

НОВОСТИ НАУКИ

МНОГОГРАННОСТЬ НАНОТЕХНОЛОГИЙ

С тех пор, как год назад был опубликован первый номер журнала Nature Nanotechnology, многое изменилось в области нанотехнологий.

Последние месяцы оказались очень напряжёнными для мира нанотехнологий: фонд Kavli объявил условия своего конкурса, главный приз которого - 1 миллион долларов за исследования в области нанотехнологий [1, 2]. В одном из пресс-релизов Европейский Союз назвал фонд Kavli “крупнейшим в мире инвестором нанотехнологий”; Евросоюз [3] при содействии Королевского общества Великобритании и Nanotechnology Industries Association опубликовал проект свода законов о нанотехнологиях [4]. В нанотехнологии премия Kavli надеется стать такой же значимой как Нобелевская премия.

Исследователи продолжают публиковать во многих журналах, включая Nature Nanotechnology, отпраздновавший год своего существования, результаты своих исследований во многих сферах, начиная с фундаментальной физики до токсикологии. Такой охват исследований нашел свое отражение в статьях, опубликованных на специальной странице в Интернет, которая была создана по случаю первой годовщины журнала [5]: статьи посвящены вопросам нанопроводников, содержащих всего несколько атомов; электронных приборов, созданных из тысяч углеродных нанопроводников (nanotubes); наночастицам оксида церия, которые могут быть использованы при лечении глазных болезней. Наиболее цитируемыми являются две статьи, опубликованные еще в первом номере журнала. Одна из них посвящена высоко проводящим приборам, основанным на нанопроводниках (nanotubes) [6], вторая – новому методу классификации нанопроводников (nanotubes) [7]. По данным анализа печатных изданий, наибольшее влияние оказала недавно опубликованная статья о новой технике наноотпечатков (nanoprinting technique), разработанная IBM Zurich [8].

Огорчает, конечно, недостаток современных исследований о влиянии наночастиц на здоровье и окружающую среду. Пока правительства и различные фонды не обратят внимания на данную проблему, общественность будет негативно относиться к нанотехнологиям. За последние несколько лет стало очевидным, что общественность знает о нанотехнологиях очень мало и поэтому не интересуется ими.

На web-странице, посвященной первой годовщине Nature Nanotechnology, опубликовано содержание non-peer-reviewed статей с “front half” журнала, где, помимо News&Views статей о последних публикациях в Nature Nanotechnology, авторы обсуждали различные темы, включая общественное мнение о нанотехнологиях [9].

Премия по нанотехнологиям в размере 1 миллиона долларов, присуждаемая при участии академии наук Норвегии, по мнению Fred Kavli (норвежского физика, заработавший свое состояние поставками промышленных сенсоров) может стать такой же значимой как Нобелевская премия.

Очевидно, что одним из первых номинантов на премию Kavli должен стать Sumio Iijima, который опубликовал данные об изучении углеродных нанопроводников (carbon nanotubes) и своё видение этих исследований. В конце 2007 г. Iijima уже был объявлен лауреатом премии Balzan за работу по нанопроводникам (nanotubes). Эта премия составляет 500000 швейцарских франков и вручается за достижения в различных областях наук каждый год.

ЛИТЕРАТУРА

1. www.kavliprize.no
2. *Rodgers P.* (2007) *Nature Nanotech.*, doi: 10.1038/nnano.2007.337.
3. Available at ec.europa.eu/research/consultations/list_en.html
4. www.responsiblenanocode.org/
5. www.nature.com/nnano/focus/1st_anniversary/index.html
6. *Cleuziou J.-P., Wernsdorfer W., Bouchiat V., Ondarcuhu T., Monthieux M.* (2006) *Nature Nanotech.*, **1**, 53-59.
7. *Arnold M.S., Green A.A., Hulvat J.F., Stupp S.I., Hersam M.C.* (2006) *Nature Nanotech.*, **1**, 60-65.
8. *Kraus T., Malaquin L., Schmid H., Riess W., Spencer N., Wolf H.* (2007) *Nature Nanotech.*, **2**, 570-576.
9. *Currall S.C., King E.B., Lane N., Madera J., Turner S.* (2006) *Nature Nanotech.*, **1**, 153-156.

КТО ИЗОБРЕЛ НАНОТЕХНОЛОГИИ? О КНИГЕ S.EDWARDS “THE NANOTECH PIONEERS: WHERE ARE THEY TAKING US?”, WILEY, 2006

Steven Edwards – известный биолог, аналитик, консультант, активно занимающийся вопросами нанотехнологий. Edwards получил докторскую степень по биологии в University of California, (San Diego), работал исследователем в Salk Institute, Burnham Institute и получил назначение на должность доцента на факультете биохимии в Meharry Medical College.

