

РОМАНЮК

Світлана Іванівна —
кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник
Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України

КОМІСАРЕНКО

Сергій Васильович —
академік НАН України, академік-
секретар Відділення біохімії,
фізіології і молекулярної біології
НАН України, директор Інституту
біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України

УДК 577.22

ЯК КЛІТИНА ТРАНСПОРТУЄ СИНТЕЗОВАНІ РЕЧОВИНИ, АБО ЧИ СПРАВДІ НЕ МОЖНА ЗМІНИТИ МІСЦЕ І ЧАС ЗУСТРІЧІ «ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО ВАНТАЖУ»

Лауреатами Нобелівської премії в галузі фізіології і медицини 2013 року стали американці Дж. Ротман і Р. Шекман та німець Т. Зюдгоф з формулюванням Нобелівського комітету «за фундаментальні відкриття механізму регулювання везикулярного трафіку – основної транспортної системи клітин».

Ключові слова: везикулярний трафік, Нобелівська премія, Дж. Ротман, Р. Шекман, Т. Зюдгоф.

112-й нобелівський тиждень у Стокгольмі розпочався 7 жовтня 2013 р. з оголошення Нобелівським комітетом при Каролінському медичному інституті імен лауреатів Нобелівської премії з фізіології та медицини — найпрестижнішої нагороди в галузі біології. Напередодні цієї події компанія Thompson Reuters на основі аналізу власної бази даних Web of Science виокремила три групи дослідників — імовірних кандидатів на звання нобелівських лауреатів.

По-перше, на премію претендували Ховард Седар (Howard Cedar), Аарон Разін (Aharon Razin) та Адріан Берд (Adrian P. Bird) за роботу з вивчення ролі метилування ДНК в регуляції експресії генів, що відкриває нові можливості для подолання різних захворювань, зокрема злоякісного росту, хвороб Альцгеймера та Паркінсона.

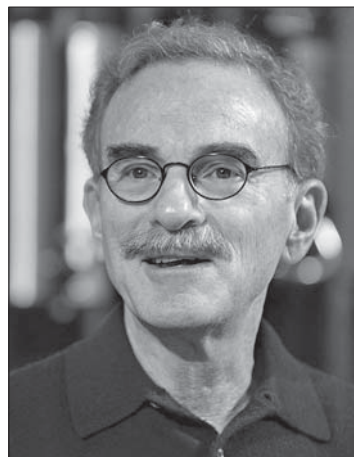
По-друге, кандидатами на премію називали Деніела Кліонські (Daniel Klionsky), Нобору Мізусіма (Noboru Mizushima) і Йосінорі Осумі (Yoshinori Ohsumi) за їх дослідження в галузі деградації клітин і аутофагії («самопоїдання» клітин).

По-третє, Нобелівську премію міг би отримати хтось із видатних учених-онкологів — Денніс Слемон (Dennis J. Slamon),

Роберт Вайнберг (Robert A. Weinberg), Девід Лейн (David C. Lane), Пітер Холл (Peter Hall), Берт Фогельштейн (Bert Vogelstein) або Наполеон Феррара (Napoleone Ferrara) за дослідження молекулярних механізмів виникнення раку, а також Джозеф Шлессінджер (Joseph Schlessinger) і Чарльз Соєрс (Charles L. Sawyers) за створення високоефективних і специфічних протиракових препаратів «Сунітиніб» та «Іматиніб» (Glivec). Крім того, на думку експертів, на премію заслуговали автори досліджень з вивчення гістонів — протеїнів, необхідних для правильного просторового укладання молекул ДНК; коротких молекул рибонуклеїнової кислоти (мікро-РНК), які відіграють важливу роль у регуляції роботи генів; механізмів контролю правильного укладання білкових молекул.

Однак, усупереч прогнозам, Нобелівський комітет вирішив удостоїти нагороди вчених, які досліджували механізми міжклітинних і внутрішньоклітинних взаємодій. Цьогорічними лауреатами Нобелівської премії з фізіології та медицини стали троє вчених (202—204 за переліком): двоє американців — Ренді Шекман (Randy W. Schekman) і Джеймс Ротман (James E. Rothman) та німець Томас Зюдгоф (Thomas C. Südhof). За традицією, секретар Нобелівської асамблеї при Каролінському інституті в Стокгольмі Гьоран Ханссон (Göran K. Hansson) п'ятьма мовами оголосив мотивацію цього рішення. Вчені були удостоєні цієї престижної нагороди «за фундаментальні відкриття механізму регулювання везикулярного трафіку — основної транспортної системи клітин» [1]. Розмір Нобелівської премії цього року становив 8 млн шведських крон (приблизно 1,1 млн доларів США). Церемонія нагородження лауреатів відбулася у Стокгольмі 10 грудня, в день смерті засновника премії, шведського підприємця й винахідника Альфреда Нобеля (1833—1896).

