

Mladá fronta DNES, 13.10.2007, Myši nás učí, jak funguje člověk

Objevy metod, které umožňují MĚNIT GENY MYŠÍ a vytvářet tím myši modely lidských chorob, letos ocenil nobelovský výbor Nobelovou cenou za fyziologii a medicínu.

Rovným dílem se o ni letos podělí tři vědci – Mario R. Capecchi, sir Martin J. Evans a Oliver Smithies za práce z osmdesátých let.

Genově upravené myši jsou hitem posledních vědeckých let. Jak pracuje organismus savců? Jakou roli hrají jednotlivé geny? Jak se projeví, když gen funguje chybně nebo vůbec? Aby získali odpovědi na tyto otázky, vědci vyřazují z činnosti jeden gen po druhém, a tak se dozvídají, jakou roli jednotlivé geny v těle hrají. V období vývoje, v dospělosti, v procesu stárnutí, v nemocech všeho druhu. Tyto genové knockauty, jak se jim říká, už objasnilly funkci více než desítky tisíc genů (to je asi polovina genomu savců). Vědci již vytvořili tři sta modelů různě genově upravených myší, na nichž mohou zkoumat lidské nemoci a jejich genetické příčiny.

Pozměnit či vyřadit jeden gen z funkce stačí, aby myš kupříkladu nadměrně ztloustla, vydržela mimořádně vytrvale běhat, aby se dlouho obešla bez spánku, aby se dožívala delšího věku. Vědci z různých laboratoří světa již vyřazením jediného genu myši rovněž docílili, že se v jejím organismu netvořil cholesterol, že se samovolně likvidovaly škodlivé prionové bílkoviny, že myš oslepla, že si lépe pamatovala... A porozumět tomu, jak fungují geny u myší, znamená podstatný krok k porozumění funkce genů lidských.

Právě za objevy, které dnes vědcům a laboratořím na celém světě umožňují zcela rutinně vyměňovat, umlčovat neboli knockautovat jednotlivé geny, a tak poznávat jejich funkci v organismu, letos obdržela Nobelovu cenu trojice vědců – Brit Martin J. Evans z University of Cardiff a Američané Mario Capecchi z University of Utah a Oliver Smithies z University of North Carolina.

Lze měnit genom!

Nobelova cena byla udělena vlastně za dva zásadní objevy.

Prvním byl objev Martina Evanse, že lze v laboratoři dlouhodobě udržovat linie embryonálních kmenových buněk. Embryonální kmenové buňky jsou zvláštní, univerzální, tedy dosud nerozlišené buňky, které se rychle dělí, ale mají schopnost se diferencovat, a dokonce vytvořit celý nový organismus (zatímco jiné buňky těla již mají svůj vývojový potenciál ukončený).

„V té době panovalo obecné dogma, že není technicky možné připravit a udržet linii embryonálních kmenových buněk v kultuře,“ vysvětluje genetik Jiří Forejt z **Ústavu molekulární genetiky AV ČR ČR**, „a právě Evans dokázal, že za určitých podmínek to možné je.“

Martin Evans studoval původně buňky získané z karcinomů myších embryí. V roce 1975 prokázal, že se tyto buňky po vnesení do myšího embrya zabudovávají do tkání jedince, který se později vyvine v těle náhradní matky. Totéž pak zkusil se zdravými buňkami embryí... Evans byl vlastně prvním vědcem, který získal embryonální kmenové buňky. Právě na ně jsou dnes napřeny veliké naděje lidské medicíny – mohly by totiž být zdrojem náhradních buněk a tkání pro pacienty s přerušenou míchou, Alzheimerovou chorobou, po infarktu apod.

„Evansův objev umožnil vědcům měnit genom živých myší. Změna jediného genu v jediné embryonální kmenové buňce se později projeví ve všech buňkách organismu,“ dodává profesor Forejt.

Evans tak přinesl vědě poznání, jehož možnosti využití v základním výzkumu, ale i v lékařství jsou nespočetné. Za své zásluhy o vědu již byl ostatně oceněn – před lety byl povýšen do šlechtického stavu.

