

Дослідники Інституту Солка спостерігають за дією протеїнів у клітинах мозку за допомогою «неприродних» хімічних сполук

Генетично вбудовані в нервові стовбурові клітини інструменти можуть допомогти розвиткові регенеративної медицини, що має вирішальне значення для безпечної і надійної терапії стовбуровими клітинами.

Ученим з Інституту Солка (Salk Institute, США) вдалося генетично ввести «неприродні» амінокислоти, за яких відбуваються спалахи зеленої флуоресценції, у нервові стовбурові клітини, які згодом були диференційовані в нейрони мозку, що зберігали світну «мітку».

Нова методика, опублікована в журналі *Stem Cells*, допоможе вченим розкрити таємницю різних видів стовбурових клітин в організмі людини, а також клітин, яким вони дають початок. Це може бути корисним як для фундаментальних, так і клінічних досліджень, зокрема сприятиме розвиткові регенеративної медицини на основі стовбурових клітин.

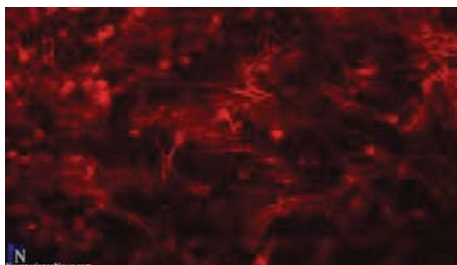


Фото нейронів, диференційованих з нейрональних стовбурових клітин HCN-A94 зі вбудованою «неприродною» амінокислотою (фото надано доктором Bin Shen з Інституту біологічних досліджень Солка)

Керівник дослідження доктор Лі Венг (Lei Wang) вважає, що стовбурові клітини зберігають великий потенціал як метод лікування різних захворювань. Проте дотепер було важко вивчати процеси їх самооновлення і утворення з них решти клітин організму.

Можливість генетично включати «неприродні» амінокислоти до складу протеїнів стовбурових клітин сприяє розумінню біохімічних сигнальних шляхів, що контролюють функціонування цих клітин. Глибоке розуміння описуваних механізмів має

вирішальне значення при розробленні безпечних і надійних методів терапії стовбуровими клітинами.

Перший автор дослідження, доктор Бін Шен (Bin Shen), зазначив, що, на відміну від традиційних біохімічних методів, які проводять у пробірці в умовах *in vitro*, включення неприродних амінокислот дасть змогу дослідникам вивчити той чи інший протеїн у живій клітині або організмі. Ці дослідження можна також виконувати в режимі реального часу.

Метод використання неприродних амінокислот, або Uaas (від англ. unnatural amino acids) було розроблено групою дослідників під керівництвом Венга і вперше апробовано на бактеріях у 2001 році, а потім на клітинах ссавців у 2007 році. Це дослідження проводили в два етапи.

На першому етапі перевіряли, чи можна ввести Uaas в нейрональні стовбурові клітини, не порушуючи процесу їх диференціації, і якщо так, то чи збережеться флуоресцентна мітка у нервових клітинах, утворених стовбуровими клітинами.

На думку Венга, сучасні методи включення неприродних амінокислот не підходять для стовбурових клітин унаслідок того, що введені гени часто втрачаються ще до того, як завершиться процес диференціації. Щоб вирішити цю проблему, дослідники розробили лентивірусний метод доставлення генів з метою включення Uaas у протеїни, експресовані в нервових стовбурових клітинах. Метод, який уперше запропонував д-р Індер Верма (Inder Verma) з Інституту Солка, забезпечує довгострокову експресію генів упродовж всього періоду диференціювання стовбурових клітин.

Цей вірус застосовують для доставлення різних компонентів, необхідних для технології Uaas. До впроваджуваних компонентів входила синтетична транспортна РНК (tRNA), яку клітини використовують для включення амінокислот до складу протеїну, що будується усередині клітини. Другим компонентом був ензим синтетаза, який може розпізнавати сконструйовану tRNA і сполучати її з третім компонентом — неприродною амінокислотою. Ці амінокислоти хімічно відрізняються від 20 природних амінокислот, які існують в організмі. Неприродні амінокислоти можуть мати різні

задані властивості, наприклад здатність до флуоресценції.

Після того як отримана лінія стовбурових клітин стабільно містить Uaas, неприродні амінокислоти можна використовувати для вивчення біології стовбурових клітин. Шляхом диференціації отримують різні зрілі клітини із цією здатністю, наприклад нейрони, в які важко вводити Uaas, до того ж їх отримання у великих кількостях високовартісне.

У першій серії експериментів з'ясували, що Uaas було успішно вбудовано в нервові стовбурові клітини. Це включення зберігалося протягом усієї диференціації, і потім із цих клітин отримували нейрони, що містять флуоресцюючу амінокислоту.

У другій серії експериментів було показано, як Uaas можуть бути використані для вирішення різних біологічних завдань. Дослідники хотіли дізнатися, як потенціалчутливі іонні канали, які є порами, що формують протеїни, функціонують у нейронах. У цих нервових клітинах мембранні іонні канали реагують на зміни електричного струму — зарядженого сигналу, який передається між нейронами, активуючи або відключаючи їх.

Учені намагаються зрозуміти, як електричне поле клітинних мембран може включити або відключити діяльність протеїну на кшталт того, як включається або вимикається світло в будинку.

Для вивчення цього феномена дослідники ввели флуоресцюючу амінокислоту в протеїновий домен, який іонні канали та інші протеїни використовують для сприйняття електричного поля, створюваного нейрональними стовбуровими клітинами, в які також було включено штучну амінокислоту. Після цього експериментатори змогли спостерігати в режимі реального часу зміни і переміщення флуоресцентної мітки під час проходження електричного потоку через нейрон. Так, при активації неприродних амінокислот було виявлено зміни в інтенсивності флуоресценції, і ці зміни залежать від того, де було зареєстровано неприродну амінокислоту. Це свідчить про те, що у відповідь на дію електричного поля протеїни переміщуються усередину мембрани або за її межі.

Ван зазначив, що цей експеримент, покликаний продемонструвати потужність методу Uaas у клітинах мозку, також корисний для вивчення інших мембранних протеїнів в інших клітинах, незалежно від того, де вони містяться в організмі.

Оригінальна стаття: *Bin Shen, Zheng Xiang, Barbara Miller, Gordon Louie, Wenyuan Wang,*

Joseph P. Noel, Fred H. Gage, Lei Wang. Genetically Encoding Unnatural Amino Acids in Neural Stem Cells and Optically Reporting Voltage-Sensitive Domain Changes in Differentiated Neurons. STEM CELLS 2011; DOI: 10.1002/stem.679

Джерело: http://www.salk.edu/news/pressrelease_details.php?press_id=503

Виявлено механізм інгібування ВІЛ-інфекції

Учені з Медичної школи при Університеті Західного резерву Кейса (Case Western Reserve University, США) відкрили довгоочікуваний фактор клітинної будови, що пригнічує ВІЛ-інфекцію мієлоїдних клітин, підмножини білих кров'яних клітин, які відображають антигенний статус і, отже, відіграють важливу роль в імунній відповіді проти вірусів і патогенних мікроорганізмів.

Описаний протеїн — SAMHD1 — є частиною механізму імунної системи, відповідального за розпізнавання нуклеїнових кислот. Він оберігає клітини від активації імунної відповіді на власні нуклеїнові кислоти клітини, запобігаючи тим самим розвитку деяких форм автоімунних реакцій.

Дослідники виявили, що фактор SAMHD1 може також відчувати і перешкоджати інфекціям мієлоїдних клітин, таким як макрофаги і дендритні клітини, ВІЛ-1. За словами керівника дослідження Яцека Скворонські (Jacek Skowronski), професора кафедри молекулярної біології і мікробіології Медичної школи при Університеті Західного резерву Кейса, SAMHD1 запобігає синтезу вірусних копій у цих клітинах. Отримані результати опубліковано в журналі *Nature*.

У цьому ж випуску журналу було опубліковано результати досліджень, проведених групою французьких учених, очолюваною професором Монсефом Бенкіраном (Moncef Benkirane), яка виявила, що фактор SAMHD1 обмежує розмноження ВІЛ у мієлоїдних клітинах. Результати дослідження розширюють розуміння того, як імунна система ВІЛ-інфікованих людей знешкоджує вірус, і як ВІЛ уникає реакцій імунної відповіді.

Професор Скворонські висловлює припущення, що з'ясування природи SAMHD1 і його функції зможе допомогти пояснити, чому в деяких ВІЛ-інфікованих цей вірус

менш активний, ніж у інших. Окрім того, це також може стати основою для розроблення нових методів лікування, призначених для інгібування ВІЛ-інфекції і/або реплікації НК вірусу в інфікованих осіб, а також стимулювання власної імунної реакції організму на ВІЛ.

До цього дослідження вважали, що нормальна функція SAMHD1 полягає в запобіганні спонтанній активації класу противірусних відповідей, опосередкованих синтезом антивірусних чинників — інтерферонів за відсутності вірусної інфекції. Мутації в гені SAMHD1, а також у двох інших клітинних генах, які кодують нуклеази, TREX1 і РНКазу H2, спричинюють стан, який називається синдромом Акаїрді-Гутієреса (Aicardi-Goutieres) — AGS. Він виникає унаслідок природженого ушкодження інтерферонів за відсутності вірусу.

У роботі, опублікованій в *Nature*, дослідники під керівництвом д-ра Скворонські повідомляють, що крім запобігання автоімунній відповіді, яка спостерігається при AGS, SAMHD1 має здатність інгібувати зараження мієлоїдних клітин ВІЛ шляхом ефективного втручання в процеси синтезу вірусних нуклеїнових кислот. Завдяки цьому SAMHD1 може перешкоджати ефективній активації імунної відповіді на ВІЛ-1 у вірусінфікованих осіб.

Дослідники також з'ясували, що ВІЛ-2 і пов'язаний з ним імунодефіцит мавп (SIVsm/MAC) здатні подолати захисний механізм у мієлоїдних клітинах за допомогою протеїну VPX, знешкоджувати SAMHD1, уможливаючи тим самим інфікування цими вірусами. Цікаво, що віруси, НК яких кодує Vpx, такі як ВІЛ-2, набагато менш патогенні порівняно з ВІЛ-1. На думку д-ра Скворонські, це можна пояснити тим, що, маючи змогу визначити інфікування в мієлоїдних клітинах, вони викликають значно потужнішу імунну відповідь порівняно з ВІЛ-1, оскільки ВІЛ-1 не може ефективно інфікувати ці клітини.

У результаті можна очікувати, що дія на функцію SAMHD1 в контексті інфекції ВІЛ-1 може сприяти активнішій імунній відповіді на вірус.

Продовжуючи свої дослідження, учені мають намір зосередитись на глибшому розумінні молекулярної природи SAMHD1 для інгібування інфекції ВІЛ-1.

