

# A 2012-es orvosi Nobel-díjak nyomán reflektorfényben a sejtek „átprogramozása”

## SZERKESZTŐI BEVEZETÉS – AZ ÉLET PROGRAMJA ÉS A PROGRAMOK ÉLETE

Sarkadi Balázs

az MTA rendes tagja, Országos Vérellátó Szolgálat, Semmelweis Egyetem,  
MTA Természettudományi Kutatóközpont Molekuláris Farmakológiai Intézet  
sarkadi@biomembrane.hu

A 2012-es orvosi Nobel-díjakat olyan kutatóknak ítélték oda, akik kísérleteikkel az emberiség fantáziáját évezredek óta izgató kérdésekre próbáltak válaszokat adni: létezik-e a halhatatlanság, és vele az „örök élet”, programozott-e a jövőnk, s ha igen, lehet-e egy ilyen programot újraindítani, „újjaszületni”. Hitünk is, nem is, de a válasz tulajdonképpen megszületett: igen, az úgynevezett *magasabb rendű* élőlényeknek, így az embernek is vannak olyan sejtjei, amelyek az alapvető tulajdonságokat és a programokat megtartva (szinte) örökéletűek. Sőt, a már kiérett sejtek vagy élőlények újra visszajuthatnak a születéskori állapotba, és „újraélhetik” a teljes genetikai programjukat, életüket. Létezhetnek „klónozott”, azaz teljesen azonos genetikai tulajdonságú élőlények, sőt, egy-egy kifejlődött sejtünkől ez az élet újra elindítható, egy azonos genetikai program újra „lejátszható”.

Miközben az itt összegyűjtött írások egyáltalán próbálnak a felvetett, igazán nehezen emészthető filozófiai és társadalmi kérdésekre bármilyen módon válaszokat adni, igyekszünk bemutatni a jelenségek biológiai, gene-

tikai és élettani hátterét, pontosabb értelmét adni ezeknek a most megszületett fogalmaknak.

Ebben a gyűjteményben most kevésbé kaptak hangsúlyt azok az eljárások, amelyekben a szöveti őssejteket már jól elfogadott gyógyító módszerekben, például a vérképző-őssejt-átültetésben alkalmazzák. Ugyanígy, a már befogadás határán álló kötőszöveti (*mezenhimális*) őssejt, vagy egyéb, például porcképző-, vagy éppen fogképző-őssejt-alkalmazásokról is csak kevés szó esik. Viszont az őssejt fogalmát, a magátvitel és az újraprogramozás kérdéseit sok szempontból, sokféle megközelítéssel járják körül a szerzők. Arra törekedünk, hogy valamennyi fejezet önmagában is jól érthető legyen, ezért az átfedések elkerülhetetlenek voltak. Reméljük, hogy a néha teljesen egybehangzó, néha kissé eltérő interpretációk nem zavarják, inkább erősítik a kérdések és válaszok megértését.

Tessék hátradőlni – izgalmas lesz, persze egy kis odafigyelés, fáradság is szükséges!

Kulcsszavak: Nobel-díj 2012, őssejtkutatás

# SEJTMAGÁTÜLTETÉS ÉS -ÚJRAPROGRAMOZÁS A 2012-BEN ORVOSI NOBEL-DÍJAT KAPOTT KUTATÓK ÉS MUNKÁSSÁGUK RÖVID BEMUTATÁSA

Sarkadi Balázs Apáti Ágota

az MTA rendes tagja, PhD,  
Országos Vérellátó Szolgálat, Semmelweis Egyetem, MTA Természettudományi Kutatóközpont  
Molekuláris Farmakológiai Intézet  
sarkadi@biomembrane.hu apati@biomembrane.hu

2012-ben az orvosi Nobel-díjat Sir John Bertrand Gurdon angol biológus és Jamanaka Sinja (Shinya Yamanaka) japán orvos kapta, azon kutatásaiknak elismeréseként, amelyek az érett sejtek pluripotens sejtékké való visszaprogramozására irányultak. A két kutató ugyan teljesen más irányból közelítve, de azt bizonyította, hogy az érett testi sejtek visszaalakíthatóak olyan őssejtékké, amelyekből a

test valamennyi szövete kialakítható. Eredményeik forradalmasították a sejtek és szervezetek fejlődéséről szóló ismereteket.

