

Нобелевская премия по физиологии или медицине 2009 года

Нобелевская премия 2009 года присуждена трем американским ученым — Элизабет Блэкберн, Кэрол Грейдер и Джеку Шостаку — «за открытие механизма защиты хромосом теломерами и фермента теломеразы».

Интерес к теломерам возник в 1930 г., после того, как Б. Макклиток и Г. Мюллер заметили, что концы хромосом играют какую-то защитную роль. Б. Макклиток отметила, что хромосомы, лишённые концевых участков, становятся липкими, слипаются и рвутся. Г. Мюллер ввел термин «теломеры» — от греческих *telos* (конец) и *meros* (часть). Уже в те годы было высказано предположение, что теломеры защищают хромосомы от деградации.

Э. Блэкберн и Дж. Шостак впервые экспериментально доказали, что уникальная последовательность ДНК, содержащаяся в теломерах, служит для защиты хромосом. К. Грейдер и Э. Блэкберн показали, что фермент теломераза может удлинять теломеры.

В начале 1970-х Дж. Уотсон, расшифровавший структуру ДНК вместе с Ф. Криком, указал на то, что теория репликации ДНК не учитывает роль концов нитей ДНК. Согласно теории, при повторных репликациях нити ДНК должны каждый раз укорачиваться, а гены и клетки постепенно повреждаться.

При делении клетки нити ДНК в хромосоме расплетаются, и каждую копирует фермент ДНК-полимераза. Одна нить (лидирующая) копируется сразу целиком, другая копируется короткими участками, пробелы между которыми затем заполняются с участием праймеров. Пробел в самом конце ДНК не может быть заполнен, и новая нить ДНК получается короче оригинала. Поэтому при каждом делении клетки хромосомы должны становиться короче и в конце концов уничтожаться. В действительности этого не происходит. Вопрос заключался в том, как клетки избегают укорочения ДНК. За решение проблемы концевой репликации в 2009 году и присуждена Нобелевская премия.

Первые исследования в этом направлении принадлежат Э. Блэкберн. Она защитила докторскую диссертацию в Англии, в лаборатории Ф. Сенджера в Кембридже, и освоила разработанный там новый метод определения последовательности ДНК. Поступив в 1975 г. в Йельский университет (США), она использовала этот метод для анализа ДНК пресноводной инфузории *Tetrahymena*, геном которой состоит из множества мини-хромосом (срав-



Elizabeth H. Blackburn (University of California, San Francisco, CA, USA; род. в 1948, Хобарт, Тасмания, Австралия)
Нобелевская премия



Carol W. Greider (Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA; род. в 1961, Сан-Диего, Калифорния, США)
Нобелевская премия



Jack W. Szostak (Harvard Medical School; Massachusetts General Hospital, Boston, MA, USA; Howard Hughes Medical Institute; род. в 1952, Лондон, Англия)
Нобелевская премия

нительно коротких линейных ДНК). В концах мини-хромосом (в теломерах) Э. Блэкберн нашла короткую последовательность ДНК, ССССАА, которая в разных хромосомах повторялась от 20 до 70 раз. Эта последовательность не реплицировалась обычным путем при репликации хромосом, а добавлялась к уже готовой копии хромосомы. Как это происходило, известно не было. В 1980 г. Блэкберн делала доклад о *Tetrahymena* на научной конференции. Одним из слушателей был Дж. Шостак. Он работал с дрожжами, вводя в них искусственные линейные ДНК, но в дрожжах ДНК быстро разрушалась и не функционировала. Шостак предложил Блэкберн провести совместный эксперимент: защитит ли теломерная последовательность из

Tetrahymena его искусственные гены от разрушения в дрожжах? Решили попробовать.

Блэкберн выделила теломерную последовательность из *Tetrahymena*, а Шостак сшил ее с искусственной ДНК и вставил в клетки дрожжей. В 1982 г. они опубликовали результаты: теломеры защищали искусственную ДНК от деградации.

Стало ясно, что с уникальной последовательностью ДНК связаны защитные свойства теломер. Тот факт, что теломерная ДНК одного организма, одноклеточных инфузорий *Tetrahymena*, защищает ДНК в совершенно другом организме, дрожжах, указал на то, что это был фундаментальный механизм, общий для широко различающихся между собой видов.

Вскоре Шостак идентифицировал у дрожжей собственные теломерные последовательности. Для этого он удалял из искусственной ДНК одну из пришитых теломер, созданных с Блэкберн, и заменял ее различными фрагментами ДНК, выделенной из дрожжевых клеток. Большинство таких конструкций деградировало. Но в конце концов он нашел последовательность дрожжевой ДНК, которая стабилизировала искусственную ДНК в дрожжевых клетках. Это также была короткая повторяющаяся последовательность ДНК, похожая на найденную в *Tetrahymena*. Это оказалось правилом для теломер большинства растений и животных — от амёбы до человека. Теперь известно, что с этими ДНК-повторами связываются специфические белки, образующие защитный колпачок на хрупком конце ДНК. Без защитного покрытия концы ДНК склеиваются, приводя к слиянию хромосом.

Исследовав ДНК, которая находилась в дрожжевых клетках некоторое время, Блэкберн и Шостак обнаружили, что теломеры становились больше. Оказалось, что теломеры могут как увеличиваться, так и уменьшаться. Как и предсказывал Джеймс Уотсон, во время деления клетки молекулы ДНК укорачиваются, но, как оказалось, могут и удлиняться путем добавления ДНК-последовательностей.

