

## Клонировать эмбрион человека помог... кофеин

Стволовые клетки представляют собой уникальный инструмент для изучения патогенеза заболеваний человека, тестирования новых лекарств, а также могут быть использованы в области заместительной клеточной терапии. Особое место среди известных на сегодня типов стволовых клеток человека занимают эмбриональные стволовые клетки. Дело в том, что они обладают плюрипотентностью, т.е. способностью порождать клетки всех тканей организма, что делает их неисчерпаемым источником для использования в клеточных технологиях. Поэтому неудивительно, что четвертое место в десятке самых важных научных результатов 2013 г. журнал «Science» отдал исследованиям по выделению стволовых клеток из человеческого эмбриона, клонированного с помощью техники, которая применялась для создания знаменитой овечки Долли

Получению эмбриональных стволовых клеток человека и работе с ними всегда сопутствовали проблемы этического характера, связанные с гибелью эмбриона. Именно поэтому поиск альтернативных методов получения эмбриональных стволовых клеток – очень актуальная задача, которую на протяжении нескольких десятилетий пытались решить многие исследовательские группы по всему миру. Клонирование эмбриона – один из вариантов решения проблемы. При этом использовалась базовая методика переноса ядра соматических клеток в яйцеклетку: с помощью этого же метода в 1996 г. появилось на свет первое клонированное животное – овца Долли.

Суть метода состоит в том, что из яйцеклетки извлекают клеточное ядро и вводят в нее ядро обычной соматической клетки. Так как структура ДНК в процессе развития не меняется, а меняются только «настройки», то ДНК, введенная в яйцеклетку, под действием нового молекулярного окружения способна приобретать свойства эмбриональной. При этом активируются все необходимые для эмбрионального развития гены, и яйцеклетка начинает развиваться. Клетки такого развивающегося эмбриона являются по определению стволовыми, однако генетический материал в них не исходный, а «подсадной».

Несмотря на внешнюю простоту метода, повторить эксперимент с овцой Долли или провести аналогичный долгое время не удавалось. Только спустя десятилетие, в 2007 г. были опубликованы результаты успешных экспериментов по переносу ядра соматических клеток в яйцеклетку, сделанные на макаках (Вугне *et al.*, 2007). И, наконец, в 2013 г. группа авторов во главе с Ш. Миталиповым обнародовала данные экспериментов по выделению эмбриональных стволовых клеток из клонированного человеческого эмбриона с помощью модифицированной методики. В частности, добиться правильной активации и развития яйцеклетки, в которую пересадили ДНК

**Ключевые слова:** эмбриональные стволовые клетки, клонирование, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, плюрипотентность.

**Key words:** embryonic stem cells, cloning, induced pluripotent stem cells, pluripotency



ВАСЬКОВА Елена Андреевна – младший научный сотрудник Института цитологии и генетики СО РАН и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. академика Е. Н. Мешалкина. Автор и соавтор 4 научных работ



ДЕМЕНТЬЕВА Елена Вячеславовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института цитологии и генетики СО РАН и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), ведущий научный сотрудник Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. академика Е. Н. Мешалкина. Автор и соавтор 14 научных работ

© Е. А. Васькова, Е. В. Деметтьева, 2014

из соматической клетки, помогло использование определенной дозы кофеина (Tachibana *et al.*, 2013).

