

THE HISTORY OF BIOCHEMISTRY

УДК 577.212+577.24

doi: <https://doi.org/10.15407/ubj93.03.111>

ВІДКРИТТЯ ГЕНІВ РЕГУЛЯЦІЇ АПОПТОЗУ КЛІТИН: СІДНІ БРЕННЕР, ДЖОН САЛСТОН ТА РОБЕРТ ГОРВІЦ (НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ, 2002 р.)

М. В. ГРИГОР'ЄВА[✉], В. М. ДАНИЛОВА, С. В. КОМІСАРЕНКО

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

[✉]e-mail: mvgrigorieva@biochem.kiev.ua

Отримано: 24 November 2020; Затверджено: 23 April 2021

У 2002 р. Нобелівську премію з фізіології та медицини було присуджено Сіднею Бреннеру, Джону Салстону та Роберту Горвіцу «за відкриття генетичної регуляції розвитку органів та запрограмованої загибелі клітин». Науковці вивчали поділ і диференціацію клітин нематоди *Caenorhabditis elegans* від заплідненої яйцеклітини до дорослої особини. За результатами досліджень було визначено ключові гени, що регулюють розвиток органів і запрограмовану загибель клітин (апоптоз), а також продемонстровано наявність відповідних генів і у вищих видів тварин, зокрема людей. Це відкриття пролило світло на патогенез багатьох захворювань і мало важливе значення для подальших медичних досліджень.

Ключові слова: Сідней Бреннер, Джон Салстон, Роберт Горвіц, *Caenorhabditis elegans*, апоптоз, генетична регуляція розвитку органів.

«Нескінченні пошуки знань триватимуть
доки, доки існують люди»

С. Бреннер

Підтримання балансу в живому організмі забезпечують, зокрема, два процеси. З одного боку – поділ клітин з утворенням нових, а з іншого – відмирання клітин шляхом апоптозу, тобто запрограмованої загибелі клітин, яке ще називають контрольованим «клітинним самогубством». Відомо, що організм дорослої людини щодня створює понад трильйон клітин. Водночас приблизно стільки ж клітин гине в процесі апоптозу.

Головний прорив для нашого розуміння запрограмованої загибелі клітин здійснили нобелівські лауреати 2002 року – Сідней Бреннер, Роберт Горвіц та Джон Салстон.

Дослідивши цей процес у нематод *Caenorhabditis elegans*, вони виявили гени, що контролюють програму клітинної загибелі. На цьому простому модельному організмі, що було продемонстровано, 131 з 1090 клітин гине під час його розвитку, і ця природна загибель клітин контролюється специфічним набором генів.

Унікальна можливість пов'язати генетичний аналіз із поділом клітин, диференціацією та розвитком органів з'явилася завдяки відкриттям Сіднея Бреннера, який проводив свої дослідження на *C. elegans*. Він вважав, що «вибір відповідного організму для власних досліджень так само важливий, як і пошук правильних про-

блем, над якими можна працювати» [1], і тому, на його думку, *C. elegans* можна, без сумніву, вважати четвертим лауреатом Нобелівської премії 2002 року.

Завдяки картографуванню лінії клітин *C. elegans* Джон Салстон дослідив запрограмовану загибель певних клітин як невід'ємної частини нормального процесу диференціації і виявив першу мутацію гена, що бере участь у процесі загибелі клітини.

Роберт Горвіц виявив та охарактеризував ключові гени, що контролюють загибель клітин у *C. elegans*. Він показав, як ці гени взаємодіють між собою в процесі загибелі клітин і що відповідні гени існують у людини.

Детальніше про відкриття генів-регуляторів апоптозу у *C. elegans* йтиметься далі, а спочатку ознайомимося з деякими фактами біографії цих видатних учених.

Сідні Бреннер (*Sydney Brenner*) народився 13 січня 1927 року в невеликому південно-африканському містечку Джермістон у сім'ї єврейських іммігрантів. Його батько іммігрував з Литви в 1910 р., а мати – з Латвії в 1922 р. Сідні навчився читати дуже рано. Коли йому було 5 років, одна з клієток його батька, який був чоботарем, допомогла влаштувати малюка до безкоштовного дитячого садочка. За рік він пройшов три курси початкової школи і в 6 років поступив до місцевої школи одразу в 4-й клас, а ще за чотири роки був зарахований до



Сідні Бреннер [6]

Джермістонської середньої школи, яку закінчив у 1941 р.

Батьки Бреннера мріяли, аби син став лікарем. Талановитому юнаку вдалося отримати стипендію міської ради, завдяки чому він поступив до провідного Вітватерсрандського університету в Йоганнесбурзі, де шість років вивчав медицину. Після закінчення університету він ще декілька років провів у лабораторії Гілмена, займаючись гістохімією та фізіологією клітин. Його магістерська дисертація була присвячена цитогенетиці. У 1951 р. С. Бреннер успішно захищає дисертаційну роботу, несподівано відмовляється від медичної практики і вирішує займатися дослідницькою роботою. Він звертається до професора фізичної хімії Оксфордського університету Сиріла Гіншелвуда із проханням про співпрацю, отримує запрошення і в 1952 р. переїжджає до Лондона з метою зосередитися на дослідженнях, які поєднують основи фізичної хімії та біології. Того ж року Бреннер одружується і до червня 1954 р. живе на головній оксфордській вулиці Вудсток-Роуд разом з пасинком і дружиною, яка, як і Бреннер, працює над дисертацією, але в галузі психології.

У квітні 1953 р. Бреннер і його колега Джек Леслі відвідують Кавендиську лабораторію Кембриджського університету, де знайомляться з видатними вченими Френсісом Кріком і Джеймсом Вотсоном [2, 3]. Це знайомство стало справжнім одкровенням у науковому житті Бреннера. У той момент, коли він на власні очі побачив структурну модель ДНК і почув про комплементарність нуклеотидних пар, він зрозумів, що це – ключ до розгадки всіх проблем біології, які до того часу були не вирішеними. Розмова з Вотсоном дала Бреннеру впевненості в його роботі з бактеріофагами: *«Завіса піднялась, і стало зрозуміло, що робити. І мене це надзвичайно схвилювало»* [4].