Журналісти, присутні на церемонії оголошення лауреатів, були щиро здивовані рішенням Нобелівського комітету, оскільки практичне значення цих відкриттів не здавалося достатньо вагомим широкому загалу. Пред-



Ренді Вейн Шекман
(Randy Wayne Schekman)

ставники Нобелівського комітету звернулися до журналістів, не приховуючи розчарування з цього приводу: «Ви нагадуєте шведських студентів-першокурсників. Дивно, що ще не запитали, чи буде ця тема на іспиті». Насправді Нобелівською премією відзначили цілий ряд фундаментальних відкриттів, які допомогли з'ясувати, як саме у клітині досягається неймовірна точність транспортування молекул у певне місце й у визначений час. Хто ж ці люди — цьогорічні лауреати Нобелівської премії — та які їх основні наукові досягнення?

65-річний професор біохімії Каліфорнійського університету в Берклі **Ренді Вейн Шекман** (Randy Wayne Schekman) народився 30 грудня 1948 р. у столиці штату Міннесота — місті Сент-Пол у родині інженера-електрика. Цікаво, що бабуся Р. Шекмана (з боку батька) емігрувала в США з Житомирської області України, а батьки матері — з Румунії. У 1960 р. Ренді закінчив Західну середню школу в Анахаймі, штат Каліфорнія. Ще в дитинстві він зацікавився біологією, після того, як його сестра Уенді померла від лейкозу. У 1971 р. Р. Шекман здобув ступінь бакалавра за спеціальністю «молекулярна біологія» у Каліфорнійському університеті в Лос-Анджелесі, продовжив навчання у Стенфордському університеті в Каліфорнії, де в 1974 р. захистив дисертацію за спеціальністю «біохімія». Після вельми нетрива-

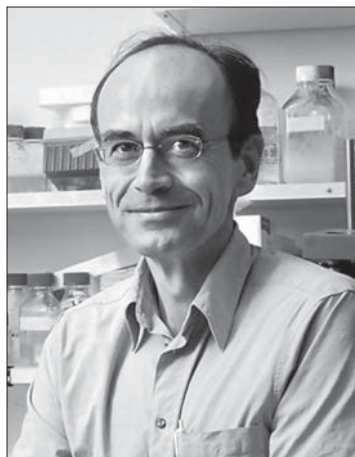


Джеймс Едвард Ротман
(James Edward Rothman)

лої роботи в Каліфорнійському університеті в Сан-Дієго Р. Шекман перейшов на посаду професора молекулярної та клітинної біології кафедри біохімії Каліфорнійського університету в Берклі, де і працює донині. З 1991 р. він є дослідником Медичного інституту Говарда Хьюза (Howard Hughes Medical Institute) — однієї з найбільших у світі організацій, що фінансують біомедичні дослідження, з 2006 р. — редактором американського наукового журналу *Proceedings of the National Academy of Sciences* (PNAS), а з 2011 р. — редактором наукового журналу відкритого доступу *eLife*.

Ренді Шекман одружений з Ненсі Уолс, має сина Джоела, викладача музики, кларнетиста, і дочку Лорен, фінансиста за фахом.

63-річний професор біомедицини, завідувач кафедри клітинної біології Медичної школи Єльського університету в Нью-Хейвені, штат Коннектикут **Джеймс Едвард Ротман** (James Edward Rothman) народився 3 листопада 1950 р. в Хейвенхіллі, штат Массачусетс, у родині відомого педіатра. Предки його батьків емігрували в США з Росії, Польщі, Австрії. У 1967 р. Дж. Ротман закінчив приватну школу в містечку Помфрет, штат Коннектикут; у 1971 р. — Єльський коледж, здобувши ступінь бакалавра з фізики. У 1971—1973 рр. він був студентом Гарвардської медичної школи в Кембриджі, штат Массачусетс, а в 1976 р. захистив дисертацію з біохімії в



Томас Крістіан Зюдгоф
(Thomas Christian Südhof)

Гарвардському університеті й отримав ступінь доктора. У 1976—1978 рр. Дж. Ротман працював у Массачусетському технологічному інституті в Кембриджі, в 1978—1988 рр. був професором кафедри біохімії у Стенфордському університеті в Каліфорнії, а в 1988—1991 рр. працював на кафедрі молекулярної біології Принстонського університету в Нью-Джерсі. Переїхавши до Нью-Йорка, Дж. Ротман у 1991 р. заснував кафедру клітинної біохімії та біофізики й обійняв посаду заступника директора Меморіального онкологічного центру ім. Слоуна-Кеттеринга, а з 2004 по 2008 р. — працював професором хімічної біології кафедри фізіології та клітинної біофізики Колумбійського університету, а також директором Центру дослідження геному ім. Сулцбергера.