Edwards сотрудничает с компанией ВСС, в качестве свободного журналиста анализирует проблемы экономики и рынка. Edwards также был редактором Nano/Bio Convergence News, помогал ВСС организовывать конференции по нанотехнологиям и нанобиотехнологиям. На протяжении нескольких лет он возглавлял нано/био конвергентную конференцию в Business Communications Co. и работал в качестве аналитика.

Steven Edwards разместил в Интернете постоянно обновляемую страничку, где он пишет о произошедших интересных событиях (www.nanotechnology.com/blogs/stevedwards).

В настоящее время Steven Edwards преподает анатомию и физиологию человека на биологическом факультете Middle Tennessee State University (MTSU), Murfreesboro, TN. Его первая книга, *The Nanotech Pioneers: Where are they taking us?* опубликована в издательстве Wiley VCH в 2006 году.

Многие крупные достижения науки и техники прошлого столетия хорошо “задокументированы”, поэтому разногласий по поводу авторства тех или иных открытий не возникает. Широко известно, например, что William Shockley, John Bardeen и Walter Brattain изобрели первый транзистор в 1947. Такие изобретения и открытия были основаны на исследованиях, проводимых отдельными людьми или близкими научно-техническими группами, и взаимного проникновения идей в науках практически не было. В двадцатом столетии найти авторов изобретений не составляло труда.

В 21 веке установить авторство открытий представляется делом сложным, по причине мультидисциплинарного характера исследований в целом, и нанонауки и нанотехнологий в частности. Кто изобрел и/или открыл нанотехнологии? Автор книги “The Nanotech Pioneers”, биолог Steven Edwards, подробно пишет о

фундаментальных концепциях, задействованных в области нанотехнологий, перспективах возможной коммерциализации и потенциальной опасности этой всеобъемлющей технологии.

Термин “нанотехнология” был впервые использован японским ученым Norio Taniguchi (Tokyo Science University) в 1974 году на конференции Японского общества точного машиностроения в докладе “Об основной концепции нанотехнологии”. Taniguchi обратил внимание специалистов, что нанотехнология, главным образом, включает разделение консолидации и деформации материалов одним атомом или одной молекулой.

Edwards обращается к известной лекции знаменитого американского физика, создателя квантовой электродинамики, Нобелевского лауреата Richard Feynman с аллегорическим названием “Внизу полным-полно места” (1959), который предложил инженерам уместить 24 тома энциклопедии Британника на конце обычной булавки. Feynman рассказал аудитории о фантастических перспективах, которые предполагает изготовление материалов и устройств на атомном или молекулярном уровне, призывая к миниатюризации ряда “нисходящих” принципов; Edwards упоминает статью К. Eric Drexler (Massachusetts Institute of Technology): в ней автор расположил строительные машины по восходящему принципу, используя “молекулярные ассемблеры” для управления индивидуальными атомами (Proc. Natl Acad. Sci. USA, 78, 5275–5278; 1981). Возможность использования молекулярной “самосборки” для создания функциональных наномасштабных систем стала своего рода предвестником будущих событий, включая необходимость в мультидисциплинарном подходе к решению многих проблем. Некоторые компании разрабатывают так называемые наноманипуляторы для создания молекулярных организмов типа Drexler, хотя нанороботы – это дело будущего.

Даже профессиональные инженеры, не особенно интересующиеся политикой в науке, будут заинтригованы описанием участия Mike Roco в учреждении Национальной нанотехнологической инициативы в США. Собственное исследование наночастиц убедило Roco в необходимости решения проблем в национальном масштабе. В 1996 он сформировал центр, состоящий из академиков, промышленников и ученых из различных американских лабораторий, чтобы определить национальную стратегию в области нанотехнологий. В марте 1999 года Roco предоставилась возможность побеседовать с советниками президента Клинтона. И он с успехом использовал свои “десять минут славы”: его проект получил 490 миллионов долларов (только на 10 миллионов меньше, чем сам Roco рассчитывал), Инициатива была формально объявлена в январе 2000 года, а остальное - история.

Edwards также поднимает главные проблемы, предполагаемые и реально существующие, о потенциальной опасности нанотехнологий, включая: экологическую катастрофу вследствие саморепликации “наномеханизмов”; вдыхание и поглощение наночастиц; заявления о том, что выгоду извлекут только богатые; возможность создания оружия массового поражения; и опасения о том, что технологические достижения могут выйти из-под контроля. Правительственное регулирование вопроса и возможное применение (накопление, выработка электроэнергии, “космические подъемники” и квантовая вычислительная техника) - обсуждаются.

Кроме того, объяснения этих идей - и других, как спинтроника, наномедицина, молекулярная биология, сканирующая зондовая микроскопия - будут интересны и понятны широкому кругу читателей. Прежде всего освещаются последние изменения в отношении ученых и инженеров к мультидисциплинарным исследованиям, проводимым в сотрудничестве с группами физиков, химиков, биологов, инженеров, IT специалистов и метрологов.