Наприкінці літа 1954 р. М. Демерек, директор лабораторії Інституту Карнегі в Колд-Спринг-Гарбор, запросив Бреннера до Сполучених Штатів і допоміг йому отримати стипендію благодійного фонду «Корпорація Карнегі в Нью-Йорку». Бреннер подорожував Америкою з Вотсоном, проводив дослідження у вірусологічній лабораторії Каліфорнійського університету (Берклі), де працював разом з молекулярним біологом Гюнтером Стентом, а також недовго відвідав Вашингтон (округ Колумбія).

Це був дуже важливий візит. Завдяки поїздки до Америки Бреннер познайомився з учасниками неформальної мережі дослідників бактеріофагів – так званої «Групи фагів» (Phage Group) Сеймуром Бенцером, який на все життя став його колегою та другом, Максом Дельбрюком, засновником цієї групи, Сальвадором Лурією та багатьма іншими. Всім їм судилося зіграти важливу роль у розвитку нової науки – молекулярної біології.

Повернувшись до Південно-Африканської Республіки в кінці 1954 р., Бреннер організував лабораторію на кафедрі фізіології медичної школи і зосередився на пошуку системи бактеріофагів, яку можна було б використати для досліджень генетичного коду. Внаслідок цієї роботи Бреннеру вдалося довести неможливість усіх варіантів перекриття триплетних кодів, запропонованих «Клубом краваток ДНК» (RNA Tie Club – «джентльменський клуб») обраних науковців, які сприяли розумінню функціонування ДНК [5].

У грудні 1956 р. Бреннер знову їде до Англії, де починає працювати в Лабораторії молекулярної біології (ЛМБ) при Раді з медичних досліджень Кембриджського університету



Френсіс Крік і Сідней Бреннер в Лабораторії молекулярної біології при Раді з медичних досліджень Кембриджського університету [13]

разом із Френсісом Кріком, з яким, за його словами, він був «готовий працювати хоч у коморі» [6].

У наступні 12 років Бреннер, Крік та багато інших дослідників долучилися до з'ясування того, як працює ДНК. Своїми експериментами у Кавендиській лабораторії, які виявили існування РНК-месенджера [7], триплетного генетичного коду [8] та стоп-кодонів [9], Бреннер та його колеги заклали основи центральної догми молекулярної біології.

Але вже в 1962 році в новій галузі молекулярної біології ставало дедалі тісніше, і Бреннер почав експериментувати з різноманітними організмами для вирішення складніших проблем нейробіології та розвитку, покладаючи сподівання на ефективність ген-редукціоністського підходу.

Бреннер взявся за невирішене на той час питання в біології та медицині: чи задіяні гени у механізмі регуляції процесів розвитку і старіння органів. Як модельний організм для дослідження біології розвитку він вибрав *C. elegans*. Цей міліметровий ґрунтовий черв'як складався з відомої кількості клітин, мав нервову, м'язову та репродуктивну системи, легко розмножувався у великій кількості і, найголовніше, чудово відповідав цілям генетичного аналізу: мав короткий життєвий шлях і був прозорим, що дозволяло слідкувати за поділом клітин під мікроскопом. Бреннер вважав вибір *C. elegans* вдалим і дуже важливим для запланованих досліджень.

Учений розпочав мутаційні скринінги *C. elegans* у 1967 р. Повідомлення про результати цієї роботи з'явилося у журналі «Дженетікс» у 1974 р. У статті було описано вплив хімічної сполуки етилметансульфонату (EMS) на мутації в геномі *C. elegans*, охарактеризовано близько 300 EMS-індукованих мутантів зі зміненою поведінкою та морфологією, визначено близько 100 генів, 77 з яких змінювали рух тварин. Бреннер припустив, що різні мутації можуть бути пов'язані з конкретними генами та мати специфічний вплив на розвиток органів [10]. Фактично саме ця робота, що об'єднувала генетичний аналіз та візуалізацію клітинних поділів, започаткувала відкриття, за яке у 2002 р. Бреннеру було присуджено Нобелівську премію.

По закінченні цієї роботи Бреннер ще більші зусилля спрямував на пошук «мутантів у всіх генах, щоб спробувати виявити, як вони бе-

руть участь у розвитку та функціонуванні простого багатоклітинного організму». Протягом багатьох років до цих зусиль долучилися тисячі дослідників, відкриття яких вплинули на розвиток біології та біомедицини науки.

Із часом інтереси Кріка і Бреннера почали розходитися. Хоча обох цікавила нервова система, і «багато нових і захоплюючих ідей (правильних і неправильних) зародились під час наших розмов» за роботи в ЛМБ [1], Бреннер більше схилився до пошуку простої системи, яка б допомогла зрозуміти будову мозку, тоді як Крік хотів знати більше про складну діяльність вищих нервових систем. У 1976 р. Крік покинув Кембридж, щоб приєднатися до Інституту Солка, де він зробив абсолютно нову кар'єру в галузі нейрології. (За чверть століття по тому Бреннер також перейде до цього інституту, заснованого Джонасом Солком як своєрідний клуб науковців, що займаються проблемами життя, де вони могли б разом думати, як застосувати свої відкриття заради майбутнього людства).

У 1977 році, після виходу на пенсію Макса Перуца, Бреннер став директором ЛМБ. На цій посаді він відпрацював майже 20 років. У цей період науковець досліджує вплив нових методів клонування та секвенування ДНК на вивчення генетики і стає активним прихильником проекту «Геном людини» [11]. З часом адміністративне навантаження директора набридає йому, і тому в 1987 р., коли закінчився термін його призначення, Бреннер залишає цю посаду. ЛМБ надала Бреннеру невелику групу, і з деякими додатковими ресурсами він створив підрозділ молекулярної генетики при медичному факультеті під керівництвом професора Кіта Пітерса. Підрозділ був закритий університетською Радою з медичних досліджень у 1992 році, коли Бреннеру вже було 65 років, але він ще кілька років продовжував працювати за іншої підтримки.

У 1995 році Бреннер заснував Інститут молекулярної біології за сприяння компанії «Філіп Морріс», сподіваючись створити середовище, «де молоді люди можуть займатися наукою в атмосфері гармонійних цілей та високих інтелектуальних викликів» [12]. Він пішов з Інституту у 2000 році, а в 2001 році отримав посаду заслуженого професора в Інституті Солка в каліфорнійській Ла-Хойї, де приєднався до Френсіса Кріка.

