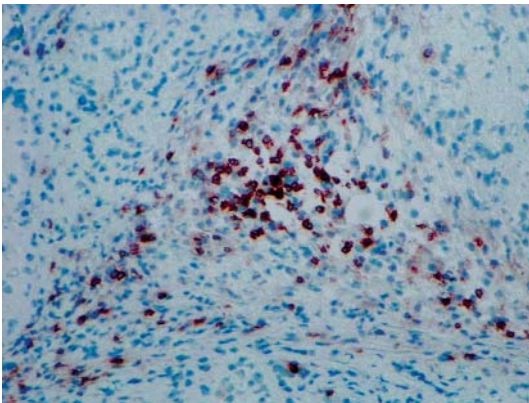


Перепрограмовані стовбурові клітини ініціюють імунну реакцію у мишей

Ставиться під сумнів практичне застосування препаратів індукованих плюрипотентних стовбурових клітин. У нещодавньому опублікованому журналом Nature дослідженні повідомляється, що перепрограмовані стовбурові клітини, призначені для проростання в різні типи тканин, можуть відторгатися, навіть якщо вони пересажені індивідуумові, від якого їх отримано.



Інфільтрація Т-клітин (показано темно-коричневим кольором) виявляється в тканинах, які утворились від індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (Yang Xu, UC San Diego)

Дослідження проводили в Університеті Сан-Дієго, шт. Каліфорнія, США, під керівництвом Ян Х'ю (Yang Xu). Результати їх стали шокуючими для регенеративної медицини, адже досі більшість учених вважали, що перепрограмовані клітини з власних тканин людини можна було безпечно пересаджувати цій самій людині.

Пауль Фейрчїлд (Paul Fairchild), імунолог і біолог, який досліджує стовбурові клітини в Оксфордському університеті Великобританії, вважає, що такий «сюрприз» ставить під сумнів перспективи використання індукованих стовбурових клітин у медицині. Нещодавно було проведено дослідження ембріональних стовбурових та індукованих плюрипотентних стовбурових клітин миші (iPS). Обидва типи клітин виявилися плюрипотентними. А це означає, що вони можуть перетворюватися на багато інших видів клітин.

Потенціал зміни

Дослідники групи під керівництвом Х'ю пересаджували стовбурові клітини миші ге-

нетично ідентичним тваринам. Це імітувало трансплантацію клітин одній і тій самій людині. При трансплантації ембріональні стовбурові клітини спричинювали тератоми — пухлини, що містять хаотичне нагромадження типів клітин, використовуваних як плюрипотентні. Більшість iPS-клітин, навпаки, не могли сформувати або створити тератоми і були зруйновані або відторгнені імунною системою реципієнта.

Учені Єрусалимського університету Ізраїлю під керівництвом Ніссима Бенвеністі (Nissim Benvenisty) припустили, що iPS-клітини пацієнтів можна було б знову їм і пересадити. Вони виявили, що певні гени були експресовані на значно вищому рівні в тератомах, утворених iPS-клітинами, порівняно з ембріональними стовбуровими клітинами. Два з таких генів — Zg16 і Normad1 — було спеціально запрограмовано до імунної атаки. Х'ю висловив припущення, що з часом ці гени нівелюватимуться. Ембріон розпочне процес вироблення імунної резистентності до власних тканин. Тому вони не визнаються як власні тілом хазяїна. Процедура iPS-перепрограмування може змінити нормальну експресію цих генів.

Проблема відторгнення

Проте дослідження Х'ю не варто розглядати як погану новину для iPS, як це може здатися на перший погляд. Дослідникам, які працювали зі зрілими iPS-клітинами, наприклад нейронами або клітинами серця, вдалося пересадити їх мишам без відторгнення, однак експерименти в основному проводили на мишах без урахування функціональних імунних систем. Ці дослідження передбачали проведення трансплантації тільки одного виду диференційованих клітин відразу від власних клітин шкіри пацієнта в його ж власні тканини, а не змішування диференційованих клітин у тератомі.

Х'ю та інші дослідники й досі не впевнені, чи не почнуть відторгатися отримані очищені диференційовані iPS-клітини, чи ця проблема є специфічною для недиференційованих клітин.

Фейрчїлд вважає, що дослідження Х'ю насправді не охоплює всієї повноти клінічної ситуації. Він зазначає, що iPS-клітини в цих дослідженнях були отримані з ембріональних клітин шкіри, а не зі шкіри дорослої людини, як це мало б бути в реальному

випадку. Найімовірніше, ці незрілі клітини шкіри викликають імунну реакцію частіше, ніж дорослі клітини. І невідомо, чи спричинюють імунне відторгнення клітини в тератомах, чи так поведуться клітини людини. Доки на ці питання не буде отримано відповіді, заява Х'ю необґрунтовано кидає тінь на всю сферу регенеративної медицини.

Джозеф Ву (Joseph Wu), трансплантолог зі Стенфордського університету в Пало-Альто, шт. Каліфорнія, погоджується, що така заява пов'язана з додатковими проблемами як технічного, так і морально-етичного характеру за індивідуальної трансплантації отриманих іPS-клітин пацієнта.

Пошук вирішення цього питання описаний у першій частині публікації, де висувається припущення, що іPS-клітини можуть містити більше генетичних аномалій порівняно з ембріональними стовбуровими клітинами. Адміністрація Управління з контролю якості харчових продуктів і лікарських засобів США висловила в березні цього року на нараді у Віфезді, шт. Меріленд, стурбованість з приводу генетичної мутації іPS-клітин.

Точно регульована терапія

Очевидно, компанії будуть зацікавлені в розвитку терапії, пов'язаної з отриманням іPS-клітин для конкретного пацієнта. Вони готові якнайшвидше зосередитися на терапії цих клітин і застосовувати її для багатьох людей, для чого так чи інакше буде необхідним пригнічення імунної системи.

Підсумовуючи, можна зробити висновок, що для подальших досліджень потрібно вивчити питання, чи мають іPS-клітини імунні переваги, чи ні.

З цими висновками Х'ю згоден. Його група збирається з'ясувати, які конкретні клітини тератоми і за яких умов викликають імунне відторгнення. При цьому для отримання іPS-клітин використовуватимуться два різних методи, які дадуть відповідь на питання про схильність до імунного відторгнення. І тоді, щоб уникнути цієї проблеми, з'явиться можливість доопрацювати методи перепрограмування. Дослідники вважають, що технологія створення іPS-клітин потребує вдосконалення з метою звести до мінімуму різницю між іPS- і ембріональними стовбуровими клітинами з тим, щоб іPS- клітини стали кориснішими для терапії людини.

Джерело:

<http://www.nature.com/news/2011/110513/full/news.2011.286.html>

Досягнення в галузі біотехнології ензимів

Ензимами — це протеїни, що прискорюють хімічні реакції, наприклад, під дією прального порошку виводяться протеїнові плями, які за інших обставин украй важко видалити. Група дослідників під керівництвом професора Кам-Бо Вонга (Kam-Bo Wong) з Центру наукових досліджень протеїну і кристалографії Школи природничих наук в Китайському університеті Гонконга продемонстрували основний принцип зміни активності ензимів за допомогою протеїнової інженерії.

Їм вдалося розкрити таємницю будови біотехнологічно важливих ензимів, повідомлення про що з'явиться найближчим часом в Інтернет-виданні журналу PLoS Biology.

Протеїни з термофілів, теплолюбних організмів, що живуть в умовах високих температур, стійкіші до теплової денатурації порівняно з мезофільними організмами, які живуть при помірних температурах. У природі ензими з мікробів, що віддають перевагу життю за надзвичайно високих температур, наприклад у гідротермальних джерелах, можуть залишатися стабільними навіть при 100 °С. Ці термофільні ензими є корисними для біотехнологічної промисловості завдяки їхній високій стабільності.

Залишається загадкою, чому термофільні ензими менш активні, ніж їхні мезофільні гомологи, незважаючи на подібність структури. Професор Вонг (Wong) проводить порівняння їх з двома машинами аналогічної системи, з яких одна працює в 10 разів швидше за іншу. Якби термофільні ензими могли б бути активнішими без втрати стабільності, то вони б становили собою велику комерційну цінність для біотехнологічної промисловості.

Дослідницька група Вонга використовувала методи протеїнової інженерії для з'ясування, чому термофільні ензими менш активні. Було виявлено, що термофільний ензим ацилфосфатаза має унікальну властивість, яка полягає в тому, що її активний центр стає стабільнішим під впливом сольового містка. Термофільні ензими, як правило, виявляють схильність до стійкіших взаємодій аналогічно сольовим місткам. У разі видалення цього містка термофільні властивості ацилфосфатази перетворюються на властивості, притаманні мезофільним ензімам. Крім того, мезофільна ацилфосфатаза людини моделювалася в термофільно-подібну зі введенням сольового містка.

Дослідники дійшли висновку, що стабільність сольового містка підсилювала активність ензимів за високих температур і водночас знижувала її за низьких. Можна сподіватися, що закономірності, виявлені дослідженнями групи професора Вонга, буде покладено в основу досліджень з оптимізації активності ензимів і впровадження в біотехнологічній промисловості.

Джерело:

<http://www.sciencedaily.com/releases/2011/03/110315192813.htm>

Зуби зі стовбурових клітин

Морфогенез і диференціювання зубних зачатків регулюють складні взаємодії між мезенхімальними стовбуровими клітинами краніального нейрального хреста та епітелію ротової порожнини. Італійські вчені з University of Udine в своєму дослідженні показали, що отримана з єдиної клітини популяція мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) *in vitro* може бути диференційована в структуру, що нагадує зубний зачаток. Учені інкубували первинну культуру одержаних з людської жирової тканини мезенхімальних стовбурових клітин в середовищі, що індукуює диференціювання СК в клітини, які створюють зачаток зуба. Тривимірні скупчення клітин, що сформувалися, культивували ще 4 тижні. Утворена структура була схожа на зачаток зуба. За допомогою різних методів аналізу було встановлено експресію маркерів, характерних для тканин зуба. У середовищі клітини, що індукуює диференціювання, були експресовані маркери амелобластів і одонтобластів, а також характерні для них матричні РНК і протеїни. Окрім того, відповідно до розташування клітин виявлялась експресія маркерів основної мембрани, а також епітеліальних і мезенхімальних, схожа з експресією маркерів за нормального фізіологічного морфогенезу зуба. Фізико-хімічний аналіз виявив 200-нм і 50-нм правильно орієнтовані кристали гідроксіапатиту, відповідно, емалі й дентину *in vivo*.