З 1995 р. Дж. Ротман входив до складу науково-консультативної ради компанії Amersham, а в 2003 р. після злиття з компанією GE Healthcare став Головним радником з питань науки цієї компанії. Дж. Ротман є членом Національної академії наук США (з 1993 р.), Американської академії мистецтв і наук (з 1994 р.), Інституту медицини Національної академії наук (з 1995 р.).

Джеймс Ротман одружений з Джой Хірш, професором психіатрії та нейробиології Медичної школи Єльського університету, має сина Метью, фінансиста за фахом.

58-річний професор клітинної та молекулярної фізіології Стенфордського університету в Каліфорнії **Томас Крістіан Зюдгоф** (Thomas Christian Südhof) народився 22 грудня 1955 р. в місті Геттінген у центральній Німеччині в сім'ї лікарів. Після закінчення Вальфдорської школи в Ганновері вивчав медицину в Рейнсько-Вестфальському технічному університеті міста Аахена, Гарвардському університеті (Кембридж, штат Массачусетс) та на медичному факультеті Геттінгенського університету. В 1982 р. захистив дисертацію в Інституті біофізичної хімії Макса Планка в Геттінгені і, пропрацювавши там рік, переїхав на роботу до США у відділення молекулярної генетики Південно-західного медичного центру Техаського університету в Далласі. Там він працював у 1983–1986 рр. під керівництвом Майкла Брауна (Michael S. Brown) та Джозефа Голдштейна (Joseph L. Goldstein), які в 1985 р. отримали Нобелівську премію з фізіології та медицини за вивчення обміну холестерину. В 1986–1991 рр. Т. Зюдгоф працював у Медичному інституті Говарда Хьюза, а в 1991–2008 рр. був професором кафедри молекулярної генетики Південно-західного медичного центру Техаського університету. З 2008 р. він обіймає посаду професора молекулярної і клітинної фізіології, психіатрії та неврології Стенфордського університету в Каліфорнії.

Т. Зюдгоф одружений з Чень Лу, професором молекулярної та клітинної фізіології Стенфордського університету, має двох маленьких дітей, а також трьох дорослих від першого шлюбу — Моріца, Сорена і Леанну.

Наукові досягнення цих учених відзначено безліччю почесних премій, наприклад премією Альберта Ласкера (в 2002 р. були нагороджені Дж. Ротман і Р. Шекман, у 2013 р. — Т. Зюдгоф разом із Р. Шеллером), а також премією Кавлі, яку присуджує Норвезька академія наук в галузі неврології (в 2010 р. Дж. Ротман і Т. Зюдгоф розділили її з Р. Шеллером). Крім того, Р. Шекман у 2008 р. одержав премію Діксона з медицини Піттсбурзького університету в Пенсильванії, в 2010 р. — премію Мессрі Університету Південної Каліфорнії, а

Дж. Ротман у 1996 р. був удостоєний міжнародної премії Короля Фейсала в галузі науки, в 1997 р. став лауреатом премії Національної академії наук США, а в 2002 р. отримав приз ім. Луїзи Гросс-Хорвіц Колумбійського університету.

Над чим же працювали цьогорічні нобелівські лауреати впродовж 30 років, і що таке взагалі «везикулярний трафік»?

Добре відомо, що всі живі організми складаються з клітин. У ході еволюції на зміну одноклітинним організмам прийшли багатоклітинні, які виникли завдяки тому, що клітини навчилися взаємодіяти одна з одною, діставши можливість для вузької спеціалізації. Ця взаємодія полягала у передаванні від однієї клітини до іншої сигналів у вигляді певних біологічно активних речовин. У складних багатоклітинних організмах, таких як організм людини, щосекунди відбувається безліч процесів: еритроцити в легенях насичуються киснем, органи травлення виділяють ферменти для перетравлення їжі, ендокринні залози виробляють гормони, що регулюють обмін речовин, клітини імунної системи атакують збудників інфекційних захворювань тощо. І все це відбувається ніби автоматично, без нашої участі, завдяки тому, що клітини можуть «спілкуватися» між собою і вирішувати більшість завдань самостійно, не чекаючи наказу від мозку для синтезу потрібного протеїну.