Однако есть в книге и “белые пятна”, особенно в отношении нанотехнологий в Азии. Согласно Edwards, углеродная нанотрубка была открыта Sumio Iijima

в компании NEC в 1991 году, а что Iijima и NEC думают о будущем нанотрубок? Каким образом растущие инвестиции Китая в науку и технологии затронут нанотехнологии в США и ЕС? И какое влияние будут иметь постоянно меняющиеся исследования и исследователи? Стоит отметить, что фундаментальные идеи создания транзистора и интегральных схем родились в американских лабораториях, тем не менее, маловероятно, что они имели бы такое влияние на нашу жизнь, если бы не японские инженеры и компании.

По мнению Edwards, рассуждая о чудесах нанотехнологий, нужно реально смотреть на вещи. Грандиозные проекты, о которых идет речь в "Nanotech Pioneers", могут показаться читателю несколько преувеличенными, безрассудными, что вполне оправдано. Возможно, однако в эру конвергентных и мультидисциплинарных исследований найти настоящих пионеров в данной области науки станет трудной задачей.

НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА РАБОТУ ГЕНОМА

Начиная с проекта "Геном человека", исследователи и компании стремятся модернизировать процесс секвенирования ДНК: сделать его более быстрым и менее дорогостоящим. Ученые мечтают, чтобы стоимость расшифровки одного генома человека могла составить около 1000 долларов, что позволит открыть множество новых возможностей в медицине. Пока никому не удалось приблизиться к осуществлению этой мечты, однако недавние достижения по снижению затрат этого трудоемкого процесса принесли свои результаты. Благодаря новому поколению высокопроизводительных секвенирующих машин исследователи получили беспрецедентное представление о том, где и как белки взаимодействуют с ДНК.

Подобно рассмотрению планеты через Google Earth (компьютерная программа для показа трехмерной модели Земли, созданной на основе спутниковых фотографий высокого разрешения), исследователи используют эти машины для обнаружения геномных семейств и конкретных деталей этого сложного "ландшафта" геномной регуляции: а именно те места, где белки "включают" гены или предотвращают их экспрессию. По мнению Michele Clamp, биолога из Massachusetts Institute of Technology, для ученых открываются совершенно новые горизонты.

ДНК не может существовать без белков. В любой момент, десятки тысяч белков присоединяются или отсоединяются от генома, создавая динамический биохимический процесс, который и является "двигателем" жизни. Транскрипционные факторы "включают" и "выключают" соответствующие гены. Некоторые белки, в особенности гистоны, формируют хромосомы, захватывая и удерживая ДНК в характерной спирали, и тем самым подавляя гены или наоборот, раскручивая ДНК, чтобы гены могли нормально функционировать. Другие "урежают" ДНК в определенных участках. Именно такое контролирование экспрессии генов дифференцирует мозг и печень, Т-клетки и островковые клетки поджелудочной железы. Исследователи хотят выявить именно те участки, где это происходит, с помощью экспертных современных секвенирующих технологий, включая Illumina Inc (Solexa) - самую популярную на сегодняшний день секвенирующую машину. Новые технологии, которые впервые появились в 2006 году, отличаются большей точностью, при заметном сокращении затрат на секвенирование по сравнению с проектом "Геном человека". Однако при секвенировании целых геномов эти технологии проявили один общий существенный недостаток: они могут секвенировать только короткие фрагменты

ДНК. Трудно собрать короткие сиквенсы с точностью в целый (законченный) геном. Однако для исследователей, изучающих геномную функцию, короткие, недорогие сиквенсы - как раз то, что им необходимо для характеристики тех участков, где происходит связывание специфического белка с геномом.

Процесс под названием "Tag-секвенирование" вызывает у исследователей восторженные отклики. По мнению Bradley Bernstein, патолога из Massachusetts General Hospital (Boston), эти секвенирующие технологии действительно преобразуют то, что ученые делают и что способны сделать. Возможности таг-секвенирования были ограничены из-за его стоимости, но теперь, по словам молекулярного биолога John Stamatoyannopoulos из University of Washington (Seattle), если не задумываться об экспериментах в масштабе всего генома, можно также и остаться на том же примитивном уровне.

Richard Myers и Ali Mortazavi из Stanford University (Palo Alto, California) использовали Tag-секвенирование, чтобы определить те участки, где транскрипционный фактор NRSF (Neuron Restrictive Silencer Factor) ("подавляющий" фактор NRSF/REST) "отключает" гены нервных клеток в других клетках. Подобно многим другим исследователям Barbara Wold и David Johnson из California Institute of Technology (Pasadena) использовали метод иммунопреципитации хроматина (chromatin immunoprecipitation) для выделения тех участков, где происходит связывание транскрипционного фактора с ДНК. Они "разбивают" геном из линии Т-клеток и добавляют антитела к NRSF/REST, чтобы "собрать" фрагменты ДНК воедино с NRSF/REST.