Таким чином, результати цього дослідження свідчать про те, що виділені з жирової тканини стовбурові клітини *in vitro* навіть за відсутності специфічного структурного матриксу або підкладки здатні до диференціювання в спеціалізовані клітини, що організуються в тривимірну структуру, схожу за фенотипом на зачаток зуба.

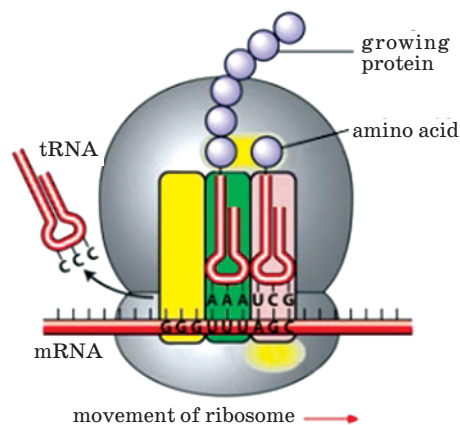
Матеріали дослідження подано в статті: Ferro F, et al. Adipose tissue-derived stem cell *in vitro* differentiation in a three-dimensional dental bud structure. *Am. J. Pathol.*, 2011 May;178(5): 2299-2310.

Джерело:

<http://www.stemcells.ru/news-286>

Від гена до протеїну: трансляція регулює рівень вмісту протеїнових молекул у клітині

Як гени контролюють процеси, що відбуваються в нашому організмі? Це питання фундаментальної біології, незважаючи на довгі роки проведення різних експериментів, ще до кінця не з'ясовано. Гени — це одиниці геному, що містять в собі інформацію про різні протеїнові молекули, які виконують життєво важливі функції. Відомо, що деякі захворювання, такі, наприклад, як рак, характеризуються не тільки змінами на рівні генів, але й виникненням дефектів синтезу протеїнових молекул. Як же контролюється сам протеїновий синтез? Результати досліджень, проведених співробітниками Центру молекулярної медицини ім. Макса Дельбрюка (Max Delbrück Center for Molecular Medicine -MDC, Berlin-Buch of the Helmholtz Association), показали, що контроль цього процесу здійснюється головним чином в цитоплазмі клітини.



Модель процесу трансляції
(www.frontiers-in-genetics.org)

Протеїнові молекули — основа органічного життя. «Вони контролюють фактично всі біологічні процеси: від серцебиття і транспортування кисню до мислення», — зазначив Маттіас Сельбак (Matthias Selbach), один з провідних авторів цього

дослідження. Інформація про будову протеїнових молекул записана в геномі клітини, який, у свою чергу, міститься в ядрі. Інформаційні РНК (іРНК) клітини, що утворюються в процесі транскрипції в ядрі, несуть в собі відображення інформації про необхідні протеїни і спрямовуються з ядра в цитоплазму клітини — на рибосоми, де ця органела певним чином транслює іРНК в амінокислотні послідовності. Питання, яке довго не давало спокою фахівцям, полягає в тому, який з двох процесів (транскрипція або трансляція) більшою мірою бере участь у регулюванні рівня вмісту протеїнових молекул в клітині. За допомогою кількісної мас-спектрометрії і новітніх методик секвенування автори досліджень встановили кількість протеїнових молекул та іРНК, інформація про які зберігається більш ніж в 5 000 генах. Математичне моделювання, проведене на підставі отриманих даних, допомогло вченим зробити певні висновки про контроль рівня вмісту протеїнових молекул усередині клітини. На думку авторів, рівень вмісту протеїнових молекул в основному залежить від процесу трансляції, що відбувається в цитоплазмі. «Врешті-решт, рибосоми визначають кількість протеїнів. Деякі іРНК транслюються за 1 год в одну протеїнову молекулу, інші іРНК за цей час встигають транслюватися 200 разів», — наголосив Сельбак.

Клітина працює як енергоощадна система

Окрім того, автори досліджень виявили, що клітини використовують свої ресурси найбільш ефективним шляхом. Для великої кількості іРНК і протеїнів, які є продуктами конститутивних генів, характерна висока стабільність. Ця стабільність необхідна клітині для збереження енергії (відомо, що процес синтезу протеїнів потребує чималої кількості енергії). На відміну від зазначених вище іРНК та протеїнових молекул, низка ензимів, що забезпечують швидке формування і передачу сигналів, навпаки, як правило, мають низьку стабільність. Завдяки існуванню протеїнів, яким притаманна низька й висока стабільність, клітина може швидко пристосовуватися до змін навколишнього середовища. Саме цим можна пояснити те, чому контроль протеїнового синтезу здійснюється переважно в цитоплазмі, а не в ядрі. Річ у тому, що в цитоплазмі відбувається останній етап формування протеїнів — трансляція. Регулювання трансляції дозволяє клітинам швидко пристосо-

вуватись до «вимог» навколишнього середовища.

Автори досліджень сподіваються, що отримані ними результати будуть корисні під час пошуку методів боротьби з різними захворюваннями, пов'язаними з порушенням синтезу протеїнових молекул.

Джерело:

<http://sci-lib.com/article1144.html>

Створено штучні астроцити

Учені створили штучні астроцити — найпоширеніші клітини мозку, які не тільки забезпечують базові функції нервових клітин — нейронів, але й мають ключ до вивчення багатьох хвороб — від головного болю до недоумства. Астроцити вдалось отримати з ембріональних та індукованих плюрипотентних стовбурових клітин.

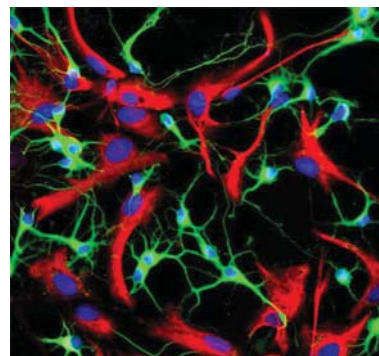


ФОТО: drgominak.com

Астроцити — клітини у формі зірки, що становлять велику частину об'єму мозку. Традиційно їх вважали буфером — «цементом» або «клеєм» речовини мозку, проте нещодавно проведене дослідження показало, що вони є носіями найважливіших функцій. Серед них — формування гематоенцефалічного бар'єру — напівпроникного кордону між кровоносною системою і нервовими клітинами, що захищає мозок від проникнення шкідливих речовин з крові, і забезпечення гомеостазу. Відповідно, астроцити причетні до розвитку багатьох розладів центральної нервової системи.

Ученим з Університету Вісконсин — Медісон вдалося виростити астроцити в пробірці зі стовбурових клітин людини. Повідомлення про їхню роботу опубліковано в Nature Biotechnology.

Біотехнологи отримали астроцити в чашці Петрі спочатку з ембріональних, а потім і зі штучно одержаних стовбурових клітин

з індукованою плюрипотентністю (клітини другого типу вважають перспективнішими як з практичних, так і з етичних міркувань, оскільки їх отримують без використання тканин людських ембріонів).

Можливість виготовляти великі однорідні проби астроцитів відкриває перспективу для кращого вивчення їхніх функцій, а також для розроблення нових ефективних ліків від нервових захворювань, вважає професор Сун Чхон Чжан, в лабораторії якого проведено роботу.

«Частково недостатня вивченість астроцитів пояснюється складністю їх отримання. Тепер ми можемо виростити мільярди або трильйони таких клітин з однієї стовбурової клітини», — заявив Чжан.

Хоча традиційно наука про мозок займається нейронами — великими клітинами, що обробляють і передають інформацію, останнім часом дослідники приділяють дедалі більше уваги вивченню ролі інших клітин. Існує декілька типів астроцитів, їхні функції багатогранні й потребують докладного вивчення. Деякі вчені припускають, що астроцити визначають інтелект людини: об'єм, який ці клітини займають в мозку ното сарієнс, значно перевищує їх об'єм в мозку будь-якої іншої тварини. «Без астроцитів нейрони не можуть працювати. Астроцити оточують нервову тканину, захищаючи її й підтримуючи здоровий режим. Вони беруть участь у виконанні практично кожної функції мозку, а також у будь-якому його розладі», — зазначив Чжан.

Окрім функції «пілотної установки» для тестування ліків, астроцити (у далекому майбутньому) зможуть стати об'єктом трансплантації для пацієнтів з травмами головного мозку, хворобою Паркінсона і ушкодженнями спинного мозку. Технологія, розроблена групою Чжана, дозволяє одержувати астроцити будь-якого необхідного типу. Крім того, генетично модифікуючи їх, можна отримати модель ураженою хворобою тканини. Таким чином з'явиться можливість вивчати в лабораторіях складні неврологічні захворювання, об'єкти для яких були раніше недоступні.

Джерело:

http://www.eternalmind.ru/index.php?option=com_content&task=view&id=3362&Itemid=2

Дослідники знайшли спосіб перепрограмування клітин шкіри людини у функціонуючі нейрони

Перетворюючи клітини шкіри людини на робочі нервові клітини, дослідники впритул підійшли до створення моделі захворювання нервової системи і, можливо, навіть регенеративної терапії, заснованої на клітинних трансплантах.



Функціонуючі нейрони, створені з клітин шкіри людини

В он-лайнній версії журналу Nature повідомляється про досягнення в галузі «трансдиференціювання», що стрімко розвивається, коли клітини швидко набувають нових форм. Минулого року дослідники перетворили клітини сполучної тканини шкіри на клітини серця, крові та печінки.