У 2002 р. Бреннеру та його учням і колегам Горвіцу та Салстону було присуджено Нобелівську премію з фізіології та медицини за відкриття «генетичної регуляції розвитку органів і запрограмованого вмирання клітин».

У 2008 р. його іменем було названо Інститут молекулярних біонаук Вітватерсрандського університету.

Сідні Бреннер був членом Королівського коледжу Кембриджу (1959), Європейської Організації молекулярної біології (ЄОМБ, 1964), Лондонського королівського товариства (1965), Німецької академії природодослідників «Леопольдина» (1975), Французької академії наук (1992), Національної академії наук США (1996), Американської академії наук і мистецтв, Європейської організації молекулярної біології, Європейської академії, Американського філософського товариства тощо.

За своє життя С. Бреннер був нагороджений чотирма орденами й шістьма медалями, отримав 12 престижних премій.

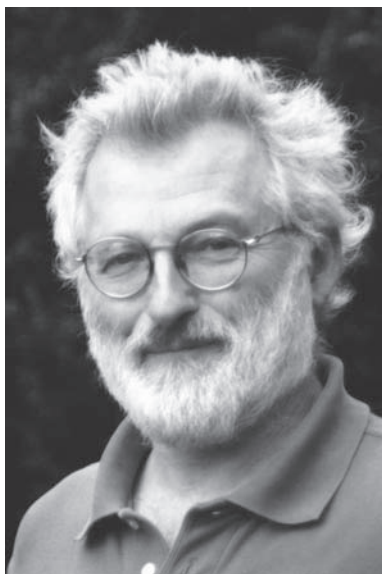
Останні роки життя – до своєї смерті 5 квітня 2019 р. – доктор Бреннер працював в Агентстві науки, технології та досліджень A*STAR (Agency for Science, Technology and Research) у Сінгапурі.

Внесок Сідні Бреннера в науку є легендарним, починаючи з його ролі у встановленні існування мРНК і розумінні складної біохімії клітинного розвитку тварин, продовжуючи отриманням його колишніми стипендіатами повного геному *C. elegans* (першої тварини, яка пройшла секвенування) і закінчуючи його міждисциплінарними дослідженнями в галузі геноміки, генетики та обчислювальної біології.

Цими та іншим своїми новаторськими досягненнями доктор Бреннер заклав фундамент для революції в науках про життя, яка триває й сьогодні.

У своїй нобелівській лекції Бреннер сказав: «Протягом мого наукового життя та всіх моїх проектів до мене приєднувалось багато вчених, молодих і старих, чия робота була надзвичайно важливою для успіху наших наукових починань. Багато хто продовжував виконувати важливу наукову роботу, але всі пам'ятають ті чудові часи, коли ми і наша наука були молодими, і нашому хвилюванню під час вирішення нових викликів не було меж. Я вважаю, що вченого слід оцінювати за якістю людей, яких він

допоміг сформувати, а не за призами чи іншими почестями, які йому надають. Нехай мої роботи говорять самі за себе» [1].



Джон Салстон [6]

Джон Салстон (*Sir John Edward Sulston*) народився 27 березня 1942 р. в селі Фулмер неподалік від Лондона. Батько Джона, *Тед Салстон*, був англіканським священиком; після служби армійським капеланом у Другій світовій війні він займався адміністративною роботою в місіонерському товаристві. *Мюріел*, мати Джона, викладала англійську мову в гімназії Вотфорда.

Із раннього дитинства Джона надзвичайно цікавило, як працюють природні і механічні речі. Він бачив себе «творцем і виконавцем» [14], коли збирав із спеціальних конструкторських наборів радіостанції та інші електричні прилади. Якось Джон знайшов біля дороги мертвого птаха, зробив розтин і був вражений тим, «що живі істоти також були механізмами» [15].

У п'ять років Джона віддали до підготовчої приватної школи «Йорк Хаус» у Рікмансворті. Хлопцю досить легко давалось навчання в класі, але він не міг опанувати розпач, якщо йому не вдавалось перемогти у грі. Проте, батьки виховали в ньому розуміння, що «не потрібно чітко розмежовувати роботу та гру, і що кожен зобов'язаний служити іншим і робити все можливе» [14].

У 13 років він виграв стипендію на навчання в лондонській школі «Мерчант Тейлорс» у Нортвуді. Хоча він природно тяжів до наук, його вибір біології, а не математики, фізики чи хімії дещо збентежив його викладачів. Тривога

виявилася безпідставною, бо невдовзі він отримав стипендію на вивчення природничих наук у коледжі «Пембрук» Кембриджського університету, куди він прибув восени 1960 року. Спочатку біологія його не надто захопила, насамперед тому, що він віддавав перевагу роботі руками, а не читанню книжок [15]. Згодом Джон захопився облаштуванням театрального освітлення для Кембриджського аматорського драматичного клубу і присвячував цьому багато часу. Попередження своєї виховательки про те, що відвідувачі театру, як правило, відстають у навчанні, Салстон проігнорував. Тоді йому все здавалося безглуздим, і зрештою, після п'яної гулянки він провів ніч у поліцейському відділку. Як і попереджала його вихователька, після другого курсу Джон ледь не провалив іспити, що спонукало його зібратися на останніх курсах навчання і «зі скрипом» отримати диплом зі спеціальності органічної хімії [14].

Насправді, наукові дослідження не були пріоритетом для Джона в цей період, тому після закінчення університету в 1963 р. він подав заявку на рік роботи у благодійній організації з міжнародного розвитку «Добровільна служба за кордоном», але в останній момент його місце зайняв інший претендент. Тоді Джон звернувся з проханням до керівника органічної хімії в Кембриджі Александра Тодда щодо можливого працевлаштування як студента-дослідника. Так Джон потрапив до Коліна Різу, який взяв його на проект із синтезу олігонуклеотидів. Тут Салстон відчув себе в рідній стихії. «Більше немає підручників, лише мої власні лабораторні книги та іграшки, милі іграшки, з якими можна пограти», – написав він [14]. Різ та його група займалися синтезом молекул РНК із попередньо визначеним порядком нуклеотидів. Джон застосував всі доступні в лабораторії технології, включно з мас-спектрометрією та ядерно-магнітним резонансом, намагаючись з ентузіазмом та винахідливістю атакувати практичні проблеми. За три роки він підготував дисертацію на тему «Аспекти синтезу олігорібонуклеотидів» і написав у співавторстві дев'ять наукових статей.