До недавнего времени ученые использовали дорогие чипы с нанесёнными тысячами фрагментов ДНК из известных участков в отдельно взятом геноме - для идентификации сегментов связывания ДНК с NRSF/REST. Однако теперь учёные просто секвенируют всю ДНК целиком, к которой "прилагается" подавляющий фактор NRSF/REST и картируют эти последовательности непосредственно в геном. По мнению Martin Hirst, молекулярного биолога из British Columbia Cancer Agency Genome Sciences Centre (Vancouver, Canada), по сравнению с микрочипами сегодняшние технологии на порядок выше. По своей стоимости новые технологии также более выгодны для исследователей.

Myers, Wold и их коллеги нашли более 1950 участков связывания NRSF/REST - на 30% больше чем, они могли идентифицировать с помощью микрочипов и "уместили" их в 50 оснований. Они также обнаружили, что NRSF/REST имеет три типа участков связывания ДНК. Сравнивая большее количество типов клеток, исследователи стремятся понять, как функционируют различные участки связывания ДНК.

Bernstein по-другому представлял взаимодействие белок-ДНК, когда обратился к Tag-секвенированию. В ядре ДНК обернута вокруг белков гистонов, которые помогают контролировать "состояние готовности" ДНК. В зависимости от расположения метильной группы на гистоне, белок может "включать" или "выключать" ген, частично, делая регуляторную ДНК более или менее доступной для факторов транскрипции. Bernstein и его коллеги использовали метилированные гистоны, которые прикреплены к соседней ДНК, для обнаружения активных и бездействующих частей хромосом в эмбриональных стволовых клетках мыши и в клетках, которые дифференцировались в определённые типы.

Bernstein использовал один набор антител против гистона с метилированным профилем, известным своими свойствами "подавлять" ДНК и повторил процесс с антителами против гистонов, у которых метилирование активирует ДНК. Tarjei Mikkelsen из Broad Institute (Massachusetts) затем секвенировал и проанализировал фрагменты ДНК, прикрепленные к каждому типу гистона.

При картировании последовательности обратно на геном мыши оказалось что в дифференцированных клетках карта "выключенных" гистонов отличалась от карты активных гистонов. Однако в стволовых клетках на некоторых участках карты перекрывали друг друга. Согласно наблюдениям Bernstein, важные гены в

процессе превращения клетки в нервную клетку стремились "переносить" и активирующий, и "выключающий" гистоны. "Выключающие" гистоны удерживали ген в состоянии покоя, открывая тем самым возможности для стволовой клетки, но при этом "активирующие" гистоны помогали сбалансировать и сформировать генные карты.

Bernstein также обнаружил, что границы гена могут быть определены их "гистоновыми компаньонами", что всегда доставляло большие трудности ученым. Один тип гистона представлен в начале гена; другой "прикреплён" вдоль всего гена. По словам Francis Collins, директора US National Human Genome Research Institute (Bethesda, Maryland), карта гистонов не только указывает, где располагаются экзоны, но также где ген начинает работу и где останавливается.

Hirst также использовал гистоны для Tag-секвенирования, но в злокачественных клетках. Ученые смогли найти для них функциональные классы генов, которые наделены специфическими комбинациями гистоновых модификаций. Если исследователям удастся точно определить Tag-модели, характерные для рака, можно будет разработать диагностику, предназначенную прежде всего для исследования в этой области.

Greg Crawford, молекулярный биолог в Duke University (Durham, North Carolina), независимо от исследований Stamatoyannopoulos намеревается использовать секвенирование еще более широко как основной инструмент в изучении геномной регуляции. Вместо использования иммунопреципитации хроматина Crawford предложил биохимическую "удочку" - фермент ДНКазу I - для того, чтобы проследить стыкующиеся участки для более полной картины регулирующих белков. Именно эти участки спрятаны в геноме так, что их всегда, на протяжении многих лет было очень трудно найти.

Там, где регуляторные белки "стыкуются" с ДНК, хромосома начинает раскручивать и открывать ДНК. Это также те участки, где ДНК гиперчувствительна к ДНКазе I, которая в свою очередь способна "разрезать" ДНК. На протяжении десятилетий молекулярные биологи использовали этот фермент для выявления нескольких стыкующихся участков одновременно. Несколько лет назад такой более расширенный поиск можно было осуществить с помощью микрочипов. Однако исследования ДНК на микрочипах не всегда надежны, поскольку они не всегда обнаруживают стыкующиеся участки, скрытые в периодически повторяющейся ДНК, и время от времени ошибочно обозначают другие участки.