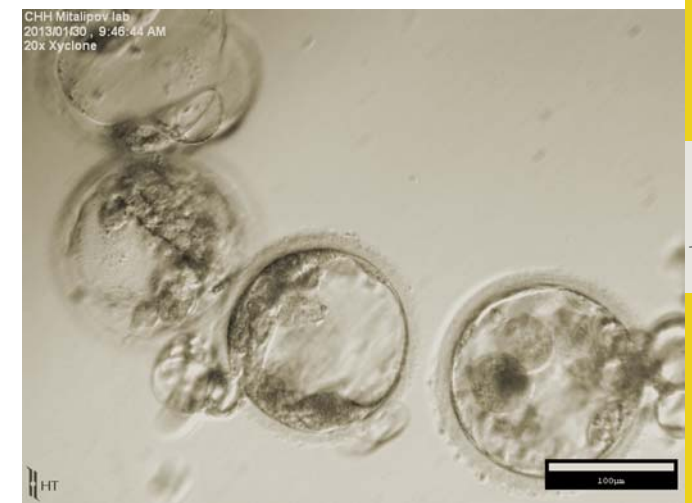
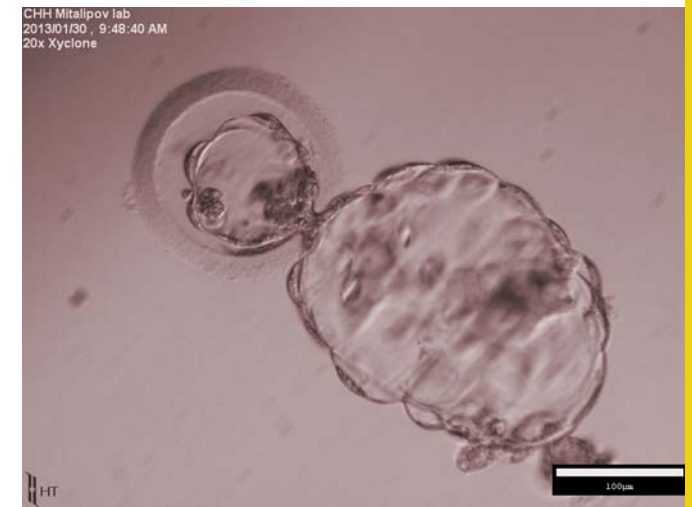
Методика клонирования эмбриона конкурирует с другой технологией получения стволовых клеток – методом получения плюрипотентных стволовых клеток человека из соматических клеток путем активации в них экспрессии определенного набора генов. Возникающие в результате такого «репрограммирования» клетки называют индуцированными плюрипотентными стволовыми клетками (ИПСК). По своим свойствам они сходны с эмбриональными стволовыми клетками, а методика их получения не требует использования эмбрионов. ИПСК могут быть получены в любой момент времени и из клеток любого человека, в том числе страдающего какими-либо заболеваниями.

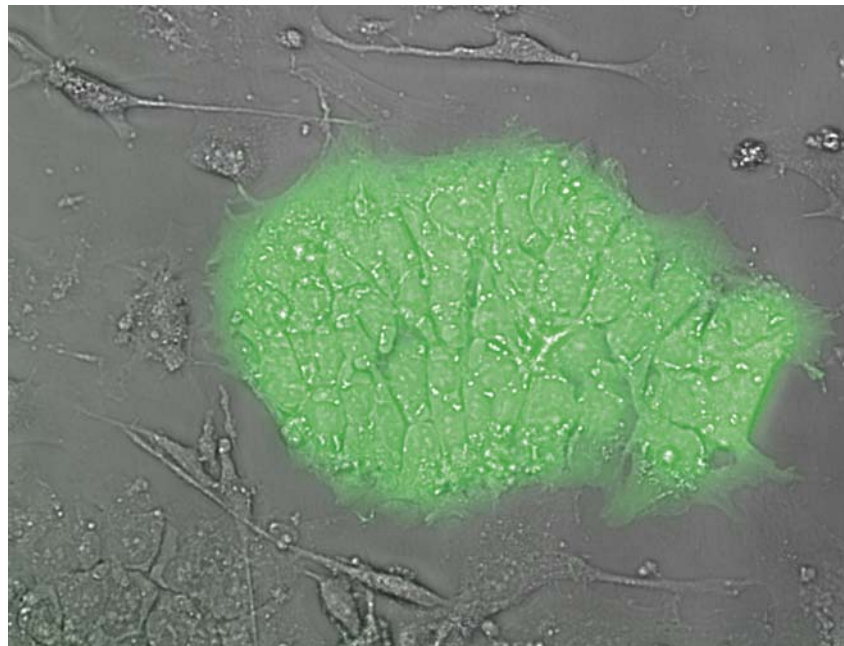
Эта технология, впервые обнародованная в 2007 г., к настоящему времени получила достаточно широкое распространение. Были получены десятки линий ИПСК из различных типов соматических клеток, при этом применялись разные подходы для инициации их «перепрограммирования».

Например, группа новосибирских исследователей из Института цитологии и генетики и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения имени академика Е. Н. Мешалкина получила ИПСК из клеток кожи и нейральных стволовых клеток человека. Эти клетки удалось успешно подвергнуть направленной хондрогенной дифференцировке, в результате чего они сформировали функциональную хрящевую ткань (Медведев и др., 2010; Medvedev *et al.*, 2011). Такой подход открывает новые перспективы для использования в заместительной клеточной терапии ИПСК, полученных из собственных соматических клеток больного.