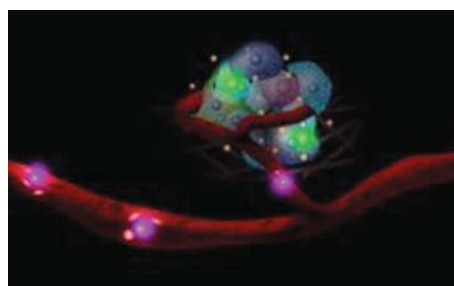
Оригінальна стаття: *Kasia Hrecka, Caili Hao, Magda Gierszewska, Selene K. Swanson, Malgorzata Kesik-Brodacka, Smita Srivasta-*

va, Laurence Florens, Michael P. Washburn, Jacek Skowronski. Vpx relieves inhibition of HIV-1 infection of macrophages mediated by the SAMHD1 protein. Nature, 2011; 474 (7353): 658 DOI: 10.1038/nature10195

Джерело: <http://www.sciencedaily.com/releases/2011/06/110629132525.htm>

Використання «клітинно-поверхневих сенсорів» (cell-surface sensors) у режимі реального часу для тестування середовища, що оточує клітину

Американські вчені розробили нову технологію, яка включає наносенсори, що дозволяє спостерігати за взаємодією окремих клітин у режимі реального часу. Ця інноваційна технологія дасть змогу вченим глибше зрозуміти складний характер біології клітини, контролювати ріст трансплантованих клітин, виявляти захворювання, а також проводити їх ефективне лікування. Публікацію про нове дослідження вміщено в журналі *Nature Nanotechnology*.



Зображення: Brigham and Women's Hospital

Використання нанотехнологій для розроблення спеціальних молекулярних сенсорів і прикріплення їх до поверхневих мембран клітин дозволило створити нову методику для спостереження за процесами міжклітинної взаємодії в реальному часі. На рисунку показано мембрану клітини, на якій закріплено молекулярний наносенсор.

У своєму дослідженні учені застосували нанотехнологію для датчика, «зафіксованого» на окремій клітинній мембрані. Раніше сенсор клітинної сигналізації міг тільки вимірювати загальну активність клітин. Тепер же, як повідомив Джеффри Карп (Jeffrey Karp), керівник дослідження й один з директорів Центру регенеративної терапії — Center for Regenerative Therapeutics (ReGenRx), з'явилася можливість спостерігати, яким чином окремі клітини взаємодіють одна з одною в реальному часі, отримуючи дані

безпрецедентно високої якості, що дасть змогу зрозуміти процеси клітинної сигналізації, а також детально розібратися в механізмах взаємодії клітин і лікарських препаратів.

Учені повідомили, що цей метод може бути доопрацьовано як інструмент для регулярного вивчення взаємодії між лікарськими препаратами та клітинами і покладено в основу персоналізованої медицини майбутнього. Дослідники вважають, що в подальшому — перед початком проведення відповідного лікування — цей метод може бути використаний для тестування лікарської взаємодії між клітинами.

Учених особливо надихає те, що нова технологія дозволяє в режимі реального часу проводити відстеження і моніторинг трансплантованих клітин у «живому» середовищі, чого не можна було зробити раніше. Імунолог Адріан Ульріх з Гарвардської медичної школи (Бостон, США) не брав участі в досліджах, однак вважає, що останні дослідження у напрямі відстеження взаємодії в реальному часі для виявлення зв'язку між цими клітинами-мішенями є великим кроком уперед на шляху наукових досліджень і розробок нових лікарських та діагностичних засобів.

Учені сподіваються, що комплексне використання нанотехнології, клітинної біології та багатьох інших дисциплін матиме успіх для розроблення лікарських препаратів, моніторингу трансплантованих клітин і для інших передових технологій. Однак, у таких нових сучасних технологіях фактично відсутній широкий спектр «масової бази». Утім, можливо, одного чудового дня, люди, просто поглянувши на ліки, вже не почують, що їм потрібно пройти цілу низку біохімічних тестів. Натомість їх відправлять на польовий сенсор, за допомогою якого вивчається вплив різних препаратів на клітини людського організму.

Оригінальна стаття: *Weian Zhao, et al., Cell-surface sensors for real-time probing of cellular environments, Nature Nanotechnology, 2011*

Джерело: <http://www.kurzweilai.net/monitoring-nanoscale-cellular-interactions-in-real-time>

Новий метод генної терапії — «редагування геному» — дає можливість успішно лікувати гемофілію на моделі експериментальних тварин

Інноваційний метод генної терапії, відомий як «редагування геному» (genome editing), дозволяє впливати на строго певну ділянку ДНК, що містить мутацію. З його допомогою учені вилікували хворобу зсідання крові — гемофілію — у мишей. Це перший приклад того, як «редагування геному» — метод, точно орієнтований на певну мішень в молекулі ДНК і конкретний генетично дефект, що корегується, — було застосовано на тваринах і дало змогу отримати клінічно значущі результати.

Це важливий крок уперед в історії розвитку генної терапії — методів лікування, що ґрунтуються на корекції послідовності ДНК, зміни в якій є причиною певного захворювання. У новому дослідженні учені використовували два варіанти генетично модифікованого аденоасоційованого вірусу (AAV), один з яких був носієм ензимів, що розрізають молекулу ДНК точно в потрібному місці, а інший — гена, що коректує послідовність, яку потрібно було вбудувати в ДНК для подальшого синтезу нормального протеїну. Все це ученим вдалося виконати в клітинах печінки живих мишей.

«Наше дослідження підвищує вірогідність того, що метод редагування геному здатен коректувати генетичний дефект на клінічно значущому рівні після доставлення в організм нуклеаз «цинкові пальці», — прокоментував результати роботи її керівник доктор медицини Кетрін Хай (Katherine High), гематолог і фахівець в галузі генної терапії з Дитячої лікарні Філадельфії (США). Д-р Хай, науковий співробітник Медичного інституту Говарда Х'юза, очолює Центр клітинної і молекулярної терапії цієї лікарні і займається генною терапією гемофілії вже більше 10 років.

У цьому дослідженні, проведеному в співпраці з ученими Sangamo BioSciences, Inc, було використано генетично модифіковані ензими — нуклеази «цинкові пальці» (zinc finger nucleases, ZFNs), своєрідні молекулярні текстові процесори, які редагують послідовність ДНК, що мутує. Учені навчилися створювати ZFNs, що взаємодіють з генами, які мають строго певну локалізацію. Для відновлення нормальної функції гена, втраченої за гемофілії, було використано специфічний для гена фактор 9 (F9) ZFNs у поєднанні з нормальною послідовністю ДНК.

Точно потрапляючи у свою мішень, конкретну ділянку хромосоми, нуклеази

«цинкові пальці» демонструють явну перевагу над традиційними методами генної терапії, які можуть випадково доставити ген, що коректує послідовність ДНК, у небажане положення в обхід нормальних біологічних регуляторних механізмів. Така неточність несе в собі ризик так званого «вставного мутагенезу» (insertional mutagenesis), за якого ген, що коректує послідовність, може, наприклад, ініціювати розвиток лейкемії.

При гемофілії спадкова мутація в одному гені позбавляє організм можливості виробляти один із протеїнів, які беруть участь у зсіданні крові, що призводить до виникнення спонтанних, іноді загрозливих для життя, кровотеч. Дві основні форми захворювання, що трапляються майже виключно у чоловіків, — гемофілію А і гемофілію В — спричинює відсутність факторів зсідання VIII і IX, відповідно. Лікування хворих полягає в частому внутрішньовенному впливанні зсідальних протеїнів, які є дорогими і, крім того, іноді стимулюють вироблення організмом аутоантитіл, що унеможлиблює подальше застосування цього методу.

Використовуючи генетичну інженерію, учені отримали мишей з моделлю гемофілії В людини. До початку лікування фактор зсідання IX у крові тварин не визначався.

Попередні експерименти інших дослідницьких груп показали, що ZFNs можуть редагувати геном вирощених у культурі стовбурових клітин, які потім вводять в організм мишей з моделлю серпоподібно-клітинної анемії. Проте такий підхід *ex vivo* для багатьох генетичних захворювань людини неможливий через шкідливу дію на цілі системи органів. Тому в даному дослідженні перевірку ефективності редагування геному було проведено *in vivo*, тобто безпосередньо в живому організмі.

Д-р Хай і її колеги створили дві версії вектора для доставлення генів, використовуючи аденоасоційований вірус. Один AAV-вектор переносив ZFNs для редагування, інший — доставляв правильно функціонуючий варіант гена F9. Оскільки причиною гемофілії можуть бути різні мутації одного й того самого гена, було замінено сім різних кодувальних послідовностей, що відповідають 95% таких, що зумовлюють гемофілію В.

Миші, що отримали комбінацію ZFNs/корегувальний ген, почали виробляти фактор зсідання IX у кількості, достатній, аби зменшити час зсідання крові майже до нормального рівня. У контрольних мишей, що отримували вектори або без ZFNs, або без F9, значного підвищення рівня фактора

зсідання або зниження часу зсідання крові не спостерігалось. Це поліпшення зберігалось протягом восьми місяців спостереження, при цьому учені не виявили жодної токсичної дії на механізм зсідання крові, масу або функцію печінки тварин — показник того, що лікування добре переноситься живим організмом.

«Ми підтвердили саму концепцію того, що редагування геному, проведене безпосередньо *in vivo*, дозволяє отримати стабільні й клінічно значущі результати», — підсумувала д-р Хай. «Щоб перевести ці результати в безпечний і ефективний метод лікування гемофілії та інших моногенних захворювань людини, потрібні подальші дослідження, але така стратегія генної терапії видається перспективною. Перехід від мишачих моделей до клінічного використання методів генної терапії був тривалим процесом, що затягнувся майже на два десятиліття, але зараз ми бачимо позитивні результати при багатьох захворюваннях — від спадкових уражень сітківки до гемофілії».

Упровадження методу редагування геному *in vivo* як ефективний і надійний терапевтичний підхід потребує часу, але це — чергова віха в розвитку генної терапії.

Дослідження опубліковано в он-лайнному виданні журналу *Nature*.

Джерело: <http://www.lifesciencetoday.ru/index.php/vesti-iz-laboratoriy/445-a-new-method-of-genetic-therapy-genome-editing-cures-hemophilia-in-animal-model-of-the-disease>

Біопаливо з моря

Водорості можуть у майбутньому стати ефективною сировиною для створення біопалива, особливо якщо її буде зібрано в літній період. Використання бурі водорості (*Laminaria digitata*) зможе також стати важливою альтернативою земним рослинам, які вирощують як початковий матеріал для виробництва біопалива. Проте відповідність хімічного складу морської водорості змінюється залежно від пори року. Так, збираючи врожай ламінарії в липні, коли рівні вуглеводів досягають найвищої відмітки, можна гарантувати оптимальне виділення цукру, необхідного для виробництва біопалива.