У Кембриджі під час роботи над дисертацією він винаймав квартиру разом зі студентом геофізики Бобом Гресті, який познайомив Джона з молодою асистенткою з його кафедри Дафні Бейті – майбутньою дружиною Джона.

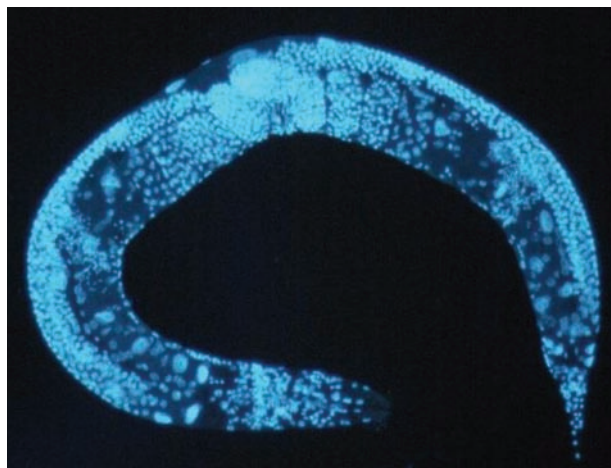
Тим часом хімік Леслі Оргел, який незадовго перед тим переїхав з Кембриджа до Каліфорнії працювати в Інститут Солка в Ла-Хойї, шукав людей, які могли б укомплектувати його нову лабораторію, зосереджену на новому напрямі досліджень – пробіотичній еволюції. Джон, не вагаючись, скористався цією нагодою. Джон і Дафні, які одружилися перед виїздом до Каліфорнії, прибули до Інституту Солка восени 1966 року. Вони оселилися не в кампусі Ла-Хойї, а винайняли будинок у п'яти милях на північ, біля пляжу. Канікули проводили, подорожуючи національними парками, насолоджуючись «земною утопією». Того ж року народилася їхня дочка Інгрід.

Леслі Оргель намагався зрозуміти, як нуклеїнові кислоти могли повторюватися на етапі еволюційної історії ще до існування полімераз [16]. Для Джона специфіка його експериментів була менш важливою, ніж розмірковування про природу життя та еволюції, а також можливість налагодити контакти з різними людьми. Оргель часто запрошував його на вечерю і знайомив із багатьма приїжджими вченими. Одним з них був Френсіс Крік, який тоді разом із Сіднеєм Бреннером керував відділом клітинної біології в ЛМБ при Раді медичних досліджень у Кембриджі.

Неформальна розмова з Френсісом Кріком мала приємне продовження. Крік від імені Сіднея Бреннера запросив Джона до Кембриджа. *«На той час я дійсно знав, що Сідней вибрав маленьку тварину для вивчення нейробіології. Було багато жартів про сіднейського хробачка та загальний скептицизм щодо шансів Бреннера чогось досягти. Це здалося мені досить гарною рекомендацією: немає сенсу робити те, що роблять усі інші»* [14]. Леслі запропонував Джону поїхати на рік до ЛМБ, а потім подати заявку на стипендію в Інституті Солка.

У 1969 р. Салстон із сім'єю повернувся до Кембриджа. Неподалік від лабораторії у Степлфордзі Джон купив будинок, де незабаром народився його син Адріан. Сім'я зробила ще один переїзд у 1975 році до більшого будинку, де залишалася до кінця життя Джона.

Початковий рік роботи в групі Бреннера, який Джон розглядав як шанс повернутися до нейробіології, яка його вже віддавна цікавила, закінчився переходом на постійну роботу з отриманням штатної посади у відділі клітинної біології ЛМБ. У цій «великій лабораторії», де відпрацьовувалися основні механізми



C. elegans пофарбований та візуалізований синім флуоресцентним барвником (4',6-діамідино-2-феніліндол дигідрохлоридом; DAPI) [27]

молекулярної біології у співпраці з Х'ю Робертсоном, Сідні Олтманом та Мері Осборн, Джон фактично почав свою наукову кар'єру.

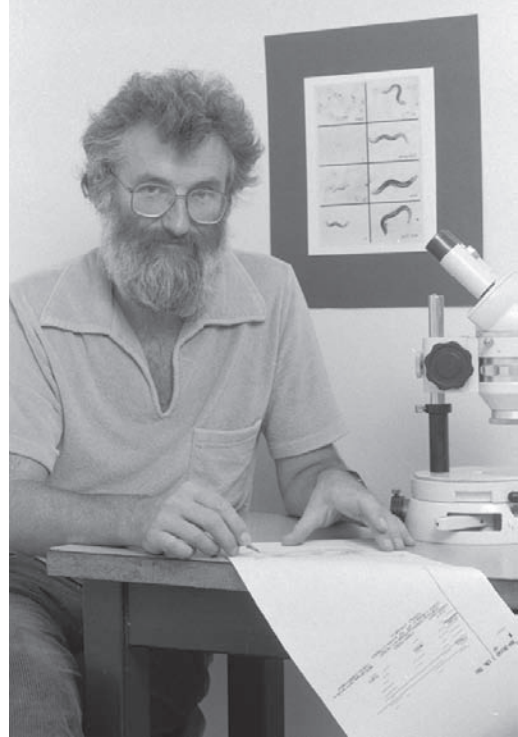
Головна мета проекту Сіднея Бреннера полягала у детальному розумінні нервової системи *C. elegans*. Як було зазначено раніше, Сідней працював над генетикою *C. elegans*, виділяючи мутантів усіх видів, особливо тих, що змінюють поведінку. Інші працювали над біохімією та електрофізіологією. Джон Вайт був залучений для визначення анатомії 302 нейронів хробака. Завданням Джона Салстона було дослідити нейромедіатори, що використовуються в нейронах, карти яких складав Вайт. Досліджуючи крихітні нейрони *C. elegans*, Джон застосував модифікований ним метод фарбування для виявлення катехоламінів у зрізах заморожених тканин. Нейрони, які виявив Джон, самі по собі не були особливо важливими, але вони змусили Джона почати розглядати клітинну анатомію в цілому. Завдяки серії експериментів йому вдалося простежити виникнення кожної клітини нематоїди. Джон згадував: *«За десять років я став по суті чистим зоологом і разом з кількома колегами розробив усю лінію клітин тварини. На той момент моїми ключовими колегами були Боб Горвіц і Джон Вайт»* [14].