A történet az 1960-as évek elején kezdődött, amikor az Oxfordi Egyetem ma nyolcvan éves kutatója, John B. Gurdon béka petesejtek sejtmagjait a béka érett testi sejtjeinek magjával helyettesítette (Gurdon, 1962; Gurdon et al., 1958). Magát a magátültetés



John B. Gurdon és Yamanaka Sinja

(Forrás: [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2012/](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/))

technikáját, szintén békasejtek felhasználásával Robert Briggs és Thomas J. King fejlesztette ki 1952-ben, ám nekik nem sikerült életképes embriókat előállítaniuk, igaz, nem petesejteket használtak (Briggs et al., 1952). A tudomány akkori állása alapján tehát nem volt várható, hogy ezekből a „hibrid” sejtekből élőlények fejlődjenek, már a szövetkezdemenyek megjelenése is kérdéses volt. A módosított petesejtekből azonban először normális, kopoltyús ebihalak nőttek ki, amelyek azután a hagyományos módon átalakultak kifejlett, tüdővel lélegző békává, és több évig éltek anélkül, hogy bármilyen rendelleneséget mutattak volna. Tehát nemcsak az igazolódott, hogy az érett, testi sejt DNS-e minden olyan információval rendelkezik, amelyre a béka valamennyi sejtjének szüksége van, hanem a teljes fejlődési program is újra lejátszható ennek az információnak az alapján. Így Gurdon elsőként mutatta ki, hogy a szöveti sejtek specializálódása visszafordítható, és kidolgozta az állatok klónozásának alapjait (ezt a kifejezést előtte csak növények szaporításával kapcsolatban használták). A kísérletek természetesen heves vitákat váltottak ki, és csak 1975-ben sikerült igazolni, hogy bizonyítottan terminálisan differenciálódott sejtek magjával is elvégezhető a magátültetés, és az így létrehozott őssejtekből is életképes utódok jönnek létre (Wabl et al., 1975).

Több mint harminc év telt el Gurdon korszakalkotó kísérlete után, mire az első emlőssejteken végzett hasonló kísérletek sikerrel jártak. Elsőként Ian Wilmutnak és munkatársainak sikerült 1996-ban klónozott emlőslálatot létrehozniuk úgy, hogy egy felnőtt birka bőrsejtjének magját egy magjától megfosztott birka petesejtbe ültették át. Az életképes utód, a világhírű Dolly bárány, genetikailag azonos volt a bőrsejtet biztosító „donor” állattal.

Habár a módszer nem nélkülözi a technikai kihívásokat, a következő évtizedben több állatfaj esetében sikerült életképes egyedeket létrehozni. Jelenleg huszonkét állatfaj, túlnyomórészt emlős fajok esetében számoltak be sikeres klónozásról. A klónozás célja a fejlődésbiológiai kutatásokon kívül a veszélyeztetett állatfajok megóvása (pl. vadmacska, farkas), illetve állatnemesítés (pl. szarvasmarha, ló, kutya) is lehet. Ugyanakkor persze az emberek félelme is megerősödött a tulajdonképpen lehetséges, de szerencsére mindenhol a világon tiltott emberi klónozás esetleges következményeivel kapcsolatban.

*Jamanaka Sinja*, a másik Nobel-díjas, csak nemrégiben, 2006-ban tette közzé azt a felfedezését, hogy az egér érett, szöveti sejtjeit petesejtek jelenléte és felhasználása nélkül, genetikai módszerekkel vissza lehet programozni mindentudó, pluripotens őssejteké. Kutatásait az embrionális őssejtekkel kapcsolatos kutatások készítették elő (amelyekért 2007-ben Mario R. Capecchi, Sir Martin J. Evans és Oliver Smithies már Nobel-díjat kapott). Az első embrionális őssejtvonalat hólyagsíra állapotú egérembrióból hozták létre, több mint negyedszázada. Azóta kiderült, hogy az emlősök, így az ember korai embrióiból is kinyerhetők pluripotens őssejtek, amelyek tenyészthetők, és belőlük a szervezet minden sejtjeit (kivéve a magzataburok sejtjeit) létrehozhatók. Az első humán embrionális (HuES) őssejtvonalat 1998-ban hozták létre. Az embrionális őssejtek óriási lehetőségeket kínálnak a biológiai és az orvosi kutatásokban, de alkalmazásukkal kapcsolatban mind technikailag, mind etikailag komoly gondok is jelentkeztek.