Трансдиференціювання є альтернативою клітинного перепрограмування, яке включає перетворення зрілих клітин на плюрипотентні стовбурові клітини, здатні стати багатьма типами клітин, згодом перетворюючи плюрипотентні клітини на певний тип клітин, наприклад на нейрони. Маріус Уернінг (Marius Wernig), керівник дослідження стовбурових клітин при Стенфордському університеті шт. Каліфорнія, США, повідомив, що їм вдалося перетворити фібробласти шкіри людини на нейрони, минувши стадію індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (iPSCs), що дозволило уникнути низки проблем, подолання яких могло б зайняти декілька місяців.

Група Уернінга минулого року зацікавила клітинних репрограмістів — дослідники перетворювали клітини, отримані з кінчика хвоста миші, на функціонуючі нервові клітини. Для цього було потрібно всього три чужорідні гени, одержані з хвостових клітин з вірусом, і менш ніж два тижні дослідів. На думку вчених, якщо такий прекрасний результат було отримано для миші, то очевидно не буде жодних проблем у разі застосування цієї ідеї на людині. Однак виявилось, що це не так.

Не зовсім вірно

Ці три гени також індукували одержання клітин людини, які виглядали як нервові, але такі нейрони не могли проводити електричний сигнал. Щоб навчити їх цьому, дослідникам знадобився четвертий ген, знайдений методом проб і помилок у сполучній тканині, що бере участь в загоєнні ран, яку було отримано з абортів плодів і крайньої плоті новонароджених. Приблизно через два тижні ці нейрони почали реагувати на електричний імпульс включенням своїх трансмембранних іонних насосів, як і належить робити звичайним нервовим клітинам. Ще через декілька тижнів нейрони почали утворювати з'єднання, або синапси, з мишачими нейронами, з якими їх було вивчено.

Уернінг зізнається, що не все йшло так чітко. Тільки 2–4% фібробластів становили нейрони проти приблизно 8% у клітин миші. Крім того, більшість отриманих нейронів використовували як хімічну речовину нейромедіатор глутамат, що обмежує їх використання в лікуванні таких захворювань, як хвороба Паркінсона, пов'язана з проблемами в нейронах, що виявляється в деградації саме глутаматзалежних нервових клітин під дією хімічних речовин. Проте вчені не втрачають надії на підвищення ефективності своїх досліджень і намагаються створити нейрони, які б взаємодіяли між собою за допомогою інших хімічних речовин.

Швидкий успіх

Еван Снайдер (Evan Snyder), дослідник в галузі клітинної біології при Стенфордському медичному дослідницькому інституті Бернема, вважає, що нейрони, отримані шляхом трансдиференціювання, мають переваги порівняно з клітинами мозку, отриманими з iPSCs: окрім того, що їх можна швидше й простіше створити, вони з меншою вірогідністю призводять до онкологічних ускладнень за імплантації в тканину.

Проте, з другого боку, клітинні ознаки захворювання можуть з'являтися тільки в тому разі, коли клітина розвивається природним шляхом з плюрипотентних стовбурових клітин у диференційовані нейрони. Намагання перетворити клітини на нейрони може призвести до того, що вони почнуть перетворюватися на ракові пухлини. Крім того, фібробласти, які є початковим матеріалом для трансдиференціювання, не здатні ділитися з такою інтенсивністю, як індуковані стовбурові клітини, що обмежує використання їх у тих випадках, коли потрібна

велика кількість таких клітин, зокрема під час скринінгу ліків.

Уернінг підсумував, що обидва підходи слід активно розвивати, адже невідомо, в яких випадках і за яких конкретних умов виявиться більш відповідним той чи інший метод.

Джерело:

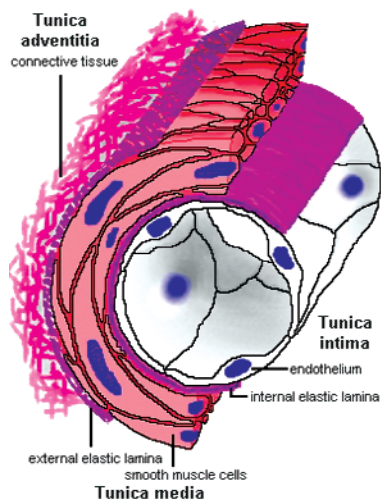
Оригінальна стаття Ewen Callaway, How to make a human neuron,

он-лайн версія журналу Nature — doi:10.1038/nature10202

http://www.nature.com/news/2011/110526/full/news.2011.328.html?WT.mc_id=FB_K_NPG

Протеїн Rasip1 може стати ключем до інгібування формування кровоносних судин, що живлять пухлини

Дослідники з Південно-західного центру медичних досліджень при Техаському університеті виявили протеїн, який керує розвитком кровоносних судин і має всі шанси на те, щоб його було покладено в основу створення методики боротьби з розповсюдженням ракових клітин в організмі. У ході проведення досліджень на лабораторних мишах учені показали, що протеїн Rasip1 (Ras interacting protein) є вельми специфічним і відіграє ключову роль у низці клітинних процесів. За словами д-ра Ундіни Клівер (Ondine Cleaver), доцента кафедри молекулярної біології Техаського університету, основного автора досліджень, без активності Rasip1 кровоносні судини не здатні формуватися. «Те, що ми виявили, є фактором першої необхідності для формування внутрішніх каналів і перебігу тубулогенезу, іншими словами найголовнішим фактором для перетворення чогось схожого на нитку на щось схоже на поливальний шланг», — зазначила д-р Клівер. Розвиток пухлинної тканини залежить від формування кровоносних каналів, які мають забезпечити клітини пухлинної тканини поживними речовинами, необхідними для швидкого росту пухлини. Ракові пухлини так само використовують систему кровоносних судин як засіб розповсюдження малігнізованих клітин в організмі. Хімічні сполуки, що пригнічують активність Rasip1, імовірно, можуть протистояти розвиткові ракових захворювань двома напрямками: через порушення живлення клітин пухлинної тканини і порушення системи транспортування клітин, що перероджуються.



Загальна модель будови кровоносних судин

У процесі внутрішньоутробного розвитку в організмі плоду виникають органи у формі трубок (йдеться про кишечник і судини серцево-судинної системи). За словами авторів досліджень, механізми, в межах яких здійснюється перетворення клітин-прабатьків кровоносних судин на трубочки, які здатні переносити кров, тільки розпочинають досліджувати. Утім, автори досліджень виявили значну кількість регуляторних молекул, що мають велике значення для різних тканин, процесів формування і роботи кровоносних судин. Ці регуляторні молекули перебувають в активному стані в середовищі тканин організму. Rasip1 є специфічним регулятором активності молекул-перемикачів, названих ГТФ-азами. Він з'являється в активному стані тільки в клітинах ендотелію, який створює внутрішні покриття кровоносних судин. При цьому активність Rasip1 не спостерігається в клітинах гладкої м'язової тканини, що входить до складу стінки кровоносних судин. Крім того, автори досліджень виявили, що для нормального формування каналів, якими в організмі здійснюється транспортування крові, потрібен ще один протеїн, з яким зв'язується Rasip1. На думку Ундіни Клівер, основні підходи, спрямовані на пригнічення утворення кровоносних судин, базуються на дії на фактори росту, що містяться поза потрібною клітиною, тимчасом як Rasip1 є фактором росту усередині клітин-мішеней. «Незважаючи на те, що проведено дослідження на лабораторних мишах, ми вважаємо, що майбутні дослідження Rasip1 і процесів, які перебувають під його контролем, дадуть широкі можливості для створення засобів і моделей для

поліпшення методів клінічної терапії, спрямованої на пригнічення формування системи кровоносних судин, що живлять пухлинну тканину», — наголосила Ундіна Клівер.

Докладніший опис результатів проведених досліджень можна віднайти в журналі *Developmental Cell*.

Джерело:

<http://sci-lib.com/article1139.html>

Аналіз крові за хвороби Альцгеймера: диференційна діагностика на ранній стадії захворювання

Завдяки інноваційному дослідженню, здійсненому науково-дослідним інститутом Центру охорони здоров'я Університету Мак-Гіл (McGill University Health Centre, МУНС) невдовзі може з'явитися новий аналіз крові для діагностики хвороби Альцгеймера. Розроблення унікального біохімічного аналізу, що виявляє пацієнтів із цим нейродегенеративним захворюванням, стало можливим завдяки вивченню утворення гормону мозку дегідроепіандростерону (ДГЕА) під час окиснення сироватки крові.