Значною подією в еволюції живих організмів було виникнення еукаріотичних клітин, які відрізнялися від прокаріотичних наявністю в цитоплазмі органел, оточених мембранами, що виконують певні функції. Наприклад, ядро зберігає генетичну інформацію, мітохондрії забезпечують клітину енергією, в ендоплазматичному ретикулумі на рибосомах синтезуються протеїни, в апараті Гольджі вони сортуються, модифікуються, набувають активної форми й готуються до виділення з клітини тощо. Такий функціональний поділ еукаріотичних клітин надав їм низку переваг, однак з'явилася необхідність обміну сигналами не тільки між різними клітинами, а й між окремими органелами в межах однієї клітини.

Фактично жива клітина є мікроскопічним, але складним біохімічним заводом, що виробляє неймовірну кількість молекул, частина яких залишається в клітині й переміщується між різними органелами, а інша частина — виділяється назовні. Якби всі синтезовані речовини знаходилися всередині клітини у вільному стані, то її функціонування було б неможливим через хаотичні біохімічні реакції між ними. Для того щоб речовини проникали крізь мембрани органел і не взаємодіяли між собою, в клітині існує спеціальна транспортна система, що здійснює їх переміщення всередині невеликих мембранних бульбашок, так званих везикул (від лат. *vesicula* — бульбашка). Везикулярний транспорт, або трафік, є одним із основних процесів, який уможливує існування живих клітин. За допомогою системи везикулярного транспорту клітини спілкуються ніби за допомогою «пляшкової пошти», обмінюючись везикулами з біологічно активними речовинами, наприклад з малими інформаційними молекулами РНК, здатними впливати на активність генів і регулювати процеси в клітині.

Ученим довго не давало спокою питання, як за величезної кількості молекул, які щодня синтезуються в клітині, всі вони розподіляються певним чином і виконують свої функції. Мав існувати механізм, який регулював би везикулярний транспорт і визначав для кожного вантажу адресу, час і спосіб доставки, тобто механізм, який специфічно спрямовує молекули туди, де вони повинні працювати. Час і місце доставки змінити не можна, адже від цього залежать життєво важливі процеси в організмі.

То який же біохімічний механізм гарантує безпомилкове транспортування кожної синтезованої молекули? Саме за відповідь на це запитання й було присуджено в 2013 р. Нобелівську премію з фізіології та медицини.

Підґрунтям для відкриттів цьогорічних нобелівських лауреатів стали попередні роботи таких блискучих учених, як Камілло Гольджі (Camillo Golgi), який відкрив органелу, від мембрани якої відбруньковуються готові до виходу з клітини транспортні везикули і яку потім назвали «апаратом Гольджі» (Нобелівська

премія 1906 р.); Альберт Клод (Albert Claude), Джордж Паладе (George Palade) та Крістіан де Дюв (Christian de Duve), які за допомогою електронної мікроскопії дослідили структуру органел і встановили шлях транспортування секреторних протеїнів усередині везикул, що відбруньковуються від мембрани однієї органели і зливаються з мембраною іншої (Нобелівська премія 1974 р.), а також Гюнтер Блобел (Günter Blobel), який відкрив сигнальні амінокислотні послідовності, що контролюють транспортування протеїнів (Нобелівська премія 1999 р.). Однак після всіх цих відкриттів залишалося незрозумілим, як речовини не-протеїнової природи, наприклад гормони та нейротрансмітери, що не мають сигнальних амінокислотних послідовностей, вчасно потрапляють туди, де вони необхідні. Відповідь на це складне фундаментальне питання дали саме Ренді Шекман, Джеймс Ротман і Томас Зюдгоф.

Ренді Шекман вирішив дослідити, які гени відповідають за транспортування протеїнів у клітині. Об'єктом досліджень, досить незвичним на той час, стали пекарські дріжджі (*Saccharomyces cerevisiae*), оскільки з ними було легко працювати в лабораторії, а в ЕПР їхніх клітин відбувалося глікозилювання протеїнів, що давало змогу контролювати процес транспортування. Р. Шекман виділив штами дріжджів з дефектами транспортної системи і за допомогою генетичного аналізу виявив у цих штамів мутації в певних генах. Причому штучне відтворення цих мутацій у відповідних генах нормальних дріжджів призводило до виникнення порушень внутрішньоклітинного транспорту протеїнів. Відкриті Р. Шекманом гени, що регулювали транспорт протеїнів у дріжджів, було названо Sec1-23 (від англ. *secretory* — секреторний) [2]. Цікаво, що завдяки цим дослідженням Р. Шекмана дріжджі стали активно використовувати в біотехнологічному виробництві, і сьогодні з них одержують до 25% усього інсуліну і 100% вакцини від гепатиту В.

