ЛАУРЕАТИ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ 2009 РОКУ З ХІМІЇ, А ТАКОЖ З ФІЗІОЛОГІЇ І МЕДИЦИНИ.

10 грудня кожного року, в день пам'яті Альфреда Нобеля відбувається вручення найбільш престижних і відомих премій у світі, які носять його ім'я.

У цей день у Стокгольмі, у Великій концертній залі Король Швеції Карл XVI Густав нагороджує лауреатів за роботи з фізики, хімії, фізіології або медицини, а також з економіки. А напередодні лауреати цього року виступають з Нобелівськими лекціями, які також є частиною урочистих святкувань найбільших досягнень світової науки. Зрозуміло, що не всі найвищі досягнення відзначаються Нобелівськими преміями, і не всі роботи, які стали підставою для присудження цієї нагороди, є рівними за внеском у скарбницю науки, але все одно Нобелівська премія залишається найбільш престижною, а її лауреати стають „безсмертними" і приєднуються до тих, чиї імена знає майже кожна людина на нашій планеті, як, наприклад, Ейнштейна, Бора, Рентгена, Мечнікова чи Коха. Традиційно урочиста церемонія вручення Нобелівських відзнак переможцям – золотої медалі та диплома, а також процедура проведення лекцій лауреатів створюють у ці дні унікальну атмосферу свята науки та глибокої уваги і поваги до її творців.

Напевне, читачі „Вісника" вже добре знають, хто ж став лауреатами Нобелівських премій 2009 року. Серед природничих наук лауреатами трьох премій стало дев'ятеро вчених. Так, в галузі фізики половина грошової премії виплачується Чарльзу Као - Charles K. Kao, який народився у Шанхаї, але має подвійне американське і британське громадянство, за роботи по опто-волоконним технологіям. Інша половина премії поділена між двома співробітниками лабораторії „Bell" – американцями Джорджем Смітом - George E. Smith та Вілардом Бойлом -

Willard
S
.
Boyle
(останній є також громадянином Канади) за створення технологій цифрового відображення зображення, так званих
CCD
пристроїв або матриць, які є серцем усіх сучасних цифрових фото та відеокамер. Коли Генеральний секретар Королівської Академії наук Швеції Гуннар Оквіст оголошував, кого цього року Академія відзначила преміями, то він сказав, що дослідження, які відзначені премією з фізики, „заклали основи сучасного інформаційного суспільства". В той же час, хоча я часто користуюся фото і відео апаратурою, зокрема тією, що у моєму мобільному телефоні, мені значно ближчі дві інші премії – з хімії та фізіології чи медицини, на яких я зупинюся детальніше.

Почну з того, що читачеві очевидно добре відомо, - розподіл премій і, зрозуміло, лауреатів за досягнення з „хімії" та „фізіології і медицини" є традиційним (за заповітом Альфреда Нобеля) і досить умовним. Зараз премії здебільшого присуджуються за роботи у суміжних областях наук, або за досягнення у науках, які не існували за часів А.Нобеля. Так і дві премії, про які йдеться нижче, присуджені за роботи, які більш за все можна віднести до молекулярної біології, молекулярної генетики або сучасної біохімії. Обидві вони пов'язані із тим, як зберігається спадкова – генетична інформація і як вона реалізується при створенні молекул протеїнів у живих клітинах або у модельних системах.