Період роботи в ЛМБ у 1977–1983 рр. був дуже плідним для Салстона. Внаслідок досліджень нематоїди разом із Робертом Горвіцем, який прийшов до лабораторії як докторант у 1974 році, були визначені повні постембріональні негонадні лінії як гермафродити-

та, так і самця [17], генетично охарактеризовані мутанти та показано, що більшість ліній є результатом складної взаємодії декількох генів [18, 19]. У співпраці з Джоном Вайтом з використанням лазерної абляції, вивчена регуляція та клітинна автономія під час постембріонального розвитку нематоди [20]. З Мартіном Чалфі він продовжив свою роботу над нечутливими до дотику мутантами [21]. Разом з Едвардом Геджкоком Салстон досліджував генетику запрограмованої загибелі клітин [22]. Утім, до 1979 року, згідно з його біографією, Джона не залишало відчуття «незавершеної справи» і думки про те, що він мало чого досяг [14]. Важливим досягненням стало завершення досліджень структури і поділу клітин в ембріоні, яке забезпечило його обрання до Королівського товариства і відкрило «шлях до Стокгольма».

Отже, Джон Салстон розширив роботу Сіднея Бреннера з *C. elegans*, використавши розроблені ним методи для дослідження нематоди від заплідненої яйцеклітини до дорослого організму. У публікації 1976 року Салстон описав лінію клітин частини нервової системи, що розвивається [23]. Він виявив, що ця лінія є незмінною, тобто кожна нематода зазнає точно тієї ж програми поділу та диференціації клітин, а специфічні клітини в лінії завжди гинуть через запрограмовану смерть, і цей процес контролюється в живому організмі. Він описав видимі етапи процесу клітинної смерті та продемонстрував перші мутації генів, що беруть участь у запрограмованій загибелі клітин, включно з геном *nuc-1*. Салстон також показав, що протеїн, кодований геном *nuc-1*, необхідний для деградації ДНК клітини.

Невідомо, коли Джон почав думати про секвенування всього геному *C. elegans*. Оголошуючи проект картографування *C. elegans*, Джон писав про те, як повна карта геному нематоди може надати «інформацію про геном в цілому» [24]. Прогрес у секвенуванні геному нематод був швидким. До літа 1993 р. було отримано понад 2 МБ суміжної послідовності на хромосомі III; через п'ять років команда Салстона повідомила про 97 МБ послідовностей геному [25]. Останні 3 МБ поступово додавали протягом наступних кількох років [26]. У 1998 р. повну послідовність геному *C. elegans* було опубліковано. Нематода стала першою твариною з повністю секвенованим геномом.



Джон Салстон у Лабораторії молекулярної біології зі своїм мікроскопом і зображеннями *C. elegans* [16]

Поки йшов процес секвенування нематоди, почався проект «Геном людини». У 1993 р. Wellcome Trust побудував нову лабораторію – Центр Сангера, директором якого став Джон Салстон. У центрі він працював над проектом з Аланом Коулсоном, Джейном Роджерс, Річардом Дурбін, Девідом Бентлі, Бартом Баррелл та Мюррей Кернс. У 1999 році Джон став головним речником за проектом від Великої Британії, захищав британську позицію від енергійної заявки Celera Genomics [11].

Після оголошення «чернетки» геному людини Джон відчув, що виконав свої зобов'язання й досягнув своїх головних цілей. У 2000 р. він залишив посаду директора Центру Сангера, але зберіг там невеликий офіс і продовжував працювати разом з Аланом Коулсоном. У цей час він активно займався питаннями зв'язку між наукою та суспільством, а коли його зобов'язання в лабораторії зменшились, взяв на себе нові обов'язки. Так, у 2001 році він став членом Комісії з питань генетики людини – урядового дорадчого органу, який опікувався послугами генетичного тестування та захистом особистої генетичної інформації у сфері страхування та

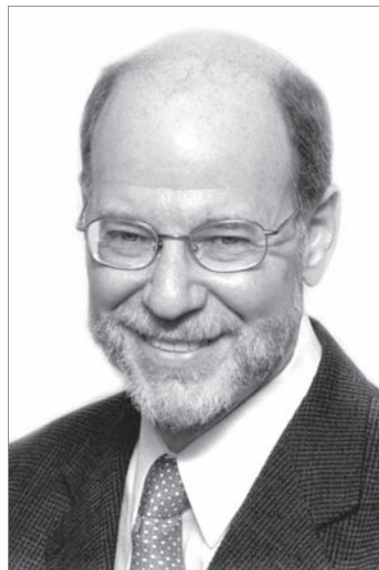
працевлаштування. Із 2007 р. до звільнення у 2009 р. обіймав посаду голови цієї Комісії.

Після отримання Нобелівської премії Джона Салстона засипали запрошеннями виступити на різноманітних заходах. *«Чи запаморочила мені голову Нобелівська премія? Ні, це сталося зі мною два роки тому. Але отримання премії забезпечує всіх нас вищою платформою, з якої ... ми можемо мати більший вплив, ніж раніше. Тож це змінює наше життя»* [14].

У своєму турі з лекціями континентальним Китаєм і Тайванем, організованому Британською Радою в грудні 2003 р., Салстон зустрівся з біоетиком Джоном Гаррісом з Манчестерського університету. У 2008 році вони спільно заснували при цьому університеті Інститут науки, етики та інновацій (iSEI). Найважливішим результатом цієї співпраці стало написання Манчестерського маніфесту (2012 р.) з метою усунення недоліків існуючої системи інтелектуальної власності. Маніфест було підписано групою видатних учених, соціологів, юристів і філософів. У 2012 р. Джон Салстон очолював робочу групу «Люди та планета» при Королівському товаристві. Основними рекомендаціями підготовленої групою звіту були ліквідація абсолютної бідності та подолання нерівності, зменшення споживання матеріалів, глобальне фінансове зобов'язання щодо планування сім'ї та включення населення як фактора в будь-які дебати щодо змін навколишнього середовища. Після виходу на пенсію з iSEI у 2013 р. Салстон присвячував час садівництву та прогулянкам по горах зі своєю родиною. Помер Джон Салстон 6 березня 2018 р.