Джеймс Ротман обрав для дослідження клітинного транспорту іншу модель: він інфікував

клітини ссавців (а саме — гризунів) вірусом везикулярного стоматиту, специфічний протеїн якого VSV-G підлягав глікозилюванню в апараті Гольджі. Дж. Ротман створив особливу модель відтворення транспортної системи *in vitro* (у пробірці), яка дозволила розмежувати етапи внутрішньоклітинного транспортування та виділити в чистому вигляді протеїни, що беруть участь у процесі злиття везикул. За допомогою цього підходу Дж. Ротман виділив протеїн NSF (від англ. *N-ethylmaleimide-sensitive factor* — N-етилмалеїмід-чутливий фактор) [3]. Досліджуючи, які протеїни можуть зв'язуватися з виділеним протеїном NSF, учений виділив протеїн SNAP (від англ. *soluble NSF-attachment protein* — розчинний NSF-зв'язуючий протеїн) [4], а також протеїни SNARE (від англ. *soluble NSF-attachment protein receptors* — рецептори розчинного NSF-зв'язуючого протеїну). Протеїнами SNARE виявилися вже відомі на той час протеїни SNAP25 [5], синтаксин [6] і синаптобrevін [7]. Однак саме Дж. Ротман з'ясував їх функцію, продемонструвавши вирішальну роль цих протеїнів у злитті транспортних везикул з плазматичною мембраною. Він довів, що злиття везикули з мембраною відбувається лише за умови утворення потрійного комплексу між синаптобrevіном, що знаходиться в мембрані везикули, а також синтаксином і SNAP25, які знаходяться в плазматичній мембрані. Геніальною здогадкою Дж. Ротмана було припущення, що специфічність везикулярного транспорту забезпечується великою кількістю різновидів протеїнів SNARE, які взаємодіють між собою лише в певних комбінаціях [8]. За теорією Дж. Ротмана, протеїни SNARE везикули та плазматичної мембрани взаємодіють як дві половинки застібки-«блискавки», що забезпечує злиття везикули з мембраною в чітко визначеному місці шляхом послідовного перебігу трьох етапів: синаптичної фіксації, активації та власне злиття. [9]. Ця теорія наразі пояснила, що саме забезпечує в клітині доставку вантажу за певною адресою.

Однак залишалось незрозумілим, як, наприклад, регулюється вивільнення нейромедiatorів нейронами при передаванні сигналу через

синапс — місце з'єднання нейронів. Адже в цьому випадку злиття везикул має відбуватися з високою швидкістю. То завдяки якому ж механізму нейромедіатори вивільняються в певний момент часу?

На це запитання відповів Томас Зюдгоф, вивчаючи екзоцитоз синаптичних везикул у нейронах головного мозку нокаутних мишей, в організмі яких не синтезувався той чи інший протеїн, ген якого було штучно «вимкнено». Метою досліджень Т. Зюдгофа був пошук важливих для вивільнення нейромедіаторів протеїнів, які були б чутливими до іонів кальцію, оскільки вже було відомо, що сигналом для зв'язування везикули з мембраною є підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію. У результаті цих досліджень Т. Зюдгоф відкрив протеїн синаптоагмін, що специфічно зв'язує іони кальцію та запускає процес злиття везикули з плазматичною мембраною [10]. Також учений показав, що крім протеїнів SNARE до складу комплексу, необхідного для злиття везикули, входить ще один виявлений ним протеїн — Munc18-1 (названий згодом протеїном SM), який зв'язується з синтаксином [11]. Крім того, Т. Зюдгоф відкрив низку інших важливих для злиття протеїнів, зокрема комплексин [12], що утримує везикулу біля плазматичної мембрани, запобігаючи їх спонтанному злиттю [13], та протеїни RIM, які формують ГТФ-залежний комплекс між синаптичною мембраною та везикулою, що утримується біля мембрани [14].

Тривалий час вважали, що з наближенням везикули до закінчення нейрона протеїни SNARE, розташовані на їх мембранах, з'єднуються разом і утворюють пору, через яку нейромедіатор виходить у синаптичну щілину. Т. Зюдгоф показав, що протеїни SNARE не формують пору, а підтягують везикулу і мембрану аксона за рахунок наближення своїх трансмембранних ділянок, після чого везикула спонтанно зливається з мембраною [15]. Учений детально описав молекулярні механізми, які миттєво реагують на підвищення концентрації іонів кальцію появою біля пресинаптичної мембрани нейрона певних протеїнів.

