НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ім. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ

ЛІДЕРИ НАУКОВОГО ПРОГРЕСУ: ПІД ЗНАКОМ НОБЕЛЯ

За редакцією
академіка НАН і НАМН України С.В. КОМІСАРЕНКА

ПРОЄКТ
«НАУКОВА КНИГА»

КИЇВ
НАУКОВА ДУМКА
2023

https://doi.org/10.15407/978-966-00-1904-1
УДК 577+60-22-61

Лідери наукового прогресу: під знаком Нобеля / С.В. Комісаренко, В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.І. Романюк, О.П. Матишевська, М.В. Григор'єва, Т.В. Данилова. За ред. С.В. Комісаренка, укл. В.М. Данилова. Видання друге, доповнене. Київ: Наукова думка, 2023. — 678 с.

ISBN 978-966-00-1904-1

У світі існує багато премій, якими відзначають важливі наукові досягнення вчених різних напрямів науки. Однак найпочеснішою з усіх нагород дослідники всього світу вважають саме Нобелівську премію. Лауреати Нобелівської премії — дійсно світова інтелектуальна еліта; це — видатні фізики і хіміки, фізіологи й медики, економісти і письменники, а також громадські діячі, які принесли найбільшу користь людству. Зазначимо, що спеціальної премії за видатні роботи в галузі біохімії не було засновано, але науковців, які отримали Нобелівську премію безпосередньо за біохімічні дослідження, більш ніж достатньо. Вони удостоєні золотої Нобелівської медалі за видатні досягнення в галузі хімії або фізіології та/або медицини, тобто в найближчих до біохімії «нобелівських» дисциплінах. Книга певною мірою є унікальною. Це — зібрання статей (40 статей), присвячених огляду найрезонансніших відкриттів нобелівських лауреатів у галузі хімії, фізіології та/або медицини XX і XXI століть; тих відкриттів, які значною мірою спричинили революційний вплив на становлення і розвиток нових напрямів медико-біологічних наук — біохімії, генетики, молекулярної біології та імунології, молекулярної і генетичної медицини тощо. Зібрані статті раніше було опубліковано в академічних журналах «Ukrainian Biochemical Journal» і «Вісник НАН України». Одну із статей присвячено людині, якій світ завдячує заснуванням і втіленням у життя цієї нагороди — Альфреду Бернгарду Нобелю.

Для фахівців, які працюють в експериментальних і прикладних напрямах медико-біологічних наук, викладачів та студентів вищих навчальних закладів, а також для тих, хто цікавиться шляхами поступального розвитку науки взагалі.

Рецензенти:
академік НАН України *М.В. Кучук,*
доктор біологічних наук, професор *М.М. Великий*

Затверджено до друку вченою радою
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
(*протокол № 6 від 01.07.2022 р.*)

Видання здійснено за кошти Цільової комплексної програми НАН України «Наукові основи функціонування та забезпечення умов розвитку науково-видавничого комплексу НАН України»

Науково-видавничий відділ фізико-математичної
та технічної літератури
Редактори *А.Я. Бельдій, В.В. Вероцька, О.А. Микитенко*

© С.В. Комісаренко, В.М. Данилова,
Р.П. Виноградова, С.І. Романюк,
О.П. Матишевська, М.В. Григор'єва,
Т.В. Данилова, 2024
© НВП «Видавництво "Наукова думка"
НАН України», дизайн, 2024

ISBN 978-966-00-1904-1

До 80-річного ювілею
директора Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України,
академіка НАН України
СЕРГІЯ ВАСИЛЬОВИЧА КОМІСАРЕНКА –
ініціатора, автора і головного
редактора цієї книги

To the 80th birthday anniversary
of the director of the Palladin Institute
of Biochemistry, the Academician
of the National Academy of Sciences of Ukraine
SERHIY VASYLOVYCH KOMISARENKO –
the initiator, author and editor-in-chief
of this book

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Присвячується видатним вченим, співробітникам Інституту біохімії ім.О.В.Палладіна – фундаторам вітчизняної біохімії – О.В.Палладіну, В.О.Бєліцеру, М.Ф. Гулому, Д.Л. Фердману, Р.В. Чаговцю

ПЕРЕДМОВА
ВІД ВІЙНИ — ДО ВІЙНИ (1943—2023)

Шановний читачу,

Ви тримаєте в руках книгу про внесок лауреатів Нобелівської премії у розвиток наук про життя переважно з двох номінацій — з фізіології або медицини та з хімії. Перше видання з подібною назвою «побачило світ» у 2020 році. Це — друге видання книги, яке відрізняється від першого тим, що доповнене статтями, написаними після 2019 року до 2023 року включно (і не тільки!).

Ідеєю створення такого видання, як першого, так і другого, було бажання познайомити широке коло читачів з науковими роботами нобеліантів на яких здебільшого базується наше нинішнє розуміння основ перебігу хімічних процесів у живих клітинах, усвідомлення того, як побудовані і як взаємодіють системи — від найпростіших молекул до найскладніших надмолекулярних структур, що становлять основу живого, а також познайомити з винаходами і методами вивчення структури та функції біологічних складових клітин, що дозволяють вносити у такі складові точні зміни, спрямовані на модифікацію їх структури та/чи функції.

Якщо конкретніше, то у колективу авторів було дві головні мети. Перша — познайомити читачів із історіями наукових відкриттів учених, відзначених найпрестижнішою науковою премією світу, а друга — познайомити з внеском у розвиток біологічної науки, в досягнення медицини, біотехнологій, створення ліків, зрештою, в «якість життя» людей при оцінюванні наукової спадщини лауреатів Нобелівської премії.

Працюючи над Нобеліаною (це була «робоча» назва нашої книги) та під час написання статей, ми намагалися дотримуватися стилю відомого науково-популярного журналу «Scientific American» — знайти компроміс і об'єднати два нібито взаємно виключні підходи — писати навіть про складні речі досить зрозумілою для загалу мовою, але не «сповзати» до надмірного спрощення, яке не дозволяє отримати задоволення від докладених зусиль для розуміння складнощів живої природи чи механізмів розвитку наукового пошуку.

Історія появи статей, які здебільшого є основою книги, складається з двох джерел. Перше — це статті українською мовою, замовлені редакційною колегією журналу НАН України «Вісник НАН України» мені, як члену редколегії, для публікації опису робіт, відзначених у відповідний рік Нобелівською премією з тематики, близької до моїх наукових інтересів. Друге — статті, що були опубліковані англійською або українською мовами в науковому журналі Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України — *The Ukrainian Biochemical*

Journal («Український біохімічний журнал»), або *UBJ*, який видається з 1926 року! Статті про лауреатів Нобелівської премії в *UBJ* були написані на основі виконання відповідної планової наукової тематики відділу науково-технічної інформації Інституту, яку ми розробили разом з моїм другом і колегою — зав. відділом НТІ, канд. біол. наук Валентиною Михайлівною Даниловою.

Видання цієї книги реалізується у видавництві НАН України «Наукова думка» за академічним проєктом «Наукова книга». Спочатку ми планували всі статті публікувати українською мовою і з цією метою почали перекладати публікації у *UBJ* з англійської, але потім на прохання наших колег — майбутніх читачів, які вирішили, що тексти англійською читаються не гірше за українську, залишили тексти у мові опублікованих оригіналів. Ми також планували зробити варіант книги виключно англійською для публікації за кордоном, але поки цю ідею відклали до кращих часів.

Передмову до книги я назвав «**Від війни — до війни».** Спробую пояснити — чому від війни, пік якої у 1943 році, до нинішньої, підступної, що продовжується у 2023 році.

Мої дорогі колеги і друзі — співавтори статей книги зробили мені шляхетний подарунок — посвяту до мого 80-річчя, за що я їм щиро вдячний, як щиро вдячний і за нашу багаторічну і плідну співпрацю в Інституті біохімії. Проте інтрига полягає на тільки в тому, що я працюю в Інституті майже 57 років з жовтня 1966 року, коли я вступив до аспірантури у відділ біосинтезу і біологічних властивостей білків під керівництвом видатного українського біохіміка, академіка АН УРСР (НАН України) Максима Федотовича Гулого, а й ще в тому, що я народився 80 років тому у липні 1943 року в Уфі, куди була евакуйована АН УРСР, і де серед інших знаходився Інститут біохімії (під керівництвом О.В.Палладіна), в якому я працюю зараз, а також Інститут клінічної фізіології (під керівництвом О.О.Богомольця), де до початку війни у 1941 році мій батько, Василь Павлович Комісаренко, завідував лабораторією ендокринології. Певною мірою можна вважати, що я від самого народження знаходився і знаходжуся в оточенні вчених Академії наук УРСР, а потім НАН України.

Але повернемося до Альфреда Нобеля та до Нобелівських премій.

24, 25 та 26 травня цього року у Вашингтоні у форматі «оф- та онлайн» проводився «**Nobel Prize Summit**», організований Національною академією наук США та Нобелівською фундацією (НФ). Учасників, серед яких були і лауреати Нобелівської премії, і відомі експерти, вітали президент НАН США Марсія МакНатт та Виконавчий директор НФ Відар Хельгесен. Цьогорічна зустріч була присвячена проблемам довіри до вчених, до результатів їхньої діяльності, до шляхів та методів боротьби з дезінформацією та розповсюдженням викривлених фактів. Було визначено, що дезінформація призводить до зневіри щодо вчених та науки і стає однією з найбільших загроз у сучасному суспільстві. Зустрічі «Nobel Prize Summit», які розглядають різноманітні, але водночас і найважливіші проблеми людства, дозволяють вченим у співдружності з політиками і бізнесменами виробляти та надавати відповідні рекомендації керівникам найвпливовіших країн світу. Наприклад, зустріч «Nobel Prize Summit» 26—28 квітня 2021 року була присвячена нашій планеті та її майбутньому, зокрема — клімату, земельним ресурсам, світовому океану, питній воді,

лісам, технологічним інноваціям, різноманіттю життя та природи. Я дозволив собі зупинитися на подіях, пов'язаних з проведенням зустрічей «Nobel Prize Summit», саме тому, що це ще раз підтверджує найвищий рівень визнання у світі значення Нобелівської премії серед інших престижних наукових нагород, деякі з яких можуть перевершувати фінансовий зиск Нобелівської премії, особливо тоді, коли вона присуджується відразу двом чи трьом лауреатам. Водночас НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ є і, я думаю, ще довго залишатиметься найбільш почесною, престижною і бажаною відзнакою, в першу чергу, для вчених світу, а також для літераторів та гуманістів (премія з літератури, економіки та премія миру).

Доречно згадати престижні премії з інших галузей людської діяльності, що не охоплюються нобелівськими преміями, але які є найпрестижнішими у відповідній царині науки, технології або мистецтва, з інших галузей діяльності людей та їхньої творчості. В першу чергу, на мою думку, це — японська «*Імператорська премія*» (*Praemium Imperiale*), що присуджується з 1989 року щорічно за п'ять видатних досягнень у мистецтві (у живописі, скульптурі, архітектурі, музиці та кіно/або театрі) і яку називають «*нобелівською*» для митців. Мені пощастило бути знайомим (або зустрічатися) з деякими лауреатами Імператорської премії — кінорежисером Анджеєм Вайдою, диригентом Зубіном Метою, скульптором Дані Караваном, віолончелістом Мстиславом Ростроповичем, архітектором Оскаром Німейєром, актором лордом Джоном Гілгудом.

Як відомо, не існує Нобелівської премії з математики — «*цариці всіх наук*», за вдалим визначенням Карла Гаусса. Тому урядом Норвегії у 2002 році була встановлена *Абелівська премія* (*Abel Prize*) з математики, названа на честь норвезького математика Нільса Генрика Абеля. Цю премію король Норвегії щорічно вручає видатним математикам сучасності — розмір премії у 6 млн норвезьких крон є близьким до розміру Нобелівської премії. Тому вона отримала репутацію «Нобелівської премії з математики». За цю репутацію з Абелівською премією конкурує ще одна нагорода для видатних математиків — *Медаль Філдса*, яка надається двом, трьом або чотирьом математикам. Вона також вважається престижною відзнакою в математиці і порівнюється із Нобелівською премією, хоча суттєво відрізняється від неї тим, що надається лише раз на чотири роки, вона невелика за розміром (15 тис. канадських доларів) і присуджується номінантам, яким не більше 40 років.

Іншим прикладом сучасної престижної премії, схожої з Нобелівською, є найвища в світі нагорода з інженерії — Приз королеви Єлизавети II з інжинірингу. Приз та 500 тисяч фунтів щорічно вручаються у Букінгемському палаці за видатні досягнення з інжинірингу, що мали глобальний позитивний вплив для людства.

Серед багатьох інших престижних і досить численних нагород відмітимо лише одну — **премію Ласкера** (Lasker Award) у галузі медичних (і біологічних) наук, яку називають «Нобелівською премією США». Це дуже престижна премія, яку часто називають предтечею Нобелівської премії. Чимало нобелівських лауреатів (у першу чергу, що й зрозуміло, в галузі фізіології або медицини) отримали премію Ласкера перед тим, як отримати пізніше премію Нобе-

ля (понад вісімдесят лауреатів премії Ласкера стали потім нобелівськими лауреатами).

А тепер про головне — про нобелівських лауреатів, з якими моє досить довге життя (9 липня мені має виповнитися 80 років) надало щастя зустрічатися, розмовляти — коротко чи розлого, а в деяких, на жаль, рідких випадках і товаришувати. У розділах нашої книги описано також наукові досягнення і тих лауреатів, з якими я зустрічався, але, зрозуміло, — лауреатів *з наук про життя* (з фізіології або медицини та з хімії). Про інших нобелівських лауреатів, з якими я був знайомий (не з наук про життя), яких я згадаю нижче дуже побіжно, можна дізнатися із доступних інформаційних джерел. Найпростіше, наприклад, з Вікіпедії, яка нині майже повністю замінює всі інші традиційні енциклопедії, як Britannica, Grande Larousse тощо.

Хочу зазначити, що мої плани написання передмови суттєво змінилися. Навіть короткий опис моїх зустрічей з колегами-лауреатами (коли йдеться про лауреатів з наук про життя) виявився занадто великим. Тому за порадою колег з Інституту та співробітників видавництва «Наукова думка» наведу лише перелік лауреатів — знайомих, яких я пам'ятаю і які, можливо, пам'ятають або могли б пам'ятати мене. А також тих, з якими я зустрічався, але переконаний, що навряд чи залишився в їхній пам'яті. На жаль, не всі герої моїх спогадів дожили до нинішнього часу. Проте такі зустрічі неодмінно залишають сліди у пам'яті серед спогадів і менше чи більше впливають на формування сприйняття людських стосунків та нашого життя взагалі.

Хто ж були ці знаменитості, з якими я мав щастя (у більшості випадків) зустрічатися на своєму життєвому шляху?

Я починаю спогади зі знайомства з лауреатами Нобелівської премії з «Великої французької трійки» у віковій послідовності — **Андре Львов (André Lwoff), Жак Моно (Jacques Monod)** та **Франсуа Жакоб (François Jacob).** Вони отримали Нобелівську премію з фізіології або медицини у 1965 році за «*відкриття генетичного контролю синтезу ферментів та вірусів*», а фактично — за створення моделі оперона, або як активність гена регулюється взаємодією протеїнів з ДНК та як ініціація транскрипції контролює експресію генів. Я був щасливий працювати поруч з ними в Інституті Пастера у 1974—1975 роках.

У той самий час, коли я працював в Інституті Пастера (і пізніше), там працював видатний французький вчений-вірусолог — **Люк Монтаньє (Luc Montagnier),** який став лауреатом Нобелівської премії пізніше, у 2008 році, *за відкриття вірусу імунодефіциту людини (*ВІЛ, *англ.* HIV), який викликає синдром набутого імунного дефіциту (СНІД, англ. AIDS, франц. SIDA). Як тепер добре відомо, ВІЛ незалежно відкрили 1983 року в Інституті Пастера у Франції під керівництвом Люка Монтаньє і в Національному інституті раку (NCI) у США під керівництвом **Роберта Галло (Robert Gallo)**. Роберт Галло не отримав Нобелівську премію за фундаментальні дослідження ВІЛ і СНІД, хоча, поза сумнівом, заслуговував її. Його помилкою, яка коштувала йому Нобелівської премії, стало те, що він спочатку наполягав, що дослідження структури РНК ВІЛ проводив на вірусі, виділеному в його лабораторії, і приховав, що насправді зробив роботу на вірусі, отриманому від Монтаньє.

У лютому 1981 року, коли я відвідував Національний інститут раку (National Cancer Institute, NCI) у місцевості Бетесда, США, Роберт Галло, який тоді був «найбільш цитованим» ученим у світі, познайомив мене зі своїм колегою у NCI — **Даніелем Гайдузеком (Daniel Gajdusek)** — лауреатом Нобелівської премії 1976 року за розшифровку захворювання куру в аборигенів племені форе у Папуа-Нова Гвінея. Інкубаційний період куру може тривати до 50 років. Це дозволило Гайдузеку запропонувати гіпотезу про те, що збудниками хвороби є «повільні» віруси. Але тепер ми знаємо, що куру, як і хвороба Крейтцфельдта—Якоба, зумовлюється не вірусами, а *пріонами*, за дослідження яких Нобелівську премію 1997 року отримав **Стенлі Прузінер**.

Із «відкривачем» пріонів **Стенлі Прузінером (Stanley Prusiner)** я познайомився після його виступу на Конгресі FEBS у 2002 році, де мав розмову про те, яким чином патогенний пріон індукує патогенну конформацію у непатогенного пріону і як така конформація поширюється (розмножується) у поки що здоровому організмі. Я подякував Прузінеру за те, що, як він зазначав, під час розрахунку констант взаємодії отриманих в його лабораторії антитіл він користується методом, розробленим у відділі молекулярної імунології нашого Інституту біохімії Сергієм Бобровником.

Під час відрядження до США у 1981 році я відвідав Інститут імені Солка в Каліфорнії, де директор Інституту доктор Йонас Солк познайомив мене із найбільш відомим у світі молекулярним біологом — **Френсісем Кріком** (Francis Crick**),** який разом із **Джеймсом Вотсоном (**James **Watson**) та **Морісом Вілкінсом** (Maurice Wilkins) отримав Нобелівську премію 1962 року за створення моделі двоспіральної ДНК. Модель продемонструвала, як може бути зашифрована в ДНК інформація про протеїни та як ця інформація може зберігатися і передаватися при розмноженні клітин. Дж. Вотсона я коротко бачив у Колд-Спрінг-Харбор лабораторії (**Cold Spring Harbor Laboratory)** у 1981 році, а пізніше запрошував виступити у Києві після його візиту до Росії. Він дав згоду, але потім написав, що не встигає вчасно повернутися до США.

На запрошення видатного іспано-американського біохіміка, лауреата Нобелівської премії 1959 року **Северо Очоа (Severo Ochoa)** у березні 1981 року я був його гостем у його лабораторії в Рош — Інституті молекулярної біології у Натлі (штат Нью-Джерсі, США), який належав відомій швейцарській фармацевтичній компанії Ф. Хоффман-Ля Рош Лтд (F.Hoffmann-La Roche Ltd, широко відома як **Roche**).

У квітні 2001 року у Нью-Йорку, у приміщенні Ради безпеки ООН проходила міжнародна конференція, присвячена 15 роковинам Чорнобильської аварії, де я мав головну лекцію. Я скористався перебуванням у Нью Йорку, щоб зустрітися з моїм другом — президентом Вайцманівського інституту (Ізраїль), професором Міхаелом Села, з яким ми поїхали до Колумбійського університету до нобелівського лауреата **Еріка Кендела (Eric Kandel).** Так я познайомився з цією видатною людиною, яка отримала Нобелівську премію у 2000 році за *«відкриття щодо передачі сигналів у нервовій системі»*. Кендел був радий знайомству і відразу охоче розповів, що має коріння з України (його мати і батько народилися на території сучасної України).

Аарон Чехановер (Aaron Ciechanover), лауреат Нобелівської премії з хімії 2004 року, є, напевне, єдиним з лауреатів, з яким (можу впевнено сказати) я постійно підтримую дружні зв'язки. Ми зустрілися вперше у Стамбулі на Конгресі FEBS у 2006 році і потім неодноразово зустрічалися на різних форумах. Але справжнє зближення сталося, коли Аарон був у Києві на конференції у 2008 році. Після конференції я запросив його до Інституту біохімії, познайомив з нашими дослідженнями, з музеєм Палладіна. Тоді ж він відвідав місце трагедії у Бабиному Яру. У 2019 році Аарон відеозверненням відкрив Український біохімічний конгрес у Тернополі. І тут видається доречним згадати, що професора Аарона Чехановера обрано іноземним членом НАН України і що нині він повністю засуджує напад РФ на нашу країну.

Жан-Марі Лен (Jean-Marie Lehn) став нобелівським лауреатом з хімії у 1987 р. У 2008 він був гостем НАН України, прочитав лекцію із «*Супрамолекулярної хімії*» під час Днів науки в Україні, а потім цілий день присвятив знайомству із дослідженнями, що проводяться в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна.

Ще одна зустріч і коротке знайомство після лекції на Конгресі FEBS були з **Елізабет Блекберн (Elizabeth Blackburn)** — лауреаткою Нобелівської премії 2009 року за роботи з *теломерази* — ензиму, який продовжує кожен ланцюг ДНК перед її копіюванням. У нас відбулося досить плідне обговорення питання про участь теломераз у долі злоякісних клітин.

З **Адою Йонат (Ada Yonath)** я познайомився ще до отримання нею Нобелівської премії у 2010 році. Мій друг професор Міхаел Села, про якого я згадував вище, у 2003 році урочисто відзначав своє 80-ліття. Він запросив мене з дружиною до Ізраїлю на ювілей і попросив мене головувати на одному із засідань. Серед доповідачів була й Ада. Цікаво, вже тоді, у 2003 році, Міхаел попередив, що вона вже є серед претендентів на Нобелівську премію. І дійсно, у 2010 році Ада Йонат разом із **Венкатраманом Рамакрішнаном (Venkatraman Ramakrishnan)** та **Томасом Стейцем (Thomas Steitz)** отримала цю премію *за кристалографічні дослідження структури і функції рибосом*. Треба віддати їй належне — коли організатори Парнасівських конференцій (а це біохімічні товариства України, Польщі та Ізраїлю) запрошували Аду Йонат виступити, вона ніколи не відмовляла, її лекції завжди були жвавими і вкрай цікавими.

Венкі Рамакрішнан, лауреат Нобелівської премії 2010 року разом з Йонат та Стейцем, був гостем Конгресу FEBS у Кракові у 2020 році. У тому році він ще продовжував бути президентом Королівського товариства (Royal Society) Великобританії. На конгресовому банкеті ми з ним сиділи поруч. Тому темою нашої розмови стало, як краще налагодити зв'язок між нашими академіями.

Найближчим до моєї наукової професії — імунології стало знайомство з нобелівським лауреатом 2011 року видатним французьким ученим **Жюлем Гоффманом (Jules Hoffmann),** який отримав премію *за відкриття важливих механізмів природнього імунітету* (так званого *innate immunity*).

На мою думку, було б несправедливим не згадати про трьох українських учених, з двома з яких я мав щастя спілкуватися і які заслуговували на премію та могли б стати нобелівськими лауреатами. Це добре відомі у нашій країні вчені, академіки нашої Академії наук **Сергій Михайлович Гершензон** та **Платон**

Григорович Костюк. Сергій Михайлович заслуговував на цю найвищу нагороду *за відкриття мутагенної дії тимусної ДНК на дрозофілу* (фактично — за відкриття хімічного мутагенезу) та за синтез вірусної ДНК на РНК матриці (*відкриття зворотної транскрипції*). Платон Григорович міг би отримати Нобелівську премію *за дослідження окремих кальцієвих каналів мембран нервових клітин та за вивчення кальцієвих струмів високопорогових та низькопорогових кальцієвих каналів*.

Є ще один видатний український учений, якого в Україні зовсім мало хто знав, але який зробив винахід світового значення, що рятує життя багатьох людей по всьому світу. Заінтриговані? Йдеться про харківського професора-хірурга **Миколи Леонтійовича Володося**, який першим у світі винайшов і запропонував *стенти для кровоносних судин*, що зараз використовуються по всьому світу! Як часто буває, світ довго не знав про пріоритет українського хірурга, але наразі пріоритет його визнано. На жаль, Микола Леонтійович пішов з життя у 2016 році.

На цьому перелік моїх знайомих лауреатів Нобелівської премії можна було б і завершити, але тоді залишилася б незгаданою низка особистостей, які нагороджені Нобелівською премією в іншій царині людської діяльності і які певний час відігравали важливу роль на нашій планеті. Дозвольте назвати їх імена і ті обставини, за яких моя доля привела мене до зустрічей з ними.

Першим моїм знайомим лауреатом Нобелівської премії миру 1986 року *за поширення інформації про Голокост євреїв* став **Елі Візель** (**Elie Wiesel**), з яким я познайомився у Нью-Йорку у травні 1991 року, коли очолював Урядову комісію з відзначення трагедії у Бабиному Яру. З **Генрі Кіссінджером (Henry Kissinger,** лауреат Нобелівської премії миру 1973 року) я зустрівся, коли той прилетів до Києва у 1991 році. Із лауреатом премії миру 1989 року **Тенцзіном Ґ'яцо (Далай-лама XIV-й)** я зустрічався двічі після його виступу у Віндзорському палаці у 1993 і 1996 роках. Я мав з Його Святістю коротку розмову, з якої пам'ятаю, що сказав про мрію побувати на Тібеті, на що він досить переконливо відповів: *«Ви там будете»*. Згодом так і сталося!

У 1993 році почався діалог між Ізраїлем та Палестиною для встановлення мирних відносин (так званий «*Oslo peace accords*»). Мене запросили з Лондону (тоді я був Надзвичайним і Повноважним послом у Великобританії та Ірландії) до Єрусалиму бути одним із головуючих на конференції. Там, на «полях конференції», познайомився з Прем'єр-міністром Ізраїлю **Іцхаком Рабіном (Yitzhak Rabin)** та Президентом **Шимоном Пересом** (**Simon Peres**). У 1994 році Іцхак Рабін, Шимон Перес та **Ясір Арафат (Yasir Arafat**) отримали Нобелівську премію миру за підписання «*Мирного договору від Осло*». З Пересом я ще двічі зустрічався в Лондоні на засіданнях Атлантичної ради, а з Ясіром Арафатом бачився лише коротко, один раз під час його офіційного візиту до Лондону.

Серед перелічених політиків найбільшу симпатію у мене викликала зустріч з **Нельсоном Манделою (Nelson Mandela)** під час його державного візиту до Сполученого Королівства як Президента Південної Африки у липні 1996 року. Він чимось нагадував нашого українського героя — Левка Лук'яненка. Так я сказав Левку Григоровичу і так само сказав Манделі. Мені пощастило бачитися з Манделою двічі, і двічі ми розмовляли, хоча за протоколом у

Посла з Главою держави не мало бути жодних розмов, крім протокольного вітання. Перша зустріч була у Сейнт-Джеймському палаці, де гості — глави держав приймають акредитованих послів. Удруге ми розмовляли після його промови і прийняття у Вестмінстерському палаці. Нельсон Мандела та колишній керівник Південної Африки де Клерк (de Klerk) отримали Нобелівську премію миру у 1993 році, а Мандела 10 травня 1994 року став першим Президентом ПАР, обраним демократично.

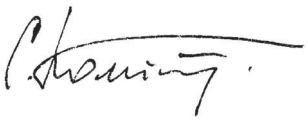
Слід згадати лауреата Нобелівської премії з економіки 1973 року **Василя Васильовича Леонтьєва (Wassily Leontief),** з яким мене познайомив у 1993 році в Лондоні мій добрий друг Костянтин Оганян.

На цьому перелік моїх знайомств з лауреатами Нобелівської премії завершився. А що ж залишається?

Розуміння того, що історія розвитку науки підтверджує правильність рішень Нобелівського комітету про нагородження вчених, які були і є ЛІДЕРАМИ НАУКОВОГО ПРОГРЕСУ, що і засвідчує видання унікальної книги, яку ми пропонуємо Вам, дорогий читачу!

На жаль, не всі країни, точніше, керівники не всіх країн розуміють важливість розвитку науки, в першу чергу — фундаментальної науки та освіти — як основи науки, для прогресу своїх країн. Це стосується, зокрема, і нашої країни, фундаментальна наука якої, особливо **науки про життя** (**Life Sciences**), давно *не є пріоритетом*, хоча Україна багата на генофонд, має багато талановитої молоді, яка потребує уваги і підтримки, щоб стати запорукою майбутнього прогресу і розвитку нашої країни.

Детальніший опис моїх зустрічей із лауреатами Нобелівської премії буде опубліковано окремим виданням — це моє бажання та надія.

Щиро ваш  Сергій Комісаренко

This book is dedicated to the prominent scientists worked at the Palladin Institute of Biochemistry — O.V. Palladin, V.O. Belitser, M.F. Guly, D.L. Ferdman, R.V. Chagovets — the founders of biochemistry in Ukraine

FOREWORD
FROM WAR TO WAR (1943—2023)

Dear Reader,

The book you are holding in your hands is about contribution of Nobel Prize laureates to the development of life sciences mainly in two nominations, Physiology or Medicine and Chemistry. This is the second edition of the book with a similar name, which was first released in 2020, differing from the first one in supplementary articles written after 2019 up to and including 2023 (even more of them!).

The idea of writing this book had much in common with the idea of the first one — to introduce a wide range of readers to scientific achievements, which had become the grounds for our current understanding of the basics of chemical processes in living cells, of how systems, from the simplest molecules to the most complex supramolecular structures that make up the basis of living creatures, are built and interact, as well as to represent inventions and methods used for studying the structure and function of biological cell components, which allow making precise changes in such components aimed at modifying their structure and/or function.

More specifically, the team of authors had two principal objectives. The first was to acquaint readers with the stories of the scientific discoveries made by scientists awarded the most prestigious scientific prize in the world, and the second was to provide an outline of contributions made by them to the development of biological science, medicine, biotechnology, pharmacy, and ultimately to the «quality of life» of the humankind, other scientific heritage of Nobel Prize laureates.

While working on Nobeliana (this was the working title of the book) and writing articles, we tried our best to adhere to the style of the famous popular scientific magazine Scientific American, that was, to find a compromise and combine two supposedly mutually exclusive approaches, consisting in writing about complex things quite in a language comprehensible to the general public, yet not 'sliding' into oversimplification, which wouldn't allow you to get satisfaction from the efforts made to understand the complexities of living nature or the mechanisms of scientific research.

The articles, which became in great respect a backbone of the book, have basically originated from two sources. The first were articles in the Ukrainian language that were ordered by the editorial board of the journal Visnyk of the NAS of Ukraine to me, as a member of the editorial board, for publication of an outline of works

awarded the Nobel Prize in certain years on topics close to my scientific interests. The second came articles published in English or Ukrainian in the scientific journal of the Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine — The Ukrainian Biochemical Journal, or UBJ, which has been published since 1926! The UBJ articles about the Nobel Prize laureates were written and published on the basis of the corresponding scientific topics addressed in the Department of Scientific and Technical Information (STI) of our Institute, which were elaborated in cooperation with my friend and colleague Candidate of Biological Sciences Valentyna Mykhailivna Danylova, the STI head.

The book is being published by the Naukova Dumka (publishing house of the National Academy of Sciences of Ukraine within the framework of the Naukova Knyha Project. Initially, we had a plan to publish all articles in Ukrainian, and for this purpose we began to translate the English language UBJ publications, yet soon after, we decided to leave the texts in the original language of published material at the request of our colleagues, future readers, who concluded that English texts read no worse than the ones in Ukrainian. We also planned to make a version of the book exclusively in English for publication abroad, but have decided to put this idea on the back burner until better times.

I named the foreword to the book From war to war. Let me give some explanations why I took a period from the war of 1943 to the current, insidious one, still continuing in 2023.

The fact is that my dear colleagues and friends, co-authors of the book's articles, gave me a noble gift — a commemorative certificate for my 80-th birthday, for which I am sincerely grateful to them, as well as for many years of fruitful cooperation with them at our Institute of Biochemistry. But the intrigue lies not only in the fact that I have been working at our Institute for almost 57 years since October 1966, when I entered graduate school with the Department of Biosynthesis and Biological Properties of Proteins under the guidance of an outstanding Ukrainian biochemist Maksym Fedotovych Hulyi, Academician of the Academy of Sciences of the Ukrainian SSR (NAS of Ukraine), but also in the fact that I was born 80 years ago in July 1943 in Ufa, where the Academy of Sciences of the Ukrainian SSR was evacuated to, and where, among others, the Institute of Biochemistry (under the leadership of Palladin O.V.), my current employer, relocated, along with the Institute of Clinical Physiology (under the leadership of O.O.Bohomolets), where in 1941, in prewar times, my father, Vasyl Pavlovych Komisarenko, was in charge of the Endocrinology Laboratory. To a certain extent, it can be counted that I have been surrounded by scientists of the Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, followed by the National Academy of Sciences of Ukraine.

But let's return to Alfred Nobel and the Nobel Prizes.

On May 24, 25 and 26 this year, the Nobel Prize Summit organized by the US National Academy of Sciences and the Nobel Foundation (NF) was held in Washington in off- and on-line formats. The participants, among whom were Nobel laureates and well-known experts, were kindly welcomed by Marcia McNutt, the president of the US National Academy of Sciences, and Vidar Helgesen, NF Executive Director.

This year's meeting was devoted to the problems of trust in scientists, the results of their efforts, in ways and methods of combating disinformation and spreading distorted facts. The summit determined that disinformation led to general distrust in both scientists and science and has become one of the biggest threats to modern society. The Nobel Prize Summit meetings, which cover various, yet the most pressing problems of humanity, allow scientists to work out and present appropriate recommendations to the leaders of the most influential countries of the world in cooperation with politicians and businessmen. For example, the Nobel Prize Summit on April 26—28, 2021 was dedicated to our planet and its future, including climate, land resources, world oceans, drinking water, forests, technological innovations, and the diversity of life and nature. I allowed myself to dwell on events related to meetings within the Nobel Prize Summits precisely because they once again emphasize the highest level of recognition of the Nobel Prize value among other prestigious scientific awards of the world, some of which may exceed the financial gain of the Nobel Prize, especially when awarded simultaneously to two or three laureates. At the same time, the NOBEL PRIZE is and, I think, will long remain the most honorable, prestigious and desirable award for scientists, in the first place, but also for writers and humanists of the world (the prize for literature, economics and peace).

Here it is worthy to mention other prestigious awards in other fields of human activity, which are not covered by current Nobel Prizes, yet are highly recognized in some directions of science, technology, art, other areas of human activity and creativity. The most important of them, in my opinion, is the Japanese Praemium Imperiale, awarded annually since 1989 for five outstanding achievements in arts (painting, sculpture, architecture, music and film/or theater), and called the «Nobel Prize» for artists. I was lucky to know (or meet) some laureates of the Imperial Prize — film director *Andrzej Wajda*, conductor *Zubin Mehta*, sculptor *Dani Karavan*, cellist *Mstislav Rostropovich*, architect *Oscar Niem*eyer, and actor *Sir John Gielgud*.

As we all know, there is no Nobel Prize in mathematics, the 'queen of all sciences', as reasonably reckoned by Karl Gauss. Therefore, in 2002, the Norwegian government established the Abel Prize in Mathematics named after the Norwegian mathematician *Niels Henrik Abel*, which the King of Norway annually awards to outstanding modern mathematicians (the prize amount of 6 million Norwegian kroner is close to the one of the Nobel Prize). Therefore, the prize has the reputation of the 'Nobel Prize in Mathematics'. Fields Medal awarded to two, three, or four mathematicians is another award for prominent scientists competing for this reputation with the Abel Prize. It is also considered a prestigious award for achievements in mathematics compared to the Nobel Prize, although it differs significantly being awarded only once every four years, is smaller in size (15 thousand Canadian dollars) and awarded to nominees under 40.

Another example of a modern prestigious award comparable with the Nobel Prize is the world's highest engineering award, the Queen Elizabeth II Prize for Engineering. The £500,000 prize is awarded annually at Buckingham Palace for outstanding engineering achievements that have had a global positive impact on humankind.

Among many other prestigious and numerous awards, which we skip mentioning, nevertheless, I would like to dwell on the Lasker Award in the field of medical (biological) sciences, often called the 'Nobel Prize of the USA'. This is a very prestigious prize, which is often considered a forerunner of the Nobel Prize. In fact, a large number of Nobel laureates (primarily in the fields of physiology or medicine, which is quite natural) had received the Lasker Prize before being awarded the Nobel Prize in a while (over eighty Lasker laureates subsequently became Nobel laureates).

And now about the main thing, about Nobel laureates, whom my rather long life (today, when I write my memoirs at my laptop, it is the third of June 2023, and in a month, on July 9, I will turn a 80-year jubilee) gave me a happy opportunity to meet and talk with, for short or long, and to make friends in some, unfortunately rare, cases. The chapters of our book describe the scientific achievements of laureates, naturally in life sciences, whom I have had a chance to meet in my life. About other Nobel laureates, not in life sciences, which I will mention below very briefly, you can learn from available information sources. The easiest way is to go to Wikipedia, which nowadays has almost completely replaced all other traditional encyclopedias, such as Britannica, Grande Larousse, or others.

At this point I must confess that my plans for writing the foreword have changed considerably. Even brief description of my meetings with fellow laureates (when it comes to life sciences laureates) turned out to be too long. Therefore, on the advice of colleagues from my Institute and fellows from the Naukova Dumka publishing house, I will only mention laureates or acquaintances that I remember and who may remember or could remember me, including those whom I met on various occasions, yet I am convinced they hardly keep me in the memory. In addition, I have to mention that, unfortunately, not all the heroes of my memories survived to the present time. One way or another, such meetings have definitely left traces in my memory and influenced more or less the perception of human relations and my life in general terms.

Well, who were these celebrities whom I had the good fortune (in most cases) to meet with in my life's journey? For the most part, these were life sciences Nobel Prize laureates (Physiology, Medicine and Chemistry), as I have mentioned above.

Here, I begin my recollections from meeting the Nobel Prize winners from the «Big French Three» in age order — *André Lwoff, Jacques Monod* and *François Jacob,* who were awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine of 1965 for «the discovery of genetic control of the synthesis of enzymes and viruses», and, in fact, for creating an operon model, or discovery of a principle of how gene activity is regulated by interaction of proteins with DNA and how transcription initiation controls gene expression. I was lucky to work alongside them at the Institut Pasteur in 1974—1975.

At the same time that I was working at the Institut Pasteur (and later), a prominent French virologist *Luc Montagnier*, who later won the Nobel Prize in 2008 for the discovery of human immunodeficiency virus (HIV) which causes the acquired immune deficiency syndrome (AIDS, SIDA in French), was working there. As is now well known, HIV was independently discovered in 1983 at the Institute Pasteur in France under the leadership of Luc Montagnier, and at the National Cancer Institute (USA) by a team headed by Robert Gallo. Unfortunately, Robert Gallo did

not win the Nobel Prize for his fundamental research on HIV and AIDS, although he undoubtedly deserved it. His mistake, which cost him the Nobel Prize, was that he initially insisted that he had done his research of HIV RNA structure on a virus isolated in his laboratory, and concealed that he had actually done the work on a virus provided by Montagnier.

In February 1981, when I was visiting the National Cancer Institute (NCI) in Bethesda, USA, Robert Gallo, then the 'most cited' scientist in the world, introduced me to *Daniel Gaidusek*, his NCI colleague and the Nobel Prize winner in 1976 for deciphering kuru disease in aborigines of the Fore tribe in Papua New Guinea. The kuru incubation period may last up to 50 years, which allowed Gaidusek to put forward a hypothesis of 'slow' viruses causing the disease. Perhaps, today we know that kuru, like Creutzfeldt-Jakob disease, is caused not by viruses, but by prions, for the study of which Stanley B. Prusiner was awarded the Nobel Prize in 1997.

I first met *Stanley B. Prusiner*, the 'discoverer of prions', after his speech at the FEBS Congress in 2002, and we talked about how a pathogenic prion induced a pathogenic conformation in a non-pathogenic prion, and how such a conformation propagated (replicated) in a still healthy organism. I also thanked Prusiner for noting that he used the method developed by Serhii Bobrovnyk from our Department of Molecular Immunology for calculating interaction constants in antibodies obtained in his laboratory.

During my business trip to the USA in 1981, I visited the Salk Institute in California, where Dr. Jonas Salk, the director of the Institute, introduced me to *Francis Crick*, perhaps the world's most famous molecular biologist, who received the prize in 1962 together with James Watson and Maurice Wilkins for discovery of a double-helical DNA model, which showed a mechanism of protein information DNA encoding, storing and transmitting in cell reproduction. I met up *James Watson* at Cold Spring Harbor Laboratory in 1981 and invited him to speak in Kyiv after his visit to Russia. He agreed, but later he apologized and wrote he was missing his flight to the United States.

In March 1981, I was a guest of famous Spanish-American biochemist *Severo Ochoa,* the Nobel Prize-1959 winner, at his laboratory at the Roche Institute of Molecular Biology in Nutley, New Jersey, USA, which belonged to the famous Swiss pharmaceutical company Hoffmann- La Roche Ltd, commonly known as Roche.

In April 2001, I gave the main lecture at the international conference devoted to the 15-th anniversary of the Chernobyl accident in New York, in the premises of the UN Security Council. I took advantage of my stay in New York to meet with my friend, Professor Michael Sela, the President of the Weizman Institute (Israel), with whom we passed to the Columbia University to visit Nobel Laureate *Eric Kandel.* That's how I first met this outstanding person who received the Nobel Prize in 2000 for the «discovery of a transmission of signals in the nervous system». Kandel appeared to be really nice person and immediately told me about his roots from Ukraine (his mother and father were born on the territory of modern Ukraine).

Aaron Ciechanover, winner of the 2004 Chemistry Prize, is probably the only laureate whom (I can safely say) I keep in touch with. We first met in Istanbul at the

FEBS Congress in 2006, and since then, we have encountered several times at various forums. But we really became close when Aaron was in Kyiv for a conference in 2008. After the conference, I invited him to the Institute of Biochemistry, presented our research program, and showed him the Palladin Museum. He also visited the Babyn Yar monument where paid tribute to the memory of the tragedy victims. In 2019, Aaron opened our Ukrainian Biochemical Congress in Ternopil with a video message. And here it seems appropriate to mention that Professor Aaron Ciechanover was elected a foreign member of the National Academy of Sciences of Ukraine and that he now fully condemns the Russian aggression against our country.

Jean-Marie Lehn became a Nobel laureate in chemistry in 1987. In 2008, he was a guest of our National Academy of Sciences, gave a lecture on Supramolecular Chemistry during the Days of Science in Ukraine, and then spent a whole day getting acquainted with the research program of our Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine.

Elizabeth Blackburn, the 2009 Nobel Prize laureate for a work on telomerase, the enzyme that extends each DNA strand before copying, was another famous scientist I met and was briefly introduced to after a lecture at the FEBS Congress. We had a rather fruitful discussion on the question of telomerase role in malignant cells.

I met *Ada Yonath* well before she received the Nobel Prize in 2010. My friend Professor Michael Sela, whom I mentioned above, celebrated his 80-th birthday in 2003. He invited me and my wife to Israel for his anniversary and asked me to chair one of the meetings. Ada was among the speakers. Interestingly, even then, in 2003, Michael warned that she was already among the contenders for the prize, and indeed in 2010, Ada Yonath, together with Venkatraman Ramakrishnan and Thomas Steitz, received the prize for crystallographic studies of the ribosome structure and function. To give her credit, when the organizers of the Parnas Conference (Biochemical Societies of Ukraine, Poland and Israel) invited Ada Yonath to speak, she never refused, and her lectures were always lively and extremely interesting.

Venkatraman Ramakrishnan, winner of the 2010 prize in cooperation with Yonath and Steitz, was a guest at the 2020 FEBS Congress in Krakow. That year he continued the presidency of the Royal Society of Great Britain. We sat next to each other at the congress banquet, where we had a conversation about how to better establish a connection between our academies.

Finally, the closest to my scientific profession — immunology — was the acquaintance with the 2011 Nobel laureate, the outstanding French scientist *Jules Hoffmann*, who was awarded the prize for discovery of important mechanisms of natural immunity (so-called innate immunity).

In my opinion, it would be unfair not to mention three Ukrainian scientists whom I had the good fortune to hook up with, who deserved the prize and could become Nobel laureates. These are well-known scientists in our country, academicians of our Academy of Sciences — *Serhiy Mykhailovych Hershenzon* and *Platon Hryhorovych Kostiuk*. Serhiy Mykhailovych would deserve the highest award for the discovery of the mutagenic effect of thymus DNA on Drosophila (in fact, for the discovery of chemical mutagenesis) and for the synthesis of viral DNA on RNA matrix (the re-

verse transcription). Platon Hryhorovych could have received the Nobel Prize for the study of separate calcium channels of nerve cell membranes and for the research of calcium currents of high-threshold and low-threshold calcium channels.

There is another outstanding Ukrainian scientist known by very few people in Ukraine, but who made an invention of global significance, which saved many human lives around the world. Intrigued? Here it is worthy to recall the invention of Kharkiv professor-surgeon *Mykola Leontiiovych Volodos*, who pioneered in inventing and offering blood vessel stents to patients, which are now widely used all over the world! As often happens, the world has been ignorant of the primacy of the Ukrainian surgeon for a long time, but now his primacy is widely recognized, yet Mykola Leontiiovych passed away in 2016 without waiting recognition.

This could be the end of the list of my familiar Nobel Prize laureates, but then a number of personalities awarded the Nobel Prize in another field of human activity who played an important role on our planet in certain periods of time would remain unfairly silenced. Let me at least mention their names and the circumstances under which my fate led me to them.

The first Nobel Peace Prize laureate for disseminating information about the Jewish Holocaust I got to know in 1986 was *Elie Wiesel*, whom I met in New York in May 1991, when I headed the Government Commission for commemoration of the Babyn Yar tragedy. *Henry Kissinger*, laureate of the 1973 Peace Prize, was another outstanding personality I met when he flew to Kyiv in 1991. In 1993 and 1996, I was lucky to meet a 1989 Peace Prize laureate *Tenzin Gyatso* (the 14-th Dalai Lama), whom I hooked up twice after his speech at Windsor Castle. I had a short conversation with His Holiness, from which I remember that I said about my dream of visiting Tibet, to which he replied quite convincingly: «You will be there». Eventually, it happened just as he said!

In 1993, a dialogue started between Israel and Palestine on establishing peaceful relations between the nations (the so-called Oslo peace accords). I was invited from London (then I was the Ambassador Extraordinary and Plenipotentiary to Great Britain and Ireland) to Jerusalem to be one of the chairmen at the conference, and there, on the 'conference fields', I met the Prime Minister of Israel Yitzhak Rabin and President Simon Peres. In 1994, *Yitzhak Rabin, Simon Peres* and *Yasir Arafat* were awarded the Nobel Peace Prize for signing the Oslo Peace Accords. I encountered Mr. Peres twice more in London at the meetings of the Atlantic Council, and Yasir Arafat only briefly, once during his official visit to London.

Among the listed politicians, the meeting with *Nelson Mandela* during his State visit to the United Kingdom as the President of South Africa in July 1996 aroused my greatest sympathy. In some instances he reminded me of our Ukrainian hero, Levko Lukyanenko. That's what I said to Levko Grigoryovych, and repeated the same to Mandela. I was so lucky to see him twice, and twice we talked, although we were not supposed to have any conversations according to the protocol, except for the protocol greeting. The first meeting was at St. James's Palace, where guests, heads of states, receive accredited ambassadors. The second time we spoke after his speech and reception at the Palace of Westminster. Nelson Mandela and former South African

leader de Klerk were awarded the Nobel Peace Prize in 1993, and Mandela became the first democratically elected President of South Africa on May 10, 1994.

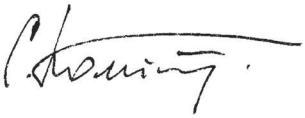
The above list of politicians may be supplemented with *Wassily Leontief*, the winner of the Nobel Prize in Economics in 1973, whom I was introduced to in 1993 in London by my good friend Kostiantyn Oganyan.

This concludes the list of my Nobel laureate acquaintances. And what is the outcome?

Years have passed... The science history confirms the fairness of the Nobel Committee rulings on conferring awards to scientists who were and still remain LEADERS OF SCIENTIFIC PROGRESS, the fact of which is reaffirmed in this unique book, kindly offered to your attention, dear Reader!

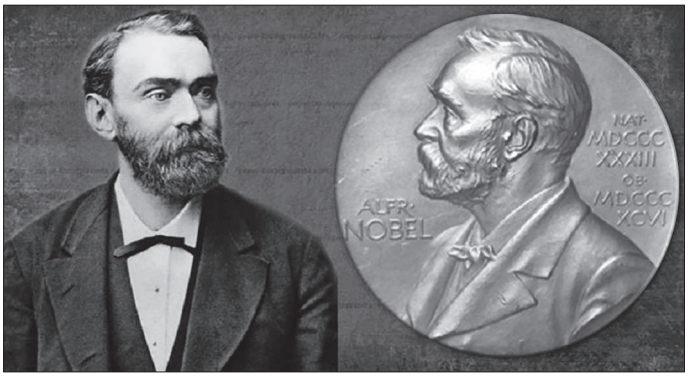
Unfortunately, not all countries, or more precisely, the leaders of not all countries, understand the importance of scientific development, most of all, the fundamental science and education as the basis for progress in their countries. Our country is not an exception from the trend, as its fundamental science, especially life sciences, has not been on the top list for a long time, although Ukraine is rich in gene pool, and we have talented youth who need more care and support from the state in order to become a backbone of the future progress and development of our nation.

Look for more details of my meetings with the Nobel laureates in my further publications. To be continued.

Sincerely yours  Serhiy Komisarenko

АЛЬФРЕД НОБЕЛЬ І НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ

В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.В. Комісаренко



Про Альфреда Нобеля та його премію написано величезну кількість сторінок різними мовами, але тут передусім висвітлено відповіді на два питання: яким був Альфред Нобель — цей феномен експериментальної хімії, доктор філософії, академік без вищої освіти, засновник фонду для нагородження премією свого імені та що собою являє Нобелівська премія, як її присуджують та який вплив має присудження премії на розвиток саме того напряму науки, який відзначено цією нагородою.

На запитання, чому Нобелівські премії є унікальними та найпрестижнішими, можна відповісти так: їх було введено своєчасно і вони визначають принципові історичні зміни в суспільстві. Робота Нобелівського комітету фактично протягом усього року орієнтує вчених, письменників і громадських діячів на працю заради розвитку суспільства та загальнолюдського прогресу.

Ключові слова: *Альфред Нобель, Нобелівська премія, найбільша користь людству, фізика, хімія, фізіологія, медицина, література, премія миру.*

У світі існує багато премій, якими відзначають важливі наукові досягнення вчених у різних напрямах науки. Однак найпочеснішою з усіх нагород дослідники всього світу вважають саме Нобелівську премію. Її лауреати — дійсно світова інтелектуальна еліта: видатні фізики і хіміки, фізіологи й медики, економісти і письменники, а також громадські діячі, які *принесли найбільшу користь людству.* Нобелівською премією відзначають тільки тих науковців, досягнення яких визнано їхніми сучасниками ще за життя [1, 2].

Престижність цієї премії зумовлена не тільки значною грошовою винагородою, а й дуже ретельним відбором кандидатів, а також, на думку авторів, особистісними якостями людини, якій світ завдячує заснуванням і втіленням в життя цієї нагороди.

Такою людиною став багатий шведський підприємець, експериментатор, інженер-хімік, винахідник динаміту та інших вибухових речовин, меценат — **Альфред Бернгард Нобель.**

Передусім спробуємо відповісти на запитання: «Яким був Альфред Нобель — цей феномен експериментальної хімії, академік без офіційної освіти, доктор філософії, засновник фонду для нагородження премією свого імені?»

