

Ембріональні стовбурові клітини і трансплантати острівців Лангерганса дорослої свині виліковують діабет у щурів

Розвиваючи методи лікування діабету в людей, учені з медичної школи Вашингтонського університету в Сент-Луїсі намагалися ослабити перебіг хвороби у щурів, використовуючи трансплантати як ембріональних, так і дорослих клітин свиней. Щури сприймали трансплантати свиней як свої власні й виробляли достатню кількість інсуліну для контролю рівня цукру в крові, при цьому не було потреби в ліках, які зазвичай застосовують для профілактики відторгнення. Дослідники повідомляють про свої висновки в онлайн-журналі *American Journal of Pathology*.

Застосовуючи в цьому методі лікування двоетапний підхід, дослідники спочатку трансплантували кластер ембріональних клітин підшлункової залози свиней щурам, хворим на діабет. Ці клітини росли і ставали підшлунковою залозою, в якій розміщені острівці Лангерганса, що виробляють інсулін. Ембріональні клітини зазнавали впливу імунної системи щурів, для того щоб через декілька тижнів прийняти другий імплантат острівців Лангерганса від дорослих свиней.

Це дослідження — успішна довгострокова трансплантація міжвидових острівців Лангерганса свиней без імуносупресії — підвищує вірогідність лікування діабету в людей із використанням аналогічного підходу. Клітини свині можуть замінити клітини острівців Лангерганса людини померлих донорів, усуваючи водночас необхідність після трансплантації вживати до кінця життя ліки для профілактики відторгнення.

«Незважаючи на те, що за допомогою острівців Лангерганса людини у деяких пацієнтів вилікували діабет, донорів настільки мало, що тільки невеликий відсоток пацієнтів отримали трансплантати, — зазначив Марк Хаммерман, професор медицини, фахівець із захворювань нирок. — Більш того, ті, хто отримує трансплантати острівців Лангерганса людини, повинні все життя вживати ліки для профілактики відторгнення. Наше дослідження відкриває шлях до нових підходів лікування діабету, за яких є практично необмежена кількість острівців Лангерганса і нема потреби в імуносупресії».

Інсулін свині було використано для лікування діабету в людей, унаслідок чого ці тварини стали потенційними донорами острівців Лангерганса для пацієнтів із цим захворюванням. Інсулін свиней зазвичай призначали хворим на цукровий діабет до 1980-х років, коли ДНК-технологія дозволила фармацевтичним компаніям отримувати інсулін людини.

У цьому дослідженні учені пересаджували кластери ембріональних клітин підшлункової залози свиней 10 діабетичним щурам, які не могли самостійно виробляти інсулін і мали дуже високі рівні глюкози в крові. Вважають, що клітини, отримані з ембріонів свині на початку свого розвитку, стають «невидимими» для імунної системи щурів, тобто зумовлюють стан імунної толерантності.

У процесі розвитку незрілих клітин підшлункової залози вони починали виробляти інсулін, значно знижуючи рівень цукру в крові у щурів-донорів, хоча й не до нормального рівня. Через вісім тижнів деякі зі щурів проходили другу трансплантацію клітин з дорослих свиней. Інші діабетичні щури в контрольній групі не отримували жодних ембріональних клітин підшлункової залози, а лише острівці Лангерганса дорослих свиней.

Через 12 тижнів і впродовж подальших місяців щури, яким трансплантували як ембріональні клітини підшлункової залози свиней, так і острівці Лангерганса, мали нормальний рівень глюкози в крові, що є доказом того, що клітини острівців Лангерганса свиней мали достатню кількість інсуліну. Щури контрольної групи, які одержали тільки ембріональні клітини підшлункової залози, як і раніше, мали вищий за нормальний рівень глюкози.

Дослідники визначили декількома методами, що успішно трансплантовані острівці Лангерганса свиней прижились у щурів, які раніше отримали ембріональні трансплантати клітин підшлункової залози. Натомість клітини острівців Лангерганса свині зазнали імунного відторгнення у щурів, яким не було зроблено ембріональної трансплантації клітин підшлункової залози.

«Це — важливий крок уперед і абсолютно новий шлях використання острівців Лангерганса свині для лікування цукрового діабету, — наголосив д-р Хаммерман. — По суті, перша пересадка ембріональних клітин підшлункової залози свиней дозволяє використовувати імплантати острівців Лангер-

ганса дорослих свиней для лікування діабету у щурів без препаратів, що пригнічують імунну систему. Наразі ми проводимо експерименти для перевірки того, чи працює ця стратегія трансплантації у хворих на цукровий діабет приматів, без застосування препаратів, що пригнічують імунну систему. Якщо це так, то ми сподіваємося оцінити трансплантати клітин свині на хворих цукровим діабетом людях».

У більш ранніх дослідженнях доктор Хаммерман і його колеги продемонстрували, що вони можуть вилікувати діабет у щурів, використовуючи великі кількості окремих кластерів ембріональних клітин підшлункової залози свині, не вдаючись до застосування ліків що пригнічують імунну систему. Однак вони зіткнулися з перешкодою, коли спробували застосувати ту саму процедуру трансплантації у приматів. При цьому ембріональні клітини підшлункової залози свиней, що їх трансплантували приматам, знижували рівень цукру в крові, але цього було недостатньо аби позбавити тварин повністю від ін'єкцій інсуліну.

«Примати набагато більші за щурів, і ми визначили, що потрібно давати їм величезну кількість ембріональних тканин підшлункової залози свині, що нереально, — зазначив доктор Хаммерман. — Острівці Лангерганса дорослих свиней забезпечують більш концентроване джерело інсуліну і їх легко отримати. Ми сподіваємося на їхню здатність ефективно контролювати рівень цукру в крові у щурів без пригнічення імунної системи, на можливість перенесення цих результатів на приматів і, зрештою, на людей».