їнів SNARE, що викликають злиття везикул з мембраною та вивільнення нейромедіатора як за командою [16].

Після того, як з'ясувалося, що протеїни ссавців, виділені Дж. Ротманом, є аналогами протеїнів дріжджів, гени яких досліджував Р. Шекман, стало зрозуміло, що везикулярний транспорт є універсальним і дуже давнім в еволюційному відношенні механізмом, спільним для генетично віддалених видів. Протягом кількох десятиліть Джеймс Ротман, Ренді Шекман і Томас Зюдгоф досліджували різні аспекти везикулярного транспорту за допомогою різних експериментальних моделей, але одержані ними результати склалися як мозаїка, утворивши загальну картину розуміння універсального механізму, що забезпечує транспортування речовин у клітинах усіх живих організмів. Напевне, цю картину можуть доповнити результати досліджень імовірних кандидатів на Нобелівську премію наступного року та лауреатів премії Ласкера 2012 р. Майкла Шітца (Michael Sheetz), Джеймса Спадіча (James Spudich) та Рональда Вейла (Ronald Vale), що стосуються руху везикул уздовж мікротрубочок цитоскелета за допомогою моторних протеїнів динеїну та кінезину.

Система везикулярного транспорту є дуже важливою для нормального функціонування багатьох систем органів, передусім для ендокринної, нервової та імунної систем, робота яких ґрунтується на секретії клітинами гормонів, нейромедіаторів і цитокінів. Тому дефекти везикулярного транспорту спостерігаються при діабеті, багатьох нервових і аутоімунних порушеннях, ревматизмі, а також гемофілії та деяких спадкових захворюваннях. Наприклад, важливу роль у виникненні цукрового діабету II типу відіграють порушення секретії інсуліну клітинами підшлункової залози, або порушення доставки інсулінозалежного транспортера глюкози на поверхню клітин периферичних тканин [17]. При багатьох нейродегенеративних захворюваннях спостерігається накопичення в нейронах агрегатів специфічних протеїнів, що згубно діють на клітини. При хворобі Паркінсона в допаміно-

вих нейронах накопичуються агрегати альфасинуклеїну завдяки порушенню внутрішньоклітинного транспорту протеїнів з ЕПР до апарату Гольджі [18], а також порушується везикулярний транспорт нейромедіатора допаміну [19]. Цікаво, що протеїни, які утворюють агрегати в разі таких захворювань, у нормі виконують у клітині важливі функції саме в системі везикулярного транспорту. Прикладом цього можуть бути попередник амілоїдного бета-протеїну та пресинілін, що спричиняють виникнення хвороби Альцгеймера [20], а також хантінгтин, мутантні варіанти якого викликають хворобу Хантінгтона [21]. Дефекти у транспортуванні цитокінів та інших ефекторних молекул імунної системи призводять до порушень реалізації імунної відповіді. Ці дефекти можуть бути пов'язані, наприклад, з мутаціями в генах протеїнів SNARE або ГТФ-аз Rab, що контролюють везикулярний транспорт. Так, мутація в гені RAB27A спричиняє синдром Грісцеллі другого типу, при якому розвивається важкий імунodefіцит через порушення внутрішньоклітинного транспорту цитотоксичних гранул у клітинах — натуральних кілерах і в цитотоксичних Т-лімфоцитах, а також зникає пігментація шкіри та волосся через порушення транспорту меланосом до меланоцитів [22].

На роботу транспортної системи можуть впливати збудники інфекційних захворювань, які використовують їх для проникнення в клітини та захисту від знешкодження імунною системою або викликають у такий спосіб серйозні порушення функцій організму. Наприклад, внутрішньоклітинні паразити (лістерії, хламідії, мікобактерії, легіонели) затримують дозрівання ендосом, у яких знаходяться, уникаючи перетравлення лізосомальними ферментами клітини, а після розмноження використовують транспортну систему для виходу з клітини, замаскувавши свою ендосому під секреторну везикулу [23]. Збудники правця (*Clostridium tetani*) та ботулізму (*Clostridium botulinum*) виділяють нейротоксини, які розщеплюють ключові протеїни системи везикулярного транспорту, блокуючи вивільнення нейромедіаторів

нейронами спинного мозку. Правцевий токсин розщеплює синаптобrevін, блокуючи вивільнення гліцину та гамма-аміномасляної кислоти гальмівними нейронами, що викликає спазм мускулатури. Різні типи ботулінічного токсину розщеплюють синаптобrevін, SNAP-25 або SNAP-25 і синтаксин, блокуючи вивільнення ацетилхоліну збуджувачими нейронами, що викликає розслаблення мускулатури та параліч. В обох випадках ці токсини призводять до смерті внаслідок зупинки дихання [24]. Слід зазначити, що Т. Зюдгоф зробив вагомий внесок у з'ясування молекулярного механізму дії нейротоксинів, наприклад, за його участі було показано, що ботулінічний токсин розщеплює протеїн SNAP-25 [25].