У 2017 р. сер Джон був удостоєний почесної нагороди від королеви Великої Британії за його вклад в науку і суспільство. Свого часу він також був нагороджений орденом, трьома медалями і 10 преміями.

Результати досліджень Джона Салстона лінії клітин *C. elegans*, його вклад у секвенування геномів нематоїди і людини довели, що інвестиції в масштабний збір даних мають довгострокові переваги для подальших наукових відкриттів. Його робота сприяла важливим досягненням у біології розвитку та розумінню патогенезу деяких захворювань. Він був ключовою фігурою у пропагуванні загальноновизнаного сьогодні принципу, згідно з яким геномні дані мають бути загальнодоступними.



Роберт Горвіц [6]

Роберт Горвіц (*H. Robert Horvitz*) народився 8 травня 1947 р. в Чикаго. Обидва його батьки були американцями першого покоління, дітьми євреїв, які покинули Східну Європу приблизно на рубежі століть. Його мати *Мері Савім Горвіц* була родом із Чикаго, а батько *Оскар Горвіц* – із сусіднього міста Джоліет.

Батько Р. Горвіца був дипломованим бухгалтером, любив цифри і цю любов передав сину. Бухгалтерська кар'єра батька була успішною, він був віце-президентом та скарбничим великої автотранспортної компанії в Чикаго, президентом Чиказького товариства бухгалтерів автомобільних перевізників, написав декілька посібників з оподаткування прибутку. Як згадує Роберт, «числа були друзями батька», який прищепив любов до науки дітям – Роберту та його молодшій сестрі Керол. Це заохотило дітей вчитися і присвятити своє життя науковим дослідженням [3]. У 1989 році батько помер від аміотрофічного латерального склерозу (АЛС). Ця подія вплинула на сина і стала особистою причиною, яка зумовила Роберта зацікавитись нейродегенеративними розладами.

Роберт вчився в початковій школі Девіта Клінтона в Чикаго. Після її закінчення у 1960 р., сім'я переїхала до селища Скокі, передмістя Чикаго, де Роберт продовжив навчання в середній школі Іст-Прері. Якоюсь вчителька англійської мови цієї школи подарувала йому книгу «Елементи стилю» Струнка та Уайта з дуже теплою

приміткою: «Скільки разів я думала про вас і дивувалася, як ви насолоджувались середньою школою. ... Ви, здається, маєте талант писати, і я думаю, що ви можете отримати користь від читання цієї книги». Роберт Горвіц зазначив у своїй промові Нобелівського лауреата, що він пам'ятає цю книгу донині, «особливо, коли намагаюся навчити членів своєї лабораторії як правильно використовувати «which» та «that» [28].

Мати Роберта працювала вчителькою початкових класів, викладачем природознавства, і також намагалася пробудити у Роберта зацікавленість до експериментальних досліджень. Вона надихнула Роберта зайнятися проектом «Електрика виробляє світло через тепло», за який він отримав третю премію. У дев'ятому класі Роберт почав експериментувати з *Drosophila melanogaster*, щоб відтворити знаменитий коефіцієнт успадкування Грегора Менделя 3:1 та 9:3:3:1. Дослідження проводились у маминій ванній кімнаті. Вона саморуч готувала їжу для мух, яка жакливо пахла, і до того ж терпіла ще й запах ефіру, який Роберт використовував під час експерименту. За цей проект Роберт отримав призову поїздку на науковий ярмарок штату Іллінойс в Урбана-Шампейні. Мати Роберта зберегла постер цього проекту з наукової виставки 1961 р. і, коли Роберт отримав Нобелівську премію, вона показала місцевому репортеру цей постер, одна панель якого потім була відтворена *Chicago Sun-Times* 8 жовтня 2002 р.

У вересні 1964 р. Роберт вступив до Масачусетського технологічного інституту в Бостоні. У бакалаврські роки він став редактором, а потім головним редактором студентської інститутської газети, брав участь у студентському самоврядуванні, був членом різноманітних комітетів та рад. Під час виборів на пост президента студентського корпусу він напам'ять знав імена, рідні міста, обличчя та спеціальності всіх студентів інституту – близько 3500. У той період йому здавалося, що він готовий для кар'єри в галузі права та політики, а можливо, і в бізнесі.

Після отримання ступеня бакалавра з математики, Роберт вирішує продовжити навчання і здобути ступінь бакалавра з економіки. Він успішно захищає дипломну роботу під керівництвом Боба Солоу і серйозно думає про те, щоб стати економістом. Одержимий бажанням займатися чимось «актуальним» (це був

кінець 60-х) Роберт замість аспірантури з математики чи економіки несподівано виявляє бажання зайнятися медициною. Його сусіду по кімнаті Елу Сінгеру, у майбутньому лікарю-науковцю Національного інституту раку, вдалося переконати Роберта зайнятися біологією. Після наполегливої підготовки, яка включала вивчання вступного курсу з біології, курсу генетики у Морі Фокса, лабораторний курс з нейробіології та електрофізіологічних методів, він подає заявку до аспірантури з біології одночасно в Гарвард, МТІ та Стенфорд. Його готові прийняти всі три заклади, але Роберт вибирає Гарвардський університет і у 1968 р. стає його аспірантом.

Він згадує: «На курсі біохімії Конрада Блоха, одному з небагатьох курсів аспірантури, який я проходив, ми щодня зосереджувались на тому, як рухаються електрони в біохімічних реакціях циклу Кребса. Я ніколи не чув про цикл Кребса. На курсі генетичного семінару я просто загубився. Експериментальний підхід до розв'язування задач був абсолютно несхожий на спосіб, яким мене навчили мислити як студента-математика» [28].