«Вміст вуглеводів і розчинних цукрів перетворюється на етанол у процесі бродіння, а отже нам потрібно, щоб цукру виділялося якомога більше, — пояснила д-р Джесіка Адамс (Jessica Adams), провідний дослідник з Університету Аберістуїт (Велика Британія). — Метали можуть гальмувати активну діяльність дріжджів, от чому так важливо, щоб вміст металів був по можливості низьким».

Збираючи кожного місяця зразки бурої водорості на Уельських берегах, дослідники проводили хімічний аналіз, оцінюючи сезонну мінливість рослин. Результати, що їх було представлено на щорічній конференції Товариства експериментальної біології в Глазго 4 липня цього року, показали, що найкращим місяцем для збору врожаю біопалива виявився липень, коли бурі водорості містять найбільшу кількість вуглеводу і найменшу — важких металів.

Бурі водорості можуть бути перетворені на біопаливо різними іншими способами, включаючи бродіння або анаеробне перетравлювання, за яких утворюються етанол і метан, чи піроліз (метод нагріву палива без кисню), що сприяє утворенню біонафти. Проте хімічний склад водорості залишається важливим для успішного завершення обох цих процесів.

Дослідження в галузі біопалива раніше повністю було сфокусовано на земних рослинах, проте у них є серйозний недолік — конфлікт між використанням землі для отримання їжі і біопалива. Морські екосистеми є незайманим ресурсом, який відповідає більш ніж за 50% глобальної біомаси, та й самі водорості здатні давати більше біомаси на квадратний метр, ніж найпродуктивніші земні рослини, зокрема цукрова тростина.

«Водорості як сировина для створення біологічного палива можуть бути дуже важливими для виробництва енергії в майбутньому, — зазначила д-р Адамс. — Біопаливо має стійку перевагу перед іншими інноваціями, наприклад потужністю вітру, яка не може бути стабільним енергетичним джерелом, оскільки використання її неможливе в разі стихання вітру». Подальша робота в цій галузі поліпшить життєстійкість процесу, даючи змогу отримувати важливі біологічно активні речовини, зокрема пігменти і феноли, тоді як решта частини водоростей використовуватиметься безпосередньо для виробництва справжнього біопалива.

Джерело:

<http://globalscience.ru/article/read/19529/>

Дослідники Каліфорнійського технологічного інституту побудували найбільші біохімічні схеми з невеликих синтетичних молекул ДНК

У багатьох відношеннях життя схоже на комп'ютер. Геном організму — це програма, яка «диктує» клітинній і молекулярній машині — апаратному забезпеченню, що робити. Але на відміну від електронної схеми життя залежить від біохімічних схем, складної комбінації реакцій і шляхів, які дають можливість організмам функціонувати. Дослідники з Каліфорнійського технологічного інституту (Caltech) побудували найскладніші з будь-коли створених з нуля біохімічні схеми, зроблені за допомогою ДНК-пристрою в пробірці, аналогічні електронним транзисторам на комп'ютерних чипах.

Технічно ці схеми дозволяють дослідникам вивчати принципи обробки інформації в біологічних системах, а також розробляти біохімічні шляхи з можливістю прийняття рішень. Такі схеми слугуватимуть для біохіміків безпрецедентним контролем у процесі проектування хімічних реакцій для застосування в біологічній і хімічній технології та промисловості. Наприклад, у майбутньому синтетичну біохімічну схему можна буде вводити в клінічну пробу крові і за її допомогою виявляти рівні різних молекул у зразку та інтегрувати цю інформацію в діагностику патології.

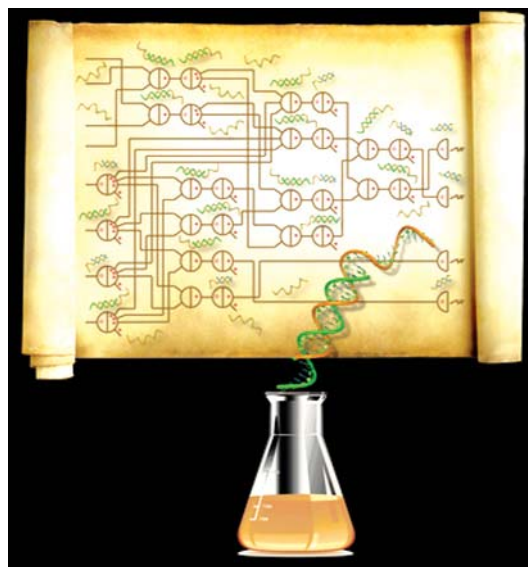


Схема сполучень для системи із 74 молекул ДНК, яка є найбільшою синтетичною схемою такого типу. За допомогою цієї схеми можна обчислювати квадратний корінь з числа до 15 цифр і заокруглювати до найближчого цілого числа (дискретний квадратний корінь з чотирирозрядного цілого числа).

[Ілюстрація: Caltech/Lulu Qian]

Лулу Квайєн (Lulu Quian), учений в галузі біоінженерії Каліфорнійського технологічного інституту і провідний автор статті, опублікованої в журналі *Science*, повідомив, що вони намагалися запозичувати ідеї, які мали величезний успіх на електронному рівні, такі як абстрактні представлення обчислювальних операцій, мови програмування і компілятори, і застосовувати їх до біомолекулярного світу.

Ерік Уїнфрі (Erik Winfree) з Каліфорнійського технологічного інституту використовував новий тип ДНК-компонента для розроблення найбільшої з будь-коли створених штучної біохімічної схеми, призначеної для дослідження принципів передачі й обробки інформації в біологічних системах та створення біохімічних комплексів, здатних приймати рішення.

Для побудови таких схем дослідники використовували фрагменти ДНК, щоб зробити так звані логічні елементи-пристрої, які мали здійснювати включення-виключення вихідних сигналів у відповідь на включення-виключення вхідних сигналів. Логічні елементи — це структурні елементи цифрових логічних схем, які дають змогу комп'ютеру виконувати правильні дії в потрібний час. У звичайному комп'ютері логічні елементи створюються електронними транзисторами, поєднаними для формування схем на кремнієвому чипі. Проте біохімічні схеми складаються з молекул, що плавають у пробірці з солоною водою. Замість потоку електронів у транзисторах логічні елементи на основі ДНК отримують і проводять молекули у вигляді сигналів. Молекулярні сигнали «подорожують» з однієї конкретної схеми до іншої, з'єднуючи ланцюги у такий спосіб, начебто вони були дротами.

Уїнфрі з колегами вперше побудували таку біохімічну схему в 2006 році. Тоді молекули сигналу ДНК сполучали декілька логічних елементів ДНК один з одним, утворюючи так звані багатопарові ланцюги. Але така схема складалася лише з 12 різних молекул ДНК, і робота схеми сповільнилася на декілька порядків із розширенням одного логічного елемента до п'ятишарового. У своїй новій роботі Квайєн і Уїнфрі вдалося створити логічні схеми, які стали простішими й надійнішими. Їхні нові логічні елементи зроблені зі шматочків короткої, одноланцюгової або частково дволанцюгової ДНК, в якій окремі нитки стирчать як хвости з подвійної спіралі. Одноланцюгові молекули ДНК виступають як вхідні і вихідні сигнали, що взаємодіють з частково дволанцюговими молекулами.

Уїнфрі пояснює, що молекули просто плавають у розчині, час від часу натикаючись одна на одну. Іноді вхідне пасмо з правильною послідовністю ДНК змикається з однією ниткою і одночасно розмикається з іншою, відпускаючи її в розчині і дозволяючи вступати в реакцію з іще одним ланцюгом. Оскільки дослідники можуть кодувати всі послідовності ДНК, то для них важливо мати повний контроль над цим процесом, тобто мати в своєму розпорядженні програмовані взаємодії.

Учені створили декілька схем зі своїм підходом, але найбільший, такий, що містить 74 різних молекул ДНК, може добути квадратний корінь з будь-якого числа до 15 цифр (технічно це будь-які чотирирозрядні двійкові числа) і округляти відповідь на найближче ціле число. Потім для визначення відповіді дослідники контролюють концентрації вихідних молекул під час розрахунків. Розрахунок займає близько 10 годин, тому він не замінить ваш ноутбук найближчим часом. Але мета цих схем полягає не в конкуренції з електронікою, а в тому, щоб дати вченим можливість здійснювати логічний контроль біохімічних процесів.

За словами Квайєн, ці схеми мають низку нових особливостей. Оскільки реакції ніколи не є ідеальними, молекули не завжди зв'язані належним чином, наприклад, у системі можуть бути власні шуми. Це означає, що молекулярні сигнали ніколи не бувають повністю ввімкнені або вимкнені, як було б у разі ідеальних логічних двійкових сигналів. Але нові логічні сигнали здатні справитись із цим шумом за рахунок гальмування і посилення сигналів, наприклад, підсилюючи сигнал на 80% або гальмуючи його на 10%, унаслідок чого спрямовуються сигнали або близькі до 100%, або таких сигналів не існує.

Структура всіх логічних елементів ідентична, але з різними послідовностями. Так, вони можуть бути стандартизовані, тобто одні й ті самі типи компонентів можуть з'єднуватися разом, і таким чином можна отримати за бажанням будь-яку схему. Більш того, Квайєн стверджує, що для створення схеми зовсім не обов'язково знати молекулярний механізм схеми. Якщо потрібна схема, яка, скажімо, автоматично діагностує хворобу, то можна просто абстрактно уявити собі логічні функції конструкції для компілювальної програми, яку дослідник хотів би встановити в інтерактивному режимі і яка потім переведе цю конструкцію в компоненти ДНК, необхідні для побудови схеми. Потім виробник зможе створити ці частини і видати готову до роботи схему.

Схему компонентів також можна настроювати. Регулюючи концентрацію різних типів ДНК, можна змінювати функції логічних елементів. Схеми є універсальними, орієнтованими на звичайне підключення компонентів з можливістю заміни для перемонтування схеми. Простота логічних елементів також допускає ефективніші методи, за яких можливе їх паралельне з'єднання.

Аналогічно закону Мура для кремнієвої електроніки, згідно з яким з кожним роком комп'ютерна галузь розвивається в геометричній прогресії, комп'ютери стають дедалі меншого розміру й могутніші, молекулярні системи, розроблені за допомогою нанотехнології ДНК, подвоюються приблизно кожні три роки. Квайєн додає, що він мріє про те, щоб одного чудового дня синтетичні біохімічні схеми за своєю складністю стали б порівнянними із самим життям.

Ці дослідження описано в статті, опублікованій журналом *Science* під назвою «*Scaling up digital circuit computation with DNA strand displacement cascades*».

Джерело: http://media.caltech.edu/press_releases/13422

Уповільнення в реплікації ДНК призводить до uszkodження геному та формуванню пухлини

У нещодавній публікації дослідники пухлин описали механізм формування uszkodження в ДНК в певних «крихких» ділянках, що призводило до хромосомної нестабільності, характерної для клітин на ранніх стадіях розвитку онкопатології.