Jak vypínat geny

Na tom, že dnes umějí vědci s tvárným materiálem – liniemi embryonálních kmenových buněk – pracovat, že umějí vypínat geny a v laboratořích připravovat myší populace „Metuzalému“, maratonců, obézních myší, myší se sloní pamětí – mají podstatnou zásluhu ještě další dva vědci. Právě Mario Capecchi a Oliver Smithies přišli s myšlenkou, že proces tzv. homologní rekombinace (opravný proces, při němž se vymění určitý úsek DNA), lze využít při práci s buňkami savců. Do té doby byl známý a používaný jen u kvasinek nebo bakterií.

Capecchi dokázal nahradit v buňkách funkční gen za jeho poškozenou kopii a tím vyřadit ze hry (tzv. genový „knock-out“), Smithies zkoušel zase nahradit v buňkách poškozené části dědičné informace za bezchybné kopie narušeného genu („knock-in“). Později se oba spojili s Evansem a začali své experimenty provádět na jeho myších embryonálních buňkách. Jejich objev se dnes již hojně používá na celém světě pro cílenou úpravu určitého genu. „Capecchi se Smithiesem přišli na to, že je možné změnit gen v živé buňce, že je možné z 25 tisíc genů vybrat jeden a cíleně jej změnit speciálními selekčními metodami, tedy vytvořit celou myš, která má určitý gen umlčený nebo změněný,“ vysvětluje genetik Forejt, „z čehož pak mohou vědci usuzovat, jakou má funkci.“

Myš je podobná člověku

Genom myši a člověka má ledacos společného. Proto výsledky genetických manipulací u myší napovědí vědcům mnoho o tom, jakou funkci mohou mít obdobné geny i v těle lidském. S cíleným pozměňováním genů dnes vědci umějí vytvářet téměř jakékoli libovolné modifikace myšího genomu, což jim umožňuje objasnit roli těchto jednotlivých genů u zdravých i nemocných. Lze tak poznávat příčiny nejrůznějších genetických chorob. První myší model lidské choroby – cystické fibrózy – získal Oliver Smithies. Dnes existují modely myší, které se využívají ke zkoumání vysokého krevního tlaku, obezity, procesů stárnutí, neurodegenerativních chorob. V současné době přesáhl počet myších modelů lidských dědičných chorob pět set.

Nobelova cena Za medicínu Za objev metod, kterými lze měnit geny myší

Jak vědci mění geny myší

1. krok – pozměnit gen v embryonálních kmenových buňkách. Do kultury embryonálních kmenových buněk, které se odeberou z blastocysty, vědci vloží určitý „náhradní“ úsek DNA. V buňce dojde k výměně původního genu za nový. Pokud chtějí vědci daný gen umlčet, DNA nahrazovaný gen znehodnotí. Pak vědci vyberou kmenové buňky s požadovanou genetickou změnou a namnoží je.

2. krok - vědci pozměněné buňky implantují do živých myší, získají tak potomstvo s požadovanými vlastnostmi.

Zdroj: Nobel Prize

Foto popis| Sir Martin J. Evans

Foto popis| Mario R. Capecchi

Foto popis| Oliver Smithies

Foto autor| 3X FOTO: REUTERS

URL| <http://archiv.newton.cz/mf/2007/10/13/8d38f4cffbf8b22827a072cc6f5efff6.asp>

Mladá fronta DNES, 13.10.2007, Na geneticky pozměněné myši by už nestačil mrakodrap
EVA BOBŮRKOVÁ

Jiří Forejt, Genetik

Nobelovu cenu dostali vědci, díky nimž dnes genetici běžně vytvářejí myší modely lidských chorob. Dnes jich existuje již na pět set. Nyní dokonce vzniká ve světě myší genová banka. „Přesněji banka embryonálních kmenových buněk s knokauty všech myších genů – a ne jedna, ale dvě: EUROCOM v Evropě a společná pro USA a Kanadu,“ vysvětluje prof. MUDr. Jiří Forejt, DrSc., který se zabývá funkční genomikou a molekulární genetikou laboratorní myši v **Ústavu molekulární genetiky AV ČR**.

