

# Zrele telesne celice lahko reprogramiramo, da postanejo mnogozmogljive

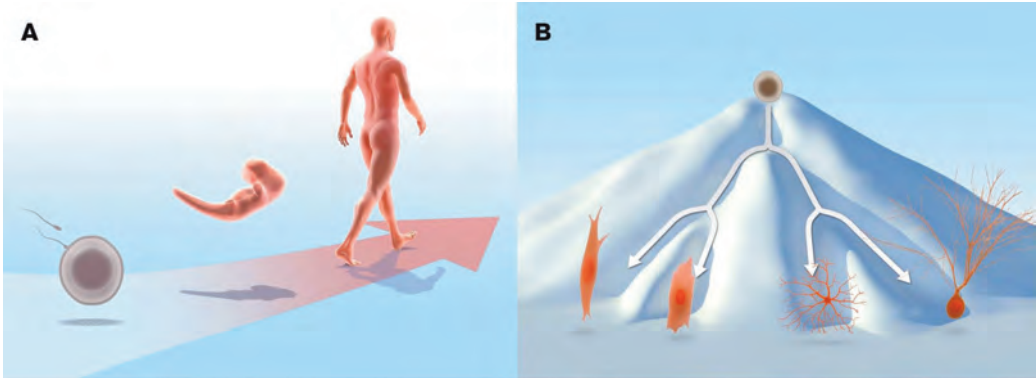
*Radovan Komel*

Lansko Nobelovo nagrado za medicino sta 10. oktobra leta 2012 prejela devetinsemdesetletni dr. John B. Gurdon z Inštituta Gurdon v Cambridgeu v Veliki Britaniji in petdesetletni dr. Sinja Jamanaka z Univerze v Kjotu na Japonskem, hkrati tudi raziskovalec na Inštitutu Gladstone v San Franciscu v Združenih državah Amerike. Prestižno priznanje sta dobila za odkritje, da odrasle, diferencirane telesne celice lahko reprogramiramo v stanje mnogozmogljivih (pluripotentnih) matičnih celic.

Ko se združita moška in ženska spolna celica (semenčica in jajčece), nastane iz dveh haploidnih genomov (po en niz kromosomov) diploidni genom oplojenega jajčeca, zigote (dva niza kromosomov, materin in očetov). Oplojeno jajčece in zgodnji zarodek, ki se med potovanjem po jajcevodu deli, so vsezmogljive, »totipotentne« celice, saj iz njih nastanejo vsi celični tipi napredovallega zarodka in v nadaljevanju diferencirane celice tkiv in organov osebka kot tudi tkiv, ki obdajajo zarodek (na primer posteljica). V začetku je število teh vsezmogljivih »izvornih celic« majhno, vendar hitro narašča in po nekaj dneh, pred vgnezditevjo v steno maternice, jih je lahko že sto ali več. Še vedno so vse enake, nediferencirane, in skupaj sestavljajo tako imenovano »blastocisto«, v kateri pa se že začnejo razporejati v več slojev; notranjo celično maso sestavljajo »mnogozmogljive«, »pluripotentne« zarodkovne matične celice, iz zunanjega sloja pa se razvijejo celice tkiv, ki obdajajo zarodek. Notranje zarodkovne matične celice so mnogozmogljive zato, ker se lahko razvijejo v vse tipe telesnih celic kot tudi spolnih celic

odraslega organizma. Tiste celice, ki so bolj na površini, sprejemajo signalne molekule neposredno iz krvnožilja matere. Te molekule sporočajo, kateri geni naj se izražajo. V naslednjem sloju sprejemajo celice že nekoliko »prefiltrirane« signale, poleg njih pa tudi signale, ki jih izločajo celice površinskega sloja. Ker se celice v različnih slojih tako znajdejo v različnih molekularnih okoljih, začnejo izražati različne gene in se zato spreminjajo po obliki in aktivnosti – diferencirajo v različne celične tipe, tkiva in organe. V njih so aktivna stikala (promotorji) nekaterih genov, promotorji nekaterih drugih pa ne več, ker ne prejemajo več ustreznih molekularnih sporočil (rastnih dejavnikov, hormonov ... in posledično transkripcijskih dejavnikov oziroma aktivatorjev izražanja genov) ali pa so med razvojem zarodka doživeli kemijske spremembe (na primer metilacija nukleotidov). Pravimo, da so »zgodnji geni« opravili svojo vlogo in so pri odraslem organizmu »blokirani« oziroma »zaklenjeni«. Do nedavnega je veljalo, da do povratka njihove aktivnosti ne more več priti.