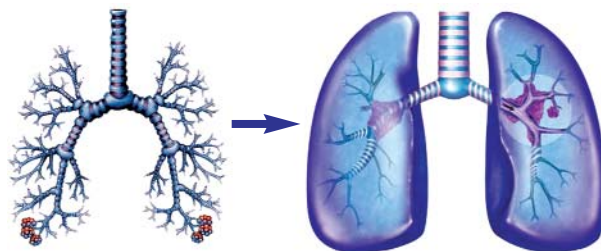
Джерело:

[http://www.sciencedaily.com/
releases/2010/06/100629094151.htm](http://www.sciencedaily.com/releases/2010/06/100629094151.htm)

Учені отримують нові легені, використовуючи «скелети» старих

Для деякого з тяжким, невиліковним захворюванням легенів, таким як кістозний фіброз або хронічна обструктивна хвороба легенів, трансплантація легенів може бути єдиним шансом на виживання. На жаль, часто це не дуже вдалий шанс. Адже підбір донорів легенів проводиться рідко, і багато потенційних реципієнтів помирають в очікуванні трансплантації, яка могла б врятувати їхнє життя. Таких летальних наслідків можна було б уникнути за можливості використання стовбурових клітин для вирощу-

вання легеневої тканини або нових легенів. Фахівці в новій галузі тканинної інженерії займаються цим питанням упродовж багатьох років. Проте вони розчаровані, оскільки існують проблеми, пов'язані з розвитком недиференційованих стовбурових клітин у специфічні, що заповнюють різні місця в легенях.



На цей час дослідники медичного відділення Техаського університету в Галвестоні продемонстрували принципово нове рішення цієї проблеми. Як повідомляється в статті, опублікованій в електронній версії журналу *Tissue Engineering Part A*, вони посіяли ембріональні стовбурові клітини миші в «безклітинні» легені щурів — органи, початкові клітини яких було зруйновано циклами заморожування — відтаювання і дією мийного засобу. У результаті отримали порожні скафолди структурних протеїнів у формі легенів, на яких розвивалися стовбурові клітини миші, що видозмінювались у нові клітини, у відповідних їм конкретних місцях.

«Що стосується різних типів клітин, то, мабуть, легені — найскладніший зі всіх органів: клітини біля входження в орган істотно відрізняються від таких, що містяться глибоко в легенях, — зазначив д-р Джоакім Кортієлла, один з авторів статті. Наша природна матриця створювала таку саму схему з клітинами трахеї тільки в трахеї, альвеолоподібними клітинами — в альвеолі, пневмомісця — тільки в дистальній частині легенів та певні перехідні зони між бронхами й альвеолами».

«Такого прояву «специфічних місць» клітин ніколи раніше не спостерігалось в природних матрицях», — наголосив професор Джон Ніколс, інший автор статті. Ці результати дають дослідникам надію, що подібну концепцію можна було б розширити або для проведення заміни тканин у людей, або для створення моделей для тестування методів лікування і діагностики різних захворювань легенів.

«Якщо нам вдасться зробити хороші легені для людей, ми також створимо

відповідну модель для травм», — зауважив Джон Ніколс. — Ми матимемо можливість створити легеневий фіброз або емфізему легенів і оцінити, що відбувається з ними, як поводяться стовбурові клітини або ж як здійснюється лікувальна дія. Ми зможемо побачити, що відбувається при запаленні легенів або коли ви підхопили геморагічну лихоманку чи туберкульоз».

Учені вже розпочали роботу, проводячи великомасштабні експерименти, піддаючи «децелюляризації» легені свині з метою використання їх для одержання великих зразків легеневої тканини. Вони сподіваються, що результати цієї роботи уможливлять практичне застосування на людях, а також мають на меті здійснити васкуляризацію — стимулювання розвитку кровоносних судин. Це дасть змогу створеним тканинам виживати поза спеціальними біореакторами, що їх використовують учені для збереження їхньої життєздатності шляхом занурення у коктейль життєзабезпечення, що складається з живильних речовин і кисню.

«Люди запитують, чому ми займаємося легенями, адже це так складно, — зазначив д-р Джоакім Кортієлла, — Однак потенціал цих дослідів дуже великий, до того ж є відповідна технологія. На одержання необхідних результатів потрібен час, але я сподіваюсь, що ми створимо систему, яка працюватиме».

Джерело: <http://www.sciencedaily.com/releases/2010/06/100624092522.htm>

Визначено механізм розвитку рідкісної форми раку

Міжнародна група вчених з'ясувала, чому контакт з азбестом сприяє розвитку злоякісної мезотеліоми — рідкісного новоутворення, джерелом якого стає тканина, що вистилає поверхню грудної, черевної або серцевої порожнини.

Контакт з азбестом є основною причиною появи мезотеліоми; окрім того, він підвищує ризик розвитку раку легенів у курців. Пояснити це досить складно, оскільки азбест, на відміну від інших канцерогенів, убиває клітини мезотелію, а мертва клітина, очевидно, ніяк не може сприяти формуванню пухлини. Знайти вирішення проблеми вчені намагалися останні 40 років.

Як виявилось, під час знищення клітин під впливом азбесту в позаклітинний простір

потрапляє протеїн HMGB1, що, у свою чергу, призводить до виділення макрофагами прозапального цитокіну TNF- β . Результатом цього і стає запальна реакція та розвиток раку. Порушення дії зазначеного механізму має запобігати формуванню мезотеліоми. У найближчому майбутньому автори планують вирушити в один із віддалених районів турецької Каппадокії, де від мезотеліоми гине понад 50% населення, і перевірити це припущення.



Волокна азбесту під сканувальним електронним мікроскопом (ілюстрація Ted Kinsman / Science Photo Library).

На думку вчених, для запобігання розвитку мезотеліоми можна використовувати звичайний аспірин або інші протизапальні засоби, які також зменшують ризик захворювання раком товстої кишки.

Джерело: <http://science.computenta.ru/543376/>

Фотосинтез у жаб'ячій піні

Запаси викопного палива не безмежні. Ця думка вже давно турбує людство і спонукає шукати альтернативні способи забезпечити себе енергією. Один з очевидних виходів — використовувати енергію Сонця, що її запасують рослини у вигляді органічних сполук (цукрів), для отримання біопалива (спирту). Проте вищі рослини є малопродатними для ефективного одержання біопалива: займають багато місця, потребують поливу, орних земель. Та оскільки ми живемо у добу біо- і нанотехнологій, то саме вони й допоможуть ученим виправити ситуацію.