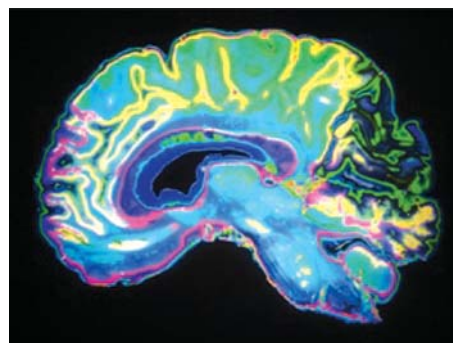


Рис. із сайту www.muhc.ca

Результати роботи, що має значення для мільйонів людей із цієї хворобою, опубліковано в *Journal of Alzheimer Disease*. «Діагностичного інструмента для хвороби Альцгеймера, що забезпечує отримання однозначних даних, окрім посмертного аналізу мозкової тканини, до сьогодні не існує», — зазначив головний автор статті д-р Віссіліос Пападопулос (Vassilios Papadopoulos), директор науково-дослідного інституту МУНС. — Наші клінічні дослідження показали, що для діагностики хвороби Альцгеймера на її ранній стадії можна успішно застосовувати неінвазивний аналіз крові, що ґрунтується на біохімічному процесі, який, окрім того, дає можливість

відрізнити її від інших видів недоумства». Розроблений д-ром Пападопулосом і його колегами тест заснований на утворенні гормону мозку дегідроепіандростерону. Високі рівні цього гормону виявлено в мозку, де він має широкий спектр біологічних ефектів. Раніше вчені ідентифікували мозко- і клітинно-специфічний опосередкований оксидативним стресом механізм біосинтезу цього гормону в мозку щурів, биків і людини. Цей альтернативний шлях індукується прооксидантними речовинами, такими як Fe^{2+} і бета-амілоїдний пептид. Використовуючи зразки тканини мозку, одержані з контролю і від пацієнтів з хворобою Альцгеймера, вони отримали докази, що гормон утворюється в мозку пацієнтів з хворобою Альцгеймера як продукт, опосередкований оксидативним стресом через метаболізм попередника, що знижує рівні цього попередника в крові. Дослідники перевірили присутність попередника ДГЕА в сироватці крові людини, застосовуючи просту, засновану на Fe^{2+} реакцію, і визначили кількість утвореного ДГЕА. Із 86 осіб, залучених у дослідження, 19 чоловіків і 20 жінок мали хворобу Альцгеймера; 18 чоловіків і 22 жінки відповідного віку становили групу контролю; у 4 чоловіків і 3 жінок спостерігалися помірні когнітивні порушення. Окиснення сироватки призвело до різкого підвищення рівнів ДГЕА в контрольній групі, тоді як у сироватці пацієнтів з хворобою Альцгеймера підвищення рівня або не спостерігалось, або було незначним.

Зміни в рівні ДГЕА після окиснення сироватки корелювали з когнітивним і психічним станом пацієнтів. Результати дослідження показали, що порівняння рівнів ДГЕА в сироватці крові пацієнтів до і після окиснення може стати корисним інструментом для діагностики хвороби Альцгеймера. «Існує чітка кореляція між відсутністю можливості отримати ДГЕА шляхом окиснення крові і ступенем когнітивних порушень, що супроводжують хворобу Альцгеймера, — зазначив Пападопулос. — Ми показали, що можна точно і неодноразово діагностувати хворобу Альцгеймера на основі невеликих зразків крові. Аналіз дозволяє проводити й диференціальну діагностику ранніх стадій хвороби Альцгеймера, а це означає, що його можна використовувати як тест на це захворювання на самому початку». «Проте реалізація потенціалу будь-якого методу терапії залежить від достовірності діагнозу», — додав Пападопулос.

На цей час, встановлюючи діагноз хвороби Альцгеймера, досліджують сімейну історію, оцінюють психічний стан і проводять фізичні тести, в яких особливу увагу приділяють неврологічним симптомам. Тому точний, ранній і специфічний неінвазивний біохімічний тест, що корелює з клінічними даними, є життєво важливим. Дослідники вважають, що тест на ДГЕА методом окиснення крові може бути використано для діагностики хвороби Альцгеймера на найранішій її стадії, а також для моніторингу ефективності терапії і прогресування захворювання.

Джерело:

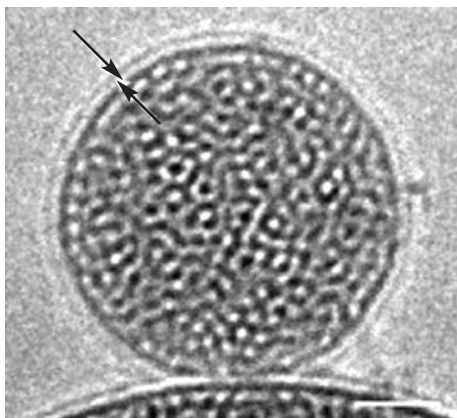
<http://lifesciencetoday.ru/index.php/vesti-iz-laboratoriy/410-blood-test-for-alzheimers-differential-diagnosis-at-an-early-stage>

«Протоклітини» доставляють терапевтичні та діагностичні засоби в ядро ракової клітини

Об'єднавши нанотехнологічні методи з результатами медичних досліджень, учені Національних лабораторій Сандіа (Sandia National Laboratories), Університету Нью-Мехіко (University of New Mexico, UNM) та Дослідницького і лікувального онкологічного центру (Cancer Research and Treatment Center, CRTC) при UNM розробили ефективну стратегію використання наночастинок для знищення ракових клітин.

У статті, що анонсується на обкладинці травневого номера журналу *Nature Materials*, доступного в он-лайн, учені описують кремнієві наночастинок розміром близько 150 нм у діаметрі, що нагадують бджолині соти, порожнини яких можуть бути заповнені великою кількістю різних лікарських препаратів.

Наночастинок й утворені з ліпосом мембрани, що їх оточують і практично є аналогічними клітинним, разом складають комбінацію, яку можна розглядати як «протоклітину»: мембрана «запечатуює» смертоносний вантаж і модифікується молекулами (пептидами), що специфічно зв'язуються з рецепторами, які суперекспресуються на поверхні ракових клітин. (Дуже велика кількість рецепторів — один із сигналів того, що клітина є раковою). Наночастинок забезпечують стабільність мембрани і містять терапевтичний (або діагностичний, наприклад квантові крапки) вантаж, вивільняючи його усередині клітини.



Зображення протоклітини (кріогенна TEM) з нанопористим ядром і ліпідним бішаром завтовшки близько 4 нм (фото: nature.com)

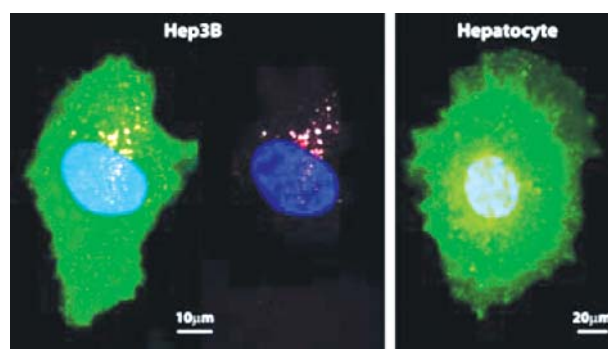
Сьогодні схваленою Управлінням з контролю над якістю харчових продуктів і лікарських засобів США (U.S. Food and Drug Administration) стратегією доставлення терапевтичних препаратів за допомогою наночастинок є використання ліпосом. Порівняння цільових ліпосом і протоклітин з ідентичними мембранами і пептидними композиціями показало, що здатність доставляти більшу кількість препаратів, стабільність і ефективність таргетингу протоклітин зумовлюють багатократно посилення цитотоксичності, специфічно спрямованої на клітини раку печінки людини.

Інша перевага протоклітин над ліпосомами, на думку провідного автора дослідження Карлі Ешлі (Carlee Ashley), полягає в тому, що використання ліпосом як носіїв вимагає спеціалізованих стратегій завантаження, що ускладнює процес їх виробництва. На відміну від звичайних ліпосом, нанопористі кремнієві частинки практично просто вбирають лікарські препарати, завантажуючись унікальними комбінаціями, необхідними для персоналізованої медицини. Крім препаратів хіміотерапії, вони ефективно інкапсулюють токсини і малі інтерферуючі РНК (siRNA), що пригнічують експресію генів. РНК, біологічні месенджери, що «сигналізують» клітинам, які протеїни вони повинні синтезувати, у цьому разі використовуються для інгібування синтезу — один зі способів спричинювати запрограмовану клітинну смерть, або апоптоз.

Складові мембрани — ліпіди слугують щитом, що обмежує просочування токсичних препаратів хіміотерапії з наночастинок доти, доки вони не проникнуть у ракову клітину. Це означає, що в організм пацієнта

потрапить менша кількість отрути, якщо протоклітини не віднайдуть ракових клітин. Таке покриття пом'якшує токсичні побічні ефекти, практично немінучі під час проведення традиційної онкохіміотерапії. Замість цього досить маленькі, щоб залишатися непоміченими «радаром» печінки та інших органів, частинки можуть циркулювати в крові протягом багатьох днів або навіть тижнів, залежно від їхнього розміру, шукаючи свою жертву і не зашкоджуючи організмові.

Застосовуючи дані створеної в CRTC бібліотеки фагів — вірусів, що вражають бактерії, учені виявили пептиди, що специфічно зв'язуються лише з раковими клітинами.



На знімку зліва (Hep3B) показано клітину раку печінки, що флуоресцює зеленим, з протоклітинами, що містяться в ній.

Маленькі червоні крапки — ліпідні бішарові «упаковки». Їхній «вантаж» — заповнені лікарськими препаратами наночастинок — проникає в ракову клітину. Тут їхні пори заповнені білим флуоресцентним барвником з метою візуалізації.

На знімку справа: протоклітини не проникають в здорову клітину печінки (гепатоцит) (фото Carlee Ashley)

Учені продовжують оптимізувати розмір наночастинок з пористого кремнію, що їх отримують аерозолізацією розчину попередників. Розроблений лабораторією Брінкера процес виробництва пористих наночастинок — індуковане випаровування самозбиранням, дозволяє отримувати частинки від 50 нм до декількох мікрон у діаметрі. Частинки розміром від 50 до 150 нм ідеально підходять для максимально тривалої циркуляції в крові і поглинання раковими клітинами, тому до перетворення в протоклітини вони заздалегідь відбираються за розміром.

Зараз метод тестується на людських ракових клітинах *in vivo*, і найближчим часом

учені приступлять до його перевірки на пухлинах мишей. За їхніми оцінками, комерційно доступним він може стати протягом п'яти років.

Джерело:

<https://share.sandia.gov/...o-treatment/>
<http://www.nanonewsnet.ru/news/2011/meditsina-nanotekhnologii-protiv-raka-protokletki-dostavlyayut-terapevticheskie-diagnostic>

За регенерацію органів у хребетних відповідає набір напівспеціалізованих стовбурових клітин

Відростання відірваного плавника, ноги або хвоста у риб і амфібій відбувається не за рахунок єдиних і універсальних стовбурових клітин, як вважалося, а за допомогою набору різних клітин, кожна з яких відновлює певний тип тканини.