Учені з Єврейського університету в Єрусалимі (Ізраїль) застосували нову складну методологію, за допомогою якої стало можливим досліджувати одиничні молекули ДНК для вивчення основ формування обривів у конкретних крихких місцях.

8 липня 2011 року в журналі *Molecular Cell* з'явилося повідомлення про те, що навіть за нормальних умов росту розвиток реплікативної вилки у крихких хромосомних місцях, FRA16C, відбувався повільніше, а вилки часто гальмувалися на аденін-тимін (А-Т)-збагачених послідовностях, що призводило до активації додаткових сайтів, унаслідок чого реплікація завершувалася. За помірного гальмування реплікації частота розриву на А-Т-збагачених послідовностях ще більше зростала. На відміну від усього геному, в ділянці FRA16C додаткові uszkodження не активувалися, що дає підстави припустити, що всі потенційні ураження вже активовані за нормальних умов.

Причиною крихкості FRA16C була реплікаційна вилка на А-Т-збагачених послідовностях та нездатність клітини активізувати uszkodження під час реплікаційного стресу. Ці результати пояснюють механізм чутливості реплікаційного стресу крихких ділянок, що зумовлює нестабільність геному на ранніх стадіях розвитку пухлини.

Д-р Батшева Керем (Batsheva Kerem), професор генетики в Єврейському університеті в Єрусалимі, автор цього дослідження, зазначає, що відмітною рисою більшості пухлин людини є накопичення uszkodжень в ДНК, що призводить до розвитку пухлини. На ранніх стадіях розвитку онкологічного процесу клітини змушені розмножуватися. У кожному циклі ДНК реплікується, унаслідок чого дочірні клітини мають повну ДНК. Проте на цих ранніх стадіях умови для реплікації ДНК порушені, що спричинює розриви ДНК, які відбуваються саме в тих місцях, які визначаються як «крихкі» ділянки.

Джерело: http://www.biotechdaily.com/?option=com_article&Itemid=294736140&cat=Genomics%252FProteomics&ui=1960155794&vrf=5eedcf4e5bd09b6fe0ee21df4172f765&end=%2520

Поглиблений ЯМР-аналіз допомагає точно регулювати умови росту клітинної культури

Біотехнологи можуть оптимізувати умови росту клітинної культури, проводячи аналіз зразків живильних середовищ за допомогою ядерно-магнітного резонансу (ЯМР), унаслідок чого можна ідентифікувати синтезовані метаболіти, які споживаються і є корисними або токсичними продуктами.



Зразки середовища клітинної культури можна швидко аналізувати й отримати однозначний результат (фото Claire England, Kapler Communications)

Послугу з ЯМР-аналізу SPEDIA-NMR надає фірма Spinnovation (Нідерланди). Вона аналізує широкий спектр пенетрантів, метаболітів і токсичних сполук у живильному середовищі. Порівнюючи профілі середовища різних партій клітинних культур, SPEDIA-NMR виявляє, як клітина споживає і засвоює середовище. Результат зазвичай надається протягом п'яти робочих днів.

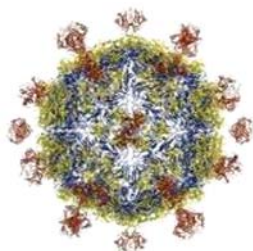
SPEDIA-NMR було розроблено для швидкого проведення аналізу з високою пропускну здатністю для серії середовищ клітинних культур і їх початкових партій досить економічно ефективним способом із використанням повністю автоматизованого аналізу проб і обробки даних. Технологія, яку успішно застосовують для типів клітин, досить різноманітна, оскільки стовбурові клітини доступні для всіх дослідників-біотехнологів безоплатно.

Д-р Фредерік Жіпар (Frederic Girard), генеральний директор Spinnovation, повідомив, що найближчим часом SPEDIA-NMR заповнить прогалину в знаннях, щоб підсилити і прискорити процес розробки і оброблення клітинної культури і забезпечити клієнтів відповідною інформацією в якомога коротший термін.

Джерело: http://www.biotechdaily.com/?option=com_article&Itemid=294736170&cat=Lab+Technologies&ui=1960155794&vrf=5eedcf4e5bd09b6fe0ee21df4172f765&end=%2520

Ювенільна вірусна діарея аналізується до атомного рівня

Учені університету Райса (Rice University, США) визначили до атомного рівня структуру вірусу, який спричинює пронос у неповнолітніх. Дослідження може допомогти спрямувати зусилля на розроблення ліків, які блокують вірус, перш ніж він стає заразним.



Як вважають, оболонка капсиду астровірусу, відповідальна за ювенільну діарею, містить і оберігає одностриччасті РНК доти, доки вони не будуть доставлені в клітини
(фото: Jinhui Dong/Rice University)

Нову роботу професора Їжі Джейн Тао (Yizhi Jane Tao), дослідника Джінхуа Донга (Jinhui Dong) з колегами було опубліковано в *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*.

У лабораторії Тао Райса (Tao Rice), що спеціалізується на вивченні вірусних структур, за допомогою рентгенівської кристалографії та комп'ютерного аналізу складних молекул визначили розташування кожного атома. Це допоможе дослідникам зрозуміти мікроскопічні особливості структури вірусу.

Тао зазначив, що серед чотирьох малих РНК-вірусів, якими зазвичай інфікуються люди і тварини, астровірус — єдиний, чия атомна структура ще невідома. Після візуалізації, що була проведена вперше за допомогою електронної мікроскопії в 1975 році, у подальших дослідженнях з'ясовано, що вірус відіграє важливу роль в інфікуванні підлітків, а іноді й дорослих, у спалаху діареї як другої за значущістю причини після ротавірусної інфекції.

Вірус осідає в нижньому відділі кишечника людей, але щоб потрапити туди, він має пройти через травний тракт і уникнути протеаз, хоча одна з них — трипсин — насправді активує астровірус. Коли астровірус досягає мети і вірусна РНК потрапляє всередину клітини, починається реплікація вірусу. Якщо імунна система хазяїна в змозі подолати вірус, хвороба триватиме два дні.

Астровірус має велику схожість з вірусом, який спричинює гепатит Е (HEV). Тао, професор біохімії і клітинної біології, почав досліджувати астровірус після завершення аналогічного дослідження HEV два роки тому. Він припустив, що є якийсь зв'язок між цими вірусами. Виходячи з цього припущення, учені почали створювати конструкції, за допомогою яких можна було б побачити вихід вірусного капсиду на поверхню.

Капсид — це тверда оболонка завширшки 33 нм, яка містить і захищає РНК. Він має 30 ще тонших шпильок, і кожна із цих шпильок може мати ділянку, зв'язану з рецептором.

Як тільки стала відома атомна структура шпильки, відшукання зв'язаної з рецептором ділянки стало просто детективною роботою, яка полягала в порівнянні послідовностей геномів з восьми варіантів астровірусу. Було висловлено припущення, що серед цих восьми серотипів міститься загальний рецептор. У пошуках його вчені виявили дрібні кишені в шпильці, яка стала голов-

ною «підозрюваною» для зв'язування з рецептором.

Дослідники також виявили, що астровірус може мати «пристрасть» до солодкого. Розмір кишень дає підстави припустити, що він, найімовірніше, зв'язується з молекулами ди- або трисахаридів. Цілком можливо, що вірус зв'язується молекулою цукру, і це допомагає йому зв'язуватися з поверхнею клітини-мішені.

Урешті-решт, дослідники також визначили, що астровірус схожий з іншим із чотирьох типів РНК-вірусів, а саме з кальцивірусом, хоча і більш дистанційно порівняно з HEV. Тому було висловлено припущення, що астровірус може бути гібридом HEV і кальцивірусу. Це — цікавий момент, але вченим ніяк не вдається визначити ці зв'язки. Дослідники мають намір почати розроблення вакцини або противірусного препарату, який блокуватиме астровірус.

Тао повідомив про плани спільних з іншими лабораторіями розробок для ідентифікації сполук, які можуть зв'язуватися із цією потенційною кишенею. Роботу можна почати з розрахунків, наприклад відстежити 50 000 сполук, щоб дізнатися, які з них можуть зв'язувати протеїн з високим ступенем спорідненості. А далі можна розпочинати процедуру оптимізації.

Джерело:

[http://www.sciencedaily.com/
releases/2011/07/
110718164041.htm](http://www.sciencedaily.com/releases/2011/07/110718164041.htm)

Хімічна еволюція бактерійного геному

Міжнародній групі дослідників вдалося досягти успіхів у створенні бактерії, у ДНК якої тимін замінено на синтетичний будівельний блок 5-хлорурацил (с) — речовину, токсичну для інших організмів. Результати цієї роботи було опубліковано під назвою «Хімічна еволюція геному бактерії» в останньому номері журналу *Angewandte Chemie — International Edition*.

Проект, координатором якого стали Руперт Матцел (Rupert Mutzel) з Інституту біології Берлінського університету і Філіп Марлюр (Philippe Marliure) з корпорації Neurisko Inc., США, об'єднав також французьких (Commissariat a l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives — Комісаріату з атомної та альтернативних джерел енергії)

і бельгійських дослідників з Katholieke Universiteit Leuven — Католицького університету (Левен, Бельгія). Експериментальна робота, що ґрунтується на унікальній технології, розробленій Марлюром і Матцелом, показує спрямовану еволюцію організмів у строго контрольованих умовах. Великі популяції мікробних клітин культивують упродовж тривалого часу в присутності токсичних хімічних речовин — у даному разі сублетальних рівнях 5-хлорурацилу, вибираючи таким чином генетичні варіанти, здатні переносити високі концентрації токсичних речовин.

У відповідь на появу таких варіантів у популяції клітин концентрація токсичних хімічних речовин в живильному середовищі збільшується, при цьому зберігається постійний тиск відбору. Цю автоматизовану процедуру довготривалої еволюції використовували для адаптації генетично створеної бактерії *Escherichia coli*, яка була не в змозі синтезувати природний тимін, для вирощування з іще вищою концентрацією 5-хлорурацилу. Після відтворення близько 1000 поколінь було отримано штаб, який використовував 5-хлорурацил як повноцінну заміну тиміну. Подальший аналіз геному виявив численні мутації в ДНК модифікованої бактерії. Внесок цих мутацій в адаптацію клітин стосовно галогенізованої основи буде предметом подальших досліджень.

Крім очевидного інтересу до цієї радикальної зміни в хімії живих систем для фундаментальних досліджень, учені вважають, що результат їхньої роботи також має важливе значення для «ксенобіології», яка є галуззю синтетичної біології. Ця молода область біологічної науки спрямована на створення нових організмів, що не трапляються в природі і мають метаболічні риси, оптимізовані для виробництва альтернативних способів отримання енергії або для синтезу дорогих хімічних речовин. Як і ГМО, ці організми розглядають як такі, що несуть потенційну загрозу природним екосистемам, виходячи за межі лабораторій або шляхом прямої конкуренції з організмами не мутантного типу, або за допомогою розповсюдження своєї «синтетичної» ДНК.