*Jamanaka* először egérsejteken (Takahashi et al., 2006), majd egy éven belül emberi sejteken is sikerrel alkalmazott (Takahashi et al.,

2007) módszerének lényege, hogy néhány speciális gén bejuttatásával az érett bőrsejtekből indukált pluripotens őssejtek (iPSC) hozhatók létre. Kiindulásként huszonnégy olyan transzkripciósfaktor génjét alkalmazta, amelyekről az embrionális őssejtkutatások alapján kiderült, hogy pluripotens őssejt állapotban legjellemzőbben kifejeződő gének. Feltételezhető volt, hogy ezek a transzkripciósfaktorok meghatározó szerepet játszanak az őssejtállapot fenntartásában. A bevitt gének számának fokozatos csökkentésével *Jamanaka* kísérleteiben igazolta, hogy elég négy transzkripciósfaktor génjét kifejeztetni – ezek az ún. *Jamanaka*-faktorok: Oct4, Sox2, Myc és Klf4 – és az így létrehozott őssejtek, az embrionális őssejtekhez hasonlóan, képesek a test valamennyi sejtjévé fejlődni, azaz pluripotens állapotba kerülni.

Az eljárás olyan hatékonynak bizonyult, hogy ma már a módszerváltozatok egész tárháza áll rendelkezésre iPSC-sejtek létrehozására attól függően, hogy a hatékonyság, a biztonság vagy tudományos ismeretek bővítése a cél (Lowry et al., 2008; Mostoslavsky, 2012).

Az alkalmazott gének száma és minősége változtatható – humán sejtek esetében például gyakran beviszik még a Lin28 gént is, ha a hatékonyságot kívánják növelni. Nagyon érdekes tudományos kérdés, hogy hány gén termékére van szükség, hogy a visszaprogramozás megtörténjen (jelenleg úgy tűnik, hogy az Oct4 elengedhetetlen).

A génbeviteli módszerek megválasztása is a céltól függ: viszonylag gyors és hatékony a retrovírusos génbevitel, ugyanakkor transzpozon felhasználásával el is lehet távolítani a bevitt géneket a sikeres átprogramozás után. Ezen utóbbi kísérletek rámutattak, hogy a gének időleges, tranzien jelenléte is elég a visszaprogramozás megvalósulásához, és

egyre több publikáció születik nem integrálódó vektorokkal vagy a gének fehérjetermékeivel történő iPSC-sejt-készítésről is.

A visszaprogramozni kívánt szomatikus sejtek is nagyon sokfélék lehetnek, a klasszikusan használt bőrsejtektől a köldökzsinórvér mononukleáris sejtjein át a vizeletben található epitél jellegű sejtkegig. Elsődleges megfontolás, hogy a mintavétel ne legyen invazív. Ugyanakkor a kísérletekből jól lesűrhető eredmény, hogy az éretlenebb szomatikus sejtek jobban visszaalakíthatók pluripotenssé. Nagyon fontos terület a betegségmodellezés betegekből nyert mintákból, de a tumorerő kialakulásának megértésére irányuló daganatsejt-átprogramozás is.

Az iPSC-sejtek esetében nem merülnek fel az embrionális őssejtekkel kapcsolatos etikai problémák, ugyanakkor az ilyen őssejtek az emberi fejlődés embrionális szakaszának modellezésére, illetve a sejtterápiás kutatások számára is sejtforrásként szolgálnak. Az orvosi kutatások és a gyógyítás már részben megvalósuló nagy ígérete, hogy beteg emberektől nyert (ős)sejtek segítségével a betegséget hordozó szövetek hozhatók létre, amelyeken célzott gyógyszerek próbálhatók ki. Reményeink szerint a betegségekben jelentkező súlyos szövetkárosodások a saját sejtekből létrehozott őssejtekkel, az immunrendszer védekezése nélkül válhatnak helyreállíthatóvá.