Danio rerio (фото Elma_Ben)

Регенерація органів у хребетних вимагає цілого набору стовбурових клітин, як показують у своїй статті дослідники медичного факультету Вашингтонського університету (США). Здатність до відновлення втрачених органів є у багатьох хребетних: пригадаємо хоча б ящірок або саламандр з тритонами. Тривалий час вважали, що відновлення кінцівок відбувається за рахунок єдиних стовбурових клітин (СК). За цією теорією, клітини в місці ампутації втрачали свою спеціалізацію і ставали стовбуровими. Оскільки всі вони виглядали однаково, було вирішено, що відростання ноги або хвоста відбувається за рахунок СК, подібних до ембріональних, які можуть перетворитися на клітину будь-якої тканини. Стівен Джонсон і Шу Ту досліджували регенерацію плавників у *Danio rerio* — акваріумної рибки і популярного модельного об'єкта. Подібно до саламандр, *Danio* здатні швидко відновлювати втрачене за рахунок групи клітин, які з'являються на місці ампутації відразу

після операції; і на вигляд ці клітини не відрізняються одна від одної. Дослідники вводили в ДНК клітин на місці ампутації фрагмент, що кодує флуоресцентний протеїн. Усе потомство цієї клітини несло копію такої ДНК і світилося зеленим. І якби загоєвальні клітини дійсно відновлювали всі тканини в новому плавникові, то зеленим світилися б і клітини шкіри, і нервові клітини, і клітини кровоносних судин. Але такого не відбувалось. Якщо ДНК зеленого протеїну вводили в клітину шкіри, то в новоутвореному плавникові зеленим світилася тільки шкіра. Те ж саме спостерігали і в разі нервових, імунних, кісткових та інших типів клітин. Тобто клітини на місці розриву тканини не перетворювалися на всемогутні ембріоноподібні, а давали тільки свій власний тип тканини, інакше кажучи, ставали тканиноспецифічними СК. Таких клітин дослідники налічили 9 типів. За словами учених, таким же чином це відбувається й у інших тварин: амфібій, ящірок і т. д., аж до людини. Зроблене відкриття має полегшити завдання медикам, які займаються загоєнням ран, і за допомогою регенеративної медицини вирішити проблему, адже при цьому не потрібно отримувати складні й нестабільні ембріоноподібні клітини загальної спеціалізації, цілком достатньо буде обмежитися частково стовбуровими.

Джерело:

<http://science.computenta.ru/610939/>

Нова програма для нейрональних стовбурових клітин

Нейральні стовбурові клітини можуть робити багато що, але не все. Наприклад, клітини головного або спинного мозку, як правило, з'являються не з нейрональних стовбурових клітин периферичної нервової системи, а клітини останньої неможливо отримати зі стовбурових клітин головного мозку. Проте ученим з Інституту вивчення головного мозку Макса Планка (Max Planck Institute for Brain Research) у Франкфурті та Інституту імунології й епігенетики Макса Планка (Max Planck Institute of Immunobiology and Epigenetics) у Фрайбурзі вдалося отримати клітини центральної нервової системи з нейрональних стовбурових клітин периферичної нервової системи.

Дослідники встановили, що за певних умов стовбурові клітини периферичної нервової системи трансформуються в олігодендроцити — клітини, які створюють мієлінові оболонки нервів як головного, так і спинного мозку.

Нервова система ссавців складається з центрального (головний і спинний мозок) і периферичного (наприклад, нерви і сенсорні ганглії) відділів. Хоча ці відділи дуже тісно взаємозв'язані, вони відрізняються анатомічно і представлені різними типами клітин. Клітинні типи периферичної нервової системи походять від клітин-попередників ембріона — нервового гребеня. Дотепер вважали, що стовбурові клітини нервового гребеня можуть диференціюватися в нейрони і гліальні клітини периферичної нервової системи (ПНС), але не в клітини центральної нервової системи (ЦНС).

Вид клітин, в який диференціюються стовбурові клітини нервового гребеня, чітко визначається умовами навколишнього мікросередовища. Піддавши стовбурові клітини периферичної нервової системи ембріонів і новонароджених мишей впливу різних умов, німецькі вчені разом зі своїми французькими колегами показали, що зі зміною умов ці стовбурові клітини можуть диференціюватися і в клітини центральної нервової системи. Окрім нейронів, стовбурові клітини нервового гребеня розвивалися в різні типи гліальних клітин ЦНС, включаючи олігодендроцити й астроцити.

«Культуральне середовище перепрограмує стовбурові клітини нервового гребеня таким чином, що вони змінюють свою ідентичність. Це працює без генетичної модифікації клітин», — пояснив Герман Рорер (Hermann Rohrer) з Інституту вивчення головного мозку Макса Планка.

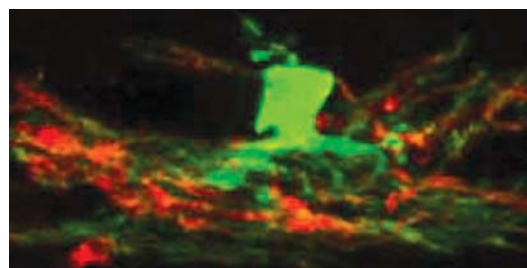
Фактори культурального середовища чітко активували різні генетичні програми, і зі стовбурових клітин розвивалися клітини, які зазвичай з них не розвиваються. Учені поки що не розуміють, які саме фактори відіграють тут свою роль. Проте є деякі підстави вважати, що в цю трансформацію залучений фактор росту фібробластів — FGF.

У мозку мишей на різних стадіях його розвитку перепрограмовані стовбурові клітини в більшості випадків розвивалися в олігодендроцити, створюючи мієлінову оболонку навколо нейронів ЦНС і, отже, вони є необхідними для передачі електричних сигналів. Експерименти з трансплантації, проведені дослідниками на генетично модифікованих мишах, які не здатні синтезувати мієлін і мають серйозні неврологічні дефекти, довели, що це завдання можуть узяти на себе нові олігодендроцити.

«Перепрограмовані стовбурові клітини можуть диференціюватися в клітини центральної нервової системи, і нові клітини

здатні постійно інтегруватися в цю систему», — зазначив Вердон Тейлор (Verdon Taylor) з Інституту імунології та епігенетики Макса Планка.

Поки що незрозуміло, якою мірою нові фундаментальні відкриття сприятимуть розвиткові клітинної терапії. Це вимагає того, щоб, по-перше, такі стовбурові клітини були присутні й доступні в ЦНС людини і, по-друге, щоб їх можна було розмножити і перепрограмувати в культурі. «На сьогодні ми знаємо тільки те, що в мишей ці стовбурові клітини мають потенціал диференціюватися в олігодендроцити», — зауважив Герман Рорер.



Трансплантація перепрограмованих нейрональних стовбурових клітин в головний мозок генетично модифікованих мишей, не здатних синтезувати мієлін. Стовбурові клітини диференціювалися в олігодендроцити (зелені), які синтезували мієлін (червоний)
(фото: © MPI fur Hirnforschung)

Учені планують детальніше вивчити, які молекулярні механізми відповідальні за перепрограмування цих стовбурових клітин, чи присутні стовбурові клітини нервового гребеня в периферичній нервовій системі дорослих мишей, і які умови необхідні для їх перепрограмування.

Оригінальну статтю: «Peripheral Nervous System Progenitors Can Be Reprogrammed to Produce Myelinating Oligodendrocytes and Repair Brain Lesions» було опубліковано в The Journal of Neuroscience.

Джерело:
<http://www.sciencedaily.com/releases/2011/05/110512103948.htm>;
<http://www.nanonewsnet.ru/news/2011/novaya-programma-dlya-neiralnykh-stvolovykh-kletok>

Стовбурові клітини з жиру для тканинно-інженерних кісток

Швейцарські вчені з Університетського госпіталю в Базелі (University Hospital Basel) досліджували, чи можливе формування *in vitro* судинних структур з культивованих

ендотеліальних і мезенхімальних клітин-попередників, отриманих зі стромальної васкулярної фракції (SVF) людської жирової тканини. Вирощені судинні структури дадуть змогу поліпшити ефективність і рівномірність формування кісткової тканини *in vivo* на підкладки, що закривають дефекти критичної величини. Свіжовиділені людські клітини SVF висівали на гідроксіапатитові підкладки (діаметр і товщина — 1 см) і культивували на перфузійному біореакторі, що дозволяло підтримувати зростання ендотеліальних клітин-попередників. Як контроль використовували очищені від васкулогенних клітин стовбурові клітини двох типів: вирощувані моношаром адипозні стромальні клітини (ASC) і відповідного віку стромальні клітини кісткового мозку (BMSC).

Через 5 діб культивування одержані з SVF ендотеліальні й мезенхімальні клітини-попередники сформували капілярну сітку, яка дала анастомози із судинами реципієнта вже через 1 тиждень після ектопічної імплантації позбавленим імунітету щурам. Порівняно з BMSC і ASC SVF-клітини забезпечували швидшу (через 8 тижнів) інтеграцію в тканину, більш рівномірне й об'ємне формування кісткової тканини з осифікатами, що проростають на глибину до 3,5 мм від поверхні підкладки.

Результати дослідження показали, що SVF-клітини мезенхімальної/ендотеліальної фракції відіграють ключову роль у створенні остеогенної конструкції з підвищеною здатністю до приживлення. Єдине досяжне джерело цих клітин і відпрацьований стандартний процес їх культивування в проточному біореакторі роблять запропонований підхід вельми привабливим для вирощування *in vitro* і клінічного застосування для заміщення дефектів кісткової тканини трансплантатів потрібної форми і величини.

Матеріали дослідження наведено в статті: Geven S. et al. Engineering of large osteogenic grafts with rapid engraftment capacity using mesenchymal and endothelial progenitors from human adipose tissue. *Biomaterials*.