Якщо коротко, то Нобелівською премією з фізіології і медицини відзначені Елізабет Блекберн (Elizabeth Blackburn), Керол Грейдер (Carol Greider) та Джек Шостак (Jack Szostack) за відкриття механізмів, що захищають теломери хромосом від недореплікації за рахунок діяльності ензиму теломерази, а премія з хімії присуджена Венкатраману Рамакришнану (Venkatraman Ramakrishnan), Томасу Стейтцу (Thomas A. Steitz) та Аді Йонат (Ada E. Yonath) за встановлення тонких механізмів функціонування рибосом при синтезі на них протеїнів. Практично всі нагороджені вчені (крім Ади Йонат, яка є громадянкою Ізраїлю і працювала в Ізраїлі) є громадянами США і свої найкращі роботи зробили у США, хоча тільки Т.Стейтц і К.Грейдер народилися в США. Д-р Рамакришнан народився у Індії, Е.Блекберн - в Австралії, а Дж.Шостак – у Британії. Премія вінчає дві групи досліджень, що проводилися на протязі багатьох років, і кандидатам на премію довелося чекати багато років на щасливий день, коли вони дізналися, що стали Нобелівськими лауреатами, як чекають на такий день ще сотні, а той тисячі достойних претендентів. Так, у 2004 році мене запросили на наукову конференцію до Реховоту, Ізраїль, присвячену 80-річчю видатного біохіміка і імунолога, колишнього Президента Вайцманівського Інституту професора Майкла Села. Мені довелося головувати на одній із сесій цієї конференції, на якій з блискучою доповіддю виступила Ада Йонат. Під час

доповіді вона продемонструвала фільм, зроблений на основі результатів молекулярної графіки, в якому детально були відображені всі етапи синтезу протеїнів на рибосомі. І ще тоді М.Села мені сказав: „Ада вже декілька років є ймовірним кандидатом на Нобелівську премію". З того часу минуло п'ять років... .

Але все ж таки, за які досягнення цьогорічні лауреати одержали премії, і що їхні роботи можуть дати людству?

Премія з фізіології і медицини – за вивчення теломер і теломерази. Вже із шкільної лави відомо, що генетична інформація організму закодована у ядрі клітини у послідовності дезоксирибонуклеотидів ДНК, і цей код потім дешифрується і визначає, здебільшого, структуру протеїну, який синтезується вже поза ядром у цитоплазмі клітини на рибосомах. При поділі „материнської" клітини на дві „дочірні" для збереження генетичної інформації ДНК має подвоїтися. Це подвоєння ДНК, як на матриці, відбувається за рахунок її дуплікації, яку каталізує ензим ДНК-залежна ДНК-полімераза. Але ДНК у ядрі знаходиться не у вільному стані, а в складі так званих хромосом – комплексів ДНК з протеїнами. Наприклад, добре відомо, що соматичні клітини людини мають 23 пари лінійних хромосом, і в кожній хромосомі є одна молекула двоспіральної ДНК – скрученої і упакованої відповідним чином разом з протеїнами. А на кінцях хромосом (не тільки клітин людини, але й у більшості еукаріотів і навіть деяких прокаріотів) є структури, названі теломерами, що складаються з повторювальних послідовностей ДНК. Навіщо потрібні теломери, коли вони не містять генів, що кодують білки? Чи мають теломери відношення до магічної кількості можливих поділів звичайних клітин (рівної приблизно 50 і запропонованої Леонардом Хайфліком), після чого клітини припиняють ділитися. Цікаво, що першим, хто здогадався про функцію теломер ще наприкінці 1960-х років, був зовсім молодий радянський вчений-імунолог Олексій Оловніков, який працював в Інституті мікробіології і епідеміології імені М.Ф.Гамалеї у Москві. Саме він першим висунув гіпотезу, що з кожним поділом клітини ДНК теломери зменшуються до певної межі, після якої реплікація ДНК припиняється, і поділ клітини стає неможливим. Я добре пам'ятаю наші, тоді молодих кандидатів наук, зустрічі з Олексієм і в Москві, і в Києві, наші дискусії про можливу функцію теломер і про те, що, на жаль, його гіпотезу у нас немає можливості експериментально перевірити. І ми з іншими молодими колегами жартома казали: „Олексію, ти маєш стати лауреатом Нобелівської премії". Зараз виявилося, що тодішні жарти були дуже близькими до істини. Пріоритет Олексія Матвійовича Оловнікова визнаний в усьому світі, але його гіпотеза, що була опублікована у провідних часописах, була експериментально підтверджена і розвинута саме під керівництвом Е.Блекберн. Виявилося, що справді при поділі клітини дуплікація ДНК не може відбуватися до самого кінця кожної хромосоми, і кожний поділ супроводжується скороченням теломер до певної межі, коли припиняється проліферація клітин. Тобто механізм скорочення теломер відповідає за строк життя клітини, а порушення цього процесу може бути в основі безкінечного розмноження клітин. Теломери оберігають також хромосоми від гомологічних рекомбінацій та негомологічних

з’єднань кінців хромосом.