Коротка біографія

Альфред Бернгард народився 21 жовтня 1833 р. у Стокгольмі в сім'ї Еммануеля та Андрієтти Нобель. Батько Альфреда — Еммануель — був архітектором, будівельником і винахідником, займався приватним підприємництвом і на той час володів першим у Швеції заводом з виробництва каучуку. У Альфреда було троє братів: двоє старших — Роберт і Людвіг та один молодший — Еміль.

Маючи добре налагоджений бізнес і відповідні зв'язки, Еммануель Нобель здобув репутацію надійного та успішного підприємця. Проте все це незворотно зникло, коли у 1835 р. згорів будинок Нобелів у Стокгольмі разом з грошима, облігаціями та численними патентами; попереду маячіла загроза боргової в'язниці. Саме тому Еммануель вирішив розпочати бізнес у Росії, спочатку в Фінляндії, яка тоді входила до складу Російської імперії, а згодом — у Санкт-Петербурзі. Дружину з дітьми він залишив у Стокгольмі, де сім'я ледве зводила кінці з кінцями. Та вже через декілька років Еммануель Нобель повністю розрахувався з боргами, придбав особняк у центрі Санкт-Петербурга і в 1842 р. забрав до себе всю родину. В Росії знадобилася розроблена ним система водяного опалення, досвід у верстатобудуванні й головний його винахід — «заряд пороху, вміщений у металевий корпус», або просто міна. Він також налагодив виробництво шпал, рушниць і кораблів із паровим двигуном.

Сім'я Еммануеля Нобеля

Альфред Нобель у молодому віці

У Росії Альфред і його брати навчалися у приватних репетиторів, а в 1850 р. батько відправив Альфреда на три роки подорожувати до Європи і США. У столиці Франції Альфред вивчав хімію в лабораторії Теофіла Пелуза, який у 1836 р. визначив склад гліцерину і разом з Асканіо Собреро у 1840—1843 рр. працював над створенням *нітрогліцерину*.

Із Франції Альфред Нобель переїхав до Сполучених Штатів для спільної роботи в лабораторії американського винахідника шведського походження Джона Еріксона, який розробив воєнний корабель — броненосець «Монітор» (брав участь у громадянській війні Півдня і Півночі), а також досліджував властивості сонячної енергії. За його керівництва молодий Нобель проводив самостійні досліди з хімії та фізики.

Повернувшись до Росії, Альфред почав працювати в компанії батька «Нобель і сини», яка спеціалізувалась на виробництві боєприпасів, що використовували в ході Кримської війни (1853—1856). За керівництва російського вченого М.М. Зініна він досліджує властивості *тринітрату гліцерину*. У 1858 р. компанія збанкротувала, і Альфред із батьками повернувся до Стокгольма, а старші брати залишились у Росії. У Швеції Альфред увесь час присвячував хімічним експериментам у маленькій лабораторії батька, отримавши при цьому *три патенти* на винахід. Саме ця робота спрямувала та підтримувала його інтерес до експериментів протягом усього подальшого життя. Працюючи над пошуком активної речовини, яка зменшує вибухонебезпечність тринітрату гліцерину, йому врешті вдалося зробити винахід, завдяки якому молодий хімік став знаменитим. Унаслідок одного з експериментів, який проводили на заводах Нобелів у Стокгольмі, 3 вересня 1864 р. стала трагедія — вибух, що забрав життя кількох людей, зокрема його молодшого брата Еміля, якому на момент катастрофи ледве виповнилося 20 років. Батько не пережив цієї втрати, зліг після інсульту і не вставав вже до самої смерті (1872).

Проте Альфреда ця трагедія не зупинила, він продовжував наукові пошуки і вже в 1867 р. запатентував новий вибуховий матеріал, названий *«динаміт, або безпечний вибуховий порошок Нобеля»* (від грец. *динаміс* — сила). Завдяки цьому Альфред Нобель досяг значного фінансового успіху. Зазначимо, що в тому самому 1867 р. шведи І. Норбін та І. Олсон запатентували ще одну вибухову речовину — *аміачний порох* (суміш вугілля з аміачною селітрою — нітратом амонію). Але А. Нобель викупив цей патент і «заморозив» його на багато років, висунувши на перший план свій динаміт. Це дало змогу реалізувати такі великі проєкти, як прокладання Альпійського тунелю на Сен-Готардській залізниці, розчищення русла Дунаю в районі Жовтих Воріт і багато інших. Ди-

Могила Альфреда Нобеля

наміт використовували також під час проведення бурових робіт на бакинських нафтопромислах, де працювали його старші брати — Людвіг і Роберт; вони, як і Альфред, стали дуже заможними. Усіх трьох братів Нобелів називали «російськими Рокфеллерами». У 1876 р. А. Нобель поєднав нітрогліцерин з колодієм, отримавши желеподібну речовину зі значно сильнішою вибуховою силою, ніж динаміт, названою «гримучі драглі». У період від 1887 до 1891 р. він запатентував різні види вибухівки, зокрема й бездимний порох — *балістит*. Це був великий крок уперед, що залишив далеко позаду динаміт. Патент на балістит він продав Італійському урядові.

У 70—80 роках XIX ст. А. Нобель розширив мережу своїх підприємств у багатьох європейських країнах — здебільшого завдяки використанню динаміту при спорудженні тунелів, каналів, залізниць і автомагістралей. Застосовувати динаміт під час військових дій розпочали у франко-прусську війну (1870—1871). Проте для Нобеля таке використання вибухових речовин було збитковим.

Зауважимо, що не лише вибухівка цікавила А. Нобеля. В останні роки життя він багато уваги приділяв синтезу полімерів, синтетичного каучуку та штучного шовку, працюючи в маленькій хімічній лабораторії на віллі в Сан-Ремо. У 1894 р. Нобель придбав завод у Вермланді (Швеція), де збудував дім і хімічну лабораторію. Два останніх літніх сезони він провів саме у Вермланді.

Як і відомий англійський фізик-експериментатор, хімік Майкл Фарадей, який відкрив основні закони термодинаміки, Альфред Нобель не мав формальної освіти. Фактично вони самоуки, проте обидва — унікальні дослідники. Якби існував вибір, то А. Нобель, найімовірніше, віддав би перевагу не комерційній діяльності, а лабораторним заняттям. Однак його численні компанії потребували великої уваги і фізичних сил, адже у 1896 р., у рік смерті А. Нобеля, існувало 93 підприємства в 20 країнах світу, що виробляли майже 66,5 тис. тон вибухівки, враховуючи всі її різновиди.

Альфред Нобель помер 10 грудня 1896 р. від інсульту в 63-річному віці на своїй улюбленій віллі в Сан-Ремо (в Італійській Рив'єрі), один, без друзів і близьких. Похований у Стокгольмі на цвинтарі Норра.

І хоча А. Нобеля не можна ставити в один ряд з великими хіміками різних країн світу, він був блискучим ученим-експериментатором, про що свідчать **355** патентів, отриманих за різноманітні винаходи. Йдеться не лише про вибухові речовини (детонатор, динаміт, бездимний порох тощо), а й про патенти на водомір, барометр, холодильний апарат, газовий пальник, удосконалений спосіб одержання сірчаної кислоти, конструкцію бойової ракети. Він цікавився електрохімією та оптикою, біологією й медициною, конструював автоматичні гальма та безпечні парові котли, працював над створенням штучної гуми та шкіри, досліджував нітроцелюлозу і штучний шовк, намагався виготовити легкі сплави.

Стислу інформацію про життя і діяльність Альфреда Нобеля можна знайти майже в кожній із вікіпедій, енциклопедій, у біографічних довідниках на багатьох мовах світу [3—6]. Але чи достатньо цієї інформації, аби скласти думку про А. Нобеля як людину? Певно, що ні. Тому автори спробували віднайти й такі факти з його життя, які різнобічно характеризують цю непересічну особистість.

Цікаві факти з біографії Нобеля [7—11]

• Головний винахід Альфред начебто придумав випадково: під час перевезення нітрогліцерину одна пляшка розбилася, речовина потрапила на ґрунт і стався вибух. Але сам учений відхиляв цю версію. Він стверджував, що необхідного результату було досягнено внаслідок копітких експериментів.

• Як часто буває в надзвичайно талановитих людей, Альфред Нобель не був наділений міцним здоров'ям. Він ріс хворобливим хлопчиком, уникав ігор з однолітками, любив усамітнюватися й читати книжки. За характером Альфред був дуже вразливий, часто переживав відчуття самотності, пригніченості, незахищеності, яких намагався позбутися активною діяльністю, листуванням із родичами та друзями [7].

• Сучасники вважали, що зовнішній вигляд А. Нобеля не відповідав типу капіталіста, який досяг великих успіхів і достатку в епоху бурхливого промислового розвитку другої половини XIX ст. Йому подобався спокій, а не міська метушня, хоча більшу частину життя йому довелося мешкати саме у великих містах і багато їздити (він жив у 93 містах 20 країн світу). На відміну від багатьох магнатів ділового світу того часу, А. Нобеля можна було назвати спартанцем, адже він ніколи не курив, не пив, не грав у карти та інші азартні ігри.

• Як підприємець А. Нобель наймав на роботу сотні робітників і дійшов висновку, що робоча сила, якій притаманні вищі моральні якості, продуктивніша, ніж грубо експлуатована маса, за що його вважали соціалістом. Він був вельми щедрим роботодавцем: будував для персоналу комфортабельні селища з квітниками та фонтанами, зводив школи і лікарні, надавав транспорт для безкоштовної доставки на робочі місця.

• А. Нобель керував розкиданою в усьому світі промисловою імперією за допомогою великої команди директорів, маючи 20—30%-ву частку прибутку. Та найбільше він полюбляв працювати в своїй хімічній лабораторії.

• Нобель першим розробив хімічний склад штучного шовку, нітроцелюлози та багато іншого. Кожен винахід учений *популяризував* під час лекцій з демонстраціями можливостей приладу або речовини. Такі презентації інженера-хіміка користувалися успіхом як у пересічної публіки, так і серед його колег і друзів.

• Альфред Нобель не був людиною винятково технічних уподобань, у вільний від роботи час він захоплювався написанням літературних творів. Його перу належать чудові праці — «*Beatrice Cenci*», «*Nemesis*», «*The Patent Bacillus*». Одним із суперечливих творів Альфреда Нобеля стала п'єса «Nemesis» («Немезіда») — чотириактна трагедія про Беатрису Ченчі. На довгі роки її було заборонено видавати і ставити в театрі, оскільки церковні служителі вважали її богохульною. Лише у 2003 р. п'єсу було опубліковано у Швеції, а у 2005 р., на день смерті вченого, у Стокгольмі відбулася прем'єра вистави [12].

• Незважаючи на відсутність формальної середньої та вищої освіти, Альфред Нобель вільно володів шістьма мовами: шведською, французькою, російською, англійською, німецькою та італійською. Він цікавився наукою, філософією, історією та літературою. Його друзями були знамениті художники, письменники, вчені, державні діячі того часу. Нобеля часто запрошували на прийоми та королівські обіди. Винахідник був почесним членом багатьох європейських академій наук: Шведської, Англійської, Паризької, Упсальского університету. В його послужному списку є французькі, шведські, бразильські, венесуельські ордени та нагороди [12, 13].

• За сімейною традицією Альфред Нобель був *протестантом* (лютераниним) і, живучи в Парижі, регулярно відвідував Шведську церкву на чолі з пастором Натаном Седерблумом, який, до речі, в 1930 р. одержав Нобелівську премію миру. Однак з часом релігійні погляди Альфреда змінилися, і він став спочатку *агностиком*, а наприкінці життя — *атеїстом*, проте й далі жертвував великі суми церкві [14].

Особисте життя

Про особисте життя А. Нобеля відомо мало. Попри свої чималі статки, він був сором'язливою, стриманою і самотньою людиною, якій важко було заприятелювати, особливо із жінками: Нобель вважав себе недостатньо привабливим для них. Хоч насправді зовні він був дуже привабливий: стрункий бородатий брюнет середнього зросту з виразними рисами обличчя і темно-синіми очима, які приховувало пенсне. Нобель так і не створив сім'ї та не залишив після себе дітей. Але жінки в його житті були. Йому подобалися розумні й освічені жінки, з деякими з них він листувався [13].

• Ще молодою людиною у Санкт-Петербурзі він освідчився дівчині на імя *Олександра*, але вона йому відмовила.

• У Парижі вчений познайомився зі знаменитою актрисою *Сарою Бернар,* коли був на виставі в «Комеді Франсез». Альфред захопився нею, але сумнівався, чи та це жінка, яка йому потрібна. Врешті-решт, коли Сара вирушила в тримісячне турне Америкою, він написав листа своїй матері з проханням порадити, чи брати шлюб з акторкою. Мати не радила йому пов'язувати жит-

тя з жінкою такої професії. Ослухатися матері син не посмів, тому зв'язок із С. Бернар перервав [15].

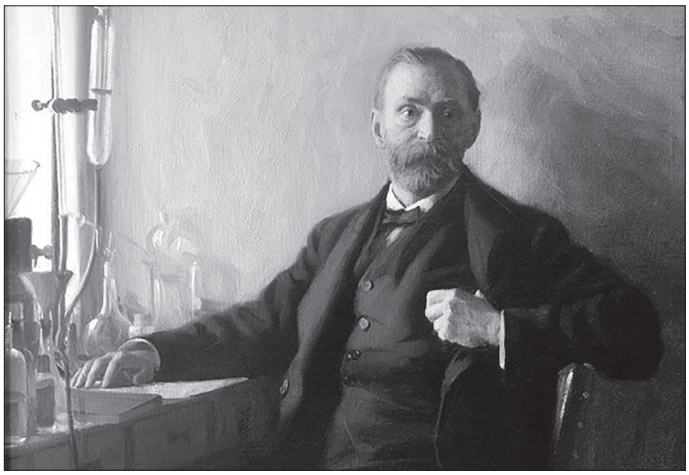
• У житті Альфреда була ще одна жінка — *Берта Кінскі*, яку він найняв як секретарку в Парижі. Панна Кінскі була гарна, знала чотири мови, захоплювалася музикою та літературою і була з усіх поглядів світською людиною. Усе це імпонувало Нобелю. Між ними виникла взаємна симпатія, а, можливо, й глибші почуття з боку вченого. Та через деякий час вона залишила Париж і повернулася до свого першого кохання у Відні — барона Артура фон Зуттнера, вийшла за нього заміж і стала баронесою Бертою фон Зуттнер — провідною фігурою в боротьбі за мир на Європейському континенті. Нобеля вражали її високі ідеали, зокрема пацифізм. Цілком імовірно, що саме вона стала натхненицею заснування Нобелівської премії миру, якої й сама була удостоєна у 1905 р. Від'їзд Берти Кінскі був великим ударом для Нобеля. Їхня дружба тривала ще довго, і А. Нобель листувався з Бертою до кінця свого життя [9, 15].

• У 1876 р. на курорті поблизу Відня Альфред Нобель познайомився з 20-річною продавчинею квітів із бідної сімї австрійських євреїв — *Софі Гесс*. Вона була дуже милою, але не досить освіченою й не мала наміру удосконалюватись. Альфред перевіз її до Парижа, намагався допомогти здобути освіту, найняв викладача французької мови, але її не цікавили уроки. Окрім того, він винайняв для неї квартиру в Парижі та виплачував щедре утримання. Софі почала називати себе «мадам Нобель», що вводило багатьох в оману, а також всіляко зловживала довірою Альфреда. Важко судити про їхні справжні стосунки. Листування свідчить, що вчений багато в чому ставився до цієї дівчини, як до дитини і не більше. Поступово їх взаємна прихильність охолола через характер Софі. Остаточно вони розлучилися у 1881 р. після її від'їзду до Відня, проте ще тривалий час листувалися. У своєму заповіті учений виділив С. Гесс довічну щорічну ренту розміром 6000 форинтів, що дало їй змогу безтурботно жити. Однак після смерті А. Нобеля вона повелася не зовсім пристойно, вимагаючи гроші за його листи. Опікуни спадщини А. Нобеля виділили їй такі гроші, поставивши умову, що Софі віддасть їм усі 216 приватних листів видатного вченого й винахідника, аби їх не використали проти цієї надзвичайно порядної людини [16].

Останні роки життя

• Хоча А. Нобеля називали «королем динаміту», він був проти використання своїх відкриттів для ведення воєнних дій, оскільки вважав, що війна є «жахом із жахів і найстрашнішим злочином». За три роки до смерті він сказав: *«Я хочу, аби всі гармати з усім їхнім приладдям і обслугою можна було б відправити до всіх чортів»* [6, 17].

• Нобель полишив Париж назавжди у 1891 р., коли йому виповнилося 57 років. Він оселився у маленькому прибережному куротному містечку Сан-Ремо в Італії. В останні роки життя він страждав від серцевих недуг, що їх, як це не парадоксально, вже тоді лікували невеликими дозами нітрогліцерину — речовини, яка, власне, в складі винайдених ним вибухівок забезпечила йому казкові статки. Із цього приводу з притаманним йому гумором він заува-



Альфред Нобель в останні роки життя

жував: «*Хіба це не іронія долі? Адже навіть нітрогліцерин, який свого часу зробив мене багатою людиною, не зміг зробити мене здоровим*» [8].

• Увійти в історію завжди було мрією всіх Нобелів чоловічої статі, починаючи з XVII ст. Але й острах бути похованим заживо також передавався від Нобеля до Нобеля так само, як і бажання стати безсмертним у віках. І найбільше цим страхом був охоплений Альфред. Принаймні лише йому спало на думку внести в заповіт спеціальний пункт: «*Після кваліфікованого встановлення факту моєї смерті слід розрізати на моєму тілі вени, після чого кремувати*» [8].

Винаходи Альфреда Нобеля, які змінили світ [9—11, 18]

• Нобель мав надзвичайно креативний склад розуму, який безперервно генерував нові ідеї. Його геній підтримувало бажання досягти успіху та надзвичайна працездатність. Про себе він говорив так: *«Якщо хоч одна з 300 моїх ідей на рік є корисною, я задоволений»*.

Серед **355** запатентованих винаходів Альфреда Нобеля були більш або менш знакові для розвитку людства, але *шість із них — безумовний прорив у науці, принципові новації у практичному застосуванні:*

1. У 1863 р. Альфред Нобель запатентував у Швеції застосування ***нітрогліцерину*** в техніці. Таким чином, уперше після 800 років панування димного пороху людство отримало нову вибухову речовину!

2. У 1864 р. Альфред Нобель створив серію із 10 ***капсуль-детонаторів***. Вони мало чим розрізнялися між собою, але капсуль-детонатор № 8 набув найширшого застосування, ще й дотепер його використовують під цим номером. Детонатори потрібні для спричинення вибуху заряду.

3. У 1867 р. Альфред Нобель приборкав некерований нітрогліцерин і отримав ***динаміт***. Для цього він створив суміш із леткого *нітрогліцерину та кізельгуру*, який також називають інфузорною землею. Така пастоподібна речовина легко формується і транспортується. Вона не вибухає без детонатора навіть від струсу та підпалу, а її потужність у 5 разів перевищує потужність чорного пороху. Уперше динаміт застосували у США під час будівництва Тихоокеанської

залізниці. І нині його частіше використовують у гірничодобувній індустрії та для прокладання тунелів, аніж у військовій справі.

4. У 1867 р. Альфред Нобель поєднанням двох вибухових речовин — *нітрогліцерину і колодію* (розчин піроксиліну) — отримав гримучу суміш, яка за потужністю перевершувала динаміт. Цю желеподібну речовину назвали *гримучими драглями*, або ***вибуховою желатиною*** **(*blasting gelatine*)**. Її використовують як проміжну сировину для виготовлення інших вибухівок.

5. У 1887 р. Альфред Нобель оформив патент на ***балістит***. Це один із перших нітрогліцеринових бездимних порохів, що складається із двох потужних вибухівок — нітроцелюлози та нітрогліцерину. Балістити використовують до сьогодні: у мінометах, артилерійських снарядах, а ще як тверде ракетне паливо, якщо додати до них трохи алюмінію або магнію для підвищення теплоти згоряння.

6. У 1878 р. Альфред Нобель, працюючи на сімейному підприємстві з нафтовидобутку в Баку, винайшов ***нафтопровід*** — спосіб безперервного транспортування рідкого продукту. Його побудували, як і все прогресивне, зі скандалом, адже нафтопровід, хоча і здешевлював виробництво у 7 разів, але істотно скоротив кількість робочих місць перевізників нафти у бочках. Будівництво нобелівського нафтопроводу закінчили у 1908 р., а демонтували не так давно, тобто він слугував понад 100 років! Також за ідеями Альфреда було розроблено парові насоси й застосовано нові методи хімічного очищення нафти. Як наслідок, одержали продукт відмінної якості, кращий у світі, дійсно *«чорне золото»*.

Застосування своїх наукових розробок Альфред Нобель хотів бачити винятково у мирному житті. Парадоксально, але при цьому він створював вибухові речовини, які взяли на озброєння армії. Проте творчі проєкти Нобеля з використанням його вибухівок дуже швидко змінили світ, уможливили ефективне освоєння гірських порід для видобування руд, вугілля, нафти і газу, прокладання тунелів, а згодом — для польоту ракет. Винайденого ним динаміту потребував увесь світ, а сам Нобель безпрецедентно розбагатів за кілька років. Альфред Нобель багато грошей спрямовував на розвиток науки, але у побуті він був аскетом, тому наприкінці життя у нього накопичилося 31 млн крон, які він і пожертвував на **головне досягнення свого життя — Нобелівську премію**.

Як бачимо, Альфред Нобель і дотепер залишається фігурою парадоксальною і суперечливою: блискуча, але самотня людина, частково песиміст, частково ідеаліст, який винайшов потужні вибухові речовини, що використовуються і в сучасних війнах. Він заснував найпрестижнішу та найбільшу в світі премію для інтелектуалів (включаючи премію миру), яка принесла користь людству — **Нобелівську премію, яка увічнила його ім'я.**

Нобелівська премія

Альфред Нобель був переконаний, що батьки і багаті родичі мають заповідати гроші дітям лише з метою надання їм можливості здобути першокласну освіту; *всі інші накопичені статки потрібно повернути суспільству в найкориснішому вигляді*.

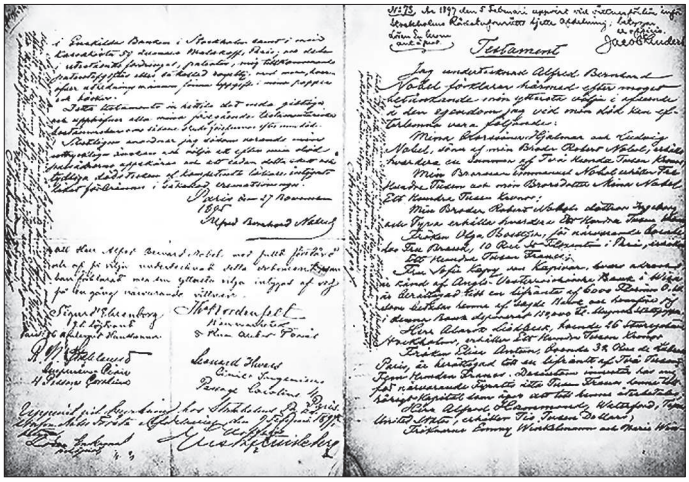
Саме тому в 1893 р. Нобель склав свій перший заповіт, в якому зазначалося, що значну частину капіталу після смерті вченого слід передати Шведській

королівській академії наук. На цю суму передбачалося відкрити фонд, який щорічно перераховуватиме нагороду за відкриття. При цьому по 5 % спадку він заповідав Стокгольмському університету, Стокгольмській лікарні та Каролінському медичному університету.

Проте за рік до смерті, 27 листопада 1895 р. у Парижі в присутності чотирьох свідків Альфред Нобель підписав новий заповіт, за яким усе своє майно й капітал передав фондам для створення п'яти щорічних премій. Відповідно до заповіту все майно (наприкінці життя він був власником не тільки 93 компаній та підприємств у 20 країнах світу на всіх континентах, а й будинків у Парижі, Відні, Ніцці, Сан-Ремо та інших містах) після його смерті мало бути вкладене в надійні акції та цінні папери для створення преміального фонду. Призначення фонду — щорічне нагородження грошовими призами тих людей, які упродовж попереднього року *принесли найбільшу користь людству*. Цей фонд мав бути поділений на п'ять рівних частин: чотири з яких призначалися науковцям за найбільше відкриття або винахід у галузі фізики, хімії, фізіології або медицини та літератури, а п'ята — за найбільший внесок у справу зміцнення співдружності націй або зниження напруженості у військових протистояннях, а також за організацію та проведення конгресів миролюбних сил.

«Я, Альфред Бернгард Нобель, що нижче підписався, обміркував і вирішив: чинним документом оголошую мій заповіт щодо майна, яке було надбано мною... Капітал мої душоприказники мають перевести в цінні папери, створивши фонд, відсотки з якого призначатимутися у вигляді премії тим, хто впродовж попереднього року приніс найбільшу користь людству.

Вказані відсотки слід поділити на пять рівних частин за призначенням: перша — тому, хто зробив найважливіше відкриття або винахід у галузі фізики, друга — у галузі хімії, третя — в галузі фізіології або медицини, четверта — тому, хто створив найвизначніший літературний твір, який віддзеркалює людські ідеали, п'ята — тому, хто зробить вагомий внесок в об'єднання народів, знищення рабства, зниження чисельності існуючих армій і сприяння мирній домовленості.



Заповіт Альфреда Нобеля [19[

Нобелівська медаль з фізіології та медицини

...Моє особливе бажання полягає в тому, аби на присуждення премій не впливала національность кандидата, аби премію отримували найдостойніші, незалежно від того, скандинави вони чи ні».

Спонукало Альфреда Нобеля на створення премії не тільки те, що в нього не залишилось дітей і прямих спадкоємців. Річ у тім, що в 1888 р. в одній із французьких газет була помилкова публікація — некролог А. Нобелю (газетярі переплутали винахідника з його старшим братом Людвігом, який помер 12 квітня 1888 р. у Каннах). У цій статті А. Нобеля засуджували за винахід динаміту, називали «міліонером на крові», «торгівцем вибуховою смертю», «динамітним королем». Тому він вирішив зробити так, аби не залишитись у пам'яті людства «злочинцем всесвітнього масштабу». Вважається, що саме ця подія підштовхнула Нобеля до рішення залишити після смерті цінну спадщину у вигляді фінансування міжнародної премії за найвищі наукові досягнення в галузі *фізики, хімії, фізіології або медицини, літератури та у справі зміцнення миру* [20].

Його посмертний дар для присудження премій логічно випливає з того, що сам Альфред Нобель усе життя цікавився саме фізикою, хімією, фізіологією і медициною, а також літературою. Припускається, що встановлення премії за миротворчу діяльність пов'язане з бажанням винахідника відзначати тих людей, які, подібно до нього, стійко протистояли насиллю. У 1889 р. А. Нобель був присутній на Всесвітньому конгресі миру, який відбувся в Парижі, й виступав там із лекціями [6]. Деякі учасники заходу сприйняли це із сарказмом, оскільки вважали, що на миротворчому зібранні не слід з'являтися людині, яка винайшла знаряддя вбивства та війни. Таке ставлення прикро вразило вченого і ледь не надломило його.

Після смерті А. Нобеля та після численних протестів родичів, шведських націоналістів, судових розглядів, виступів у пресі тощо заповіт набув чинності. У 1900 р. було створено Нобелівський фонд, його статут розробив спеціальний комітет з урахуванням умов, наведених у заповіті. Статут премії ухвалив шведський риксдаг і 29 червня 1900 р. підписав король Швеції. Відтоді ідея А. Нобеля стала реальністю.

Згідно із заповітом А. Нобеля нагороди в галузі фізики та хімії має присуджувати Шведська королівська академія наук; нагороди у галузі фізіології

та медицини — Каролінський інститут у Стокгольмі; в галузі літератури — Шведська академія в Стокгольмі, а премію миру — комітет із п'яти членів, яких обирає Норвезький стортинг (парламент). (На той час Норвегія входила до складу Швеції.) У заповіті також зазначено, що присудження нагород жодним чином не пов'язане з належністю лауреата до тієї чи іншої нації, а сума винагороди не залежить від походження того чи іншого претендента на премію.

У 1968 р. Державний банк Швеції в зв'язку зі своїм 300-річчям заснував пам'ятну премію А. Нобеля в галузі економічних наук (офіційна назва: *Премія Шведського центрального банку з економічних наук памяті Альфреда Нобеля)*, яку присуджують за тими самими правилами, що їх встановлено у статуті Фонду Нобеля. Лауреатів цієї премії визначає Нобелівський комітет Королівської академії наук у Стокгольмі. Економіка не згадується в заповіті Альфреда Нобеля, тому «Нобелівська премія з економіки» не є суто Нобелівською премією [21].

За присвоєння нагороди з кожного наукового напряму відповідає спеціальний **Нобелівський комітет**. Шведська королівська академія наук створила в своєму складі три комітети: по одному комітету з фізики, хімії та економіки. Каролінський інститут присвоїв ім'я комітету в галузі фізіології та медицини. Шведська академія обирає також комітет з літератури. Окрім того, Норвезький парламент (стортинг) обирає комітет з премії миру. Нобелівські комітети відіграють вирішальну роль у процесі вибору лауреатів. Кожен комітет складається з п'яти членів і може звертатися за допомогою до фахівців з інших галузей науки.

Нобелівський фонд — незалежна, неурядова організація, що відповідає за керування фондом, яке полягає в забезпеченні збереження фінансів і в діяльності, пов'язаній з обранням лауреатів. Цей фонд враховує також загальні інтереси інститутів, що присуджують премії, на внутрішньому і зовнішньому рівнях. До компетенції фонду входить щорічне подання лауреатів Нобелівської премії. Нобелівський фонд сам по собі не бере участі у висуненні кандидатів у процесі розгляду кандидатур або ухваленні остаточного вибору. Ці функції виконують асамблеї, які присуджують премії незалежно одна від одної.

Встановлений порядок використання фонду Нобелівських премій, як і правила висунення, відбору та затвердження кандидатів, є вкрай складним. Право висунення кандидатів належить окремим особам, а не установам, аби запобігти прилюдному обговоренню й голосуванню. Пропозиції стосовно кандидатур потрібно подати до 1 лютого року присудження нагород; до вересня члени комітетів і консультанти оцінюють кваліфікацію кандидатів. Щороку в підготовчій роботі бере участь декілька тисяч фахівців різних галузей. Завершивши попередню роботу, комітет таємно затверджує звіти та рекомендації і передає їх до інстанцій, які одноосібно приймають остаточне рішення.

У галузях *фізики, хімії та економічних наук* (у кожній до 25 членів) рекомендації комітетів підтверджує Шведська королівська академія наук. Рекомендації в галузі *фізіології та медицини* Нобелівський комітет надсилає безпосередньо Нобелівській асамблеї (рішення ухвалюють 50 членів) Каролінського інституту. Рішення у галузі *літератури* ухвалюють 18 членів Шведської ака-

демії наук, а щодо присудження *премії миру* — Норвезький Нобелівський комітет самостійно.

Вибір лауреатів потребує великої роботи. Так, Шведська академія обирає їх із загальної кількості — від 100 до 150 кандидатів. Випадок, коли претендент на премію одержує її з першого разу, є винятковим, багато хто з лауреатів висувалися декілька разів.

У день смерті Альфреда Нобеля — **10 грудня** король Швеції у святковій урочистій атмосфері особисто вручає лауреатам дипломи, грошові премії та спеціальні медалі після короткої характеристики їхніх досягнень у галузі фізики, хімії, фізіології та медицини, а лауреатів з літератури та економіки нагороджують представники асамблеї, які присудили нагороди. Сума премії становить 10 млн шведських крон (близько 1 млн дол. США). Під час отримання премії кожен новий лауреат виголошує промову. Після церемонії нагородження в міській ратуші відбувається банкет, на який запрошують 1200—1300 осіб. У період світових воєн банкетів не влаштовували, а кошти, які б мали бути використані на ці заходи, Нобелівський фонд передавав у Фонд Міжнародного Червоного Хреста.

В Осло церемонію вручення Нобелівської премії миру проводять в університеті в присутності короля Норвегії і членів королівської родини. Лауреат одержує нагороду від голови Норвезького Нобелівського комітету.

Увесь процес висунення, присудження і навіть відзначення лауреатів Нобелівської премії продумано до деталей. Проте іноді спрацьовує і «людський чинник».

**Цікаво!*

Вчені не могли зрозуміти, чому Нобель не призначив премію за досягнення в галузі математики. Багато хто з них погоджувалися з думкою, що в Альфреда було особисте неприязне ставлення до математика Міттаг-Леффлера. Насправді Нобель вважав цю науку допоміжним інструментом для проведення досліджень у галузях хімії та фізики [22].

На запитання, чому Нобелівські премії є унікальними і найпрестижнішими, можна відповісти так: *їх було введено своєчасно, і вони визначають принципові історичні зміни в суспільстві. Робота Нобелівського комітету фактично протягом усього року орієнтує вчених, письменників і громадських діячів працювати заради розвитку суспільства, заради загальнолюдського прогресу.*

І саме Альфред Нобель, шведський дослідник і підприємець, як ніхто інший, глибоко усвідомлював планетарну роль науки, внесок видатних учених у цивілізаційний поступ. Він розумів, що інтелектуальна еліта потребує не лише шанування, визнання колег і громадськості, а й матеріальної підтримки, забезпечення необхідних умов для подальшого наукового пошуку. Саме тому весь накопичений капітал А. Нобель заповідав перевести в цінні папери, створивши фонд, відсотки з якого щорічно розподіляти між тими вченими, які впродовж попереднього року дали найбільшу користь людству.

Увічнення пам'яті Альфреда Нобеля [23]

• Як зазначалося, Альфред Нобель помер у Сан-Ремо 10 грудня 1896 р. після інсульту у віці 63 років. Його прах було поховано у Стокгольмі на Північному кладовищі. У прощальній промові пастор зазначив, що покійний був ***громадянином світу.*** Надалі так почали називати багатьох людей, однак *уперше це визначення було вжито саме стосовно Альфреда Нобеля.*

• На честь А. Нобеля синтезований у 1958 р. у Сполучених Штатах новий радіоактивний хімічний елемент з атомним номером 102 назвали ***нобелієм.***

• У 1968 р. засновано ***Премію Шведського центрального банку з економічних наук*** пам'яті Альфреда Нобеля.

• У 1970 р. Міжнародним астрономічним союзом ім'я Альфреда Нобеля присвоєно ***кратеру*** на зворотному боці Місяця.

• На честь А. Нобеля названо ***астероїд (6032) Нобель,*** відкритий 4 серпня 1983 р. фахівцями Кримської астрофізичної обсерваторії.

• 21 жовтня 1991 р. за ініціативою Шведського Нобелівського фонду на кошти Міжнародного фонду історії науки на Петроградській набережній у Санкт-Петербурзі відкрито ***бронзовий монумент*** Альфреду Нобелю.

• На честь А. Нобеля названо ***Нобелівський фізико-технічний інститут*** у Стокгольмі.

• У 2010 р. ім'я Нобеля присвоєно одному з ***університетів*** у Дніпропетровську (нині — Дніпро).

Перші лауреати Нобелівської премії

Прізвища перших нобелівських лауреатів було оголошено наприкінці 1901 р. *Премію з фізики* отримав німецький фізик **Вільгельм Конрад Рентген** (*Röntgen*; 27.03.1845—10.02.1923 рр.) — за відкриття рентгенівських променів, а формулювання було таке: «на знак визнання вкрай важливих заслуг перед наукою, що полягає у відкритті незвичайних променів, які названо потім на його честь». Під час презентації лауреата член Шведської королівської академії К.Т. Однер (*C.T. Odhner*) сказав: «Поза сумнівом, дуже великого успіху досягне фізична хімія, коли цю незнайому раніше форму енергії буде достатньо досліджено». Також він звернув увагу присутніх на те, що рентгенівські промені вже набули практичного використання в медицині [24, 25].

Зазначимо, що хоча дослідження В.К. Рентгена не мають безпосереднього відношення до *біохімії* та *молекулярної біології*, вони зробили справжній прорив у рентгеноструктурному аналізі біологічних молекул різного ступеня складності. Використання рентгеноструктурного аналізу уможливило встановлення атомної та молекулярної будови багатьох протеїнів і нуклеїнових кислот.

Премію з хімії отримав нідерландський хімік **Якоб Хендрік Вант-Гофф** (*Ya. Van't Hoff*; 20.08.1852—01.03.1911 рр.) «на знак визнання великої важливості відкриття ним законів хімічної динаміки й осмотичного тиску в розчинах». Представляючи Вант-Гоффа від імені Шведської королівської академії наук, К.Т. Однер назвав ученого засновником стереохімії і одним із творців вчення про хімічну динаміку, а також наголосив, що дослідження Вант-Гоффа «...зробили значний внесок у вкрай важливі досягнення фізичної хімії» [26].

У *галузі фізіології або медицини* Нобелівською премією було відзначено німецького бактеріолога і лікаря **Еміля Адольфа фон Берінга** (*E. Behring*; 15.03.1854—11.03.1917 рр.) «за роботу із сироваткової терапії, переважно за її використання в лікуванні дифтерії, що відкрило нові шляхи в медичній науці і дало в руки лікарів непереможну зброю проти хвороби та смерті». В нобелівській промові Е. Берінг офіційно визнав, що «...сироваткова терапія була заснована на теорії, яку запропонували Ф. Леффлер у Німеччині та П. Ру у Франції, відповідно до якої бактерії Леффлера не самі по собі викликають дифтерію, а виробляють токсини, здатні розвивати хворобу». Він додав, що «...без цієї попередньої роботи Ф. Леффлера і П. Ру не було б сироваткової терапії дифтерії» [27].

Першим лауреатом Нобелівської премії *з літератури* став французький поет **Рене Сюллі-Прюдом** (*R. Sully-Prudhomme*, справжнє ім'я — Рене Франсуа Арман Прюдом; 16.03.1839—07.09.1907 рр.). Премію йому було присуджено «...за видатні літературні чесноти, особливо за високий ідеалізм, художню довершеність, а також за незвичайне поєднання душевності й таланту, про що свідчать його книги». Відзначення премією Сюллі-Прюдома стало несподіванкою для літературного світу, який вважав найголовнішим претендентом Льва Толстого. Під час вручення премії С.Д. Вірсен, член Шведської академії, зазначив, що лауреат «...вирізняється допитливим і спостережливим розумом, який переймається величчю людини. І з цієї точки зору він краще за більшість письменників уособлює те, що Альфред Нобель називав ідеалістичними тенденціями в літературі». Через хворобу на церемонії вручення премії нобеліанта не було, а диплом одержав посол Франції у Швеції [28, 29].

Першу Нобелівську *премію миру* було поділено між швейцарським гуманістом і засновником Міжнародного комітету Червого Хреста **Анрі Дюнаном** (*H. Dunant*; 8.05.1828—30.10.1910) і французьким політекономом і захисником миру **Фредеріком Пассі** (*F. Passy*; 20.05.1822—12.06.1912 рр.), засновником і першим керівником «Міжнародної ліги миру», активним учасником Міжнародного міжпарламентського союзу (1889). Презентація лауреатів не відбулася через хворобу претендентів. Премію було присуджено за внесок у мирне співробітництво народів і багаторічні миротворчі зусилля [30, 31].

Від часу нагородження перших лауреатів пройшло майже 122 роки. За період з 1901 до 2022 р. понад 900 приватних осіб і організацій стали лауреатами **Нобелівської премії**, серед яких з фізики — **223**, з хімії — **191**, фізіології і медицини — **224**, літератури — **119**, премії миру — **134**, премії в галузі економічних наук (1969—2018) — **92**. Деякі з них були нагороджені двічі.

Альфред Нобель не заснував спеціальної премії за видатні роботи в галузі біохімії, але науковців, які отримали Нобелівську премію безпосередньо за біохімічні дослідження, більш ніж достатньо. Вони удостоєні золотої Нобелівської медалі за видатні досягнення в галузі хімії або фізіології та медицини, тобто в найближчих до біохімії «нобелівських» дисциплінах [32].

Вже друга Нобелівська премія з хімії, яку отримав німецький хімік-органік **Еміль Герман Фішер** у 1902 р., була безпосередньо повязана з біохімією і мала «біохімічне забарвлення», як і наступні його роботи, про що йдеться у наступній статті [33].

ALFRED NOBEL AND THE NOBEL PRIZE

V.M. Danilova, R.P. Vynogradova, S.V. Komisarenko

The great number of pages has been written about Alfred Nobel and his Prize in various languages all over the world, but in this article we elucidated only two issues: what kind of person was Alfred Nobel — this phenomenon in experimental chemistry, doctor of philosophy, academician, who had no higher education, the founder of the fund for rewarding with the prize named after him, and what kind of award is the Nobel Prize, how is it awarded and how this Prize influences the trend of science marked with this award. The answer to the question why Nobel Prizes are unique and most prestigious ones may be as follows: they were introduced timely, and they define fundamental historical changes in society. The Nobel Committee activities actually direct scientists, writers and public figures to work throughout the year for the sake of society development, for the sake of progress common to all mankind.

Keywords: *Alfred Nobel, Nobel Prize, benefit to mankind, physics, chemistry, physiology, medicine, literature prize, peace prize.*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Карл Густаф Бернхард. Нобелевские премии и Нобелевские институты. Лауреаты Нобелевской премии. Энциклопедия: А—Л; пер. с англ. М.: Прогресс, 1992. С. XIX—XXIV.

2. Олден Уитмен. Альфред Нобель. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: А—Л; пер. с англ. М.: Прогресс, 1992. С. XI—XVIII.

3. Волков В.А., Вонский Е.В., Кузнецова Г.И. Нобель Альфред Бернхард. Выдающиеся химики мира. Биографический справочник; под ред. В.И. Кузнецова. М.: Высш. шк. 1991. С. 321—322.

4. Alfred Nobel | Biography & Facts | Britannica.com. https://www.britannica.com/biography/Alfred-Nobel.

5. Alfred Nobel — His Life and Work. https://www.nobelprize.org/alfred_nobel/biographical/.../life-..

6. Альфред Нобель — величайший изобретатель и борец за мир. Режим доступу: http://www.manalfa.com/istorii-uspeha/nobel-alfred.

7. Чекман І.С. Творчість рятувала від самотності. Динаміт, премія та особисте життя Альфреда Нобеля. *Вісник НАН України*. 2008. № 12. С. 55—59.

8. Surprising Facts About Alfred Nobel — Biography. https://www.biography.com/news/alfred-nobel-biography-facts.

9. Alfred Nobel — Biography, Facts and Pictures — Famous Scientists. https://www.famousscientists.org/alfred-nobel/

10. Alfred Nobel | 10 Facts on the Man Behind the Nobel Prizes. https://learnodo-newtonic.com/alfred-nobel-facts.

11. 15 Interesting Facts About Alfred Nobel. https://ohfact.com/interesting-facts-about-alfred-nobel/

12. Literature and Philosophy. https://www.nobelprize.org/alfred_nobel/biographical/articles/russia/

13. Personal life. https://en.wikipedia.org/wiki/Alfred_Nobel#Personal_life.

14. Michael Evlanoff; Marjorie Fluor. Alfred Nobel, the loneliest millionaire. W. Ritchie Press, 1969. 336 p.

15. Жінки в житті Альфреда Нобеля. MegaSite.In.UA. megasite.in.ua/22559-zhinki-v-zhitti-alfreda-nobelya-nobel-.

16. Сульман Р. Завещание Альфреда Нобеля: История Нобелевских премий. М.: Мир, 1993. 142 с.

17. How ‘merchant of death’ Alfred Nobel became a champion of peace. https://www.thelocal.se/20101004/29406.

18. 5 изобретений Альфреда Нобеля, изменивших мир. Режим доступу: http://vm.ru/news/2013/10/20/5-izmenivshih-mir-izobretenij-alfreda-nobelya-219011.html.

19. Nobels Testamente Pdf - Most Popular Books 2018. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Alfred_Nobel_-Testamente.jpg.

20. Что повлияло на решение Нобеля завещать свое состояние для учреждения научной премии? Режим доступу: http://muzey-factov.ru/out.php?url=http://ru.wikipedia.org/wiki/Нобель,_Альфред_Бернхард/

21. Какая из нобелевских премий была учреждена вопреки воле Альфреда Нобеля? Режим доступу: http://muzey-factov.ru/out.php?url=http://ru.wikipedia.org/wiki/Нобелевская_премия_по_экономике.

22. Почему Нобелевская премия не вручается за достижения в математике? Режим доступу: http://muzey-factov.ru/out.php?url=http://www.snopes.com/science/nobel.asp.

23. Нобель Альфред. Режим доступу: https://ru.wikipedia.org/wiki/Нобель,_Альфред.

24. Рентген (Röntgen) Вільгельм. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: М—Я; пер. с англ. М.: Прогресс, 1992. С. 287—290.

25. Вильгельм Конрад Рентген. 100 великих людей. Режим доступу: http://www.dmitrysmor.ru/sto velikih/snow/71.

26. Вант-Гофф (Van’t Hoff) Якоб. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: А—Л; пер. англ. М.: Прогресс, 1992. С. 239—241.

27. Беринг (Behring) Эмиль фон. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: А—Л; пер. с англ. М.: Прогресс 1992. С. 115—117.

28. Сюлли-Прюдом (Sully-Prudhomme) Рене. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: М—Я; пер. с англ. М.: Прогресс, 1992. С. 458—459.

29. Шкляр Л.Є., Шпиталь А.Г. Під знаком Нобеля. Лауреати Нобелівської премії з літератури. 1901—2006. Київ: Грамота, 2006. 504 с.

30. Дюнан (Dunant) Анри. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: А—Л; пер. с англ. М.: Прогресс, 1992. С. 438—441.

31. Пасси (Passay) Фредерик. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: М—Я; пер. с англ. М.: Прогресс, 1992. С. 190—192.

32. Левчук Ю.М. Вклад Нобелевских лауреатов в биохимию и молекулярную биологию (К 170-летию со дня рождения А.Б. Нобеля). *Український біохімічний журнал*. 2003. Т. 75, № 5. С. 128—150.

33. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Scientific investigations of the Nobel prize winner Emil Fischer as a launching pad for the development of biochemistry: a brief overview. *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90, N 4. P. 135—142.

ISSN 2409-1943 Ukr. Biochem. J. 2018. Vol. 90, N 4. P. 121—134.

SCIENTIFIC INVESTIGATIONS OF THE NOBEL PRIZE WINNER EMIL FISCHER AS A LAUNCHING PAD FOR THE DEVELOPMENT OF BIOCHEMISTRY: A BRIEF OVERVIEW

T.V. Danylova, S.V. Komisarenko

Modern biochemistry and molecular biology would have been impossible without discoveries in related fields of science. This paper aims to outline briefly the main stages of scientific activity of a Nobel Prize winner in 1902 — German chemist Hermann Emil Fischer, one of the leading chemists of all times. Emil Fischer was a brilliant multifaceted scientist who left his mark in organic chemistry, physiology, medicine, gave impetus to the development of biochemistry. His insights into the structure of sugars, enzymes, proteins, and purines have become a launching pad for the further development of biochemistry and molecular biology. His contribution into the natural sciences was immense; some chemical reactions and concepts were named after him. This prominent scientist was honored with a number of awards.

Keywords: *Emil Fischer, Nobel Prize, Biochemistry, phenylhydrazine, purines, sugars, enzymes, proteins, the lock-and-key model, Fischer Projection, peptide bond.*

The original Nobel Prizes were established in 1895 in the fields of physics, chemistry, medicine/physiology, literature, peace. In 1968 the Swedish central bank set up The Sveriges Riksbank Prize in Economic Sciences in Memory of Alfred Nobel, which is better known as the Nobel Memorial Prize in Economic Sciences [1]. There is no the Nobel Prize in Biochemistry and Molecular Biology since these sciences are that young. *«Biochemistry is a young science, having been known under that term only since about 1900. Its origins, however, can be traced much further back; its early history is part of the early history of both physiology and chemistry»* [2]. Molecular biology as a separate field of biochemistry started forming in the 30's of the 20th century and finally established in the 1950's [3]. However, if Alfred Nobel was alive today, he would definitely establish the prize in biochemistry and molecular biology due to the fact that many discoveries in these fields of sciences became sensational and had a great scientific and social significance.

The recognition of pluralistic interpretation of reality in postmodern era forces scientific community to reconsider the entire scientific worldview. Contemporary perception of the world is undergoing drastic changes: it shifts towards plurality, temporality, and complexity. Many well-established scientific theories give rise to the new multifaceted branches of knowledge and are quite often altered by them. This leads to the new explanation and understanding of reality [4].

Biochemistry is also chemistry that explores the chemical processes within and/or related to living organisms. Using chemical tools and focusing on the processes at a molecular level, biochemistry seeks to explain and solve the enigma of life. Largely rooted in biochemistry, molecular biology is concerned with molecular structures and phenomena that provide storage of hereditary information and mechanisms for

its implementation. Thus, biochemistry and molecular biology may be seen as the foundation of the Life Sciences.

Modern biochemistry and molecular biology would have been impossible without discoveries in related fields of science, in particular the discoveries of the famous scientists who have won the Nobel Prizes. This paper aims to outline briefly the main stages of scientific activity of a Nobel Prize winner — German chemist Hermann Emil Fischer who is known as the «Father of Biochemistry».

Hermann Emil Fischer
(1852—1919)

Herrmann Emil Fischer is regarded as one of the leading chemists of all times. His insights into the structure of sugars, enzymes, proteins and purines laid the foundations for modern biochemistry. The second Nobel Prize in Chemistry in 1902 was awarded to Emil Fischer «*in recognition of the extraordinary services he has rendered by his work on sugar and purine syntheses*» [5]. His work had a direct relation to biochemistry, as well as his subsequent research. The discovery of hydrazine derivatives was a brilliant solution to the problem of obtaining sugars and other compounds synthetically. Moreover, his method of synthesis of glycosides appeared to be important for plant physiology and biochemistry. In his Nobel lecture, Fischer emphasized:

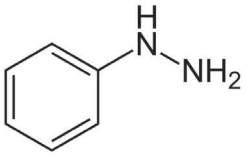
«And so, progressively, the veil behind which Nature has so carefully concealed her secrets is being lifted where the carbohydrates are concerned. Nevertheless, the chemical enigma of Life will not be solved until organic chemistry has mastered another, even more difficult subject, the proteins, in the same way as it has mastered the carbohydrates. It is hence understandable that the organic and physiological chemists are increasingly turning their attention to it and I, too, have been concerned with it for a number of years» [6].

In 1902, Fischer's exploration of protein properties have not yet given the results to be awarded with such a high reward, but later they were evaluated as excellent.

Hermann Emil Fischer was born on October 9, 1852, at Euskirchen, in the Cologne district, Germany, in the family of successful businessman Laurenz Fischer and his wife Julie Fischer. After three years with a private tutor, Emil Fischer attended the local school. Then he spent two years at school at Wetzlar and two more at Bonn. In 1869, he passed his final examination with great distinction. Emil loved science, his bright mind wanted to pursue higher studies, but his father wished him to enter the family lumber business. Being quite an unsuccessful businessmen, in 1871 Emil Fischer went to the University of Bonn to study chemistry. He attended the lectures of Kekulé, Engelbach and Zincke, Kundt on physics, Groth on mineralogy [7].

Initially inclined to specialize in physics, he moved to the newly established University of Strasbourg in 1872, along with his cousin Otto Fischer who would later become his research partner. Here Emil met Adolf von Baeyer, an organic chemist who studied dye molecules and later won the Nobel Prize, and finally decided to study chemistry.

Fischer worked on the phthalein dyes. In 1874 he took his PhD at Strasbourg with the thesis on fluorescence and orcin-phthalein. In the same year, he was appointed



Phenylhydrazine formula

assistant instructor at Strasbourg University where he began his magnificent scientific way. He discovered phenylhydrazine and demonstrated its relationship to hydrazobenzene and to a sulphonic acid. Despite the fact that for twelve years Fisher had suffered from the toxic effects of this substance, he later called phenylhydrazine «*the first and greatest chemical affection*». This discovery was related to many of Fischer's explorations [6].