Відкриття Джеймса Ротмана, Ренді Шекмана і Томаса Зюдгофа в галузі везикулярного транспорту допомогли краще зрозуміти природу багатьох захворювань, відкривши тим самим нові можливості для вдосконалення їх діагностики та лікування. Знання молекулярного механізму роботи транспортної системи

клітин можуть бути використані для створення нових ліків проти низки захворювань, зокрема для розроблення нових протипухлинних препаратів. Значення досліджень цьогогорічних нобелівських лауреатів неможливо переоцінити: вони відкрили шлях до свідомого втручання в роботу дуже давнього механізму, універсального для всіх живих істот на Землі. З'явилася реальна перспектива контролювати обмін речовин у клітині, виправляючи його порушення при метаболічних та ендокринних захворюваннях, а особливо при захворюваннях нервової системи, таких як хвороба Альцгеймера, шизофренія, аутизм. Ймовірно, місце і час зустрічі вантажу все ж таки можна змінити за бажанням людини. Сподіваємося, що ці блискучі фундаментальні відкриття невдовзі втіляться в життя: людство отримає нові засоби в боротьбі з тяжкими захворюваннями і навіть, можливо, навчиться за потреби цілеспрямовано змінювати ефективність взаємодії своїх нейронів, що сприятиме новим науковим звершенням.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Прес-реліз Нобелівського комітету при Каролінському медичному інституті. — http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2013/press.html.
2. Novick P., Field C., Schekman R. Identification of 23 complementation groups required for post-translational events in the yeast secretory pathway // *Cell*. — 1980. — V. 21, N 1. — P. 205–215.
3. Block M.R., Glick B.S., Wilcox C.A. et al. Purification of an N-ethylmaleimide-sensitive protein catalyzing vesicular transport // *PNAS*. — 1988. — V. 85, N 21. — P. 7852–7856.
4. Weidman P.J., Melançon P., Block M.R., Rothman J.E. Binding of an N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein to Golgi membranes requires both a soluble protein(s) and an integral membrane receptor // *J. Cell. Biol.* — 1989. — V. 108, N 5. — P. 1589–1596.
5. Oylar G.A., Higgins G.A., Hart R.A. et al. The identification of a novel synaptosomal-associated protein, SNAP-25, differentially expressed by neuronal subpopulations // *J. Cell. Biol.* — 1989. — V. 109, N 6 (Pt. 1). — P. 3039–3052.
6. Inoue A., Obata K., Akagawa K. Cloning and sequence analysis of cDNA for a neuronal cell membrane antigen, HPC-1 (syntaxin 1) // *J. Biol. Chem.* — 1992. — V. 267, N. 15. — P. 10613–10619.
7. Trimble W.S., Cowan D.M., Scheller R.H. VAMP-1: a synaptic vesicle-associated integral membrane protein // *PNAS*. — 1988. — V. 85, N 12. — P. 4538–4542.
8. Söllner T., Whiteheart S.W., Brunner M. et al. SNAP receptors implicated in vesicle targeting and fusion // *Nature*. — 1993. — V. 362, N 6418. — P. 318–324.
9. Gao Y., Zorman S., Gundersen G. et al. Single reconstituted neuronal SNARE complexes zipper in three distinct stages // *Science*. — 2012. — V. 337, N 6100. — P. 1340–1343.
10. Brose N., Petrenko A.G., Südhof T.C., Jahn R. Synaptotagmin: a calcium sensor on the synaptic vesicle surface // *Science*. — 1992. — V. 256, N 5059. — P. 1021–1025.
11. Hata Y., Slaughter C.A., Südhof T.C. Synaptic vesicle fusion complex contains unc-18 homologue bound to syntaxin // *Nature*. — 1993. — V. 366, N 6453. — P. 347–351.
12. McMahon H.T., Missler M., Li C., Südhof T.C. Complexins: cytosolic proteins that regulate SNAP receptor function // *Cell*. — 1995. — V. 83, N 1. — P. 111–119.