* A jak jsou vědci daleko?

Už částečně známe funkce asi deseti tisíc genů, u kterých byly udělány knokauty, což je necelá polovina genomu. Podílely se na tom stovky laboratoří, které umlčovaly gen po genu – ale právě kvůli tomu bylo skoro nemožné dostat všechny takto získané myší modely na jedno místo. Některé laboratoře si své výsledky na myších knokautech přísně hlídaly, jiné myši poskytovaly jen za tvrdých licenčních podmínek, takže po dlouhých diskusích se rozhodlo, že se celá práce udělá znovu a za určitých jednotných pravidel. A že za neziskové ceny budou myší banky poskytovat výsledky – myší knokautované geny – komukoli, kdo o ně požádá.

* Takže si můžete zažádat dejme tomu o obézní myši nebo o herkuly, u nichž genetická porucha vede k nadměrnému růstu svalů?

Je to tak. Možnosti jsou dvě. Knokauty se udělají u embryonálních kmenových buněk, ověř se, že příslušné geny jsou umlčeny, a buňky se zamrazí. Není možné někde uchovávat populace desítek tisíc geneticky pozměněných myší, na to by nestačil mrakodrap. Když někdo potřebuje určitý gen, dostane buď buňky, z kterých rutinně udělá myš tak, že embryonální buňky vloží do časného embrya a s ním do těla náhradní matky, nebo dostane rovnou myši se změněným genomem.

* Jaké genetické mutace sledujete vy ve své laboratoři?

Já studuji neplodnost, zajímá mne tedy vývoj pohlavních buněk. A zde je podobnost funkce genů u myši a u člověka významná.

* Nakolik se lze spoléhat, že se geny myši a lidí projevují stejně?

Pochopitelně ne zcela. Například model myši s Huntingtonovou chorobou je velmi dobrý, značně odpovídá lidské chorobě, ale existuje i řada dědičných chorob, kde se myš chová jinak.

* Připravujete i vy knokautované myši?

Léta jsme se o to snažili, ale nikdy jsme nesehnali dost peněz. Před dvaceti lety by nám nikdo potřebné vybavení nezaplátil. Dosud prakticky všichni výzkumníci v Česku musí spolupracovat s někým ve světě. My připravujeme transgeny společně s jednou americkou laboratoří – pošleme DNA, kterou chceme studovat, a oni pro nás připraví transgenní myš. Teď konečně po letech se připravuje i u nás centrum pro manipulaci myšího genomu. Tuto důležitou laboratoř povede docent Radek Sedláček, který se vrací z Německa. Je to můj splněný sen.

* Vy však také máte co nabídnout světu – ve vaší laboratoři připravujete zvláštní myší kmeny s vyměněnými chromozomy. Co na nich lze studovat?

Po sedmi letech a sto tisíci genetických testech na 17 tisících myší jsme nyní dokončili velkou práci – připravili jsme tzv. konsomické kmeny, zacílené na dědičné znaky komplexního charakteru. Například chování, imunitu, rezistenci k infekcím neovlivňuje jeden gen, ale celý komplex genů. Ty knokautovat nejde, neboť to není model klasické dědičné variace. Vzali jsme dva kmeny myší, odlišné v mnoha znacích – jako je třeba míra agresivity, odolnost vůči tuberkulóze, náchylnost k nádorům – a vyměňujeme mezi příjemci a dárci celé chromozomy. Nyní máme více než 29 různých kmenů a ty se právě teď začínají analyzovat v Německu, USA a u nás ve **Fyziologickém ústavu**.