In 1875 Fischer accompanied von Baeyer to the University of Munich as an assistant. Three years later, in 1878, he was awarded the title Privatdozent and was allowed to teach university level courses. In 1879 he was appointed Associate Professor of Analytical Chemistry. During this time he was absorbed by the study of hydrazines.

In 1881 he was appointed Professor of Chemistry at the University of Erlangen and in 1885 he became Professor of Chemistry at the University of Würzburg [9].

In 1888 Emil Fischer married Agnes Gerlach, daughter of J. von Gerlach, Professor of Anatomy at Erlangen. She died seven years after their marriage in 1895. They had three sons. With the onset of World War I, all brothers were drafted into the German Army. One of them was killed, another committed suicide. The third brother, Hermann Otto Laurenz Fischer, was soon transferred as a staff officer to the chemical warfare unit and survived the war. He became a famous organic chemist and biochemist; was Professor of Biochemistry at the University of California at Berkeley [10].

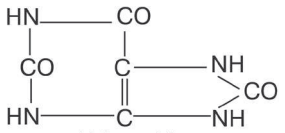
In 1892 Emil Fischer was asked to succeed A. W. Hofmann in the Chair of Chemistry at the University of Berlin. Here he remained until his death in 1919 [7]. Suffering from terminal cancer and deeply depressed over the deaths of two of his three sons in World War I, he took his own life.

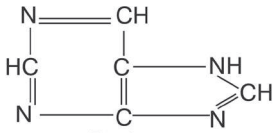
Emil Fischer was a brilliant multifaceted scientist who left his mark in organic chemistry, physiology, medicine, gave impetus to the development of biochemistry. His early significant discovery was the first hydrazine derivative compound — phenylhydrazine. Working in Munich with Otto Fischer, they introduced their theory of the constitution of triphenyl-methane dyes and proved it by experiment [11]. Along, Emil Fischer continued working on the hydrazines.

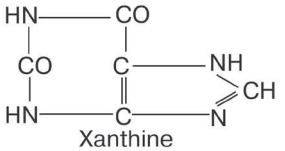
At Erlangen Fischer investigated the active principles of tea, coffee and cocoa, isolating caffeine from tea and coffee and theobromine from cocoa. He demonstrated that caffeine and theobromine, uric acid and guanine (the components of birds and animals' excrements), adenine and xanthine (in vegetable substances) have a similar structure and can be derived from one another. He came to the conclusion that they belong to one family. The «mother» substance he called purine in 1884 and synthesized it in 1898 [5]. Emil Fischer stated: «*...the name "purines" is a generic term for a large class of nitrogenous organic compounds, some being certain animal excretions and others the active constituents of important stimulating beverages. The oldest member of the group is known by the rather unattractive name of uric acid and was discovered in this country 126 years ago simultaneously by Scheele and his famous friend Torbern Bergman as a constituent of urinary calculus and urine. To the physician it is familiar as the cause of painful afflictions, e.g. gout. It appeals to zoologists as the main excrement of snakes and as the reserve material of insects. And finally the enlightened farmer knows it to be a valuable constituent of guano...*

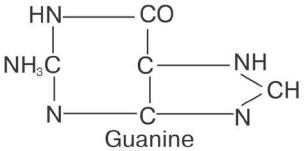
Rather closely related to uric acid in composition and external characteristics are four other substances occurring in the bodies of animals, xanthine, hypoxanthine, adenine and guanine, the first three of which were discovered in the muscular substance and the last in guano. Thanks to the progress of physiological chemistry we now know that these four substances are important constituents of the cell nucleus and therefore have great biological significance. These animal products are joined by three substances from the vegetable kingdom, caffeine, theobromine and theophylline» [5].

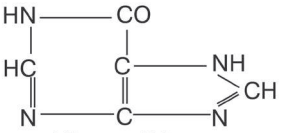
Reporting on his work, Fischer mentioned these purines:

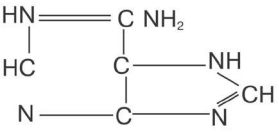

Uric acid

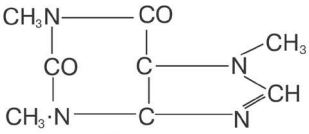

Purine

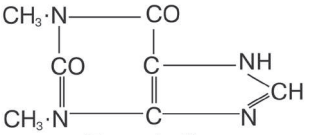

Xanthine

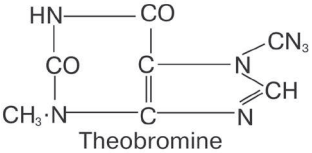

Guanine

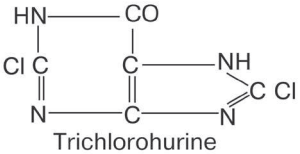

Hipoxanthine


Adenine


Caffeine


Theophylline

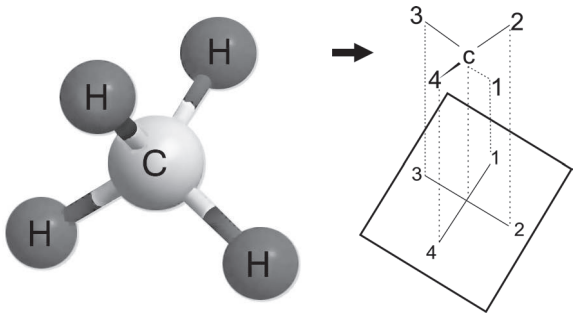

Theobromine


Trichlorohurine

Purines are one of the most widespread classes of organic compounds present in Nature [5]. Adenine and guanine are the building blocks of DNA. The famous scientist synthesized about 130 related compounds, one of which was the first synthetic nucleotide. These studies led to the synthesis of powerful hypnotic drugs derived from barbituric acids (barbiturates) [10].

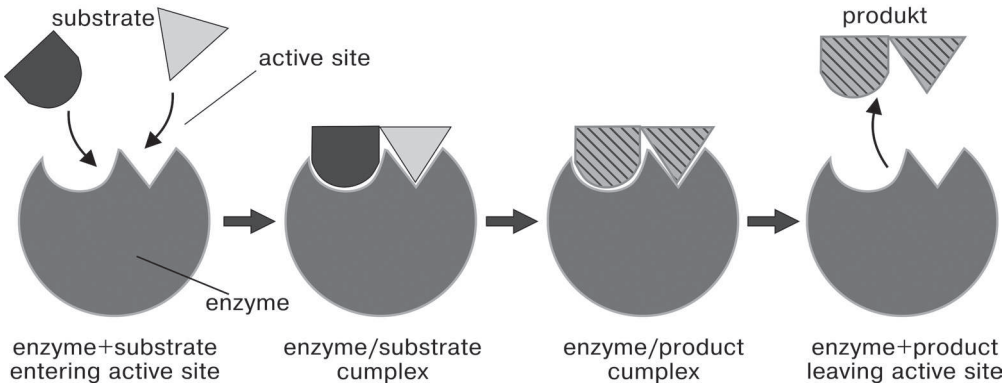
Working on purines, Fisher began his great work on sugars in 1884. Fisher started with exploring glucose trying to figure out the shape of carbon skeleton, as well as the nature, location and spatial positioning of its functional groups. Developing new reagents, methods, procedures, he was successful to interpret his experimental

results [11]. Previously discovered phenylhydrazine made it possible to form the phenylhydrazones and the osazones. He established the structural relationship between glucose, fructose and mannose; the stereochemical nature and isomery of the sugars, determined the group of sugars known as hexoses. He devised the Fischer Projection method to represent the three-dimensional structures of molecules on a 2D surface instead of drawing a more detailed 3D structural representation of the molecule. By convention, horizontal lines symbolize bonds projecting from the plane of the paper toward the viewer, while vertical lines symbolize bonds projecting away from the viewer [12]. This method is used to depict all classes of optical isomers [13]:

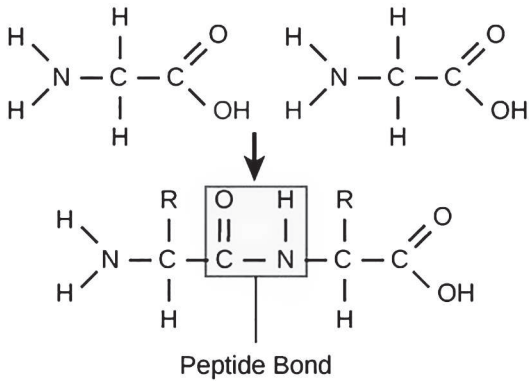


Investigating sugars, Fischer went deeper into the fermentation caused in sugar by enzymatic action. His pioneering work on organic compounds including purines and sugars led him to the Nobel Prize he won in 1902. One of the fundamental discoveries in the scope of biochemistry credited to Emil Fischer is the lockand-key model for the reaction between enzymes and substrates. It suggests that the enzyme and the substrate possess specific geometric shapes that are complementary to each other and fit into each other.

The active site of the enzyme is like a lock and the substrate fits like a key into this lock. This theory «became a leading concept for the understanding of intermolecular interactions with proteins, and later for the rational design of drugs. With the advent of supramolecular chemistry the idea gained an enormous momentum, as chemists began to synthesize a large variety of host compounds for practically all possible target guest molecules occurring in nature or in the environment», though this theory has some limitations and extensions [14].



Fischer's investigations into the chemistry of proteins began 1899. Before synthesizing peptides, he turned to the amino acids as to the building blocks of them. Fischer introduced methods for separation and identification of amino acids in protein hydrolysates; discovered the new cyclic amino acids, L-Proline and L-Hydroxyproline; synthesized ornithine in 1901, serine in 1902, and the sulphurcontaining cysteine in 1908; created small chains of amino acids as precursors to protein formation [10, 11, 15]. Obtaining amino acids in an optically-active form, Fischer carried out an investigation on the proteins' syntheses. He was able to recognize how the amino acids are linked together by what are known as peptide bond — the type of bond that would connect them together in chains. He obtained the dipeptides, tripeptides, and polypeptides. Fischer's scientific activity led to a better understanding of the proteins and laid the foundations for the further studies.



Emil Fischer was a versatile chemist. Along with studying purines, sugars, proteins, he contributed to other areas: dyes, tanning chemicals, chemical substances in the lichens, indoles, barbiturates. In 1903 he synthesized the first barbiturate — barbituric acid that contributed to the development of affordable sedatives for insomnia and anxiety [16].

Fischer's scientific activity on purines, sugars, proteins has become a launching pad for the further development of biochemistry and molecular biology. «Fischer published more than 600 scientific articles which have been collected in eight volumes under the following titles:

1. Triphenylmethane dyes. 2. Hydrazine and indoles. 3. Purines. 4 and 5. Carbohydrates and enzymes. 6 and 7. Amino acids, polypeptides and proteins. 8. Dye stuff.

A large number, around 330, of doctoral and postdoctoral co-workers from many countries worked with Fischer. Many of them carried forward his scientific legacy and contributed significantly to organic chemistry, biochemistry, and medicinal chemistry research in academic institutions and industry, and several of them won Nobel Prizes» [11]. Fischer's contribution to the field of natural sciences was immense; some chemical reactions and concepts were named after him: Fischer indole synthesis; Fischer projection; Fischer oxazole synthesis; Fischer peptide synthesis; Fischer phenylhydrazine and oxazone reaction; Fischer reduction; Fischer– Speier esterification; Fischer glycosidation [17]. This prominent scientist was honored with a number of awards.

In 1890 for an outstandingly important recent discovery in chemistry Fischer received Davy Medal awarded by the Royal Society of London. In 1902 he won the Nobel Prize in Chemistry. The honors received by Fischer include the Prussian Order of Merit and the Maximilian Order for Arts & Sciences. In 1907 he was honored with the Faraday Medal of the English Chemical Society and with honorary membership in the American Chemical society [18]. In 1909 for his work on sugar and protein chemistry, he received Helmholtz Medal — an award to scholars for excellence in the areas of natural science, technology, medicine, epistemology, humanities and social sciences. In 1913 he was honored by Elliot Cresson Medal — the highest award given by the Franklin Institute until 1998. When Fischer died, the Emil Fischer Memorial Medal was instituted by the German Chemical Society. In 1968 Hermann Emil Fischer was honored again as one of the greatest scientists in human history: his biography was included in the World Who's Who in Science [19]. The Fischer lunar crater was named in his honor and in honor of the other outstanding German organic chemist Hans Fischer who won the 1930 Nobel Prize [20].

In 2008 in order to honor active carbohydrate scientists distinguished with contributions of excellence, European Carbohydrate Organization (ECO) established the Emil Fischer Carbohydrate Award [21]. This award for 2017 has been awarded to Prof. Carlo Unverzagt of the University of Bayreuth, Germany, in recognition of his accomplishments in the chemical and enzymatic synthesis of N-glycans and glycoproteins [22].

НАУКОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ НОБЕЛІВСЬКОГО ЛАУРЕАТА ЕМІЛЯ ФІШЕРА ЯК СТАРТОВИЙ МАЙДАНЧИК ДЛЯ РОЗВИТКУ БІОХІМІЇ: КОРОТКИЙ ОГЛЯД

Т.В. Данилова, С.В. Комісаренко

Термін БІОХІМІЯ вперше застосував німецький вчений-хімік Карл Нейберг у 1903 р. Біохімію можна визначити як науку, пов'язану з хімічною природою та хімічною поведінкою живої речовини. Біохімію можна розглядати як дисципліну, в якій біологічні явища аналізуються з точки зору хімії. Тому її й називають біологічна хімія, або хімічна біологія. Сучасна біохімія та молекулярна біологія були б неможливими без відкриттів у суміжних галузях науки. Тут подано короткий огляд основних етапів наукової діяльності лауреата Нобелівської премії 1902 р. у галузі хімії — німецького хіміка Германа Еміля Фішера, одного з провідних хіміків усіх часів. Еміль Фішер був блискучим багатогранним вченим, який залишив слід в органічній хімії, фізіології, медицині, дав поштовх розвитку біохімії. Його глибоке розуміння структури цукрів, ферментів, білків і пуринів стало відправною точкою для подальшого розвитку біохімії та молекулярної біології. Внесок Фішера в природничі науки був величезним; деякі хімічні реакції та концепції названо на його честь. Цей видатний вчений удостоєний низки нагород найвищого гатунку, включаючи й одну з перших Нобелівських премій.

Ключові слова: *Еміль Фішер, Нобелівська премія, біохімія, фенілгідразин, пурини, цукри, ферменти, білки, модель «замок—ключ», проєкція Фішера, пептидний зв'язок.*

REFERENCES

1. Vennesland, Birgit; Stotz, Elmer H. Biochemistry. Encyclopaedia Britannica. https://www.britannica.com/science/biochemistry.

2. The Philosophy and History of Molecular Biology: New Perspectives; ed. by Sahotra Sarkar. Kluwer Academic Publishers, 1996.

3. Danylova T. Eastern Spiritual Traditions through the Lens of Modern Scientific Worldview. *Anthropological Measurements of Philosophical Research*. 2014. Vol. 5. P. 95—102.

4. The Nobel Prize in Chemistry 1902. Nobelprize. org. Nobel Media AB 2014. Web. 12 Jan. 2018. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/ chemistry/laureates/1902/index.html.

5. Nobel Lectures, Chemistry 1901—1921. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 1999.

6. Emil Fischer. Biographical. Nobelprize.org. Nobel Media AB 2014. Web. 12 Jan. 2018. http:// www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/ laureates/1902/fischer-bio.html.

7. Hermann Emil Fischer. Röntgenring Science Mile. Julius-Maximilians- Universitдt Würzburg. https://www.uni-wuerzburg.de/en/uniarchiv/ausstellungen/roentgenring-science-mile/nobel-laureates/hermann-emil-fischer-1902/

8. Hermann Otto Laurenz Fischer, Biochemistry: Berkeley. Calisphere. University of California. http://texts.cdlib.org/view?docId=hb2t1nb146;NAAN=13030&doc.view=frames&chunk.id=div00010&toc.depth=1&toc. id=&brand=calisphere.

9. Rittner D, Bailey RA. Encyclopaedia of Chemistry. Facts on File, Inc., 2005.

10. Emil Fischer. The Franklin Institute. https:// www.fi.edu/laureates/emil-fischer.

11. Nagendrappa G. Hermann Emil Fischer: Life and Achievements. *Resonance*. 2011. Vol. 16, N 7. P. 606—618.

12. Fischer Projection. Encyclopaedia Britannica. https://www.britannica.com/topic/Fischer-projection.

13. Fisher Projection. Chemistry. LibreTexts. https:// chem.libretexts.org/Core/Organic_Chemistry/ Chirality/Fischer_Projections.

14. Schneider H.-J. Limitations and Extensions of the Lock-and-Key Principle: Differences between Gas State, Solution and Solid State Structures. *International Journal of Molecilar Sciences*. 2015. Vol. 16. P. 6694—6717. doi:10.3390/ijms16046694.

15 Wieland Th., Bodanszky M. The World of Peptides. A Brief History of Peptide Chemistry. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1991.

16. Emil Fischer. NNDB. Tracking the Entire World. http://www.nndb.com/people/703/000091430/

17. Biography of Emil Hermann Fischer. Assignment point. http://www.assignmentpoint.com/arts/ biography/biography-of-emil-hermann-fischer. html.

18. Seymour R.B., Mark H.F., Pauling L. et al. Pioneers in Polymer Science. Ed. by R.B. Seymour. Kluwer Academic Publishers, 1989.

19. Debus A.G. World Who's Who in Science. Chicago: Marquis — Who's Who, Inc., 1968.

20. Fischer (crater). Wikipedia. https://en.wikipedia. org/wiki/Fischer_(crater).

21. Emil Fischer Award. International Carbohydrate Organization. http://ico.chemistry.unimelb.edu. au/emil-fischer-award/

22. Emil Fischer Award. 19th European Carbohydrate Symposium EUROCARB, July, 2—6, 2017. http:// www.eurocarb2017.com/index.php/awards/emilfischer-award.

ВНЕСОК НОБЕЛІВСЬКИХ ЛАУРЕАТІВ ПОЧАТКУ XX ст. У РОЗВИТОК МОЛЕКУЛЯРНОЇ ІМУНОЛОГІЇ: Е. БЕРІНГ, І.І. МЕЧНИКОВ, П. ЕРЛІХ, Ш. РІШЕ, Ж. БОРДЕ, К. ЛАНДШТЕЙНЕР

В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.В. Комісаренко

Досягнення вчених-імунологів часто визнавалися найвагомішими в галузі медицини та фізіології, оскільки імунна система є дуже важливою для організму, а вивчення принципів його функціонування має фундаментальне значення для профілактики (вакцинація), діагностики та терапії багатьох захворювань. У цій статті йдеться про тих вчених початку XX ст., які отримали найпрестижнішу наукову нагороду — Нобелівську премію в галузі медицини або фізіології та які заклали підвалини імунології як науки. Так, у 1901 р. першу Нобелівську премію одержав Е. Берінг «за роботу із сироваткової терапії, головним чином за її використання для лікування дифтерії, що відкрило нові шляхи в медичній науці й дало в руки лікарів звитяжну зброю проти хвороби та смерті»; у 1908 р. І. Мечников і П. Ерліх одержали Нобелівську премію з медицини або фізіології «за створення клітинно-гуморальної теорії імунітету»; у 1913 р. Ш. Ріше — «на знак визнання його робіт з анафілаксії»; у 1919 р. Ж. Борде — «за відкриття, пов'язані з імунітетом (роль комплементу, механізми преципітації, аглютинації...)»; у 1930 р. К. Ландштейнер — «за відкриття груп крові людини». Ці роботи дали поштовх для розвитку сучасної молекулярної імунології — науки про організацію та роботу імунної системи, яка є ефективним бар'єром у розпізнаванні й відокремленні в живому організмі «чужого» від «свого».

Ключові слова: *Нобелівська премія, Е. Берінг, І. Мечников, П. Ерліх, Ш. Ріше, Ж. Борде, К. Ландштейнер, молекуляна імунологія.*

Досягнення вчених-імунологів часто визнавалися найвагомішими в галузі медицини і фізіології, оскільки імунна система є дуже важливою для організму, а вивчення принципів його функціонування має фундаментальне значення для профілактики (вакцинація), діагностики та терапії багатьох захворювань. При цьому існують захворювання імунної системи, зумовлені порушеннями в ній, та захворювання інших органів і тканин, спричинені змінами в імунній системі. Практично немає захворювань, які б тим чи іншим чином, прямо або опосередковано не були б пов'язані з імунною системою [1].

Водночас дослідження імунної системи та її компонентів є вкрай важливими для експериментальної біології різних рівнів (молекулярної, клітинної, органної тощо), бо протягом багатьох років імунна система — її організація та функціонування, її компоненти — використовується як унікальна модель для вивчення структури протеїнів, організації генів, які кодують компоненти імунітету; внутрішньоклітинного та міжклітинного «сигналінгу», структури і ролі рецепторів на поверхні імунокомпетентних клітин тощо.

Саме тому молекулярна імунологія — один із найважливіших напрямів не тільки сучасної біохімії, а й загальної біології та медицини. Вона є прямим «нащадком» традиційної науки імунології, родоначальником якої є геніальний французький вчений Луї Пастер. А початком історії імунології професіонали вважають 1796 р., коли англійський лікар Едвард Дженнер здійснив успішну вакцинацію віспи. Відбулося це майже за 100 років до початку робіт «батька імунології» — Луї Пастера. Він став тією людиною, яка зробила справжній прорив у медицині, зокрема в імунології.

У 70—80-х роках XIX ст. Луї Пастер відкрив явище атенуації (ослаблення патогенності) збудників інфекційних захворювань і розробив загальний принцип створення специфічних засобів (вакцин) для їх профілактики. Вже в перших експериментах, проведених у 1878—1880 рр. на культурі курячої холери, Луї Пастер розробив принципи виготовлення вакцин, які в подальшому були застосовані щодо збудників сказу, краснухи, сибірської виразки тощо. Саме ці роботи і поклали початок імунології як науки. Упродовж першої половини XX ст. імунологія займалась, і досить успішно, переважно вирішенням прикладних завдань — розробленням методів діагностики та засобів профілактики і терапії інфекційних захворювань [2].

Саме в той час у галузі імунології було зроблено низку фундаментальних наукових відкриттів вченими, які отримали за них Нобелівські премії. Це, передусім, *Е. Берінг, І.І. Мечников, П. Ерліх, Ш. Ріше, Ж. Борде і К. Ландштейнер*, на наукових досягненнях яких і зупинимося.

ЕМІЛЬ БЕРІНГ

Еміль Адольф фон Берінг (1854—1917)

У 1901 р. першою в світі Нобелівською премією в галузі фізіології або медицини було відзначено німецького бактеріолога і лікаря Еміля Адольфа фон Берінга з формулюванням: «*за роботу із сироваткової терапії, переважно, за її використання для лікування дифтерії, що відкрило нові шляхи в медичній науці та дало в руки лікарів непереможну зброю проти хвороби і смерті*», про що побіжно згадувалося раніше [3].

Берінг (*Behring*) Еміль Адольф фон народився в багатодітній родині шкільного вчителя Августа Георга та Августини (Цех) Берінг у Гансдорфі (нині — територія Польщі). Уже в гімназії в нього виявився інтерес до медицини, але родина не мала коштів на отримання ним вищої медичної освіти, тому, за наполяганням батька, він вступив на факультет теології Кенігсберзького університету.

І тут щасливий випадок змінив долю студента і майбутнього великого медика. Один із викладачів порадив Емілю вступити до Військово-медичного коледжу при Інституті Фрідриха Вільгельма в Берліні, який готував військових лікарів. Навчання для студентів було безкоштовним, але випускники мали «відпрацювати» державну стипендію в діючій армії впродовж десяти років.

Після закінчення коледжу в 1880 р. Берінг отримав диплом лікаря, пройшов стажування у відомій Берлінській клініці Шаріте та був призначений на посаду асистента хірурга в кавалерійському полку в Позене (нині — Познань, Польща). На цій посаді, крім практичної роботи, він знаходив час для дослідження проблем використання дезінфікувальних засобів у бойових умовах для лікування інфекційних захворювань. Військове керівництво, яке було зацікавлено у попередженні епідемій, враховуючи здібності Берінга, відрядило його в Бонн для вивчення експериментальних методів фармакології.

Після демобілізації в 1889 р. Е. Берінг працював в Інституті гігієни в Берліні, яким керував Роберт Кох (*Robert Koch*)*. У цьому інституті також працював Пауль Ерліх (*Paul Ehrlich*). Разом вони склали блискучу наукову команду і всі троє в подальшому отримали Нобелівські премії.

(**Кілька слів про Роберта Коха, який всіляко підтримував імунологічні дослідження Еміля Берінга і Пауля Ерліха і тим самим відіграв важливу роль у розвитку імунології на початку XX ст. Ро́берт Кох (11.12.1843—27.05.1910 рр.) — німецький мікробіолог, один із засновників сучасної бактеріології та епідеміології, який визначив збудників туберкульозу, холери та сибірки і проводив експерименти для підтвердження концепції інфекційного захворювання. У 1885—1891 рр. — професор Берлінського університету і директор Інституту гігієни, у 1891—1904 рр. — директор Інституту інфекційних хвороб у Берліні, який пізніше був названий його ім'ям. У 1905 р. Кох одержав Нобелівську премію з фізіології* або *медицини «за його дослідження і відкриття стосовно туберкульозу»*) [4].

На той час Е. Берінг вже закінчив Фармакологічний інститут у Бонні і сконцентрував дослідження на вивченні правця та дифтерії. Обидві хвороби закінчувались летально, хоча хворі були інфіковані досить незначною кількістю бактерій. Причиною летальності була властивість цих бактерій продукувати токсини, що було встановлено раніше Фрідрихом Леффлером (*Friedrich Loeffler*) і П'єром Ру (*Pierre Roux*). Е. Берінг припустив: лікування дифтерії може бути успішним, якщо нейтралізувати токсини, що секретуються дифтерійними бактеріями. У 1890 р. в Інституті гігієни Е. Берінг продемонстрував, що неімунізовані тварини можуть бути захищені від токсину дифтерійних бактерій ін'єкцією антитоксину із сироватки крові імунізованих тварин. Саме цього року Е. Берінг і його колеги Шибасабуро Кітасато (*Shibasaburo Kitasato*) і Еріх Верніке (*Erich Wernicke*) опублікували працю, в якій показали, що сироватка крові від людей, які перехворіли дифтерією/правцем, або від тварин, яким вводили мікробні токсини, здатні інактивувати відповідний токсин. Цей феномен — антитоксичні властивості сироватки — і ту субстанцію в рідинній частині крові, яка з'являється в організмі контактованих із дифтерійною бактерією і здатна інактивувати токсин, вони назвали «антитоксином» (нині антитоксини називають *антитілами,* тобто фактично *Е. Берінг відкрив існування антитіл*).

До початку XX ст. щодо дифтерії медицина була безсилою. І кожного року хвороба забирала тисячі дитячих життів. У Е. Берінга і його колег з'явилися труднощі у виробництві дифтерійного антитоксину в тій кількості, що була необхідною для медичної практики. Допоміг їм співробіник того самого інституту (майбутній Нобелівський лауреат, 1908), Пауль Ерліх, який запропо-

нував використовувати сироватку коня для широкомасштабного виробництва дифтерійного антитоксину. Він також розробив метод стандартизації зразків сироватки.

У 1892 р. комерційна фірма почала фінансувати роботу Е. Берінга, і сироватку стали широко використовувати в медичній практиці. У з'вязку з цим Еміля Берінга стали називати «зцілителем дітей». Одночасно почали зростати його популярність і статки. У 1894 р. Берінг залишив Інститут гігієни і переїхав спочатку до Галле, а в наступному році — до Марбурга. В Марбурзі він заснував свій Інститут експериментальної терапії, яким керував до кінця життя. При цьому інституті в 1914 р. було започатковано компанію з виробництва вакцин проти правця та дифтерії. Незважаючи на успішне застосування дифтерійного антитоксину для лікування дітей, існувала серйозна проблема з його використання. Справа в тому, що антитоксин спричинював *пасивний імунітет* (антитіла, які знаходились у сироватці, були утворені клітинами тварин, а не самого пацієнта). Тому антитоксин забезпечував імунітет тільки на незначний період і мав вводитись в організм якомога скоріше після інфікування дитини. Тому Е. Берінг продовжував дослідження дифтерії, поки в 1913 р. не створив вакцину, що забезпечувала довготривалий активний імунітет проти цього захворювання.

За імунологічні дослідження з дифтерії і правця **Е. Берінга** та **Ш. Кітасато** в 1901 р. номінували на першу Нобелівську премію з фізіології або медицини. Але Е. Берінгу Нобелівську премію присудили, а Ш. Кітасато — ні, хоча статус премії давав можливість її розділити (в останнього на той час також було багато наукових досягнень). У нобелівській промові Е. Берінг офіційно визнав, що «...сироваткова терапія була заснована на теорії, яку запропонували **Ф. Леффлер** у Німеччині та **П. Ру** у Франції, згідно з якою бактерії Леффлера не самі по собі спричинюють дифтерію, а виробляють токсини, здатні розвивати хворобу». Він додав, що «...без цієї попередньої роботи Ф. Леффлера і П. Ру не було б сироваткової терапії дифтерії» [5].

На час одержання Нобелівської премії Е. Берінг (1901) перейшов від досліджень правця і дифтерії до досліджень туберкульозу (сухоти), який був одним із розповсюджених смертельних захворювань. Як й інші бактеріологи, зокрема Р. Кох, упродовж кількох років він намагався створити туберкульозний антитоксин, але зазнав невдачі. Проте Е. Берінг розробив рекомендації щодо зниження захворюваності туберкульозом великої рогатої худоби та дезінфекції молока, які є актуальними і на сьогодні.

Отже, Е. Берінг зі своїми колегами Ш. Кітасато і Е. Верніке вперше показали, що сироватка крові імунізованих тварин має антитоксичні властивості. Це стало передумовою для розшифрування механізму набутого імунітету як прояву захисної дії антитоксинів, які утворюються протягом хвороби і які є антитілами. Він також відкрив феномен підсилення імунітету за введення роздрібнених доз токсину (феномен Берінга); розробив спосіб імунізації проти дифтерії ін'єкцією суміші токсину і антитоксину; одержав сироватки проти правця та дифтерії. Е. Берінг запропонував вакцинацію молоді великої рогатої худоби інтравенозним введенням живих культур мікобактерій туберкульозу людського типу. У другому десятиріччі XX ст. Еміль Берінг зміг перемогти

ще одну страшну хворобу. Йшла Перша світова війна; в ті роки не давали Нобелівських премій, але створена Е. Берінгом вакцина проти правця врятувала життя багатьох німецьких солдат, за що уряд Німеччини нагородив його Залізним хрестом — виняткова нагорода для людини, яка не брала участі в бойових діях. Сам Берінг вважав, що участь у створенні вакцин проти дифтерії та правця є вершиною його творчої діяльності, адже це дало змогу в значній мірі врятувати людство від страшних епідемічних захворювань.

Аналізуючи життєвий та творчий шлях Еміля Адольфі фон Берінга, можна стверджувати, що він цілком відповідав заповіту Нобеля: його розробки дійсно принесли величезну користь людству. Його найважливіші дослідження були пов'язані з епохальними роботами Луї Пастера, Роберта Коха, Пауля Ерліха та інших вчених, що спрямували подальший розвиток імунології та виникнення сучасних знань.

Е. Берінг був кавалером французького ордена Почесного легіону та членом таємної ради Прусії, отримав титул дворянина, а також був членом багатьох академій європейських країн, нагороджений орденами і медалями Німеччини, Румунії та Туреччини [6—9].

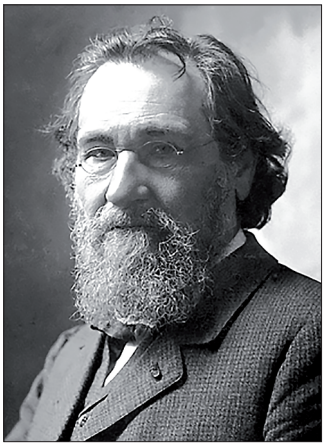
Помер Еміль Берінг 31 березня 1917 р. від пневмонії в Марбурзі. Нині його ім'я носить найбільша компанія в Марбурзі, яка займається винятково клінічною діагностикою, — «Dade Behring», а також компанія «CSL Behring». В університеті Марбурга засновано премію імені Еміля Берінга. У 1979 р. на його честь названо кратер на Місяці. Увага авторів до роботи в галузі бактеріології та імунології Нобелівського лауреата Еміля Адольфа фон Берінга зумовлена не лише тим, що проблема, яку він вирішував, до цього часу залишається актуальною, а й тим, що вона послугувала поштовхом для подальшого розвитку наукових досліджень дифтерійного токсину вже на новому рівні. Зокрема, в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України проводять дослідження зі з'ясування молекулярних механізмів функціонування цього токсину та його рецептора HB-EGF, а також розробки нових імунобіотехнологічних продуктів.

ІЛЛЯ ІЛЛІЧ МЕЧНИКОВ

У 1908 р. Нобелівську премію в галузі фізіології та медицини отримали наш видатний співвітчизник Ілля Ілліч Мечников та німецький бактеріолог Пауль Ерліх із формулюванням: *«На знак визнання праць про імунітет»*. Історію життя і наукову спадщину І.І. Мечникова детально описано в праці Ю.В. Єзепчука і Д.В. Колиби, опублікованій в «Ukrainian Biochemical Journal»[10], тому тут зупинимося лише на основних етапах його наукової творчості.

Ембріолог, бактеріолог та імунолог **Ілля Ілліч Мечников** народився в селі Іванівка, неподалік від Харкова. У Харкові у дев'ятнадцять років він за два роки закінчив університетський чотирирічний курс природничого відділення фізико-математичного факультету. Прочитавши книгу Ч. Дарвіна «Походження видів шляхом природного відбору...», І.І. Мечников став прихильником дарвінівської теорії еволюції. Він зрозумів, що згідно з теорією Дарвіна у більш високоорганізованих тварин мають бути в будові ознаки, подібні до тих, які є в низькоорганізованих, від яких вони походять. І.І. Мечников захопився ембріологією. У наступні три роки займався дослідженням ембріології безхре-

бетних тварин у різних частинах Європи: спочатку на острові Гельголанд у Північному морі, який належить Німеччині, потім у лабораторії Рудольфа Лейкарта в Гіссене (Німеччина) і, нарешті, в Неаполі (Італія). У 1867 р. І.І. Мечников отримав докторський ступінь в Санкт-Петербурзькому університеті, де надалі викладав зоологію та порівняльну анатомію протягом шести років. Пізніше його було обрано доцентом Новоросійського університету в м. Одесі — ідеальне місце для дослідження морських організмів Чорного моря.



Ілля Ілліч Мечников
(1845—1916)

У 1881 р. І.І. Мечников подав у відставку і переїхав до Мессіни (Італія). *«В Мессіні,* пізніше напише він, *відбувся переворот у моєму науковому житті. До того — зоолог, я відразу зробився патологом»*. Відкриття, що змінило хід його наукового життя, було пов'язане зі спостереженнями за прозорими личинками морської зірки. Він помітив, що рухливі клітини в личинках оточують і поглинають чужорідні тіла так само, як це відбувається у разі реакції запалення в людей. Якщо чужорідне тіло мале, то рухливі клітини, які він назвав «*фагоцитами*» (від грец. *phagein* — їсти), могли повністю поглинути це чужорідне тіло. Ґрунтуючись на знаннях про те, що лейкоцити людини та фагоцити морських зірок ембріонально гомологічні (вони походять із мезодерми), І.І. Мечников зробив висновок, що функція лейкоцитів, як і фагоцитів, є захисною або санітарною. «*Згідно з цією гіпотезою* (писав пізніше І.І. Мечников) *хвороба має розглядатися як боротьба між патогенними агентами — мікробами, що потрапляють ззовні, і фагоцитами самого організму. Одужання буде означати перемогу фагоцитів, а реакція запалення буде ознакою їх дії, достатньої для запобігання атаки мікробів*».

У 1886 р. І.І. Мечников, повернувшись до Одеси, де організував і очолив першу в Росії Одеську бактеріологічну станцію, продовжував досліджувати дію фагоцитів у собак, кролів і мавп на мікроби, які спричинюють бешихове (рожисте) запалення та зворотний тиф.

Від 1887 р. Мечников, на пропозицію Луї Пастера, очолив нову лабораторію в Пастерівському інституті (Париж), де працював протягом наступних 28 років, і далі досліджуючи фагоцити. Виконані ним у Парижі роботи — це вагомий внесок у фундаментальні відкриття стосовно природи імунної реакції. Найбільший внесок І.І. Мечникова в науку мав методологічний характер: мета вченого полягала в тому, щоб вивчити *«...імунітет у разі інфекційних захворювань... з позицій клітинної фізіології»*.

Під час вручення вручення Нобелівської премії у вітальній промові К. Мернер із Каролінського інституту зазначив, що «*...після відкриттів Едварда Дженнера, Луї Пастера і Роберта Коха залишилось нез'ясованим основне питання імунології: яким чином організму вдається перемогти хвороботворні мікроби, які, атакуючи його, змогли зачепитись і почали розвиватися? Відповідаючи на це питання, І.І. Мечников започаткував сучасні дослідження з імунології та суттєво вплинув на весь хід її розвитку»* [11, 12].

Наукові досягнення І.І. Мечникова було визнано ще за життя не лише Нобелівською премією: він був Кавалером вищого ордена Франції — ордена Почесного легіону, нагороджений орденами Росії, Японії, Італії, Сербії та інших країн, удостоєний звання почесного доктора Кембриджського університету, обраний іноземним членом Лондонського королівського товариства, членом Паризької медичної академії, членом Шведського медичного товариства, почесним членом Петербурзької, Віденської, Паризької, Бельгійської та інших академій наук. Серед численних нагород і відзнак Іллі Ілліча є і медаль Коплі Лондонського королівського товариства.

В останні роки життя І.І. Мечников захопився проблемами старіння та смерті. У 1903 р. він опублікував книгу «Етюди про природу людини», в якій обґрунтував необхідність вживання великої кількості кисломолочних продуктів, заквашених болгарською паличкою (молочнокислою бактерією).

І.І. Мечников помер у Парижі 15 липня 1916 р. на 72 році життя після кількох інфарктів міокарда. За понад століття після смерті Іллі Ілліча Мечникова наука підтвердила справедливість багатьох його поглядів і суджень не тільки в галузі імунології, а й у бактеріології, зоології та порівняльній ембріології.

Сьогодні його справедливо називають батьком клітинного імунітету та передвісником теорії природного імунітету. Його праці, присвячені дослідженню молочнокислих бактерій, стали підґрунтям індустрії пробіотиків, а вчення про можливість продовження життя людини є актуальним і нині.

ПАУЛЬ ЕРЛІХ

Ще одним нобеліантом за 1908 р. у галузі фізіології та медицини був видатний німецький бактеріолог, мікробіолог, фармаколог й імунолог Пауль Ерліх.

Пауль Ерліх (*Ehrlich*) народився в м. Штрелен, Сілезія (нині — Стшелін, Польща) у родині багатого трактирника Ісмара Ерліха та Рози Ерліх (Вейгерт). Великий вплив на Пауля в ранньому дитинстві мав дід з боку батька, який читав лекції з фізики та ботаніки в навчальних закладах. Але вирішальну роль у виборі кар'єри (професії) відіграв його двоюрідний брат Карл Вейгерт, який був бактеріологом і який одним із перших використав відкриті в 1853 р. анілінові барвники для виготовлення мікропрепаратів у мікробіології. Ці речовини давали можливість вибірково забарвлювати різні мікробні клітини.

Під керівництвом брата Пауль досліджував властивість барвників з'єднуватися з різними структурами тканин і клітин. У 1872 р. П. Ерліх вступив до університету в м. Бреслау (нині — польське місто Вроцлав), через семестр перейшов до Страсбурзького університету, а за два роки знову повернувся до Бреслау, де виконав основну частину робіт, необхідних для отримання медичного диплома. Диплом йому було вручено в 1878 р. у Лейпцизькому університеті. Цікаво, що Ерліх у своїх університетах був відомий як типовий «двієчник», такий самий, як у свій час Ньютон, Гельмгольц, Ейнштейн і багато інших «геніїв». Мабуть, вони думали однаково: навіщо витрачати час на те, що не є цікавим, якщо його можна витратити на привабливіші речі. Трупи й лікування ніяк не приваблювали Ерліха, проте барвники...

У роки навчання П. Ерліх розробив нові барвники зі специфічною спорідненістю до різних клітин. Так, він створив метод, за допомогою якого можна

Пауль Ерліх (1854—1915)

було розрізняти окремі форми лейкоцитів. Це відкриття відіграло важливу роль у розвитку *гематології* (зокрема, під час дослідження лейкозів) й імунології. Завдяки унікальному «баченню» тривимірної структури молекул, яке допомогло передбачити зв'язок барвника з відповідними тканинами, він у 1879 р. опублікував результати своїх досліджень із забарвлювання кров'яних плівок. Тоді досліднику було лише 25 років! *П. Ерліх започаткував гематологію:* відокремив популяції білих клітин (агранулоцити — клітини без гранул і гранулоцити — клітини, які містять у цитоплазмі специфічні гранули) не тільки одні від інших, а й всередені них; завдяки йому знаємо, що є лімфоцити, які містять не гранули (надалі стало відомо, що вони діляться на В- , Т- та NK-клітини), а гранулоцити, в свою чергу, поділяються на декілька типів, серед яких нейтрофіли, еозинофіли та базофіли.

Після отримання медичного диплома П. Ерліха призначили головним лікарем клініки Фрідріха фон Фреріхса Берлінської лікарні Шаріте, де він продовжив гематологічні дослідження. У Берліні П. Ерліх удосконалював методи забарвлення бактерій і тканин тварин. Саме тут цей «фарбувальник-віртуоз» познайомився із вже відомим на той час Робертом Кохом, який у 1882 р. відкрив збудник туберкульозу, і запропонував йому поліпшений метод забарвлення його палички (який використовують і тепер). З цього почалася їх багаторічна дружба та тісна співпраця.

Але трапилася біда: в 1888 р., під час чергового експерименту з небезпечним збудником Пауль заразився бацилою і, до того ж, заразив свою сім'ю (у 1883 р. П. Ерліх одружився з Хедвігою Пінкус, донькою фабриканта-текстильника). З дружиною та двома доньками він вимушений був їхати лікуватися до Єгипту, жаркий і сухий клімат якого якнайкраще сприяв позбавленню від збудника. Там вони прожили майже два роки. Після повернення до Берліна (1890) він з'ясував, що за час відсутності його звільнили з посади в клініці Шаріте. Проте, не втративши надії, продовжив наукові пошуки у власній лабораторії (яку, на щастя, не могли привласнити) доти, поки Р. Кох не запропонував йому допомогу і не забрав у свій Інститут інфекційних захворювань. Окрім того, Ерліх став професором Берлінського університету.

Саме там «інфекційне» минуле звело його з першовідкривачем антидифтерійної сироватки — Е. Берінгом (Нобелівська премія, 1901, про що йшлося вище). Справа в тому, що від початку в експериментах Берінга вакцинація проти дифтерії поступовим наростанням доз не давала надійних результатів. Ерліх порадив «підсилювати» вакцину, повторно вводячи дифтерійний токсин коням, доти, поки не було отримано необхідну концентрацію антитоксину. Згодом, коли його призначили директором Державного інституту розроблення та контролю сироваток (1896) в Штегліці (неподалік Берліна), він допоміг Берінгу налагодити масове виробництво антитоксину. В цьому інституті

П. Ерліх застосував свої знання в галузі хімії для стандартизації токсинів, антитоксинів і сироваток. Розроблена ним система міжнародних одиниць цих речовин набула широкого визнання і є загальноприйнятою дотепер.

У той час вчений замислювався над *теорією «бічних ланцюгів»*. *«Жива протоплазма має відповідати гігантській молекулі, яка взаємодіє зі звичайними хімічними молекулами так само, як Сонце з метеоритами. Ми можемо припустити, що в живій протоплазмі ядро зі спеціальною структурою відповідає за властиві клітині специфічні функції і до цього ядра, подібно до бічних ланцюгів, приєднано атоми та їх комплекси»*, — писав П. Ерліх. Звідси з'явилися ідеї про *специфічні рецептори* в клітинах, які здатні зв'язуватися зі збудниками.

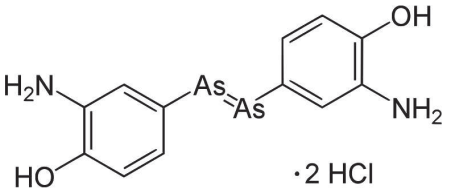
Дослідник продовжував «копати глибше» і вже в 1897 р. запропонував першу теорію. Він вважав, що ці бічні ланцюги ззовні клітинних мембран (які пізніше почали називати *рецепторами*) здатні зв'язуватися з тими чи іншими речовинами в середовищі. Деякі з них можуть зв'язуватися з токсинами, які мікроорганізми виділяють в середовище, і цей зв'язок формується за типом «ключ—замок» (це відкриття підтвердив Лайнус Полінг у 40-ві роки XX ст.). Зв'язуючись із токсином, клітина починає перетворюватись і вільно виділяти в міжклітинне середовище «бічні ланцюги», де вони мають зустрітися з токсином і нейтралізувати його, захищаючи від «нашестя» інші клітини та весь організм у цілому. Ерліх навіть знайому назву дав цим ланцюгам — *Antikorper, або антитіла*. Його теорія дивовижно нагадувала відомий сьогодні механізм гуморального імунітету, який базується на антитілах, що виробляються В-клітинами.

У 1899 р. Інститут розробки та контролю сироватки було розширено і переведено у Франкфурт-на-Майні з назвою Інститут експериментальної серотерапії. Від 1906 р. П. Ерліх був директором цього інституту (нині — Інститут імені Пауля Ерліха — Paul-Ehrlich Institut).

Працюючи в цьому інституті, П. Ерліх опублікував остаточні висновки з використання теорії бічних ланцюгів в імунології. Виходячи з цієї теорії, він вважав, що антитіла можуть вироблятися не тільки внаслідок прямих хімічних взаємодій між токсинами (або іншими антигенами), а й клітинами. Антитіла можуть реагувати з рецепторами, розміщеними на поверхні клітин. Унаслідок цього клітини починають посилено виробляти такі самі рецептори, що взаємодіють у крові з токсинами. Отже, роль антитіл можуть відігравати рецептори (або, за термінологією П. Ерліха, реактивні бічні ланцюги) клітин, з якими взаємодіють антигени.

Теорія бічних ланцюгів істотно вплинула на розвиток науки, хоча не всі вчені погодилися з нею. Найважливіше досягнення П. Ерліха полягало в тому, що він вперше продемонстрував, що взаємодія між клітинами, антитілами й антигенами є хімічною реакцією. Таке уявлення про теорію імунітету стало стимулом для наступних численних досліджень. Крім того, роботи П. Ерліха сприяли створенню імунологічної термінології.

Така своєрідна теорія імунітету, до речі, зумовила жорстку дискусію Ерліха з Мечниковим: емігрант із Росії вважав, що весь імунітет забезпечується фагоцитозом, а Ерліх головне значення надавав антитілам. Насправді, як це зазви-



Формула сальварсану

чай трапляється, обоє були праві. Судячи з усього, одним із завдань Нобелівського комітету від початку існування було примирення непримиримих суперників. Мабуть тому в 1908 р. і Паулю Ерліху*, і Іллі Мечникову було присуджено Нобелівську премію з фізіології та (або) медицини «*за роботу з теорії імунітету*». У Нобелівській лекції П. Ерліх висловив впевненість в тому, що вчені почали *«...розуміти механізм дії терапевтичних речовин... Я сподіваюся, що якщо ці напрями будуть систематично розвиватися, то незабаром нам стане легше, ніж до цього часу, розробляти раціональні способи синтезу ліків»*.

(**У цілому Ерліха номінували 76 разів. Багато номінацій було й після 1908 р., зокрема одна номінація з хімії. За що? Можна зрозуміти з подальшої інформації*).

За два роки після присудження Нобелівської премії П. Ерліх отримав субсидії для будівництва лабораторії з розробки терапевтичних препаратів. Він поставив за мету створити похідні арсену (миш'яку), що могли бути ефективними ліками проти трипаносом — найпростіших, які спричинюють сонну хворобу й деякі інші захворювання, та блідої спірохети — збудника сифілісу. П. Ерліх зі співробітниками синтезували понад 600 сполук арсену і в 1909 р. виявили досить ефективну та малотоксичну сполуку «606», яку потім назвали «*сальварсан*» (від лат. *сальваре* — спасати і *арсенік — миш'як*). У перших клінічних дослідженнях, проведених у Магдебурзькому шпиталі, він виявив високу ефективність засобу проти сифілісу. *Таким чином, сальварсан став першим в історії медицини хіміотерапевтичним препаратом*.

Про відкриття засобу від сифілісу П. Ерліх сповістив у 1910 р.; препарат почали розповсюджувати в усьому світі. Пізніше було розшифровано механізм його дії та дії його похідних. Після подальших досліджень П. Ерліх розробив ефективніший і менш токсичний *неосальварсан — препарат «914»*. Спірохета виявилась дуже чутливою до препаратів тривалентного арсену (арсенітів). Ці препарати стали першими ліками спрямованої дії.

Відкриття П. Ерліхом сальварсану було значно важливішим, ніж просто перемога над хворобою людства, воно зумовило *народження нового напряму в медицині — хіміотерапії*. І ніхто не може сказати, на скільки років медицина XX ст. відстала б у розвитку, якби Ерліх не запропонував використовувати хіміотерапію.

Окремо зазначимо, що починаючи з 1901 р. П. Ерліх суттєву увагу приділяв проблемі злоякісних пухлин. У зв'язку з цим слід згадати про ще одне відкриття Ерліха під час роботи із сальварсаном. Це відкриття поставило перед фармакологією завдання, яке не вирішено й до цього часу. Так, П. Ерліх вводив токсичні барвники в тіла лабораторних тварин і, роблячи розтин цих тіл, виявляв, що забарвлені всі тканини крім мозку. Така картина спостерігалася за введення барвників у кров. Але якщо барвник вводити у спинномозкову рідину, зробивши люмбальну пункцію, то мозок забарвлювався, а інші тканини тіла тварини — ні. Тоді стало зрозумілим, що *між кров'ю та центральною*

нервовою системою є якась перепона, яку багато речовин не можуть подолати. Так був відкритий гематоенцефалічний бар'єр, який захищає наш мозок від мікроорганізмів і токсинів і який став «головним болем» онкологів-неврологів, що намагаються лікувати рак мозку. Саме гематоенцефалічний бар'єр не дає змоги хіміотерапевтичним препаратам потрапити до пухлин у мозку. Тому завдання, які поставив П. Ерліх, вирішуються до цього часу.

У вільний час Пауль любив читати детективні романи Конан Дойля. Але в цілому він був палко захопленим дослідником, який багато часу проводив у лабораторії, часто забуваючи навіть поїсти.

П. Ерліха вшановано багатьма науковими відзнаками, такими як почесна премія Міжнародного медичного конгресу (1906), медаль Лібіха та звання почесного члена Німецького хімічного товариства (1911) за розробку низки хімічних реакцій, що мало велике теоретичне й практичне значення, премія Камерона та звання почесного лектора Единбургського університету (1914). Він був членом 81 наукового товариства й академій різних країн, а також мав почесні звання університетів Чикаго, Геттингена, Оксфорда, Бреслау та ін. [13—15].

В останні роки життя П. Ерліх страждав від захворювання серця. 20 серпня 1915 р., відпочиваючи в Бад-Хомбурзі, він помер від апоплексичного удару.

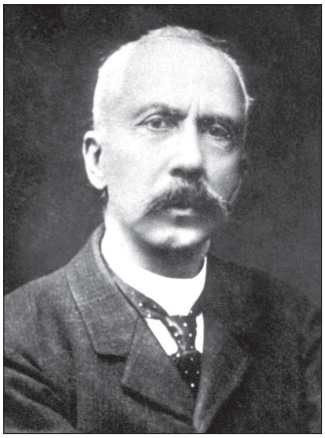
Пауля Ерліха можна вважати одним із засновників імунології та протиінфекційної хіміотерапії. Він сформулював першу хімічну інтерпретацію імунологічних реакцій — «теорію бічних ланцюгів», згідно з якою клітини мають антиген-специфічні рецептори; він розробив методи визначення антитоксичних сироваток і вивчення реакції антиген–антитіло, описав різні форми лейкоцитів крові й показав значення кісткового мозку та лімфоїдних органів у кровотворенні; ввів поняття гематоенцефалічного бар'єра.

