

**С**огласно многолетней традиции, ежегодная Нобелевская неделя началась с объявления лауреатов премии в области медицины и физиологии. В 2013 г. самая престижная научная премия вручена ученым Рэнди Шекману, Джеймсу Ротману и Томасу Зюдхофу за раскрытие внутриклеточных механизмов везикулярного транспорта. Работа, удостоенная Нобелевской премии в этом году, не является результатом одного гениального открытия, это итог многолетнего труда троих ученых, которым удалось подробно изучить один из базовых процессов в клеточной физиологии – внутриклеточный транспорт. В исследованиях новых нобелевских лауреатов объяснены особенности генетического кодирования всех компонентов системы везикулярного транспорта, представлена подробная информация о структуре и функциях транспортных белков, а также об особенностях регуляции процессов внутри- и межклеточного транспорта.

Напомним, ежегодно Нобелевскую премию в области медицины и физиологии, согласно завещанию Альфреда Нобеля, присуждают «человеку, который совершил самое важное открытие в области физиологии или медицины» в этом году. Избирает обладателей премии в данной области Нобелевская ассамблея Каролинского института (г. Стокгольм, Швеция).

В 2013 г. престижную премию разделили трое лауреатов: Рэнди Шекман, который занимался изучением генетических механизмов кодирования внутриклеточных транспортных систем, Джеймс Ротман, раскрывший биохимические механизмы внутриклеточного транспорта, и Томас Зюдхоф, изучивший особенности синаптической передачи нервного импульса. В чем же состоит вклад нобелевских лауреатов 2013 г. в развитие современной медицины? Ответ на этот вопрос мы получим, обратившись к содержанию научных работ этих выдающихся ученых.

Как известно, эукариотическая клетка представляет собой сложно организованную структуру с множеством специализированных отделов (компарментов). Необходимость возникновения внутриклеточных транспортных систем обусловлена прежде всего функциональной неоднородностью живой клетки. В частности, синтез молекул белков осуществляется на рибосомах, расположенных в цитоплазме либо на поверхности эндоплазматической сети, но сами белки используются в другом компартменте этой клетки либо секретуются за ее пределы. Транспорт молекул осуществляется посредством размещения их в пузырьки-везикулы, снабженные специальным сигнальным белком. В качестве содержимого везикул могут выступать различные молекулы: гормоны (в т. ч. инсулин), ферменты, строительные белки и др. Отдельным примером клеточного транспорта является передача сигнала между нейронами, которая осуществляется посредством выброса в синаптическую щель нейромедиаторов, размещенных в таких же везикулах. Изучение везикулярного транспорта имеет не только фундаментальное значение: сегодня известен обширный перечень заболеваний, развитие которых связано с нарушением функционирования транспортных систем, – например, к таким заболеваниям относят сахарный диабет 2-го типа и эпилепсию. Еще одним примером являются ботулизм и столбняк: токсины бактерий из рода *Clostridium* разрушают белки, участвующие в формировании везикул в синаптических щелях, в результате блокируется выброс нейромедиаторов между нейронами либо между нейроном и мышцей, что, в свою очередь, приводит к параличу.

О существовании внутриклеточного транспорта ученым было известно еще в начале XX в., однако более глубокое понимание молекулярных механизмов этого процесса появилось с выходом в свет работы Р. Шекмана в 1979 г. в журнале PNAS. Используя в качестве экспериментальной модели пекарские дрожжи, Р. Шекман вместе со своим коллегой Питером Новиком идентифицировал гены, продукты которых обеспечивают нормальный внутриклеточный транспорт. Ученые проанализировали сотни штаммов мутантных дрожжей, выбрав среди них носителей термочувствительных мутаций. Отобранные мутантные клетки при повышении температуры до 37 °C были неспособны нормально экспортировать наружу ферменты для размещения на клеточной стенке, в итоге в этих клетках начинали накапливаться везикулы, хорошо различимые в микроскоп. Проанализировав генотип мутантных штаммов, Р. Шекман идентифицировал 23 гена, детерминирующих внутриклеточный транспорт. Эти гены, в зависимости от направления транспорта веществ, ученый разделил на три группы. Разные группы генов кодировали механизмы транспорта, ассоциированного с эндоплазматической сетью, комплексом Гольджи и поверхностью клетки. В последующих работах ученый обнаружил промежуточные стадии в формировании везикул и связал их с мутациями в конкретных генах (гены были обозначены аббревиатурой *sec* – от *secretory*).