В апреле 2007 года на одной из конференций (Cold Spring Harbor, New York) Crawford сообщил, что вместо использования микрочипов он просто секвенирует все участки, которые "выбирает" ДНКазу I по всему геному. Stamatoyannopoulos также добивается успехов, применяя метод Tag-секвенирования. Оба находят сотни тысяч стыкующихся участков, местоположение которых оказывается неожиданным. Около 40% таких участков обнаружено в начале генов. Другие находятся в интронах, последовательностях внутри гена, кодирующего белок, и некоторые - 200000 оснований у самого близлежащего гена.

В то время как Crawford, Stamatoyannopoulos, Bernstein, и Myers картируют регулирующие участки ДНК, Yijun Ruan и Chia-Lin Wei из Institute of Singapore исследуют, как регуляторные ДНК могут влиять на активность гена из различных частей одной хромосомы или различных хромосом. Некоторые из регулирующих ДНК, взаимосвязанных со специфическим геном, могут находиться на удаленном расстоянии непосредственно от гена. Иногда белок, прикрепленный к ДНК в одной части генома, контактирует с белком из другого участка, вынуждая ДНК формировать петли, оба белка участвуют в деятельности гена.

Для того, чтобы "увидеть" эти дальние взаимодействия, Ruan и Wei объединили метод преципитации хроматина, секвенирование и технологию замораживания ДНК петель. Таким образом, они способны точно проследить, где эти взаимодействующие белки функционируют по всему геному. С помощью технологии трёхмерного пространства (3D technology) группа ученых из Сингапура

изучила влияние эстрогена на регуляцию гена в клетках рака молочной железы. Эстроген, действуя через свой рецептор, активирует гены. Они обнаружили, что вопреки расхожему мнению, связывание рецептора эстрогена с ДНК чаще всего происходит удаленно от гена-мишени.

Программа Google Earth может за считанные секунды перенести нас в любой уголок Земли (в масштабе от планеты в целом, до маленького городка), также и вышеуказанные новые методы дают иное представление о регуляции генов на другом, более высоком уровне разрешения. Благодаря технологии, предложенной Ruan, можно выявить взаимосвязь между отдаленными регулирующими областями генома. Это - сложная многоуровневая сеть, но директор US National Human Genome Research Institute Francis Collins уверен, что в ближайшем будущем появятся результаты успешной работы.

В ПОГОНЕ ЗА ЭМБРИОНАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА

Два очень важных научных открытия, которых с нетерпением ждали, опубликованы в журнале "Nature" в ноябре 2007 года. (22 November 2007, vol. 450 (7169)). В ближайшем будущем мечта о регенеративной медицине может воплотиться в реальность. Производство эмбриональных стволовых клеток клонированного примата и перепрограммирование взрослых клеток человека представляют важнейший этап в современных научных исследованиях и попытках произвести "полипотентные" клетки, которые могут развиваться в 200 любых типов клеток в организме.

Эмбриональные стволовые клетки человека обладают этой особенностью, поэтому ученые используют в исследовании клетки, обычно извлеченные из эмбрионов, полученных в процессе оплодотворения *in vitro*. Однако исследователи стремятся создать полипотентные клетки, которые генетически подошли бы индивидуальным пациентам. Впоследствии такие клетки могли бы быть трансплантированы, что поможет бороться со многими нарушениями, например, болезнью Паркинсона и диабетом, или могут использоваться исследователями для дальнейшего моделирования прогрессии заболевания.

Ученые предлагают создавать такие клетки с помощью клонирования. Научной группе под руководством Shoukhrat Mitalipov (Oregon Health & Science University, Beaverton) впервые удалось создать эмбриональные стволовые клетки из эмбрионов клонированной обезьяны (Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer, Nature vol. 450 (7169) page 497 J.A. Byrne, D.A. Pedersen, L.L. Clepper, M. Nelson, W.G. Sanger, S. Gokhale, D.P. Wolf, S.M. Mitalipov).

До сегодняшнего дня клонированные эмбриональные стволовые клетки были получены только из эмбрионов мыши. По мнению Robert Lanza, представителя Los Angeles Biotech Company Advanced Cell Technology, подобные достижения на модели обезьяны по научной значимости сопоставимы с прорывом звукового барьера.

Вслед за созданием в 1996 году первого клонированного животного, овечки Dolly, последовал этап по созданию других успешных клонов. Последующие неудачные попытки создать клонированные эмбрионы человека и обезьяны "повергли" научное сообщество в пессимизм. В 2003 Gerald Schatten, исследователь в области клонирования приматов, заявил о том, что существующие методы (техника клонирования ядерным переносом) производства эмбриональных стволовых клеток из "нечеловеческих" приматов могут оказаться недостаточными для достижения цели, а репродуктивное клонирование может стать сложнейшей

невыполнимой задачей. Весомой причиной такого заявления стало неудачное исследование с использованием 716 яйцеклеток обезьян, в результате которого не удалось произвести ни одного клона. В феврале 2004 Woo Suk Hwang (Seoul National University, Korea) объявил о создании стволовых клеток клонированного эмбриона человека [2]. Однако в январе 2006 года результаты этого исследования были признаны недействительными, и некоторые ученые стали соглашаться, что Schatten все-таки прав.