ШАРЛЬ РІШЕ

Шарль Ріше (франц. *Charles Robert Richet*) — французький фізіолог, піонер у багатьох галузях досліджень, таких як нейрохімія, травлення, терморегуляція у гомойотермних тварин і дихання. Лауреат Нобелівської премії з фізіології або медицини за 1913 р. «на знак визнання його робіт з анафілаксії».

Шарль Ріше народився 26 серпня 1850 р. у Парижі в сім'ї професора клінічної хірургії медичного факультету Паризького університету Альфреда та Ежен (Руар) Ріше. Після закінчення звичайної національної та середньої школи Шарль вирішив, як і його батько, присвятити себе медицині. Він вступив до Паризького університету і в 1877 р. одержав медичний диплом. У тому самому році одружився з Амелією Оббрій. У них було дві доньки і два сини (один з них також став професором медицини в Паризькому університеті; пішов слідами Ріше і його онук).

У 1878 р. Ш. Ріше захистив докторську дисертацію, де вперше довів наявність соляної кислоти в секреті шлунку ссавців, птахів і безхребетних. Крім того, він визначив, що під час травлення в шлунку утворюється одна з форм молочної кислоти. Того самого року він став професором медичного факультету Паризького університету, де вивчав різні види м'язових скорочень. У 1883 р. Шарль Ріше досліджував механізми підтримки постійної температури внутрішнього середовища гомойотермних тварин.



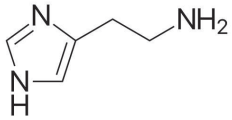
Шарль Ріше (1850—1935)

Наприкінці 80-х і впродовж 90-х років XIX ст. він вивчав властивості крові заражених тварин. Працюючи з Ж. Ерікуром, Ріше вирішив застосувати сироваткову терапію як лікувальний засіб. Упродовж десяти років вони намагалися розробити сироваткову терапію для лікування туберкульозу. Фактично Ріше створив сироваткову терапію ще за два роки до Еміля Берінга та почав лікувати нею туберкульоз. Якби він вибрав дифтерію — тріумф було б забезпечено. А так понад десять років — даремно...

У ті роки Ш. Ріше брав участь у різних дослідженнях, які не стосувалися фізіології, зокрема він намагався побудувати аероплан, а точніше — Gyroplane (за сучасною термінологією, це був гігантський пілотований квадроптер, перший у світі вертоліт). Після кількох невдалих польотів Ріше переключився на щось інше, а його помічники у цій справі, брати Бреге, заснували в 1911 р. компанію «Breguet Aviation», яка успішно проіснувала 60 років, проєктуючи і будуючи літаки й автомобілі. А що ж Ріше?

У 1901 р. він отримав можливість вдосконалити знання в галузі токсикології, беручи участь у науковій експедиції Середземним морем із принцом Монако — Альбером і досліджуючи отруйні щупальця фізалії — португальського кораблика. Після повернення до Франції він проводить порівняльні дослідження отрути морської анемони і відкриває явище анафілаксії — алергічну реакцію на сторонні протеїни. Явище було досить несподіваним, проте воно дало змогу пояснити, чому, наприклад, винайдена Берінгом сироватка діяла на деяких хворих на дифтерію як смертельна отрута. Підсумки цих робіт Шарль Ріше виклав у монографії «Анафілаксія» (1911): *«...за анафілаксії в крові з'являється речовина, яка сама по собі є нейтральною, але в разі змішування з антигеном виділяє сильну отруту»*. Ш. Ріше показав і те, що такі речовини є протеїнами, і навіть розробив методику діагностичних тестів на гіперчутливість. Пізніше знайдеться й невеличка молекула, яка відповідає за механізм анафілаксії — *гістамін*.

Два роки потому прийшла й найвища нагорода — Нобелівська премія з фізіології або медицини *«на знак визнання його робіт з анафілаксії»*, у боротьбі за яку в 1913 р. Шарль Ріше обійшов Чарльза Шеррінгтона й Августа фон Вассермана, які так ніколи й не одержали Нобелівської премії, а також Генріха Квінке, який описав один із симптомів анафілаксії. У нобелевській лекції Ш. Ріше зазначив, що якщо анафілаксія і є *«...нещасним випадком для окремого індивідуума, вона також є необхідною для виду в цілому, часто за рахунок окремих особин... оскільки анафілаксія захищає вид від кровозмішання»*. Тим самим підтримується індивідуальність кожного виду. Завдяки роботам Ш. Ріше лікарі не тільки зрозуміли цінність профілактики, а й дізналися про її зворотний бік.



Молекула гістаміну

Під час Першої світової війни Ріше вивчав ускладнення в поранених у разі переливання крові. Ш. Ріше був всебічно талановитою людиною з різносторонніми інтересами: він був фізіологом, бактеріологом, патологом, психологом, статистиком, інженером, поетом, драматургом і письменником [16]. Він займався вивченням психіки. В 1923 р. в перекладі на англійську вийшла його праця «Тридцять років дослідження психіки» («Thirty Years of Psychical Research»), в якій він описав свої експерименти в цій галузі. Як переконаний пацифіст Ш. Ріше написав декілька книг, в яких описано жахи війни, серед яких найвідоміша — «Мир і війна» (1906).

Ш. Ріше, безумовно, був ренесансною людиною, навіть на тлі інших нобеліантів. На нобелівському банкеті Шарль Ріше сказав дуже важливі слова, які свідчать про романтичність і ренесансність його душі*: «Ми — мізерно маленькі й немічні істоти, ми плаваємо в океані темряви. Всюди в цьому неосяжному Всесвіті, непізнаному і жорстокому, який нас оточує і нас роздавлює, невідомість і пітьма. Але раптом наука виявляє щось несподіване і відразу це бліде світло, яке загоряється, полегшує людські страждання. Майбутнє стає менш невизначеним, а теперішнє — менш болісним»* [17].

Шарль Ріше був членом Французької академії наук. У 1926 р. він став кавалером ордена Почесного легіону. Упродовж 17 років був одним із видавців журналу фізіології й загальної патології («Journal de Physiologie et Pathologie Generale») і протягом 24 років — видавцем наукових оглядів («Revue Scientifique»). Помер Шарль Ріше у Парижі 4 грудня 1935 р.

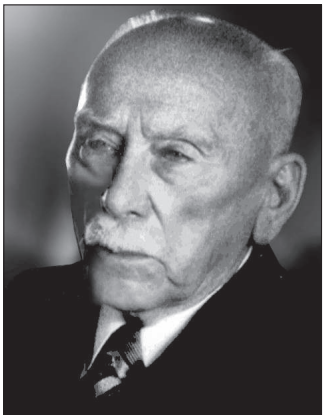
ЖЮЛЬ БОРДЕ

Наступну Нобелівську премію з фізіології або медицини *«за відкриття, пов'язані з імунітетом»* було присуджено в 1919 р. бельгійському бактеріологу й імунологу **Жюлю Борде** (франц. *Bordet*, повне — *Jules Jean-Baptiste Vincent Bordet*). Він народився в Сойгні (Бельгія) у сім'ї шкільного вчителя Шарля та Селестини Борде.

Коли Жюлю було шість років, сім'я переїхала до Брюсселя, де потім Жюль вступив до університету на медичний факультетет і закінчив 7-річний курс навчання за 6 років. В університеті він вивчав механізм захисту бактерій від їх поглинання іншими клітинами, тобто від фагоцитозу. Результати його роботи були опубліковані в 1892 р. Саме тоді він одержав науковий ступінь у галузі медицини. Опублікована праця Ж. Борде зацікавила Іллю Ілліча Мечникова і він запросив Жюля працювати в його лабораторії в Інституті Пастера в Парижі (1894) за стипендію, виділену урядом Бельгії.

Того самого року бактеріологи Р. Пфейффер і В.І. Ісаєв встановили, що *холерні вібріони* гинуть у випадку введення їх в організм тварин, які мають імунітет до холери. Цей феномен вони назвали бактеріолізис. Вони також виявили, що бактеріолізис спостерігається, якщо вводити бактерії разом із сироваткою тварин, в яких імунітет до холери, тваринам без такого імунітету. Проте бактеріолізис не спостерігали в пробіркових тестах. Пояснюючи одержані цими вченими результати, І.І. Мечников вважав, що для бактеріолізису необхідні фагоцити. Однак Ж. Борде мав інший погляд. На його думку: *«...у сироватці хворих тварин за умов, якщо вона свіжа, знаходяться дві речовини:*

бактерицидна та превентивна. В сироватці з довгим строком зберігання або після її нагрівання до 55 °С бактерицидної речовини немає». Він підтвердив це в 1896 р.



Жюль Борде (1870—1961)

Сучасна назва цієї бактерицидної речовини, яку раніше називали «алексин», — *комплемент* (термін введений наприкінці 1890 р. П. Ерліхом), а превентивної речовини, яку називали «сенсибілізатор», — *антитіло. Так було відкрито систему комплементу та її роль в імунній системі. Це відкриття Ж. Борде було піонерським дослідженням в імунології.*

Нині відомо, що у разі попадання в організм чужерідної речовини (антигену), яка може бути протеїном, токсином, бактерією, в ньому утворюються антитіла. Кожний антиген стимулює утворення специфічного антитіла. Внаслідок формування комплексу антигену й антитіла та взаємодії його з комплементом, протеїном плазми крові, антиген стає нетоксичним. *Система комплементу — це майже 20 протеїнів, які постійно присутні в крові і запускають систему імунітету, сприяють як знищенню інфекційних агентів, так і власних інфікованих клітин або безпосереднім лізисом, або стимуляцією інших механізмів, зокрема імунною відповіддю. Дія комплементу на клітини опосередкована спеціальними рецепторами.*

Працюючи в Інституті Пастера, Ж. Борде показав, що проблеми, які виникають під час переливання крові — *гемаглютинація* та *гемолізис* (на той час групи крові ще не були відкриті К. Ландштейнером — нобеліантом 1930 р.), зумовлені тим самим механізмом, що й бактеріолізис, а саме: активністю антигенів і специфічністю їх у різних людей. На його думку, різні організми мають багато протеїнів (антигенів), які можна ідентифікувати, використовуючи специфічні антисироватки. Ж. Борде першим зрозумів, що *реакцію специфічності комплексів антиген–антитіло, їх взаємодію з комплементом і наступну преципітацію можна використовувати для виявлення будь-якої речовини, до якої вироблені відповідні антитіла. На таких імунологічних реакціях ґрунтуються багато сучасних лабораторних методів, що використовуються як діагностичні тести на захворювання.*

У 1899 р. Жюль Борде одружився з Мартою Лівоз; в їхній сім'ї народилися дві доньки і один син. У 1901 р. Ж. Борде покинув Париж і переїхав до Брюсселя, де зайняв посаду директора щойно відкритого Інституту бактеріології та протирабічних досліджень (з боротьби зі сказом), який у 1903 р. було перейменовано на Пастерівський інститут. Цю посаду він обіймав до 1940 р. У 1907—1935 рр. Ж. Борде викладав бактеріологію та паразитологію в Брюссельському університеті.

На методах, які Ж. Борде розвивав і розробляв протягом наступного десятиліття, повернувшись до Брюсселя, ґрунтуються імунологічні дослідження з біології та медицини.

Зокрема, він довів, що комплемент зв'язується з антигеном за умови, якщо антиген знаходиться в комплексі з антитілом. Зв'язування комплементу спри-

чинює аглютинацію еритроцитів або бактерій, яку можна спостерігати візуально. Ж. Борде та його колега Октав Жангу (чоловік сестри) зрозуміли, що цю реакцію — *реакцію зв'язування комплементу — можна використовувати для діагностики*. Якщо антиген і антитіло відповідають одне одному, то комплекс антиген—антитіло зв'язує комплемент, а якщо не відповідають — комплемент залишається вільним.

У питанні про механізм реакції між антигеном і антитілом уявлення Ж. Борде відрізнялось від думки П. Ерліха. Так, П. Ерліх вважав, що ця реакція є чисто хімічним процесом, тому має відбуватися завжди за певних співвідношень. Але Ж. Борде зауважував, що вона подібна до абсорбції, за якої компоненти з'єднуються в різних співвідношеннях. Погляди Ж. Борде превалювали протягом кількох десятиліть. Проте пізніше було доведено, що *реакція між специфічним сайтом антигену* (деякі з них, як правило, розміщуються на цьому протеїні) *і будь-яким із двох сайтів зв'язування на молекулі антитіла є хімічною*.

Ж. Борде розробив також *метод специфічного зв'язування антиген—антитіло комплементу з утворенням осаду, відоміший як реакція Вассермана для діагностики сифілісу*. Метод було введено в практику О. Вассерманом, А. Нейссером і К. Брюком у 1906 р. Саме тоді Ж. Борде і О. Жангу використали *нові методи для ізолювання бактерій, які спричинюють кашлюк*.

У цьому важливому відкритті Ж. Борде допомогли його діти. В 1900 р. захворіла на кашлюк його донька. В мокроті він виявив грамнегативні бактерії, але не зміг їх культивувати в жодному середовищі. Тільки в 1906 р., коли захворів його син, Ж. Борде разом з О. Жангу створили особливе середовище (картопляногліцериновий кров'яний агар), на якому вдалося культивувати відкритого ним збудника кашлюка — бактерію *Bordetella pertussis*. Ці бактерії також називають бактеріями Борде—Жангу, а рід бактерій названо на честь його першовідкривача — *Bordetella*.

За результатами подальших досліджень бактерій кашлюка Ж. Борде першим повідомив (1910) про антигенну варіабельність бактерій (ще до відкриття антибіотиків). Цей феномен має важливе медичне значення, оскільки хвороботворні мікроорганізми, які здатні змінювати свою антигенну структуру, можуть бути резистентними до антитіл і вакцин.

Нобелівську премію Жюлю Борде було присуджено в 1919 р. «*за відкриття, пов'язані з імунітетом*», а вручено в 1920 р. На той час Ж. Борде читав лекції в США і на церемонії вручення премії не був присутнім; премію одержав посол Бельгії в Швеції. Під час презентації лауреата Альфред Петтерсон з Каролінського інституту зазначив: *«...відкриття Ж. Борде, який показав, що введення еритроцитів у організм тварин спричиняє утворення специфічних антитіл... мало велике значення, особливо після того, як було показано, що ця реакція, яка є характерною для організму тварини, ... є загальним біологічним феноменом»*. А. Петтерсон додав, що відкриття Ж. Борде *«...особливе для майбутнього, бо воно прокладає шлях подальшим дослідженням у галузі імунології»*.

Пізніше, досліджуючи *природну коагуляційну систему, Ж. Борде показав важливу роль іонів кальцію та тромбіну на перших етапах тромбоутворення в крові*.

Після Першої світової війни Ж. Борде зайнявся дослідженням взаємодії між бактеріями та бактеріофагами. *Результати експериментів зі спадкування бактеріальними клітинами лізогенії (здатність викликати руйнування клітин) дали змогу започаткувати дослідження в молекулярній* ***генетиці*** *в середині XX ст.*

Серед численних нагород Ж. Борде слід відзначити премію м. Парижа (1911), премію Хансена, медаль Пастера Шведського медичного товариства (1913). Він був членом багатьох академій і товариств: Бельгійської королівської академії, Лондонського (Британського) королівського товариства, Единбурзького королівського товариства, Французької медичної академії, Національної академії наук США, удостоєний почесних звань таких університетів, як Кембридж, Париж, Страсбург, Единбург тощо [18—20]. Його зображення є на бельгійській поштовій марці за 1971 р.

Ще раз підкреслимо, що *основні наукові роботи Ж. Борде присвячено імунології. Він встановив, що в основі імунних реакцій лежать фізико-хімічні процеси, показав механізми аглютинації, гемолізу, преципітації, дезінтоксикації, з'ясував роль комплементу в реакції імунітету.* Разом з О. Жангу розробив реакцію зв'язування комплементу і описав збудника кашлюку. *Він розробив вчення про анафілаксію (1921) і теорію бактеріофагії, а також запропонував теорію зсідання крові.* Наукове і практичне значення цих робіт важко переоцінити.

Помер Жюль Борде на 91-му році життя 6 квітня 1961 р. у Брюссельскому столичному регіоні (Бельгія).

КАРЛ ЛАНДШТЕЙНЕР

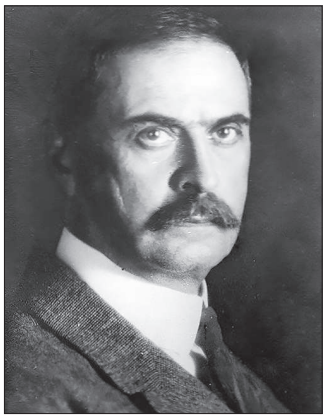
У 1930 р. Нобелівську премію з фізіології або медицини одержав австрійсько-американський бактеріолог та імунолог Карл Ландштейнер «*за відкриття груп крові людини*», що дало можливість розпочати нові напрями досліджень у багатьох наукових галузях, особливо в імунології, а також досягти значних успіхів у практичній медицині.

Ландштейнер Карл (нім. *Karl Landsteiner*) народився у Відні в сім'ї видавця газет і журналіста Леопольда та Фанні (Гесс) Ландштейнерів.

Коли Карлу було шість років, його батько помер, і хлопчика виховувала мати. Після закінчення гімназії в 1885 р. він вступив до медичної школи Віденського університету і в 1891 р. одержав медичний диплом. Тоді саме він захопився хімією, яку вивчав ще протягом п'яти років у Вюрцбурзі, Мюнхені й Цюріху. У 1896 р. К. Ландштейнер повернувся до Відня, де почав працювати на кафедрі гігієни Віденського університету і зацікавився імунологією.

На той час імунологія тільки ставала науковою дисципліною, дякуючи роботам його геніальних попередників, про яких йшлося вище. Так, у 1890 р. Е. Берінг виявив, що імунітет, який організм набуває проти захворювань після вакцинації або перенесеної хвороби, зумовлений тим, що в організмі людини починають утворюватися антитіла, які й взаємодіють із хвороботворними мікроорганізмами або їхніми токсинами і тим самим їх знешкоджують.

Через шість років Ж. Борде показав, що переливання крові одного виду тварин іншому призводить до аглютинації та руйнування еритроцитів. Він зрозумів, що такі ефекти спричинюють антитіла, які виробляються в тварини-реципієнта, і протеїни або антигени тварини-донора. У своїх перших дослідженнях



Карл Ла́ндштейнер
(1868—1943)

з вивчення дії антитіл (1896) К. Ландштейнер встановив, що лабораторні культури бактерій можуть бути аглютиновані у випадку додавання імунної сироватки. Оскільки він хотів повністю зосередитись на дослідженні імунітету, то в 1898 р. перейшов на кафедру патологічної анатомії Віденського університету. Там К. Ландштейнер розпочав працювати під керівництвом Антона Вейхсельбаума, який свого часу виявив збудників менінгіту і пневмонії. Як асистент А. Вейхсельбаума К. Ландштейнер провів 3639 розтинів, що дало йому змогу глибоко вивчити медицину і набути значного патологоанатомічного досвіду. На цій кафедрі К. Ландштейнер продовжив працювати в галузі фізіології та імунології.

У 1900 р. К. Ландштейнер опублікував статтю, в якій було розкрито суть одного з його найважливіших відкриттів: аглютинація, яка відбувається в разі змішування плазми однієї людини і еритроцитів крові іншої — це фізіологічне явище. В тому самому році він взяв кров у себе і п'яти своїх співробітників, відокремив сироватку від еритроцитів центрифугуванням і змішав окремі зразки еритроцитів із сироваткою крові різних співробітників і своєю. За наявністю або відсутністю аглютинації К. Ландштейнер у спільній праці з Л. Янським у 1901 р. *описав простий спосіб розділення крові людини на три групи: А, В і С (останню групу надалі почали позначати як* 0*). Пізніше з'явилась четверта група — АВ, яку відкрили його учні А. Штурлі та А. Декастелло.*

Для розділення крові на групи змішували еритроцити з проблемними сироватками — так званими сироватками анти-А і анти-В. К. Ландштейнер виявив, що еритроцити групи 0 не аглютинуються жодною з антисироваток; еритроцити групи АВ аглютинуються обома сироватками; еритроцити групи А — аглютинуються сироваткою анти-А, але не аглютинуються сироваткою анти-В; еритроцити групи В аглютинуються сироваткою анти-В, але не аглютинуються сироваткою анти-А. У сироватці групи крові 0 знаходяться групові антитіла анти-А і анти-В; у сироватці крові А знаходяться тільки антитіла анти-В; у сироватці крові В — лише антитіла анти-А, а в сироватці групи АВ групові антитіла відсутні. Таким чином, за формулою Ландштейнера у сироватці крові знаходяться тільки ті антитіла (ізоаглютиніни), які не аглютинують еритроцити цієї групи. *«В організмі людини антиген групи крові (аглютиноген) і антитіла до нього (аглютиніни) ніколи не існують разом (одночасно)»*.

І хоча метод визначення груп крові за Ландштейнером було впроваджено в практику лише через декілька років, він дав змогу без ускладнень переливати кров однієї людини іншій. А коли в 1914 р. Річард Льюїсон виявив антикоагуляційні властивості цитрату натрію, то з'явилась можливість зберігати до трьох тижнів донорську кров за умов її охолодження.

К. Ландштейнер зацікавився питанням, чи існує й інша різниця між кров'ю різних людей, і висловив припущення, що індивідуальні властивості крові виявляються в її антигенних особливостях. Він вважав, що за цими особливостя-

ми, як за відбитками пальців, можна відрізнити одну людину від іншої. Коли К. Ландштейнер обґрунтовував свою гіпотезу серологічної ідентифікації, він ще не знав, що групи крові спадкуються. Тільки в 1910 р. *Еміль фон Дунгерн* зі співробітниками припустили, що групи крові людини передаються спадково. В 1924 р. цю гіпотезу математично перевірив Б. Бернштейн. Після цього концепцію успадкування груп крові було визнано вченими. Серологічні генетичні методи широко використовувались багато років у криміналістиці та в експертизах із встановлення батьківства, поступившись місцем в останні роки методу аналізу ДНК. Вивчаючи фізіологічні механізми холодової аглютинації еритроцитів, К. Ландштейнер разом із Джуліусом Донатом розробили *спосіб діагностики пароксизмальної холодової гемоглобінурії, який назвали методом Доната—Ландштейнера.* На відміну від П. Ерліха, який вважав, що це явище викликане патологічними змінами ендотелію кровоносних судин, К. Ландштейнер довів, що гемоглобінурія зумовлена антигеном (гемолізином), який після впливу холоду взаємодіє з еритроцитами, а коли кров знову нагрівається, спричинює їхній гемоліз.

Працюючи головним патологоанатомом у Віденській королівській імперській клініці Вільгельміни в 1908—1919 рр., К. Ландштейнер зосередив увагу на вивченні поліомієліту. Оскільки він не зміг виділити зі спинного мозку дітей, які загинули від поліомієліту, бактерії, то припустив, що хворобу викликає невідомий вірус.

У 1923 р. К. Ландштейнер переїхав до Сполучених Штатів Америки на роботу в Рокфеллерівський інститут медичних досліджень (нині — Рокфеллерівський університет) і в 1929 р. отримав громадянство США.

Нобелівську премію з фізіології або медицини «*за відкриття груп крові у людини*» він одержав у 1930 р., майже через 30 років після опублікування результатів своїх досліджень. У 1940 р. К. Ландштейнер і його колеги О. Віннер та Ф. Левін описали ще один фактор крові людини — *так званий резус, або Rh-фактор. Як наслідок, було з'ясовано зв'язок між цим фактором і гемолітичною жовтяницею в новонароджених.* Виявилось, що якщо в матері резус-фактор відсутній (резус-фактор негативний), то резус-позитивний плід може зумовити утворення в матері антитіл проти резус-фактора плода. Саме ці антитіла спричинюють гемоліз еритроцитів плода, гемоглобін перетворюється на білірубін, що і стає причиною жовтяниці.

О. Віннер, К. Ландштейнер, Ф. Левін і Дж. Махоні в 1946 р. були удостоєні премії Альберта Ласкера (К. Ландштейнер посмертно) у галузі клінічних медичних досліджень за відкриття і дослідження Rh-фактора.

К. Ландштейнер помер 26 червня 1943 р. від серцевого нападу під час роботи в лабораторії.

Він мав велику кількість нагород і почесних звань, був членом багатьох національних та медичних академій, а також кавалером французького ордена Почесного легіону [21—24].

Карл Ландштейнер вважається засновником ***імунохімії*** *та* ***імуногенетики****.* Велике значення для розвитку імунології мало проведене ним дослідження комплексних антигенів, яке показало, що специфічність антигену визначається не всією його молекулою, а детермінантною групою — певним хімічним

радикалом. Іншими словами, своїми класичними роботами зі специфічності антигенних детермінант, штучних антигенів, зі структури та функції гаптенів К. Ландштейнер заснував імунохімію.

Але найголовнішим, на думку авторів, є те, що ця Людина врятувала життя мільйонів людей. Саме Карл Ландштейнер відкрив чотири групи крові і це виявилося грандіозним проривом у медицині. Відтоді стало зрозумілим, що пацієнтам не можна переливати кров будь-якої людини. Аби переливання було безпечним, потрібно використовувати тільки таку групу крові, як у хворого. В зв'язку з цим у травні 2005 р. на 58-й сесії Всесвітньої асамблеї охорони здоров'я в Женеві було прийнято рішення 14 червня (день народження Карла Ландштейнера) щорічно проводити Всесвітній день донора крові (Резолюція WHA58.13).

Зауважимо, що Нобелівську премію — найпрестижнішу наукову нагороду — не раз отримували вчені, які працювали в галузі імунології: у 1901 р. першу Нобелівську премію отримав Еміль Адольф фон Берінг *«за роботу із сироваткової терапії, головним чином за її використання для лікування дифтерії, що відкрило нові шляхи в медичній науці і дало в руки лікарів звитяжну зброю проти хвороби та смерті»*; у 1908 р. П. Ерліх та І. Мечников одержали Нобелівську премію з медицини або фізіології «*за створення клітинно-гуморальної теорії імунітету*»; у 1913 р. Ш. Ріше — «*на знак визнання його робіт з анафілаксії»;* у 1919 р. Ж. Борде — *«за відкриття, пов'язані з імунітетом (роль комплементу, механізми преципітації, аглютинації...»*; у 1930 р. К. Ландштейнер — *«за відкриття груп крові людини»*. І якщо нобелівські лауреати в галузі фізіології та медицини, про яких йшлося, зробили вагомий внесок у розвиток найскладнішої сучасної науки — імунології — на початку XX ст., то наступні покоління імунологів значно поглибили наші знання про молекулярні механізми функціонування імунної системи. *Ці роботи заклали засади сучасної молекулярної імунології — науки про організацію та роботу імунної системи, яка є ефективним бар'єром у розпізнаванні й відокремленні в живому організмі «чужого» від «свого».*

NOBEL LAUREATES OF THE EARLY 20th CENTURY E. BEHRING, I. MECHNIKOV, P. EHRLICH, C. RICHET, J. BORDET, K. LANDSTEINER AND THEIR CONTRIBUTION TO THE DEVELOPMENT OF MOLECULAR IMMUNOLOGY

V.M. Danilova, R.P. Vynogradova, S.V. Komisarenko

The discoveries of immunologists have often been recognized as the most significant in the field of medicine and physiology, since the immune system is extremely vital for the organism, and the study of the principles of its functioning is of fundamental importance to the prevention (vaccination), diagnosis and therapy of many diseases. This article refers to the scientists of the early twentieth century, who received the most prestigious scientific award — the Nobel Prize in Physiology or Medicine and who built the groundwork for the development of immunology as a science. Thus, in 1901, E. von Behring received the first Nobel Prize «for his work on serum therapy, especially its application against diphtheria, by which he has opened a new road in the domain of medical science and thereby placed in the hands of the physician a victorious weapon against illness and deaths»; in 1908, I. Mechnikov and P. Ehrlich received the Nobel Prize in Physiology or Medicine for the creating of the cellular and humoral theory of immunity; in 1913 C. Richet — «in recognition of his work on anaphylaxis»; in 1919 J. Bordet — «for his discoveries relating to immunity (the

role of complement, mechanisms of precipitation, agglutination...)»; in 1930 K. Landsteiner — «for his discovery of human blood groups». Their works spurred the development of modern molecular immunology — the science of the organization and function of the immune system, as an effective defense barrier in the living organism, which recognize and distinguish between «self» and «non-self».

Keywords: *the Nobel Prize, E. Behring, I. Mechnikov, P. Ehrlich, C. Richet, J. Bordet, K. Lansteiner, molecular immunology.*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Романюк С.І., Комісаренко С.В. *Вісник НАН України*. 2012. № 1. С. 49—54.

2. Комисаренко С.В. Сто лет иммунологии — науки будущего. *Український біохімічний журнал.* 1982. Т. 54, № 5. С. 483—496.

3. Данилова В.М., Виноградова Р.П., Комісаренко С.В. Альфред Бернард Нобель і Нобелівська премія. *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90, N 4. P. 121—134.

4. Роберт Кох коротка біографія. Режим доступу: dovidka.biz.ua/ robert-koh-biografiya/

5. Берінг (Behring) Эміль фон. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: А—Л; пер. с англ. М.: Прогресс, 1992. С. 115—117.

6. Беринг Эмиль. Биологи: Биографический справочник. Киев: Наукова думка, 1984. С. 62.

7. Беринг Эмиль Адольф фон. Режим доступу: http://ru.wikipedia. org/wiki/

8. Эмиль Адольф фон Беринг. Режим доступу: http://www. lgroutes.com./ Famous/ Doctor/ Behring. Html.

9. Эмиль Адольф фон Беринг. Режим доступу: http://www.sintes. by/ node/9.

10. Ezepchuk Yu., Kolybo D.V. Nobel laureate Ilya I.Metchnikoff (1845-1916). Lafe story and scientific heritage. *Ukr. Biochem. J.* 2016. Vol. 88, N 6. P. 98—109.

11. Мечников Илья. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: М—Я; пер. с англ. М.: Прогресс, 1992. С. 73—76.

12. Мечников Илья Ильич. Биологи: Биографический справочник. Киев: Наукова думка, 1984. С. 415—416.

13. Эрлих (Ehrlich) Пауль. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: М—Я; пер. с англ. М.: Прогресс, 1992. С. 831—833.

14. Эрлих. Режим доступу: http://www.historymed.Ru/ encyclopedia/ doctors/index.php.

15. Эрлих Пауль. Биологи: Биографический справочник. Киев: Наукова думка, 1984. С. 729—730.

16. Рише Шарль-Роберт — История медицины. Режим доступу: www.historymed.ru/ encyclopedia/doctors/index. php?ELEMENT_ID=4980.

17. Ренессансный человек в медицине: Шарль Рише. Режим доступу: https://biomolecula. ru/articles/ renessansnyi-chelovek-v-meditsine-sharl-roberrishe.

18. Борде (Bordet) Жюль. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: А—Л; пер. с англ. М.: Прогресс, 1992. С. 157—160.

19. Нобелевские лауреаты: Жюль Борде. Режим доступу: http// med-history. livejournal. com./120266.html.

20. Борде Жюль. Биологи: Биографический справочник. Киев: Наукова думка, 1984. С. 85—86.

21. Ландштейнер (Landsteiner) Карл. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: А—Л; пер. с англ. М.: Прогресс, 1992. С. 654—657.

22. Ландштейнер Карл. Биологи: Биографический справочник: Киев: Наукова думка, 1984. С. 357—358.

23. Карл Ландштейнер. Режим доступу: https://ru.Wikipedia.org/ wiki/

24. Карл Ландштейнер. Режим доступу: https//uk.Wikipedia.org/ wiki/

NOBEL PRIZE WINNER ERWIN SCHRÖDINGER: THE PHYSICIST, PHILOSOPHER, AND GODFATHER OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS
The Nobel prize in physics, 1933

T.V. Danylova, S.V. Komisarenko

The brilliant book «What is Life? The Physical Aspect of the Living Cell» authored by the prominent Nobel Prize-winning Austrian physicist Erwin Schrödinger became a successful attempt to bridge the gap between physics and biology. The philosophical thought of one of the founders of quantum mechanics inspired him to look closer at the enigma of life through the lens of quantum physics. A prominent physicist was focused on the thermodynamics of the living organisms and the nature of heredity. Schrödinger introduced the concept and notion of «negative entropy», suggested the idea of a genetic code and argued that the genetic material had to have a non-repetitive molecular structure. He considered a molecule as a solid — aperiodic crystal that forms the hereditary substance. Despite the fact that his book provoked different interpretations and his ideas were modified by later scientific development, it was Schrödinger who paved the way for the future research of genes: his book inspired the next generation of scientists to look for a secret life code, which was eventually found. His outstanding writing is still one of the most profound introductions into the subject and raises new questions. Schrödinger's genius reshapes our view on the nature and essence of life creating a launching pad for the new transdisciplinary paradigm, which can contribute to the development of a unified theory of everything in the spirit of Schrödinger's philosophy.

Keywords: *Erwin Schrödinger, Schrödinger equation, Schrödinger's cat paradox, quantum theory, negative entropy, code-script, aperiodic crystal, Vedanta.*

Nowadays, the scientific community is increasingly aware of the need to have a comprehensive approach to the development of a new scientific paradigm of life. An exploration of living matter is actually at the mercy of life sciences, however, living organisms as a special form of matter could be understood deeper within the frame of a multidisciplinary approach to these objects [2—4]. This idea is not new. At all times, representatives of various scientific disciplines have tried to comprehend and interpret the phenomenon of life. They would like to exclaim as Flaubert's St. Anthony: «O joy! O bliss! I have beheld the birth of life! I have seen the beginning of motion» [5]. For example, the ancient Greek philosopher Aristotle in the 4th century BCE put forward the assumption that all living organisms are likely to have innate purposes and they are drawn towards them.

In the 17th century, the teleological concept gave way to the mechanistic explanation of both the world as a whole and living organisms in this world. In Newton's universe, all its parts are subject to the universal laws without any innate predisposition or goal. The world is a kind of a cloak mechanism. This mechanistic explanation of living creatures found its completion in La Mettrie's «Man a Machine» [6]. And

for many decades, scientists had lacked reliable knowledge on the transformation of inanimate matter into living matter.

One of the attempts to bridge the gap between natural sciences and life sciences resulted in 1944 in the publication of the book «What is Life? The Physical Aspect of the Living Cell» authored by the prominent Nobel Prize-winning Austrian physicist Erwin Schrödinger (1887—1961).

Erwin Schrödinger (1887—1961) [1]

Erwin Rudolf Josef Alexander Schrödinger was born on August 12, 1887, in Vienna, Austria. He was the only child of Rudolf Schrödinger, botanist and cerecloth producer, and Georgine «Georgie» Emilia Brenda Schrödinger (neé Bauer) — daughter of Alexander Bauer, Rudolf's professor of chemistry in the Technical College of Vienna [7, 8].

Erwin's father was a Catholic, and his mother was a Lutheran. Despite the fact he grew up as a Lutheran, Erwin considered himself to be an atheist while showing a great interest in Eastern religions and pantheism: «I was born into an environment, I do not know where I came or whither I go or who I am... We try to discover what we can about the spatial and temporal context in which we were born, we were located. And in this effort, we find joy, we find it extremely interesting (even if not the purpose for which we are here?)» [10].

Until 11 years old, Erwin had a private education at home. In 1898, he entered Vienna's Akademisches Gymnasium, where he was a gifted student. His interests lay in physics, math, languages, and poetry [7]. He wrote later: «I was a good student in all subjects, loved mathematics and physics, but also the strict logic of the ancient grammars, hated only memorizing incidental dates and facts. Of the German poets, I loved especially the dramatists, but hated the pedantic dissection of their works» [11,12].

In 1906—1910, Erwin Schrödinger studied at the University of Vienna under F.S. Exner and F. Hasenöhrl, Boltzmann's successor, whose lectures on theoretical physics had a great impact on Schrödinger. A future Nobel Prize winner deeply studied analytical mechanics, application of partial differential equations to dynamics, eigenvalue problems, Maxwell's equations, electromagnetic theory, optics, thermodynamics, statistical mechanics, calculus, algebra, function theory, mathematical statistics, differential equations, algebraic curves, continuous groups, projective geometry. He also conducted experimental work with K.W.F. Kohlrausch [8]. Schrödinger acquired a mastery of eigenvalue problems in the physics of continuous media, which became the foundation for his future work. In 1910, Schrödinger received his doctorate in theoretical physics at the University of Vienna. His dissertation was titled «On the conduction of electricity on the surface of insulators in moist air» [13].

Since his young age, Erwin was influenced by A. Schopenhauer and his seminal work «The World as Will and Representation» [14] and became interested in philosophy and color theory.

Georgine and Rudolf Schrödinger [9]

Enthusiasm for Schopenhauer's philosophy was reflected in Schrödinger's lecture delivered at Trinity College in 1956: «When an archaeologist reconstructs a city or a culture long bygone, he is interested in human life in the past, in actions, sensations, thoughts, feelings, in joy and sorrow of humans, displayed there and then. But a world existing for many millions of years without any mind being aware of it, contemplating it, is it anything at all? Has it existed? For do not let us forget: to say, as we did, that the becoming of the world is reflected in a conscious mind is but a cliche, a phrase, a metaphor that has become familiar to us. The world is given but once. Nothing is reflected. The original and the mirror-image are identical. The world extended in space and time is but our representation (Vorstellung). Experience does not give us the slightest clue of its being anything besides that — as Berkeley was well aware» [15, p. 135, 136]. In 1911, Schrödinger became an assistant to Exner and conducted practical work for students.

During World War I, Ervin Schrödinger was drafted into military forces, where he served as an artillery officer [16]. After World War I in 1920, he married Annemarie Bertel.

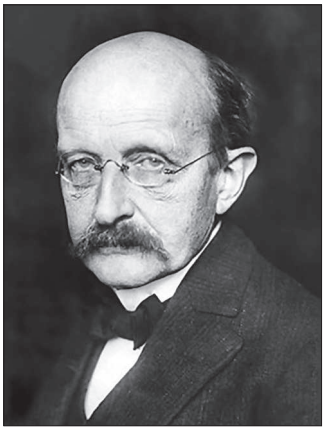
The same year he became an assistant to M. Wein at the Jena University, then obtained the position of extraordinary professor in Stuttgart, an ordinary professor in Breslau, and then he settled for six years at the University of Zurich. The intellectual atmosphere in Zürich inspired Schrödinger and he became engaged in a variety of subjects in theoretical physics. Here he dealt with specific heats of solids, problems of thermodynamics, atomic spectra, and physiological studies of colors [16].

Erwin Schrцdinger explored the atomic structure and later — quantum statistics. The idea on the wave nature of electrons developed by the prominent French physicist L. de Broglie had a great impact on Schrödinger, and this became a turning point in the direction of his research. Very soon Schrödinger made his most important contribution to physics — wave equation that is now known as the Schrödinger equation. Schrödinger's theory described the behavior of the particles of matter that have a dual nature and in some situations act like waves. Schrödinger equation is a linear partial differential equation that predicts the future behavior of a dynamic system. As a wave equation in terms of the wave function, it «predicts analytically and precisely the probability of events or outcome» [17].

M. Planck described Schrödinger's contribution into physics as «epoch-making work», while A. Einstein said that «the idea of ... work springs from true genius» [11].

Schrödinger equation became the fundamental equation of quantum mechanics and contributed to the formation of the basis for Schrцdinger's scientific research that resulted in his Nobel Prize in Physics. In 1933, the Nobel Prize in Physics was awarded jointly to Erwin Schrödinger and Paul Dirac «for the discovery of new productive forms of atomic theory» [20].

On December 10, 1933, Professor H. Pleijel, Chairman of the Nobel Committee for Physics of the Royal Swedish Academy of Sciences during the Presentation Speech stated: «Professor Schrödinger. Through a study of the wave properties of matter you have succeeded in establishing a new system of mechanics which also holds good for motion within the atoms and molecules. With the aid of this so-called wave mechanics you have found the solution to a number of problems in atomic physics. Your theory provides a simple and convenient method for the study of the properties of atoms and molecules under various external conditions and it has become a great aid to the development of physics» [21].



Max Planck (1858—1947) [18]

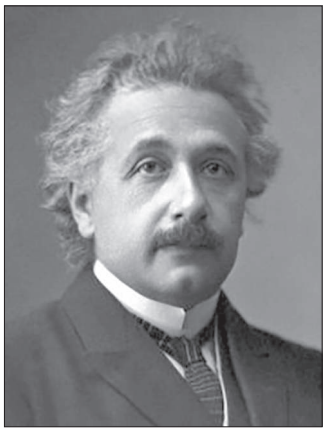
In 1927, Schrödinger left his position in Zurich and joined the Friedrich Wilhelm University in Berlin, where he became a colleague of A. Einstein. He was elected to the Berlin Academy of Sciences at the age of forty-two being the youngest member of it. Here he remained till 1933 when he decided he could not live in a country where Nazi's anti-Semitism became the rule of the political game. He moved to the United Kingdom becoming a Fellow of Magdalen College at the University of Oxford.

After an intense exchange of letters with Einstein in 1935, Schrцdinger devised his famous thought experiment known as Schrödinger's cat: «A cat is in a box with a source of poison gas that would be triggered (or not) by the decay of one electron in one direction or another. Because of the uncertainty of the electron's behavior, there exists a moment in time when the observer is unsure whether the cat is alive or dead, and in some sense, it's both!» [7].

Schrödinger aimed to illustrate the problem of applying quantum theory to our daily life. «Schrödinger's cat» paradox gave rise to many physical, philosophical, and pseudo-scientific interpretations that in fact had little to do with Schrödinger's primary ideas to show the absurdity of the Copenhagen interpretation of quantum mechanics. Fortunately, no cat was harmed during a thought experiment.

In 1937, Schrödinger received the Max Planck Medal. He had traveled and worked in Austria, Belgium, the Pontifical Academy of Science in Rome until he got an invitation from Irish Prime Minister E. de Valera to work at the Institute for Advanced Studies in Dublin, Ireland, heading its School for Theoretical Physics. He became Director of the School for Theoretical Physics in 1940 and remained in Dublin until the mid-1950s. In 1949, Schrödinger was elected a Foreign Member of the Royal Society. In 1956, Schrödinger returned to Vienna, where he continued his career as professor emeritus at his Alma Mater [23]. The brilliant physicist Erwin Schrödinger died of tuberculosis on January 4, 1961, in his hometown of Vienna.

Erwin Schrödinger was unconventional both in his private life and in his search for knowledge and truth. He was distinguished by his extraordinary intellectual versatility. Trying to unite gravity, electromagnetism, and nuclear forces within the framework of General Relativity, Schrödinger worked on a Unified Field Theory, but being criticized by Einstein he gave up his work.



Albert Einstein
(1879—1955) [19]

Schrödinger was deeply involved in philosophy and metaphysics. He summarized his study of the ancient Greek philosophy and science in his book «Nature and the Greeks» (1954).

His life-long interest in the Vedanta philosophy reflected in his book «My View of the World», where he developed an idea on the possibility of an individual consciousness to be just a manifestation of a unitary consciousness.

Schrödinger put it in the following way: «Looking and thinking in that manner you may suddenly come to see, in a flash, the profound rightness of the basic conviction in Vedanta: it is not possible that this unity of knowledge, feeling and choice which you call your own should have sprung into being from nothingness at a given moment not so long ago; rather this knowledge, feeling and choice are essentially eternal and unchangeable and numerically one in all men, nay in all sensitive beings. But not in this sense — that you are a part, a piece, of an eternal, infinite being, an aspect or modification of it, as in Spinoza's pantheism. For we should then have the same baffling question: which part, which aspect are you? What, objectively, differentiates it from the others? No, but, inconceivable as it seems to ordinary reason, you — and all other conscious beings as such — are all in all. Hence this life of yours which you are living is not merely a piece of the entire existence, but is in a certain sense the whole; only this whole is not so constituted that it can be surveyed in one single glance. This, as we know, is what the Brahmins express in that sacred, mystic formula which is yet really so simple and so clear: Tat tvam asi, this is you. Or, again, in such words as "I am in the east and in the west, I am below and above, I am this whole world"» [25, p. 24].

Schrödinger's philosophical thought inspired him to look closer at the enigma of life through the lens of quantum physics, and eventually he «invaded» the territory of life sciences that resulted in his book «What is Life? The Physical Aspect of the Living Cell» [26].

This famous book was based on Schrödinger's lectures conducted in Dublin in 1943. Physical concepts were transferred into biology that led to its progress. A prominent physicist was focused on the thermodynamics of the living organisms and the nature of heredity.

Schrödinger introduced the concept and notion of «negative entropy», which he explained as entropy, taken with the negative sign. As far as living organisms delay the decay into thermodynamical equilibrium, or maximum entropy, i.e., death, they continually draw «from its environment negative entropy — which is something very positive... What an organism feeds upon is negative entropy. Or, to put it less paradoxically, the essential thing in metabolism is that the organism succeeds in freeing itself from all the entropy it cannot help producing while alive» [26, p. 71].

Explaining the processes that take place within a living organism in the space-time continuum, Schrödinger emphasized that functioning of an organism requires exact physical laws, the precision of which is based on a large number of interacting

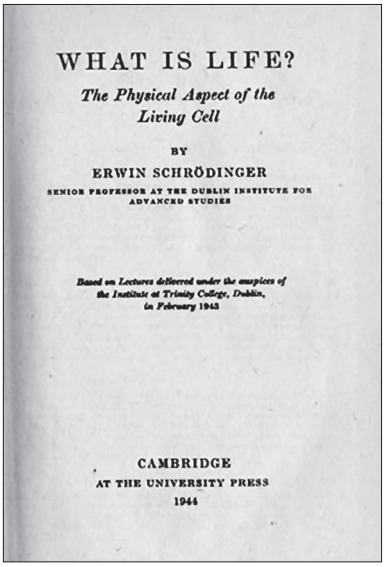
atoms. To be stable and capable of developing the orderly thought, an organism and all the processes within it must have «an extremely "many-atomic" structure and must be safeguarded against haphazard, "single-atomic" events attaining too great importance» [26, p. 19].

To a large extent, Schrödinger based his material on «Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur» by N.W. Timoféeff-Ressovsky, K.G. Zimmer and M. Delbrück [28], who concluded that genes had an unknown chemical structure and a special locus on the chromosome, and they calculated about the size of a gene [29].

Looking at the phenomenon of life from the standpoint of physics, Schrödinger focused on immature at that time field of genetics. At that moment, most biologists considered that genes were likely to be proteins. Though Schrödinger mentioned that proteins were long-chain polymers, he was not aware of the paper of O. Avery, C. Macleod and M. McCarty [30] published in 1944 while his book was in press. This paper described the experiment that isolated DNA as the material of which genes and chromosomes are made.

Schrödinger put forward the idea that it should be a complex molecule, which keeps all the genetic information in a kind of code that determines the development and functioning of a living organism [31]. He presented a determinist vision of the role of genes. Describing the four-dimensional pattern (the structure and functioning of the organism as well as its ontogenetic development from the fertilized egg cell to the stage of maturity), Schrödinger stressed that it was well known at that time that this whole pattern is determined by the structure of one cell — the fertilized egg, moreover, its nucleus, which in the resting state is seen as a network of chromatin. During mitosis and meiosis, it is seen to consist of a set of fiber-shaped or rod-liked particles named chromosomes that exist in two sets, which despite the difference in shape and size are alike. One set comes from the mother, the other — from the father.

Schrödinger suggested that chromosomes contained the entire pattern of any individual's development in a kind of code-script, and every set of chromosomes contained the full code. «In calling the structure of the chromosome fibres a code-script we mean that the all-penetrating mind, once conceived by Laplace, to which every causal connection lay immediately open, could tell from their structure whether the egg would develop, under suitable conditions, into a black cock or into a speckled hen, into a fly or a maize plant, a rhododendron, a beetle, a mouse or a woman... But the term code-script is, of course, too narrow. The chromosome structures are at the same time instrumental in bringing about the development they foreshadow. They are law-code and executive power — or, to use another simile, they are architect's plan and builder's craft — in one» [26, p. 21, 22].


WHAT IS LIFE?

The Physical Aspect of the Living Cell

BY

ERWIN SCHRÖDINGER

SENIOR PROFESSOR AT THE DUBLIN INSTITUTE FOR ADVANCED STUDIES

Based on Lectures delivered under the auspices of the Institute at Trinity College, Dublin, in February 1943

CAMBRIDGE

AT THE UNIVERSITY PRESS

1944

The book «What is Life? The Physical Aspect of the Living Cell» [26]

It was Schrödinger who suggested the idea of a genetic code and argued that the genetic material had to have a non-repetitive molecular structure. Considering a molecule as a solid — a crystal, Schrödinger claimed: «We believe a gene — or perhaps the whole chromosome fibre — to be an aperiodic solid» [26, p. 61]. This aperiodic crystal forms the hereditary substance.

In the epilogue, Schrödinger philosophically interpreted his physical explanation of the biological problems. He developed the idea that the bodily space-time events together with the mind activity were statistically determined and quantum indeterminacy played no biologically relevant role, except perhaps by enhancing the purely accidental character in such events as meiosis, natural and X-ray-induced mutation, etc. Analyzing the concept of Ego/I, Schrödinger considered plurality of consciousness to be a manifestation of the different facets of One Consciousness, Universal Oneness.

Schrödinger's book «What is Life? The Physical Aspect of the Living Cell» with its metaphors that provoked different interpretations was met with both criticism and admiration [32, 33]. While a British geneticist, biometrician, psychologist J.B.S. Haldane reviewed Schrödinger's book favorably emphasizing that every geneticist would be interested in Schrödinger's approach, an American geneticist H.J. Muller harshly criticized Schrödinger's limited knowledge in genetics and especially his philosophical epilogue and an American biologist G.S. Stent pointed out that Schrödinger did not conduct experiments in genetics discussing it and made no attempts to include chemistry in his discussion [34].

However, «What is Life?» contained something more important than just the attempt to bridge the gap between physics and biology. Erwin Schrödinger paved the way for the future research of genes: his book inspired the next generation of scientists to look for a secret life code, which was eventually found. The key figures in the reign of the 20th-century science — an American molecular biologist, geneticist and zoologist J.D. Watson, a British molecular biologist, biophysicist and neuroscientist F.H.C. Crick, a British physicist and molecular biologist M.H.F. Wilkins — were greatly influenced by Schrödinger's book. F. Crick left physics and developed an interest in biology after reading «What Is Life?». F. Watson wrote: «This book very elegantly propounded the belief that genes were the key components of living cells and that, to understand what life is, we must know how genes act» [35, p. 13]. Schrödinger's book inspired scientists to research the gene that led to the discovery of the DNA double helix structure.

In 1962, Francis Crick, James Watson and Maurice Wilkins were awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine for «their discoveries concerning the molecular structure of nucleic acids and its significance for information transfer in living material» [37].

Schrödinger's «code-script» insight eventually found its development in the field of cybernetics. M. Cobb put it as follows: «The first person to argue that a gene contains information was the co-founder of cybernetics, John von Neumann. In 1948, von Neumann described a gene as a "tape" that could program the organism... A few years later in 1950, geneticist Hans Kalmus deliberately applied cybernetic thinking to the problem of heredity and suggested that a gene was a "message"... Ten years after Schrödinger's brilliant insight, Watson and Crick's second 1953 article on the struc-

ture of DNA provided the world with the key to the secret of life, casually employing the new concepts that had been created by cybernetics and propelling biology into the modern age with the words: "it therefore seems likely that the precise sequence of the bases is the code which carries the genetical information"» [40].

