генов. Яманака и его команда сравнивали экспрессию генов в дифференцированных и эмбриональных стволовых клетках. Они выделили несколько десятков генов, чья повышенная активность была характерна именно для стволовых клеток. Эти гены они в разных сочетаниях вставляли в дифференцированные клетки путем молекулярного клонирования, чтобы заставить эти клетки дедифференцироваться обратно.
И вот наступил прорыв. После долгих экспериментов Яманаке удалось показать, что для перепрограммирования дифференцированной клетки в плюрипотентную стволовую достаточно повышения экспрессии всего *четырех* генов! Названия этих генов музыкой звучат для «стволовых» биологов, и они выпалят их, даже будучи разбуженными посреди ночи: *Oct3/4*, *Sox2*,*Klf4* и *c-Myc*.
Но и это еще не всё. Яманака показал, что полученные плюрипотентные стволовые клетки могут обратно дифференцироваться в клетки различных тканей, например нервной или ткани кишечника — то есть отмотал дифференцировку назад, а потом снова вперед. Он дал ученым простой в использовании инструмент, с помощью которого можно делать с дифференцировкой практически всё, что только душе угодно. Это открытие буквально перевернуло научный мир.

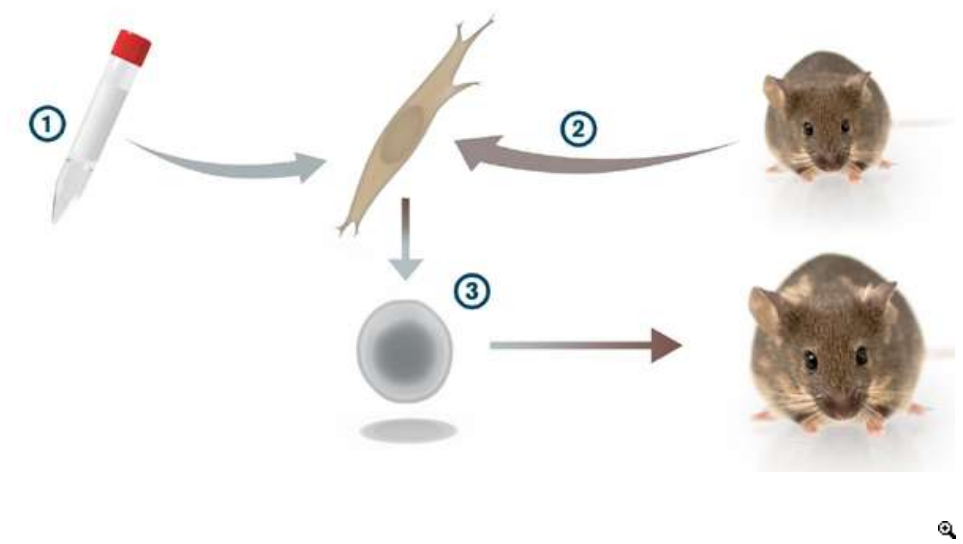


Рис. 3. Схема экспериментов Яманаки. Гены четырех белков (**1**) засовываются в дифференцированный фибробласт, полученный от мыши (**2**). Этот фибробласт превращается в плюрипотентную стволовую клетку (**3**), из которой можно потом получить взрослый мышиный организм (**4**). Отметим, что взрослую мышь из плюрипотентных клеток получил все-таки не Яманака. Изображение с сайта www.nobelprize.org

Поскольку работа Яманаки была проведена относительно недавно, она вызвала не столь долгое «эхо» из последующих работ, как работа Гёрдона. Однако тема эта стремительно развивается. За прошедшие с работы Яманаки шесть лет была разработана методика по превращению одного типа дифференцированных клеток в другой *минуя* стадию стволовых клеток. Также нельзя не упомянуть работу китайских ученых, которые умудрились с помощью совершенно невероятной технологии получить из плюрипотентных клеток эмбрион, а затем взрослую мышь (Xiao-yang Zhao, Wei Li et al, 2009. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation). Иными словами, тесные оковы, сковывающие все движения ученых в работах с дифференцированными и стволовыми клетками, пали, и стало возможным проведение огромного количества исследова-

ний, о которых раньше нельзя было и мечтать.
Надо отметить еще одно важное следствие работы Яманаки. До этого плюрипотентные клетки человека получали относительно аморальным путем — из клеток эмбриона (и потому они назывались эмбриональными стволовыми клетками). В некоторых странах использование их было запрещено, в других — связано с серьезными юридическими трудностями. Открытие Яманаки открыло перед человечеством практически неисчерпаемый ресурс плюрипотентных клеток, происхождение которых не оставляет пятна ни на чьей совести.

Оригинальные статьи лауреатов:

1) J. B. Gurdon The Developmental Capacity of Nuclei taken from Intestinal Epithelium Cells of Feeding Tadpoles // *J Embryol Exp Morphol*. V. 10. P. 622–640. December 1962.
2) Kazutoshi Takahashi, Koji Tanabe, Mari Ohnuki, Megumi Narita, Tomoko Ichisaka, Kiichiro Tomoda, Shinya Yamanaka. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors // Cell. V. 131. Issue 5. Pp. 861–872. 30 November 2007.