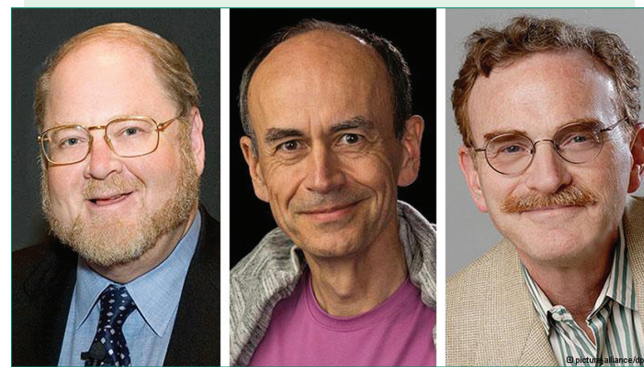
## Присуждена Нобелевская премия в области физиологии и медицины

Джеймс Ротман в своих исследованиях подошел к изучаемому вопросу с другой стороны. Через несколько лет после публикации первых работ Р. Шекмана, работая в Стэнфордской лаборатории, ученый в экспериментах *in vitro* пытался воссоздать процесс транспорта белка вируса везикулярного стоматита в исследованиях на клетках млекопитающих. Ученым был выбран для проведения испытания вирусный белок, так как при инфекции последний накапливается в клетках в больших количествах и его легко выявить. В нескольких статьях Дж. Ротман подробно описал процесс клеточного транспорта, попутно выделив ключевые компоненты, необходимые для формирования и перемещения везикул. Первым найденным белком оказался NSF (N-ethylmaleimide-sensitive factor), затем был идентифицирован SNAP (soluble NSF-attachment protein). В последующем в совместной работе Дж. Ротман и Р. Шекман установили, что белки NSF и SNAP соответствуют продуктам ранее идентифицированных вторым ученым генов *sec 17* и *sec 18*. Таким образом, оказалось, что механизм внутриклеточного транспорта универсален среди всех эукариот и почти полностью совпадает у дрожжей, и у млекопитающих.

Продолжая исследование по выделению ассоциированных с везикулами белков, Дж. Ротман обнаружил еще три ключевых белка: синаптобrevин, SNAP-25 и синтаксин (эти белки ранее были найдены другими учеными в синапсах, однако их функции оставались неизвестными). Дж. Ротман объединил ассоциированные с везикулами белки в группу SNARE (soluble NSF-attachment protein receptor). Синаптобrevин был ассоциирован с везикулами, а SNAP-25 и синтаксин – с клеточными мембранами. Это открытие позволило Дж. Ротману сформулировать SNARE-гипотезу, которая стала ключевой в объяснении принципа внутриклеточного и межклеточного транспорта. Согласно этому в процессе формирования и доставки везикул участвуют белки, относящиеся к двум группам – v-SNARE (от *vesicle* – «везикула») и t-SNARE (от *target* – «мишень»), которые специфически «узнают» друг друга. Благодаря механизму специфического узнавания обеспечивается прицельная доставка содержимого везикул точно в необходимое место. Гипотеза была подтверждена в дальнейших работах Дж. Ротмана и других научных групп. Исследования показали, что определенные рецепторы v-SNARE способны взаимодействовать с рецепторами t-SNARE только строго соответствующего типа (их известно не менее 35 разновидностей).

Нейрофизиолог Томас Зюдхоф занимался изучением механизма передачи сигнала в синапсах между нейронами. Сосредоточившись на исследовании процесса выброса нейромедиатора в синаптическую щель, ученый выявил, что молекулы нейромедиатора размещаются в везикулах и в определенное время выделяются в пространство между мембранами двух нейронов; данный процесс зависит от внутриклеточных колебаний концентрации кальция. Т. Зюдхоф сосредоточил свое внимание на двух белках: комплексе и синаптоагмине. Поскольку в начале 1990-х гг. уже получила распространение технология, позволяющая выращивать нокаутных по определенному гену животных, ученый использовал в качестве экспериментальной модели мышей с нарушенной функцией генов, кодирующих комплексин или синаптоагмин. В итоге Т. Зюдхоф определил, что упомянутые два белка реагируют на концентрацию кальция и являются «привратниками», предотвращающими постоянное неконтролируемое образование везикул. Оказалось, что синаптоагмин, с одной стороны, является сенсором кальция, а с другой – взаимодействует со SNARE-белками и запускает механизм формирования везикулы. Т. Зюдхоф также идентифицировал белок Munc18, мутация в котором соответствовала дрожжевому фенотипу *sec1-1*, описанному Р. Шекманом. Этот белок, как и семейство, к которому он принадлежит, получили общее название SM-белков (от *Sec/Munc*). Оказалось, что вместе с SNARE-белками они участвуют в процессе формирования везикул.