\*

Hogyan is foglalhatnánk össze röviden a 2012-ben Nobel-díjat érdemlő kutatásokat? Alig hihető lényegük az, hogy amennyiben egy már érett, differenciálódott állati vagy emberi testi sejt „visszaprogramozható” mindentudó, szaknyelven „pluripotens” őssejtté, akkor gyakorlatilag megvalósul az egyedi élőlények „halhatatlansága”. Egy már érett szervezetből

szöveti sejtek nyerhetőek, majd azok visszaalakíthatók egy alapvetően azonos genetikai információt hordozó teljes élőlényé. Ez a vérszen hangzó „klónozás” gyakorlati alapja, de egyben az őssejt-kutatás hatalmas lépése is.

A kitüntetettek munkája megváltoztatta a sejtek éréséről, specializálódásáról és fejlődési lehetőségeiről alkotott képet. Az éretlenből érett sejté válás folyamatát korábban véglegesnek, visszafordíthatatlannak hitték – ma már tudjuk, hogy az érett sejtnek nem kell feltétlenül az elért specializálódott állapotban maradnia. A két díjazottnak köszönhetően újraírták a tankönyveket, és új kutatási területek nyíltak meg. Az emberi sejtek újraprogramozásával új lehetőségek tárultak fel a betegségek tanulmányozására, valamint a diagnosztikai és terápiás módszerek fejlesztésére.

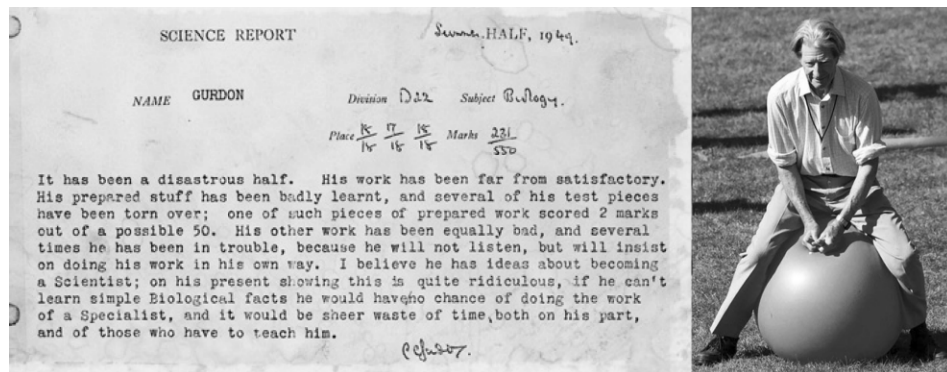
#### Rövid életrajzok:

**John Bernard Gurdon** 1933-ban született Nagy-Britanniában, doktorátusát Oxfordban szerezte 1960-ban, ezután az amerikai California Institute of Technology posztdoktoraként kutatott, majd visszatért az Egyesült Királyságba, a Cambridge-i Egyetemre, ahol a Magdalene College professzora volt 1995 és



Jamanaka Sinja (© Center for iPS Cell Research and Application (CiRA), Kyoto Univ.)

2002 között. Az 1995-ben lovaggá ütött kutató jelenleg ugyanott, a róla elnevezett Gurdon Intézet munkatársa. Gurdon úttörő kutatásokat végzett az mRNS-átírással kapcsolatban is (Gurdon et al., 1971; Laskey et al., 1972), az utóbbi években pedig a visszaprogramozás



Sir John B. Gurdon kedvezőtlen tudományos minősítése, Eton College, 1949;  
Sir John B. Gurdon, John Overton felvétele

mechanizmusának kutatásával foglalkozik (Hur et al., 1991; Miyamoto et al., 2012; Pasque et al., 2011), szintén kiemelkedő eredménnyel (190 publikáció, több mint 10 000 hivatkozás, H-index: 64). A kitűnő humorérzékkel rendelkező tudós bekeretezve őrizt az a jelentést, amelyben a tudományos pályára teljesen alkalmatlannak minősítették (1949, Eton College), és saját bevallása szerint sikertelen kísérletek után gyakran gondol rá, hogy esetleg mégis igazuk volt.