Роберт вирішує, що якщо його розуміння біохімії не покращиться до кінця першого року аспірантури, то він займеться чимось іншим. Але згодом все налагодилося, розуміння зросло і Роберт розпочав дослідження в лабораторії Метта. Там він познайомився з аспіранткою Патрісією Фостер, яка багато чому його навчила (на початку роботи він навіть не мав уяви як користуватися лабораторною піпеткою) і захопила займатися біологією. У 1970 р. Пет і Роберт одружилися і прожили разом наступні 13 років.

Згодом Роберт вирішив перейти з лабораторії Метта до лабораторії Волтера Гілберта, Джеймса Вотсона та Клауса Вебера, аби стати спеціалістом у галузі молекулярної біології. Джеймс Вотсон у той час був директором лабораторії Колд-Спрінг-Гарбор на Лонг-Айленді, штат Нью-Йорк. Усі троє були видатними вченими і дуже синергічними у своїх підходах та талантах. За аспірантський період Роберт опублікував чотири статті з результатами досліджень модифікацій РНК-полімерази *E. coli*, індукованих бактеріофагом T4, і в 1974 р. отримав ступінь доктора філософії.

У постдокторантурі Роберт планував працювати в Стенфордському університеті, з яким

Гарвард тоді здійснював регулярний обмін аспірантами та докторантами. Натомість Клаус Вебер мав альтернативну думку і запропонував Роберту поговорити із Семом Вордом, який працював у Сіднея Бреннера і щойно переїхав з Англії до Гарвардської медичної школи. Після розмов із Семом, який розповів про нейробиологічні дослідження на нематоді *C. elegans* і спробах Сіднея відтворити нервову систему хробака за допомогою серійних електронних мікрофотографій, Роберт написав листа Сіднею з порханням приєднатися до його лабораторії і подав заявку на стипендію, в якій висловив зацікавлення розробкою молекулярних та генетичних методів для аналізу пам'яті та навчання *C. elegans*.

Хоча бажання займатися нейробиологією у Роберта було потужним, сам предмет був для нього майже незнайомим, тому влітку 1974 р. Горвіц пройшов у Колд-Спрінг-Гарбор три курси «з повним зануренням»: вступ до нейробиології, експериментальні методи в електрофізіології та нейробиологію дрозофіли.

5 листопада 1974 року Роберт разом з дружиною Пет прибули до Англії. Сідней Бреннер став четвертим офіційним науковим керівником після Боба Солоу, Джеймса Вотсона та Воллі Гілберта. Як пізніше зазначив Роберт: «Дивно, але і вони, і я тепер маємо Нобелівські премії» [28].

Роберт отримав стипендію від Американської асоціації м'язової дистрофії. Підтримка асоціації стала додатковим стимулом до вивчення аспектів біології нематод, які могли б стосуватися і нервово-м'язових розладів людини.

Сідней запропонував Роберту дослідити розвиток м'язових клітин, зокрема спробувати визначити, як окремі м'язові клітини додають нові міофіламенти, коли вони збільшуються в розмірах. Однак, після розмови з Джоном Салстоном Роберт знайшов цікавішу тему. На той час, як було зазначено раніше, Джон досліджував розвиток частини нервової системи та міг безпосередньо спостерігати поділ клітин у живих личинках *C. elegans*, визначати аспекти клітинного походження нематоди, структуру клітинних поділів і взагалі спостерігати за процесом розвитку багатоклітинного організму з яйцеклітини.

Роберт та Джон вирішили, що разом будуть досліджувати більшу частину ліній

клітин *C. elegans*, маючи на меті визначити повний зразок клітинних поділів. Роберт почав з дослідження розвитку мускулатури *C. elegans* та визначення точної кількості м'язових клітин нематоди. Внаслідок цього йому вдалося отримати лінію клітин, відповідальних за додавання м'язових клітин під час розвитку личинок [17]. Фактично це були перші кроки до відкриття, за яке він у 2002 р. отримав Нобелівську премію.

У 1986 році Горвіц визначив перші два «гени смерті» клітин – *ced-3* та *ced-4* [29]. Пізніше він виявив інший ген, *ced-9*, який захищає клітини від загибелі у взаємодії з *ced-3* і *ced-4* [30], а також низку генів, які визначають спосіб усунення мертвих клітин. Крім того Горвіц показав, що геном людини містить ген, подібний до *ced-3*.

Роберт Горвіц продовжив роботу Сіднея Бреннера та Джона Салстона над лінією клітин *C. elegans* і довів, що загибель клітин є активним процесом, і багато генів, які контролюють загибель нейронів *C. elegans*, мають аналоги в мозку людини.

У 2002 р. Роберт Горвіц розділив з Сіднеєм Бреннером та Джоном Салстоном Нобелівську премію з фізіології та медицини за виявлення та характеристику генів, що контролюють загибель клітин у *C. elegans*.

Відкриття запрограмованої загибелі клітин уможливило подальші важливі досягнення не тільки в біології розвитку, але й в медицині, особливо в пошуку нових методів лікування раку та нейродегенеративних захворювань, включно з хворобами Альцгеймера, Паркінсона та Гантінгтона, інсульту та черепно-мозкових травм.

У наступні роки Роберт Горвіц зробив значний внесок у дослідження молекулярного шляху запрограмованої загибелі клітин і визначив кілька ключових компонентів цього процесу: EGL-1 – протеїн, який активує апоптоз, інгібуючи CED-9; фактори транскрипції *ces-1* і *ces-2*, а також *ced-8*, який контролює терміни загибелі клітин. Він продовжив роботу над мутантами та іншими аспектами клітинної лінії, а також заклав напрями досліджень передачі сигналів, морфогенезу та нервового розвитку. Як зазначив професор Горвіц в одній зі своїх лекцій в МІТ: «Історичне дослідження *C. elegans* окреслило механізми нейротрансмісії, які згодом виявили й в людини».

Поряд із дослідженнями *C. elegans*, Горвіц із колегами в 1993 р. визначив перший ген, що

спричинює АЛС. Наразі у співпраці з Массачусетським університетом, він продовжує працювати над пошуком та аналізом додаткових генів АЛС [31].

Горвіц також співпрацював з Віктором Амбросом та Девідом Бартелем над дослідженням повного набору (понад 100) мікроРНК у геномі *C. elegans* [32].

Наразі Роберт Горвіц – засновник Інституту досліджень мозку Макговерна, професор Девіда Коха на факультеті біології МІТ, член Інституту інтегративних досліджень раку Девіда Коха, дослідник Медичного інституту Говарда Хьюза.