Открытие теломераз, осуществляющих достройку концов ДНК, сделала К. Грейдер [4, 5]. К экстракту из *Tetrahymena* Грейдер и Блэкберн и добавили теломерные ДНК-последовательности и радиоактивно меченные нуклеотиды (из которых строится ДНК). Если бы экстракт содержал только обычные ДНК-полимеразы, ничто не должно было случиться. Но если в нем содежался какой-то особый фермент, обеспечивающий достраивание теломер, то теломеры удлинились бы, включив в свой состав меченые нуклеотиды. В результате в 1984 г. Грейдер получила доказательство наличия нового фермента. Фрагменты ДНК, идентичные друг другу

перед добавлением к экстракту, были теперь разной длины и содержали меченые нуклеотиды в той последовательности, которая характерна для теломер *Tetrahymena*. Новый фермент был назван теломеразой. Блэкберн и Грейдер предложили модель теломеразы. Подобно другим ДНК-полимеразам, фермент имеет домен, синтезирующий ДНК. Особенностью теломеразы является содержащийся в ней фрагмент РНК, который имеет такую же последовательность, как один из ДНК-сегментов в теломере. Т. е. теломераза несет встроенную программу для теломеры, которую она строит. Доказательство было получено Блэкберн и ее сотрудниками и другим путем: они вносили мутации в РНК теломеразы и показали, что соответствующие изменения происходят в ДНК теломер, синтезируемых ферментом.

Группа Шостака впервые начала изучать роль теломер в жизни клеток, идентифицировала мутации в дрожжевых клетках, которые приводят к постепенному укорочению теломер, и показала, что это приводит к остановке деления [7]. Группа Блэкберн показала то же с помощью мутаций в РНК теломеразы *Tetrahymena*. В обоих случаях клетки быстро старели. Был сделан вывод, что теломера защищает хромосому от повреждения и замедляет старение клетки. В 1988 г. похожие ДНК-последовательности были открыты в теломерах человека.

Одним из предшественников этих открытий был советский ученый Алексей Матвеевич Оловников, опубликовавший в 1971 г. теоретическую статью, в которой выдвинул теорию маргинотомии (краеусечения), предсказывавшую и объяснявшую причину укорочения концов хромосом при старении клеток [1, 3]. А. М. Оловников стремился объяснить экспериментальные данные Леонарда Хайфлика о существовании лимита клеточных удвоений (число Хайфлика). Так, клетки кожи новорожденного ребенка могут делиться 80–90 раз в культуре *in vitro*, в то время как клетки 70-лет-

него человека — только 20–30 раз. А. М. Оловников предположил, что хромосомы укорачиваются каждый раз, когда клетка делится, и что причиной прекращения репликации является уменьшение длины хромосомы ниже критического предела. В 2009 г. А. М. Оловников, работающий в Институте биохимической физики РАН (Москва), также выдвигался на Нобелевскую премию, но, по решению Нобелевского комитета, не был включен в число лауреатов, т. к. его проницательная догадка, которой отдают должное и Л. Хайфлик, и нынешние лауреаты, была изложена в единственной, пусть и гениальной, статье, тогда как американские исследователи посвятили вопросу много лет.

Открытие теломеразы стимулировало новое направление исследований в онкологии и геронтологии. 80–90% всех раковых клеток имеют аномально высокую активность теломеразы. Это сохраняет их от потери теломер, несмотря на многие циклы репликации. В центре интенсивных исследований — роль теломер в старении. Ряд работ посвящен теломерам и теломеразам в иммунной системе [2, 6, 8, 9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Оловников А. М. Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов. // Доклады АН СССР. — 1971. — Т. 201. — С. 1496–1499.
2. Оловников А. М. Иммунный ответ и процесс маргинотомии в лимфоидных клетках // Вестник АМН СССР. — 1972. — № 12. — С. 85–87.
3. Оловников А. М. Редусомная гипотеза старения и контроля биологического времени в индивидуальном развитии // Биохимия. — 2003. — Т. 68, вып. 1. — С. 7–41.
4. Greider C. W., Blackburn E. H. A telomeric sequence in the RNA of *Tetrahymena* telomerase required for telomere repeat synthesis // Nature. — 1989. — Vol. 337. — P. 331–337.
5. Greider C. W., Blackburn E. H. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts // Cell. — 1985. — Vol. 43. — P. 405–413.
6. Kaszubowska L. Telomere shortening and ageing of the immune system // J. Physiol. Pharmacol. — 2008. — Vol. 59, suppl. 9. — P. 169–186.
7. Szostak J. W., Blackburn E. H. Cloning yeast telomeres on linear plasmid vectors // Cell. — 1982. — Vol. 29. — P. 245–255.
8. Weng N. P., Palmer L. D., Levine B. L. et al. Tales of tails: regulation of telomere length and telomerase activity during lymphocyte development, differentiation, activation, and aging // Immunol. Rev. — 1997. — Vol. 160. — P. 43–54.
9. Weng N. P. Telomere and adaptive immunity // Mech. Ageing Dev. — 2008. — Vol. 129, № 1–2. — P. 60–66.