Although much of what Erwin Schrödinger wrote in his book in 1944 has been modified by later development of science, his outstanding writing is still one of the most profound introductions into the subject and raises new questions. Schrödinger's deep interest in consciousness, mind, «orderly thought» and his original physical-philosophical worldview has influenced the development of transpersonal psychology and is becoming a source of inspiration for the neuroscience of the future. Schrödinger's genius reshapes our view on the nature and essence of life creating a launching pad for the new transdisciplinary paradigm [41, 42], which can contribute to the development of a unified theory of everything in the spirit of Schrödinger's philosophy.

ЛАУРЕАТ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ ЕРВІН ШРЕДІНГЕР: ФІЗИК, ФІЛОСОФ І ХРЕЩЕНИЙ БАТЬКО МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИКИ

Нобелівська премія з фізики, 1933

Т.В. Данилова, С.В. Комісаренко

Блискуча книга «Що таке життя? Фізичний аспект живої клітини» відомого австрійського фізика — лауреата Нобелівської премії Ервіна Шредінгера стала вдалою спробою усунути розрив між фізикою та біологією. Філософська думка одного із засновників квантової механіки надихнула його розглянути загадку життя крізь призму квантової фізики. Видатний фізик зосередився на термодинаміці живих організмів і природі спадковості. Шредінгер ввів поняття негативної ентропії, запропонував ідею генетичного коду і стверджував, що генетичний матеріал повинен мати неповторну молекулярну структуру. Він розглядав молекулу як тверде тіло — аперіодичний кристал, який утворює спадкову речовину. Незважаючи на те, що праця зазнала різних інтерпретацій, а ідеї, викладені в ній, були відкориговані пізнішими науковими розробками, саме Шредінгер проклав шлях для майбутніх дослідників генів: його книга надихнула наступне покоління вчених шукати секретний код життя, який врешті-решт було знайдено. Його видатний твір і досі є одним із найглибших вступів до предмета та викликає нові питання. Геній Шредінгера змінює погляд людства на природу та сутність життя, створюючи стартовий майданчик для нової трансдисциплінарної парадигми, яка може сприяти розробці єдиної теорії всього в дусі філософії Шредінгера.

Ключові слова: *Ервін Шредінгер, рівняння Шредінгера, парадокс кота Шредінгера, квантова теорія, негативна ентропія, шифрувальний код, аперіодичний кристал, Веданта.*

REFERENCES

1. Ball P. Schrödinger's cat among biology's pigeons: 75 years of What is Life? *Nature*. 2018. Vol. 560. P. 548—550. doi: 10.1038/d41586-018-06034-8.

2. Vynogradova R.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. The Nobel laureates contribution to the study of carbohydarte metabolism and its regulation. A. Harden, h. Euler-Chelpin, C.F. Cori, G.T. Cori, E. Sutherland, L.F. Leloir, H. Krebs, F. Lipmann, P. Mitchell. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 1. P. 135—163. doi: https://doi.org/10.15407/ubj92.01.136.

3. Linus Pauling. X-ray crystallography and the nature of the chemical bond. Oregon State University's Special Collection, April 1991. scar.library.oregon state edu/coll/pauling/bond/notes/1991/ a.3.3.html.

4. Danylova T., Komisarenko S. Born in Ukraine: Nobel Prize Winners Ilya Mechnikov, Selman Waksman, Roald Hoffmann and Georges Charpak. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 3. P. 127—137. doi: https://doi.org/10.15407/ubj91.03.127.

5. Flaubert G. The Temptation of St. Anthony. 2016. Regime of access: http://www.gutenberg.org/files/52225/52225-h/52225-h.htm.

6. La Mettrie J.O. Man a Machine. CreateSpace Independent Publishing Platform, 2018. 278 p.

7. Ervin Schrödinger. Famous Scientists. The Art of Genius. Regime of access: https://www.famousscientists.org/erwin-schrodinger/

8. Ervin Schrödinger. People. Pill. Regime of access: https://peoplepill.com/people/erwin-schroedinger/

9. Georgine Emilia Brenda Bauer. Regime of access: https://www.zbp.univie.ac.at/schrodinger/krafack/pers_georgie_brenda_bauer.asp.

10. Ervin Schrödinger. Astronoo. Regime of access: http://www.astronoo.com/en/biographies/erwin-schrodinger.html.

11. Erwin Rudolf Josef Alexander Schrödinger. School of Mathematics and Statistics. University of St Andrews, Scotland. Regime of access: http://mathshistory.st-andrews.ac.uk/Biographies/Schrodinger.html.

12. Erwin Schrödinger. 1887—1961. Regime of access: https://www.zbp.univie.ac.at/schrodinger/euebersicht.htm.

13. Moore W. Schrödinger. Life and Thought. Cambridge University Press, 2015. 515 p.

14. Schopenhauer A. The World as Will and Representation. Vol. 1. Cambridge University Press, 2010. 696 p.

15. Schrödinger E. Mind and Matter. In: What is Life. The Physical Aspect of the Living Cell. Cambridge University Press, 1967. P. 91—164.

16. Ervin Schrödinger. Biographical. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1933/schrodinger/biographical/

17. Schrödinger equation. Regime of access: hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/quantum/schr.html.

18. Max Planck. Wikipedia. Regime of access: https://en.wikipedia.org/wiki/Max_Planck.

19. Albert Einstein — Biographical. Regime of access: NobelPrize.org. Nobel Media AB 2020. Sun. 23 Feb. 2020. <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1921/einstein/biographical/>.

20. The Nobel Prize in Physics 1933. Regime of access: NobelPrize.org. Nobel Media AB 2020. Fri. 21 Feb. 2020. https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1933/summary/

21. Award ceremony speech. Regime of access: NobelPrize.org. Nobel Media AB 2020. Fri. 21 Feb. 2020. https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1933/ceremony-speech/

22. Schrödinger's Cat Explained: The Most Simple Explanation Ever! Regime of access: https://astronimate.com/article/schrodingers-cat-explained/

23. Ervin Schrödinger. Biography. Regime of access: https://www.biography.com/scientist/erwin-schrdinger.

24. Schrödinger E. Nature and the Greeks. Canto: Cambridge University Press, 1954. 97 p.

25. Schrödinger E. My View of the World. Cambridge University Press, 2008. 81 p. Regime of access: https://www.docdroid.net/auOOaC6/erwin-schrodinger-my-view-of-the-world-2008-cambridge-university-press.pdf#page=24.

26. Schrödinger E. What is Life? The Physical Aspect of the Living Cell. Cambridge University Press, 1967. 184 + viii p.

27. Schrödinger, Erwin (1887—1961). Regime of access: https://hagstromerlibrary.ki.se/books/16176.

28. Timoféeff-Ressovsky N.W., Zimmer K.G., Delbrück M. Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. In: Nachrichten von der Gesellschaft der Wissenschaften zu Gцttingen. Berlin: Wiedmannsche Buchhandlung. 1935. Vol. 1, N 13. P. 189—245.

29. Ganten D. What is Life? On Erwin Schrödinger, His Cat, and the Journal of Molecular Medicine. *Journal of Molecular Medicine*. 2007. Vol. 85. P. 1291—1292. https://doi.org/10.1007/s00109-007-0288-9.

30. Avery O.T., Macleod C.M., McCarty M. Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types. Induction of Transformation by a Deoxyribonucleic Acid Fraction Isolated from Pneumococcus Type III. *Journal of Experimental Medicine*. 1944. Vol. 79, N 2. P. 137—158.

31. Doménech F. Schrödinger, a Quantum behind the Secret of Life. Ventana al Comocimiento, Open Mind, 2016. Regime of access: https://www.bbvaopenmind.com/en/science/leading-figures/schrodinger-a-quantum-behind-the-secret-of-life/

32. Margo C.E., Harman L.E. The Remarkable Life Of Erwin Schrödinger's What is Life? *The Pharos of Alpha Omega Alpha-Honor Medical Society. Alpha Omega Alpha*. 2015. Vol. 78, N 4. P. 19—23.

33. Moberg C. Schrödinger's What is Life? — The 75th Anniversary of a Book that Inspired Biology. *Angewandte Chemie. International Edition*. 2020. Vol. 59, N 7. P. 2550—2553.

34. Dronamraju K.R. Erwin Schrödinger and the Origins of Molecular Biology. *Genetics*. 1999. Vol. 153, N 3. P. 1071—1076.

35. Watson J. The Double Helix: A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA. Touchstone, 2001. 256 p.

36. Double Helix. National Human Genome Research Institute. Regime of access: https://www.genome.gov/genetics-glossary/Double-Helix.

37. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962. Regime of access: NobelPrize.org. Nobel Media AB 2020. Sat. 22 Feb 2020. https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1962/summary/

38. James Watson. Wikipedia. Regime of access: https://en.wikipedia.org/wiki/James_Watson.

39. Francis Crick. Biography. Regime of access: https://www.biography.com/scientist/francis-crick.

40. Cobb M. What is life? The physicist who sparked a revolution in biology. The Guardian. 2013. Regime of access: https://www.theguardian.com/science/blog/2013/feb/07/wonders-life-physicist-revolution-biology.

41. Danylova T. Eastern Spiritual Traditions through the Lens of Modern Scientific Worldview. *Anthropological Measurements of Philosophical Research*. 2014. Vol. 5. P. 95—102.

42. Danylova T.V. Eastern Mysticism and Timothy Leary: Human Beyond The Conventional Reality. *Anthropological Measurements of Philosophical Research*. 2017. Vol. 11. P. 135—142. doi 10.15802/ampr.v0i11.105498.

ISSN 2409-1943 Ukr. Biochem. J. 2020, Vol. 92, N 3. P. 14—23.

РОЗВИТОК ДИНАМІЧНОЇ БІОХІМІЇ ТА БІОЕНЕРГЕТИКИ В ПЕРШІЙ ПОЛОВИНІ XX ст. ВНЕСОК ЛАУРЕАТІВ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ Е. БУХНЕРА, А. КОССЕЛЯ, Р. ВІЛЬШТЕТТЕРА, О. МЕЙЄРГОФА, А. ХІЛЛА, О. ВАРБУРГА, А. СЕНТ-ДЬЙОРДІ

В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.В. Комісаренко

Завдяки геніальним відкриттям нобелівських лауреатів першої половини XX ст. — Е. Бухнера, А. Косселя, Р. Вільштеттера, О. Мейєргофа, А. Хілла, О. Варбурга, А. Сент-Дьйорді сьогодні людство має уявлення про механізм перетворення й окиснення органічних речовин у живих організмах. Тут наведено аналіз творчої діяльності цих геніїв експерименту та людської думки, які через розшифрування основних шляхів перетворення вуглеводів і енергії в живих організмах започаткували динамічну біохімію та біоенергетику (один із розділів біохімічної науки).

Ключові слова: *Е. Бухнер, А. Коссель, Р. Вільштеттер, О. Мейєргоф, А. Хілл, О. Варбург, А. Сент-Дьйорді, зимаза, ензими, динамічна біохімія, біоенергетика.*

Наприкінці XIX ст. дослідники вже зрозуміли, що між початковими та кінцевими продуктами перетворень складних органічних сполук мають утворюватись проміжні компоненти. Так, *протеїни*, *вуглеводи* і *жири* не відразу утворюють *діоксид вуглецю та воду*; в процесі їх перетворення перебігають реакції, тобто відбувається процес окиснення органічних речовин, унаслідок якого вивільнюється енергія, необхідна для життєдіяльності живих організмів.

На сьогодні механізм перетворення та окиснення органічних речовин у живих організмах досліджено достатньо детально. Загалом можна підсумувати, що цей процес відбувається за рахунок ензиматичного перенесення водню, вірніше електронів і протонів, від молекул, які окиснюються, до молекул, які відновлюються. Внаслідок перенесення водню від однієї органічної речовини до іншої вивільнюється потенціальна енергія речовин, що окиснюються. Перетворення органічних речовин у живих організмах відбувається без підвищення температури та за фізіологічних умов завдяки участі в реакціях біологічних каталізаторів — *ензимів*.

Але це не було відомо наприкінці XIX—на початку XX ст. Найперше, що необхідно було з'ясувати — це, що таке *ензими* і як відбувається *ферментація*, тобто розщеплення вуглеводів у клітинах. Основним об'єктом досліджень на той час були дріжджі.

З'ясування цього надважливого питання розпочалося з досліджень професора Берлінського університету Едуарда Бухнера, який одержав за них Нобелівську премію з хімії у 1907 р. Фактично премію було присуджено за біохімічні роботи в галузі ензимології, а саме: *«за проведену ним науково-дослідну роботу з біологічної хімії та відкриття позаклітинної ферментації» («for his biochemical researches and his discovery of cell-free fermentation»)*.

Дослідження Е. Бухнера поклали край протилежним поглядам на процеси бродіння й стали сенсацією в науковому та філософському світі.

ЕДУАРД БУХНЕР

Едуард Бухнер (1860–1917)

Бухнер Едуард (нім. *Eduard Buchner*; 20.05. 1860—13.08.1917 рр.) — німецький хімік. Народився в Мюнхені в сім'ї професора судової медицини і гінекології Мюнхенського університету Ернста Бухнера та Фредеріки (Мартін), яка була донькою службовця Королівського казначейства. Після смерті батька (1872) освітою Едуарда опікувався його старший брат Ганс (Ханс). Закінчивши гімназію у 1877 р., Едуард вступив до Мюнхенського технічного університету, де вивчав хімію. Але через фінансові труднощі він покинув університет і вподовж чотирьох років працював на консервних заводах Мюнхена і Момбаха (нім. Mombach). Саме в цей час Е. Бухнер познайомився з технологією спиртового бродіння, з'ясування механізму якого стало його захопленням і основною роботою протягом всього життя.

За фінансової допомоги брата Едуард у 1884 р. відновив навчання, на яке отримав трирічну стипендію. Він вивчав хімію в Адольфа фон Байєра (нобелівський лауреат з хімії, 1905) у Мюнхенському університеті, а також ботаніку в Карла фон Негелі в Інституті ботаніки, де працював і його брат — Ганс Бухнер, який надалі став відомим спеціалістом з гігієни і бактеріології. Саме під керівництвом брата Едуард і розпочав дослідження с*пиртового бродіння*. У 1885 р. він опублікував першу статтю про вплив кисню на процес бродіння, в якій спростував існуюче на той час уявлення про те, що бродіння не може відбуватися за наявності кисню, яке підтримував Луї Пастер.

У 1888 р. Е. Бухнер одержав докторський ступінь і через два роки став асистентом А. Байєра, а в 1891 р. його було призначено приват-доцентом (позаштатним викладачем) Мюнхенського університету. На особисті пожертви А. Байєра Е. Бухнер створив невелику лабораторію, де продовжив дослідження хімії бродіння.

У 1893 р. він очолив секцію аналітичної хімії в Кільському університеті, а в 1895 р. став професором цього університету. У 1898 р. Е. Бухнера обрали професором загальної хімії Вищої сільськогосподарської школи в Берліні та призначили директором Інституту промислового використання процесів бродіння, де він пропрацював 11 років.

На той час, коли Е. Бухнер почав пошук активних речовин, завдяки яким відбувається бродіння, існувало дві протилежні теорії бродіння. Одна теорія була *віталістична*. Її дотримувався Луї Пастер, який вважав, що в живих клітинах (дріжджах) існує «життєва субстанція», що «несе відповідальність» за процес бродіння. Віталісти стверджували, що без клітин дріжджів бродіння не може відбуватися. Проти цієї теорії виступали переважно хіміки, які підтримували *механістичну* (*хімічну*) теорію. Згідно з цією теорією дріжджі постійно руйнуються до рідинного стану, створюючи хімічну напругу, яка сприяє роз-

щепленню молекули цукру (сахарози). Але нікому не вдавалося виділити із дріжджів речовину, яка б спричинювала бродіння поза клітиною.

За підтримки брата Едуард Бухнер вирішив знайти активну речовину всередині клітин дріжджів. У той час він працював у Тюбінгенському університеті на посаді екстраординарного професора (з 1893). Використавши метод, запропонований асистентом брата Мартіном Ганом, Едуард подрібнював у ступці дріжджі разом із піском і землею (кізельгур) за кімнатної температури, не застосовуючи ані високої температури, ані розчинників, як це робили його попередники. Віджата під тиском крізь марлю рідина, в якій, як вважали брати, не було живих клітин, залишалась здатною підтримувати бродіння цукру. Тому Е. Бухнер висунув гіпотезу, що активною речовиною в цій рідині (сік або гомогенат із дріжджів) є *ензим*, який назвали зимазою. Це було відкриття, яке свідчило про те, що *бродіння відбувається завдяки хімічній активності ензиму*, як у самій клітині, так і поза дріжджової клітини, але не завдяки так званій *життєвій силі* [1—5].

Опублікована у 1897 р. праця Е. Бухнера «*Про спиртове бродіння без участі дріжджових клітин*» [6] зумовила суперечку серед його колег-вчених, як у наукових, так і у філософських колах. У наступні роки він доклав багато зусиль і часу для підтвердження своєї теорії. Його подальші дослідження підтвердили можливість бродіння різних цукрів за допомогою «*продукту перетворення білкових тіл протоплазми — хімічної речовини, яка не обмінювалась*» і яку, як зазначалося, назвали зимаза.

Пізніше Е. Бухнер (разом з Я. Мейзенхеймером) одержав сік з інших мікроорганізмів, які спричинювали молочнокисле і оцтовокисле бродіння («молочнокисла бактеріальна зимаза» і «спирт окиснювальна зимаза» відповідно). У 1902 р. Е. Бухнер опублікував ще одну велику статтю, в якій детально обґрунтував і захистив результати своєї роботи.

У 1904 р. Е. Бухнера одноголосно обрали головою німецького хімічного товариства, а також членом-кореспондентом Академії наук Болоньї. Його запрошували читати лекції до Парижа і Відня. У 1905 р. його нагородили золотою медаллю Ю. Лібіха.

У 1907 р. Едуарду Бухнеру присуджено Нобелівську премію з хімії. Через смерть короля Швеції Оскара II церемонію нагородження було відкладено, але в письмовому поданні від імені Шведської королівської академії наук К. А. Х. Мернер узагальнив різні погляди на процес бродіння, яким поклали край результати досліджень Е. Бухнера. К.А.Х. Мернер писав: «*Поки бродіння розглядалось як виявлення життя, мало було надії на можливість глибше зазирнути в проблему перебігу цього процесу*». Тому «*... сталася сенсація, коли Е. Бухнеру вдалося показати, що спиртове бродіння може спричинюватися соком, який виділено із дріжджових клітин і який не має живих клітин... Недосяжні до цього часу галузі тепер стали об'єктом хімічних досліджень, а перед хімічною наукою відкрились нові, до того невідомі перспективи*».

У нобелівській лекції Е. Бухнер зазначив: «*...ми все більше впевнюємося в тому, що клітини рослин і тварин є хімічними фабриками, де в різних цехах виготовляються різні продукти. Ензими в них виконують роль контролерів. Наші знання про ці самі важливі частини живих речовин постійно накопичуються і, хоч*

можливо, ми ще далеко від мети, але крок за кроком наближаємось до неї». Нобелівську премію за відкриття позаклітинної ферментації мали отримати обидва брати — Ганс і Едуард Бухнери, але Ганс на той час помер (1902).

Через два роки після отримання Нобелівської премії Е. Бухнер перейшов працювати до університету в м. Бреслау (зараз Вроцлав, Польща), де був завідувачем кафедри фізіологічної хімії, а з 1911 р. працював у Вюрцбурзькому університеті.

Від початку Першої світової війни 54-річний капітан Е. Бухнер добровільно пішов на військову службу (1914) і був нагороджений Залізним хрестом. У 1917 р. Е. Бухнер працював майором медичної служби в польовому шпиталі в Румунії, де його було смертельно поранено шрапнеллю. Він помер 13 серпня і похований у Фокшанах на братському кладовищі.

У пам'яті друзів і співробітників Е. Бухнер залишився людиною з винятковою пам'яттю, живою уявою, мужністю та щирістю.

В історію науки Едуард Бухнер увійшов як дослідник, який, за словами голови Нобелівського комітету з хімії Г. Седербаума, «*...провів демаркаційну лінію між двома різними епохами, вказавши напрям розвитку нової фази в історії хімії бродіння*» [1—5].

Говорячи про позаклітинне бродіння, зауважимо, що насправді його відкрили значно раніше за Е. Бухнера. І зробила це **Марія Михайлівна Манассеїна** (1843—1903 рр.) — одна з перших жінок Росії, яка мала вищу освіту. Вона спочатку отримала звання жінки-лікаря, а пізніше — ступінь доктора медицини.

З жовтня 1870 до квітня 1871 р. М.М. Манассеїна стажувалася в Політехнічному інституті у Відні в Юліуса Візнера, де досліджувала процес спиртового бродіння. Саме тоді вона й зробила це визначне відкриття, показавши, що бродіння відбувається за дії особливих речовин (так званих *неорганізованих ферментів* — за термінологією того часу), які можна виділити із клітин дріжджів. Ці результати свідчили на користь «*хімічної*» теорії бродіння, яку підтримували такі видатні вчені, як Клод Бернар, Юстус Лібіх, Марсель Бертло, і яка була альтернативною до «*віталістичної*» теорії Луї Пастера [7, 8].

Результати досліджень з алкогольного бродіння М.М. Манассеїна опублікувала в 1871 р. російською мовою [9], а в 1872 р. — німецькою [10]. Ці праці мали принципове значення для подальшого розвитку *ензимології*. Розпочала М.М. Манассеїна свою роботу із сумніву щодо того, що «*віталістична*» точка зору Л. Пастера на спиртове бродіння є правильною. Вона проводила досліди дуже ретельно і відкинула всі заперечення стосовно наявності в розчині мікроорганізмів: перевіряла наявність у середовищі алкоголю хімічними реакціями, вбивала дріжджі високою температурою (від 70 до 300°) і, насамкінець, вирішила провести досліди з розтертими дріжджами. Розтирання в скляній ступці «міцним чоловіком» повітряно-сухих дріжджів із подрібненим гірським кришталем протягом 6 або 15 год призводило до повного руйнування дріжджових клітин. У дослідах із такими розтертими дріжджами бродіння починалось швидко, енергійно і протягом 14 діб спостерігалось виділення газу та алкоголю. Із результатів дослідів М.М. Манассеїна зробила обґрунтований висновок: «*Живі дріжджові клітини не є необхідними для спиртового бродіння. Більш ніж*

імовірно, що специфічні ферменти алкогольного бродіння утворюються в дріжджових клітинах так само, як емульсин у солодкому мигдалі» [8].

І лише 26 років потому, в 1897 р. Е. Бухнер, не посилаючись на праці М. Манассеїної, надрукував попереднє повідомлення, яке закінчувалось твердженням, що «*...розділити бродильну дію від живих дріжджових клітин до цього часу нікому не вдавалось*», і повідомив, що він вперше це зробив пресуванням суміші дріжджів з кварцевим піском та інфузорною землею (кізельгуром). Отриманий таким чином дріжджовий сік після додавання цукру спричинював його зброджування [6].

Ознайомившись з публікацією Е. Бухнера, М.М. Манассеїна у 1898 р. вступила у боротьбу за свій пріоритет у вирішенні питання про можливість безклітинного бродіння. В журналі «*Le Physiologiste russe*», який видавався в Москві, вона надрукувала полемічну статтю, присвячену цьому питанню. Вона стверджувала, що нічого принципово нового Е. Бухнером, порівняно з її працею, не наведено, а що стосується методів експерименту, то в гомогенаті у Е. Бухнера могли бути непошкоджені дріжджові клітини навіть після пресу. В цій полемічній статті М.М. Манассеїна виявила велику ерудицію з питання про алкогольне бродіння та дослідження ензимів. Але на той час вона вже працювала в іншій галузі фізіології — *сомнології* (науки про сон). Померла М. Манассеїна у 1903 р. у Санкт-Петербурзі.

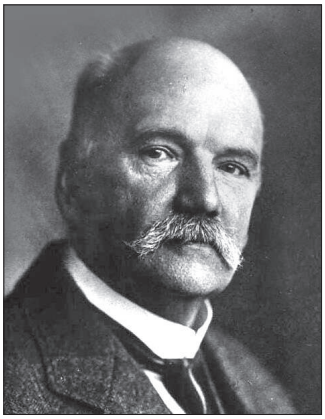
А Нобелівську премію «*за відкриття позаклітинної (хімічної) природи бродіння*» через чотири роки після її смерті отримав Е. Бухнер (1907). Ось тут, імовірно, й спрацював такий чинник, як «доля», а, можливо, й «людський чинник». Але так чи інакше, відкриття позаклітинної роботи ензимів було епохальним не тільки для біохімії, а й для всієї біології. Воно започаткувало розвиток *ензимології* як науки, а також низки прикладних наук, зокрема біотехнології.

Продовжуючи «подорож» роботами нобеліантів, зауважимо, що *біохімічна термінологія* вперше з'явилась завдяки Нобелівській премії з фізіології або медицини в 1910 р., яку отримав німецький фізіолог і біохімік **Альбрехт Коссель** «*за внесок у вивчення хімії клітини внаслідок дослідження протеїнів, включаючи нуклеїнові речовини*».

АЛЬБРЕХТ КО́ССЕЛЬ

Коссель Людвиг Карл Мартін Леонгард Альбрехт (нім. *Albrecht Kossel*; 16.09. 1853—05.07.1927 рр.) народився в Ростоці в сім'ї торговця Альбрехта Косселя та Клари Йєппе і був єдиним сином. У дитинстві Альбрехт навчався в гімназії в Ростоці, де виявив значний інтерес до хімії та ботаніки. Виконуючи побажання батька, в 1872 р. він вступив до щойно створеного Імперського університету в Страсбурзі, де навчався під керівництвом спеціаліста в галузі фізіологічної хімії *Фелікса Хоппе-Зейлера* (Хоппе-Сейлера, *Hoppe-Seyler*). Він відвідував лекції міколога *Антона де Барі*, а також *Августа Кундта і Адольфа Байєра*. А. Коссель завершив навчання в Університеті Ростока, отримавши в 1877 р. докторський ступінь з медицини.

Він повернувся до Страсбурга, де почав працювати асистентом Хоппе-Зейлера в Інституті фізичної хімії. Їхні спільні дослідження спочатку стосувалися



Альбрехт Кóссель
(1853—1927)

перетворення протеїнів під дією пепсину. Пізніше А. Коссель почав вивчати хімічні компоненти *нуклеїну* (*нуклеїнових кислот*) — речовини, багатої фосфором, виявленої в 1869 р. *Фрідрихом Мішером* (учнем Хоппе-Зейлера) в ядрах клітин, які містились у гної. Через 10 років А. Коссель виділив нуклеїн із крохмалю. Протягом 1885—1901 рр. А. Коссель зі співробітниками встановили, що в складі нуклеїнових кислот є піримідинові азотовмісні основи — *тимін, цитозин* і *урацил*. А в 1897 р. *Е. Фішер* виділив пуринові основи — *аденін* і *гуанін* [11]. Іншими словами, на кінець XIX ст. було відкрито більшість основних компонентів нуклеїнових кислот, зокрема азотисті основи, але не було досліджено їхні вуглеводневі компоненти, хоча на той час А. Коссель припускав, що вуглеводневі структури в нуклеїнових кислотах є *сумішшю гексоз і пентоз*. Досліджуючи фізіологічні властивості нуклеїну, А. Коссель дійшов висновку, що ця речовина відіграє певну роль у процесі росту тканин, але не є джерелом енергії для м'язових клітин. Цей висновок підтвердився тоді, коли він виявив велику кількість нуклеїну (нуклеїнових кислот) в ембріональних тканинах тварин.

У 1883 р. А. Косселя призначили директором відділу хімії, а через чотири роки — асистентом-професором Берлінського фізіологічного інституту. Але викладання залишало мало часу для наукової роботи, тому в 1895 р. він переїхав до Марбурга, де став професором фізіології й директором Інституту фізіології у Марбурзькому університеті. В А. Косселя з'явилося більше часу займатися дослідницькою роботою. Вчені з багатьох країн приїжджали до нього вчитися та працювати.

Досліджуючи інші компоненти нуклеїну, А. Коссель виділив з ядер еритроцитів гусака протеїноподібну речовину — *гістон*, яка за властивостями була подібна до *протаміну*, знайденого Ф. Мішером в сперматозоїдах різних риб. А. Коссель довів належність *протамінів і гістонів* до класу *простих протеїнів*. У протамінах з ядер сперматозоїдів він виявив амінокислоту *гістидин*, а потім розробив метод кількісного визначення «гексонових основ», а саме лужних амінокислот — *аргініну*, *лізину*, *гістидину*. Разом зі своїм видатним англійським учнем — Г.Д. Дакіним він досліджував *аргіназу*. Трохи пізніше він виявив в ікрі риб родини оселедцевих агматин ((4-aminobutyl)guanidine) і розробив метод його одержання.

У 1901 р. А. Коссель став директором *Гейдельберзького фізіологічного інституту* і обіймав цю посаду до виходу на пенсію (1924). Надалі він працював в *Інституті хімії протеїну*, а також у новоствореній *Гейдельберзькій медичній клініці* під керівництвом *Людвига Креля*.

У 1910 р. Альбрехту Косселю присудили Нобелівську премію з фізіології та(або) медицини, як зазначалося, за «*внесок у вивчення хімії клітини через дослідження протеїнів, включаючи нуклеїнові речовини (in recognition of the contributions to our knowledge of cell chemistry made through his work on proteins,*

including the nucleic substances)». Інакше кажучи, він отримав премію за дослідження в галузі клітинної біології, хімічного складу клітинного ядра, а також за роботу з виділення та дослідження нуклеїнових кислот. На той час роль нуклеїнових кислот у кодуванні й передаванні генетичної інформації ще не була відома, тому А. Коссель не міг передбачити, яке величезне значення матимуть його роботи саме для розвитку генетики і молекулярної біології. Хоча ще в 1893 р. він повідомив, що хромосоми складаються з нуклеїнових кислот і різної кількості протеїну (*гістону*), але дослідженням природи спадковості він не займався. Однак у 1912 р. А. Коссель прочитав лекцію про *протеїни*, в якій вказав на різноманітність *поліпептидів*, і припустив, що хімічною основою передавання спадкової інформації може бути будова протеїну.

Також вагомим внеском у розвиток біохімічної науки було і те, що А. Коссель вперше розробив *концепцію про будівельні елементи клітини*. Він зазначав, що деякі речовини — *амінокислоти*, *стерини*, *пурини* і *піримідини*, які знаходяться в усіх клітинах тварин і рослин, є основними *будівельними блоками*, що беруть участь у різних фізіологічних процесах.

Роботи А. Косселя наблизили ідею, що живі клітини в організмі є певною мірою незалежними і саме там відбуваються життєво важливі процеси. Його дослідження значно розширили уявлення про клітини і це було його здобутком, який належно оцінив Нобелівський комітет.

А. Коссель є також автором однієї з теорій будови протеїнів з амінокислотних залишків. В інтерв'ю для газети «New York Times» він сказав: «*Життєві процеси як драма, і я досліджую акторів, а не сюжет. Акторів багато, їхні характери є основою всієї вистави. Я намагаюсь зрозуміти їхні навички й особливості*» [12—15].

А. Коссель, окрім Нобелівської премії, мав багато й інших нагород, зокрема почесні ступені університетів Кембриджа, Дубліна, Единбурга, Гента, Грейфсвальда, Сент-Ендрюса. Він був членом багатьох наукових товариств, таких як Шведська королівська академія наук і Королівське наукове товариство Упсали та ін. Після смерті Хоппе-Зейлера — засновника «Журналу фізіологічної хімії» («Zeitschrift für Physiologische Chemie») його редактором упродовж 30 років був А. Коссель.

Пішов з життя А. Коссель 5 липня 1927 р. у віці 73-х років від зупинки серця.

Інститут нейрорегенерації ім. Альбрехта Косселя в Ростоцькому університеті названо на честь нього.

Альбрехт Коссель — один із дійсно визначних вчених у галузі біохімії, генетики та молекулярної біології. Виділення та дослідження ним разом з *Е. Фішером* нуклеїнових кислот і азотистих основ зумовило надалі відкриття подвійної спіралі ДНК *Джеймсом Уотсоном* (*James D. Watson*) і *Френсісом Кріком* (*Francis Crick*) у 1953 р., тобто наступні епохальні відкриття структури та з'ясування ролі нуклеїнових кислот в такому важливому процесі, як спадковість.

Ще одним нобеліантом, який зробив значний внесок у розвиток біохімічної науки, був німецький хімік **Ріхард Вільштеттер**. У 1915 р. йому було прису-

джено Нобелівську премію з хімії «*за дослідження рослинних пігментів, особливо хлорофілу (for his researches on plant pigments, especially chlorophyll)*». Але в біохімічних колах він був відомий як спеціаліст *із хімії протеїнів і ензимів*.

РІХАРД ВІЛЬШТЕТТЕР

Ріхард Вільштеттер (1972—1942)

Вільштеттер Ріхард Мартін (нім. *Richard Martin Willstätter*; 13.08.1872—03.08.1942 рр.) народився в Карлсруе в єврейській сім'ї торговця тканинами Макса та Софії (Ульман) Вільштеттер. У 1890 р. після закінчення реальної гімназії Ріхард вступив до Мюнхенського технічного університету, щоб вивчати хімію. Але там рівень викладання цієї науки його не влаштував, і він перейшов до Мюнхенського університету в лабораторію відомого хіміка *Адольфа фон Байєра* (Нобелівська премія з хімії, 1905). У 1894 р. Р. Вільштеттер отримав докторський ступінь з хімії, за два роки став приват-доцентом, а ще за шість років (1902) обійняв посаду екстраординарного професора (ад'юнкт-професора) у лабораторії А. Байєра. У 1905 р. Вільштеттер став професором хімії *Федерального технологічного інституту Цюріха*.

Саме в Цюріху Р. Вільштеттер розпочав досліджувати хлорофіл — речовину зеленого кольору, яка присутня в усіх зелених рослинах і яка відіграє важливу роль у процесі *фотосинтезу*. На той час структура хлорофілу не була відома, хоча цим питанням дослідники цікавились ще з 1837 р., починаючи з *Я. Берцеліуса*. У 1906 р. М.С. Цвєт методом адсорбційної хроматографії розділив хлорофіли на дві форми — α- *і* β-*хлорофіли*. Тоді вважалося, що в кожній рослині є багато різних хлорофілів і що царство рослин — джерело їх нескінченної кількості. Методично досконалі роботи Р. Вільштеттера (разом з його учнем Артуром Штолем) зробили значний внесок у дослідження структури хлорофілів. Так, із листків кропиви, що є дешевою сировиною для одержання хлорофілу, дослідники виділили його в кристалічний формі і показали, що основою його структури є *тетрапірол*, тобто чотири пірольних кільця, зв'язані в центрі атомом магнію. Вони також показали дві майже подібні форми хлорофілу — α і β. Продовжуючи роботу в цьому напрямі й проаналізувавши понад 200 видів рослин, Р. Вільштеттер встановив універсальність *хлорофілів* α і β і, таким чином, продемонстрував, що в усьому рослинному світі структура хлорофілу є однаковою, а звідси й те, що в рослинах у процесі фотосинтезу відбуваються однакові хімічні реакції.

У 1912 р. Р. Вільштеттер на пропозицію *Ганса Фішера* перейшов до новоствореного Інституту кайзера Вільгельма в Берліні, де продовжив дослідження також барвників, але вже *антоціанів*. Він з'ясував, що більша частина квіток рослин має своє забарвлення завдяки наявності усього трьох *антоціанів*, які різняться між собою тільки кількістю гідроксильних груп на одному з кілець їх молекули, тобто колір квіток залежить від суміші кількох *антоціанів*, а

також *каротиноїдів* (для надання їм жовтого кольору). Але ці дослідження було перервано розпочатою Першою світовою війною (1914).

Нобелівську премію з хімії Ріхарду Вільштеттеру було присуджено у 1915 р., але оскільки під час війни церемонії нагородження не відбувались, він одержав премію тільки в 1920 р. У нобелівській промові Р. Вільштеттер зазначив: «*Мета моєї роботи полягала в тому, щоб встановити структурні характеристики найширше розповсюджених пігментів рослин, особливо хлорофілу, і знайти певні критерії їх хімічної функції*». Робота Р. Вільштеттера над хлорофілом і антоціанами показала, що в основі всього розмаїття рослинних пігментів лежить лише декілька хімічних сполук і що біохімічні основи фотосинтезу мають бути універсальними. Саме це і має бути об'єктом наукового аналізу.

Після смерті А. Байєра у 1916 р. Р. Вільштеттер став професором Мюнхенського університету. Там, «...*аби прорватись у невідоме*», він обрав новий напрям досліджень і взявся за дослідження *ензимів*, про які ні він, ні його колеги майже нічого не знали. В цей період творчої діяльності вчений розробив методи адсорбції й елюції ензимів, які широко використовуються ензимологами до цього часу. Він виділив, очистив і сконцентрував *амілазу*, *сахаразу*, *пероксидазу*, *ліпазу* та деякі інші ензими. Ще в 1922 р. він вперше висловив припущення про наявність в них каталітично активної групи і колоїдного носія.

Із приходом до влади нацистів у 1933 р. життя Р. Вільштеттера і його сім'ї ускладнилось. Йому не дозволили приходити до університету, проте його співробітники продовжували досліджувати ензими. Так, його учениця — доктор М. Родевальд досліджувала процеси засвоєння цукрів і утворення глікогену в організмі. Р. Вільштеттер слідкував за її роботою і, телефонуючи, консультував.

Аби не бути знищеним у концентраційному таборі Дахау, він у 1939 р. емігрував до Швейцарії. Учень Р. Вільштеттера — А. Штоль дав йому можливість поселитись на віллі «Ермітаж», де він і помер 3 серпня 1942 р. від хвороби серця. Як писав англійський хімік Р. Робінсон: «*Р. Вільштеттер був великим експериментатором і великим винахідником експерименту. Але його найвищий дар дослідника полягав у вмінні організувати роботу*».

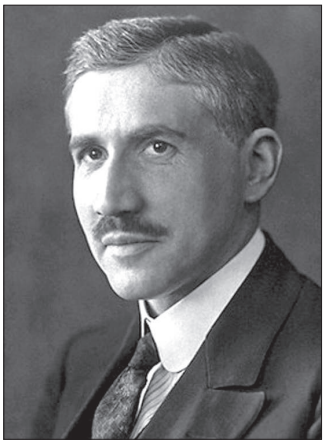
Підсумовуючи творчий шлях Ріхарда Вільштеттера, зазначимо, що він передусім з'ясував дуже складну структуру хлорофілу та антоціанів, що й було високо оцінено науковою спільнотою — *присудженням Нобелівської премії*. Але не менш важливими для біохімії є його роботи з виділення і дослідження ензимів. На жаль, за умов нацизму в Німеччині, де вчений не зміг повністю реалізувати свої наукові ідеї, цей напрям досліджень не набув розвитку в його роботах.

Р. Вільштеттера було нагороджено медаллю Деві Лондонського королівського товариства (1932) і медаллю Уілларда Гіббса Американського хімічного товариства (1933); він удостоєний почесних ступенів Оксфордського, Манчестерського та Паризького університетів; був іноземним членом Лондонського королівського товариства та почесним членом Британського хімічного товариства [16—19].

Із 1915 до 1918 р. та в 1921 р. Нобелівські премії з фізіології та(або) медицини не присуджувались. У 1922 р. нею було удостоєно двох науковців — німецько-американського біохіміка **Отто Мейєргофа** і англійського фізіолога

Арчибалда Хілла. Премію їм було вручено в 1923 р.: Отто Мейєргофа нагородили «*за відкриття тісного зв'язку між процесом поглинання кисню та метаболізмом молочної кислоти в м'язах (for his discovery of the fixed relationship between the consumption of oxygen and the metabolism of lactic acid in the muscle)*», а Арчибалда Хілла — «*за відкриття стосовно теплоутворення в м'язах (for his discovery relating to the production of heat in the muscle)*». Обидва вчених фактично вперше розпочали дослідження обміну речовин у м'язах, відкривши новий напрям у біохімії — динамічну біохімію, найважливішим завданням якої є дослідження хімічних перетворень органічних речовин у живих організмах. Отже, завдання динамічної біохімії — дослідження хімічних закономірностей, на яких ґрунтуються процеси обміну речовин між живим організмом і довкіллям. Розробка проблеми проміжного обміну речовин, започаткована О. Мейєргофом і якоюсь мірою А. Хіллом, завершилась досягненнями, які відкрили новий, небачений до цього часу світ хімічних реакцій у живих організмах.

ОТТО МЕЙЄРГОФ



Отто Мейєргоф (1884—1951)

Мейєргоф Отто Фріц (нім. *Otto Fritz Meyerhof*; 12.04.1884—06.10.1951 рр.) народився в Ганновері в єврейській родині Фелікса та Беттіни (Мей) Мейєргоф. Більшість дитинства він провів у Берліні, де пізніше навчався медичній спеціальності. За німецькою традицією — вчитися як мінімум у двох університетах — він продовжував навчання в Страсбурзі і Гейдельберзі. У 1909 р. Мейєргоф закінчив навчання з дипломною роботою за назвою «*Внесок у психологічну теорію розумових захворювань*». Працюючи протягом трьох років асистентом у відділенні внутрішніх хвороб, О. Мейєргоф зустрів **Отто Варбурга**, під впливом якого залишив заняття з психології та психіатрії та перейшов на експериментальні біохімічні дослідження.

У 1912—1924 рр. О. Мейєргоф працював у фізіологічному відділенні Кільського університету. Саме там він вперше використав концепції термодинаміки для аналізу клітинних реакцій і запропонував теорію з біоенергетики клітинних процесів (1913). На той час метаболізм вуглеводів ще не було з'ясовано. Проте було відомо, що вуглеводи відкладаються в печінці та м'язових клітинах у вигляді *глікогену*, а також те, що *процес біохімічного розщеплення глікогену та глюкози* відбувається двома способами — аеробним і анаеробним. Аеробне перетворення вуглеводів завершується утворенням *діоксиду вуглецю та води*, анаеробне — утворенням *молочної кислоти* (*лактату*). Запропонована О. Мейєргофом методика експерименту включала в себе визначення та зіставлення кореляцій між *клітинним поглинанням кисню (диханням), клітинною теплопродукцією (термодинамікою), біохімічними процесами в клітинах та механічною роботою*, яку виконують спеціалізовані м'язові клітини. У 1917 р. він показав, що *ензимні системи вуглево-*

дів у дріжджів і тваринних клітинах подібні, підтвердивши тим самим концепцію біохімічної єдності живого світу.

Продовжуючи дослідження в наступні роки, О. Мейєргоф вимірював кількість поглинутого кисню та утворення молочної кислоти (лактату) як за наявності, так і за відсутності кисню у разі скорочення м'язів жаби. Результати дослідів засвідчили, що з молочної кислоти, утвореної під час анаеробного перетворення глюкози, за наявності кисню лише 1/5 частина від її кількості повністю окиснюється до діоксиду вуглецю і води. Виходячи з цього, О. Мейєргоф дійшов висновку, що клітинна енергія, яка утворюється завдяки окиснювальним процесам (окиснення лактату), використовується клітиною для ресинтезу молекул глюкози та глікогену із залишків лактату, який утворився в клітині. Він встановив, що *джерелом утворення лактату в м'язах є глікоген*.

Саме за ці дослідження Отто Мейєргофа відзначено Нобелівською премією з фізіології або медицини в 1922 р., яку було вручено в 1923 р. і яку він розділив з Арчибалдом Хіллом. У нобелівській промові О. Мейєргоф сказав: «*Справжнє життя вченого складається не з нагород, які є лише кінцевим, а правильніше, другорядним її продуктом. Вона полягає в революційній думці, нових теоріях, фундаментальних відкриттях, які народжуються в призначеному для цієї мети розумі, як і витвір мистецтва, внаслідок творчого акту*». Він також високо оцінив роботи А. Хілла, які, «*...сяючи, як маяк крізь морську імлу, допомогли не зійти з курсу і уникнути можливості сісти на мілину*».

З 1924 до 1929 р. О. Мейєргоф працював професором Біологічного інституту кайзера Вільгельма в Берліні. Він виховав плеяду відомих біохіміків, серед яких *Ганс Кребс*, *Фріц Ліпман* і *Северо Очоа* — майбутні нобеліанти. У 1929 р. один з його співробітників — *Карл Ломан* відкрив аденозинтрифосфат (АТР) одночасно з американськими біохіміками *Сайрусом Фіске* і *Йєллапрагадою Суббарао*. О. Мейєргоф і К. Ломан з'ясували роль АТР у м'язовому скороченні, а в 1941 р. Ф. Ліпман встановив роль цієї сполуки в перенесенні енергії.

У 1929—1938 рр. О. Мейєргоф був директором нового Інституту медичних досліджень кайзера Вільгельма в Гейдельберзі, де в 1932 р. разом з колегами екстрагував ензими основних біохімічних реакцій, які відбуваються в процесі анаеробного перетворення глюкози на молочну кислоту. Цей основний анаеробний клітинний шлях вуглеводного метаболізму називають також *шляхом Ембдена—Мейєргофа*. Справа в тому, що в 1921—1927 рр. Густав Ембден виявив, що під час розщеплення глікогену в соку м'язів зникає *неорганічний фосфат* і утворюються органічні *гексозофосфорні кислоти*. В 1932 р. він показав, що в ході розщеплення вуглеводів у м'язах утворюються *гліцеринфосфорні кислоти*. Виявлення цих продуктів дало можливість Г. Ембдену запропонувати схему анаеробного розщеплення вуглеводів, яка була значно розширена і доповнена дослідженнями О. Мейєргофа зі співробітниками, а пізніше ще Я. Парнасом, який вперше виявив зв'язок між окремими ланками обміну глюкози та глікогену. *Тому процес анаеробного розщеплення вуглеводів у м'язах нині називають цикл Ембдена—Мейєргофа—Парнаса*.

У 1938 р. О. Мейєргоф залишив фашистську Німеччину і переїхав до Парижа, де продовжив дослідження в Інституті фізико-хімічної біології. Під час

окупації Франції німцями він у 1940 р. емігрував до США, де працював до кінця життя професором Пенсильванського університету.

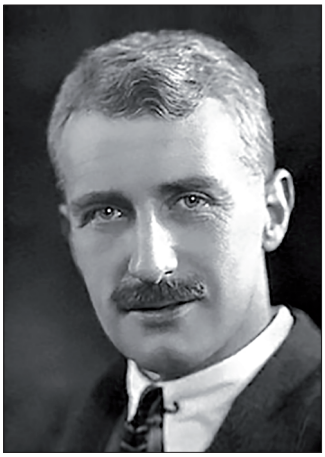
О. Мейєргоф помер 6 жовтня 1951 р. у Філадельфії в 67 років після повторного інфаркту.

О. Мейєргоф був членом Лондонського королівського товариства, Національної академії наук США, мав почесний ступінь Единбурзького університету, а також багато інших нагород. Він цікавився філософією, мистецтвом, археологією та писав вірші. Його завжди цікавили проблеми взаємодії науки і суспільства [20—23].

Отто Мейєргофа можна вважати одним із засновників *сучасної біохімії*, а саме *біохімічної динаміки і біоенергетики*. Найважливішими є його роботи з *біохімії м'язового скорочення* і, особливо, присвячені *ензиматичним перетворенням вуглеводів і спряженим з ними перетворенням АТР і креатинфосфату*.

О. Мейєргофу належить відкриття зв'язку між анаеробним і аеробним перетворенням вуглеводів, а також з'ясування механізму м'язового скорочення з використанням енергії, яка вивільнюється в ході хімічного перетворення вуглеводів, розшифрування шляху утворення молочної кислоти. Важливими є також його роботи з ізолювання та дослідження окремих ензимів окисного і гліколітичного процесів.

АРЧИБАЛД ХІЛЛ



Арчибалд Хілл (1986—1977)

Ще одним нобелівським лауреатом у галузі фізіології та(або) медицини за 1922 р. був англійський фізіолог **Хілл Арчибалд Вівієн** (англ. *Archibald Vivian Hill*; 26.09.1886—03.06.1977 рр.). Він народився в Бристолі (Велика Британія) в сім'ї торговця лісоматеріалами. Батько залишив сім'ю, коли Арчибалду виповнилося три роки. Дітей виховувала мати, дуже рішуча і сильна жінка. До семи років Арчибалд навчався дома з матір'ю, потім, коли сім'я переїхала до Вестон-супер-Маре, він пішов до підготовчої школи. У 1899 р. Хілла прийняли до коледжу Блюнделла, де він виявив здібності до математики.

У 1905 р. він продовжив навчання з математики в Триніті-коледжі Кембриджського університету. Арчибалд був блискучим студентом і закінчив курс навчання на рік раніше.

Але на цей час його інтерес до математики ослабшав і він звернувся за порадою до свого керівника фізіолога М. Флетчера, який запропонував Хіллу зайнятися фізіологією, що, на його думку, більше відповідало інтелектуальним здібностям Арчибалда. Прийнявши пораду Флетчера, Хілл розпочав вивчення цієї науки, зробивши наголос на заняттях хімією та фізикою. У 1909 р. він закінчив Кембриджський університет з відзнакою і почав працювати у фізіологічній лабораторії Кембриджа. Під впливом керівника — фізіолога М. Флетчера, який разом з Ф.Г. Гопкінсом проводив дослідження біохімічних властивостей м'язів

жаби, Арчибалд розпочав дослідження *фізіологічних властивостей м'язів*. І тут йому знадобились грунтовні знання з хімії та фізики. Використавши гальванометр і термопару (прилад для вимірювання температури), А. Хілл встановив невідомий до цього часу факт про зв'язок «*...механізму м'язового скорочення із процесом перетворення енергії хімічних реакцій на електричну енергію високого потенціалу*». Він показав, що в м'язах жаби тепло утворюється як на початковій фазі під час скорочення м'яза, так і у фазі відновлення. А. Хілл також виявив, що *утворення початкового тепла зумовлене утворенням лактату з глюкози та глікогену, а утворення тепла під час відновлення — окисненням і розщепленням лактату*.

Саме «*за відкриття механізму стосовно теплоутворення в м'язах (for his discovery relating to the production of heat in the muscle)*» Арчибалда Хілла (разом з О. Мейєргофом) у 1922 р. було відзначено Нобелівською премією в галузі фізіології або медицини, яку він одержав у 1923 р. У нобелівській лекції А. Хілл звернув увагу аудиторії на «*...надзвичайно складну проблему фізіології, вказав на необхідність проведення подальших експериментів для дослідження статики, динаміки та термодинаміки в м'язах, а також підкреслив важливість створення й використання нових лабораторних інструментів для таких досліджень*».

У 1920—1923 рр. А. Хілл — професор Манчестерського і Лондонського університетів, а через три роки і до 1951 р. — професор Лондонського королівського товариства.

Досліджуючи м'язову активність, А. Хілл виявив, що під час незначного навантаження молочна кислота (лактат), яка утворюється в м'язах, після його зняття швидко окиснюється. Але під час інтенсивної роботи в м'язах накопичується велика кількість молочної кислоти, яка дифундує в кров та інші органи. Оскільки для ресинтезу або окиснення молочна кислота має дифундувати назад у м'язову тканину, то для її відновлення необхідно кілька годин. Така концепція А. Хілла пояснювала процеси, які відбуваються в організмі спортсменів за сильного навантаження та наступного відновлення.

Протягом 1947—1963 рр. А. Хілл працював у Британському музеї.

Підсумовуючи, зазначимо, що основні наукові роботи А. Хілла присвячено термодинаміці м'язової діяльності та механізмам м'язового скорочення: серед іншого він також *удосконалив термоелектричний спосіб вимірювання температурних явищ у м'язах*, *відкрив явище прихованого теплоутворення в м'язах під час збудження* і *винайшов низку точних приладів для вимірювання теплоутворення в нервах і м'язах*. У 1922 р. він *визначив кількість теплоти, що виділяє м'яз у стані спокою і у стані скорочення, створив теорію м'язового скорочення та подразливості*. А. Хілл увів поняття *«киснева заборгованість»*, *розробив математичні моделі процесів*, які відбуваються в збуджених тканинах, *відкрив явище теплоутворення в нерві* за його збудження. Його абсолютно справедливо вважають батьком біофізики та спортивної біохімії.