Ензим, що регулює довжину теломер, називається теломеразою. Вона є рибонуклеопротеїновим комплексом, що складається як з протеїнової частини, так і РНК-ової. Як ензим, теломераза є зворотною транскриптазою, що використовує в якості матриці зв’язану з нею особливу молекулу РНК, на якій вона проводить синтез ДНК для подовження теломер (чи для відтворення теломерами втраченої при поділі клітини частини теломерної ДНК). „Зворотною” цей ензим зветься тому, що він є РНК-залежною ДНК полімеразою, а колись, догматично вважалося, що напрям інформації іде завжди від ДНК до РНК і ніколи – у зворотному напрямку. Теломераза додає до 3’-кінця ДНК хромосом повторювальну послідовність із здебільшого шести дезоксирибонуклеотидів: 5’-TTAGGG, і такі повтори разом з відповідними протеїнами і є теломерами. Довжина теломер (тобто кількість повторів з шести, а інколи і восьми нуклеотидів) суттєво відрізняється у різних видів істот і може коливатися від сотень до багатьох тисяч пар основ – нуклеотидів. Теломераза є активною у певних клітинах, які мають розмножуватися (проліферувати) – таких, як, наприклад, клітини зародків, клітини епітелію кишок, дихальних шліхів, крові, у стовбурових і статевих клітинах тощо. Вона також активна у більшості (80-90%) злоякісних клітин. Звичайні соматичні клітини, як правило, не мають теломеразної активності.

Якщо теломераза може відновлювати структуру теломер, а структура і довжина теломер визначає проліферативну активність клітин, то виникає слушне питання, а чи не можна штучно регулювати процеси старіння клітин і організмів (як прискорені, так і уповільнені), а також впливати на ті захворюваннями, що супроводжуються неконтрольованим розмноженням клітин, в першу чергу – на злоякісний ріст. Правда, треба відразу взяти до уваги очевидний компроміс – активація клітин при боротьбі із їх старінням підвищує ризик злоякісної трансформації клітин, а пригнічення проліферативного потенціалу клітин при боротьбі із злоякісним ростом прискорюватиме старіння та загибель клітин. Тому зрозумілою є важливість подальшого вивчення механізмів, що регулюють активність теломераз і функціонування теломер, для лікування злоякісних пухлин та великої кількості захворювань і станів організму, пов’язаних з порушенням процесів старіння клітин і органів, як, наприклад, атаксія-телангіектазія, прогерія, апластична анемія людей похилого віку тощо.

При вивченні можливості активувати теломеразу, було знайдено, що її РНК-ова складова постійно експресується практично у всіх клітинах, і тому для відтворення активності теломерази досить викликати експресію протеїнової частини цього ензиму, наприклад, індукцією існуючого відповідного гену, або штучним переносом цього гену у клітини. Таким способом можна зробити культуру клітин практично безсмертною. Існують дані, поки нечисленні, що „здоровий спосіб життя і харчування” призводить до

активації теломерази та збільшення довжини теломер у певних тканинах (найчастіше цю довжину вимірюють у лейкоцитах крові). І, навпаки, у людей із надмірною вагою або з інсулін-незалежним діабетом ІІ типу спостерігалася кореляція із швидкістю скорочення теломер. До скорочення теломер може приводити стрес, зокрема оксидативний. Чи не є це свідченням того, що ми самі часто скорочуємо власне життя, притримуючись „нездорових способів життя”? Цікавими є також дані про позитивну кореляцію між рівнем вітаміну D в організмі людей і довжиною теломер лейкоцитів крові, що підтверджує думку про позитивний вплив вітаміну D на процеси старіння тканин та на захворювання, пов’язанні із старінням. Дуже можливо, що у майбутньому можна буде через регуляцію активності теломерази цілеспрямовано відновлювати старіючі клітини і органи чи, навпаки, припиняти ріст і розмноження клітин, що активно розмножуються.