Так вирішили дослідники з університету в Цинциннаті (США). Що потрібно для штучного фотосинтезу? По-перше, з енергії сонячного світла отримати енергію хімічних

зв'язків. Виявляється, для цього досить узяти лише два ензими — бактеріородопсин та аденозинтрифосфатсинтазу. Перший з них є світлочутливим переносником протона, а другий — під час протікання протонів через мембрану синтезує високоенергетичну молекулу АТФ із АДФ. Як мембрану вчені пропонують використовувати природний детергент — протеїн Rsn-2 жаби *Physalaemus pustulosus*, який є основним компонентом піни жаб'ячих будиночків. Така піна, з одного боку, достатньо стабільна навіть за низьких концентрацій протеїну, а з другого, — на відміну від багатьох інших детергентів не руйнує ензими.

Отже, піна, бактеріородопсин і АТФ-синтаза дозволяють накопичувати енергію у вигляді молекул АТФ. Додавання до цієї системи ензиматичного комплексу циклу Кальвіна сприяє фіксації атмосферного вуглекислого газу у вигляді гліцеральдегід-3-фосфату. При цьому використання жаб'ячої піни дало якнайкращі результати порівняно з іншим детергентом (Tween-20) за відсутності піноутворювача. Додавання до цієї, і без того вже складної, системи додаткового набору ензимів дозволило отримувати з гліцеральдегід-3-фосфату глюкозу.

Фотосинтезувальна піна дає змогу одержувати 116 нмоль глюкози на 1 мл за 1 год. Автори роботи підрахували, що якщо взяти шар піни завтовшки в 1 м, то можна отримати 10 кг біопалива на гектар за 1 год, або 3–4 т з 1 га на рік (за умов 11-годинного світлового дня та з урахуванням витрат на процес перероблення цукру на біопаливо). Це вдесятеро більше, ніж у разі використання традиційних рослин, наприклад цукрового очерету. Для посушливих регіонів вкрай важливо, що фотопіна не потребує поливу, тоді як для виробництва 1 л спирту з вищих рослин потрібно 800–1200 л води, велику частину якої рослини марнотратно випаровують.

Утім, учені лише частково забезпечили енергетичні потреби у процесі синтезу гліцеральдегід-3-фосфату. У циклі Кальвіна витрачається дві молекули АТФ і одна молекула НАДФН (або НАДН). Фотопіна не проводить цю молекулу — її пропонують додавати ззовні. І якщо ензими в процесі реакції не витрачаються, то з НАДН незрозуміло — чи є необхідним постійно додавати нові порції цієї речовини? А беручи до уваги велике різноманіття використовуваних ензимів, дослідникам передусім варто вивчити питання стабільності системи. Роботу «Artificial Photosynthesis in Ranaspu-min-2 Based Foam» опубліковано в *Nano Letters*.

Джерело: ACS Publications

Гени, що пов'язані з автоімунними захворюваннями

Багато автоімунних захворювань, включаючи цукровий діабет I типу, в деяких випадках можуть бути спричинені порушеннями тільки в одному гені.

Ген *SIAE* кодує ензим ацетилестеразу сіалової кислоти, що регулює активність В-лімфоцитів, які продукують специфічні антитіла до чужорідних агентів. У 24 з 923 людей з такими захворюваннями, як цукровий діабет I типу, хвороба Крона, розсіяний склероз, ревматоїдний артрит і системний червоний вовчак, виявлено різні поліморфні варіанти цього гена, названі також поліморфізмами або алельними варіантами.

За останніх 5 років завдяки численним генетичним дослідженням проведеним на великих вибірках пацієнтів, було виявлено найбільш поширені поліморфізми генів, асоційовані з деякими захворюваннями складної етіології. Незважаючи на те, що багато таких поліморфізмів було ідентифіковано, вони дають мало інформації щодо генетичної схильності їхніх носіїв до певного захворювання. З огляду на це вчені останнім часом почали вивчати питання, чи дійсно рідкісні алельні варіанти становлять генетичну основу захворювань.

У нормі імунні реакції розвиваються лише у відповідь на чужорідні або змінені власні антигени. Старіння і деякі захворювання призводять до того, що в організмі з'являються антитіла, спрямовані проти власних антигенів (автоантитіла), при цьому розвиваються автоімунні реакції і, як наслідок, автоімунні захворювання. Учені з Гарвардської медичної школи (Бостон, США) на чолі з Шивом Піллаї виявили, що дезактивація гена *SIAE* у мишей викликає симптоми, схожі з тими, що спостерігаються при системному червоному вовчаку у людей. Ґрунтуючись на результатах цих експериментів, Піллаї з колегами постулювали, що *SIAE* та інші гени цього сімейства блокують продукцію автоантитіл В-лімфоцитами. Порушення ж у цьому гені призводять до збільшення ризику розвитку автоімунних захворювань.

З метою вивчення зв'язку гена *SIAE* з автоімунними захворюваннями людини вчені здійснили його секвенування. У пацієнтів з автоімунними захворюваннями було виявлено декілька поліморфізмів, що спричинювали порушення роботи гена і синтез ензиму з порушеною функцією. У здорових людей також були знайдено поліморфізми, однак вони виявилися нейтральними і не впливали на роботу гена.

Учені з'ясували, що у пацієнтів з аутоімунними захворюваннями було в 9 разів більше дефектних алелей досліджуваного гена порівняно зі здоровими людьми. Той факт, що не у всіх пацієнтів було виявлено поліморфізми, асоційовані з порушеною функцією гена *SIAE*, д-р Піллаї пояснює тим, що багато хто з них, можливо, має мутації в інших генах цього ж сімейства.

На думку Джея Шендура, генетика з Університету Вашингтона (Сіетл, США), після виявлення поліморфізмів генів украй важливо провести відповідні функціональні дослідження. На жаль, не для всіх генів, навіть таких добре вивчених, як, наприклад, *BRCA1* (ген, що асоціюється з пухлинами молочної залози), проведено подібні дослідження.

«Головна перевага цієї роботи полягає в тому, що вона пропонує конкретну гіпотезу — щодо ролі сіалової кислоти в аутоімунних захворюваннях, — яку тепер можна перевірити», — зазначив Джуді Хо, імуногенетик з Єльського університету (Нью-Хейвен, США).