Таким образом, работы Р. Шекмана, Дж. Ротмана и Т. Зюдхофа стали взаимодополняющими фрагментами общей картины, описывающей транспортную систему клетки с участием пузырьков-везикул. Ученые внесли большой вклад в изучение механизмов формирования везикул, особенностей перемещения последних в пространстве и поиска мишени для доставки содержимого, а также регуляции образования и разрушения данных органелл. Более поздние исследования, которыми руководили М. Sheetz, J. Spudich, R. Vale, дополнили представления о везикулярном транспорте, показав, что везикулы внутри клетки перемещаются по цитоскелету вдоль микротрубочек и их движение осуществляется при помощи специальных моторных белков (динейна и кинезина). За изучение моторных белков и процессов внутриклеточного транспорта с их участием в 2012 г. авторам исследования была присуждена премия Ласкера.



**Джеймс Эдвард Ротман** родился 3 ноября 1950 г. в г. Хейверхилле (штат Массачусетс, США), его отец Мартин Ротман был врачом-педиатром. В 1976 г. ученый получил степень доктора философии в области биохимии в Гарвардском университете (США), а с 1978 г. начал работать на кафедре биохимии Стэнфордского университета (США), сфокусировавшись на изучении механизмов везикулярного транспорта. В течение 1988-1991 гг. Дж. Ротман работал в Принстонском университете (США), после чего основал кафедру клеточной биохимии и биофизики в Онкологическом центре Слоана-Кеттеринга в г. Нью-Йорке (США), затем занял должность вице-председателя института при центре. В настоящее время является профессором Йельского университета (США), где возглавляет кафедру клеточной биологии в Йельской школе медицины, а также является директором Института нанобиологии в Йельском западном кампусе.

**Томас Кристиан Зюдхоф** родился 22 декабря 1955 г. в г. Гёттингене (Германия). Учился в Рейнско-Вестфальском техническом университете в г. Ахене (Германия), Гёттингенском университете (Германия) и Гарвардском университете (США). В отличие от коллег – лауреатов премии, он получил степень доктора медицины в 1982 г., а затем ученую степень в области нейробиологии. Однако Т. Зюдхоф недолго занимался исследованиями в родной стране – уже в 1983 г. в рамках постдокторантуры работал в Юго-Западном медицинском центре Техасского университета в г. Далласе (США) вместе с Майклом Брауном и Джозефом Голдстейном – лауреатами Нобелевской премии 1985 г., получившими награду за изучение метаболизма холестерина. В рамках этих исследований Т. Зюдхофу удалось клонировать рецептор липопротеинов низкой плотности. После этого ученый занялся исследованием молекулярной основы передачи сигналов в нервной системе и в 1991 г. получил должность профессора молекулярной генетики. В настоящее время Т. Зюдхоф – профессор кафедры молекулярной и клеточной физиологии, а также руководитель Зюдхофской лаборатории при медицинской школе Стэнфордского университета.

**Рэнди Уэйн Шекман** родился 30 декабря 1948 г. в г. Сент-Поле (штат Миннесота, США). Его отец Альфред Израиль Шекман был инженером-электриком, мать Эстер Шекман – домохозяйкой. Интересно, что докторскую степень ученый получил в Стэнфордском университете (США), где его руководителем был профессор Артур Корнберг – нобелевский лауреат 1959 г., открывший механизм синтеза нуклеиновых кислот. Затем Р. Шекман продолжил свою деятельность в Калифорнийском университете в г. Беркли (США), где и работает до настоящего времени в статусе профессора кафедры молекулярной и клеточной биологии. В лаборатории Р. Шекмана проводятся исследования молекулярных механизмов сборки клеточных мембран и особенностей везикулярного транспорта в эукариотических клетках.

Таким образом, работы лауреатов Нобелевской премии в области физиологии и медицины 2013 г. пролили свет на процессы, относящиеся к фундаментальной клеточной физиологии, и стали важным шагом на пути к пониманию механизмов развития целого ряда заболеваний. Процесс внутриклеточного транспорта универсален у разных организмов – от одноклеточных эукариот до человека, и любое нарушение регуляции внутриклеточных транспортных систем ввергает клетки в состояние хаоса, что приводит к различным заболеваниям.

Церемония награждения нобелевских лауреатов 2013 г. по традиции состоится 10 декабря – в день смерти основателя премии, шведского предпринимателя и изобретателя Альфреда Нобеля (1833-1896). Кто из ведущих мировых ученых также номинировался на премию в этом году, но не стал ее победителем, будет известно лишь спустя 50 лет – таковы правила Нобелевского фонда.

Подготовила Катерина Котенко