Очевидно, фізичні обмеження не можуть на 100% перешкодити сконструйованим живим формам досягти природного місця існування, аналогічно тому, як радіоактивні ізотопи розповсюджуються в межах атомної електростанції. Проте синтетичні організми, які залежать від наявності речовин для їх проліферації, неприродні будівельні блоки, що не трапляються в природі і включаються в їхній генетичний матеріал, не можуть обмінюватися

генетичною інформацією з організмами не мутантного типу, але вони гинуть за відсутності ксенобіотиків.

Джерело:

http://www.fu-berlin.de/en/presse/informationen/fup/2011/fup_11_208/index.html

Визначено ген, що вдвічі збільшує тривалість життя дріжджів

Клітини людини мають обмежений термін життя: вони можуть ділитися тільки певну кількість разів, перш ніж помруть. Тому діти 20-річного чоловіка мають таку саму тривалість життя, як і діти 80-річного.

Учені з Массачусетського технологічного інституту (США) знайшли ген, який відповідає за контроль перевстановлення клітинного віку в дріжджах. Більш того, включення цього гена в немолоді дріжджові клітини дає можливість подвоїти звичайну тривалість життя.

Анжеліка Амон (Angelika Amon) — співробітниця Інституту дослідження раку ім. Д. Коха, професор біології і автор роботи, опублікованої 24 червня в журналі *Science*, висловлює припущення про те, що, якщо тривалість життя клітин людини регулюється так само, то відкриваються можливості нового підходу до омолодження клітин людини або створення плюрипотентних стовбурових клітин. І якщо вчені зможуть визначити гени, що відповідають за омолодження, то з'явиться можливість вбудовувати їх у нормальні клітини.

Проте вік евкаріотів зі складливими ознаками, пов'язаними з віковими ушкодженнями, спадково не передається. Як відбувається переустановлення тривалості життя від одного покоління до другого, невідомо. У дріжджів, що брунькуються, переустановлення тривалості життя відбувається під час гаме-



Клітина дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae*) під рентгенівським мікроскопом. Добре помітні ядро і велика вакуоль (червоний колір) (фото NIH)

тогенезу. Гамети (спори), породжені старими клітинами, мають такий самий потенціал поділу, як у реплікативних гамет від молодих клітин. Пов'язані з віком ушкодження більше не виявляються в зрілих гаметах. Окрім того, перехідна індукція фактора транскрипції, що є важливою для пізніших стадій гаметогенезу, розширює діапазон реплікативного життя постарілих клітин. Формування гамет сприяє омолодженню, усунувши вікові індуковані ушкодження клітин.

Амон говорить, що в процесі розмноження дріжджових клітин вони проходять спеціальний тип клітинного поділу — мейоз, який зумовлює формування спор. Ознаки клітинного старіння зникають наприкінці мейозу. Саме там відбувається дійсне омолодження.

Дослідники виявили, що з активізацією гена NDT80 відбувається омолодження. У разі включення цього гена в старі клітини, які не були репродуковані, клітини жили удвічі довше, ніж нормальні. У старих клітинах з активованим NDT80 ушкодження в ядрях, пов'язані тільки з віковими змінами, зникли. Це свідчить про те, що в аномаліях ядерця криється один з ключів до клітинного старіння. Наступним завданням, як зазначив Деніел Готтшлінг (Daniel Gottschling), співробітник Онкологічного наукового центру в Сіетлі (США), буде з'ясування клітинних механізмів, що призводять до цих змін. На жаль, поки що незрозуміло, як працює механізм переустановлення тривалості життя.

Протеїн, вироблюваний геном NDT80, є фактором транскрипції, а це означає, що він активує інші гени. На цей час дослідники Массачусетського технологічного інституту (США) здійснюють пошук генів-мішеней для NDT80, які, ймовірно, відповідають безпосередньо за клітинне омолодження.

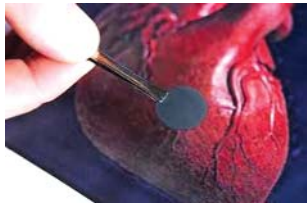
Амон та її колеги також планують вивчити ефекти NDT80 на складніших організмах — черв'яках *C. elegans* і мишах з геном p63. У людини також є ген p63, близький родич гена p53, який захищає від раку, що його виявили у клітинах, які утворюють сперму і яйця. Але як подіє на клітини його примусове включення, говорити зарано.

Джерело:

<http://nextbigfuture.com/2011/06/gene-found-that-can-double-yeast.html>

Дослідники створили нанопластир для регенерації тканин серця

Під час серцевого нападу частина серцевої тканини відмирає, і нервові клітини, що утримують серце, також відмирають. Хірурги не можуть відновити уражені ділянки і «списати» їх як «мертві».



Якщо нову технологію буде впроваджено у клінічну практику, хірурги зможуть просто розмістити на серці невелику латочку, яка допоможе йому відновитися (фото Frank Mullin/Brown University)

Група дослідників з Університету Брауна (США) і Технологічного інституту Канпур (ТІК — Індія), можливо, зможуть дати відповідь на це питання, використовуючи тканину інженерію і нанотехнології.

У лабораторії вони створили скафолд, що складається з вуглецевих нановолокон діаметром від 60 до 200 нм. Вуглецеві нановолокна добре працюють, оскільки вони є відмінними провідниками електронів, виконуючи своєрідні електричні з'єднання, при цьому продовжується рівномірне биття серця.

Потім вони зшили нановолокна разом за допомогою полімера з утворенням сітки завдовжки приблизно 22 мм і завширшки 15 мкм, названі чорною латочкою (Band Aid). У випробуваннях із застосуванням латочок Band Aid з присадками кардіоміоцитів після чотирьох годин колонізація поверхні нановолокон клітинами тканини серця була в п'ять разів більша порівняно з контрольним зразком, що складається тільки з полімера. Через п'ять днів щільність поверхні в шість разів перевищувала контрольний зразок, при цьому щільність нейронів через чотири дні подвоїлася.

Професор Томас Уебстер (Thomas Webster) пояснив, що скафолд працює, адже він еластичний і довготривалий, таким чином може розтягуватись і стискатися подібно до тканини серця. Саме через ці якості й наявність вуглецевих нановолокон кардіоміоцити і нейрони збираються на скафолді і створюють нові клітини, відновлюючи ділянки серця, що змертвіли.

Учені хочуть трохи змінити зразок скафолда, аби краще імітувати електричний

струм у серці, а також побудувати модель *in vitro* для перевірки, як такий матеріал відповідатиме на напругу, викликану роботою серцевого м'яза, та режим скорочень. Вони також хочуть переконатися, що кардіоміоцити, вирощені на скафолдах, наділені тими самими можливостями, як й інші клітини тканин серця.

Повний текст статті: Stout D et al. (2011) *Poly(lactic-co-glycolic acid): Carbon nanofiber composites for myocardial tissue engineering applications.*

Джерело:

<http://www.asianscientist.com/in-the-lab/researchers-create-nanopatch-regenerate-heart-tissue>

Пристрій синтетичної онтогенетичної транскрипції підсилює гомеостаз глюкози в крові у мишей

У генетиків з'явилася можливість контролювати рівень цукру в крові мишей. Але цікавим є не це, а те, що регуляція здійснювалася за допомогою звичайного світла. Фантастичний, здавалося б, сюжет став реальністю завдяки протеїну з людської сітківки.

Мартін Фассенеггер (Martin Fussenegger) і його колеги з Швейцарського федерального технологічного інституту вбудували гризунам ген, який реагує на роботу меланопсину, світлочутливого пігменту із сітківки людини. Цей протеїн під впливом світла відкриває для іонів кальцію канали у клітину. Ті у свою чергу запускають роботу другого компонента — ензиму, що впливає на протеїн, який можна «спрямовувати» на включення будь-якого бажаного гена-мішені.

Працездатність технології продемонстрували на хворих на діабет мишах. Спочатку вчені впровадили підправлені Т-лімфоцити людини під шкіру і підсвітили контейнер гризунів звичайним блакитним світлом. Потім пористу матрицю з генетично модифікованими клітинами ввели глибше в тіло і підвели до неї оптоволокну, що транслює світло.

В обох випадках вдалося взяти під контроль рівень цукру в крові. Крім того, дослідження показало, що, варіюючи інтенсивність і час дії світла, можна змінювати кількість і час вироблення потрібної речовини (в даному разі інсуліну).

Такий підхід зручний тим, що дозволяє провести лікування не тільки дозовано, але й локально (на відміну від більшості медикаментозних методів). Надалі швейцарці

сподіваються тими самими шляхами навчитися контролювати вироблення інших протеїнів (наприклад, гормону росту людини). Зараз гормон отримують у біореакторах, а потім вводять пацієнтам.

У майбутньому нова технологія, можливо, використовуватиметься для виробництва інших протеїнів для потреб фармацевтичної промисловості. Пристрої і методи вже відпрацьовано, але в них є певне обмеження: багато протеїнів токсичні для клітин-хазяїв, через це клітини погано ростуть або зовсім гинуть. Світло дозволить контролювати процес: можна буде спочатку виростити клітини, а потім запустити в них виробництво потрібного протеїну, а також за необхідності його вимкнути.

Оригінальна стаття: *Haifeng Ye, Marie Daoud-El Baba, Ren-Wang Peng, Martin Fussenegger «A Synthetic Optogenetic Transcription Device Enhances Blood-Glucose Homeostasis in Mice» надрукована в журналі Science.*

Джерело: http://bio.fizteh.ru/index/NewsBiotech/diabet_svet_03072011.html?&xsl:onlynew=0

У Великобританії створено 155 зародків зі змішаними генами людини і тварини

У Британському парламенті було заслухано дані про розвиток біотехнології у Великобританії. Лорд Олтон у відповідь на свій запит отримав таку інформацію:

З часу набуття чинності нового Закону про запліднення та ембріологію людини, що легалізував створення гібридів людини і тварин, було створено 155 ембріонів, що містять генетичний матеріал людини і різних тварин.

Нині чинний закон дозволяє запліднити яйцеклітину тварини людським сперматозоїдом, імплантувати ядро людської клітини в клітину тварини і вводити людські клітини в ембріони тварин. Досліди в цьому напрямі ведуться в трьох лабораторіях: у лондонському Королівському коледжі і в університетах Ньюкасла і Варвіка. Зараз усі три лабораторії припинили досліди в цьому напрямі через недостатнє фінансування, але збираються незабаром їх відновити.