Дослідницька група сконцентрувала свою увагу на одному гені, але, за словами Піллаї, коли ціни на секвенування впадуть, учені зможуть виявляти поліморфізми всієї кодувальної частини генома та порівнювати послідовності ДНК хворих і здорових людей для виявлення асоціацій генів з певними захворюваннями.

Джерело: Nature News Science Daily (June 28, 2010)

Дослідження мікро-РНК розкриє секрети клітин імунної системи

Результатом дослідження, опублікованого в Інтернет-журналі *Immunity*, стало отримання нової інформації стосовно різноманітних молекул мікро-РНК, які містяться в клітинах імунної системи мишей. Як відомо, мікро-РНК є ключовими регуляторними молекулами, що визначають роботу генів і синтез протеїнів.

«Безліч життєво важливих функцій клітини, включаючи її розвиток, диференціювання і метаболічні процеси, визначаються рівнем продукції специфічних протеїнів, — пояснив доктор Рафаель Каселлас, який очолює групу дослідників генома й імунітету в Національному інституті артрити і хвороб опорно-рухового апарату та шкіри. — Ми вивчали, яким чином мікро-РНК впливають на регуляцію цих функцій».

Процес утворення протеїну складається з процесів транскрипції (синтезу матричної

або інформаційної РНК на основі кодувальної нитки ДНК) і трансляції (синтезу поліпептидного ланцюга протеїну на основі матричної РНК). Під час транскрипції відбувається копіювання генів ДНК на молекулу інформаційної рибонуклеїнової кислоти, яка потім надходить з ядра клітини в її цитоплазму. Окрім інформаційної РНК існують різноманітні типи РНК, що не кодують протеїни і виконують у клітині регуляторні функції. Наприклад, мікро-РНК є короткими послідовностями рибонуклеотидів, що модулюють утворення протеїнів на основі інформаційної РНК. Попередні дослідження показали, що клітини дуже чутливі до коливань рівнів мікро-РНК.

У цьому дослідженні вчені використовували техніку міросеквенування, щоб ідентифікувати різноманітні типи мікро-РНК, які присутні в імунних клітинах мишей. Окрім декількох нових типів мікро-РНК, учені також вивчили деякі клітинні механізми, що регулюють кількість мікро-РНК. Було встановлено, що невелика частина молекул мікро-РНК знаходиться в ядрі в неактивному стані доти, доки не отримає активуючі епігенетичні сигнали. Епігеном регулює транскрипцію і об'єднує весь негенетичний матеріал в ядрі. Також активація мікро-РНК залежить від рівня синтезу інформаційної РНК в клітині.

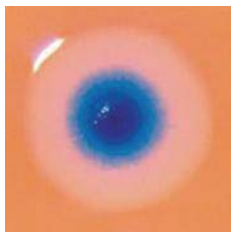
«Результати, отримані в цьому дослідженні, — наголосив директор Національного інституту артрити і хвороб опорно-рухового апарату та шкіри Стефан І. Кац, — є дуже важливим матеріалом для імунологів і клітинних біологів. Вони використовуватимуться в подальших дослідженнях особливостей функціонування імунної системи та біології мікро-РНК».

Джерело: NIH/National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases

Синтезовано штучний геном

Учені створили «з нуля» бактерійний геном і використовували його для перетворення бактерії одного виду на інший.

Даніель Гібсон і його колеги з Університету Дж. Крейга Вентера в Роквіллі (США) синтезували геном бактерії *Mycoplasma mycoides*, що складається з більш ніж 1,1 млн. пар нуклеотидних основ. Отримавши геном усередині дріжджової клітини, дослідники перенес-



Хімічний маркер (синій колір) демонструє здатність бактерії із синтезованим геномом розмножуватися в життєздатну колонію

ли його в клітину *Mycoplasma capricolum*. Колонія бактерій, одержана в результаті поділу клітини зі штучним геномом, виробляла тільки ті протеїни, які характерні для *M. mycoides*. Успіх розробників методу уможливило створення і подальше вивчення нових варіантів існуючих організмів.

«Наш підхід дозволяє почати із секвенування ДНК і створити нові організми із заданими характеристиками, — пояснив Гібсон. — Ми можемо внести будь-які зміни до генома на рівні нуклеотидів. Учені вже розробили багато методів створення штучних генів, але запропонований нами спосіб дає безпрецедентну можливість одномоментно внести до генома велику кількість змін, а також додати ділянки ДНК, що не існують у природі, але можуть бути розроблені для виконання організмом корисних функцій».

Створення «штучної клітини», як зазначено в повідомленні, опублікованому в інтернет-журналі *Science today*, ознаменувало успішне комбінування результатів усієї попередньої роботи. Спочатку група дослідників розробила метод перенесення ДНК *M. mycoides* в *M. capricolum*. Потім було проведено серію експериментів на бактерії *M. genitalium*, геном якої становить приблизно половину довжини генома *M. mycoides*. Окремі частини синтетичного генома було «зшити» в єдине ціле, і геном був клонований у дріжджовій клітині.

Ученим упродовж тривалого часу не вдавалося перенести створений ланцюг ДНК в різні види бактерій, оскільки молекулярні системи бактерійної клітини пізнавали чужорідну синтетичну молекулу, що має інший профіль метилування, ніж власна клітинна ДНК. Було розроблено спеціальний метод метилування синтетичної ДНК (приєднання метильних груп до певних ділянок молекули). Також довелось інактивувати ензим ДНК-азу, який руйнує чужорідні молекули ДНК у клітинах-реципієнтах.

Створений штучний геном — майже точна копія його природного двійника, не містить декількох неістотних генів і несе невелику кількість помилок послідовності, що не впливають на функціонування організму.

Також учені включили в штучний геном деякі маркери, що дозволяють відрізнити його від природного.

«Це — значне досягнення, — прокоментував Крістофер Войт, фахівець із синтетичної біології Каліфорнійського університету в Сан-Франціско. — Важливо, що вперше для зміни ДНК і отримання нової життєздатної клітини потрібно було мати лише інформацію генома».