13. Maximov A., Tang J., Yang X. et al. Complexin controls the force transfer from SNARE complexes to membranes in fusion // *Science*. — 2009. — V. 323, N 5913. — P. 516–521.
14. Wang Y., Okamoto M., Schmitz F. et al. Rim is a putative Rab3 effector in regulating synaptic-vesicle fusion // *Nature*. — 1997. — V. 388, N. 6642. — P. 593–598.
15. Zhou P., Bacaj T., Yang X. et al. Lipid-Anchored SNAREs Lacking Transmembrane Regions Fully Support Membrane Fusion during Neurotransmitter Release // *Neuron*. — 2013. — V. 80, N 2. — P. 470–483.
16. Südhof T.C. Neurotransmitter release: the last millisecond in the life of a synaptic vesicle // *Neuron*. — 2013. — V. 80, N 3. — P. 675–690.
17. Zierath J.R., Lendahl U. Machinery regulating vesicle traffic, a major transport system in our cells. — http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2013/advanced-medicineprize2013.pdf.
18. Lashuel H.A., Hirling H. Rescuing defective vesicular trafficking protects against alpha-synuclein toxicity in cellular and animal models of Parkinson's disease // *ACS Chem. Biol.* — 2006. — V. 1, N 7. — P. 420–424.
19. Alter S.P., Lenzi G.M., Bernstein A.I., Miller G.W. Vesicular integrity in Parkinson's disease // *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* — 2013. — V. 13, N 7. — P. 362.
20. Suzuki T., Araki Y., Yamamoto T., Nakaya T. Trafficking of Alzheimer's disease-related membrane proteins and its participation in disease pathogenesis // *J. Biochem.* — 2006. — V. 139, N 6. — P. 949–955.
21. Caviston J.P., Holzbaur E.L. Huntingtin as an essential integrator of intracellular vesicular trafficking // *Trends Cell Biol.* — 2009. — V. 19, N 4. — P. 147–155.
22. Krzewski K., Cullinane A.R. Evidence for defective Rab GTPase-dependent cargo traffic in immune disorders // *Exp. Cell. Res.* — 2013. — V. 319, N 15. — P. 2360–2367.
23. Ge J., Shao F. Manipulation of host vesicular trafficking and innate immune defence by *Legionella* Dot/Icm effectors // *Cell Microbiol.* — 2011. — V. 13, N 12. — P. 1870–1880.
24. Rossetto O., de Bernard M., Pellizzari R. et al. Bacterial toxins with intracellular protease activity // *Clin. Chim. Acta.* — 2000. — V. 291, N 2. — P. 189–199.
25. Blasi J., Chapman E.R., Link E. et al. Botulinum neurotoxin A selectively cleaves the synaptic protein SNAP-25 // *Nature*. — 1993. — V. 365, N 6442. — P. 160–163.

Стаття надійшла 02.12.2013

С.І. Романюк, С.В. Комисаренко

Институт биохимии им. А.В. Палладина Национальной академии наук Украины
ул. Леонтовича, 9, Киев, 01601, Украина

КАК КЛЕТКА ТРАНСПОРТИРУЕТ СИНТЕЗИРОВАННЫЕ ВЕЩЕСТВА,
ИЛИ ДЕЙСТВИТЕЛЬНО ЛИ НЕЛЬЗЯ ИЗМЕНИТЬ МЕСТО И ВРЕМЯ ВСТРЕЧИ
«ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ГРУЗА»

Лауреатами Нобелевской премии в области физиологии и медицины 2013 года стали американцы Дж. Ротман и Г. Шекман и немец Т. Зюдгоф с формулировкой Нобелевского комитета «за фундаментальные открытия механизма регулирования везикулярного трафика — основной транспортной системы клеток».

Ключевые слова: везикулярный трафик, Нобелевская премия, Дж. Ротман, Р. Шекман, Т. Зюдгоф.

S.I. Romanyuk, S.V. Komisarenko

Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine
9 Leontovicha St., Kyiv, 01601, Ukraine

HOW THE CELL IS TRANSPORTING THE SYNTHESIZED
SUBSTANCES OR IS IT TRUE THAT TIME AND DESTINATION
OF «INTRACELLULAR LOAD» CANNOT BE CHANGED

The Nobel Prize in Physiology and Medicine 2013 was awarded to James E. Rothman, Randy W. Schekman, and Thomas C. Südhof with Nobel Committee motivation: “for their discoveries of machinery regulating vesicle traffic, a major transport system in our cells”.

Keywords: vesicle traffic, Nobel Prize, J. Rothman, R. Schekman, T. Südhof.