Премія з хімії – за вивчення тонких механізмів функціонування рибосом. Вище спрощено було викладено один з механізмів, яким чином зберігається генетична інформація у хромосомах ядра клітини. Але для реалізації цієї інформації код ДНК має перетворитися у код матричної РНК, яка в свою чергу на рибосомах має транслюватися у амінокислотну послідовність відповідних протеїнів. Тобто рибосоми є своєрідною фабрикою синтезу протеїнів клітини, і для цього вони повинні реалізувати щонайменше наступні етапи синтезу протеїнів: розпізнавання і зв’язування з ініціюючим кодоном мРНК на початку синтезу протеїну, зчитування з мРНК запрограмованої послідовності протеїну; вибір правильної амінокислоти і її активація; каталітичний акт з формуванням пептидного зв’язку між амінокислотами; механічний акт пересування рибосоми по мРНК (чи „протягування” мРНК рибосомою через себе) і термінація синтезу протеїнів. Усі етапи синтезу прискіпливо регулюються за рахунок точної взаємодії відповідних атомів чи груп атомів взаємодіючих молекул. Інакше білки синтезувалися б з помилками у первинній структурі (у послідовності амінокислот), що, як правило, є неприйнятним для виконання протеїнами їхніх функцій.

Біохімічні механізми, що лежать в основі синтезу протеїнів на рибосомах, вивчаються вже на протязі біля 50 років, і за цей час накопичено багато важливих даних стосовно усіх етапів синтезу протеїнів, а також щодо структури рибосом еукаріотів і прокаріотів, мітохондрій і протопластів; великих і малих субодиниць рибосом та їх протеїнових і рибонуклеїнових складових. Зокрема, було показано, що за загальною структурою рибосоми еукаріот (80S) дуже схожі з рибосомами прокаріот (70S), що рибосоми сформовані з комплексів РНК та протеїнів (тобто вони є рибонуклеопротеїнами), мають приблизно 20 нм у діаметрі і складаються з двох субодиниць – великої та малої. Мала субодиниця рибосоми зв’язується з мРНК, а велика – з тРНК та амінокислотою. Велика субодиниця рибосоми еукаріот (60
S
) має у своєму складі три молекули рибосомальної РНК (5
S
, 28