Джерело:

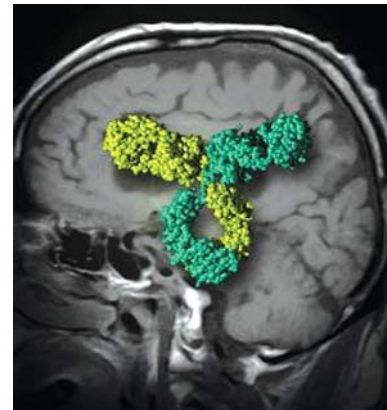
<http://www.stemcells.ru/news-444>

Створено антитіла, здатні долати гематоенцефалічний бар'єр

Ученим вдалося створити антитіла, що без зусиль долають гематоенцефалічний бар'єр, що розділяє системний кровотік організму і кровоносну систему головного мозку.

Нові дані становлять великий потенціал для створення терапії на основі антитіл, яка може бути використана для лікування хвороби Альцгеймера та інших захворювань нервової системи

Антитіла — розчинні протеїни, присутні в сироватці крові і тканинній рідині, що беруть участь в імунній відповіді проти чужорідних агентів. Вони високоспецифічні, тому вчені дедалі частіше прагнуть створити антитіла, здатні зв'язувати більш ніж одну молекулярну мішень.



Антитіла, що зв'язують більш ніж одну молекулярну мішень, здатні подолати гематоенцефалічний бар'єр (фото: Genentech)

«Ми наблизилися до створення біспецифічних антитіл», — повідомив Райан Воттс (Ryan Watts), нейробіолог з біотехнологічної фірми Genentech (США), що є піонером у створенні терапевтичних антитіл. «Перевага нашої розробки в тому, що багато з цих антитіл будуть здатні подолати гематоенцефалічний бар'єр, який захищає головний мозок від патогенів, перешкоджаючи проникненню всередину великих молекул лікарських засобів», — зазначив Воттс.

У двох статтях, опублікованих в журналі *Science Translational Medicine*, вчені представили дизайн нових антитіл. Антитіла здатні розпізнавати і зв'язуватися з двома протеїнами-мішенями. Перший протеїн, названий бета-секретазою 1, є поширеною мішенню для багатьох препаратів, використовуваних у терапії хвороби Альцгеймера, оскільки відіграє важливу роль у продукуванні мономерів бета-амілоїду в головному мозку. Згідно з «амілоїдною гіпотезою», основною причиною захворювання є відкладення конкрементів протеїну — бета-амілоїду в головному мозку, що призводять до його ушкодження.

Другим протеїном, що зв'язується антитілами, є рецептор трансферину, що активує

молекулярні іонні канали, які здійснюють транспортування іонів заліза в головний мозок. Зв'язуючись із цим рецептором, антитіла транспортуються в головний мозок, де інгібують функції бета-секретази 1. Функція антитіл була перевірена на моделі хвороби Альцгеймера у мишей: через день після ін'єкції антитіл концентрація бета-амілоїду в головному мозку тварин знизилася на 47%.

Для досягнення цих результатів групи фахівців компанії Genentech необхідно було кинути виклик ще одному правилу створення антитіл. Сила взаємодії між антитілом і мішенню називається афінністю: чим вища афінність антитіла, тим сильніша взаємодія. Більшість біологів прагнуть отримати антитіла з максимально високою афінністю. Райан Уоттс і Марк Денніс, біоінженери з компанії Genentech, теж почали роботу з отримання високоафінних антитіл до рецептора трансферину, однак виявили, що такі антитіла не здатні долати гематоенцефалічний бар'єр. Проте після зниження афінності антитіл проблему проникнення через кровоносні судини було вирішено [2].

За словами біоінженера-розробника Девіда Гілберта (David Hilbert) з біотехнологічної компанії ZynGenia (США), низькоафінні мультиспецифічні антитіла можуть застосовуватись у багатьох галузях. Наприклад, ракові клітини часто ідентифікують на основі комбінації декількох маркерних протеїнів на їхній поверхні. Однак ці самі маркери, але в інших поєднаннях можуть бути присутні й на поверхні здорових клітин. Традиційні високоафінні моноклональні антитіла здатні вбити здорові клітини разом з раковими, але низькоафінні антитіла будуть більш вибірково зв'язуватися з раковими клітинами.

Проте не всім ученим подобається ідея використання низькоафінних антитіл. «З технічного погляду робота хороша, але, за великим рахунком, я думаю, що вони зайшли в безвихідь», — зазначив Вільям Падрідж (William Pardridge), ендокринолог з Каліфорнійського Університету в Лос-Анджелесі (США) і засновник біотехнологічної компанії ArmaGen, який тривалий час займався вивченням гематоенцефалічного бар'єра. За словами Падріджа, його компанії вдалося отримати антитіла, що долають гематоенцефалічний бар'єр за допомогою тих самих рецепторів, однак зниження афінності антитіл не було потрібно. Падрідж додає, що для досягнення бажаного ефекту будуть потрібні необґрунтовано високі дози низькоафінних антитіл.

Уоттс запевняє, що дози антитіл, використовувані в експериментах з мишами, не були надмірно високими. «Для людини ці дози будуть ще менші, оскільки в нашому організмі антитіла довше залишаються активними перед руйнуванням. Ми маємо намір рухатися вперед. Проведена робота була лише перевіркою концепції. Далі ми плануємо застосувати її до інших мішеней в центральній нервовій системі», — наголосив Уоттс.

Джерело:

<http://www.cbio.ru/modules/news/article.php?storyid=3792>

Автономне репрограмування соматичних клітин у стовбурові без внесення чужорідної ДНК

Найважливіше відкриття останніх років, що змінило можливості регенеративної медицини, — перетворення соматичних клітин на плюрипотентні, по суті стовбурові, клітини, для чого в геном клітин вбудовують декілька певних генів, факторів транскрипції, що повертають клітині здатність до диференціювання за декількома напрямками. Цей підхід значно розширив можливості аутологічної клітинної терапії і дозволив краще зрозуміти механізм багатьох захворювань, виділяючи пацієнтспецифічні лінії плюрипотентних клітин. Було запропоновано декілька різних стратегій отримання індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (ІПСК), зокрема без епігенетичної модифікації і внесення до клітини чужорідних генів. Мета розроблення нових підходів до отримання ІПСК — не тільки краще зрозуміти механізми диференціювання клітин і розвитку захворювань, але й створити придатні для клінічного застосування лінії стовбурових клітин, що не несуть генетичних змін і онкологічно безпечні для пацієнта.

Група американських учених з Медичного центру університету шт. Небраска, США (University of Nebraska Medical Center) у своєму огляді обговорює різні стратегії отримання ІПСК, особливу увагу приділяючи сучасним неклітинним підходам до репрограмування соматичних клітин-попередників у стан стовбурових за допомогою стимуляції ендогенних факторів транскрипції. В огляді головним чином розглядається отримання плюрипотентних клітин для усунення пошкоджень роگیвки.

Матеріали дослідження подано в статті Parameswaran S. Balasubramanian S. Rao M. S. Ahmad I. Non-Cell Autonomous Reprogramming: A Nucleic Acid Free Approach to Induction of Pluripotency. Stem Cells. 2011 May 4. doi: 10.1002/stem.655.

Джерело:
<http://www.stemcells.ru/news-274>

Генетичні війни: гена інженерія



Проблему запобігання біотероризмові слід розглядати не тільки відносно безпосередньо самої загрози застосування біологічної зброї. Останні документи ООН потребують ширшого аналізу і рішучіших дій світової спільноти. Йдеться про розроблення системи міжнародно-правового і, зокрема, міжнародного поліцейського контролю за можливими негативними (кримінальними) наслідками біотехнологічної революції.

У прийнятій 9 вересня 2006 р. консенсусом на Генеральній Асамблеї ООН Глобальній протитерористичній стратегії Організації Об'єднаних Націй запропоновано створити спільно з державами-членами ООН єдину всеосяжну базу даних про біологічні інциденти, здійснивши заходи щодо того, аби вона доповнювала базу даних про біологічні злочини, яку має намір створити Міжнародна організація кримінальної поліції. Водночас Генеральному секретареві ООН рекомендовано відновити список експертів і лабораторій, що є в його розпорядженні, а також технічні керівні принципи і процедури для своєчасного й ефективного розслідування випадків використання таких засобів. Відзначено також важливе значення пропозиції Генерального секретаря ООН про об'єднання за сприяння Організації Об'єднаних Націй зусиль основних заінтересованих сторін у сфері біотехнології, включаючи промислові й наукові кола, громадянське суспільство і уряди, в рамках єдиної програми, спрямованої на забезпечення використання досягнень в галузі біотехнології тільки для загального блага, а не в терористичних або інших злочинних цілях, за належного додержання основопо-

ложних міжнародних норм захисту прав інтелектуальної власності.

Чому так гостро поставлено в Глобальній контртерористичній стратегії ООН питання контролю над біотехнологією? Можна багато й красиво говорити і писати про перспективи гуманістичного використання біотехнології, про «світле майбутнє» людства, ліберальну еugenіку, лікування спадкових захворювань, подовження людського життя практично до безкінечності. Однак все це стосується лише легальної частини біотехнологічної революції. А існує, і вже тривалий час, нелегальна (і практично завжди кримінальна) її складова. Навіть коли цю нелегальну частину реалізує держава, і хай навіть сама є суперліберально-демократичною, вона завжди це робить таємно від своїх громадян, демократичних інститутів. І завжди така діяльність фактично протиправна і злочинна. Злочинна тому, що імітує діяльність, заборонену міжнародно-правовими документами і національним кримінальним законодавством.