А. Хілл — вдалий приклад вченого, який має значно більше переваг, застосовуючи міждисциплінарний підхід. Тому математики або фізики часто роблять великі наукові прориви саме у фізіології та біохімії.

А. Хілл був членом понад 40 наукових товариств і мав почесні ступені 17 університетів, включаючи Единбурзький, Оксфордський, Джона Гопкінса та

Колумбійський. Його нагороджено Орденом Честі (1946) і медаллю Коплі Королівського товариства (1948), а також багатьма іншими медалями і преміями.

Талановитий вчений і громадський діяч (був обраним у парламент від Кембриджського університету), А. Хілл під час Другої світової війни як член товариства підтримки вчених при департаменті наукових і економічних досліджень, по суті, спас від смерті понад 900 вчених (серед яких 18 нобелівських лауреатів).

А. Хілл прожив 90 років і пішов з життя 3 липня 1977 р. від ускладнень після вірусної інфекції, залишивши багато талановитих учнів [24—27].

Роботи О. Мейєргофа і А. Хілла стали фундаментом для розкриття механізму аеробного і анаеробного обміну в м'язах, а також започаткували створення ще однієї галузі науки — біоенергетики.

Нобелівською премією в галузі фізіології та(або) медицини за 1931 р. було відзначено німецького біохіміка **Отто Варбурга** «*за відкриття природи і механізму дії дихального ензиму (for his discovery of the nature and mode of action of the respiratory enzyme)*», тобто за роботи з розкриття метаболізму органічних речовин у клітинах тварин і рослин та з біоенергетики. Ця нагорода знайшла його майже через десять років після одержання Нобелівської премії О. Мейєргофом, якого саме О. Варбург залучив до дослідження біохімічних перетворювань в організмі, зокрема у м'язах.

ОТТО ВАРБУРГ

Отто Варбург (1883—1970)

Варбург Отто Генріх (нім. *Warburg Otto Heinrich*; 8.10.1883—1.08.1970 рр.) народився у Фрайбурзі в сім'ї Еміля та Елізабет Варбургів. Його батько був професором фізики і талановитим музикантом. У будинку Варбургів часто бували музиканти, артисти і колеги батька, зокрема фізики *Макс Планк*, *Альберт Ейнштейн*, *Вальтер Нернст*, хімік-органік *Еміль Фішер,* фізіолог *Теодор Енгельман.* Коли Отто виповнилося 12 років, родина переїхала до Берліна, де батька призначили професором фізики Берлінського університету. Молодий Отто отримав початкову освіту в гімназії Фрідриха Вердера.

У 1901 р. О. Варбург став студентом-хіміком Фрайбурзького університету, а через два роки перейшов до лабораторії Еміля Фішера Берлінського університету. У 1906 р. він захистив дисертацію з питань *оптичної активності пептидів та їх ензиматичного гідролізу* та отримав ступінь доктора філософії з хімії. З метою зробити відкриття, яке б допомогло в лікуванні онкологічних захворювань, О. Варбург розпочав вивчати медицину в Гейдельберзькому університеті, працюючи в лабораторії відомого терапевта Рудольфа фон Креля. Одночасно з ним там працювали біохімік *Отто Мейєргоф* і біолог *Джуліан Ханслі* — майбутні нобеліанти.

У 1911 р. він одержав медичний ступінь Гейдельберзького університету. Впродовж трьох років проводив дослідження в ньому та на зоологічній станції

в Неаполі (Італія) — міжнародному центрі біологічних досліджень. У 1913 р. О. Варбурга обрали членом Товариства кайзера Вільгельма, а також призначили керівником *відділу і лабораторії Інституту біології кайзера Вільгельма в Берліні*, що давало йому повну незалежність у виборі предмета наукових досліджень.

Під час Першої світової війни О. Варбург пішов добровольцем в армію, де протягом чотирьох років служив у кавалерії, отримав поранення і був нагороджений **Залізним хрестом**. У 1918 р. на прохання Альберта Ейнштейна О. Варбург повернувся до Берлінської лабораторії на посаду професора. З воєнного часу він зберіг пристрасть до верхової їзди і кожного ранку до початку роботи впродовж багатьох років (до 85 років) здійснював прогулянки верхи на коні.

За п'ятдесят років наукової діяльності О. Варбург проводив дослідження в трьох напрямах: *вивчення фотосинтезу, дослідження онкологічних захворювань і вивчення хімічної природи ензимів, які відповідають за біологічне окиснення і трансформацію енергії.* Для проведення цих досліджень він розробив багато *аналітичних методів*, включаючи *манометрію* для дослідження зміни тиску в клітинному диханні й під час ензиматичних реакцій (*апарат Варбурга*); *спектрофотометрію* для вимірювання швидкості біохімічних реакцій і кількості метаболітів; *методи тканинних зрізів* для дослідження використання кисню клітинами без їх механічного руйнування.

Ще в 1913 р, досліджуючи використання кисню клітинами печінки, О. Варбург виявив субклітинні частинки, які він назвав *гранулами* (як виявилось пізніше, це були *мітохондрії*). Крім того, він вважав, що саме з цими частинками пов'язані процеси окиснення глюкози до діоксиду вуглецю і води. Вивчаючи використання кисню нормальними і пухлинними клітинами на зрізах тканин, О. Варбург показав, що *пухлинні клітини частіше використовують анаеробний шлях метаболізму глюкози, тому, як він вважав, нормальні клітини трансформуються в злоякісні через нестачу кисню.* Він показав, що *аеробне дихання інгібується* такими речовинами, як *ціаніди* і до 1967 р. вважав, що онкологічні захворювання виникають унаслідок порушень в енергетичному метаболізмі клітин.

За роботу з метаболізму пухлинних клітин Нобелівський комітет у 1926 р. розглядав питання про відзначення премією з фізіології та(або) медицини О. Варбурга, але її присудили датському лікарю і досліднику *Йоханнесу Фібігеру* «*за відкриття карциноми, яку спричинює Spiroptera*». Це був один із курйозів у роботі Нобелівського комітету, оскільки ці результати досліджень нобеліанта надалі не підтвердилися. Нагородження Й. Фібігера було дещо поспішним, результати виявились помилковими, але його роботи викликали велику зацікавленість у сучасників і стимулювали проведення нових додаткових експериментів. І хто знає, досягла б сучасна онкологія високого рівня, якби Й. Фібігер не зробив помилкового відкриття?

А що ж О. Варбург? Наприкінці 20-х років XX ст. він відкрив дихальний ензим — *цитохромоксидазу*, який каталізує окисні реакції на поверхні гранул, тобто *мітохондрій* («енергетичних станцій» в клітині). Використавши метод мічених ізотопів, О. Варбург встановив, що *активним коензимом цитохромоксидази є молекула порфірину з атомом заліза*, яка діє як переносник електронів. Це була перша ідентифікація каталітично активної групи в складі ензимів.

Саме за дослідження природи й механізму дії дихального ензиму в 1931 р. О. Варбурга було нагороджено Нобелівською премією з фізіології та(або) медицини. Під час вручення премії з формулюванням «*за сміливі ідеї... проникливий розум і рідкісну завершеність в мистецтві точного вимірювання*» Ерік Хаммарстен з Каролінського інституту зауважив, що це відкриття «*...було першою демонстрацією роботи ефективного каталізатора — ензиму в живому організмі; ця ідентифікація надважлива, оскільки вона висвітлює основний процес підтримання життя*».

У 1931 р. О. Варбурга призначили директором нового *Інституту фізіології клітини кайзера Вільгельма* (пізніше — *Інститут Макса Планка*). У цей період він одержав дев'ять ензимів анаеробного шляху метаболізму глюкози в кристалічному стані. Також він отримав у кристалічному стані *флавін* («*люміфлавін*») (1932). Разом з колегою *У. Христіаном* ізолював два коензими (1938): *флавінаденіндинуклеотид* (FAD) і *нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат* (NADP), які беруть участь у перенесенні водню й електронів в окисних реакціях, що каталізуються описаними ним жовтими ензимами, або *флавопротеїнами*. Відкриття NADP, до складу якого входить *нікотинова кислота*, виявило функцію вітамінів як коензимів.

Під час дослідження *фотосинтезу* О. Варбург визначив «*термін життя*», тобто тривалість *темнової та світлової фаз*, а вивчаючи відновлення нітратів у зелених рослинах, відкрив *переносника електронів — ферредоксин*. Використовуючи кількісні методи, О. Варбург виявив *кореляцію між інтенсивністю світла під час фотохімічної реакції та швидкістю фотосинтезу*.

У 1939—1944 рр. він досліджував низку проміжних реакцій бродіння й гліколізу, описав кристалічну енолазу, механізм гальмування енолазної реакції фторидами, одержав у кристалічному стані м'язову альдолазу та інші ензими.

Коли нацисти прийшли до влади, Варбургу, як особі з єврейським корінням, заборонили викладання. А коли у 1941 р. він дозволив собі деякі критичні висловлювання на адресу влади — миттєво втратив і посаду директора інституту. Цілком імовірно, що він міг лишитися й життя, але його врятував панічний страх Адольфа Гітлера перед онкологічними захворюваннями. Саме тому за кілька тижнів О. Варбург отримав особистий дозвіл безпосередньо з канцелярії фюрера продовжити наукові роботи з етіології злоякісних утворень в Інституті фізіології клітин.

Проте нормально працювати він зміг тільки до 1943 р. Коли лабораторію надто часто почали турбувати бомбардування союзної авіації, Варбург переніс її до свого маєтку, який розташувався за 50 км на північ від Берліна, де за два роки її разом з бібліотекою вилучила радянська окупаційна влада.

Із закінченням війни з'явився ще один міф, пов'язаний із особистістю Отто Варбурга. У багатьох джерелах писалося, що в 1944 р. йому було присуджено другу Нобелівську премію в галузі фізіології та(або) медицини «*за роботи з нікотинаміду та відкриття флавіну*», але гітлерівська влада примусила Варбурга відмовитися від премії. Насправді ж О. Варбург тоді був лише номінований лауреатом 1937 р. *Альбертом Сент-Дьйорді*, проте премію одержали *Джозеф Ерлангер* і *Герберт Спенсер Гассер* за відкриття, пов'язані з нерво-

вими волокнами. А дещо пізніше нобелівським лауреатом став його співробітник *Ганс Кребс*.

Після війни О. Варбург продовжував дослідження з онкології та фотосинтезу в Західному Берліні, публікуючи до п'яти статей за рік.

Він прожив довге життя, помер 1 серпня 1970 р. у Берліні (ФРН).

О. Варбург був широко ерудованою людиною, він цікавився історією, літературою та музикою. Водночас колеги і близькі завжди говорили про нього як про дуже скромну людину, він уникав розповідати про себе: під час зустрічей з журналістами або репортерами, які не пізнавали його в обличчя, його улюбленою фразою була: «*Професора Варбурга не можна інтерв'ювати, він помер*».

Отто Варбург, крім Нобелівської премії, мав інші почесні нагороди: премію Лондонської королівської спільноти (1934), почесний ступінь Оксфордського університету, орден «За заслуги» уряду НДР та інші [28—30].

Увічненням його пам'яті є присудження **медалі Отто Варбурга** Товариством біохімії і молекулярної біології (нім. *Gesellschaft für Biochemie und Molekularbiologie*) з 8 жовтня 1963 р.

Підсумовуючи життєвий і творчий шлях О. Варбурга, ще раз наголосимо, що *він зробив неоціненний внесок у розвиток біохімічної науки, а саме у вивчення клітинного дихання, гліколізу, природи ензимів і коензимів, вперше описав жовтий дихальний ензим, отримав у кристалічному стані флавін, FAD і NADP, альдолазу м'язів і низку інших ензимів*. Величезне значення мають також його дослідження в галузі *фотосинтезу та онкології*, в яких він значно розширив методологію і зробив фундаментальні відкриття.

Дослідження попередників стосовно механізмів окиснення органічних речовин, розшифрувавши низку реакцій аеробного перетворення вуглеводів, продовжив Альберт Сент-Дьйорді.

Американський біохімік, угорець за походженням, **Альберт Сент-Дьйорді** отримав Нобелівську премію з фізіології або медицини в 1937 р. «*за відкриття в галузі процесів біологічного окиснення, особливо пов'язані з дослідженням вітаміну С і каталізу фумарової кислоти*».

АЛЬБЕРТ СЕНТ-ДЬЙОРДІ

Сент-Дьйорді Альберт (угор. *Szent-Györgyi Albert*; 16.09.1893—22.10.1986 рр.) народився в Будапешті в сім'ї Ніколаса фон Сент-Дьйорді, багатого землевласника, і Йозефіни Сент-Дьйорді, батько якої, Джозеф Ленхоссек, і брат Михайло були професорами анатомії в Університеті Будапешта. В родині батьків часто звучала музика і велись інтелектуальні бесіди. Пізніше Альберт зазначить: «*Я зрозумів, що інтелектуальні цінності варті того, щоб до них прагнути; художні і наукові досягнення — вища цінність людського буття*».

У дитинстві Альберт вважався малоздібною дитиною, але раптово у підлітковому віці захопився читанням, що дало йому змогу закінчити середню школу з найвищими оцінками.

У 1911 р. Альберт вступив до Будапештського університету (медичний факультет), який закінчив у 1917 р., отримавши ступінь доктора медицини. Там він займався дослідницькою роботою в лабораторії дядька і вже на третьому курсі опублікував кілька статей з *гістології*. З початком Першої світової війни

Альберт Сент-Дьйорді
(1893—1986)

його призвали до австро-угорської армії; служив три роки на італійському і російському фронтах, нагороджений срібною медаллю «*За звитягу*». «Не бажаючи брати участь у жорстокій і безглуздій бійні», він вистрілив собі в руку і, таким чином, після поранення зміг повернутися додому в 1917 р. Цього самого року Альберт закінчив навчання в Будапешті та отримав диплом лікаря. За розподілом його направили в армійську бактеріологічну лабораторію, де проводилися експерименти на італійських полонених. Це викликало протест вченого, тому його відправили на заслання на північ Італії, в болотисту місцевість, де існувала реальна небезпека загинути; там він захворів на тропічну малярію, але вижив.

Після закінчення війни працював асистентом професора фармакології Університету в Позоні (нині — Братислава, Словаччина). Через декілька місяців, згідно з Версальським мирним договором, місто передали Чехословаччині, і він повернувся до Будапешта, забравши із собою лабораторне обладнання. Після приходу до влади комуністів на чолі з Белом Куном А. Сент-Дьйорді емігрував і впродовж десяти років проводив наукові дослідження в різних країнах світу.

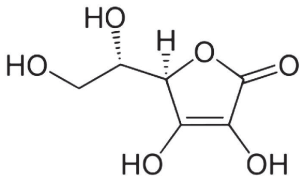
У 1920 році А. Сент-Дьйорді став асистентом в Університетському інституті фармакології в Лейдені, а з 1922 до 1926 р. працював в Інституті фізіології у Гронінгені (Нідерланди). У 1927 р. його запросили до Кембриджа (Велика Британія), де під керівництвом Нобелівського лауреата за 1929 р. сера Ф. Г. Гопкінса (*Frederick Gowland Hopkins*) він проводив дослідження у галузі хімії. Ще один рік він працював у клініці Мейо (штат Міннесота, США). У 1930 р. повернувся до Угорщини, де очолив кафедру медичної хімії, а в 1935 р. — кафедру органічної хімії в Сегедському університеті. У 1945—1947 рр. А. Сент-Дьйорді працював професором і завідувачем кафедри медичної хімії Будапештського університету. У 1947 р. він емігрував до США. Працював у Морській біологічній лабораторії у Вудс-Голі (штат Массачусетс) і в Інституті з дослідження м'язів. У 1975 р. став науковим керівником Національного фонду досліджень раку.

Ранні дослідження Сент-Дьйорді в Гронінгені стосувалися хімії дихання клітин. На той час (20-ті роки XX ст.) біохіміки вже з'ясували, що глюкоза і форма її збереження — *глікоген* — метаболізуються двома можливими способами: анаеробним (за відсутності кисню) з утворенням *молочної кислоти* (*лактату*) і аеробним (у присутності кисню), за якого глюкоза перетворюється на *піровиноградну кислоту* (*піруват*), а потім на *діоксид вуглецю і воду*. Анаеробний спосіб перетворення вуглеводів у клітинах був краще досліджений порівняно з аеробним. Залишались нез'ясованими способи окиснення органічних сполук у присутності кисню. Як зазначалося, *О. Варбург* вважав, що важливою стадією біологічного окиснення є *активація кисню*. Водночас німецький хімік-органік *Генріх Віланд* (нім. *Heinrich Otto Wieland*) важливішим

за окиснення вбачав *процес активації та видалення водню*. Але саме Альберту Сент-Дьйорді вдалося встановити, що для реакцій клітинного окиснення важливі обидва процеси: *як активація кисню, так і активація водню*. І що особливо важливо, *він відкрив ензими перетворення дикарбонових кислот — бурштинової, фумарової та яблучної, а також з'ясував їхню роль у процесах тканинного дихання*. Кожна з кислот сприяє окисненню вуглеводу, який знаходиться в клітині. На його думку, водень з цього вуглеводу відновлює першу з дикарбонових кислот — *щавлевооцтову*, утворюючи *яблучну кислоту*, яка відновлювала *фумарову*, а утворена, таким чином, *бурштинова кислота*, в свою чергу, переносить водень на *цитохром*. Важливим є також те, що він показав зв'язок каталітичної системи з внутрішньоклітинними структурами, які О. Варбург назвав *гранулами* (сучасна назва — *мітохондрії*). Ці відкриття, зроблені А. Сент-Дьйорді в 30-ті роки XX ст. у Гронінгені, започаткували майбутні дослідження біохімічних реакцій Гансом Кребсом, відомі нині як *цикл ди- і трикарбонових кислот*, або *цикл лимонної кислоти*, або *цикл Кребса*. Але саме Сент-Дьйорді ще в 1937 р. припустив, що цей *процес є циклічним* і був близький до з'ясування всіх етапів синтезу АТР у ньому.

А. Сент-Дьйорді вперше описав взаємозалежність активації кисню та водню, а також провів перші спостереження за кодегідразами і системами поліфенолоксидази рослин. Він також вперше продемонстрував існування відновлюваної речовини в тканинах рослин і тварин. А відбулося це важливе відкриття ще тоді, коли він працював у Кембриджському університеті в лабораторії *Фредеріка Гопкінса* (1927). Із соку апельсинів, лимонів, капусти, а пізніше (в США) із надниркових залоз тварин він виділив сполуку з шістьма атомами вуглецю, яку він назвав *гексуроновою кислотою*. За цю роботу Кембриджський університет присудив йому ступінь доктора філософії з біохімії (1927). Він також довів її ідентичність з *вітаміном С — аскорбіновою кислотою* (від назви цинги (*scorbutus*)), визначивши разом з хіміком *У.Н. Хоуорсом* (*Walter Norman Haworth*) її повну хімічну структуру. Аскорбінова кислота легко віддає протони, тому бере участь у багатьох окиснювально-відновних реакціях.

Після повернення до Угорщини А. Сент-Дьйорді продовжив дослідження *аскорбінової кислоти*. Він з'ясував, що в паприці (*Capsicum annuum*), або угорському перці, міститься велика її кількість (до 2 мг вітаміну на 1 г речовини). Працюючи в Університеті Сегеда, А. Сент-Дьйорді також виявив, що рослинні пігменти *флавоноїди* зменшують ламкість капілярів, і це сприяє зниженню кровотеч у хворих із *геморагічним васкулітом*. Він назвав ці речовини *вітаміном Р* (від лат. *permeability* — проникність) — *антигеморагічним фактором* (1936), нині він відомий як *рутин*, *цитрин*, *вітамін проникності*. Вітамін Р — це флавоноїди, що нормалізують проникність судин, тобто їх дія подібна до дії вітаміну С.



Молекула аскорбінової кислоти

У 1937 р. А. Сент-Дьйорді був удостоєний Нобелівської премії в галузі фізіології та(або) медицини *«за дослідження біологічного окиснення та особливо за відкриття вітаміну С* і каталізу фумарової кислоти (for his discoveries in connection with the biological combustion processes, with special reference to vitamin C and the catalysis of fumaric acid)»*.

*Зазначимо

що того самого року Нобелівську премію з хімії вручили його колезі — Уолтеру Норману Хоуорсу, якому він надсилав зразки для розшифрування структури аскорбінової кислоти, та Паулю Карреру — також за вітамін С.

Під час презентації професор *Ерік Хаммарстен* з Каролінського інституту зауважив, що відкриття А. Сент-Дьйорді відіграло важливу роль «*для отримання перших уявлень про послідовність окиснювальних процесів*». У нобелівській лекції А. Сент-Дьйорді зазначив, що починаючи ще з робіт *Г. Віланда* — ініціатора досліджень у цій галузі, було зрозуміло, що для організму людини важливим є тільки одне джерело енергії — водень (а не вуглець і діоксид вуглецю, як вважалося до того часу).

Здавалося б, можна і заспокоїтися на цьому, але це — не про Альберта Сент-Дьйорді... *Дихання клітини — дихання м'язів — робота м'язів — біохімія м'язового скорочення...* Приблизно такий вигляд його наукового шляху, який він розвивав до початку Другої світової війни в Угорщині. Пізніше зі своїми доробками й ідеями він переїхав до США.

Через рік після отримання Нобелівської премії А. Сент-Дьйорді запросили професором університету в Л'єжі (Бельгія). Там він зацікавився біохімією м'язових тканин. Найбільше його цікавило питання про те, як скорочуються, або рухаються м'язи. Вивчаючи споживання кисню під час м'язового скорочення, А. Сент-Дьйорді встановив каталітичну роль у цьому процесі *дикарбонових кислот*. У ході робіт протягом 1939—1946 рр. він відкрив *актоміозиновий комплекс*, що відіграє ключову роль у цьому процесі, і показав, що цей комплекс складається із двох компонентів — протеїнів: *актину* та *міозину*. Також вперше він продемонстрував роль *аденозинтрифосфорної кислоти* (АТР) як джерела енергії під час роботи м'язів.

Пізніше він писав: «*Побачити, як міозин швидко скорочується і як вперше поза організмом відтворюється найдавніша і таємнича ознака живого — рух... було найбільш хвилюючим моментом у моїх роботах*». У 1944 р. в нього остаточно сформулювалися уявлення про механізм м'язового скорочення і роль АТР у цьому процесі, на підставі яких він створив низку теорій м'язового скорочення (1939—1946).

Під час Другої світової війни Сент-Дьйорді залишався в Угорщині, брав участь у підпільній боротьбі. Незадовго до закінчення війни йому, переслідуваному нацистами, вдалося за одну ніч за підтримки короля отримати шведське громадянство та за кілька годин до прибуття гестапо покинути Будапешт і переправитися до Швеції через дипломатичну місію.

Після війни, розчарований радянською окупацією Угорщини та деморалізований своєю невдачею у політичній діяльності як члена Угорського парламенту, в 1947 р. він емігрував до США, а в 1955 р. отримав американське громадянство.

У Вудс-Голі (штат Массачусетс) у Морській біологічній лабораторії А. Сент-Дьйорді організував *Інститут дослідження м'язів*. У цьому інституті він проводив дослідження регуляції росту ракових (трансформованих) клітин, електрофізіологічних властивостей біологічних мембран і гормональних функцій тимуса, ізолювавши з нього речовину, яка стимулювала ріст тварин. Його

наукова робота з вивчення ракових клітин несподівано отримала підтримку Національного інституту здоров'я в Бетесді, куди потім переїхав Сент-Дьйорді, і фонду Рокфеллера. У 1975 р. він став науковим керівником Національного фонду досліджень раку, а також брав активну участь у боротьбі за ядерне роззброєння, проти війни США у В'єтнамі.

Завдяки зусиллям А. Сент-Дьйорді, спрямованим на розвиток *Інституту дослідження м'язів* (в який він пізніше перейменував і *свій фонд*), а також серії легко та з гумором написаних ним книг про всю свою історію дослідження м'язової системи, Альберт Сент-Дьйорді став на один щабель із самими відомими розумами Америки. Його запрошували читати лекції, виступати на телебаченні й радіо; його непростою долею цікавились біографи та письменники.

При цьому Сент-Дьйорді не відступив від покликання і наприкінці 1950-х років він вже переймався вивченням раку, що й привело його до дослідження *вільних радикалів*. Він вважав, що багато непомітних процесів у живих системах залежать не тільки від макромолекул, з яких складаються живі істоти, а й від маленьких реакційноздатних одиниць — *вільних радикалів*.

У дослідженнях біологічних циклів дихання Сент-Дьйорді наблизився до того, щоб зібрати всі деталі біологічних процесів в одне ціле. *Вільні радикали* (атоми або молекули з неспареними електронами) виникають унаслідок окисновідновних реакцій у клітинах. Вони можуть потрапляти в організм із забрудненням із довкілля, з наркотиками, хімічними речовинами або радіацією. *Вільні радикали зв'язуються в клітинах з ензимами, антиоксидантними вітамінами, такими як вітамін С, рутин* (власні дослідження А. Сент-Дьйорді)*, дезактивуються, і це захищає організм*. Підхід А. Сент-Дьйорді до дослідження онкологічних захворювань виник з його впевненості в тому, що багато біохімічних процесів у живих системах залежить від *високої реакційної здатності делокалізованих електронів*. Він вважав, що клітинну активність необхідно вивчати, спостерігаючи за перенесенням електронів між біомолекулами, які знаходяться в структурі клітин. Саме тому в останні десять років життя він багато співпрацював із біофізиками, започаткувавши ще одну науку про життя — *біоенергетику*.

Сент-Дьйорді є автором численних наукових праць — «Хімія м'язового скорочення» («*Chemistry of Muscular Contraction*»; 1947), «Біоенергетика» («*Bioenergetics*», 1957); «Вступ до субмолекулярної біології» («*Submolecular Biology*», 1960). У 1970 р. він написав працю «Божевільна мавпа» («*The Crazy Ape*»), в якій висловив стурбованість долею людства в епоху науково-технічного прогресу.

Узагальнити цей короткий аналіз творчої діяльності нобелівського лауреата А. Сент-Дьйорді можна таким чином. Упродовж довгого життя він однаково плідно переймався різними науковими проблемами, такими як *процеси біологічного окиснення, хімія вітамінів, механізми м'язового скорочення, онкологічні захворювання*. Переоцінити внесок Альберта Сент-Дьйорді в розвиток біохімії просто неможливо. Дуже вагомими і важливими, на думку авторів, є також його теоретичні й філософські підходи до розуміння живого.

Помер А. Сент-Дьйорді у віці 93 роки 22 жовтня 1986 р. від лейкемії. Серед нагород А. Сент-Дьйорді, крім Нобелівської премії, є премія Камерона Единбурзького університету (1946) і премія Альберта Ласкера Американської кардіологічної асоціації (1954). Він був фундатором і членом Будапештської академії наук, членом Національної академії наук США, Американської ака-

демії наук і мистецтв та Національної академії Будапешта, іноземним членом-кореспондентом АН СРСР. Йому було присуджено почесні звання університетів Лозанни, Падуї, Парижа, Бордо, Кембриджа, Оксфорда [31—34].

Завершуючи характеристику робіт нобелівських лауреатів першої половини XX ст. — *Е. Бухнера, А. Косселя, Р. Вільштеттера і, особливо, О. Мейєргофа, А. Хілла, О. Варбурга та А. Сент-Дьйорді,* зауважимо, що саме вони започаткували **динамічну біохімію та біоенергетику** (один з розділів біохімічної науки), розшифрувавши основні способи перетворення вуглеводів і енергії в живих організмах на прикладі роботи м'язів.

Але це був лише початок... Перед наступним поколінням вчених постало нове важливе завдання: з'ясувати фізико-хімічні засади та інтимні механізми кожної з реакцій в живій клітині, а також визначити їх функціональне значення. І тут доречно навести слова Альберта Сент-Дьйорді: «*Ми дійсно наблизимося до розуміння життя тільки тоді, коли наші знання про всі структури і функції на всіх рівнях — від електронного до надмолекулярного — об'єднаються в єдине ціле*».

DEVELOPMENT OF DYNAMIC BIOCHEMISTRY AND BIOENERGETICS. THE CONTRIBUTION OF THE NOBEL PRIZE LAUREATES E. BUCHNER, A. KOSSEL, R. WILLSTÄTTER, O. MEYERHOF, A. HILL, O. WARBURG, A. SZENT-GYÖRGYI

V.M. Danilova, R.P. Vynogradova, S.V. Komisarenko

Thanks to the great discoveries of the Nobel laureates of the first half of the 20th century — E. Buchner, A. Kossel, R. Willstätter, O. Meyerhof, A. Hill, O. Warburg, A. Szent-Györgyi, we have gained a deep understanding of the mechanisms of organic substances conversion and oxidation in living- organisms-. This article gives an analysis of the research activity of these distinguished scientists, who, through decoding the main ways of converting carbohydrates and energy in living organisms, laid the foundations of dynamic biochemistry and bioenergetics (one of the branches of biochemical science).

Keywords: *E. Buchner, A. Kossel, R. Willstätter, O. Meyerhof, A. Hill, O. Warburg, A. Szent-Györgyi, zymase, enzymes, dynamic biochemistry, bioenergetics.*

REFERENCES

1. Buchner Edward. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 211—214.

2. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Edward Buchner. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 81—82.

3. Edward Buchner. Regime of access : http://www.chem.msu.ru/rus/elibrary/nobel/1907-Buchner.html.

4. Eduard Buchner. Regime of access : http://www.nobel.se/chemistry/laureates/1907/index.html.

5. Edward Buchner. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 108—109.

6. Buchner E. Alkoholische Gärung ohne Hefezellen. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 1897. Vol. 30. S. 117—124.

7. Lagnado J. Was the first biochemist a woman? *Biochemist*. 1992. Vol. 14, N 5. S. 21—22.

8. Vinokurov S.I., Chagovets R.V. Maria Manasseina and her contribution to the discovery of acellular fermentation. *Biokhimiia*. 1950. Vol. 15, N 6. S. 558—562.

9. Manassein M. To the doctrine of alcoholic fermentation. *Medical Herald*. 1871. Vol. 8. S. 57—59.

10. Manasseina M. Beiträge zur Kenntnis der Hefe zur Lehre von der alkoholishen Gärung. Mikroskopische Untersuchungen, Stuttgart, 187. S. 116—128.

11. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Scientific investigations of the Nobel prize winner Emil Fischer as a launching pad for the development of biochemistry: a brief overview. *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90, N 4. S. 135—142.

12. Kossel Albrecht. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 590—592.

13. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Kossel Albrecht. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 223—224.

14. Kossel Albrecht. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/

15. Kossel Albrecht. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 325—326.

16. Willstätter Richard. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 275—278.

17. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Willstätter Richard Martin. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 94—95.

18. Willstätter Richard Martin. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 132—133.

19. Richard Martin Willstätter. Regime of access : http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/nobel/1915-Willstaetter.html.

20. Meyerhof Otto. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 55—58.

21. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Meyerhof Otto Fritz. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 292.

22. Meyerhof Otto Fritz. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 409—410.

23. Severin S.E. Meyerhof Otto. Greater Medical Encyclopedia. Regime of access : http://бмэ.opr/index.php.

24. Hill Archibald Vivian. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 666—669.

25. Hill Archibald Vivian. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 670.

26. Archibald Vivian Hill. The second father of biophysics. Mathematician, athlete and scientist. Wikimedia Commons Anna Khoruzhaya. Regime of access : https://indicator.ru/article/2017/08/16/archibald-hill/

27. Archibald V. Hill — Biographical. https://www.nobelprize.org/nobel prizes/medicine/laureates/1922/hill-bio/html.

28. Warburg Otto. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 244—247.

29. Warburg Otto Heinrich. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 120.

30. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Warburg Otto Heinrich. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 88, 89.

31. Szent-Györgyi Albert. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 389—392.

32. Szent-Györgyi Albert. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 565.

33. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Szent-Györgyi Albert. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 403—404.

34. Szent-Györgyi Albert. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/himiya/SENT-DERDI_ALBERT.html.

РОЗВИТОК ЗНАНЬ З БІОХІМІЇ ГОРМОНІВ У РОБОТАХ НОБЕЛІВСЬКИХ ЛАУРЕАТІВ ПЕРШОЇ ПОЛОВИНИ XX ст.: Ф.Г. БАНТИНГ, Д.Дж.Р. МАКЛЕОД, Г.О. ВІЛАНД, А.О. ВІНДАУС, А. БУТЕНАНДТ, Л. РУЖИЧКА, Е. КЕНДАЛЛ, Ф. ХЕНЧ, Т. РЕЙХШТЕЙН

Р.П. Виноградова, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

Перша половина XX ст. була плідною для досліджень таких біологічно активних речовин, як гормони і вітаміни. Одними з перших дослідників гормонів були Ф. Бантинг і Д. Маклеод, які відкрили і виділили гормон острівкової частини підшлункової залози — інсулін, що дало поштовх для дослідження механізмів регуляції біохімічних процесів — нового напряму біологічної хімії. Наступним важливим етапом у розвитку досліджень біологічно активних речовин були роботи хіміків-органіків Г. Віланда, А. Віндауса, А. Бутенандта і Л. Ружички, які майже одночасно виділили та встановили хімічну будову жовчних кислот, вітамінів групи D і статевих гормонів (жіночих і чоловічих). Вони також виявили, що всі ці сполуки мають стероїдну природу і що вихідною речовиною для їх синтезу в організмі є холестерол. Продовженням досліджень високоактивних речовин стероїдної природи були роботи Е. Кендалла, Ф.Ш. Хенча і Т. Рейхштейна, які вперше синтезували і дослідили будову та біологічні ефекти гормонів кори надниркових залоз — кортикостероїдів. Вони також вперше розробили метод промислового випуску гормону кортизону, який широко використовується для лікування запальних процесів. Отже, в першій половині XX ст. хіміки-органіки дали в руки біохімікам знання щодо структури складних у хімічному відношенні, але надважливих для організму людини біологічно активних речовин — стероїдних сполук.

Ключові слова: *Ф.Г. Бантинг, Д.Дж.Р. Маклеод, Г.О. Віланд, А.О. Віндаус, А. Бутенандт, Л. Ружичка, Е. Кендалл, Ф. Хенч, Т. Рейхштейн, інсулін, холестерол, статеві гормони, кортикостероїди.*

У 20—30-х роках XX ст. починається тріумфальна ера Нобелівських лауреатів — біохіміків. Роботи багатьох з них присвячено дослідженню біологічно активних речовин, зокрема *гормонів і вітамінів*, їхньої будови та ролі в біохімічних процесах у організмі.

У живих організмах спостерігається взаємодія та узгодженість хімічних процесів, що забезпечується *регуляторними механізмами*. Багатоклітинні організми функціонують як злагоджені системи внаслідок взаємозв'язку між окремими клітинами і тканинами. Такий зв'язок здійснюється завдяки основним системам регуляції, що включають у себе центральну й периферійну нервові системи та гормональну й імунну системи. Головним елементом у контролі метаболізму клітин є *хімічні посередники*, які називають *гормонами* (від грец. *hormao* — збуджувати, стимулювати, приводити в рух). Вперше термін *гормон* у 1905 р. запропонував Е. Старлінг для позначення *секретину — гуморального фактора*, що продукується дванадцятипалою кишкою і збуджує секрецію ензи-

мів підшлункової залози. Гормони — фізіологічно активні речовини, біорегулятори різної хімічної природи, що продукуються залозами внутрішньої секреції (ендокринними), секретуються в кров'яне русло і після перенесення спеціалізованими транспортними протеїнами в чутливий орган діють як сигнальні молекули та регулятори метаболічних процесів і фізіологічних функцій в організмі.

ВІДКРИТТЯ ІНСУЛІНУ

Саме за виділення і дослідження одного з гормонів — *інсуліну* — Нобелівську премію з фізіології та(або) медицини в 1923 р. одержали канадський лікар і фізіолог *Фредерік Г. Бантинг* та шотландський лікар і фізіолог *Д.Дж.Р. Маклеод*.

ФРЕДЕРІК БАНТИНГ

Фредерік Бантинг
(1891—1941)

Сер **Фредерік Грант Бантинг** (англ. *Frederick Grant Banting*) народився 14.11.1891 р. на фермі неподалік від Аллістона (Онтаріо, Канада). Він був молодшим з п'яти дітей у сімї Томпсона та Маргарет (Грант) Бантингів. У 1912 р. він вступив на богословський факультет Торонтського університету, але вже наприкінці року зрозумів, що його більше цікавить медицина, тому перейшов до університетської медичної школи. У 1916 р. він закінчив її, отримавши ступінь бакалавра медицини. Протягом наступних двох років Ф. Бантинг працював військовим хірургом в Англії, потім у Франції, де під час Першої світової війни отримав тяжке поранення. Після закінчення війни Ф. Бантинг повернувся до Торонто, де два роки працював дитячим хірургом, потім відкрив приватну хірургічну клініку в м. Лондон (Онтаріо). У 1920 р. обійняв посаду асистента професора в медичній школі університету Західного Онтаріо і одночасно проводив наукові дослідження під керівництвом нейрофізіолога *Ф.Р. Міллера*.

Саме тоді помер друг дитинства Бантинга від захворювання, яке тепер називають цукровий діабет. Цей трагічний випадок став поштовхом для пошуку ліків від цієї хвороби.

Що було відомо на той час про *цукровий діабет*?

Ще в I ст. н. е. цю хворобу описали римські лікарі *Цельс* і *Арет*, які відзначали в деяких хворих рясне сечовиділення, надмірну спрагу та втрату маси. У XVII ст. англійський лікар *Томас Уїлліс* помітив, що в пацієнтів із такими симптомами сеча має солодкуватий смак. У 1776 р. англійський лікар *Добсон* з'ясував, що солодкуватий смак сечі хворих пов'язаний з наявністю в ній цукру, і відтоді, власне, діабет почали називати *цукровим діабетом*. Пізніше, в XIX ст., було встановлено, що в тонкому кишечнику відбувається перетворен-

ня крохмалю на *глюкозу*, яка спочатку надходить у кров, а потім із кровоносного русла — у печінку, де і відкладається у формі *глікогену* (крохмалеподібної речовини, що складається із залишків молекул глюкози, з'єднаних в ланцюги).

На той час уже існували докази на користь того, що захворювання на цукровий діабет якимось чином пов'язане з *підшлунковою залозою.* Про це свідчили передусім дані про анатомію цієї залози, одержані після смерті хворих на діабет людей. У 1889 р. німецькі фізіологи *Йозеф фон Мерінг* і *Оскар Мінковський*, видаливши підшлункову залозу в собак, спостерігали в них різке підвищення концентрації глюкози в крові та сечі (де її не повинно бути), а також наявність симптомів, подібних до клінічних проявів цукрового діабету в людей, тобто вперше створювали цукровий діабет у тварин. У 1889 р. *Пауль Лангерганс* під час мікроскопічного дослідження підшлункової залози виявив характерні скупчення клітин, які назвав «*острівцями*», але їх значення для організму пояснити не зміг.

Наявність активної речовини в підшлунковій залозі було виявлено в 1909 р., а в 1916 р. британський фізіолог *А. Шарпі-Шафер* запропонував для неї назву — *інсулін* (*insula* — острів). Але доказів секреції інсуліну з підшлункової залози в кров і пояснень механізму його дії не було.

Ф. Бантинг поставив за мету виділити з підшлункової залози цю речовину, яка б сприяла одуженню хворих. Але спроби виділити таку речовину були невдалими. Цей гормон руйнувався протеолітичним ензимом, *трипсином*, ензимом *ацинозних клітин*. Це стало зрозуміло пізніше, коли з'ясувалося, що інсулін має поліпептидну будову.

Проте на той час вже було чітко відомо, що *підшлункова залоза* — орган із двома основними типами клітин. Один тип — це *ацинозні клітини*, що синтезують і секретують травні ензими, які виділяються в дванадцятипалу кишку і беруть участь у перетравленні компонентів їжі. Другий тип — *острівкові клітини* (*острівці Лангерганса*) синтезують гормон *інсулін* і виділяють його безпосередньо в кров. Інсулін сприяє поглинанню глюкози клітинами, де вона використовується як джерело енергії. Якщо клітини не можуть отримувати глюкози, то вони починають утилізувати жири, а саме жирні кислоти. Внаслідок цього виникає діабетичний кетоацидоз, коли в крові й тканинах людей підвищується вміст кетонових сполук і відбувається зміщення кислотно-лужної рівноваги у бік ацидозу. Такий стан призводить до летального фінішу.

У 1920 р. *Ф. Бантинг* прочитав статтю *Мозеса Баррона*, в якій було описано блокаду панкреатичного протоку жовчним камінням, унаслідок якої виникла атрофія ацинозних клітин залози. У Ф. Бантинга з'явилась ідея щодо стратегії виділення інсуліну, зокрема: перев'язати протоки підшлункової залози в собак, почекати п'ять-шість тижнів для руйнування ацинозних клітин, щоб у залозі не було ензимів, і виділити інсулін з острівців Лангерганса.

Ф. Бантинг висловив свою ідею *Ф.Р. Міллеру*, який запропонував розповісти про це фізіологу — професору Торонтського університету *Джону Дж. Р. Маклеоду* (*John James Rickard Macleod*), в якого було необхідне для дослідження обладнання і який теж цікавився діабетом. Після декількох візитів Ф. Бантинга до Д.Дж. Маклеода останній погодився виділити йому для досліджень лабораторне приміщення і десять собак, а допомагати Бантингу мав лаборант *Чарлз*

Бест (*Charles Herbert Best*) — студент-медик, який добре володів методикою визначення вмісту глюкози в крові та сечі.

Тому Ф. Бантинг звільнився з університету Західного Онтаріо і переїхав до Торонто. У травні 1921 р. Ф. Бантинг і Ч. Бест приступили до серії експериментів із перев'язування протоки підшлункової залози в собак, а Д.Дж. Маклеод поїхав відпочивати до Шотландії. До його повернення в Торонто в серпні (1921) дослідникам вже вдалося екстрагувати інсулін із острівцевої тканини підшлункової залози собак після перев'язки її протоків, а потім ввести його хворій на кетоацидоз тварині та показати, що рівень глюкози в крові став нормальним, а в сечі глюкоза була відсутня.

Цього самого 1921 р. Ф. Бантинг і Ч. Бест доповіли про результати досліджень на засіданні клубу «*Фізіологічного журналу*» Торонтського університету, а в грудні виступили перед членами Американського фізіологічного товариства в Нью-Хейвені (штат Коннектикут). На цій доповіді був присутній і Д.Дж. Маклеод, який надалі використав усі можливості своєї кафедри, аби отримати й очистити велику кількість інсуліну. Для цього він підключив біохіміка *Дж.Б. Колліпа*.

У січні 1922 р. у дитячій лікарні Торонто було вперше проведено успішне лікування інсуліном 14-річного хлопчика, в якого була важка форма цукрового діабету. Наступна серія клінічних досліджень дала можливість Ф.Бантингу визначити біологічну дію інсуліну і розробити основні рекомендації для його клінічного використання. Значну кількість інсуліну почали отримувати з підшлункової залози великої рогатої худоби.

Наприкінці 1922 р. Д.Дж. Маклеод доповів про відкриття інсуліну на засіданні Асоціації американських лікарів і зробив заяву для преси, з якої випливало, що саме він відкрив інсулін, а колеги лише йому допомагали.

Замість того, щоб запатентувати метод на отримання інсуліну і згодом казково розбагатіти, Ф. Бантинг передав усі права на нього Торонтському університету. Пізніше права на виробництво інсуліну перейшли до Канадської ради з медичних досліджень і вже наприкінці 1922 р. новий препарат з'явився на фармацевтичному ринку. Цукровий діабет як хвороба перестав бути летальним. Це унікальний випадок, коли новий лікарський засіб з'явився на ринку протягом одного року.

Багато століть люди не знали засобів для боротьби з цією хворобою, і діагноз «цукровий діабет» не залишав пацієнтові ніякої надії не тільки на одужання, а й на життя: без інсуліну — гормона, що забезпечує засвоєння тканинами глюкози, хворий організм існувати не може і приречений на повільне згасання.

Відкриття Фредеріка Бантинга та Джона Маклеода врятувало життя мільйонам хворих. І хоча цукровий діабет і до цього дня є невиліковним, завдяки інсуліну люди навчилися контролювати цю хворобу.

Визнанням першого великого досягнення XX ст. у галузі фізіології та медицини була Нобелівська премія, присуджена *Бантингу і Маклеоду* в 1923 р. «*за відкриття інсуліну*». Бантинг — наймолодший лауреат Нобелівської премії в цій галузі (на момент вручення йому було 32 роки).

Обурений тим, що серед лауреатів не було прізвища Ч. Беста, Ф. Бантинг не хотів отримувати премію, але потім погодився і віддав Ч. Бесту поло-

вину грошей, прилюдно відзначивши внесок останнього у відкриття інсуліну. Пізніше члени Нобелівського комітету дійшли висновку, що Ч. Беста також необхідно було включити в число нагороджених.

У 1922 р. Ф. Бантинг написав докторську дисертацію за результатами досліджень і отримав ступінь доктора медицини в Торонтському університеті. У 1923 р. влада провінції Онтаріо створила в Торонтському університеті Відділення медичних досліджень імені Бантинга і Беста, де Ф. Бантинг працював із 1930 р. Декретом Канадського парламенту Ф. Бантинг отримав довічну ренту. На його честь в Торонто було засновано Дослідницький фонд імені Ф. Бантинга, Інститут імені Ф. Бантинга, Бантинговські меморіальні читання.

Перед Другою світовою війною Ф. Бантинг захопився авіаційною медициною, а саме дослідженням впливу на людину польотів на великих висотах. У 1940 р. він добровільно вступив до канадських військово-повітряних сил як офіцер зв'язку взаємодії. Він доставляв важливі повідомлення з Канади до Англії. 21 лютого 1941 р. військовий літак, в якому летів Ф. Бантинг, зазнав катастрофи, і він загинув.

Король Георг V присудив Ф. Бантингу *дворянський титул* (звів у *лицарську гідність*), його також було обрано членом Лондонського королівського товариства, почесним членом Королівського коледжу хірургів і лікарів. Він отримав премію Рива в Торонтському університеті (1922), премію Камерона і почесне право читати лекції в Единбурзькому університеті (1927); медаль Флейвелла Королівського товариства Канади, почесні ступені в Куїнс-коледжі (Нью-Йорк) і Торонтському університеті. На його честь названо місячний кратер, астероїд (Banting) і медаль Бантинга Американської діабетичної асоціації від 1941 р. [1—3].

На знак визнання заслуг Ф. Бантинга Всесвітній день боротьби з діабетом відзначається в день його народження — 14 листопада.

Таким чином, ім'я *Фредеріка Г. Бантинга* назавжди увійшло не тільки в історію науки, а й в історію всього людства як людини, яка врятувала мільйони людей від смертельної недуги — *цукрового діабету*, що нині успішно лікується введенням препаратів *інсуліну* (методику його одержання розробили *Ф. Бантинг* і *Ч. Бест*). Інсулін — це перший протеїн (правильніше *поліпептид*), *повну амінокислотну послідовність* для якого встановив *Фредерік Сенгер*, за що одержав Нобелівську премію з хімії в 1958 р., а просторову структуру — нобелівський лауреат з хімії за 1964 р. — Дороті Ходжкін (*Dorothy Crowfoot Hodgkin*).

Інсулін — також перший протеїн, який отримали для фармацевтичних цілей біотехнологічним методом із використанням рекомбінантних ДНК.

Другим нобелівським лауреатом з фізіології та(або) медицини за 1923 р. був шотландський лікар і фізіолог *Джон Джеймс Ріккард Маклеод*.

ДЖОН МАКЛЕ́ОД

Маклеод Джон Джеймс Ріккард (Маклáуд; англ. *John James Rickard Macleod*) народився 06.09.1876 р. у м. Клюні, неподалік від м. Данкельд (графство Перт, Шотландія) у сім'ї священика Роберта та Джейн Гатрі (Макуолтер) Маклеодів. Початкову освіту він отримав у Абердинській гімназії. У 1893 р. продовжив навчання в Коледжі Маришал при Абердинському університеті, який закінчив у

Джон Маклéод (1986—1935)

1898 р. з відзнакою, здобувши ступінь бакалавра з медицини та хірургії, а також стипендію Андерсена для зарубіжного стажування. Наступний рік він провів у Лейпцизькому університеті в Німеччині, потім працював асистентом професора фізіології в Медичній школі при Лондонській клініці.

З 1903 до 1918 р. Дж. Маклеод — професор фізіології в Університеті Вестерн-Резерв (тепер Кейз-Вестерн-Резерв) у м. Клівленд (США). Саме тут він почав досліджувати метаболізм вуглеводів і хворобу із сучасною назвою «*цукровий діабет*». Працюючи в цьому університеті, Маклеод розробив *експериментальну модель глюкозурії* (вміст глюкози в сечі, тоді як зазвичай вона там відсутня) і провів дослідження з визначення ролі центральної нервової системи в розвитку цукрового діабету. Він написав багато статтей з метаболізму вуглеводів, а також серію з 12 статей із глюкозурії. У 1916 р. британський фізіолог Едвард А. Шарпі-Шефер запропонував назвати гіпотетичну речовину підшлункової залози, яка мала властивості знижувати цукор у крові, *інсулайном* (згодом Маклеод замінив цей термін на «*інсулін*»). Хоча Маклеод і бачив зв'язок між підшлунковою залозою і цукровим діабетом, проте не міг точно визначити роль цього органа в розвитку захворювання. Розібратися в цьому йому допомогли ідеї й експерименти Ф. Бантинга.

У 1918—1928 рр. Д.Дж. Маклеод працював професором фізіології медичного факультету Торонтського університету в Канаді, де була чудова матеріально-технічна база для досліджень. Завдяки йому саме тут Ф. Бантинг отримав необхідне обладнання та знайшов помічника Чарлза Беста для проведення експериментів з одержання інсуліну з підшлункової залози собак, про що вже йшлося. Зазначимо, що згодом Д.Дж. Маклеод використав всі свої можливості на кафедрі, щоб за методикою, розробленою Ф. Бантингом і Ч. Бестом, отримати велику кількість *інсуліну*. В цьому йому допоміг біохімік *Дж.Б. Колліп,* який *одержав спиртовий екстракт інсуліну з підшлункової залози бика*, надалі інсулін почали отримувати з підшлункової залози великої рогатої худоби, забитої на бойні.

І вже наприкінці 1922 р. *Медичною науково-дослідною лабораторією ім. Коннота Торонтського університету* та фармацевтичною фірмою «*Eli Lilly and Company*» (штат Індіана, США) було налагоджено комерційне виробництво *інсуліну. Патентні права на його виробництво було передано Канадській раді з медичних досліджень.* Жоден із членів робочої групи науковців не отримав від цього ніякого зиску.

Після присудження Нобелівської премії, як і Ф. Бантинг, Д. Дж. Маклеод розділив свою премію «*за відкриття інсуліну*» та віддав половину грошей Дж. Колліпу.

Але повернемося до Дж. Маклеода, основні наукові роботи якого присвячено вивченню обміну вуглеводів і його регуляції. На підставі результатів чис-

ленних фізіологічних досліджень він дійшов висновку, що в мозку є регуляторний *діабетичний центр*, а гліконеогенез у печінці регулюється *парасимпатичною нервовою системою*.

Ці результати висвітлено в його численних публікаціях, серед яких слід відзначити монографію «*Інсулін і його використання у випадку діабету*» («*Insulin anb It's Uses in Diabetes*»), опубліковану в 1925 р. У 1926 р. вийшла його праця «*Метаболізм вуглеводів і інсулін*» («*Carbohydrate Metabolism and Insulin*»), а ще за два роки — цикл лекцій, які він прочитав у Принстонському університеті під назвою «*Паливо життя*» («*Fuel for Life*»).