Nekatere telesne celice odraslega organizma so vseeno še vedno lahko »večzmogljive«, na primer mnogozmogljive matične celice kostnega mozga, iz katerih se lahko razvijejo različne vrste krvnih celic, nekatere so »enozmogljive« (unipotentne) – take so »odrasle matične celice« tkiv, ki so potrebne za regeneracijo ob poškodbah, saj ob delitvi proizvedejo po eno matično celico in eno celico regenerirajočega se tkiva –, večinoma pa so »ničelno zmogljive«, gre za popolnoma diferencirane celice tkiv in organov. Pred nekaj leti nas je osupnila vest o kloni-



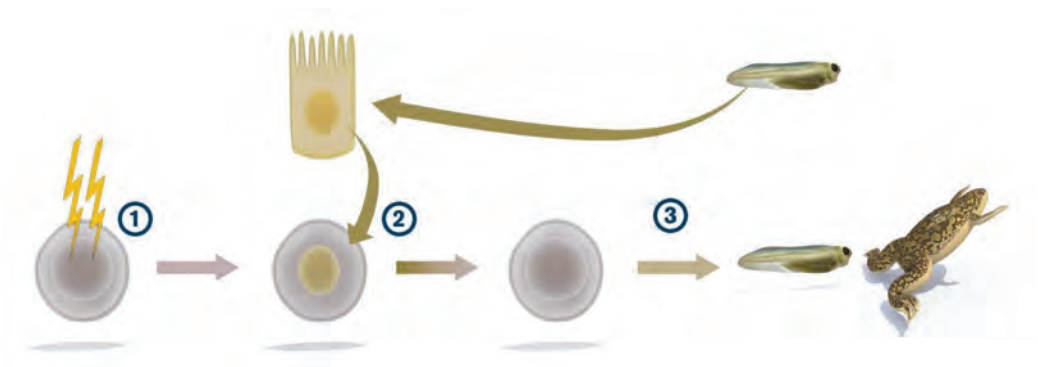
**A:** Razvoj človeškega bitja iz oplojenega jajčeca je enosmerni proces: oplojeno jajčece – zarodek – odrasla oseba.

**B:** Ilustracija nepovratnosti celične diferenciacije: na vrhu je mnogozmogljiva matična celica, prikazana kot frnikola. Te se lahko valijo navzdol po različnih dolinah, med potovanjem se različno »obrusijo« in nazadnje končajo na dnu kot različno diferencirane celice. V običajnih razmerah se ne morejo spontano vračati navzgor, da bi se ponovno povrnile v izhodiščno stanje »frnikole«. »Na dnu« (končno, diferencirano stanje) pa tudi ne morejo preskakovati iz »doline v dolino«, da bi se spreminjale iz ene vrste celic (celične linije) v drugo. Vir ilustracije: Waddington, C. H., 1957.

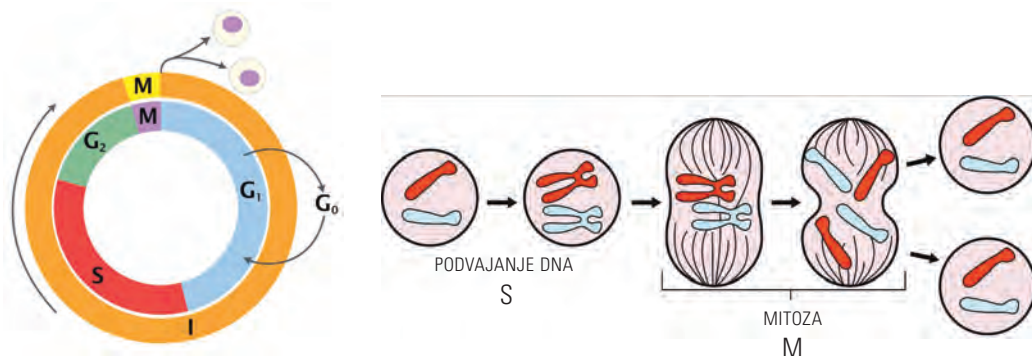
ranju prvega višjega organizma iz jedra telesne celice, ovce Dolly. Do tedaj je veljalo prepričanje, da odraslih telesnih celic, ko so enkrat že diferencirane, ni več mogoče povrniti nazaj in iz njih ponovno ustvariti živ organizem. To prepričanje je sicer že davnega leta 1962 omajal prav John B. Gurdon, ko je v brezjedrno jajčece afriške žabe krempjarke vnesel jedro črevesne epitelijske celice paglavca; jedro jajčeca je predhodno uničil z obsevanjem z ultravijoličnimi žarki. Ugotovil je, da so se iz številnih tako