Лорд Олтон у зв'язку з цим заявив: «Я виклав у парламенті принципові заперечення проти створення подібних гібридів. Жоден з тих учених, які виступали перед нами, не зміг навести жодних аргументів на користь цих дослідів для медицини. Тим часом закон «пробивали» під гаслом: «Дозвольте нам це робити, і ми навчимося ліку-

вати всі відомі хвороби». Ця практика ганьбить нашу країну, вона не має ні етичних, ні наукових, ні медичних виправдань».

Минулого тижня комісія, до якої увійшли провідні вчені, закликала встановити нові правила, які не дозволяли б додавати тваринам людських рис (наприклад, вводити людські стовбурові клітини в мозок людиноподібних мавп). Цей заклик містився в доповіді, яку представила проф. Робін Ловелбадж з Національного інституту медичних досліджень при Раді медичних досліджень.

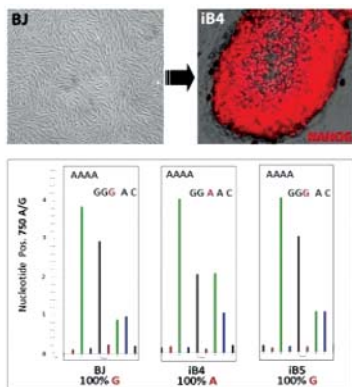
Джозефіна Квінтавей із Групи суспільного контролю за репродуктивною етикою заявила, що «буквально приголомшена» тим, що відбувається в цій галузі, а також тим, що суспільству про ці дослідження нічого не відомо. «Чому вони тримають усе це в таємниці? Якщо вони пишаються своїми працями, чому був потрібен парламентський запит, аби про ці праці стало відомо?» — обурено заявила вона, додавши, що «бажання дізнатися, що з цього вийде, — недостатньо вагома підстава» для подібних експериментів.

Джерело: <http://www.regions.ru/news/2366096/>

Геном мітохондрій індукованих плюрипотентних стовбурових клітин значною мірою схильний до мутацій

Індуковані плюрипотентні стовбурові клітини (ІПС-клітини) здатні виконувати велику кількість завдань. Вони можуть розвиватися практично у всі типи клітин організму і, отже, їх можна використовувати для боротьби з різними захворюваннями, наприклад із хворобою Альцгеймера і Паркінсона. Проте використання ІПС-клітин не таке вже й безпечне. Річ у тому, що в разі перепрограмування клітин організму в індуковані плюрипотентні стовбурові клітини можливі мутації генетичного матеріалу, які, змінивши роботу клітин, можуть призвести до розвитку деяких небезпечних захворювань. Геном мітохондрій особливо вразливий для подібних мутацій. Це було виявлено молекулярними генетиками з інституту Макса Планка (Німеччина).

Учені встановили, що мітохондріальний геном індукованих плюрипотентних стовбурових клітин мутує. Оскільки мутації в геномі мітохондрій ІПС-клітин можуть ініціювати розвиток небезпечних захворювань, то перед використанням в лікувальній практиці потрібно визначити, які зміни відбуваються в геномі мітохондрій.



Мутації в геномі мітохондрій індукованих плюрипотентних стовбурових клітин

Теоретики покладають великі надії на ПС-клітини, оскільки вони можуть бути штучно створені відповідно до індивідуальних потреб окремо взятого організму. Використання цих клітин у клініці здатне ініціювати розвиток методів індивідуального лікування. Крім того, фахівці розглядають ПС-клітини як засіб, здатний підвищити ефективність скринінгу лікарських препаратів. Самі ПС-клітини можна отримати з клітин дорослого організму за допомогою методики під назвою «клітинне перепрограмування».

Проте використання цієї методики може спричинити зміни геному перепрограмованих клітин. До таких змін більшою мірою схильний геном мітохондрій. Ще незрозуміло, чи є ці зміни результатом перепрограмування клітин.

Дослідники з інституту Макса Планка здійснюють дослідження з визначення мутацій геному мітохондрій індукованих плюрипотентних стовбурових клітин. Учені встановили, що в ході перепрограмування відбувається оновлення мітохондрій. Так само фахівці визначили, що мутації присутні в геномі мітохондрій усіх перепрограмованих клітин. Кількість мутацій істотно розрізняється у вивчених ПС-клітинах.

Слід зазначити, що значних змін геному мітохондрій не було виявлено. Найімовірніше, мутації мали точковий характер.

Джерело:

<http://sci-lib.com/article1218.html>

Із живої клітини виростили міжхребцевий диск

Ученим вдалося створити штучний міжхребцевий диск із живих клітин міжхребетних тканин і сполучного протеїну колагену.

Потім цей протез успішно імплантували щурям, які в результаті не втрачали рухливості до кінця свого життя.

Група біологів під керівництвом Лоуренса Боннасара з Корнельського університету (США) вважають, що їхній штучний міжхребцевий диск може бути адаптований для імплантації в людський хребет, і це дасть змогу полегшити долю безлічі людей, хворих на радикуліт і остеохондроз.

Остеохондроз — найпоширеніша форма захворювання хребта — виникає при порушенні роботи клітин в міжхребцевих дисках через вікові зміни або запальні процеси. Хрящі деформуються і починають стискувати нервові закінчення, що виходять зі спинного мозку. Це призводить до того, що хворий відчуває хронічні болі в хребті, і деякі рухи, зокрема часте згинання і розгинання спини, можуть завдавати йому додаткових страждань.

На сьогодні основними способами лікування найгостріших форм остеохондрозу вважається видалення ушкоджених міжхребцевих дисків і заміна їх кістковими або металевими імплантатами. Такі операції призводять до часткової втрати рухливості хребта, що може спричинити додаткові незручності людям, які ведуть активний спосіб життя, а для спортсменів може означати кінець кар'єри. Окрім того, подібні протези швидко зношуються.



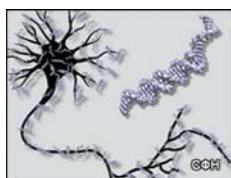
Боннасар і його колеги «зібрали» штучний міжхребцевий диск із компонентів, які організм може відновлювати сам, — здорові хрящові клітини і сполучний протеїн-колаген. Біологи перевірили ефективність свого біопротеза, імплантуючи його на місце здорового міжхребцевого диска у декількох щурів. Форму хрящів було розраховано за допомогою магнітно-резонансної і мікрокомп'ютерної томографії. Крім того, учені використовували особливу популяцію щурів з «відключеним» імунітетом для підвищення успішності операції. Як показав експеримент, тварини не втратили своєї рухливості через шість місяців після операції. Штучний хрящ зберіг свою первинну висоту і не втратив форми, а волокна колагену добре зв'язалися з хребцями, що їх оточували. Як вважають учені, це є ознакою того, що імплантований міжхребцевий диск став частиною хребта.

Автори статті, опублікованої в журналі *Proceedings of the National Academy of Sciences*, вважають, що їхній експеримент

показав можливість повноцінної заміни міжхребцевого диска, але при цьому для практичного застосування таких протезів у медицині потрібно ще вирішити низку проблем.

Джерело: http://www.mignews.com/news/health/world/020811_40853_40297.html

Штучний мозок у пробірці впізнає своїх «батьків»



Дослідники з Каліфорнійського технологічного інституту (США) створили перший прототип «штучного інтелекту» в пробірці. Їхнім дітищем є комплекс молекул ДНК, здатної відтворити «розучену» інформацію.

Створена ученими штучна нейронна мережа, що складається з чотирьох структур, до складу яких входять 112 різних ланцюжків ДНК, успішно грає зі своїми творцями в гру, сенс якої полягає в ідентифікації загаданої людини.

Дослідники «розучили» з нейронною мережею унікальні набори відповідей на питання типу «так-ні» (наприклад, чи є дослідник британцем), що описують чотирьох із них. Після цього гравець (людина) загадував подумки ім'я одного з дослідників і надавав нейронній мережі неповний набір відповідей, що описують загадану особу, шляхом внесення до пробірки відповідних ланцюжків ДНК. За допомогою флуоресцентних сигналів нейронна мережа ідентифікувала загадану людину, або, за умови недостатньої кількості інформації чи суперечності відповідей, висвітлювала відповідний сигнал. Дослідники зіграли в цю гру, використовуючи 27 різних варіантів відповідей на питання (кількість можливих комбінацій становила 81), при цьому нейронна мережа незмінно відповідала правильно.

Принцип дії біохімічної нейронної мережі заснований на взаємодії одно- і частково дволанцюгових молекул ДНК. Останні є дволанцюговими спіралями, частина одного з ланцюжків (довшого), стирчить на зразок «хвоста». Зустрівшись із такою структурою, одноланцюгова ДНК, що потрапила в розчин, зв'язується з її одноланцюговим фрагментом (за умови їх комплементарності), вивільняючи в розчин другий ланцюжок подвійної спіралі, яка може вступати у

взаємодію з іншими молекулами. При цьому вміщена в розчин одноланцюгова ДНК виконує роль «входу», а ланцюжок, що вивільняється, — роль «виходу».

Змінюючи рівні концентрації кожного з ланцюжків ДНК, дослідники можуть «навчити» цю нейронну структуру засвоїти необхідну інформацію.

Розробники відзначають, на сьогодні система дуже далека від досконалості. Для отримання відповіді на поставлене питання їй потрібно близько 8 годин, після чого вона втрачає свою функціональність. Більш того, створення більшої мережі, здатної вирішувати складніші завдання, на даному етапі роботи вельми проблематично. Проте вони вважають, що з часом біохімічні системи, яким притаманний штучний інтелект або, принаймні, здатність до прийняття елементарних рішень, набудуть широкого застосування в медичних, хімічних і біологічних дослідженнях. Наприклад, їх можна впроваджувати всередину живих клітин для отримання відповідей на фундаментальні біологічні питання або для діагностики захворювань.

Джерело:

http://rnd.cnews.ru/natur_science/news/top/index_science.shtml?2011/07/27/448801

Дорослі стовбурові клітини несуть свій власний багаж змін: їхню долю визначає епігенетика

Зрілі стовбурові та прогеніторні клітини не можуть змінюватися за суто генетичними механізмами. Як ідеться в повідомленні, надрукованому в *FASEB Journal*, ці клітини мають свій власний унікальний «епігенетичний базис», яке зазнає змін як тільки клітина диференціюється. Це важливо, оскільки епігенетичні зміни впливають не на фактичний склад ДНК клітин, а лише на її функції. Як виявилось, епігенетичні зміни справляють вплив на широкий спектр захворювань, включаючи ожиріння. Було показано, що вони мають спадковий характер і передаються за материнською лінією.

Джордж Л. Сен (George L. Sen), співробітник кафедри клітинної і молекулярної медицини Каліфорнійського університету в Сан-Дієго (США), висловив надію, що вченим урешті-решт вдасться розшифрувати механізми самооновлення/диференціювання стовбурових клітин. А це у свою чергу дасть змогу використовувати отриману інформацію для лікування захворювань, пов'язаних з дегенеративним руйнуванням тканин.