Foto popis|

O autorovi| EVA BOBŮRKOVÁ eva.boburkova@mfdnes.cz

URL| <http://archiv.newton.cz/mf/2007/10/13/a91197215481a759853c2595d5d6d5cf.asp>

Lidové noviny, 13.10.2007, Vypnuté geny hovoří

MEDICÍNA

Spojením dvou průlomových objevů se podařilo vytvořit myš, která otevřela netušené možnosti ve výzkumu geneticky podmíněných chorob u lidí.

V devíti letech ještě neuměl ani číst a psát. Později se učitelé domnívali, že nemá šanci vystudovat střední školu. Přesto se Američan italského původu Mario Capecchi tento týden dočkal Nobelovy ceny za lékařství a fyziologii. O prestižní ocenění se rovným dílem podělil s Britem Martinem Evensem a Američanem Oliverem Smithiesem, který se narodil na britských ostrovech.

Capecchi se za války už jako čtyřletý musel protloukat sám, protože otec odešel od rodiny a matka skončila v koncentračním táboře. Tehdy by nikdo nevěřil, že se jednou stane špičkovým výzkumníkem. Za podobně nečekané, dalo by se říci až neuvěřitelné, byly ještě před třiceti lety považovány metody oceněné v pondělí Nobelovým výborem.

Capecchi a Smithies koncem 70. letech minulého století nezávisle na sobě zjišťovali, jak vnést geny do dědičné informace savčích buněk. Oliver Smithies používal na první pohled značně nepřírozený model. „Vnášel do savčích buněk v tkáňové kultuře současně dva odlišné fragmenty cizí DNA, které ale měly malou část totožnou. Zjistil, že je lze v tomto úseku pomocí metody zvané homologní rekombinace spojit,“ vysvětluje profesor Jiří Forejt z **Ústavu molekulární genetiky AV ČR**. Mario Capecchi zatím „vylepšoval“ techniku homologní rekombinace vyvinutou Richardem Axelem, také nositelem Nobelovy ceny.

Nezbytností pro další pokrok Capecchiho a Smithiese se stala práce Martina Evanse. Tomu se počátkem 80. let podařilo izolovat embryonální kmenové buňky myší tak, aby je bylo možné permanentně udržovat v tkáňové kultuře.

„Když jsem se dozvěděl o Evansově práci, hned jsem mu volal. Domluvil jsem si návštěvu a před Vánoci jsem u něj i se ženou strávil několik týdnů,“ popisuje Capecchi v rozhovoru ze zástupcem Nobelova výboru začátek spolupráce. Také Smithiese Evansovy výsledky zaujaly. Ten mu trochu cenného materiálu přinesl jednoduše v kapse.

„Výzkum embryonálních kmenových buněk de facto umožnil vyměnit genetickou informaci v raném stadiu embrya,“ vysvětluje profesorka Eva Syková, ředitelka **ústavu Experimentální medicíny AV ČR**. Udělení ceny dané trojici vědců proto považuje za velmi šťastné spojení.

Propojení dvou průlomových metod odstartovalo do té doby netušené zásahy do dědičné informace. Capecchi a Smithies ve velkém experimentovali s embryonálními kmenovými buňkami myši a problematice se začala věnovat řada dalších vědců.

Před dvaceti lety byly zveřejněny práce, které referovaly o narození myši s cíleně změněnou dědičnou informací. Studium „knokautovaných“ myši přineslo cenné informace o geneticky podmíněných chorobách u lidí.

„Myší model je velice užitečný. Genomy člověka a myši jsou podobné.

Znalosti získané knokautem by se mohly využít při genové terapii, tedy při přenosu genetického materiálu do buněk pacienta,“ vysvětluje profesor **Josef Syka** z **Ústavu experimentální medicíny AV ČR**.

Dnes patří knokautování ke zcela běžným vědeckým postupům. Gen se buď umlčí, nebo se pozmění jeho funkce. Vědci už u myši knokautovali asi 11 tisíc různých genů.

Foto popis|

URL| <http://archiv.newton.cz/ln/2007/10/13/4b0cb2fc908e2bb105ee6a10e7f25679.asp>