pripravljenih jajčec razvili živi, plavajoči paglavci, kar je pomenilo, da je prišlo do reprogramiranja jedra odrasle telesne celice – jedro se je po prenosu v okolje jajčne celice iz stanja »enozmogljivosti« (»unipotentnosti«) povrnilo v stanje »mnogozmogljivosti« (»pluripotentnosti«).

V nadaljevanju poskusov mu je uspelo podoben rezultat dobiti tudi z uporabo jeder iz telesnih celic odrasle žabe, vendar je večina znanstvene skupnosti dolga leta težko



Gurdonov poskus kloniranja žabe leta 1962.



Shematski prikaz celičnega cikla: Zunanji krog: I = interfaza, M = mitoza.

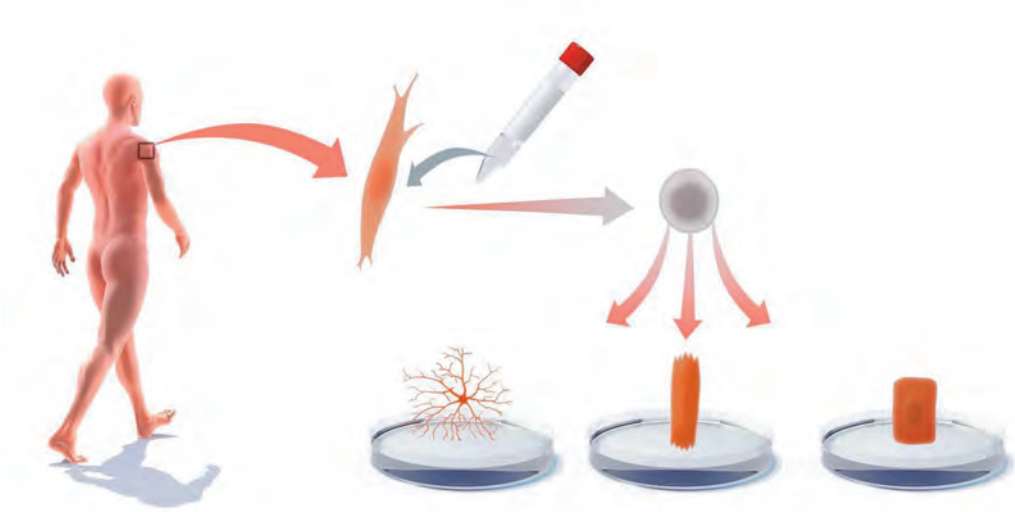
Notranji krog: G<sub>1</sub> = faza rasti G<sub>1</sub> (v tej fazi poteka intenzivna izgradnja celičnih sestavin, celica raste); S = faza podvajanja DNA oziroma kromosomov; G<sub>2</sub> = faza rasti G<sub>2</sub> (v tej fazi poteka sinteza sestavin delitvenega vretena in drugih dejavnikov, potrebnih za delitev celice); M = mitoza (rast celice se ustavi in delitev celice se izvrši); G<sub>0</sub> = stanje ničelne rasti oziroma mirovanja: večina popolnoma diferenciranih, redko deležih se celic organizma navadno vstopi v to fazo in v njej, v stanju mirovanja, ostanejo daljša časovna obdobja (do spodbude za naslednjo celično delitev), nekatere v tem stanju ostanejo celo za stalno (na primer nevroni). Ian Wilmut je pri kloniranju ovce Dolly uporabil jedro telesne celice v stanju mirovanja, s čimer ga je »synchroniziral« z začetnim stanjem pri razvoju zarodka.