Наразі ще не з'ясовано, наскільки корисним є створений ученими повноцінно функціонуючий геном. Дослідники Джеймс Коллінз і Говард Х'юз із Медичного інституту Університету Бостона штату Массачусетс, стверджують, що в принципі розроблений метод дозволяє значно полегшити внесення великомасштабних змін до генома і вводити в організм комплексні каскадні реакції. Це означає, наприклад, включення в бактерію довгої послідовності генів, продукти якої потім дозволять отримати біологічне паливо або протеїн, що є медичним препаратом. На жаль, наявних знань дослідників про генетичні взаємозв'язки все ще недостатньо для того, щоб сконструювати подібний «робочий» геном. «Належить провести велику роботу, перш ніж буде створено генетичну систему розміром із цілий геном, — пояснив Войт. — Поки що ми не маємо підстав для роздумів на такому рівні». «Окрім того, — додав Коллінз, — синтез ДНК — дорога методика і принаймні зараз у більшості дослідницьких груп немає достатньо коштів для створення цілих геномів».

Гібсон розповів, що команда учених під його керівництвом намагається створити різні типи модифікованих клітин зі штучним геномом, використовуючи різні види бактерій. Також планується продовжити роботу над цим проектом і створити клітину «найменшого достатнього розміру», яка міститиме тільки ті гени, що є необхідними для її виживання. «Нарешті ми маємо в своєму розпорядженні метод визначення функціональних можливостей генома, — констатував Гібсон. — Тепер ми можемо дізнатися про найменше число генів, необхідних для підтримки життя».

Джерело: NatureNews

Новий погляд на причини розвитку розсіяного склерозу

Учені давно хотіли досліджувати геном людини з метою пошуку ключових змін у ДНК, що призводять до розвитку розсіяно-

го склерозу (РС). Тепер це стало можливим завдяки зниженню вартості секвенування ДНК. Перше ретельне дослідження генома однойцевих близнят принесло деякі результати, але показало, що навіть глибокий генетичний аналіз не завжди дає чіткі відповіді на існуючі питання. РС характеризується одночасним ушкодженням декількох відділів центральної нервової системи внаслідок атаки власних лімфоцитів організму на компоненти мембран гліальних клітин. При цьому в білій речовині головного і спинного мозку виникають множинні осередки руйнування мієліну, необхідного для нормальної передачі електричного імпульсу нервовими волокнами. Раніше не було сумнівів у тому, що в більшості випадків захворювання зумовлено генетичними причинами. Родичі хворих на РС перебувають у групі підвищеного ризику розвитку захворювання; якщо ж хворий на РС має близнюка, то ризик розвитку РС у цього близнюка становить більше 25%. Здавалося б, мають існувати деякі невеликі відмінності в геномах близнят, що визначають різний ризик розвитку РС, проте після того як група американських учених порівняла геноми близнят жіночої статі (одна з близнят була здорова, а друга — хвора на РС), жодних подібних відмінностей виявлено не було.

Після проведення генетичного дослідження ДНК близнят група вчених під керівництвом Сержіо Баранзіні з Університету Сан-Франциско (Каліфорнія, США) і Стефана Кінгзмора з Національного центру досліджень генома в Санта Фе (США) сконцентрувала свою увагу на епігенетичних відмінностях (хімічних модифікаціях ДНК, що впливають на експресію генів) геномів лімфоцитів інших пар однойцевих близнят, включаючи й першу досліджену пару (всього три пари однойцевих близнят). Проте і в цьому разі істотних відмінностей в хімічних модифікаціях ДНК ключових генів виявлено не було.

Учені не секвенували послідовності геномів двох інших пар близнят, однак провели порівняльний аналіз близько 1 млн. специфічних поліморфних ділянок генів (однонуклеотидних замін у послідовності ДНК, в англ. літературі — SNP — від *single nucleotide polymorphism*) у близнят з наявністю і відсутністю захворювання, у черговий раз підтвердивши повну ідентичність їхніх геномів.

«Оскільки геном було вивчено всебічно, можна сказати, що отримано надзвичайно важливий негативний результат», — зазна-

чив Девід Хафлер, невролог з Єльського університету в Нью-Хейвені (США). Одержані результати свідчать на користь того, що захворювання насправді практично не має генетичної складової.

Генетики часто досліджують великі вибірки хворих на РС у пошуках однонуклеотидних замін у послідовності ДНК, що асоціюється із захворюванням. Секвенування припускає глибший і детальніший аналіз генома, за допомогою чого можна виявити раніше не виявлені відмінності пар близнят, один з яких здоровий, а другий — хворий. Спочатку геноми близнят ідентичні, але в одного з них можуть відбутися мутації на ранніх етапах розвитку, а в другого — ні.

Більш ранні дослідження виявили групу генетичних поліморфізмів, асоційованих з підвищеним ризиком розвитку РС, і в усіх близнят, які беруть участь у дослідженні, був принаймні один небажаний поліморфізм. «Обидва близнюки з'явилися на світ з однаково високим ризиком розвитку РС, — повідомив доктор Кінгзмор, — але генетичних факторів, як виявилось, недостатньо для прояву захворювання: існує якийсь інший механізм, що ініціює розвиток РС». «Є вірогідність, — додав Баранзіні, що, хоча обидва близнюки мають однаково схильність до захворювання, на одного з них зробили сильніший вплив чинники навколишнього середовища».

«Порівняння послідовностей геномів усіх членів сім'ї з метою знаходження точкових мутацій, відповідальних за розвиток захворювання, пропонує нові можливості діагностики і терапії», — зазначив Деніел Гешвінд, нейрогенетик з Університету в Лос-Анджелесі (Каліфорнія, США). У нещодавно опублікованому дослідженні вчені використовували повне секвенування генома для ідентифікації рідкісних специфічних поліморфізмів, що призводять до розвитку неврологічного захворювання, — хвороби Шарко-Мари-Тута; інше дослідження звулило генетичні причини двох інших захворювань. Обговорюване дослідження — це перша робота, що стосується розсіяного склерозу. Воно охоплювало вивчення експресії специфічних генів, епігенетичний аналіз, а також повне секвенування геномів. «Цю роботу можна використовувати як зразок для подальших досліджень», — вважає Гешвінд. Проте, на його думку, робота не позбавлена недоліків. Один із них полягає в тому, що, хоча Баранзіні з колегами вивчили епігенетичні особливості й експресію генів у всіх трьох досліджуваних пар близнят, повне секвену-

вання генома вони провели лише для однієї пари. Д-р Кінгзмор також відзначає, що увагу групи було спрямовано тільки на лімфоцити, хоча слід було вивчити також і нервові клітини, можливо, саме в них криються генетичні відмінності між близнятами, які визначають ризик розвитку розсіяного склерозу.