Наука розвивається таким чином, що новітні технології, і біотехнологія зокрема, по суті своїй, мають «подвійне призначення». Ті самі генно-інженерні методи, які дають змогу створювати ліки, можуть водночас бути застосовані для створення зброї. Передусім це стосується розроблення біологічної зброї. Як відомо, Конвенцію ООН про заборону розробки, виробництва і накопичення запасів бактеріологічної (біологічної) токсичної зброї і про їх знищення було прийнято ще в 1971 р. Проте є численні свідчення того, що цей тіньовий напрям використання біотехнології розвивався і розвивається далі в країнах з абсолютно різними видами політичних режимів. Причому зброю, створену на основі генної інженерії в різних модифікаціях (генетичну, навіть етнічну), розробляли ще з 60-х років минулого століття, насамперед в СРСР і США. Відомо, що крім смертельно небезпечних генетично змінених вірусів розробляється біологічна зброя, яка може бути етнічно націленою і знищувати навіть окремі групи серед популяцій (наприклад, залежно від статі, віку, різних антропологічних ознак, які можна виявити шляхом аналізу структури ДНК, що зберігає генетичний код, за кольором шкіри, розрізом очей). За повідомленнями ЗМІ на початку 2004 р. на семінарі ЦРУ в США, що проводиться в рамках «Проекту нового американського століття» (PNAC), американські вчені стверджували, що до 2014 р. таку зброю вже буде створено.

З конфіденційної доповіді Пентагону, датованої 1998 роком, що стала відомою

журналістам у 2002 р., впливало, що біологічний агент може бути генетично трансформований, з тим щоб створити нову смертельну зброю. Уільям Коен, колишній міністр оборони США, повідомив, що він отримував відповіді з країн (ПАР, Ізраїль), що працюють над створенням «певних типів патогенів, які могли б бути етнічно специфічні». Так, в ПАР велися роботи з розведення бактерій, здатних робити людей з чорною шкірою безплідними.

Американський біолог Блек Дж. Л. (Black J. L.) наводить у своєму дослідженні декілька загальних категорій генів, які можуть використовуватись у генетичній зброї: гени, суттєві для життя клітин; мутантні гени, відповідальні за спадкові хвороби; токсичні гени екзогенних видів; ген, що кодує вироблення ензиму, який забезпечує перетворення попередника токсину; вектори структури, що вражають окремі людські популяції (наприклад, конкретні етнічні групи).

Академік РАН О. Ф. Спірін пише, що існує декілька класів генів, які стають смертоносними, після того як вбудовуються в клітину хазяїна. Такі гени запускають у клітинах синтез речовин протейнової природи, що руйнують захисну і регуляторну системи, або просто укривають токсичних. Інфікований організм сам синтезує отруту, яка його і вбиває. Для генетичної зброї, на думку академіка О. Ф. Спіріна, є характерними тривалий латентний період і спільність симптомів за величезної різноманітності можливих причин патології. Все це вкрай ускладнює діагностику, лікування і профілактику. Використовуючи генетичні конструкції, ідентичні фрагментам людського геному, які в певних умовах спричиняють захворювання, довести зовнішню дію взагалі неможливо.

Зараз можливе створення односпрямованої біологічної зброї, безпечної для агресора, наприклад на основі «повільних» і «сплячих» вірусів з великими латентними періодами. Патогени поширювати легко, зробити це можна так, щоб джерело інфекції залишилося невідомим. Відкривається можливість «тихої біологічної війни», в якій супротивник навіть не дізнається, звідки виходить небезпека. Зникає останній стримувальний чинник.

На зміну «Геному» приходять нова програма «Протеом» з розшифрування й вивчення призначення і взаємодії протеїнів, не менш складна, ніж «Геном», що відкриває шлях до абсолютної зброї, яка дозволяє за будь-який вибраний термін — від декількох годин до десятків років — планомірно знищити будь-які людські популяції за ключовими генетичними ознаками, не побоюючись при цьому можливого удару у відповідь.

Біотехнологи пішли ще далі: створено мікроби-мутанти, які знищують вибірково неживу матерію — нафту, пластик, метали, композитні матеріали тощо.

У країнах, які створювали біологічну зброю, ці роботи проходили під контролем військових і спецслужб. Але ніхто не може дати гарантій, що такі роботи не ведуться під контролем інших суб'єктів, зокрема терористичних, фашистських і расистських організацій, мафіозних структур та вчених-маніяків.

Як вважає академік РАН О. Ф. Спірін, тим, хто захоче виготовити біологічну зброю, чи то екстремістськи настроєний уряд, опозиційна партія, чи просто група громадян, не знадобиться будувати інститут з полігоном. Одна добре оснащена лабораторія, в якій працюватиме десятеро людей, цілком у змозі зробити генетичну зброю. Тим паче, що, за оцінками експертів, лабораторія з виробництва біологічної зброї в сучасних умовах, разом зі всім устаткуванням, може коштувати в межах від декількох десятків до декількох сотень тис. доларів США, а як біологічна зброя можуть бути використані й ті патогени, які конвенціонально не заборонені до застосування в дослідницьких цілях для отримання діагностичних систем, вакцин та інших медичних препаратів.

Американський вчений Роб Карлсон (Rod Carlson), фізик і біолог, що працював певний час із Brentom в MSI, прогнозує, що приблизно протягом десятиліття створення біологічної зброї з нуля стане таким же простим і дешевим, як побудова сайту.

Увагу журналістів привернув сайт компанії VN Bio Ltd, що займається постачанням устаткування і витратних матеріалів для біологічних лабораторій. В одному з каталогів біосировини було знайдено вельми дивні «товари»: на продаж виставили фрагменти ДНК смертельно небезпечних для людини вірусів віспи й іспанського грипу. Для оформлення замовлення на ДНК віспи знадобилося лише назвати адресу, номер мобільного телефона й адресу електронної пошти, і вже через три години в редакцію The Guardian подзвонив кур'єр і повідомив, що замовлення доставлено. Жодних перевірок того, кому відправляється потенційно небезпечний вантаж, проведено не було. Одержувачем міг би бути як законотрухлячий учений, так і можливий терорист.

У цих умовах контроль за біотехнологічним ринком у мережі має стати важливим новим завданням поліцейських підрозділів, які контролюють тіньові кримінальні ринки в Інтернеті.

Не меншу небезпеку становить розроблення нейрофармакологічних засобів контролю за поведінкою. Про те, що й ці роботи вже проводили, на вагомому фактичному матеріалі написано достатньо багато книг. По суті, йдеться про розроблені види психотропної зброї на основі біотехнології.

Ще наприкінці 50-х років А. Берл, на той час помічник державного секретаря США, який брав участь у програмах ЦРУ з контролю поведінки за допомогою нейрофармакології, записав у своєму щоденнику: «Я побоююсь одного. Якщо вчені зроблять те, що запланували, то люди перетворяться на мурашок, якими маніпулюють».

Ніколи з тіні не виходитимуть і євгенічні роботи з наділення людини надвластивостями (гіперагресією, гіпервирливалістю, гіперреакцією, нечутливістю до болю, спеки, холоду, баченням у темряві і т. д.). Результати такої наукової діяльності цікавлять передусім військових і спецслужби. Але й інші зазначені вище суб'єкти не обійдуть це стороною. Наприклад, мафіозні структури, що «обслуговують» спорт (а вірніше гроші, що їх заробляють на спорті), вже зараз активно співпрацюють з тіншовими ученими в розробленні нових засобів, які підвищують витривалість спортсменів. При цьому головне завдання тут — розроблення препаратів, які неможливо виявити за допомогою тестування.

У березні 2006 р. в США проходила перша міжнародна зустріч експертів, присвячена питанням генетичного допінгу. На ній наголошувалося, що олімпіади XXI століття багато в чому будуть змаганнями фармакології і генетиків. На сьогодні відомо три гени, які, ймовірно, використовуватимуться спортсменами і які неможливо буде визначити існуючими методами, причому їх можна вводити безпосередньо в м'язову тканину як звичайну вакцину: модифікований вірус, який менш уразливий до бунту імунної системи (adeno-associated viruses AAVs); другий ген зростання клітин внутрішньої поверхні судин (vascular endothelial growth factor VEGF); третій ген, що сприяє нарощуванню м'язів, і він замінить заборонені зараз стероїди (insulin-like growth factor 1 IGF-1). Дон Кетлін (Don Catlin), біохімік, який працює в Каліфорнійському університеті, вважає, що визначити наявність цих генів в організмі спортсменів буде практично неможливо.

З великою часткою ймовірності можна припустити, що, незважаючи на будь-які можливі обмеження і заборони, проводитимуться роботи з нелегального клонування людини і навіть створення людиноподібних

химер. Тим паче, що технології для цього вже створено.

Група вчених з 2-го Шанхайського медуніверситету під керівництвом Хуейчжень Шен створила понад 100 гібридних ембріонів, з'єднавши клітини людської шкіри з яйцеклітинами кроликів. Гібридам протягом декількох днів дозволили розвиватися в лабораторних блюдцях, а потім знищили, щоб отримати з них ембріональні стовбурові клітини. Законодавство Китаю не дозволяє вирощувати ембріонів для дослідів більше 14 днів. Стовбурові клітини, отримані з гібридних ембріонів, здатні до росту протягом тривалих періодів часу в лабораторних умовах і можуть перетворюватися на будь-який вид клітин.

Біолог з Гарварду Дуглас Мелтон відзначив, що створення китайцями «фантастичного» ембріона може комуся нагадати химеру з грецької міфології з головою лева, головою козла і хвостом змії, але це — не перший випадок, коли вчені змішують в лабораторії клітини людини і тварин. Були, наприклад, експерименти з мишами, яких для досліджень «забезпечували» клітинами людського мозку або частинами імунної системи.

Британська біотехнологічна компанія Imutran з початку 90-х років минулого століття розводить свиней для використання в трансплантації людині. Багато діабетиків було підключено до свинячих печінки і нирки в апаратах тимчасового діалізу. Проект компанії PPL (США) включає створення стада корів, що виробляють людські протеїни, і кроликів з людським кальцитоніном, який допомагає заміщати кістку.

Компанія Pharmino (Нідерланди) займається виробництвом в організмі корів людського лактоферину, який активізує імунну систему.