pristajala na tako rušenje zasidrane dogme o nepovratnosti diferenciranega stanja – vse do ovce Dolly. Za razliko od žab, katerih jajčeca so velika in razvoj zarodka poteka zunaj telesa, je kloniranje sesalca pomenilo stvaritev prve »prave živali«. Ian Wilmut je Gurdonov pristop nadgradil s tem, da je uporabil jedro telesne celice v stanju mirovanja, s čimer ga je »synchroniziral« s stanjem začetnega zarodka.

Od takrat so s prenosom jedra telesnih celic v izpraznjene jajčne celice uspešno klonirali večje število živalskih vrst, še vedno pa je ostalo odprto vprašanje, ali lahko sprožimo tudi povratek celovito diferencirane celice v nezrelo izhodiščno stanje. Odgovor je leta 2006 dal Šinja Jamanaka, ki je v jedrni genom celice kožnega vezivnega tkiva (fibrblastov) vstavil gene za transkripcijske proteinske dejavnike, za katere je iz številnih predhodnih poskusov vedel, da z vezavo na ustrezne promotorje sprožijo izražanje genov v embrionalnih matičnih celicah in s tem povzročijo njihovo stanje mnogozmogljivosti (pluripotentnosti). Med temi je izbral 24

transkripcijskih dejavnikov, za katere je vedel, da v primeru umetne združitve (fuzije) embrionalne matične celice z neko odraslo, popolnoma diferencirano telesno celico v tej spodbudijo in vzdržujejo stanje mnogozmogljivosti. Kolonije celic, ki so po vnosu genov za omenjene transkripcijske dejavnike in posledično njihov pojav zrasle iz fibroblastov, so kazale vse znake embrionalnih matičnih celic. V nadaljevanju poskusov je zmanjševal število potrebnih genov oziroma proteinskih dejavnikov in na koncu ugotovil, da za preobrazbo mišjih embrionalnih fibroblastov v mnogozmogljive matične celice zadostujejo že štirje izbrani transkripcijski dejavniki. Jamanakovo odkritje je resnično revolucionarno, saj je bilo prvič v zgodovini znanosti mogoče diferencirano telesno celico reprogramirati v mnogozmogljivo »inducirano matično celico« (angl. *induced pluripotent stem cel, iPS*).

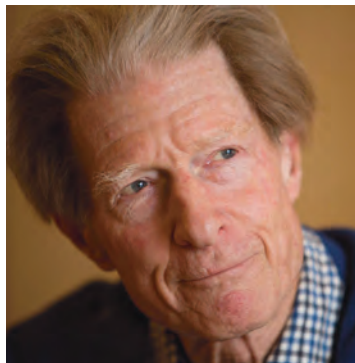
Kaj to pomeni za medicino? Ob velikih možnostih ustvarjanja celičnih modelov za učinkovitejše preučevanje molekularnih osnov zapletenih bolezni kot tudi biokemij-



*Možnosti celične oziroma tkivne terapije. Bolniku odvzamemo nekaj diferenciranih telesnih (na primer kožnih) celic in jih reprogramiramo v inducirane mnogozmogljive (iPS) celice, ki jih nato v laboratoriju (in vitro) z izbranimi spodbudili (molekulami, načini gojenja ...) usmerimo oziroma diferenciramo v želeni specializirani celični tip, kot so nevroni, celice srčne mišice (kardiomiociti), jetrne celice (hepatociti) in podobno, odvisno od bolezni oziroma obolelega/okvarjenega tkiva, ki ga pri bolniku želimo nadomestiti. Ker gre za celice njegove genetske zasnove, jih njegov organizem po presaditvi ne bo zavmil.*