Окрім того, виявлено вагомні докази на користь впливу деяких досі невідомих чинників навколишнього середовища на розвиток РС. Головну статтю квітневого номера журналу *Nature* присвячено результатам найсучаснішого аналізу генома, виконаного на ідентичних, або «монозиготних» близнятах, один з яких був хворий на РС, а другий — здоровий.

«Незважаючи на високу точність, з якою ми секвенували геном обстежуваних, не знайдено генетичних або епігенетичних відмінностей, що пояснюють, чому в одного близнюка розвинулася хвороба, а в другого — ні», — розповідає д-р Баранзіні.

Результати дослідження не спростовують участі спадкових факторів у розвитку захворювання. Згідно з даними статистики, якщо в одного з близнят розвивається РС, ризик захворювання у здорового близнюка зростає на 30%. Якщо хворіє брат або сестра, які не є близнятами, то ризик розвитку захворювання у здорового брата/сестри зростає приблизно на 5%. Попри невелику чисельність групи обстеження і певні технічні обмеження методики, Сержіо Баранзіні вважає результати достовірними або, принаймні, такими що заслуговують на увагу.

Дослідження проводили з 20-кратною глибиною покриття генома. Для порівняння, перші опубліковані результати секвенування генома людини були отримані при 7–8-кратній глибині покриття генома (роботи Крейга Вентера і нобелівського лауреата Джеймса Уотсона). Крім того, група учених під керівництвом Баранзіні вперше провела дослідження генома жінки, секвенувала геноми близнят, а також геном хворого на розсіяний склероз. Надалі вони планують вивчити генетичний матеріал, отриманий від інших близнят із РС.

У своїй статті учені не висловлюють припущень щодо того, які чинники навколишнього середовища спричиняють РС. Найвідомішою теорією розвитку РС є теорія, згідно з якою якась вірусна інфекція активує аутоімунні реакції, що призводять до виникнення хвороби. За найбільш вірогідного винуватця імунopatологічних реакцій вважають вірус Епштейна–Барра. Проте, якби

це було так, то унікальний геном кожної людини визначав би, призведе інфікування вірусом до розвитку РС, чи ні. Було з'ясовано, що віруси не провокують виникнення РС, водночас виявлено генетичні чинники ризику і висловлено припущення, що розвиток РС може бути зумовлений курінням, а також недоліком сонячного світла і вітаміну D, що виробляється під дією сонячних променів.

Припущення вчених щодо рівноцінної значущості генетичного фактора і чинників навколишнього середовища для розвитку РС пов'язано з невідповідністю геномів, що виявляється у монозиготних близнят у 70% випадків. Відносно недавно було також описано генетичні (ДНК) і епігенетичні (метилування та імпринтинг ДНК) відмінності між монозиготними близнятами. Це дослідження здійснено для того, щоб вивчити, наскільки ідентичні геноми монозиготних близнят, а також виявити генетичні й епігенетичні відмінності геномів близнят, один з яких хворіє на РС.

Цікаво, що вчені також виявили несподівані відмінності геномів близнят, не пов'язані з наявністю РС. У монозиготних близнят спостерігалися відмінності в так званій «невідповідності алелей» (ситуація, коли одна копія гена експресується з більшою частотою, ніж інша). В одного близнюка рівень експресії двох алелей одного гена міг бути однаковим, у другого — розрізнятися, що зумовлювало відмінність профілів експресії матричних РНК (мРНК) і, зрештою, продукції деяких протеїнів у клітинах близнят.

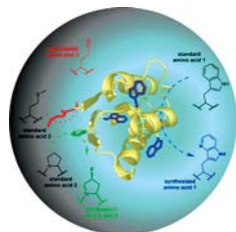
«Ми виявили безліч прикладів, коли в одного близнюка невідповідність алелей була виражена більшою мірою, ніж у другого, або ж, коли невідповідність розподілялася між двома алелями, — пояснив Баранзіні. — Отримані результати виявилися несподіваними і, ймовірно, привернуть увагу вчених при подальшому дослідженні геномів близнят з РС або іншими захворюваннями».

Джерело: Nature News

Генетичний код: нові штучні протеїни для промисловості й науки

Створення синтетичних протеїнів відіграє важливу роль для економіки і науки. Інтеграцією штучних амінокислот у протеїнах (моделювання генетичного коду) можна систематично покращувати їхні вже існуючі властивості, унаслідок чого можуть виникати

нові біологічно активні сполуки. На цей час ученим з Інституту біохімії Макса Планка (МРІВ) у Мартіншрайде поблизу Мюнхена (Німеччина) вдалося зробити ще один важливий крок у цій галузі досліджень: вони вперше змогли в одному експерименті включити три різні синтетичні амінокислоти в один протеїн. Протеїни є головними компонентами організму: вони переносять речовини, передають інформацію або виконують життєво важливі процеси як молекулярні машини. Вони складаються з амінокислот, послідовність яких вже визначена спадковою інформацією в кожній живій істоті. Переклад цієї інформації у процесі виробництва протеїнів (синтез протеїну) визначається генетичним кодом. Стандартний набір утворюють 20 амінокислот, з яких будуються протеїни. Проте в природних умовах можна знайти декілька сотень амінокислот і, звичайно ж, у лабораторних умовах також можна отримати нові амінокислоти. Що стосується їхніх властивостей, то вони відрізняються від стандартних 20 амінокислот, унаслідок чого при включенні їх у протеїни можуть систематично змінюватися їхні конкретні структурні та біологічні властивості. Досі тільки один тип синтетичних амінокислот міг бути включений у протеїн під час одного експерименту, тобто одночасно можна змінити лише одну з властивостей протеїну.