Роберт Горвіц був нагороджений чотирма медалями, отримав 19 престижних премій. Зокрема, в 2002 році крім Нобелівської премії він також був удостоєний премії Грубера з генетики.

У нобелівській лекції Горвіц сказав: «Мені дуже пощастило як у професійному, так і в особистому плані. У мене фантастична сім'я, чудові друзі та можливість бачити світ і пізнавати його на власному досвіді. Я мав щастя керувати успішною науково-дослідною лабораторією і ще більше задоволення від того, що я допоміг підготувати немало молодих учених, багато з яких зроблять внесок у майбутні відкриття» [28].

DISCOVERY OF CELL APOPTOSIS REGULATION GENES: SYDNEY BRENNER, JOHN E. SULSTON AND H. ROBERT HORVITZ (THE NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE 2002)

M. V. Grigorieva[✉], V. M. Danilova,
S. V. Komisarenko

*Palladin Biochemistry Institute, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
✉e-mail: mvgrigorieva@biochem.kiev.ua*

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2002 was awarded to Sydney Brenner, Howard Robert Horvitz and John Edward Sulston for their discoveries concerning “genetic regulation of organ development and programmed cell death”. The scientists studied cell division and differentiation in the nematode *Caenorhabditis elegans* from the fertilized egg to the adult organism. As a result of their studies, key genes regulating organ development and

programmed cell death (apoptosis) were identified, and corresponding genes were shown to exist in higher species, including humans. These discoveries shed light on the pathogenesis of many diseases and were important for further medical research.

Key words: Sydney Brenner, John E. Sulston, H. Robert Horvitz, *Caenorhabditis elegans*, apoptosis, genetic regulation of organ development.

References

1. Nobel Lecture “Nature’s gift to Science”. Regime of access: <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/brenner-lecture.pdf>.
2. Danylova TV, Komisarenko SV. Standing on the shoulders of giants: James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin and the birth of molecular biology. *Ukr Biochem J.* 2020; 92(4): 154-164.
3. Matyshevska OP, Danilova VM, Komisarenko SV. The discovery of the DNA double helix, or the revolution that ushered in the era of molecular biology (Nobel Prize 1962). *Ukr Biochem J.* 2020; 92(6):1 83-198.
4. Brenner S. A Life in Science. Publisher : BioMed Central Ltd (June 1, 2001) London, 2001, 191 p.
5. Watson JD. Avoid Boring People: lessons from a life in science. Oxford University Press, 2007. 347 p.
6. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2002. Regime of access : <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2002/summary/>
7. Brenner S, Jacob F, Meselson M. An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature.* 1961; 190(4776): 576-581.
8. Crick FH, Barnett L, Brenner S, Watts-Tobin RJ. General nature of the genetic code for proteins. *Nature.* 1961; 192(4809): 1227-1232.
9. Brenner S, Stretton AO, Kaplan S. Genetic code: the 'nonsense' triplets for chain termination and their suppression. *Nature.* 1965; 206(4988): 994-998.
10. Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics.* 1974; 77(1): 71-94.
11. Grigorieva MV, Komisarenko SV. The human genome sequencing race ended 20 years ago. *Ukr Biochem J.* 2020; 92(3): 91-92.
12. Sydney Brenner. Regime of access : <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2002/brenner/biographical/>

13. Sydney Brenner, mRNA Discoverer, Dies. Regime of access : <https://www.the-scientist.com/news-opinion/sydney-brenner--mrna-discoverer--dies-65708>
14. Nobel Prize. Regime of access : <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2002/sulston/biographical/>
15. Ferry G. The common thread: science, politics, ethics and the human genome. London, UK: Bantam Press, 2002.
16. Waterston RH, Ferry G. Sir John Edward Sulston CH. 27 March 1942 – 6 March 2018. *Biogr Mem Fellows R Soc.* 2019; 67: 421-447.
17. Sulston JE, Horvitz HR. Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol.* 1977; 56(1): 110-156.
18. Horvitz HR, Sulston JE. Isolation and genetic characterization of cell-lineage mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics.* 1980; 96(2): 435-454.
19. Sulston JE, Horvitz HR. Abnormal cell lineages in mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol.* 1981; 82(1): 41-55.
20. Sulston JE, White JG. Regulation and cell autonomy during postembryonic development of *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol.* 1980; 78(2): 577-597.
21. Chalfie M, Sulston J. Developmental genetics of the mechanosensory neurons of *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol.* 1981; 82(2): 358-370.
22. Hedgecock EM, Sulston JE, Thomson JN. Mutations affecting programmed cell deaths in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Science.* 1983; 220(4603): 1277-1279.
23. Sulston JE. Post-embryonic development in the ventral cord of *Caenorhabditis elegans*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1976; 275(938): 287-297.
24. Coulson A, Sulston J, Greenwald I, Ellis R, Karn J, Brenner S. Physical Mapping of the *C. elegans* Genome. *Worm Breeder's Gazette.* 1984; 8(2): 37. Regime of access : <http://www.wormbook.org/wli/wbg8.2p37/>
25. *C. elegans* Sequencing Consortium. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. *Science.* 1998; 282(5396): 2012-2018.
26. Hillier LW, Coulson A, Murray JI, Bao Z, Sulston JE, Waterston RH. Genomics in *C. elegans*: so many genes, such a little worm. *Genome Res.* 2005; 15(12): 1651-1660.
27. *Caenorhabditis elegans*. Regime of access: <https://www.accessscience.com/content/caenorhabditis-elegans/BR0902151>
28. H. Robert Horvitz. Regime of access : <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2002/horvitz/biographical/>
29. Ellis HM, Horvitz HR. Genetic control of programmed cell death in the nematode *C. elegans*. *Cell.* 1986; 44(6): 817-829.
30. Ellis RE, Yuan JY, Horvitz HR. Mechanisms and functions of cell death. *Annu Rev Cell Biol.* 1991; 7: 663-698.
31. H. Robert Horvitz. Regime of access : <https://mcgovern.mit.edu/profile/h-robert-horvitz/>
32. The Horvitz Laboratory. Regime of access : <http://web.mit.edu/horvitz/www/> Retrieved 2016-01-26.