Тот же научный коллектив активно ведет работы, связанные с использованием ИПСК для моделирования

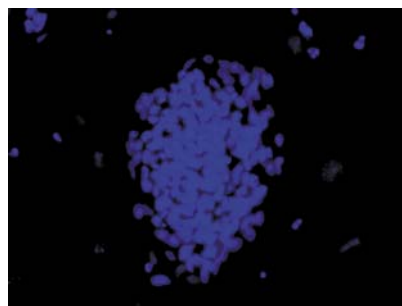
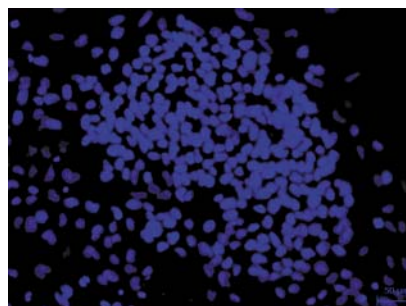
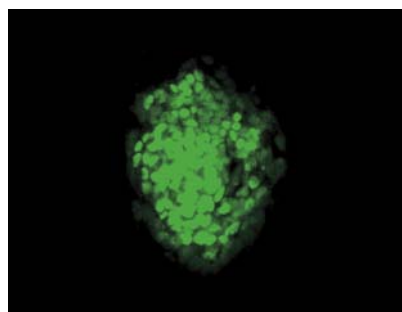
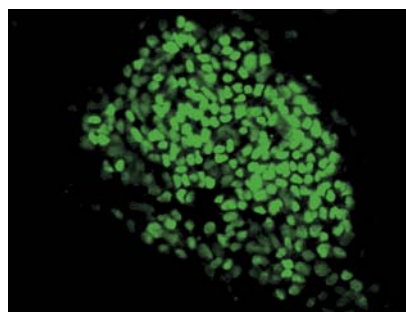
На этих уникальных фотографиях представлены бластоцисты – результат дробления яйцеклетки на ранней стадии развития зародыша млекопитающего. Для получения яйцеклеток использовалась методика переноса ядра соматических клеток. Такие клонированные человеческие эмбрионы можно использовать для приготовления линий стволовых клеток, ориентированных на конкретного пациента. Credit: Shoukhrat Mitalipov, Oregon National Primate Research Center, Oregon Health & Science University





Эмбриональные стволовые клетки человека, экспрессирующие зеленый флуоресцирующий белок.  
Флуоресцентная микроскопия. Фото А. И. Шевченко и И. С. Захаровой

Зеленое свечение этих индуцированных плюрипотентных стволовых клеток подтверждает, что в них экспрессируется ген NANOG – основной маркер плюрипотентности стволовых клеток, т. е. способности дифференцироваться во множество специализированных типов клеток. Синим цветом окрашены ядра клеток.  
Флуоресцентная микроскопия. Фото А. И. Шевченко и И. С. Захаровой



наследственных сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний. В этом случае получают линии ИПСК от пациентов с определенными генетическими нарушениями и используют их для изучения механизмов возникновения болезней и поиска наиболее эффективных методов лечения.

Но несмотря на все преимущества, ИПСК имеют существенный недостаток: по своим свойствам они не полностью идентичны эмбриональным стволовым клеткам. Эти различия могут быть следствием как неполного репрограммирования, так и сохранения некоторых черт соматических клеток-прародителей. Все это может стать препятствием на пути применения ИПСК в медицине.

Кроме того, такие клетки нельзя использовать для терапии заболеваний, обусловленных нарушениями в ДНК митохондрий – «энергетических фабрик», располагающихся в цитоплазме клетки и имеющих собственный генетический материал. В этом смысле технология клонирования эмбрионов имеет явное преимущество, ведь при таком клонировании в яйцеклетку переносится только ядерная ДНК. Поэтому, используя яйцеклетку, несущую здоровую митохондриальную ДНК, можно получить полностью здоровые пациент-специфичные эмбриональные стволовые клетки.

Однако несмотря на все преимущества методики клонирования эмбриона, ее практическое применение пока остается под большим вопросом, в первую очередь из-за больших технических сложностей. Всестороннего изучения требует и вопрос соответствия таких клонированных клеток эмбриональным стволовым клеткам уже существующих линий. Ответ на этот вопрос может стать ключевым для определения дальнейших перспектив применения новой технологии в регенеративной медицине.