Группа под руководством Mitalipov пыталась на протяжении десяти лет добиться репродуктивного клонирования обезьян и использовала в процессе исследований около 15000 яйцеклеток. После того, как результаты экспериментов Hwang оказались несостоятельными, исследователи решили временно отложить репродуктивное клонирование и попытаться установить клонированную эмбриональную линию стволовых клеток. Они брали клетки кожи у Semos, девятилетнего самца макаки-резус, и вставляли ядра клеток в яйцеклетки, у которых был удалён их собственный генетический материал. К январю 2007 года ученые создали линию клеток, которая сохраняла свою эмбриональную полипотенциальность, и через несколько месяцев появилась ещё одна линия клеток.

Mitalipov объясняет свой успех использованием машины Oosight, стоимостью 19000 долларов, воспроизводящей изображения, которая позволяет четко воспроизводить и легко извлекать структуры в яйцеклетке, удерживающие (захватывающие) ДНК, первый этап ядерного переноса. Раньше ученые использовали краситель Hoechst в сочетании с ультрафиолетовым светом для локализации и удаления ДНК в яйцеклетке. Группа Mitalipov обнаружила, что этот метод разрушает яйцеклетку.

Технология Mitalipov должна сработать в клетках человека: ничего особенного в ней нет, однако, по словам ученого, необходимо использовать именно этот тип системы воспроизведения изображений.

Репродуктивное клонирование обезьян, тем не менее, по-прежнему представляет трудноразрешимую задачу. В апреле 2007 года после создания двух линий клеток группа Mitalipov попыталась переместить 77 созданных эмбрионов примерно в 12 суррогатов (заместителей). Попытка оплодотворения оказалась неудачной.

После фальсифицированных результатов Hwang журнал Nature предложил независимым экспертам (Monash University, Melbourne, Australia) перепроверить эти исследования [3]. По мнению Alan Trounson, представителя группы Monash, научное сообщество должно удостовериться в результатах данных экспериментов ядерного переноса, учитывая недавний неудачный опыт ядерного переноса соматических клеток человека. Заключение австралийских экспертов можно полностью доверять.

Многие ученые сомневаются в том, чтобы применять эту технологию в экспериментах на людях, поскольку женщины могут быть подвергнуты неприятной процедуре, опасной для здоровья. Группа Mitalipov использовала 304 яйцеклетки для производства двух эмбриональных линий стволовых клеток приматов. Исследователи по-прежнему слабо представляют, в чем причина большинства неудачных попыток и редких успешных экспериментов, поэтому для создания стволовых линий человека, вероятно, потребовалось бы аналогичное количество яйцеклеток.

По мнению John Gearhart, директора Stem Cell Program (Johns Hopkins Medicine, Baltimore, Maryland), низкий процент успешных экспериментов настораживает, особенно это касается работы с человеком.

Существует другой многообещающий путь к созданию полипотентных клеток, который не требует использования яйцеклеток или уничтожения эмбрионов, что вызывает много споров и противоречий. 20 ноября 2007 года Shinya Yamanaka (University of Kyoto, Japan) сообщил о том, что его группа создала полипотентные клетки из клеток кожи человека [4], и в тот же самый день группа

исследователей во главе с James Thomson (University of Wisconsin, Madison) опубликовала такие же результаты [5].

Работа Yamanaka основывается на его ошеломляющем открытии, представленном в 2006 году и заключающемся в том, что введение четырех транскрипционных факторов в клетки кожи мыши “перепрограммировало” клетки в состояние, подобное эмбриону. Летом 2007 года Yamanaka и две других группы сообщили об использовании тех же самых четырех факторов для создания клеток, неотличимых от эмбриональных стволовых клеток [6].

В силу основных различий между клетками человека и мыши казалось удивительным то, что эти четыре фактора произвели тот же самый результат в клетках человека. Группа Yamanaka создала 10 полипотентных линий клеток из культуры 50000 клеток кожи лица, которые были подвергнуты воздействию этих четырех факторов. Образец кожи, представленный одной из компаний в США, был взят у 36-летней женщины, уроженки Кавказа. Yamanaka повторил то же самое с клетками синовиальной жидкости, взятой у 69-летнего мужчины с аналогичными результатами. Находясь в культуре, полипотентные клетки принимают плоскую форму эмбриональных стволовых клеток.