Уперше три амінокислоти одного протеїну можуть бути змінені в один і той самий час в одному експерименті

Неділджко Будіча, керівник дослідницької групи молекулярної біотехнології в МРІВ, досяг на сьогодні важливого методичного прогресу в галузі моделювання генетичного коду. Вчені змогли замінити в одному експерименті три різні природні амінокислоти на синтетичні. Біохімік прокоментував цю подію: «У результаті нового етапу розвитку науки було проведено успішні дослідження моделювання і розширення генетичного коду».

Метод Будіча може мати важливе значення, особливо для промисловості й економіки, оскільки виробництво штучних протеїнів методом моделювання генетичного коду, на його думку, є міцною основою для розвитку нових технологій. «У ході такої інтеграції синтетичні амінокислоти наділяють своїми характеристиками про-

теїни. Таким чином, ця розробка дасть можливість синтезувати абсолютно нові класи продуктів, хімічний синтез яких не вдавався досі при звичайному моделюванні протеїнів, за якого використовували тільки 20 стандартних амінокислот», — вважає Будіча. — Завдяки нашому методу можна буде в майбутньому створювати промислово важливі протеїни з новими властивостями, зокрема такі, що містять медично значущі компоненти».

Матеріали цього дослідження опубліковано в журналі *Angewandte Chemie* (24 червня 2010).

Джерело:

<http://www.sciencedaily.com/releases/2010/06/100630110908.htm>

Відкриття контрольованих скупчень у бактеріях могло б сприяти розробленню нових стратегій для підвищення чутливості до антибіотиків

У цій роботі, виконаній дослідниками Університету Autnmoma de Barcelona (UAB) описано один з механізмів, якими популяція патогенних бактерій контролює спосіб їх розповсюдження поверхню органів, які вони інфікують, і зупинку в разі виявлення присутності антибіотика, а також відновлення розповсюдження, коли така дія припиняється. Визначальну роль в цьому механізмі відіграють протеїни RECA, концентрація яких істотно підвищується на початку відновлення ДНК бактерій.

Під час інфекційного процесу багато хвороботворних бактерій спільно рухаються поверхню органа, який вони інфікують доти, доки не об'єднаються в масові колонії, а отже, створюються токсини і речовини, що ушкоджують тканини хазяїна. Такий рух нагадує кишіння у вигляді концентричних кіл, на зразок рою бджолиних сімей та деяких тварин. Деякі молекулярні процеси, що відбуваються в ході цього руху, вже було описано, однак механізм контролю активації або гальмування ще не відомий.

Уперше дослідженнями встановлено існування зв'язку між системою репарації ДНК бактерій, відомої як відповідь SOS, і цим кишінням. Дослідники показали, що наявність антибіотиків активує відповідь SOS і тим самим збільшує концентрацію протеїну RECA. Це заважає дії протеїну CHEW, необхідного для кишіння, і, таким чином, приводить до зупинки руху бактерійної колонії. Зі зменшенням концентрації цього антибіотика кількість протеїну RECA зменшується і CHEW знову зможе

продовжити свою дію, спрямовану на розповсюдження бактерій. Отримані результати свідчать про те, що з урахуванням особливостей такого виду колективного руху антибіотики впливають тільки на зовнішні клітини рою, що кишить, які, у свою чергу, виступають як датчики й активують вищезазначену молекулярну систему ремонту. Таким чином, ця дія зводить нанівець ефект препарату на решті частини популяції бактерій.

Джорді Барб, Лаура Медіна Руїз і Сюзана Кемпой, дослідники з департаменту генетики та мікробіології UAB і керівники дослідження, підкреслюють важливість цього основного відкриття, оскільки воно дасть змогу забезпечити розроблення методів блокування дії RECA і тим самим підвищити чутливість бактерій до антибіотиків.

Дослідження проводилося з кишковими бактеріями сальмонелами (*Salmonella*), представником групи бактерій, виявлених у деяких патогенних видах, відповідальних за хвороби травної і дихальної систем, таких як сепсис і системні інфекції.

Повідомлення про це дослідження опубліковано в *Infection and Immunity*.

Джерело:

[http://www.sciencedaily.com/
releases/2010/06/100622112602.htm](http://www.sciencedaily.com/releases/2010/06/100622112602.htm)

Дослідження показують, що поділ клітин зменшує розмір яблук

Ресторани фаст-фуд можуть готувати велику за розміром французьку картоплю, але Матінка-Природа знайшла спосіб вирощувати яблука великого розміру.

Професор садівництва Пітер Херст з Університету Пердью (Лафетт, США) показав, що аномалії у деяких яблуневих дерев сорту Гала є причиною того, що розмір яблук стає набагато більшим порівняно з яблуками інших сортів унаслідок того, що клітини після поділу не розділяються. Отримані результати, що їх викладено в поточному випуску *Journal of Experimental Botany*, показали, що плоди нового сорту під назвою Гранд Гала майже на 38% важчі порівняно зі звичайним сортом Гала, крім того, вони на 15% більші в діаметрі.

«Цього ще ніколи раніше не спостерігали, — зазначив Херст. — Це оригінальний феномен в яблучному світі».

Херст намагається зрозуміти, що є причиною такої відмінності в розмірі яблук, зокрема, чому саме яблука Гала набагато більші, ніж яблука лісові (crabapples).

Яблука Гранд Гала (справа) зазнають ендоредуплікації, унаслідок чого їхні клітини зростають більшими порівняно з клітинами звичайних яблук Гала (зліва). (Фото Пітера Херста, Ун-т Пердью)



«Існує реальний стимул для садівників, аби збільшити розмір яблук, — наголосив Херст, — адже ціна на них зростає удвічі».

Оскільки різні сорти яблук не завжди мають однакові гени, що контролюють ті ж самі функції, то нелегко зрозуміти механізми, які детермінують їхні розміри. Але, ймовірно, дослідження Гранд Гала могло б допомогти розгадати цю таємницю.

«Спосіб, за яким Гранд Гала було знайдено, полягає в тому, що хтось, у кого в саду повно дерев Гала, відзначив, що на одній гілці розмір яблук відрізняється від розміру яблук на решті частини дерева. Він прищепив нові дерева від цієї гілки, щоб отримати нове дерево, — пояснив Херст. — Це всього лише випадкові події».