**Jamanaka Sinja** (Shinya Yamanaka) 1962-ben született Oszakában – pontosan abban az évben, amikor Gurdon magátültetési visszaprogramozási kísérleteivel tudományos meglepetést és áttörést okozott. Orvosi diplomáját a Kobei Egyetemen, 1987-ben szerezte, és mivel sebészként nem mutatott különösebb tehetséget, a kutatómunka felé fordult érdeklődése. PhD-dolgozatát 1993-ban,

#### IRODALOM

- Briggs, R. – King, T. J. (1952): Transplantation of Living Nuclei from Blastula Cells Into Enucleated Frogs' Eggs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 38, 5, 455–463.
- Gurdon, J. B. (1962): Adult Frogs Derived from the Nuclei of Single Somatic Cells. *Developmental Biology*. 4, 256–273.
- Gurdon, J. B. – Elsdale, T. R. – Fischberg, M. (1958): Sexually Mature Individuals of *Xenopus Laevis* from the Transplantation of Single Somatic Nuclei. *Nature*. 182, 4627, 64–65.
- Gurdon, J. B. – Lane, C. D. – Woodland, H. R. et al. (1971): Use of Frog Eggs and Oocytes for the Study of Messenger Rna and Its Translation in Living Cells. *Nature*. 233, 5316, 177–182.
- Hur, W. – Ahn, S. K. – Lee, S. H. et al. (1991): Cutaneous Reaction Induced by Retained Bee Stinger. *The Journal of Dermatology*. 18, 12, 736–739.
- Laskey, R. A. – Gurdon, J. B. – Crawford, L. V. (1972): Translation of Encephalomyocarditis Viral RNA in Oocytes of *Xenopus Laevis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 69, 12, 3665–3669.
- Lowry, W. E. – Plath, K. (2008): The Many Ways to

az Oszakai Egyetemen védte meg, hosszabb ideig kutatott a Gladstone Institutes-ban (San Francisco). Jelenleg a Kiotói Egyetem professzora, ahol az elmúlt évben egy új kutatóintézetet nyitottak meg, nagyrészt a Jamanaka által irányított őssejt-kutatás háttérének biztosítására. Jamanaka 146 publikációt tett közzé, munkáira több mint 17 000 hivatkozás történt, H-indexe 38. Elkötelezettsége a gyógyítás iránt megmaradt, legfőbb céljának az indukált pluripotens sejtek felhasználását tekinti a gyógyászatban. Érdekes megjegyezni, hogy 2012-ben jótékonysági célból kétszer is lefutotta a maratoni távot. 2009-ben a két kutató együtt nyerte el a Nobel-díj előszobájaként emlegetett Lasker-díjat.

Kulcsszavak: *Nobel-díj 2012, őssejt-kutatás, sejtmagátültetés, visszaprogramozás, indukált pluripotens őssejtek (iPS-sejtek)*

- Make an IPS Cell. *Nature Biotechnology*. 26, 11, 1246–1248.
- Miyamoto, K. – Gurdon, J. B. (2012): Transcriptional Regulation and Nuclear Reprogramming: Roles of Nuclear Actin and Actin-Binding Proteins. *Cellular & Molecular Life Sciences*. 29 Dec. Ahead of print
- Mostoslavsky, G. (2012): Concise Review: The Magic Act of Generating Induced Pluripotent Stem Cells: Many Rabbits in the Hat. *Stem Cells*. 30, 1, 28–32.
- Pasque, V. – Jullien, J. – Miyamoto, K. et al. (2011): Epigenetic Factors Influencing Resistance to Nuclear Reprogramming. *Trends in Genetics*. 27, 12, 516–525.
- Takahashi, K. – Tanabe, K. – Ohnuki, M. et al. (2007): Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell*. 131, 5, 861–872.
- Takahashi, K. – Yamanaka, S. (2006): Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. 126, 4, 663–676.
- Wabl, M. R. – Brun, R. B. – Du Pasquier, L. (1975): Lymphocytes of the Toad *Xenopus Laevis* Have the Gene Set for Promoting Tadpole Development. *Science*. 190, 4221, 1310–1312.