Корпорації Genzyme Transgenics і Advanced Cell Technology співпрацюють, щоб створити стада худоби, яка буде носієм людських протеїнів у крові і м'ясі, наприклад, таких як альбумінова сироватка, використовувана для підтримки рідиною балансу крові у жертв опіків. Учені генетично модифікують свиней з людськими протеїнами, що слугують як ідентифікаційний сигнал для імунної системи людини. Це приймається системою захисту людського організму таким чином, що орган не відторгається.

Незважаючи на мораторій Ради Європи на клінічне тестування трансплантатів з органів тварин на людях, уведений ще в січні 1999 р., роботи в цьому напрямі тривають.

Клонування тварин для використання їх як фабрик гормонів для людей розвивається посиленими темпами. Ця технологія ціка-

вить учених і компанії через кількість органів, гормони і фармацевтичні препарати, які можна отримати таким чином.

Королівський жіночий госпіталь в Мельбурні (Австралія) створює мишу, яка синтезує людську сперму, трансплантуючи їй клітини людських яєчок. В Японії університет у м. Тотторі досяг таких самих результатів, і тепер учені з цього закладу хочуть спробувати запліднити людську яйцеклітину спермою, синтезованою мишею. Жіноче молоко вироблятимуть корови і кози.

Оскільки біотехнологічна революція відкриває можливості для реалізації будь-яких людських фантазій, завжди знайдуться суб'єкти, готові їх використовувати в суто утилітарних цілях (військових, оперативних, комерційних). Де, наприклад, гарантії того, що мафіозні структури в майбутньому не організують нелегальні постачання людських клонів для садомазохістських утіх різного роду збоченців або людиноподібних химер для приватних зоопарків?

Клонування людини — процес на цей час ще проблематичний (багато вчених-генетиків й досі сумніваються в можливості клонування людини, незважаючи на появу клонів тварин) і вельми витратний.

Криза клонування, що посилилась із початком цілої епопеї передчасних смертей перших клонів великих ссавців, спонукала до перегляду теорій і методів, які застосовували під час клонування. Учені відзначають, що складність будови людських хромосом зробить цей процес стосовно клонування людей ще важчим.

На сьогодні шість різновидів ссавців: вівця, миша, кролик, свиня, корова і кішка змогли пройти успішно процедуру клонування, але численні спроби досягти подібних результатів з приматами були невдалими.

Можна висунути достатньо обґрунтовану гіпотезу про те, що можлива поява псевдоклонування людини, людських органів і тканин. Мається на увазі заява про клонування людських органів, легітимізація цього процесу в гуманних цілях (наприклад, для заміни хворих органів), а насправді, здійснення кримінального обороту реальних людських органів і тканин під виглядом продуктів клонування. Зараз ставити на конвеєр вбивство людей з метою вилучення органів для кримінальних структур є все-таки морочливим і небезпечним. Немає легального прикриття. Легалізація клонування відкриває для цього широкі можливості. Причому попит на тіньовому ринку трансплантології цей процес прискорюватиме. Набуває дедалі більшого поширення так зва-

ний «трансплантаційний туризм» до Індії і Південно-Східної Азії (по суті небезпечний різновид мафіозного ринку трансплантації).

Іншим напрямом діяльності мафіозних структур стало використання генної інженерії для виведення стійких сортів нарковмісних рослин з метою підвищення їхньої врожайності, захисту від шкідників і т. д.

Тіньовий розвиток біотехнології відбувається не тільки в «законспірованих приватних володіннях», а, як було вже зазначено, в державних лабораторіях, під контролем військових і спецслужб. І саме це робить міжнародно-правовий контроль за тіньовим (кримінальним) використанням біотехнології найскладнішим зі всіх інших видів контролю.

Крім того, вчені обґрунтовано наголошують на абсолютно різних підходах у регулюванні біотехнології в європейських і азійських країнах. Наприклад, іудео-християнське уявлення Заходу про святість унікальної особи не є універсальним. В інших частинах світу, наприклад в Азії, погляд на проблему біотехнології людини значно менш сентиментальний. Отже будь-які дослідження там можуть здійснюватись практично безперешкодно.

Азійські традиції на кшталт буддизму і синтоїзму не проводять різких етичних відмінностей між людством і рештою творіння, як це властиво християнству. Саме тому в Азії раніше була поширена така практика, як інфантицид (вбивство дітей), а зараз китайське керівництво вирішило впровадити дії, на Заході неприпустимі, зокрема, взяття органів в ув'язнених, які підлягають смертній карі. При цьому азійські країни на цей час володіють науковою інфраструктурою, необхідною для конкуренції в біомедицині. Виходячи з відмінностей в етичному сприйнятті світу біотехнологія в майбутньому може стати важливою ланкою розділу в міжнародній політиці.

За всіх складностей міжнародно-правового регулювання біотехнології і біомедицини таке регулювання — основоположний початок контролю за кримінальними наслідками біотехнологічної революції. Основні принципи такого контролю містяться в Конвенції ООН про заборону розробки, виробництва і накопичення запасів бактеріологічної (біологічної) і токсичної зброї і про їх знищення (1971 р.), у Загальній декларації ООН про геном людини і права людини (розробленою Міжнародним комітетом ЮНЕСКО з біоетики і прийнятою Генеральною конференцією ЮНЕСКО в 1997 р.), а також в Декларації ООН про клонування людини (прийнята резолюцією 53/280 Генеральної Асамблеї від 8 березня 2005 р.).

Однак Конвенція з бактеріологічної зброї, на думку багатьох фахівців, за більш ніж 35-річний період потребує істотних доповнень. Наприклад, вона дозволяє здійснювати контроль тільки під час проведення робіт на оборонних або державних підприємствах, які фінансуються з державного бюджету, але не в комерційних структурах. Адже саме в приватних структурах здійснюється найбільш активне розроблення біотехнології. Крім того, Конвенція не передбачає заборони на застосування біологічної зброї нового покоління, зокрема генетичної.

Що стосується Загальної декларації про геном людини і Декларації про клонування людини, то вони є саме деклараціями, що не мають конвенціонального механізму міжнародної співпраці. Крім того, Загальна декларація про геном людини містить об'єктивно закладені в неї суперечності. З одного боку, ст. 11 проголошує заборону на практику клонування з метою відтворення людської особини, а державам і міжнародним організаціям пропонується співпрацювати з метою виявлення такої практики й ухвалення на національному і міжнародному рівнях необхідних заходів. А з другого боку, ст. 12 містить вимоги про загальний доступ до досягнень біології, генетики і медицини, що стосується геному людини, і свободу проведення наукових досліджень. При цьому ст. 11 припускає негативне використання біотехнології, а ст. 12 — позитивне, для зменшення страждань людей і поліпшення стану здоров'я кожної людини і всього людства.

Постійна суперечність між негативними і позитивними наслідками розвитку біотехнології, що об'єктивно не знімається, може регулюватися тільки додатковими міжнародними конвенціональними документами.

Тим часом багато провідних експертів ООН займають тверду позицію, відповідно до якої репродуктивне клонування людини та інші подібні види генетичної інженерії мають бути кваліфіковані як одна з категорій злочинів проти людства. У зв'язку з цим було сформульовано пропозицію про те, щоб Міжнародний кримінальний суд розслідував і переслідував випадки клонування людини.

Серед країн ЄС в авангарді «хрестового походу» проти клонування людини опинилися Німеччина і Франція. Вони запропонували розробити в рамках ООН Міжнародну конвенцію проти клонування людини з метою її відтворення. Підтримавши цю ініціативу, Генеральна Асамблея ООН у грудні 2001 р. ухвалила рішення про розроблення такої конвенції.

Окрім Міжнародної конвенції проти клонування людини з метою її відтворення, доцільно

також ставити питання про розроблення додаткового протоколу про незаконне використання і розповсюдження біотехнології в рамках транснаціональної організованої злочинності (як відомо, три протоколи вже прийнято: про запобігання і припинення торгівлі людьми, особливо жінками і дітьми, та покаранні за неї; про незаконне ввезення мігрантів сушею, морем і повітрям; про незаконне виготовлення і оборот вогнепальної зброї, її складових частин, компонентів і боєприпасів).

Не менш актуальним є розроблення й ухвалення Конвенції про боротьбу з біотероризмом, про що неодноразово піднімалося питання на багатьох міжурядових і міжнародних наукових зустрічах.

Враховуючи ту обставину, що, на думку фахівців-генетиків, генетичну зброю можна використовувати не тільки проти людей, але й проти сільського господарства, перед системою Інтерпол стоїть також завдання застосувати з метою поліцейського контролю міжнародних документів, що визначають правила безпеки під час роботи з генетично-зміненими організмами.

Це — Картагенський протокол (регулює переміщення ГМО), Декларація Ріо (визначає, що тягар доведення нешкідливості лежить на виробникові продукції), документи Кодексу Аліментаріус і комісії ООН з харчових стандартів (містять стандарти для ГМО-продуктів), а також дві директиви Євросоюзу (визначають методи оцінки загрози, правила моніторингу, а також умови, за яких видають дозволи на випуск ГМО).

Міжнародно-правовий контроль за біотехнологією має стати гранично жорстким, міжнародно-правові норми — максимально обмежувальними, враховуючи, що будь-який відступ від заборон може стати необоротним злочином проти людства. Відсутність такого жорсткого контролю і єдиної міжнародної позиції з цих питань створює підґрунтя для можливості виникнення «генетичних Чорнобилів» у різних куточках земної кулі.

Багато років тому Уїнстон Черчилль сказав: «Кам'яне століття може повернутися на сяючих крилах науки». Не можна допустити, щоб це попередження видатного політика стало пророчим.

Джерело:

<http://uneworld.com/novosti-naukiv-novejshie-texnologii/geneticheskie-vojnuy-gennaya-inzheneriya.html>

*Матеріал підготувала
О. С. Виноградова*