Почему же так мало клеток успешно формируют такие “вынужденные” полипотентные стволовые клетки (iPS)? Это по-прежнему остается загадкой. Yamanaka использует дешёвый ресурс - клетки, которые можно получить в миллионных количествах из единственной биопсии кожи. По сравнению с эмбриональными стволовыми клетками человека, после многочисленных политических споров и предпринятых кропотливых усилий (в Японии сейчас есть только три линии клеток) технология Yamanaka очень “плодовитая”. В небольшой чашке вы можете быстро получить сразу десять линий клеток. С практической точки зрения, это очень высокий показатель.

Подобно iPS клеткам мыши у Yamanaka клетки iPS человека прошли все основные испытания на эмбриональные стволовые клетки, включая способность формировать опухоли, экспрессирующие три первичных зародышевых слоя после введения под кожу мышам, у которых спроектировано отсутствие иммунной системы.

Но действительно ли они полипотентны? Серьезные испытания на мышах должны продемонстрировать, можно ли создать целый индивидуум из iPS клеток, или iPS клетки в сочетании с эмбрионом экспрессируются во всех тканях мыши, оказывающихся химерными. Ни один подобный эксперимент нельзя провести с клетками человека. По словам Yamanaka, в таких экспериментах на людях нет ответа на вопрос.

Yamanaka считает, что нет принципиальной разницы в том, чтобы эти клетки использовались в терапии или в исследовании какого-либо заболевания, поражающего определенную ткань. Клетки, созданные Yamanaka, способны формировать нейроны и клетки сердечной мышцы, которые после 12-дневной дифференциации начинали функционировать. Однако iPS клетки имеют недостатки. Введение четырех транскрипционных факторов Yamanaka требует “генетических манипуляций” с использованием вирусных векторов, которые, скорее всего, вряд ли будут одобрены для клинической практики комитетами по здравоохранению. Предполагают, что один из этих факторов, c-myc, ответственен за образование опухолей у мышей.

Thomson, который первым изолировал и поддерживал эмбриональные стволовые клетки человека в культуре, начал искать свой путь к решению этих проблем. Он также использовал четыре фактора, доставленные вирусными векторами, для перепрограммирования клеток кожи человека. Но только два из этих четырех факторов оказались аналогичными, и Thomson не использовал c-myc. Другой способ, применяемый в исследовании, стал следствием успешного перепрограммирования, и ученые могли бы с большей гибкостью обнаруживать клинически приемлемые варианты из “отобранных” Yamanaka.

В свете стремительно растущей конкуренции среди исследователей Gearhart и его коллеги надеются достичь быстрых успехов в ближайшее время. По мнению Gearhart, iPS стратегия - главное звено в перепрограммировании клеток, и если будет доказана ее эффективность и безопасность для клеток человека, это ослабит роль ядерного переноса соматических клеток (SCNT) в получении специфических для каждого пациента полипотентных клеток.

В ноябре 2007 года профессор I. Wilmut (University of Edinburgh), один из создателей овечки Dolly, объявил о том, что он планирует снова вернуться к своим исследованиям, используя технологию перепрограммирования Yamanaka.

Mitalipov утверждает, что яйцеклетка - это единственный “совершенный механизм перепрограммирования” и уверен в том, что клонированные клетки первыми продемонстрируют свою терапевтическую ценность. По словам ученого, он уже вдвое увеличил эффективность своей технологии клонирования и готовится к клинической работе. Разрабатываются планы по созданию эмбриональных линий клонированных клеток обезьяны Semos и десяти других обезьян для стимулирования таких заболеваний, как диабет, и дальнейшего наблюдения: можно ли использовать клонированные эмбриональные стволовые клетки для лечения таких заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Simerly C., Dominko T., Navara C., Payne C., Capuano S., Gosman G., Chong K.Y., Takahashi D., Chace C., Compton D., Hewitson L., Schatten G.* (2003) *Science*, **300**, 297.
2. *Hwang W.S., Ryu Y.J., Park J.H., Park E.S., Lee E.G., Koo J.M., Chun H.Y., Lee B.C., Kang S.K., Kim S.J., Ahn C., Hwang J.H., Park K.Y., Cibelli J.B., Moon S.Y.* (2004) *Science*, **303**, 1669-1674.
3. *Cram D.S., Song B., Trounson A.O.* (2007) *Nature*, **450**, 7169.
4. *Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., Narita M., Ichisaka T., Tomoda K., Yamanaka S.* (2007) *Cell*, **131**, 861-872.
5. *Yu J., Vodyanik M.A., Smuga-Otto K., Antosiewicz-Bourget J., Frane J.L., Tian S., Nie J., Jonsdottir G.A., Ruotti V., Stewart R., Slukvin I.I., Thomson J.A.* (2007) *Science*, **318**, 1917-1920.
6. *Cyranoski D.* (2007) *Nature*, **447**, 618-619.