skih oziroma fizioloških učinkov zdravljenja med razvijanjem novih zdravil zagotovo tudi ustvarjanje tkiv in v prihodnosti tudi organov za presajevanje, s čimer se izognemo etičnim zadržkom ob pridobivanju mnogozmogljivih matičnih celic s kloniranjem ali z uporabo zgodnjih zarodkov iz oploditve z biomedicinsko pomočjo. V obeh primerih moramo namreč izhajati iz zarodka, ki je vedno sam po sebi lahko izhodišče za novo bitje - klon darovalca telesne celice oziroma njenega jedra (kar je že v zasnovi dejanja etično sporno) oziroma »otroka iz epruvete« v drugem primeru. Večina družbenih okoliščin tudi zavrača možnost uporabe jajčec in ustvarjanja zarodkov za pridobivanje zarodkovih matičnih celic, ki so bile do odkritij, okronanih z lansko Nobelovo nagrado, sicer nujno potrebne za poskuse ustvarjanja diferenciranih telesnih celic oziroma celičnih linij in tkiv za presajevanje. Znanost gre skokovito naprej in v zadnjih letih so raziskave

usmerili v iskanje čim manjšega števila in čim bolj preprostih molekul, s katerimi je mogoče v telesno celico uvesti mnogozmogljivost, najbolj obetavni pa so poskusi neposrednega spreminjanja celic, brez potrebe predhodnega ustvarjanja mnogozmogljivosti - tako imenovani poskusi »transdiferenciacije«. Pri teh poskusih poskušamo, s pravilnim izborom omejenega števila specifičnih transkripcijskih dejavnikov, izbrani celični tip (na primer kožno celico) neposredno, brez potrebe po nediferenciranih matičnih celicah, pretvoriti v drug celični tip (na primer živčno celico). Zdi se, da so se na široko odprla vrata za učinkovito celično in tkivno nadomestno zdravljenje zapletenih bolezni (na primer nevrodegenerativnih bolezni, bolezni presnove, bolezni srca in ožilja, raka ...) kot tudi za nadomeščanje ob nesrečah izgubljenih tkiv in organov, ki jih organizem bolnika ne bo zavračal.



Sir John B. Gurdon, rojen leta 1933 v Dippenhallu v Veliki Britaniji. Raziskuje in je profesor na Inštitutu Gurdon v Cambridgeu v Veliki Britaniji.



Šinja Jamanaka, rojen leta 1962 v Osaki na Japonskem. Raziskuje in je profesor na Univerzi v Kyotu na Japonskem in na Inštitutih Gladstone v San Franciscu v Kaliforniji v Združenih državah Amerike.

Viri:

Nobelprize.org – The Official Web Site of the Nobel Prize: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012. *Advanced Information - Scientific Background: Mature cells can be reprogrammed to become pluripotent.* [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2012/advanced-medicineprize2012.pdf](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/advanced-medicineprize2012.pdf)

Komel, R., 2012: Zrele telesne celice lahko postanejo pluripotentne. Nobelova nagrada za fiziologijo in medicino 2012. Na široko odprta vrata za nadomestno zdravljenje zapletenih bolezni. Delo, 2012, letnik 54, številka 118, priloga Znanost, stran 14.

Waddington, C. H., 1957: *The Strategy of the Genes; a Discussion of Some Aspects of Theoretical Biology.* Allen & Unwin.

Wikipedia: Cell Cycle; [http://en.wikipedia.org/wiki/Cell\\_cycle](http://en.wikipedia.org/wiki/Cell_cycle)

Jakob Johann von Uexküll – opazovalec in razlagalec življenja • Iz zgodovine naravoslovja

## Jakob Johann von Uexküll – opazovalec in razlagalec življenja

Kazimir Tarman

Karkoli pride od Uexkülla, je vedno *ab origine*.

(Hans Driesch, iz K. Kull, 1998.)

Biolog Jakob von Uexküll se je rodil 8. septembra leta 1864 v Mihkliju (estonsko ime za nemški St. Michaelis) v dvorcu Keblaste v stari baltskonemški plemiški družini. Prednik iz 16. stoletja je bil danski guverner v Oslu. Njegov glavni prispevek znanosti je bil usmerjen v raziskovanje okolja (nemško

*Umwelt*), kot ga zaznavajo živali. Na njegovem razumevanju tega pri živalih z različno evolucijsko razvojno stopnjo je kasneje ameriški jezikoslovec madžarskega rodu Thomas Sebeok utemeljil pojem *biosemiotika*. Iskalec nekakšnega notranjega sveta živih bitij (po Uexküllu) je tudi biolog in filozof Andreas