У 1928 р. Дж. Маклеод отримав посаду професора — керівника фізіологічних досліджень у Абердинському університеті (Шотландія), де згодом став деканом медичного факультету. Він користувався повагою серед колег і студентів за свої організаторські здібності та людяність, високий рівень досліджень і педагогічну майстерність. Слід віддати належне його стійкості й мужності в останні роки життя, коли, незважаючи на біль та інвалідність (тяжка форма артриту), він майже до самої смерті продовжував керувати дослідницькою роботою своєї лабораторії.

Помер Дж. Маклеод 16 березня 1935 р. у м. Абердин (Шотландія).

Після відкриття і виділення інсуліну Дж. Маклеод, крім Нобелівської премії в галузі фізіології або медицини разом з Ф. Бантингом (1923), був удостоєний багатьох нагород і почестей, зокрема премії Камерона (1923); він був членом Лондонського і Канадського королівських товариств, Американського фізіологічного товариства, Королівського канадського інституту, іноземним членом Філадельфійського коледжу лікарів, почесним академіком Королівської академії медицини в Римі, Королівського коледжу лікарів [4—6]. Його ім'я було введене в Канадський зал медичної слави (2012).

Відкриття та дослідження *інсуліну* виявилось важливим кроком у новому напрямі *біохімічної ендокринології* — вивченні регуляції обміну речовин на прикладі регуляції обміну вуглеводів. Ідея, яка дала початок цим фундаментальним дослідженням, належала *Бантингу*, але без обладнання, рекомендацій та співпраці, наданих *Маклеодом*, ці дослідження не змогли б досягти таких швидких і блискучих результатів. Відкриття інсуліну було грандіозним внеском у практичну медицину і дало змогу зберегти життя тисячам і тисячам хворих на *цукровий діабет*.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЖОВЧНИХ КИСЛОТ І СПОЛУК СТЕРОЇДНОЇ ПРИРОДИ

Наприкінці XIX—у першій половині XX ст. у розвитку біологічної та біоорганічної хімії величезну роль відіграли роботи зі встановлення структури низькомолекулярних природних сполук, таких як *стерини*, *терпени*, а також *гормони і вітаміни стероїдної природи*.

Значний внесок у цьому напрямі було зроблено німецькою школою хіміків-органіків, а саме Г. Віландом і А. Віндаусом.

Так, Нобелівську премію з хімії в 1927 р., фактично за біохімічні дослідження, отримав німецький хімік-органік і біохімік Генріх Віланд «*за дослідження жовчних кислот і структуру багатьох подібних речовин*».

ГЕНРІХ ОТТО ВІЛАНД

Генріх Отто Віланд (нім. *Heinrich Otto Wieland*) народився 04.06.1877 р. у м. Пфорцхайм (земля Баден) у сім'ї фармацевта Теодора і Елізи (Блом) Віландів. Отримавши початкову та середню освіту в місцевих школах, він вивчав хімію в університетах Мюнхена, Берліна і Штутгарта. В 1901 р. йому було присуджено докторський ступінь у Мюнхенському технічному університеті, де надалі він спочатку працював лектором, а в 1909 р. став ад'юнкт-професором. Через чотири роки Г. Віланда призначили професором Мюнхенського технічного університету. У 1917—1918 рр. він працював в Інституті фізичної хімії й електрохімії кайзера Вільгельма в Берліні, де разом з Ф. Габером брав участь у розробці хімічної зброї.

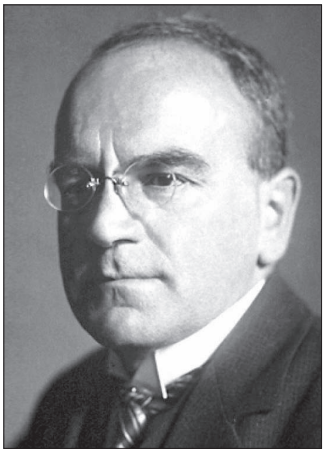
Після Першої світової війни *Г. Віланд* повернувся до Мюнхенського технічного університету на свою колишню посаду професора, яку обіймав до 1921 р. Потім протягом трьох років працював у Фрайбурзькому університеті. В 1924 р. він повернувся до Мюнхенського технічного університету вже на посаду завідувача кафедри органічної хімії та директора лабораторії Байєра, названої на честь відомого хіміка — нобелівського лауреата Адольфа фон Байєра. На цій посаді він працював до виходу на пенсію в 1950 р.

Протягом своєї наукової діяльності Г. Віланд займався багатьма проблемами і зробив значний внесок до різних напрямів органічної хімії. З біохімічної точки зору цікавими були його роботи з дослідження окиснення органічних сполук дегідруванням: *він показав перетворення ацетатів на янтарну (бурштинову) кислоту в дріжджах за відсутності кисню.* Основні положення *теорії окиснення органічних сполук* як відщеплення від них водню, тобто їх *дегідрування, Г. Віланд* сформулював у 1912 р. Він також з'ясував механізм участі в реакціях окиснення *залізовмісних каталізаторів як агентів дегідрування.* Це вплинуло і на розвиток уявлення про біологічне окиснення за участю ензимів *дегідрогеназ.* Г. Віланд вважав, що окиснення багатьох органічних і неорганічних сполук відбувається через видалення з них атомів водню, тобто дегідруванням.

Майже в той самий час (1908) відомий фізіолог і біохімік рослин *Володимир Іванович Палладін* у Санкт-Петербурзі висунув *теорію біологічного окиснення речовин*, в якій особливе місце займав *водень.* Згідно з цією теорією в окисненні органічних речовин беруть участь *рослинні пігменти* (*хромогени*). Вони легко знебарвлюються у випадку приєднання до них водню від органічних речовин, а потім у разі відщеплення від пігментів водню вони знову забарвлюються. Ці пігменти В.І. Палладін назвав «*дихальними хромогенами*». За наявності кисню та відповідних ензимів водень від відновлених пігментів може акцептуватися киснем. Теорія В.І. Палладіна виявилася правильною не тільки стосовно окиснення органічних речовин у рослинах за участю пігментів, а й у тваринних організмах.

Отже, праці *Г. Віланда* і *В.І. Палладіна* створили підґрунтя для сучасних теоретичних уявлень щодо механізму біологічного окиснення та шляхів використання хімічної енергії в живих організмах.

Ще один напрям наукових досліджень, яким зацікавився Г. Віланд у 1912 р. і продовжував працювати за ним все подальше життя, стосується *хімії жовчних кислот* — речовин, що містяться в жовчному міхурі та сприяють за-



Генріх Отто Віланд
(1877—1957)

своєнню ліпідів. Використовуючи класичні методи органічної хімії, позбавлений можливості застосувати такі сучасні технології наукового дослідження, як спектрометрія, хроматографія та рентгенівський аналіз, Віланд зробив те, що пізніше описав як «*довгий і невимовно виснажливий перехід через безплідну пустелю структури*». Він показав, що *холеву, дезоксихолеву і літохолеву* кислоти можна перетворити на *холанову кислоту*. Це свідчило про те, що жовчні кислоти мають однаковий вуглецевий каркас, а розрізняються між собою лише кількістю приєднаних до нього *гідроксильних груп*. Майже одночасно *Адольф Віндаус* перетворив *холестерол* на *холанову кислоту* і, таким чином, показав тісний зв'язок між *жовчними кислотами* та *холестеролом*. Наступний крок, який здійснила група вчених під керівництвом Віланда, — розщеплення жовчних кислот. Були одержані, але не дуже переконливі, результати щодо розмірів вуглецевих кілець.

У 1932 р. англійські хіміки Отто Розенхейм і Геролд Кінг методом рентгенівської кристалографії показали, що жовчні кислоти і холестерол є *стероїдами*, в основі структури яких є *циклопентанпергідрофенантренове* (стеролове) ядро, що складається з конденсованих між собою трьох насичених шестичленних кілець і одного насиченого п'ятичленного кільця. Г. Віланд припустив, що, оскільки жовчні кислоти з'єднуються з жирами і вуглеводами з утворенням колоїдного розчину у воді, їх фізіологічна функція полягає в тому, що вони переводять нерозчинні у воді жири їжі в емульгований стан.

У 1927 р. за дослідження жовчних кислот Г. Віланду було присуджено Нобелівську премію з хімії. У своєму вступному слові від імені Шведської королівської академії Х.Г. Седербаум вказав на важливість робіт нобеліанта, підкресливши, що це «*...без сумніву, є найскладніша робота, з якою будь-коли зустрічалась органічна хімія*». Він також зазначив: «*Г. Віланд виділив із жовчі насичену кислоту, яку можна вважати за вихідну речовину для синтезу всіх жовчних кислот*». Це дослідження Х.Г. Седербаум порівняв з відкриттям А. Віндауса: «*Коли А. Віндаус... отримав таку саму вихідну речовину, холанову кислоту, з холестеролу, це ясно свідчило про тісну взаємодію між холестеролом і жовчними кислотами*».

Нині відомо, що в гепатоцитах печінки холестерол перетворюється на *жовчні кислоти* — важливі компоненти жовчі, що беруть участь у перетравлюванні харчових жирів у кишечнику людини і тварин. Жовчні кислоти є гідроксильованими похідними *холанової кислоти*. До них належать такі сполуки: *холева*, *дезоксихолева*, *хенодезоксихолева* та *літохолева* кислоти. А їхню будову встановив саме Г. Віланд.

Упродовж всього життя Г. Віланд вивчав хімію речовин, які трапляються в живій природі: *морфію та стрихніну, алкалоїдів кураре і лобелії, отруйних ци-*

клопептидів — фалоїдину й аманітину з блідої поганки, а також пігментів крила метеликів (птеринів).

Між іншим, один з його трьох синів — Теодор — визначив точну структуру *фалоїдину*, а донька вийшла заміж за *Феодора Лінена*, який у 1964 р. отримав Нобелівську премію в галузі фізіології та(або) медицини «*за відкриття, пов'язані з механізмом і регуляцією метаболізму холестеролу та жирних кислот*». Тому Г. Віланда можна вважати родоначальником династії дослідників із вивчення стероїдних сполук.

Генріх Віланд багато зробив протягом життя: він був енергійною людиною з надзвичайною працездатністю; любив малювати, грати на музичних інструментах. Маючи надзвичайні енциклопедичні знання з хімії, вчений протягом 20 років був редактором журналу «*Лібігс аннален дер хемі*» («*Liebig's Annalen der Chemie*»), а також членом багатьох наукових товариств: Лондонського королівського товариства, Американської національної академії наук, хімічних товариств Лондона, Румунії, Японії, Індії, Радянського Союзу, а також академії наук в Мюнхені, Геттінгені, Гейдельберзі та Берліні. У 1955 р. Німецьке хімічне товариство нагородило Г. Віланда першою премією Отто Гана за дослідження в галузі фізики та хімії. Він мав почесні ступені університетів Фрайбурга й Афін [7—11].

Основні наукові досягнення Г. Віланда пов'язані з дослідженням хімії стероїдів, жовчних кислот, пігментів, а також біологічного окиснення. Незалежно від А. Віндауса, *він встановив будову жовчних кислот і дослідив їхні властивості, а також запропонував формули холестеролу та холевої кислоти*, які пізніше уточнили *А. Віндаус*, *П.Г. Дільсон* і *Л.С. Ружичка*. Можна вважати, що саме Г. Віланд започаткував хімію та біохімію стероїдних речовин, що і було відзначено почесною нагородою — Нобелівською премією. Наукова діяльність Г. Віланда — приклад використання знань і здібностей вченого для виконання різноманітних, часто далеких одне від одного, але логічно супідрядних завдань, які він вирішував за участю та за допомогою численних учнів і співробітників.

Одночасно з Г. Віландом дослідженням сполук стероїдної природи займався німецький хімік-органік і біохімік Адольф Віндаус, який отримав Нобелівську премію з хімії в 1928 р. з таким формулюванням: «*за роботи з вивчення структури стеринів й їх зв'язку з вітамінною групою*».

АДОЛЬФ ВІНДАУС

Адольф Отто Рейнгольд Віндаус (нім. *Adolf Otto Reinhold Windaus*) народився 25.12.1876 р. у Берліні в родині текстильного фабриканта Адольфа і Маргарет (Ельстер) Віндаус, в сім'ї, далекій від науки. Хлопчик отримав середню освіту у французькій гімназії в Берліні, де вивчали переважно літературу, а науці приділялося дуже мало часу. Але Віндаус, натхненний книгами про відкриття в галузі бактеріології, зроблені *Робертом Кохом* і *Луї Пастером*, вирішив стати лікарем. З цією метою він у 1895 р. вступив до Берлінського університету, а також відвідував лекції з хімії *Еміля Фішера*, який вмів запалити вогонь до науки і про якого вже йшлося [12]. Потім він продовжив навчання у Фрайбурзькому університеті, де вивчав хімію у відомого німецького хіміка *Генріха Кіліані,* і, вирішивши відмовитися від колишніх планів про медичну кар'єру, напи-

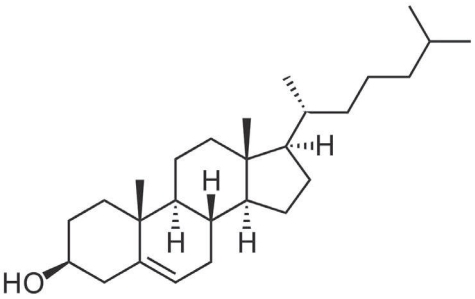
сав дисертацію, присвячену серцевим отрутам, зокрема *дигіталісу*, за яку йому в 1899 р. було присвоєно докторський ступінь з хімії.

Адольф Віндаус (1876—1959)

Відслуживши рік військовим у Берліні, Віндаус повернувся до Фрайбурга, де у 1903 р. став лектором, а три роки потому — асистент-професором. У 1913 р. його призначили професором прикладної медичної хімії в Інсбрукському університеті в Австрії, а у 1915 р. він повернувся до Німеччини, обійнявши посаду професора хімії та директора лабораторії загальної хімії (нині — Хімічний інститут) Геттінгенського університету, де пропрацював 29 років.

На початку наукової діяльності А. Віндауса цікавили *отрути* і він, як зазначалося, вивчав токсини відомої рослини наперстянки — *дигіталісу. Дигіталіс — серцева отрута, що є сумішшю глікозидів.* Зауважимо, що структуру *дигітоксину*, одного з токсинів дигіталісу, А. Віндаус зміг встановити лише в 1925 р., через 26 років після захисту докторської дисертації. У структурі *дигітоксину* є три шестичленних кільця і одне п'ятичленне кільце, як і в структурі *холестеролу*, тобто він належить до групи *стеролів.* У 1909 р. А. Віндаус відкрив явище осадження дигітоніном холестеролу, а потім й інших стеролів.

Але головним напрямом досліджень, які проводив Віндаус, було встановлення зв'язку між біологічно важливими хімічними речовинами. Кіліані запропонував йому зайнятися вивченням будови *холестеролу.* В той час мало було відомо про структуру та функції цієї широко розповсюдженої речовини, і Віндаус вважав, що вона має бути тісно пов'язана з іншими біологічними сполуками, відомими як «стероли». Стероли (складні органічні сполуки, що не містять азоту і складаються з чотирьох плоских кілець із різними бічними ланцюгами) в різних формах зустрічаються в клітинах тварин, рослин, зокрема грибів. Найвідоміший з них, *холестерол*, було вперше виявлено в жовчному камені людини. Холестерол часто пов'язують із серцевими захворюваннями і атеросклерозом; він зустрічається у великій кількості в клітинах мозку й корі надниркових залоз.



Молекула холестеролу

Першою працею А. Віндауса, присвяченою холестеролу, була його дисертація «*Про холестерол*», подана в 1903 р. на конкурс із заміщення професорської посади у Фрайбурзькому університеті. Але сталий успіх прийшов до нього після відкриття явища *осадження дигітоніном холестеролу.* В 1919 р. А. Віндаус із холестеролу одержав *холанову кислоту*, яку трохи раніше виділив Г. Віланд із жовчних кислот, довівши тим самим хімічну спо-

рідненість холестеролу та жовчних кислот. Лише в 1932 р. вийшла праця, в якій А. Віндаус навів остаточно встановлену ним формулу *холестеролу*. Але й тоді залишалось нез'ясованим питання: чи відповідає хімічна спорідненість холестеролу та жовчних кислот біологічному зв'язку між цими сполуками.

У цей період наукової діяльності А. Віндаус зацікавився дослідженням *вітамінів — органічних речовин*, необхідних для нормального функціонування організму людини та тварин. Вітаміни активно досліджувались з 1897 р., починаючи з робіт Х. Ейкмана, і вже у 20-х роках XX ст. вивчення вітамінів набуло активних темпів. Але будова вітамінів залишалась невідомою, а їх характеристика зводилась не далі ніж вплив на фізіологічний стан людини та тварин. Так, давно було відомо, що захворювання на рахіт у людей зустрічається, переважно, в тих регіонах, де мало сонця. Лікується воно певними жирами з печінки риб, у складі яких є речовина, яку називали *вітамін D*. Виліковуються також ті хворі, яких опромінювали *ультрафіолетовим промінням*. У 1924 р. американський фізіолог *Альфред Гесс* довів, що рахіт лікують і різні види їжі, яку опромінювали ультрафіолетовим промінням. Це відкриття привело до створення теорії існування *провітаміну* — речовини, яка за впливу, наприклад, ультрафіолетового проміння перетворюється на вітамін. Аналіз опромінених продуктів харчування показав, що провітамінами в них є *стероли*.

Як провідного спеціаліста зі стеролів А. Гесс запросив А. Віндауса до США з метою провести роботу з визначення хімічної структури *вітаміну D* і його *провітаміну*. А. Віндаус від самого початку вважав, що провітаміном вітаміну D є *холестерол*, оскільки останній під впливом ультрафіолетового опромінення набуває властивостей вітаміну D. При цьому в дослідному зразку була невелика домішка, яку в 1927 р. А. Гесс і А. Віндаус назвали *ергостеролом*. А чистий *вітамін* D_2, або *кальциферол*, було отримано під час опромінення *ергостеролу* ультрафіолетом. У 1932 р. А. Віндаус і його колеги показали, що *провітаміном D* є ще одна сполука — *7-дегідрохолестерол*. Саме ця речовина, яку назвали *вітаміном* D_3, виявляла значну фізіологічну дію, бо утворювалася природним шляхом в організмі людини та тварин. Пізніше А. Віндаус написав: «*Із жодним іншим вітаміном процес дослідження не йшов такими дивними і болісними шляхами*».

А. Віндаус також вивчав хімічну будову сапонінів, серцевих глікозидів та інших біологічно активних речовин.

У 1928 р. А. Віндауса було удостоєно Нобелівської премії з хімії. У вступному слові під час вручення премії від Шведської королівської академії наук Х.Г. Седербаум зазначив: «*Унаслідок терплячої та висококваліфікованої роботи А. Віндаусу вдалося отримати в чистому стані декілька дигіталіс-глюкозидів і їхніх сполук... Таким чином, було доведено, що ці серцеві отрути рослинного походження безпосередньо пов'язані, з одного боку, з холестеролом і жовчними кислотами, а з іншого — з серцевою отрутою тваринного походження — буфотоксином, який з великим успіхом вивчав Генріх Віланд*». Х.Г. Седербаум підкреслив також важливе значення досліджень А. Віндаусом хімічної структури вітаміну D.

Дещо раніше у співпраці з біохіміком *Францем Кноопом* А. Віндаус вивчав реакцію взаємодії цукрів з аміаком із метою перетворити вуглеводи на аміно-

кислоти. Продукти реакції виявились похідними *імідазолу*; їх аналіз дав можливість виявити амінокислоту *гістидин* і його амін — *гістамін*, який спричинює розширення кровоносних судин і відіграє певну роль у виникненні *алергії та запальних процесів*. Результатами цих досліджень зацікавилися концерн «*І.Г. Фарбеніндустрі*» та інші німецькі хіміко-фармацевтичні компанії, які забезпечили А. Віндауса всім необхідним для подальших робіт з дослідження *гістаміну*.

Водночас два нідерландські хіміки Б.К.П. Янсен і У.Ф. Донат припустили, що до складу вітаміну B_1 — тіаміну входить імідазольне кільце. Але А. Віндаус довів, що в цьому вітаміні, окрім *кільця тіазолу* і *кільця піримідину*, є *атом сірки*, але немає імідазольного кільця. Пізніше вчений вивчав будову *колхіцину*, який використовували для лікування онкологічних захворювань. У 1932 р. А. Віндаус встановив структуру стеролового кільця, що дало змогу його асистенту *Адольфу Бутенандту* розкрити будову *статевих гормонів*, за що він й одержав Нобелівську премію з хімії.

Після 1938 р. А. Віндаус не займався науковими дослідженнями, а в 1944 р. вийшов у відставку з Геттінгенського університету.

Помер вчений у 1959 р. у віці 82 роки у Геттінгені. За словами його учня Г. Інгхоффена, він був вимушений «*...випустити з рук хімічний посуд*».

А. Віндаус мав багато нагород, зокрема медаль Луї Пастера Французької академії наук (1938), медаль Гете Інституту Гете і німецький державний великий орден «За заслуги» із зіркою (1956). Його удостоєно почесних ступенів Геттінгенського, Мюнхенського, Фрейбурзького і Ганноверського університетів [13—16].

Фундаментальні та широкомасштабні роботи Адольфа Віндауса з вивчення структури стероїдів, особливо холестеролу, дали йому можливість встановити *формули холестеролу та холевої кислоти, вітаміну D_2 і брутто вітаміну B_1*. Головною заслугою хіміка-органіка перед біохімічною наукою є те, що він розпочав велику роботу з дослідження структури і біологічного значення вітамінів групи D.

ДОСЛІДЖЕННЯ ХІМІЇ ТА БІОХІМІЇ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ

Дослідження сполук стероїдної природи продовжив *Адольф Бутенандт* — німецький хімік-органік, біохімік і фізіолог. Він вивчав і довів структуру *статевих гормонів,* за що й отримав Нобелівську премію з хімії за 1939 р., розділивши її зі швейцарським хіміком-органіком *Леопольдом Ружичкою.* Останній отримав премію «*за дослідження терпенів, органічних сполук, які було знайдено в оліях рослин*».

АДОЛЬФ БУТЕНАНДТ

Адольф Фрідріх Йоганн Бутенандт (нім. *Adolf Friedrich Johann Butenandt*) народився 24.03.1903 р. у Лєє (нині — частина міста Бремергафен) у родині гамбурзького бізнесмена Отто і Вільгельміни (Томпторд) Бутенандт. Після закінчення середньої школи в Бремергафені в 1921 р. Адольф вступив до Марбурзького університету, де вивчав хімію та біологію. Потім він продовжив навчан-

Адольф Бутенандт
(1903—1995)

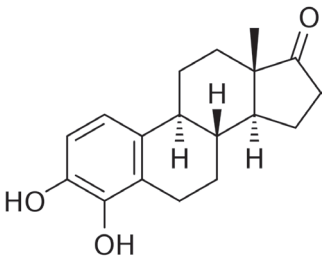
ня в Геттінгенському університеті в Адольфа Віндауса. Лекція про використання молекули холестеролу в численних біологічних процесах, прочитана А. Віндаусом у 1924 р., стала вирішальною для обрання А. Бутенандтом наукового напряму досліджень. Пізніше він згадував: «*І форма, і зміст лекції... відповідали моєму власному науковому шляху, який я шукав — на межі хімії та біології*». Докторський ступінь з хімії А. Бутенандт отримав у 1927 р. у Геттінгенському університеті за дослідження ротенону — сполуки, яка використовується в інсектицидах, і став асистентом в університетському Інституті хімії.

Приблизно в той самий час керівник науково-дослідного відділу хіміко-фармацевтичної фірми «*Шерінг корпорейшн*» *Вальтер Шоллер* звернувся до А. Віндауса з проханням: допомогти йому в проведенні досліджень хімічної структури *жіночих статевих гормонів*. А. Віндаус запропонував провести цю роботу А. Бутенандту, що вирішило подальшу долю останнього. Фармацевтична фірма надала йому концентровані екстракти біологічно активної гормональної речовини, одержаної із сечі вагітних жінок. Із цього матеріалу А. Бутенандт у 1929 р. *виділив у кристалічному стані жіночий статевий гормон, який назвав фолікуліном*, оскільки він утворюється у фолікулах яєчника. Пізніше гормон назвали *естрон*, який є *естрогеном*; стимулюючи розвиток жіночих статевих ознак, він визначає особливості будови жіночого організму.

Саме тоді, незалежно від *А. Бутенандта*, американський біохімік *Едуард Дойзі синтезував естрон і отримав його в кристалічному стані* (Е. Дойзі отримав Нобелівську премію з фізіології або медицини в 1943 р. за відкриття хімічної структури вітаміну К). А в 1931 р. А. Бутенандт і його колеги підтвердили відкриття другого жіночого статевого гормону — *естрогену,* зроблене у Великій Британії *Г.Ф. Мерріаном*. Цей гормон назвали *естріолом*.

У тому самому 1931 р. А. Бутенандт із співробітниками виділили та хімічно ідентифікували *чоловічий статевий гормон*, одержали його в кристалічному стані і назвали *андростероном*. Пізніше було доведено, що за хімічною структурою він споріднений з основним чоловічим статевим гормоном — *тестостероном*.

У 1931 р. А. Бутенандт став приват-доцентом (позаштатним викладачем) на кафедрі біологічної хімії, виконуючи одночасно обов'язки керівника лабораторії неорганічної та органічної хімії в Геттінгенському університеті. В 1933—1936 рр. він був професором хімії і директором Інституту органічної хімії при Вищій технічній школі в Данцігу.



Молекула естрону

У 1936 р. Макс Планк, президент Товариства кайзера Вільгельма — установи, яка контролювала

всі наукові дослідження в Німеччині, запропонував А. Бутенандту очолити *Інститут біохімії кайзера Вільгельма* (нині — *Інститут Макса Планка*) *у Берліні*. Після переїзду інституту до Мюнхена він став професором фізіологічної хімії Мюнхенського університету (1956—1972). Після виходу у відставку А. Бутенандта удостоїли звання почесного професора цього університету.

Але повернемось до наукової діяльності А. Бутенандта. Отримавши *естрогени* та *андростерон* у чистому стані, він поставив за мету встановити точну хімічну структуру естрогенних гормонів — *естрону* і *естріолу*. Кристалографічний аналіз за допомогою рентгенівського випромінювання дав можливість припустити наявність структурного зв'язку цих гормонів зі стеролами типу *холестеролу*. Використовуючи спектрографічний і хімічний аналіз, А. Бутенандт із колегами в 1932 р. довели, що біологічна активність *естрону* та *естріолу* залежить від подвійних вуглецевих зв'язків у циклічній структурі молекули стеролу, а ядром кожного гормону є кільце фенантрену, яке містить дві метильні групи.

Це відкриття мало особливе значення, оскільки показало, що *жіночі статеві гормони та стероли* (*холестерол і жовчні кислоти*) хімічно споріднені. Пізніше було виявлено, що саме *холестерол* є вихідною хімічною сполукою для синтезу чоловічих і жіночих статевих гормонів у організмі людини.

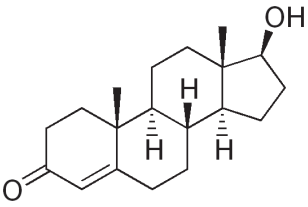
У 1934 р. А. Бутенандт і його колеги отримали в кристалічному стані *прогестерон* — гормон, який готує матку до імплантації запліднeного яйця. Вони довели, що *прогестерон* і його похідне *прегнандіол*, одержаний із сечі вагітних жінок, також хімічно споріднені. П'ять років потому він синтезував *прогестерон* з його попередника — *холестеролу*.

Бутенандт зі співробітниками допомогли з'ясувати і структуру *андростерону*, виявивши, що в ньому міститься на один атом вуглецю більше, ніж в *естрогенах*, і на 8 атомів водню більше, ніж в *естроні*. Вони також з'ясували, що подібно до естрогенів, андростерон є також *стеролом*.

У 1935 р. *Ернст Лако* виділив з яєчок бика головний чоловічий гормон — *тестостерон* у кристалічному стані. Того самого року *А. Бутенандт* і *Л. Ружичка* незалежно один від одного синтезували *тестостерон* з його біологічного попередника — *холестеролу*. А. Бутенандт встановив, що чоловіча гормональна активність визначається подвійним зв'язком між 4-м і 5-м атомами вуглецю в стероловому ядрі. Якщо подвійний зв'язок наявний між 1-м і 2-м атомами вуглецю, то виникають *жіночі естрогени*. Іншими словами, він відкрив біохімічний шлях взаємоперетворення чоловічих і жіночих статевих гормонів унаслідок того, що в основі цих гормонів лежить *стеролове ядро*.

Відкриття А. Бутенандтом цих специфічних хімічних перетворень, пов'язаних з біологічною активністю, — один із найважливіших аспектів у його дослідженні хімії статевих гормонів.

У 1939 р. Адольфу Бутенандту було присуджено Нобелівську премію з хімії «за роботи зі статевих гормонів», яку він розділив з Леопольдом Ружичкою. Але тоді розпочалася Друга світова війна, і Бутенандт отримав премію в Стокгольмі тільки в 1949 р.



Молекула тестостерону

У роки війни вчений продовжував працювати в Інституті біохімії в Берліні, де разом із зоологом *Альфредом Куном* досліджував проблему генетичного регулювання біосинтезу пігментів ока в комах. Їм пощастило довести, що специфічні гени є відповідальними за синтез специфічних ензимів, які є каталізаторами в процесі утворення пігментів ока з амінокислоти *триптофану*. Ці очні пігменти утворили новий клас біологічно активних сполук. Проведене Бутенандтом вивчення гіпотези «один ген — один ензим» збіглося в часі з дослідженнями цього питання американськими вченими — майбутніми нобелівськими лауреатами *Джорджем У. Бідло*м і *Едуардом Л. Тейтемом*.

Після війни Інститут біохімії кайзера Вільгельма переїхав до Тюбінгена і А. Бутенандта призначили професором фізіологічної хімії. В 1953 р. він разом із колегою *Петером Карлсоном* вперше виділили у кристалічному стані гормон комах — *екдизон*, який також виявився похідним *холестеролу* і спорідненим зі статевими гормонами ссавців.

Із переїздом Інституту біохімії кайзера Вільгельма до Мюнхена в 1956 р. А. Бутенандт став професором фізіологічної хімії Мюнхенського університету. Тут він одержав *бомбікол* — речовину, яка належить до нового класу біологічних сполук, названих *феромонами*, і з'ясував його природу.

Помер А. Бутенандт 18 січня 1995 р. в Мюнхені у віці 91 рік.

Протягом 1960—1972 рр. А. Бутенандт був президентом Товариства Макса Планка. В нього було багато нагород, серед яких Великий хрест ордена «За федеральну службу» уряду ФРН (1959), французький орден Почесного легіону (1969), медаль Адольфа фон Харнака від Товариства Макса Планка (1973). Крім того, вчений мав почесні ступені університетів Граца, Лідса, Мюнхена, Мадрида і Тюбінгена, був почесним членом Нью-Йоркської академії наук, Японського біохімічного товариства, академій наук Австрії і Франції, Лондонського королівського товариства [17—20].

Таким чином, продовжуючи роботи славетних попередників у галузі дослідження стеролів — Г.О. Віланда і А.О. Віндауса, Адольф Бутенандт зробив значний внесок у розшифровку хімічної структури жіночих і чоловічих статевих гормонів, а також механізму їх перетворення. Він був прихильником гіпотези «*один ген — один ензим*».

Ще одним нобеліантом за 1939 р. з хімії був швейцарський хімік-органік хорватського походження *Леопольд Ружичка*, якому премію присуджено «*за роботи з поліметиленів і вищих терпенів*».

ЛЕОПОЛЬД РУЖИЧКА

Леопольд Ружичка (хорв. *Lavoslav (Leopold) Ružička*) народився 13.09.1887 р. у сім'ї бондаря Стжепана Ружички і Амалії (Север) Ружички в Австро-Угорщині в хорватському місті Вуковарі. У 1891 р., після смерті батька, Ружичка з матір'ю та братом переїхали до родичів у Осієк. Тут майбутній учений закінчив початкову школу і гімназію. У 1906 р. Ружичка вступив до Технічного університету в Карлсруе (Німеччина). Завершивши вищу освіту в рекордний термін — всього лише за два роки, Ружичка під керівництвом *Германа Штаудінгера* (майбутнього нобелівського лауреата з хімії, 1953) став готувати докторську дисертацію. У 1910 р. він отримав одночасно диплом інженера за роботу з досліджен-

ня кінетичної здатності кетенів і докторський ступінь за дисертацію «*Фенілметилкетен*» і відразу почав працювати асистентом у Штаудінгера.

Леопольд Ружичка
(1887—1976)

У 1912 р. Штаудінгера призначили директором Федерального технологічного інституту в Цюріху. Ружичка поїхав за ним. Упродовж наступних чотирьох років він допомагав Штаудінгеру в проведенні досліджень з хімії природних інсектицидів, які синтезуються рослиною *Chrysanthemum cinerariefolium*, що врешті-решт сприяло розвитку промислового виробництва штучних пестицидів. Ружичка зацікавився хімією природних речовин, і в 1916 р. оголосив Штаудінгеру про рішення зайнятися самостійними дослідженнями, за що той і позбавив його підтримки.

У 1917 р. Ружичка став швейцарським громадянином. Того самого року німецька фірма з виробництва парфумів «*Гаарман і Реймер*» надала йому позику для розроблення способу синтезу *ірона*, ароматичної речовини із запахом фіалок. Приблизно в цей самий час він посів посаду лектора Федерального технологічного інституту в Цюріху, яка була невигідною з матеріальної точки зору, але відкривала молодому вченому доступ до інститутських хімічних лабораторій.

Протягом 1918—1921 рр. Ружичка проводив дослідження за замовленням швейцарської хімічної фірми «Гессельшафт фюр хеміше індустрі» («Сіба А.Г.»), а в 1920 р. став лектором з хімії в Цюріхському університеті. Попри те, що в 1923 р. Федеральний технологічний інститут вибрав його професором, Ружичка все ще не отримував там платні. Тому в 1926 р. він почав працювати в лабораторіях Женевської парфумерної фабрики.

У 1926 р. Ружичку обрали професором органічної хімії Утрехтського університету (Голландія). На цій посаді він працював до 1929 р., а потім повернувся до Цюріха як *директор Федерального технологічного інституту*, ставши наступником Ріхарда Куна. За ці роки Ружичка набув популярності завдяки дослідженням *терпенів* — органічних сполук, виявлених у рослинних оліях. Він також вивчав інші *аліциклічні (поліметиленові) сполуки*, кетони та багато інших речовин.

Для біохіміків дуже важливими були праці Л. Ружички і його співавторів з *біосинтезу чоловічих статевих гормонів*. Так, на основі *холестеролу* в 1934 р. вони вперше синтезували гормон *андростерон*, а в 1935 р. — *тестостерон*, визначивши його молекулярну структуру. Ці роботи було проведено одночасно з А. Бутенандтом і незалежно від нього. Зазначимо, що це вдалося завдяки істотній фінансовій підтримці швейцарської хімічної фірми «Ciba AG», що дало змогу розширити штат викладачів і виділити більше коштів на наукову роботу у Федеральному технологічному інституті Цюріха.

У 1939 р. Л. Ружичка отримав Нобелівську премію з хімії «*за роботи з поліметиленів і вищих терпенів*». Цю премію з хімії він розділив з А. Бутенандтом, про якого йшлося вище.

Але початок Другої світової війни унеможливив поїздку до Стокгольма, тому премію Л. Ружичці вручив шведський посол у 1940 р. на спеціальній церемонії в Федеральному технологічному інституті в Цюріху. А прочитати свою нобелівську лекцію в Стокгольмі вчений зміг лише через п'ять років.

Незважаючи на те, що раніше Ружичка був досить аполітичною людиною, політика, що проводилась нацистською Німеччиною, і розширення меж Другої світової війни його глибоко стурбували. Під час війни він допоміг кільком вченим єврейської національності покинути окуповану нацистами Європу, а деяким надав притулок. Л. Ружичка активно допомагав югославському руху Опору, заснував швейцарсько-югославське товариство з надання допомоги жертвам війни, причому турбота про них виявлялася як під час військових дій, так і після їх завершення.

У післявоєнні роки Л. Ружичка присвятив багато часу колекціонуванню предметів мистецтва. Згодом він подарував свою колекцію Цюріхському художньому музею.

У 1957 р. Л. Ружичка вийшов у відставку з посади директора Федерального технологічного інституту (Цюріх), але продовжував працювати консультантом у різних швейцарських виробничих хімічних компаніях, роблячи все для укріплення зв'язку науки з виробництвом.

У відставці він став пристрасним садівником, особливо любив розводити троянди й альпійські квіти. Про себе він говорив, що поєднує три професії — хіміка, садівника й мистецтвознавця, і кожна з них потребує повної віддачі.

Помер Леопольд Ружичка 26 вересня 1976 р. у Цюріху у віці 89 років.

Крім Нобелівської премії, Л. Ружичку нагороджено медаллю Вернера Швейцарського хімічного товариства (1923), медаллю Леблана Французького хімічного товариства (1928), премією Станіслао Канніццаро Італійської національної академії наук (1936), медаллю Шєєле Шведського хімічного товариства (1938) і медаллю Фарадея Британського хімічного товариства (1958). Йому присвоєно почесні ступені Гарвардського університету, а також університетів Базеля, Загреба, Парижа, Бордо, Праги, Глазго та Женеви. Ружичка був іноземним членом Американської академії наук і мистецтв, Югославської академії наук, Лондонського королівського товариства, Національної академії наук США, Фламандської королівської академії наук, літератури та мистецтв, Сербської академії наук, академій наук СРСР і Польщі.

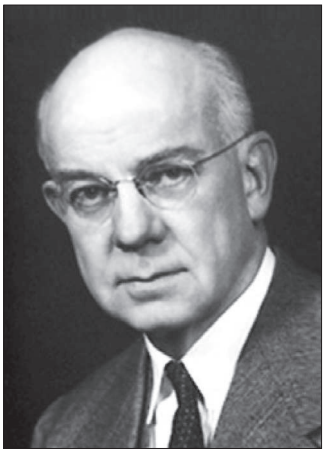
В історію біохімії Л. Ружичка увійшов як науковець, який синтезував із холестеролу чоловічі статеві гормони *андростерон* і *тестостерон* та визначив *молекулярну структуру тестостерону* [21—23].

ГОРМОНИ КОРИ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ

Роботи наступних нобеліантів, про яких варто згадати, були присвячені гормонам кори надниркових залоз зі стероїдною будовою. Так, у 1950 р. Нобелівську премію з фізіології або медицини було присуджено *Едуарду Кендаллу* разом з *Філіпом Хенчем* і *Тадеушем Рейхштейном* «*за відкриття, що стосуються гормонів кори надниркових залоз, їхньої структури і біологічних ефектів*».

ЕДУАРД КЕНДАЛЛ

Американський біохімік **Кендалл Едуард Келвін** (англ. *Edward Calvin Kendall*) народився 08.03.1886 р. у родині зубного лікаря Джорджа Стенлі та Еви Франсіс (Ебботт) Кендалл у Південному Норволку (штат Коннектикут). У середній школі в Стамфорді він зацікавився хімією, а також електрикою, технікою і математикою.



Едуард Кендалл
(1886—1972)

З 1904 до 1908 р. Едуард навчався в Колумбійському університеті, де вивчав хімію й одночасно займався науковою роботою. В 1908 р. він отримав ступінь бакалавра та вступив до аспірантури на кафедру біохімії цього університету. В своїй першій науковій роботі Е. Кендалл досліджував амілазу і показав, що її активність залежить від концентрації солей у кишечнику. В 1910 р. він отримав докторський ступінь у Колумбійському університеті.

Цього самого року Е. Кендалл почав працювати в детройтській фармацевтичній фірмі «*Парк-Девіс енд компані*» як хімік-дослідник, де йому було доручено виділяти *гормон щитоподібної залози* з її екстрактів. Але через п'ять місяців він прийняв пропозицію створити хімічну *лабораторію в лікарні св. Луки в Нью-Йорку*, де продовжив роботи з виділення гормонів у екстрактів щитоподібної залози.

На той час швейцарський хірург *Теодор Кохер* вже встановив, що щитоподібна залоза виробляє спеціальні гормони. Його роботи були новаторськими і мали велике значення не тільки для медичної та біохімічної наук, а й для стражденних усього людства. Саме тому *Кохер* (*Kocher*) *Еміль Теодор* (25.08.1841—27.07.1917) отримав Нобелівську премію з фізіології та(або) медицини в 1909 р. «*за роботи в галузі фізіології, патології та хірургії щитоподібної залози*». Згодом з'ясували, що є два гормони щитоподібної залози — *тироксин* і *трийодтиронін* — важливі для клітинного метаболізму, оскільки впливають на поглинання кисню та енергетичні окиснювальні процеси в організмі.

Перший екстракт-сирець щитоподібної залози для використання у клініці одержав німецький біохімік *Євген Бауман* наприкінці XIX ст. А в 1913 р. Е. Кендаллу вдалося підвищити в 100 разів концентрацію гормонів у екстрактах щитоподібної залози. Терапевтичну ефективність таких екстрактів було показано на хворих з *гіпотиреозом* і *кретинізмом*. Але в *клініці св. Луки* ці роботи не було гідно оцінено, тому в 1914 р. Е. Кендалл перейшов до дослідницької лабораторії *клініки Мейо в Рочестері* (штат Міннесота), де продовжив дослідження щитоподібної залози, намагаючись виділити і очистити біологічно активний гормон. І це йому вдалося — він отримав чистий кристалічний гормон зі спиртового розчину після його випаровування, який назвав *тироксином*. Пізніше Е. Кендалл запропонував хімічну формулу цього гормону, яка, на жаль, виявилась неправильною. Разом зі співробітниками він також виділив трипептид *глутатіон*, який бере участь у багатьох біохімічних окисновідновних реакціях, і встановив його структуру, довівши, що він складається із трьох амінокислот — *глютаміну, гліцину і цистеїну*.

У 1921 р. Е. Кендалл став професором з біохімії в клініці Мейо і вирішив зайнятися виділенням та ідентифікацією *гормонів надниркових залоз.* Надниркові залози мають два шари — *мозковий і корковий.* Мозковий шар надниркових залоз секретує два основні гормони — *адреналін і норадреналін.* Клітини коркового шару синтезують понад 40 метаболітів, які різняться за структурою та біологічною активністю, їх називають *кортикостероїди.* Є два види гормонів кори надниркових залоз: *глюкокортикоїди* (*кортизон і гідрокортизон*), які впливають на обмін вуглеводів, ліпідів і протеїнів, а також *мінералокортикоїди*, що беруть участь в регуляції водно-сольового обміну. Кортизон і гідрокортизон знижують також ті біохімічні реакції, які спричинюють запалювальні процеси в тканинах, що виникають унаслідок ушкодження або інфекції.

Нестача гормонів кори надниркових залоз може призводити до тяжкої хвороби Аддісона. До 1920 р. було встановлено, що хірургічне видалення надниркових залоз в експериментальних тварин спричиняє стан, подібний до хвороби Аддісона в людей. Було показано, що, використовуючи екстракт із тканин надниркових залоз, можна поповнити нестачу цих гормонів у організмі людини. Оскільки існує багато попередників гормонів надниркових залоз, їх виділення й ідентифікація — дуже складні завдання.

У 1934 р. Е. Кендалл повідомив, що він виділив з кори надниркових залоз у кристалічному стані речовину, яку вважав одним із кортикостероїдів і назвав *кортизоном.* Після цього Е. Кендалл зі співробітниками виділив з кори надниркових залоз 22 різні стероїдні сполуки, більшість з яких виявились біологічно неактивними. Водночас вони виділили шість активних речовин. Як з'ясувалося надалі, речовини Е (*кортизон*) і F (*гідрокортизон*) разом із виділеним Кендаллом (1950) *альдостероном* є головними гормонами кори надниркових залоз. Нині вважають, що «справжніми» стероїдними гормонами кори надниркових залоз (виділяються в кров і впливають на чутливі тканини) є *кортизон* (*гідрокортизон*), *кортикостерон* та *альдостеро*н.

Хімічні дослідження кори надниркових залоз проводилися одночасно та незалежно як у Фонді Мейо (Рочестер, штат Міннесота) *Е. Кендаллом*, так і в Цюріху (Швейцарія) *Т. Рейхштейном.*

На початку 40-х років XX ст. Е. Кендалла призначили членом Комітету з вивчення надниркових залоз при *Раді з медичних досліджень Американського управління наукових досліджень і вдосконалень.* Е. Кендалл мав організувати виробництво *кортизону* у великій кількості. Він вважав, що кортизон може бути цінним препаратом для лікування різних шкіряних і очних захворювань. Разом із співробітником *Філіпом Хенчем* Е. Кендалл показав, що кортизон можна використовувати для лікування такого тяжкого захворювання, як *ревматоїдний артрит.* Пізніше з'ясували, що й багато інших захворювань запальної природи лікуються кортизоном. Правда, хоча кортизон був дійсно ефективним у лікуванні ревматоїдного артриту, його застосування (як і *адренокортикотропного гормону, АКТГ*) часто спричинювало небажані ефекти — підвищення артеріального тиску та вмісту глюкози, а також ожиріння. Проте, хоч би там як, поставлене перед Е. Кендаллом завдання одержати кортизон у великій кількості було надважливим і дуже складним.

До закінчення Другої світової війни Е. Кендалл зі співробітниками дослідили 30 із 38 етапів біосинтезу кортизону. На кінець 1945 р. у лабораторії

Е. Кендалла, за участю Льюїса Саретта, синтезували кортизон, але в незначній кількості. І тільки через два роки після розробки простішого методу синтезу кортизону стало можливим його серійне виробництво фармацевтичною промисловістю США. На той час біохіміками з Йєльського і Каліфорнійського університетів було виділено з екстрактів гіпофіза *адренокортикотропний гормон* (*АКТГ*), *який регулює синтез кортикостероїдів у корі надниркових залоз*. У живих організмів ці сполуки синтезуються із *холестеролу*.

Е. Кендалл, Ф. Хенч і Т. Рейхштейн спільно отримали Нобелівську премію в галузі фізіології та(або) медицини за 1950 р. саме «*за відкриття, що стосуються гормонів кори надниркових залоз, дослідження їхньої структури та біологічних ефектів*». Свою частину премії Е. Кендалл поділив зі співробітниками, які брали участь у роботі над синтезом кортизону. У нобелівській лекції він зазначив: «*Немає сумніву, що використання цього гормону (кортизону) буде все ширшим і ширшим. Він дає унікальний ефект під час лікування ревматоїдного артриту, ревматизму, бронхіальної астми та сінної гарячки (пропасниці), а також під час лікування інших алергічних захворювань*».

Хоча пізніше було встановлено, що кортизон, подібно до інсуліну, діє лише доти, поки його приймає пацієнт, але він не лікує хворобу, відкриття активності кортизону було великим кроком вперед. Подальші роботи сприяли одержанню сучасних знань про гормони кори надниркових залоз та їх застосуванню в медицині.

Вийшовши у 1950 р. на пенсію, Е. Кендалл став професором-консультантом Принстонського університету, де продовжив дослідження.

Е. Кендалл помер 4 травня 1972 р. після тяжкого інфаркту.

Окрім Нобелівської премії, Едуард Кендалл отримав безліч нагород і почесних звань. Він був членом Національної академії наук США, Шведської королівської АН, мав велику кількість премій і медалей різних університетів і американських асоціацій лікарів (премія Ласкера Американської служби охорони здоров'я, премія Пассано Фонду Пассано в Сан-Франциско, а також перша премія газетної гільдії Нью-Йорка), деякі з них він одержав спільно з доктором Хенчем. Йому було присуджено почесні ступені низки університетів та інших наукових установ.

Ці нагороди було присуджено Е. Кендаллу за величезні заслуги перед науковою громадськістю та практичною медициною. Достатньо відзначити, що завдяки його науковим дослідженням у галузі вивчення кортикостероїдів промисловість США налагодила випуск кортизону, і цей препарат почали широко використовувати в медичній практиці [24—27].

Другим нобелівським лауреатом із фізіології та медицини за 1950 р. був американський лікар *Філіп Ш. Хенч*.

ФІЛІП ХЕНЧ

Хенч Філіп Шоуолтер (англ. *Philip Showalter Hench*) народився 28.02.1896 р. у Пітсбурзі (штат Пенсильванія) в родині філолога і викладача Джекоба Бікслера та Клари Джон (Шоуолтер) Хенчів.

Закінчивши медичну школу Пітсбурзького університету в 1920 р., Ф.Хенч отримав медичний ступінь і протягом року працював лікарем-інтерном у шпи-

Філіп Хенч (1896—1965)

талі Пітсбурга, а в 1921 р. його прийняли аспірантом у медичну школу Міннесотського університету в Рочестері. Тут він у 1923 р. став асистентом, у 1925 р. — членом наукової асоціації, а в 1926 р. — головним лікарем у відділенні ревматичних захворювань. Саме в Рочестері Ф. Хенч почав вивчення діагностики і лікування ревматоїдних захворювань, особливо *ревматоїдного артриту* — хронічного захворювання, що характеризується системним ураженням сполучної тканини, переважно опорно-рухового апарату. Пацієнти з тяжкою формою хвороби, здебільшого, прикуті до ліжка.

У 1934 р. Ф. Хенч і його колега Чарлз Слокум опублікували результати своїх спостережень за хворими, відзначивши послаблення симптомів ревматоїдного артриту в разі захворювання жовтяницею, і припустили появу в організмі хворих невідомої субстанції X. Подібне послаблення вони спостерігали і у вагітних жінок, вважаючи, що такою речовиною X можуть бути жіночі статеві гормони.

На цей час Е. Кендалл виявив у клітинах коркового шару надниркових залоз глюкокортикоїди — *кортизон* і *гідрокортизон*, які були здатні блокувати біохімічні процеси, пов'язані із запальною реакцією тканини на ураження або інфекцію. І тоді, ще в 30-ті роки XX ст., Ф. Хенч і Е. Кендалл почали розглядати можливість лікування хворих на ревматоїдний артрит *кортикостероїдами*. Але минуло понад 10 років, перш ніж ці речовини стали доступними для клінічних випробувань. У вересні 1948 р. Ф. Хенч і Ч. Слокум почали внутрішньом'язово вводити хворій з тяжкою формою ревматоїдного артриту *кортизон* (у вигляді суспензії кристалів у фізіологічному розчині) по 100 мг на добу. Згодом Ф. Хенч згадував: «*...протягом трьох днів стан хворої значно покращився і продовжував покращуватись до того часу, поки добова доза кортизону не знизилась до 25 мг*». Це був перший клінічний доказ терапевтичної ефективності кортикостероїдів за ревматоїдного артриту.

Ф. Хенч і *Е. Кендалл* отримали Нобелівську премію з фізіології або медицини в 1950 р. «*за відкриття, що стосуються гормонів кори надниркових залоз, їхньої структури та біологічних ефектів*». Вони розділили цю нагороду з *Т. Рейхштейном*, який незалежно від них виділив й ідентифікував гормони кори надниркових залоз. У промові на презентації Горан Лілієстранд з Каролінського інституту прогнозував «*...нову епоху в лікуванні ревматоїдного артриту, що належить до групи захворювань, які вважають найтяжкими і такими, що погано лікуються*».

Помер Ф. Хенч 30 березня 1965 р. в Очо-Ріос (Ямайка, США) у віці 69 років.

Крім Нобелівської премії, Ф. Хенч отримав також премію Альберта Ласкера Американського наукового товариства здоров'я (1949) і премію Пассано з медицини Фонду Пассано (1951). Він був одним із засновників Американського товариства ревматологів і почесним членом Королівського медичного товариства в Лондоні, також мав почесні ступені низки університетів [29].

Третім нобеліантом з фізіології та медицини за 1950 р. був польсько-швейцарський хімік-органік і біохімік Тадеуш Рейхштейн.