Більші яблука, як правило, мають більше клітин, ніж їх менші аналоги, і таким чином Херст припустив, що існує ген або гени, які зумовлюють здатність до поділу клітин, закладену в Гранд Гала. Він виявив, що у Гранд Гала була приблизно така сама кількість клітин, як і в звичайного сорту Гала, але ці клітини були більшими.

Як правило, клітини копіюють свою ДНК, ростуть, а потім піддаються поділу. Кожна із цих клітин продовжує цей процес. Упродовж перебігу явища, названого ендоредуплікацією, клітини Гранд Гала копіюють свою ДНК, але не діляться. Натомість вони ростуть, додають нові копії ДНК, і це зростання триває.

Фрукти Гранд Гала мають такий самий (основний) розмір, і таким чином доданий розмір і маса є м'якоттю або шкіркою плодів. Вони також щільніші та, як правило, смачніші.

Дослідження Херста виявило, що один або більше з кількох генів, ймовірно, несе відповідальність за ендоредуплікацію. І хоча теоретично можна виділити ці гени і знайти спосіб збільшити розмір яблук, Херст вважає, що це мало ймовірно.

«Ви не побачите Гранд Гала в гастрономі, — зазначив Херст. — Споживачі люблять блискучі яблука, тобто такі, що мають чудовий вид. Сорт Гранд Гала є трохи однобічним. Ці яблука привабливі, але зрештою це не те, що споживачі звикли бачити в магазині».

Він додав, що яблука, очевидно, успадковують більше ознак у тих яблуневих садах, в яких вони зростали.

Учений продовжуватиме досліджувати, чому різні яблука мають різні розміри, але відповіді щодо наявності процесу ендоредуплікації не очікує.

Джерело:

<http://www.sciencedaily.com/releases/2010/06/100630111047.htm>

Новий поштовх розвитку біотехнології

Канадські фармацевти висловили готовність допомогти США в забезпеченні населення вакциною проти грипу і передати своїм американським колегам близько 2 млн. доз цього препарату. Нагадаємо, що зараз Сполучені Штати Америки відчувають серйозний брак вакцини проти грипу, пов'язаний із закриттям одного із заводів, що її виробляв. Вакцини, що є у розпорядженні американських лікарів, не вистачає навіть для того, щоб вакцинувати групи ризику, тобто людей, у яких найбільш висока вірогідність розвитку тяжких або ускладнених форм грипу.

Компанія Делойт & Туш опублікувала список 500 найбільш швидкозростаючих біотехнологічних компаній у США. Відзначено тенденцію до концентрації софтверних компаній на вузьких сегментах ринку, таких як охорона здоров'я й енергетика. Більшість біотехнологічних компаній зі списку зосереджено в районі Х'юстона, що дає підстави припустити, що незабаром він зможе перетворитися на біотехнологічний кластер, що нагадує Кремнієву долину.

Компанії GeneOhm Sciences і Infectio Diagnostic анонсували план злиття й визначили сферу діяльності майбутньої фірми — нею стануть системи молекулярної діагностики. Злиття супроводжується обміном правами на розробки між компаніями, що дозволить виробляти широкий асортимент продукції, яка покриває потреби в діагностиці в багатьох галузях медицини, зокрема — інфекційних захворювань.

FDA надало статус розробника ліків від рідкісних хвороб компанії Kosan Biosciences за розробку антиракової складової — 17-AAG, спрямованої на лікування меланоми. Зараз препарат перебуває на стадії розроблення, проте вже отримано позитивні практичні результати для багатьох пацієнтів.

Індійська компанія Bioson заявила про намір розробляти спільно з американською Nobex Corporation інсулін для перорального

застосування. Співпраця допоможе сумістити пептиди, розроблені Bioson, з технологією орального доставлення, розробленого Nobex. Це, за заявою компаній, дозволить допомогти хворим на діабет, чисельність яких до 2030 р. за прогнозами компаній, має збільшитися на 20%. Планується, що в разі успішного клінічного випробування засіб з'явиться на ринку вже через декілька років.

Компанії Roche і Japan Tobacco Inc. анонсували ліцензійну угоду про комерційне використання сполуки JTT-705, що перебуває на останніх стадіях розроблення. Вона дасть змогу боротися з дисліпідемією — порушенням ліпідного обміну, внаслідок чого різко підвищується концентрація ліпідів у крові, що уповільнює кровотік і збільшує вірогідність серцево-судинних захворювань. Дія нового потенційного препарату ґрунтується на тому, що він перетворює ліпіди на ліпопротеїн високої щільності, який ще називають «добрим» холестерином.

Компанія Repligen заявила про позитивні результати 3-ї стадії клінічних випробувань сполуки CTLA4-Ig на пацієнтах з ревматоїдним артритом. Дослідження, проведені компанією Bristol-Myers Squibb Company, орієнтовані на дві різні групи пацієнтів: на тих, для кого лікування метотриксатом виявилось безрезультатним і тих, на кого не справила впливу терапія за допомогою фактора некрозу пухлини (TNF). Bristol-Myers Squibb планує сертифікувати новий засіб до кінця року.

Компанії Genaissance Pharmaceuticals і Puxis Genomics анонсували угоду, згідно з якою фірма Genaissance надасть свої напрацювання в галузі розпізнавання генів Puxis для доведення до комерційної стадії системи Profile-1. Вона є базою даних, за допомогою якої можна встановлювати виробника і походження того або іншого товару тваринного походження. Фірма IBM Life Sciences розробила для цієї системи програмне забезпечення і пошуковий механізм. Компанії планують отримати перші комерційні результати від проекту вже до кінця року. Puxis платитиме Genaissance комісійні за кожен проведений тест.

Експериментальні ліки від інфаркту ісландської компанії Decode Genetics перебувають на 2-й стадії клінічних випробувань. За заявою компанії, досягнуто значних успіхів у скороченні ключових біомаркерів, відповідальних за артеріальний тиск і вірогідність інфарктів. Так, препарат DG031 знижує рівень лейкотриєну B4 та мелопероксидази.

Джерело: www.cbio.ru

*Матеріал підготувала
О. С. Виноградова*