S
і 5,8
S
) та біля 50 малих молекул протеїнів, мала субодиниця (40
S
) має одну молекулу рРНК (18
S
) і біля 33 протеїнів. Відповідно велика субодиниця бактеріальної рибосоми (50
S
) має дві молекули рРНК (5
S
і 23
S
) та 34 протеїни, а мала субодиниця (30
S
) – одну рРНК (16
S
), яка зв'язана з 21 молекулою протеїнів. Можливо ці деталі не є такими важливими для читача, але вони певною мірою віддзеркалюють великий розмір рибосом та складність їх надмолекулярної структури, необхідної для виконання чи не найважливішої функції клітини – синтезу протеїнів. Така складність структури рибосом довго не дозволяла вченим встановити тонкі деталі їх функціонування, аж поки не були розроблені методики отримання кристалів рибосом для рентген-структурного аналізу, та не з'явилися методи молекулярної чи атомної топографії для великих надмолекулярних комплексів. Прорив намітився з 2000 року, коли були опубліковані перші роботи з рентген-структурного аналізу рибосом бактерій і археа. Але цим успішним публікаціям передувало багато років тривалої і наполегливої роботи. Так, Ада Йонат на протязі біля 20 років провела декілька десятків тисяч експериментів (!), щоб отримати кристали рибосом бактерій, які були б придатними для рентген-структурного аналізу. В той же час відомо, що головною частиною аналізу є розшифровка відбитків від сотень тисяч атомів рибосоми, отриманих при опроміненні її кристалів рентгенівськими променями. Тут на допомогу потужній обчислювальній апаратурі, що використовувалася для рентген-структурного аналізу, прийшли дані електронної мікроскопії цих же кристалів. Електронна мікроскопія не мала високої розподільної здатності, але допомогла встановити загальну структуру рибосоми і, таким чином, співставити і локалізувати рентгенівські відбитки. Доктори Рамакришнан і Стейтц проводили свої дослідження на синхротроні Брукхейвінської національної лабораторії і опублікували результати своєї роботи практично одночасно з Адою Йонат у 2000 році. Якщо перші результати аналізів були з розподільчою здатністю, рівною 5 - 7 ангстремів, то потім якість підвищилася до 2,8 – 3,5 ангстремів. Особливо важливим було дослідження молекулярної структури комплексів рибосом з мРНК (сайт „Р") та тРНК (сайт „А" для аміноацил-тРНК і сайт „Е" для вільної тРНК перед її виходом з рибосоми) та виявлення просторової структури каналу, в якому знаходиться щойно синтезований протеїн. Одним із найцікавіших наслідків опублікованих робіт було те, що в активному центрі рибосоми, відповідальному за каталітичне формування пептидного зв'язку, не було знайдено рибосомальних протеїнів. Протеїни рибосом здебільшого знаходяться на їх поверхні і виконують роль стабілізатора просторової структури. Тобто

в якості ензиму пептидил-трансферази виступає рибосомальна РНК! Таким чином було спростовано ще одну з догм біохімії: „Не всі протеїни є ензимами, але усі ензими є протеїнами" і доведено, що ензиматична активність притаманна також рибонуклеїновим кислотам. Такі РНК були названі „рибозимами". Більше того, одна із сучасних гіпотез, пов'язаних із зародженням життя на землі, стверджує, що саме РНК, а не протеїни чи ДНК були першими і найважливішими макромолекулами в еволюції, які одночасно були і носіями генетичної інформації, і ензимами, активність яких була вирішальною при створенні і розмноженні первинних організмів на нашій планеті.

Знання тонкої структури і механізмів функціонування рибосом безпосередньо зв'язано з можливістю регуляції біосинтезу протеїнів у клітині і вирішенням багатьох медичних проблем. Так, більшість антибіотиків була створена таким чином, щоб антибіотики гальмували синтез бактеріальних протеїнів на бактеріальних рибосомах і не займали синтез протеїнів в клітинах організмів, де ці бактерії знаходяться. Звідси зрозуміло і чому протибактерійні антибіотики не є активними проти вірусів, – віруси не мають власних рибосом і власної протеїн синтезуючої системи, але використовують рибосоми клітин господаря, де вони розвиваються. Дані просторової структури (конформації) сайтів рибосом, що важливі для різних етапів синтезу протеїнів, дозволяють проводити сайт-специфічний синтез сполук, що стають інгібіторами процесів трансляції і, відповідно, потенційними ліками.

Відзначення Нобелівськими преміями описаних вище наукових відкриттів є ще одним свідченням того, якими важливими є такі роботи для пізнання механізмів живого, для використання досягнень науки на благо людства та якої великої уваги приділяється у світі сучасним медико-біологічним дослідженням. До цього можна додати, що нещодавно було зроблене відкриття "RNA interference" тобто процесу „сайленсінгу" (чи інтерференції) синтезу протеїнів на рибосомах за рахунок двоспіральних „малих інтерферуючих" РНК, або мікроРНК, яке було відзначене Нобелівською премією 2006 року. Це відкриття також створює можливості цілеспрямованої регуляції, зокрема гальмування, синтезу окремих протеїнів і лікування багатьох захворювань людини, тварин і рослин.

Академік НАН України С. Комісаренко

Відділ молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України