МЕДИЦИНА 21 ВЕКА

Основная цель системной биологии – фундаментально преобразовать медицинскую практику и исследователи Института системной биологии (ISB) возглавили эти преобразования. Ученые разрабатывают инструменты и методы, следуя намеченному курсу, чтобы ускорить наступление новой эры прогностической, профилактической и персонифицированной медицины.

Современная медицина – наука “реактивная”: сначала пациент “должен” заболеть, а уже только потом он получит необходимое лечение. Медицина будущего должна стать прогностической и профилактической, исследующей уникальную биологию индивидуума для оценки вероятности развития различных заболеваний и последующей разработки соответствующих методов лечения заблаговременно до наступления самого заболевания.

Современная медицина – наука “близорукая”: мы используем всего несколько диагностических методов и инструментов и практически неспособны провести различия между индивидуальными заболеваниями или разновидностями

одной и той же болезни. Медицина будущего должна использовать более сложные механизмы диагностики, и большее их количество для точной оценки состояния здоровья с помощью персонифицированных методов лечения.

Усовершенствованные и персонифицированные методы лечения лежат в основе будущего здравоохранения. Заболевания являются результатом генетических сбоев, вредных факторов окружающей среды (плохая диета, инфекционные организмы или токсины) или сочетанием тех и других. Мы знаем, что определённые генетические модели могут повлиять на высокую восприимчивость человека к этим факторам. Известно, что некоторые дефектные гены увеличивают вероятность возникновения тех или иных проблем со здоровьем.

Например, у женщины с единственной копией 1 гена-мутанта рака молочной железы (BRCA-1) к 60 годам может развиваться рак, вероятность возникновения заболевания составляет 70 процентов. К сожалению, на сегодняшний день практически невозможно определить генетическую структуру (состав генов) для каждого из нас и, что более важно, понять вероятные последствия для здоровья. Однако в будущем каждый сможет легко получить такую информацию, и совместно с практикующим врачом разработать для себя прогностическую, профилактическую и персонифицированную оздоровительную программу.

Технологии и инструменты системной биологии позволяют практикующим врачам получить доступ к двум источникам диагностических данных: (1) исследуя полный генетический набор пациента, врач способен всесторонне определить перспективы индивидуально для него; (2) исследуя белковые маркеры, которые встречаются в крови пациента, врач будет способен точно определить статус здоровья человека, включая и текущее влияние любых неправильных генов и текущие реакции на любые токсины окружающей среды или инфекционные патогены.

Новый подход к медицине, основанный на изучении индивидуального генетического набора каждого пациента, поможет определить вероятность возникновения “индивидуальных” заболеваний, а также предсказать ответную реакцию организма на различные варианты лечения, обеспечив контроль за разработками лекарственных препаратов. Другое использование технологий и инструментов системной биологии позволит разрабатывать профилактическое лечение для пациентов на основе их собственных потенциальных проблем, обозначенных генетической структурой и маркерами белков крови.

Целью такого нового подхода к медицине станет использование фундаментальной информации о здоровье – генетический набор каждого пациента плюс текущий статус (по маркерам белков крови) – для предписания соответствующих профилактических лекарств. Например, учитывая генетическую структуру пациента, можно предсказать 40%-ную вероятность развития рака молочной железы к 50 годам, но если пациент начнет принимать определенные препараты с 35 лет, то вероятность возникновения заболевания к 50 годам составит всего 5%.

В настоящее время ученые из ISB участвуют в нескольких исследовательских программах, включающих диагностику многих сложных заболеваний по анализу крови, включая диабет 1 типа, рак молочной железы и рак простаты. Рак – вторая основная причина смертности в США, рак простаты составляет третью часть всех случаев онкологических заболеваний среди мужчин, и рак молочной железы составляет приблизительно половину всех случаев онкологии среди женщин. Ученые ISB исследуют маркеры белка, встречающиеся в крови, чтобы лучше идентифицировать начальный, метастатический потенциал, и вероятный вариант развития этих злокачественных образований у пациентов с целью дальнейших разработок более эффективных лекарственных препаратов.

Общая тема, объединяющая прогностический и профилактический методы, - персонализация. Менее одного процента от генетической структуры составляет индивидуальное различие каждого человека. Эти генетические различия становятся причиной физических различий, включая нашу потенциальную

предрасположенность к различным заболеваниям. Таким образом, новая эра прогностической, профилактической и персонифицированной медицины открывает способность исследовать уникальную генетическую структуру каждого индивидуума и определять новый подход к лечению.

В результате такой персонализации медицина станет “совместной”. Пациенты будут принимать активное участие в своем лечении. “Объединенная” медицина потребует развития новых подходов для обработки огромного количества личной информации и обучения врачей и их пациентов.

По материалам зарубежной прессы при участии Рыженковой О.Н. и Шадринной Т.Н.