Сен з колегами дійшли такого висновку під час мапування ДНК і зразків метилування гістонів у стовбурових/прогеніторних клітинах, порівнюючи їх з диференційованими клітинами. Вони виявили, що метилування гістонів «залишало знаки» у ділянках промотора генів диференціації у стовбурових клітинах, які пригнічували експресію генів. Було також показано, що з видаленням протеїнів, які відповідають за метилування ДНК, стовбурові клітини починали спонтанно диференціюватися. Під час регенерації шкіри людини втрата цих знаків (епігенетичних факторів) призводила до загибелі стовбурових/прогеніторних клітин у базальному шарі шкіри. З часом процеси регенерації шкіри вже не спостерігалися і відбувалося передчасне диференціювання клітин.

За матеріалами: *Federation of American Societies for Experimental Biology*.

Джерело: <http://www.sciencedaily.com/releases/2011/06/110630112851.htm>

Боротьба з неперевіреними методами лікування стовбуровими клітинами

Проблема правового регулювання в галузі застосування стовбурових клітин існує в усьому світі. Коли в американських і європейських клініках, що працюють зі стовбуровими клітинами, вимагають документацію з надаваних ними послуг, замість цього багато хто з них пред'являє листи від адвокатів. Під тиском юридичних погроз з боку клінік Міжнародне товариство досліджень стовбурових клітин (International Society for Stem Cell Research — ISSCR) припинило роботу служби, призначеної для допомоги пацієнтам, що стали жертвами реклами нових методів клітинної терапії. Зараз фахівці ISSCR обмірковують свій наступний крок у боротьбі з незареєстрованими методами лікування за допомогою стовбурових клітин.

Клініки, що пропонують послуги регенеративної медицини, поширені в усьому світі, і їхня діяльність з погляду дослідників часто є руйнівною для вивчення стовбурових клітин, а також для дослідників, що займаються біологією і шукають перспективи їх медичного застосування. Багато методів лікування, пропонованих клініками, наприклад, ін'єкції власних стовбурових клітин пацієнта для лікування від різних захворювань, починаючи від хвороби Паркінсона і закінчуючи ушкодженнями спин-

ного мозку, в кращому разі є марною витратою грошей, а в гіршому — небезпечні для здоров'я.

Тімоті Колфілд (Timothy Caulfield), який вивчає законодавство і політику в галузі охорони здоров'я в Університеті Альберти в Канаді (University of Alberta), вважає, що існує реальна загроза для легітимності цієї галузі.

У червні минулого року ISSCR, головний офіс якого розташований у місті Дірфілд (штат Іллінойс, США), відкрило сайт під назвою Submit a Clinic з метою навчання пацієнтів. На сайті було поставлено питання, чи бачив хто-небудь рекламу клініки, яка пропонує послуги із застосуванням стовбурових клітин, або іншого постачальника методів лікування стовбуровими клітинами, і користувачам пропонувалося ввести назви клінік, що цікавлять їх, а також медичних центрів. ISSCR надавало користувачам інформацію про те, чи мають ті або інші постачальники послуг медико-етичні комітети і чи контролювали їх регулювальні органи, наприклад Управління з контролю якості продуктів і ліків США (US Food and Drug Administration — FDA) або Європейське агентство з лікарських засобів (European Medicines Agency). Відповіді мали бути розміщені на сайті Товариства, проте перші ж спроби запитів призвели до судових позовів за право Товариства опитувати клініки. Дослідник стовбурових клітин з Університету Рокфеллера в Нью-Йорку (Rockefeller University) і колишній президент ISSCR Елайн Фукс (Elaine Fuchs) стверджують, що Товариство звернулося за юридичною консультацією, під час якої членів ISSCR запевнили, що їхні дії є законними. Незважаючи на це, за словами Фукса, всі розуміли, що судові позови швидко виснажать обмежені засоби Товариства.

У лютому 2011 р. ISSCR відклало реалізацію проекту. На щорічній зустрічі ISSCR у Торонто (Канада) дослідник стовбурових клітин зі Стенфордського Університету в Каліфорнії (Stanford University) Ірвінг Вайсман (Irving Weissman) звернувся до аудиторії за порадою, що ж робити. Невже потрібно ризикнути і вплутатися в судову тяганину? Аудиторія не змогла дійти консенсусу, і рішення за програмою досі так і не прийнято.

Деякі дослідники побоюються, що пацієнти почнуть звертатися за роз'ясненнями до Міжнародного товариства клітинної медицини (International Cellular Medicine Society — ICMS) у місті Салем, штат Орегон (США). Ця організація об'єднує пацієнтів

і лікарів, деякі з яких мають тісні зв'язки з індустрією регенеративної медицини. Одним із засновників ICMS, яке пропонує акредитації для клінік, що працюють зі стовбуровими клітинами, був медичний директор клініки регенеративної медицини (Regenerative Sciences), розташованої в місті Брумфілді, штат Колорадо (США). У серпні минулого року FDA вимагало федеральної судової заборони цієї клініки за нездатність додержувати належних стандартів виробництва (*Nature* 466, 909; 2010).

У багатьох країнах клініки працюють без належного контролю. Нещодавно в Німеччині було закрито сумнозвісну клініку, яка застосовувала стовбурові клітини, що призвело до загибелі немовляти і доведення 10-річного хлопчика до стану, близького до смерті. Проте у всьому світі відкриваються інші центри, що пропонують проводити неперевіреними методами лікування різних захворювань. У США клініки, як правило, уникають регулювання, а FDA втручається тільки в тому разі, якщо порушено певні критерії, наприклад, якщо Агентство виявляє, що зі стовбуровими клітинами після їх отримання було здійснено значні маніпуляції, або якщо їх було трансплантовано ще кому-небудь, окрім донора.

Елайн Фукс підкреслює, що ISSCR все ще має змогу роз'яснювати пацієнтам і високопосадовцям ризики застосування неперевірених методів лікування. Веб-сайт ISSCR перераховує питання, які пацієнти мають задати при оцінюванні клініки. ISSCR обговорює шляхи інформування ЗМІ, які нерідко надають помилкові дані щодо різних клінік (A. Zarzeczny et al. *Nature Biotechnol.* 28, 1243–1246; 2010).

У медичному журналі *Canadian Family Physician*, який розсилається кожному лікареві загальної практики в Канаді, вміщено повідомлення, що вже складено план з орієнтування лікарів первинної медичної допомоги. ISSCR сподівається опублікувати статтю про клініки, що працюють зі стовбуровими клітинами.

У той же час дослідники стовбурових клітин стикаються з постійним потоком електронних листів із запитом їхніх авторів щодо відповідних клінік. Колфілд відповідає на ці запити обережно, пам'ятаючи про загрозу судового розгляду. Він зізнається, що трохи побоюється, коли пише на цю тему статті, а тому й не згадує в них назв клінік.

За матеріалами *Nature News*.

Джерело: <http://www.cbio.ru/modules/news/article.php?storyid=3818>

Хронометрія швидкості передачі сигналів у мозку: нові дослідження з'ясовують складний механізм нервових імпульсів

Два дослідження за участю учених з Медичного коледжу Вейла Корнелла (Weill Cornell Medical College, США) виявили дивовижні подробиці процесу передачі нервових імпульсів між нейронами в головному мозку, які є настільки слабкими, що помилки часто призводять до неврологічної дисфункції. Результати їх опубліковано в журналі *Nature Neuroscience*.

Дослідження, проведені під керівництвом професора Тімоті Райан (Timothy Ryan), показали, що окремі нейрони якимсь чином контролюють швидкість руйнування і відновлення синаптичних бульбашок, які накопичують нейротрансмітери перед їх вивільненням. Ніхто не очікував, що у нейронів є така могутня «педаля акселератора».

Д-р Райан також брав участь в іншому експерименті, здійсненому вченими Єльського університету (*Yale University*, США), результати якого опубліковано 22 червня цього року в Інтернет-виданні *Neuron*. Вони свідчать, що загальноприйняті уявлення про процес формування синаптичних бульбашок вельми далекі від істини.



Дослідники виявили дивовижні подробиці складного процесу передачі нервових імпульсів між нейронами головного мозку (зображення: nobeastsofierce/Fotolia)

На думку д-ра Райана, два проведені дослідження допоможуть уточнити уявлення про біомеханіку, що контролює нейротрансмісію у синаптичній щілині між нейронами головного мозку. Він зазначив, що дослідження в цій галузі проводилися вперше. «Багато неврологічних захворювань, таких як хвороби Альцгеймера, Паркінсона, шизофренія та інші нейродегенеративні і психіатричні розлади вважають пов'язаними з патологією функціонування синапсів. Лікування цих захворювань вимагає чіткого розуміння їхнього перебігу».

Обидва експерименти присвячено формуванню і функціонуванню синаптичних бульбашок.

За словами Райана, ученим відомо, що для передачі нейромедіатором повідомлення між клітинами синаптичні бульбашки зливаються з поверхнею клітини мозку в синапсах. Потім ці синаптичні бульбашки, які присутні в клітині в обмеженій кількості, мають відновитись і поповнитись нейротрансмітерами. «Невиконання цієї умови може призвести до того, що в синапсі бульбашки закінчуються досить швидко, а правильне функціонування нейромедіаторів залежить від їх постійної доступності».

Вимірювання швидкості функціонування нейронів

Дослідження, описане в *Nature Neuroscience*, проводили для того, аби можна було зрозуміти, що ж контролює швидкість відновлення бульбашки. Саме цю швидкість, яка зумовлює наявність бульбашок, вже давно вважають одним з обмежень, що визначають швидкість взаємодії нейронів, особливо в ситуаціях, вирішення яких вимагає найбільшої напруги. Для вивчення процесу відновлення автори дослідження д-р Райан (Dr. Ryan) і Моріц Армбрустер (Moritz Armbruster) з Рокфеллерівського університету (Rockefeller University, США), які працюють у лабораторії, застосували метод, що дає змогу проводити оптичну реєстрацію швидкості відновлення синаптичних бульбашок одночасно у 84 нейронах. При цьому вони виявили дещо несподіване: окремий нейрон відновлював усі синаптичні бульбашки майже з однією й тією самою швидкістю. Д-р Райан зазначив, що це виглядало так, начебто нейрон виконував наказ, який віддавала центральна педаль акселератора гігантської клітини. І попри те, що кожна клітина відновлювала бульбашки зі своєю швидкістю, ця швидкість відрізнялась у чотири рази між різними нейронами, навіть якщо нейрони виконували однакові функції, такі як секреція тих самих нейромедіаторів.

Порівнюючи різні нейрони, дослідники встановили, що кожна клітина наказує своїм синапсам функціонувати зі своєю власною швидкістю. Таємниця полягає в природі цієї педаль акселератора і в тому, чи може вона мати певне значення для терапевтичних підходів до вирішення проблеми синаптопатії.

Теорія синаптичного відновлення

Метою другого дослідження було вивчення протеїнів, що беруть участь в одній фазі процесу відновлення синаптичних бульбашок, а саме — відділення їх від мембрани нервових клітин. Його проводили під керівництвом

д-ра П'єтро де Камілі (Pietro de Camilli), професора клітинної біології з Єльського університету, і його колеги, д-ра Шона Фергюсона (Shawn Ferguson). На підставі досліджень, здійснених у 1980-х роках, учені вважали, що протеїн під назвою динамін, який присутній у клітині в трьох формах (1, 2 і 3), має вирішальне значення для етапу «мембранного відділення» під час утворення бульбашок. У 2007 році учені перевірили, чи дійсно динамін 1, який становив 90% усього динаміну в мозку, є, як вважали, ключовим протеїном, необхідним для синаптичного відділення мембранних везикул. Вони створили генетично модифіковану мишу, у якої не вистачало цього протеїну, проте виявили лише незначні відмінності в процесі відділення. Результати цього дивовижного відкриття було опубліковано в журналі *Science*.

У новому дослідженні група вчених, серед яких були д-р Райан, Армбрустер та ін., намагалася з'ясувати, що відбувається за одночасної відсутності в клітині динамінів 1 і 3, на частку яких припадає 99% усієї кількості динаміну в головному мозку. Вони використовували одні й ті самі оптичні методи, описані в *Nature Neuroscience*, з метою вивчення швидкості синаптичних процесів витягання бульбашок.

У результаті цього дослідження встановлено, що процес відновлення бульбашок істотно порушується за відсутності динамінів 1 і 3, що підтверджує важливу пресинаптичну роль динаміну 3. Цікавим є те, що процес відновлення бульбашок триває й далі, і невідомо, чи зв'язано це з динаміном 2, адже вміст цього протеїну становить лише невеликий відсоток від вмісту динамінів у мозку. Можливо, є якийсь інший протеїн або ж відбуваються певні біомеханічні процеси, які виконують ці функції.

Як відомо, динамін є протеїном, який відіграє найважливішу роль у відновленні синаптичних бульбашок. Д-р де Камілі зазначив, що синаптична передача відбувається, хоча й в ослабленому варіанті, і за відсутності переважної більшості динаміну, а це свідчить про значну й несподівану пластичність нервових закінчень.

Оригінальна стаття: Moritz Armbruster, Timothy A Ryan. Synaptic vesicle retrieval time is a cell-wide rather than individual-synapse property. *Nature Neuroscience*, 2011; DOI: 10.1038/nn.2828

Джерело: <http://www.sciencedaily.com/releases/2011/06/110622145902.html>

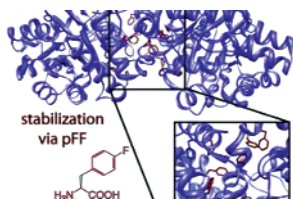
Вражені властивостями тефлону, дослідники створили суперстійкі протеїни

Понад 50 років тому випускникові Нью-Йоркського університету Джону Гілберту було запропоновано оцінити нещодавно розроблений матеріал під назвою тефлон. Його експерименти з використанням фторованих полімерів як поверхневого покриття для зберігання кухонного приладдя спричинили справжню революцію у виробництві антипригарного покриття. Сьогодні професор цього університету Джин Монклер (Jin Montclare) продовжує цю тему досліджень у новому напрямі, вивчаючи фторовані протеїни — унікальний клас протеїнів, що застосовуються в різних галузях — від медичних препаратів до промислових детергентів.

У статті, опублікованій в останньому номері *ChemBioChem*, Монклер і Пітер Бейкер (Peter Baker), який тільки-но здобув ступінь доктора в Університеті Нью-Йорка, описують свій успіх у створенні протеїнів, які є значно стабільнішими і менш схильні до денатурації порівняно з природними аналогами. Ці якості дозволяють їм зберігати як свою структуру, так і функції в умовах високих температур, за яких руйнуються інші протеїни.

Вражені здатністю фторовмісних полімерів, таких як тефлон, стабілізувати поверхні, Монклер і Бейкер спрямували свої зусилля на вивчення процесу зміцнення інтерфейсу протеїнів, що робить їх стійкішими до руйнування. Така стабільність дозволяє «новим» протеїнам зберігати свою третинну структуру і, отже, біологічні властивості за таких температур, коли вже відбувається необоротна термічна денатурація природних протеїнів і, відповідно, втрата ними біологічних властивостей.

Монклер пояснює, що одна з головних проблем роботи з протеїнами — незалежно від того, де вони містяться: в організмі або в лабораторії, — полягає в тому, що ці біополімери створені природою для виконання



Фторовані амінокислоти (p-фторфенілаланін) сприяють стабілізації тефлоноподібних протеїнів при термічній інактивації, що дозволяє їм функціонувати більш оптимально навіть за підвищених температур
(рис. — із *ChemBioChem*, 2011, DOI: 10.1002/cbic.201100221)

строго певних завдань у специфічних умовах, і в разі зміни цих умов вони можуть руйнуватися. Стійкий протеїн, активний і функціональний за різних умов, становить величезний інтерес для широкого кола вчених і промисловців.

За допомогою генної інженерії вченим вдалося створити штам бактерій, здатних до засвоєння амінокислот протеїну, які зазнавали хімічних змін з додаванням фтору. У природі не з'являються фторовані амінокислоти, але ці експерименти показують, що їх можна створити. В результаті було створено «фторований» протеїн, який може витримувати температуру до 140 градусів за Фаренгейтом, який не втрачав своєї активності або функції.

Потім Монклер і Бейкер проводили експерименти з метою закріплення своїх успіхів у створенні фторованих або тефлоноподібних протеїнів. Вони сподіваються, що такого ефекту можна досягти для широкого набору протеїнів, передусім для тих, які застосовують у медицині, зокрема для протираккових препаратів. Стійкі протеїни також коли-небудь використовуватимуть з профілактичною метою для боротьби з дією нейротоксичних агентів (зокрема бойових отруйних речовин), що становить інтерес для Міністерства оборони. Учені сподіваються підвищити довговічність протеїнів і знизити вимоги до умов їх зберігання, оскільки часто для уникнення псування їх зберігають у холодильниках.

Стаття: *ChemBioChem*, 2011, DOI: 10.1002/cbic.201100221

Джерело: <http://pda.physorg.com/news/2011-07-teflon-super-durable-proteins.html>

Одержано суперчисту популяцію стовбурових клітин крові

За півстолітню історію вивчення стовбурових клітин біологи вперше виділили «чистісіньку» популяцію гемопоетичних клітин. Усього одна така клітина може сформувати всі різновиди клітин крові. Дослідники впевнені, що незабаром вони зможуть «тримати стовбурові клітини в міцних руках», управляти регенеративним потенціалом клітин і «вмістити банк пуповинної крові в одну столову ложку».

Які клітини потрібні медикам

Усі клітини дорослого організму «народжуються» від одного прабатька — зиготи. Вона та її нащадки перших поколінь —

ембріональні тотипотентні стовбурові клітини — дають початок клітинам різних органів і тканин. Якби в учених були такі універсальні клітини, вони змогли б реалізувати найсміливіші наукові задумки. Та проблема в тому, що нечисленні й недиференційовані тотипотентні (ембріональні) стовбурові клітини присутні лише на ранніх стадіях ембріогенезу. В міру розвитку ембріона такі клітини поступово зникають. У дорослому організмі в різних кількостях зберігаються плюрипотентні, мультипотентні й уніпотентні стовбурові клітини. Перші можуть дати початок більшості клітинних ліній. Мультипотентні — більш спеціалізовані, тому вони підійдуть не для кожного органу або тканини. Уніпотентні клітини — це стовбурові клітини, які перебувають на завершальних стадіях диференціювання. Їхню долю вже визначено — вони розвиваються в клітини конкретних ліній.

Найбільше медиків і дослідників цікавлять плюрипотентні стовбурові клітини. Адже саме з них виходить найбільший «асортимент» кінцевої продукції клітин і тканин.

Генеалогічне дерево крові

Утім, медики зберігають невелику кількість майже універсальних клітин у банках пуповинної крові. Але ці «внески» — не «чисті». Це «коктейль» зі стовбурових і вже нестовбурових клітин, що перебувають на різних стадіях диференціації і дозрівання. Трансплантуючи таку кров, лікарі вливають пацієнтам і стовбурові клітини, і «баласт». Утім, баластні (диференційовані) кров'яні клітини не завдають шкоди. Навпаки, вони підтримують життя пацієнта в період, коли стовбурові клітини тільки-но перетворюються на кров.

«Ієрархія клітин-попередників, з яких формуються дорослі клітини крові, дуже складна, розгалужена — схожа на дерево. У нього є коріння — гемопоетичні, самооновлювальні стовбурові клітини, які невпинно поповнюють кров'яне русло своїми паростками і листочками — форменими елементами крові», — пояснив кореспондентові Джон Дік (John E. Dick) — керівник нової роботи, в результаті якої вчені «докопалися» до корін-

ня генеалогічного дерева крові.

У здорової людини на кров'яному дереві щодоби розпукується близько третини трильйона нових «листочків». І всі вони походять із кісткового мозку, в якому концентруються і самооновлюються гемопоетичні стовбурові клітини (ГСК).

Але такі клітини достатньо складно виділити з «коктейлю» пуповинної крові або кісткового мозку людини. «Це все одно, що спробувати знайти голку в стоці сіна — прокоментував Джон Дік, відповідаючи на питання кореспондента Infox.ru. — Щоб зловити одну гемопоетичну стовбурову клітину — корінь всього гемопоезу — нам довелося «відфільтрувати» близько 200 тис. клітин пуповинної крові».

Пошук універсальної клітини

Звичайно, Джон Дік з Університету Торонто, Канада (University of Toronto) і його колеги «фільтрували» клітини не через сито. Вони використовували достатньо поширений метод проточної цитометрії. «Ми очистили стовбурові клітини від «баласту». Столовою ложкою таких клітин можна замінити «внесок» у банці пуповинної крові, — пояснив Джон Дік. — Адже там зберігаються «мікси» клітин, велика частина яких вже почала спеціалізуватися».

Біологи не просто виділили клітини, а ще й описали деякі молекулярні особливості, притаманні стовбуровим клітинам. Вони, хоча й частково, але все-таки встановили молекулярно-генетичний маршрут спеціалізації. Вчені запропонували використовувати поверхневий антиген CD49⁺ як специфічний маркер для ідентифікації ГСК. Зараз учені планують продовжити дослідження і створити повний «молекулярний портрет» універсальності гемопоетичної стовбурової клітини.

Джерело:

<http://m-batin.livejournal.com/114559.html>

<http://www.sciencemag.org/content/333/6039/218.short>

**Матеріал підготувала
О. С. Виноградова**