ТАДЕУШ РЕЙХШТЕЙН

Тадеуш Рейхштейн
(1897—1996)

Рейхштейн Тадеуш (пол. *Tadeusz Reichstein*) народився 20.07.1897 р. у Влоцлавеке (Польща) в польсько-єврейській родині інженера Ізідора та Густави (Брокман) Рейхштейнів. Ранні роки Тадеуш провів у Києві, де працював його батько. В 1905 р. родина переїхала спочатку до Берліна, пізніше — до Цюріха, і в 1914 р. Тадеуш і його батьки одержали громадянство Швейцарії. У 1922 р. він закінчив Федеральну (вищу) політехнічну школу в Цюріху (Федеральний технологічний інститут), отримавши ступінь доктора філософії за дослідження з органічної хімії.

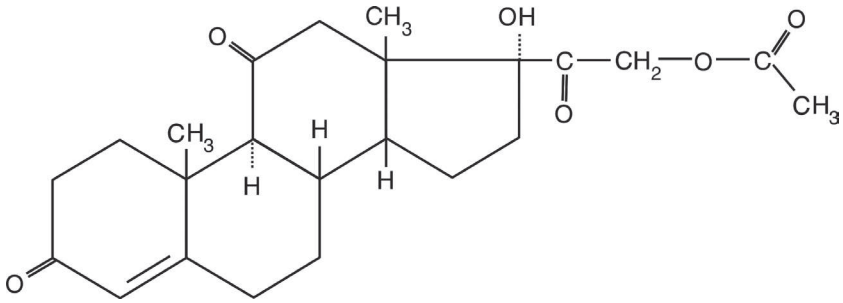
Цього самого року в цій школі Т. Рейхштейн разом з *Германом Штаудингером* (нобелівським лауреатом з хімії, 1953) починає досліджувати хімічний склад ароматичних речовин кави, а пізніше і цикорію.

У 1931 р. його призначили асистентом *Леопольда Ружички*. В 1933 р. він одночасно з англійськими хіміками-органіками У.Н. Хоуорсом і Е.Л. Херстом синтезував аскорбінову кислоту, про що йшлося раніше в [29]. Для промислового синтезу вітаміну С і нині використовують саме *метод Рейхштейна*.

У 1938 р. Т. Рейхштейн обійняв посади професора фармацевтичної хімії та директора Фармацевтичного інституту при Базельському університеті в Швейцарії. Саме в цьому інституті він провів серію експериментів з метою виділення та ідентифікації *гормонів надниркових залоз — стероїдних гормонів*. Ще в 1935 р. Т. Рейхштейн зі співробітниками виділив *альдостерон* (його структуру розшифрували в 1953—1954 рр.), а протягом наступних двох років він виділив ще дев'ять адреналових *кортикостероїдів*, включаючи *кортикостерон* (речовина Кендалла В) і *дезоксикортикостерон* (речовина Кендалла А). До 1942 р. вчені отримали вже 27 різних кортикостероїдів у кристалічному стані, а також розробили простий метод синтезу кортизону і гідрокортизону з природного попередника — дезоксихолевої кислоти, яку можна легко отримати із жовчі. В 1943 р. Т. Рейхштейн отримав патент на метод синтезу одного зі статевих гормонів.

Він встановив, що біологічна активність кортикостероїдів пов'язана з особливостями будови першого кільця стеранового ядра і бічного ланцюга. А *Джордж Горн* із Гарвардської медичної школи вперше провів успішне лікування людей з хворобою Аддісона, використовуючи *комбінацію кортикостерону та дезоксикортикостерону*.

Саме за з'ясування хімічної структури гормонів кори надниркових залоз у 1950 р. Тадеуш Рейхштейн одержав Нобелівську премію з фізіології або медицини, поділивши її з Едуардом Кендаллом і Філіпом Ш. Хенчем. У нобелівській лекції Т. Рейхштейн з іронією назвав себе «*...відданим садівником африканських рослин*», які він вирощував як для задоволення, так і з професійною метою. Для того щоб знайти дешеву сировину для одержання кортикостероїдів, він отримував екстракти біологічно активних речовин з африканських рослин.



Молекула кортизону

У 1960 р. Т. Рейхштейна призначили директором Інституту органічної хімії Базельського університету, а в 1967 р. університет надав йому звання заслуженого професора.

Т. Рейхштейн був почесним доктором університетів Женеви, Цюріха, Базеля і Лідса. В 1952 р. він став почесним членом Лондонського королівського товариства, а в 1968 р. його нагородили медаллю Коплі [30—32].

Помер Тадеуш Рейхштейн 1 липня 1996 р. у Базелі (Швейцарія) у віці 99 років. За життя він був найстарішим нобелівським лауреатом.

За свої 99 років Тадеуш Рейхштейн багато зробив у галузі біологічної хімії, а саме в дослідженні біологічно активних речовин — *гормонів і вітамінів*. Так, його внесок в отримання і дослідження *стероїдних гормонів*, особливо гормонів кори надниркових залоз, був дуже суттєвим. Незалежно від Е. Кендалла він *виділив кортизон і встановив його хімічну структуру*. Важливими є його роботи із синтезу *аскорбінової кислоти*, а також із дослідження *серцевих глікозидів* рослинного походження.

Таким чином, перша половина XX ст. була плідною для досліджень біологічно активних речовин, а саме гормонів і вітамінів. Одні з перших дослідників гормонів — Ф. Бантинг і Д. Маклеод, які відкрили і виділили гормон острівкової частини підшлункової залози — *інсулін*, що дало поштовх для дослідження механізмів регуляції біохімічних процесів, нового напряму біологічної хімії.

Наступним значним етапом у розвитку досліджень біологічно активних речовин в організмі людини були роботи хіміків-органіків Г. Віланда, А. Віндауса, А. Бутенандта і Л. Ружички, які приблизно в один і той самий час виділили і встановили хімічну будову *жовчних кислот, вітамінів групи D і статевих гормонів — жіночих і чоловічих*. Унаслідок наполегливої та висококваліфікованої роботи цих учених було встановлено, що всі наведені сполуки мають стероїдну структуру і вихідною речовиною для їх синтезу в організмі є *холестерол*. Завдяки володінню сучасними на той час методами синтетичної хімії було синтезовано основне ядро стероїдних сполук — *циклопентанпергідрофенантрен*, який є однією із найскладніших сполук органічної хімії.

Продовженням досліджень високоактивних речовин стероїдної природи були роботи Е. Кендалла, Ф.Ш. Хенча і Т. Рейхштейна. Вони вперше синтезували і дослідили будову та біологічні ефекти гормонів кори надниркових залоз — *кортикостероїдів*. Уперше було розроблено метод промислового випус-

ку гормону кортизону, який широко використовується для лікування запальних процесів.

Отже, на початку XX ст. хіміки-органіки дали в руки біохімікам знання про структуру складних у хімічному відношенні, але таких важливих для організму людини біологічно активних речовин, як стероїдні сполуки. Тому завданням для наступних поколінь вчених-біохіміків було з'ясування механізму біосинтезу цих гормонів і вітамінів та їх значення для живих організмів. І з цими завданнями біохіміки гідно впорались.

DEVELOPMENT ON KNOWLEDGE OF HORMONE BIOCHEMISTRY IN THE WORKS OF THE NOBEL PRIZE LAUREATES OF THE FIRST HALF OF THE 20th CENTURY. F.G. BANTING, J.R. MACLEOD, H.O. WIELAND, A.O. WINDAUS, A.F. BUTENANDT, L. RUŽIČKA, E. KENDALL, P. HENCH, T. REICHSTEIN

R.P. Vynogradova, V.M. Danilova, S.V. Komisarenko*

The first half of the 20th century was marked by significant scientific advances in the study of hormones and vitamins. Among the first resear-chers working with hormones were F. Banting and J. Macleod, who discovered and characterized the pancreatic hormone insulin. This discovery catalyzed advances in the understanding of the mechanisms regulating biochemical processes - a new topic in the field of biological chemistry. The next important stage in the development of knowledge on biologically active substances was the works of organic chemists G. Wieland, A. Windaus, A. Butenandt and L. Ružička. They almost simultaneously identified and characterized the chemical structures of bile acids, vitamin D as well as female and male sex hormones. They found that all of these compounds are of a steroid nature and identified cholesterol as the starting material for their synthesis in the body. The studies of highly-active substances of steroid nature were continued by E. Kendall, F. Hench and T. Reichstein. They synthesized and investigated the structure and biological effects of corticosteroids, the hormones produced in the adrenal cortex. They were first to develop a method for the commercial manufacturing of cortisone, a hormone which is widely used to treat inflammatory processes. Thus, in the first half of the 20th century, organic chemists gave biochemists knowledge on the structure of essential for the human body substances - steroid compounds.

Keywords: *F.G. Banting, J.J. Macleod, H.O. Wieland, A. Windaus, A. Butenandt, L. Ružička, E. Kendall, P. Hench, T. Reichstein, insulin, cholesterol, sex hormones, corticosteroids.*

REFERENCES

1. Banting Frederick G. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 55—58.

2. Banting Frederick Grant. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 39—40.

3. Frederick Grant Banting. Regime of access: https://en.wikipedia.org/wiki/Frederick_Banting.

4. Macleod John James Rickard. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 13—16.

5. Macleod John. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 393.

6. John Macleod — Biographical. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1923/macleod/biographical/

7. Wieland Heinrich. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 260—262.

8. Wieland Heinrich. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 130.

9. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Wieland Heinrich Otto. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 94.

10. Heinrich Otto Wieland. Regime of access : https://uk/wikipedia/org/wiki.

11. Regime of access : http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/nobel/1927-Wieland.html.

12. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Scientific investigations of the Nobel prize winner Emil Fischer as a launching pad for the development of biochemistry: a brief overview. *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90, N 4. P. 135—142.

13. Windaus Adolf. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English M.: Progress, 1992. P. 282—284.

14. Windaus Adolf Otto Reinhold. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 134.

15. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Windaus Adolf Otto Reinhold. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha Shkola, 1991. P. 95.

16. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/himiya/VINDAUS_ADOLF_OTTO_RENGOLD.html.

17. Butenandt Adolf. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 209—211.

18. Butenandt Adolf Friedrich. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 107.

19. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Butenandt Adolf Friedrich. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 79.

20. Regime of access : http://www.physchem.chimfak.rsu.ru/Source/History/Persones/Butenandt.html.

21. Ruzicka Leopold. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 324—326.

22. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Ruzicka Leopold Stephan. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 384.

23. Regime of access : https://indicator.ru/article/2018/04/18/leopold-ruzhichka/

24. Kendall Edward. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 538—541.

25. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Kendall Edward Calvin. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 201.

26. Kendall Edward Calvin. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 297.

27. Edward C. Kendall — Biographical. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1950/kendall/biographical/.

28. Hench Philip Showalter. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 649—652.

29. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of the Nobel Prize laureates to the development of dynamic biochemistry and bioenergetics. E. Buchner, A. Kossel, R. Willstätter, O. Meyerhof, A. Hill, O. Warburg, A. Szent-Györgyi. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 1. P. 108—126.

30. Reichstein Tadeusz. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 282—285.

31. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Reichstein Tadeusz. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha Shkola, 1991. P. 371—372.

32. Reichstein Tadeusz. Regime of access : http://n-t.ru/nl/mf/reichstein.htm.

ВІТАМІНИ, ПОЧАТОК ШЛЯХУ. ВІТАМІННИЙ АЛФАВІТ І ЛАУРЕАТИ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ Х. ЕЙКМАН, Ф.Г. ГОПКІНС, А. СЕНТ-ДЬЙОРДІ, У. ХОУОРС, П. КАРРЕР, Р . КУН, Х. ДАМ, Е.А. ДОЙЗІ, Дж. МАЙНОТ, У. МЕРФІ, Дж. ВІПЛ, Д. ХОДЖКІН, Р. ВУДВОРД

В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.В. Комісаренко

У першій половині XX ст. експериментальні дослідження вчених (хіміків-органіків, біохіміків, фізіологів) у співпраці з лікарями сприяли відкриттю нового класу біологічно активних речовин — вітамінів. Багатьох із цих науковців було відзначено Нобелівськими преміями. Завдяки їхнім зусиллям було виявлено майже всі відомі на цей час вітаміни (B_1, B_2, B_6, B_9, B_{12}, C, A, E, K), встановлено їхню структуру і, в основних рисах, охарактеризовано механізм їх біологічної дії. Виявилось, що багато вітамінів є коензимами в дуже важливих біохімічних перетвореннях. Тут йдеться про історію відкриття найвідоміших на сьогодні вітамінів і причетних до цього вчених, велич яких не можна переоцінити за той внесок, який вони зробили в розвиток сучасної біохімічної науки, зокрема вітамінології.

Ключові слова: *вітаміни, коензими, вітамінологія, Х. Ейкман, Ф.Г. Гопкінс, А. Сент-Дьйорді, У. Хоуорс, П. Каррер, Р. Кун, Х. Дам, Е.А. Дойзі, Дж. Майнот, У. Мерфі, Дж. Віпл, Д. Ходжкін, Р. Вудворд.*

До середини XIX ст. вчені з'ясували, що основними сполуками, які забезпечують енергетичну цінність продуктів харчування, є насамперед *протеїни* (*білки*), *жири* та *вуглеводи*. Їх окиснення з наступним розщепленням на складові компоненти та кінцеві продукти в організмі дає необхідну енергію й такі «цеглинки», з яких будуються нові біомолекули. Одночасно з розвитком цих знань вчені й лікарі накопичили значний досвід щодо виникнення хвороб, пов'язаних не тільки з кількістю їжі, а й передусім з її **якістю!** Такі хвороби, як, наприклад, *пелагра*, *куряча сліпота*, *рахіт*, *цинга* та *бері-бері* відомі вже багато століть. Їх розвиток пов'язували зі специфічним харчуванням населення певних регіонів земної кулі, а також груп людей, що знаходилися в обмежених умовах (мореплавство, облогові війни, тюремні ув'язнення).

Зазначимо, що лікарі навчилися лікувати ці хвороби раніше, ніж вчені встановили причину їх розвитку. Лікування зводилося до простої зміни раціону харчування. Але головну роль у встановленні причин виникнення цих розповсюджених і небезпечних захворювань відіграли експериментальні дослідження вчених першої половини XX ст., результатом яких стало відкриття нового класу біологічно активних речовин — *вітамінів*. Багатьох науковців, які досягли значних результатів з цієї тематики, було відзначено Нобелівськими преміями. Саме про деяких з них йдеться в цій статті.

Так, Нобелівську премію з фізіології та(або) медицини за 1929 р. одержали нідерландський (голандський) лікар-мікробіолог *Христіан Ейкман* та англійський біохімік *Фредерік Гоуленд Гопкінс (Хопкінс)* за внесок у відкриття вітамінів, а саме «*за відкриття вітамінів, які стимулюють процеси росту*».

ВІДКРИТТЯ ВІТАМІНУ B_1

ХРИСТІАН ЕЙКМАН

Ейкман Христіан (нідерл. *Christiaan Eijkman*) народився 11.08.1858 р. у Нейкеркі в родині шкільного вчителя Христіана та Іоганни Аліди (Пул) Ейкман. У 17 років Христіан отримав стипендію для навчання у Військовій медичній школі Амстердамського університету з умовою подальшої служби в армії. В університеті завдяки своїм успіхам у навчанні став асистентом професора — викладача фізіології. У 1883 р. закінчив університет з відзнакою, одержав ступінь доктора медицини і став до військової служби.

Христіан Ейкман
(1858—1930)

Спочатку Х. Ейкмана призначили офіцером медичної служби в Самаранге (нині — Індонезія). У 1886 р. він прийняв запрошення членів медичної комісії королівства Нідерландів і відправився на о. Ява. Метою цієї комісії було дослідження проблеми захворюваності на *бері-бері* та її лікування у військових і мешканців острова.

Захворювання *бері-бері* на той час було широковідомим і розповсюдженим не тільки на о. Ява, а й в багатьох країнах Океанії, Індокитаю і Далекого Сходу, а також в Японії. Багато років воно залишалось такою самою серйозною проблемою для японських мореплавців, як і *цинга* — для англійських моряків. Ще на початку XVI ст. його описав один із нідерландських лікарів. Назва хвороби *бері-бері* походить від сингальської «*сильна слабкість*», тобто під час цієї хвороби людина настільки слабшає, що стає нездатною до праці. Хвороба супроводжується паралічем і втратою чутливості нижніх кінцівок, страждають серце й легені; часто вона закінчується летально. Найчастіше на *бері-бері* хворіли люди, які знаходились в умовах спеціального режиму: у військових частинах, в'язницях і т. п. На о. Ява ув'язнення фактично означало смертний вирок.

Але повернемось до відрядження Х. Ейкмана на о. Ява. На той час існувало, як мінімум, дві теорії, що пов'язували захворювання на *бері-бері* з харчуванням рисом. Згідно з однією з них у рисі знаходиться отруйна речовина, яка і спричинює симптоми захворювання; згідно з другою — причиною хвороби є нестача в рисі жирів і протеїнів. Але багато дослідників вважали, що рис є інфікованим, а захворювання на *бері-бері* має бактеріальну природу. Адже тоді бактеріологія була новою революційною наукою, що відкривала великі перспективи у вивченні й лікуванні багатьох хвороб.

Саме такої думки спочатку дотримувався і Х. Ейкман. У 1887 р. він розпочав роботу в лабораторії бактеріології та патології, яка знаходилась на базі військового шпиталю в Батавії (нині — Джакарта) на о. Ява. Згодом Х. Ейкмана призначили також директором медичної школи Яви, яка потім стала Університетом Індонезії.

У пошуках причини хвороби та шляхів порятунку життя тисяч людей Х. Ейкману допомогли, як не дивно, *курчата*. Коштували вони дешево і їх у

великій кількості розводили на острові. Х. Ейкман звернув увагу, що курчата так само, як і люди, хворіли на *бері-бері*, страждали недугою зі схожими симптомами. Всі експерименти вчений з колегами провели на цих домашніх птахах, використовуючи їх як піддослідних.

Виявилось, що в курчат, яких годували таким самим рисом, що й людей, виникали захворювання — *паралічі*, подібні до проявів хвороби *бері-бері* в людей. Під час розтину курчат Х. Ейкман з'ясував, що причиною паралічів було запалення багатьох нервів. Він назвав таку патологію *поліневритом*, але продовжував вважати її походження бактеріальним і шукати збудника.

Але тут допоміг випадок. Одного разу, прийшовши у віварій, Х. Ейкман побачив, що всі хворі курчата одужали. Вчений припустив, що це було пов'язано зі зміною раціону харчування курчат, оскільки новий робітник віварію давав в їжу курчатам неочищений дешевий рис. Робітник вважав, що не можна годувати курчат дорогим шліфованим рисом, який їдять військові. Аби переконатися, що причина одужання знаходиться саме в рисовому лушпинні, піддослідних птахів знову починали годувати шліфованим рисом, і хвороба поверталася. Коли в раціон курчат починали вводили неочищений рис, знову спостерігали їх одужання.

Спостерігаючи за цим експериментом, Х. Ейкман зацікавився: чи відіграє очищений або неочищений рис якусь роль у виникненні хвороби *бері-бері* в людей.

Як з'ясувалося, в тих в'язницях о. Яви, де в раціоні харчування ув'язнених був очищений рис, частота виникнення захворювання на *бері-бері* була в 300 разів більшою, ніж у тих, де покараних годували неочищеним рисом.

У 1890 р. вчений опублікував статтю «*Поліневрит у курчат*» («*Polyneuritis in Chickens*»), в якій описав подібність симптомів захворювання *поліневритом* у курчат і *бері-бері* в людей, а також результати експериментів із неочищеним рисом. Але він помилково вважав, що до очищеного рису в процесі обробки може потрапляти якась *отрута*. На цьому робота Ейкмана обірвалася, оскільки через хворобу він змушений був повернутися на батьківщину в Нідерланди. У 1899 р. його призначили професором охорони здоров'я Утрехтського університету і більше на о. Ява він не повернувся.

Проте на острові залишився асистент Ейкмана — *Гаррі Грійнс* (*Грейс*), який вирішив продовжити розпочату шефом справу. Після серії додаткових експериментів у 1901 р. він припустив, що хвороба *бері-бері* спричинюється нестачею якоїсь специфічної речовини, що знаходиться в рисовому лушпинні. Припущення Г. Грійнса наштовхнулося, як це досить часто буває, на стіну неприйняття, адже бактеріальна теорія виникнення цього захворювання була на той час самою визнаною в наукових та медичних колах.

Цим уявленням поклав край польський хімік *Казимир Функ*, який у 1911 р. виділив із рисового лушпиння (оболонки зерна) речовину, що перешкоджала розвитку захворювання на *бері-бері*. Цієї речовини, яку сьогодні називають «*тіаміном*», або «*вітаміном* B_1», немає в очищеному рисі — вона знаходиться тільки в лушпинні. У 1914 р. К. Функ опублікував працю з результатами досліджень. Він припустив наявність у різних харчових продуктах хімічних речовин, які назвав «*вітаміни*» (від лат. *vita* — життя і *amine* — азот). Термін «амін» не

випадковий, оскільки тіамін має саме аміногрупу. К. Функ запропонував і термін «*авітаміноз*», який, як і термін «вітамін», зберігся до нашого часу. Дату публікації К. Функа можна вважати відправною точкою у виникненні нової науки — *вітамінології*. У 1936 р. К. Функ встановив і хімічну структуру тіаміну.

А що ж Христіан Ейкман?... У 1929 р., майже через 40 років від початку робіт, проведених на о. Ява, за рік до своєї смерті *Христіан Ейкман* став одним із двох лауреатів Нобелівської премії з фізіології та(або) медицини «*за відкриття вітамінів, які стимулюють процеси росту*». Проте людина, яка фактично створила *концепцію про вітаміни* і виділила перший з них — *тіамін*, Нобелівську премію не отримала (К. Функа чотири рази номінували на Нобелівську премію: двічі з хімії (1926 і 1946) і двічі з медицини (1914 і 1925). Його можна вважати рекордсменом серед нобелівських номінантів). Нобелівський комітет вирішив, що саме експериментальні роботи Х. Ейкмана є початковим етапом на шляху з'ясування причини різних захворювань, пов'язаних із порушенням раціону харчування.

Х. Ейкман, який вийшов на пенсію ще в 1928 р., був хворим і не зміг персонально отримати нагороду. Він надіслав текст нобелівської лекції — статтю про хворобу *бері-бері*, в якій прізвище К. Функа навіть не згадувалося.

Х. Ейкман пішов з життя 05.11.1930 р. в Утрехті після тривалої хвороби.

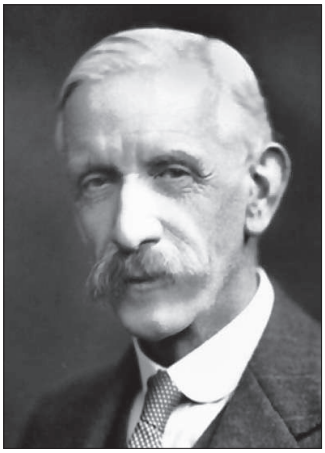
Він був членом Нідерландської королівської академії наук і мистецтв, іноземним співробітником Національної академії наук США і почесним членом Лондонського королівського інституту санітарії. Х. Ейкман отримав декілька дворянських титулів. Нідерландським урядом на його честь було засновано медаль Ейкмана і названо астероїд — «*9676 Ейкман*» [1—4].

Дослідження, проведені Х. Ейкманом на о. Ява, сприяли початку розвитку *науки вітамінології*, а також подальшому відкриттю методів лікування багатьох хвороб, пов'язаних із нестачею вітамінів у їжі. На о. Ява Х. Ейкман зробив і низку інших відкриттів у галузі медицини. Так, у серії експериментів він спростував панівні уявлення про те, що в європейців, які живуть в умовах тропіків, змінюється склад крові й обмін речовин, начебто зумовлених пристосуванням організму до жаркого клімату.

ФРЕДЕРІК ГОПКІНС

Другим лауреатом Нобелівської премії з фізіології та(або) медицини за 1929 р. був англійський біохімік *Фредерік Гопкінс* (*Хопкінс*) також «*за відкриття вітамінів*».

Гопкінс Фредерік Гоуленд (англ. *Frederick Gowland Hopkins*) народився 20.06.1861 р. в Ісборні (Східний Суссекс) у сім'ї Фредеріка та Елізабет (Гоуленд) Гопкінсів. Батько Фредеріка був книготорговцем і пристрасним прихильником науки, але він раптово помер, майже відразу після народження сина. В дитинстві Фредерік полюбляв самотність, багато читав. Коли йому виповнилося вісім років, йому дозволили користуватися батьківським мікроскопом для вивчення живих істот, яких він виловлював у морі. Після закінчення лондонської школи, коли Фредеріку виповнилось 17 років, родина вирішила, що його освіту завершено, і він почав працювати в страховій компанії. У цей



Фредерік Гоуленд Гопкінс (1861—1947)

час Фредерік написав статтю про фіалковий дим, який випускає жук-бомбардир. Цю статтю опублікували в журналі «Ентомолог» («*The Entomologist*»). Пізніше він напише: «*З тих пір я в серці біохімік*».

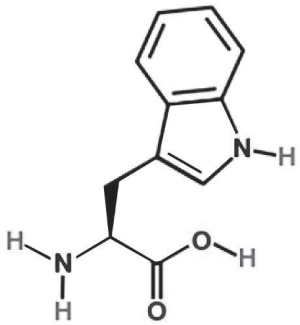
Саме тому впродовж наступних трьох років Фредерік Гопкінс вивчав аналітичну хімію у фармацевтичній фірмі. А потім, використавши невелику спадщину, що дісталася від дідуся, він зміг вивчати хімію спочатку в Королівській школі Південного Кенсінгтона, а потім в Університетському коледжі Лондона. Висока оцінка, отримана на екзамені з хімії, дала йому змогу стати асистентом сера *Томаса Стівенсона*, експерта з токсикології та фахівця із судової медицини в шпиталі Гюї.

Під час роботи зі Стівенсоном Фредерік Гопкінс отримав ступінь бакалавра природничих наук у Лондонському університеті. За рекомендацією Т. Стівенсона його в 1888 р. зарахували до медичної школи Гюї зі стипендією Гулла для досліджень. У 1891 р. він опублікував працю про *осадження сечової кислоти амонію хлоридом* — аналітичний метод, який потім використовувався впродовж багатьох років для її визначення.

У 1894 р. Ф. Гопкінс отримав медичний ступінь і на чотири роки залишився в медичній школі Гюї викладачем фізіології, хімії, токсикології. В останні два роки він очолював клінічне дослідницьке відділення, де проводив наукову роботу, завдяки результатам якої розробив *методи виділення протеїнів із крові та яєчного білка*, а також *методи кристалізації протеїнів* для їх подальших досліджень.

У 1898 р. Ф. Гопкінса запросили до Кембриджського університету як дослідника і викладача фізіологічної хімії (тепер біохімії). У Кембриджі Ф. Гопкінс відкрив й ідентифікував амінокислоту *триптофан*, виділивши її з протеїнів.

Триптофан поповнив перелік амінокислот, які вже відкрили нобелівські лауреати Е. Фішер і А. Коссель [5, 6]. Він показав, що різні протеїни, якими годували мишей, по-різному впливають на ріст і розвиток тварин. Протеїни, до складу яких не входив *триптофан*, не задовольняли повністю потреби організму. Звідси він зробив висновок, що поживні властивості протеїнів залежать від наявності або відсутності в них певних амінокислот. Крім того, деякі амінокислоти, які входять до складу протеїнів, не синтезуються в організмі людини і тварин, а мають надходити з їжею. Так з'явилась концепція «*незамінних амінокислот*», проте в науці її було прийнято значно пізніше.



Структура триптофану

З метою з'ясування ролі харчових продуктів для росту тварин Ф. Гопкінс вирощував мишенят, притримуючись для них дієти, яка складалася із свинячого жиру, крохмалю і казеїну. Тварини отриму-

вали з їжі необхідні основні компоненти — *жири*, *вуглеводи* і *протеїни*, але через деякий час у них припинявся ріст. Тоді він до цієї дієти почав додавати невелику кількість молока, в якому, за його розумінням, знаходились відповідні фактори, необхідні для росту тварин. І дійсно, тварини починали рости. Такі сполуки Ф. Гопкінс назвав «*додатковими факторами їжі*», а К. Функ у 1914 р. — *вітамінами*. Проте дослідження Ф. Гопкінса були проведені раніше (1906—1908). Про результати своєї роботи він повідомив у статті «*Експерименти з харчування, які ілюструють значення додаткових факторів у нормальній дієті*» («*Feeding Experiments Illustrating the Importance of Accessory Factors in Normal Dietaries*») лише у 1912 р.

У 1914 р. Ф. Гопкінса призначили на посаду керівника відділу біохімії в Кембриджі, а в 1925 р. він перейшов працювати до нового Інституту біохімії Данна.

Ф. Гопкінс вважав свої досліди з *вітамінами*, або *додатковими факторами*, другорядними порівняно зі своїми дослідженнями, які стосувались проміжного обміну речовин у організмі, тобто комплексу хімічних *реакцій окиснення і відновлення*, за участю яких клітина отримує енергію. Він продемонстрував, що в м'язах за зниження вмісту кисню накопичується *молочна кислота* (лактат). Так, він разом з колегою *Уолтером Флетчером* започаткував відкриття ефекту використання енергії для м'язового скорочення завдяки метаболізму вуглеводів, що підтвердили пізніше *Отто Мейєргоф* і *Арчибальд Хілл* — нобеліанти з фізіології та(або) медицини за 1922 р. [6].

У 1921 р. Ф. Гопкінс виділив із тканини тварин *трипептид*, що складався із залишків *гліцину*, *цистину* й *глутамінової кислоти* і який він назвав глутатіоном. Останній виявився необхідним для перенесення кисню в клітинах тварин і рослин. Він зробив це незалежно від *Е. Кендалла*, який синтезував *глутатіон* і встановив його хімічну будову. Ф. Гопкінс також відкрив ензим *ксантиноксидазу*, за участю якої *ксантин* і *гіпоксантин* окиснюються до *сечової кислоти*.

У 1929 р. Ф. Гопкінс одержав Нобелівську премію з фізіології та(або) медицини, яку розділив з Х. Ейкманом. У нобелівській лекції «*Початок історії дослідження вітамінів*» (не додаткових факторів), віддавши належне К. Функу за його внесок у дослідження вітамінів, Ф. Гопкінс зазначив, що насправді саме К. Функ був «*...першим, хто усвідомив істинне значення виявлених факторів*».

У 1930–1935 рр. Ф. Гопкінс був президентом Лондонського королівського товариства, що давало йому змогу вільно проводити наукову роботу. Незважаючи на погіршення здоров'я, він і після 1935 р. продовжував дослідження.

Говорячи про Ф. Гопкінса, слід наголосити, що він був першовідкривачем у науці. Одна з найцінніших рис цієї людини — уміння виявляти основні невирішені питання і викликати до них зацікавленість у інших дослідників. Він відкрив *триптофан* (1901), *глутатіон* (1901). У 1906 р. сформулював положення про незамінні фактори харчування (*незамінні амінокислоти*), першим встановив *накопичення молочної кислоти* в м'язі, що працює. Він був одним із *засновників вітамінології: відкрив у складі молока вітаміни, що стимулюють ріст (A і D)*. Талант Ф. Гопкінса як експериментатора привернув увагу плеяди мо-

лодих дослідників до його лабораторії в Кембриджі. Багато його учнів стали видатними вченими.

У 1925 р. Ф. Гопкінсу присвоїли лицарське звання («зведений у лицарську гідність»). Він мав численні нагороди: Королівську медаль (1918), медаль Коплі Королівського товариства (1926), медаль Альберта Королівського товариства мистецтв (1934), Орден Заслуг (Велика Британія, 1935). Він був іноземним почесним членом Академії наук СРСР (1934 р.) і почесним доктором багатьох університетів [7—11].

Фредерік Гопкінс пішов з життя 16 травня 1947 р. у Кембриджі у віці 76 років.

Ф. Гопкінс зробив великий внесок у розвиток біохімічної науки. Його вважають організатором кембриджської школи біохіміків і одним із *засновників динамічної біохімії та біохімії харчування*.

Таким чином, наприкінці XIX — на початку XX ст. науковими дослідженнями *Христіана Ейкмана* та *Фредеріка Гопкінса* — нобелівських лауреатів, а також *Казиміра Функа* (який не отримав премію) було чітко показано, що крім протеїнів, жирів і вуглеводів для нормального існування людини та тварин необхідні «*додаткові речовини*», які в 1914 р. К. Функ назвав «*вітамінами*». Саме ці дослідники започаткували новий напрям у біохімії — *вітамінологію*. Нині безсумнівною є необхідність і важливість профілактичного та лікувального використання вітамінів для людей. Без перебільшення можна сказати, що сьогодні великим попитом користується професія дієтолога. Адже здоровим харчуванням заради продовження повноцінного життя переймається практично кожен, але без вітамінів це неможливо.

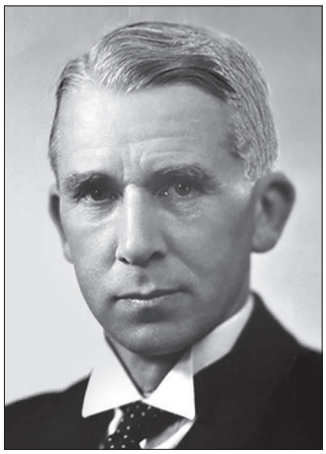
ВІТАМІН С

Альберт Сент-Дьйорді (*Szent-Györgyi Albert*) — американський біохімік угорського походження вперше зумів виділити вітамін С і провів фундаментальні дослідження щодо біологічного окиснення та м'язового скорочення, про що йшлося раніше. У 1937 р. він був удостоєний Нобелівської премії з фізіології або медицини за цикл робіт з біологічного окиснення, в тому числі за аскорбінову кислоту (вітамін С).

Також Нобелівську премію за роботи з вивчення вітамінів, але вже з хімії, отримали в 1937 р. англійський хімік і біохімік *Уолтер Н. Хоуорс* «*за дослідження вуглеводів і вітаміну С*» і швейцарськиий хімік *Пауль Каррер* «*за дослідження каротиноїдів і флавінів, а також за вивчення вітамінів А і* B_2».

УОЛТЕР ХОУОРС

Уолтер Нормен Хоуорс (англ. *Sir Walter Norman Haworth*) народився 19 березня 1883 р. у маленькому містечку Чорлі (Ланкашир, Велика Британія) в родині Томаса та Ханни Хоуорс. У 14 років Уолтер розпочав працювати на фабриці з виробництва лінолеуму, якою керував його батько. Знайомство з барвниками, використовуваними на фабриці, викликало в нього зацікавленість хімією. Батьки зрозуміли, що хлопчику слід дати освіту. Спочатку в нього був приватний вчитель із сусіднього містечка, а потім — Манчестерський універ-



Уолтер Нормен Хоуорс
(1883—1950)

ситет і робота під керівництвом декана хімічного факультету *Уїльяма Перкіна* молодшого — дослідника терпенів, сина Уїльяма Генрі Перкіна — першовідкривача анілінових барвників. Після закінчення з відзнакою в 1906 р. університету він наступні три роки був асистентом У. Перкіна молодшого, досліджуючи *терпени* — вуглеводи, які було знайдено в деяких рослинних оліях.

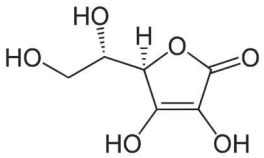
У 1909 р. У. Хоуорс їде до Геттінгена, де працює з О*тто Валлахом* (нобелівський лауреат з хімії, 1910) у Геттінгенському університеті та отримує докторський ступінь *за дослідження терпенів*. Після повернення до Манчестера в 1911 р. він *удруге отримує ступінь доктора* та працює в Імперіал-коледжі в Лондоні. У 1912 р. У. Хоуорс став викладачем з хімії в об'єднаному коледжі Університету св. Ендрю в Шотландії, де познайомився з працями Томаса П'єрді та Джеймса Ірвіна — першовідкривачами структури деяких вуглеводів. Саме в Шотландії наукові інтерес У. Хоуорса зміщуються *від терпенів до вуглеводів*. На той час багато вуглеводів вже було ідентифіковано, але їхня просторова структура не була відома.

Дослідження вуглеводів У. Хоуорсом перервала Перша світова війна. У 1914—1918 рр. лабораторія, де він працював, займалася виробництвом ліків для армії, проте деякі роботи з цукрами все одно проводилися (саме у 1915 р. У. Хоуорс розпочав експерименти з простими цукрами і запропонував спосіб одержання метилових ефірів моносахаридів).

У 1920 р. У. Хоуорс став професором органічної хімії в Армстронг-коледжі (Кінг-коледж) у Дархемському університеті (Ньюкасл), де наступного року очолив хімічний факультет. У 1925 р. він перейшов до Бірмінгемського університету на посаду професора хімії. Працюючи в цих університетах, У. Хоуорс повернувся до дослідження структури моно- та олігосахаридів. У 1925 р. він зробив геніальне припущення: структура глюкози складається з шести атомів вуглецю, з'єднаних між собою в кільце. Його модель просторової структури глюкози відрізнялась від запропонованої Емілем Фішером, який вважав, що цукри мають лінійну, незамкнену будову [5]. Так в органічній хімії з'явилися славнозвісні просторові формули вуглеводів Хоуорса, якими користуються до цього часу. Завдяки цій і наступним роботам наприкінці 20-х років XX ст. м. Бірмінгем стало провідним центром із дослідження вуглеводів, а одна з будівель Бірмінгемського університету нині має ім'я У. Хоуорса. Саме він встановив просторові структури великої кількості цукрів. До 1928 р. Хоуорс визначив і підтвердив будову *мальтози*, *лактози*, *рафінози*, *целобіози*, *гентіобіози*, *малібіози*, *гентіанози*.

Продовжуючи дослідження цукрів і споріднених до них сполук, У. Хоуорс із коллегами почали вивчати *гексуронову кислоту*, яку було виділено А.Сент-Дьйорді з надниркових залоз тварин і з червоного перця (паприки), про що йшлося раніше [6]. У 1932 р. У. Хоуорс встановив, що в структурі цього вугле-

воду є шість атомів вуглецю, вісім атомів водню, шість атомів кисню і що він має п'ятичленну кільцеподібну структуру із трьома короткими розгалуженими ланцюгами. У. Хоуорс перейменував *гексуронову кислоту* в *аскорбінову* (протискорбутну) і синтезував її. У 1933 р. У. Хоуорс став першим в історії науки дослідником, який синтезував *вітамін — вітамін С.*



Формула аскорбінової кислоти

«*За дослідження вуглеводів і вітаміну С*» *Уолтера Н. Хоуорса* в 1937 р. удостоєно Нобелівської премії з хімії. Презентуючи лауреатів, член Шведської королівської академії В. Палмер у промові зазначив: «*Дослідження У. Хоуорсом вітаміну С відчинили двері для одержання синтетичним шляхом сполуки, надзвичайно важливого вітаміну, який знаходиться в природі в дуже мізерних концентраціях. Зараз вітамін С вже виробляється в промислових об'ємах, причому коштує синтетичний вітамін С значно дешевше, ніж природний продукт*». Таким чином, саме завдяки результатам досліджень У. Хоуорса завдання налагодження синтезу вітамінів було вирішено.

(Цікаво, що саме у 1937 р. майже вперше «Нобеля» з медицини легко було сплутати з «Нобелем» з хімії. У. Хоуорс одержав премію з хімії «у тому числі за аскорбінову кислоту», а Альберт Сент-Дьйорді — премію з фізіології та(або) медицини «в тому числі за аскорбінову кислоту».)

У 1941 р. У. Хоуорс очолив Британську хімічну комісію з атомної енергетики. З 1943 до 1946 р. він був деканом факультету в Бірмінгемському університеті, а з 1944 до 1946 р. — президентом Британського хімічного товариства.

У день свого народження — 19 березня 1950 р. — У. Хоуорс помер у себе вдома від серцевого нападу. Він пережив дружину та двох синів, які загинули під час Другої світової війни.

Крім Нобелівської премії, У. Хоуорс мав велику кількість нагород: медаль Лонгстафа Британського хімічного товариства (1933), медаль Деві (1934) і Королівську медаль Лондонського королівського товариства. Він був членом і президентом Британського хімічного товариства, почесним членом Швейцарського хімічного товариства, Баварської і Віденської академій наук, низки інших академій. Йому присвоїли почесні вчені звання університетів Манчестера, Кембриджа, Цюріха, Університету Королеви в Белфасті [12—16].

Таким чином, основні роботи У. Хоуорса присвячено *хімії вуглеводів*. Він розшифрував структуру *моносахаридів*: *глюкози*, *галактози*, *манози* та деяких інших. Вперше запропонував *формули цих моносахаридів*, які відображають їхню структуру (*формули Хоуорса*). Він також дослідив будову складних вуглеводів — *крохмалю* і *целюлози*, ввів термін «*конформація*» і удосконалив *номенклатуру цукрів*. У. Хоуорс дослідив структуру *вітаміну С* і синтезував його (1933) одночасно з Т. Рейхштейном і незалежно від нього [17]. Одним з перших він показав *важливість досліджень полісахаридів методом рентгеноструктурного аналізу*, створив дослідницький центр і наукову школу з вивчення цукрів. Саме за ці видатні досягнення в галузі хімії та біохімії вуглеводів, а також за синтез вітаміну С *Уолтер Н. Хоуорс* отримав Нобелівську премію з хімії в 1937 р.

ВІТАМІНИ А І B_2

ПАУЛЬ КАРРЕР

Пауль Каррер (1889—1971)

Другим нобелівським лауреатом з хімії за 1937 р. був швейцарський хімік-органік і біохімік *Пауль Каррер*.

Пауль Каррер (нім. *Paul Karrer*) народився 21 квітня 1889 р. у Москві (Росія), де його батько працював дантистом. Коли хлопчику було три роки, сім'я повернулась на батьківщину до Швейцарії. Серйозну зацікавленість до науки Пауль проявив ще тоді, коли навчався в гімназії. Девізом цієї гімназії було: «*Вивчай, думай, а потім говори*».

У 1908 р. Пауль вступив до Цюріхського університету, де вивчав хімію в *Альфреда Вернера* (нобелівського лауреата з хімії, 1913). Після одержання докторського ступеня в 1911 р. П. Каррер став асистентом А. Вернера в Хімічному інституті Цюріхського університету. А. Вернер доручив талановитому учневі самостійну роботу — *вивчення органічних сполук арсену*. П. Каррер успішно одержав нові *арсеновмісні барвники* та запатентував їх. Його помітив *Пауль Ерліх*, нобелівський лауреат з фізіології та(або) медицини у 1908 р. «*за роботи з імунітету*», але відоміший тим, що запропонував «*препарат 606*», або *сальварсан*, для лікування сифілісу [18]. Перша наукова стаття Каррера, присвячена органічним сполукам арсену, справила таке глибоке враження на Пауля Ерліха, що він у 1912 р. запропонував Карреру стати його асистентом у Науково-дослідному хіміотерапевтичному інституті у Франкфурті-на-Майні (Німеччина).

У цьому інституті П. Каррер досліджував комплекси *сальварсану* із солями різних металів із метою встановлення структури препарату. Під час досліджень з'ясувалось, що *комплекс сальварсану з міддю* виявляє високу активність щодо бактерії спірили та паразитичних одноклітинних трипаносом. А синтезований ним *комплекс сальварсану зі сріблом* пізніше ввели в медичну практику. Ці роботи з органічними похідними арсену тривали до 1916 р. і закінчилися науковим доробком П. Каррера із 15 публікацій і 8 патентів. П. Карреру пощастило — він був учнем двох великих учених — *Альфреда Вернера* і *Пауля Ерліха*.

Під час Першої світової війни П. Каррер перебував у швейцарській армії як артилерійський офіцер. У 1915 р. після смерті П. Ерліха він повернувся до Франкфурта-на-Майні для того, щоб продовжити наукові дослідження в Хіміотерапевтичному інституті, очоливши в 26 років його хімічний напрям. Працюючи в інституті, П. Каррер протягом трьох років досліджував хімію рослинних продуктів, а потім повернувся до Цюріхського університету, де в 1919 р. став професором хімії та директором Хімічного інституту замість померлого А. Вернера. Саме тоді він зацікавився *стереохімією цукрів*, *амінокислот і протеїнів*. Забігаючи наперед, зазначимо, що П. Каррер залишався на керівних посадах у цьому університеті чотири десятки років, а в 1950—1952 рр. він був його

ректором. Коли П. Карреру виповнилось 70 років, він пішов з посади директора інституту (1959).

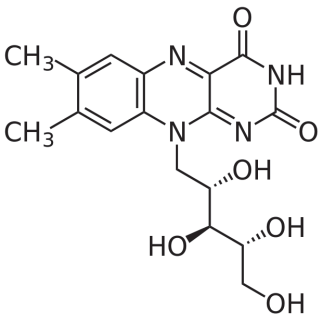
У 1927 р. П. Каррер почав досліджувати *антоціани* — пігменти, які забарвлюють квіти рослин у червоний і синій кольори. На цей час Ріхард Вільштеттер (нобелівський лауреат з хімії, 1915) вже виділив ці сполуки і дослідив їхню молекулярну структуру [6], а П. Каррер вивчив склад *антоціанів*. Досліджуючи жовтий пігмент рослин, він у 1930 р. визначив структуру β-*каротину*, який знаходиться в моркві та в інших рослинах із жовтим забарвленням. Незалежно від П. Каррера, β-*каротин* знайшов *Ріхард Кун* (нобелівський лауреат з хімії, 1938).

П. Каррер встановив, що молекула β-*каротину* складається з двох симетричних частин, кожна з яких є дзеркальним відображенням іншої. З'ясувавши, що каротин перетворюється в організмі на *вітамін А*, Каррер виділив його із жиру риб'ячої печінки і до 1931 р. визначив не тільки його склад, а й молекулярну структуру. Він виявив, що *вітамін А* складається з 20 атомів вуглецю, 30 атомів водню і 1 атома кисню, які разом утворюють шестичленне замкнуте кільце, на двох кінцях якого прикріплено три метильні групи, а до третього — довгий зигзагоподібний ланцюг. Ця конфігурація є половиною молекули бета-каротину із приєднаною до неї молекулою води. Встановивши це, Каррер став першим науковцем, який описав *молекулярну структуру вітаміну А.*

На початку 30-х років XX ст. Каррер, спираючись на знання органічних пігментів, продовжив вивчення вітамінів. Так, з понад 100 тон сироватки молока йому вдалося отримати невеличку кількість жовтого, водорозчинного, азотовмісного пігменту, який він назвав «*лактофлавіном*» і який пізніше став відомий як *рибофлавін*, або *вітамін* B_2. Провівши хімічний аналіз, Каррер встановив формулу та молекулярну структуру, а в 1935 р. синтезував його.

У 1937 р. вченому було присуджено Нобелівську премію з хімії «*за дослідження каротиноїдів і флавінів, а також за вивчення вітамінів А і* B_2». Він розділив цю премію з англійським хіміком *У.Н. Хоуорсом*. У нобелівській лекції П. Каррер підкреслив, що за допомогою нових аналітичних методів всього за кілька років було відкрито існування приблизно 40 каротиноїдів. Він нагадав про те, що «*...минуло лише 10 років з того часу, коли багато вчених ще сумнівалися в матеріальній специфічності вітамінів і дотримувалися тієї думки, що причиною особливостей спостережуваного впливу вітамінів ... є (специфічний) особливий стан матерії*». На завершення Каррер сказав: «*Хімічний бік проблеми вітаміну по суті своїй вирішено. Завдання фізіології ... пояснити втручання цих агентів у процеси діяльності клітин*».

Через рік після вручення Нобелівської премії Каррер синтезував *вітамін Е* (α-*токоферол*), а за цим успіхом швидко прийшов ще один — виділення в чистому стані *вітаміну* K_1. Потім Каррер вивчав *нікотинамідаденіндинуклеотид* (NAD) — ензимну речовину, що регулює обмін водню між молекулами всередині клітини і, таким чином, створює внутрішньоклітинну енергію. У 1942 р. вчений визначив структуру цієї речовини. Пізніше, в 40-ві



Структура вітаміну B_2

роки XX ст., він повернувся до вивчення *каротинів* і до 1950 р. завершив синтез усіх цих сполук. У той самий час він керував науковими роботами з дослідження *кураре* — природної отрути, похідні якої з того часу застосовуються в хірургії як засіб для розслаблення м'язів.

У 1950—1953 рр. П. Каррер був ректором Цюріхського університету, а потім став його почесним професором. Одночасно, ще з 1919 р., він був директором Хімічного інституту в Цюріху та продовжував займатися науковою діяльністю і після виходу в 1959 р. у відставку.

П. Каррер є засновником відомої наукової школи в галузі хімії й природних сполук. Сучасники вважали його видатним педагогом [19—23]. Підручник П. Каррера «*Курс органічної хімії*» («*Lehrbuch der organischen Chemie*», 1928) перевидавався 13 разів; його було перекладено багатьма мовами. У 1948 р. спільно з Е. Юккером (*E. Jucker*) було видано монографію Пауля Каррера «*Каротиноїди*».

Винятково педантичний дослідник, завдяки своїй доброті та скромності П. Каррер користувався глибокою повагою. Пішов з життя П. Каррер 18 червня 1971 р. у Цюріху після нетривалої хвороби на 83-му році життя.

Крім Нобелівської премії, П. Карреру було вручено премію Фонду Марселя Бенуа (1923), премію Станіслао Канніццаро Італійської національної академії наук (1935) та багато інших нагород. Він був членом наукових товариств: Лондонського королівського товариства, Академії наук у Парижі, Національних академії наук Італії та США; мав почесні ступені університетів Парижа, Лондона, Цюріха, Базеля, Страсбурга, Бреслау, Брюсселя, Турина і Мадрида.

На честь 70-річчя від дня народження П. Каррера було засновано наукові читання імені Пауля Каррера з врученням переможцям золотої медалі його імені. Крім того, П. Каррер заснував «Фонд підтримки міждисциплінарних семінарів у Швейцарії Фріца Гоффмана—Ла Роше» і «Стипендіальний хімічний фонд». У 1979 р. Міжнародний астрономічний союз присвоїв ім'я Пауля Каррера кратеру на зворотному боці Місяця.

Таким чином, великою заслугою *Пауля Каррера* перед біохімією є те, що хімік-органік, досліджуючи біологічно активні природні сполуки, з'ясував структуру *вітаміну А*, довівши його утворення з β-*каротину*. Крім того, він визначив структуру і синтезував *вітаміни* B_2, *Е і* K_1, розширив коло невідомих до того часу біологічно активних сполук, встановив їхню будову.

Пауль Каррер займався також вивченням *цукрів*, *барвників*, *амінокислот* і *протеїнів*. До сфери інтересів П. Каррера одночасно належало багато розділів органічної хімії. Досліджуючи амінокислоти та протеїни, він встановив перетворення амінокислот з D- на L-форму і зробив висновок, що всі незамінні амінокислоти людини належать до L-ряду. У 1924—1925 рр. він виділив два протеїни-токсини: *рицин* із насіння рицини і *кротин*, а також встановив структуру *сквалену*.

Пауль Каррер був талановитим вченим і чудовим наставником, мав гостру наукову інтуїцію, але найперше був прекрасним хіміком-синтетиком. Синтезуючи та модифікуючи десятки хімічних сполук, він приділяв багато уваги спектроскопічним характеристикам і методам виділення органічних речовин; деякі з методів він удосконалив і впровадив у практику. В хімії цукрів і вуглево-

дів, амінокислот і протеїнів є багато сторінок, написаних дослідницькою рукою Пауля Каррера.

Зазвичай, якщо людина має значні досягнення та водночас є учнем нобелівського лауреата або видатного вченого, то її шанси на отримання цієї премії значно підвищуються. Стосовно П. Каррера можна стверджувати, що він мав повне право одержати Нобелівську премію, зважаючи ще і на те, що багато разів номінувався на неї.

РІХАРД КУН

Нобелівську премію з хімії за 1938 р. було присуджено австрійсько-німецькому хіміку і біохіміку *Ріхарду Куну* «*як відзнаку за проведену ним роботу з каротиноїдами і вітамінами*».

Ріхард Кун (1900—1967)

Ріхард Кун (нім. *Richard Johann Kuhn*) народився 03.12.1900 р. у Відні в родині інженера Клемента Кун і вчительки початкової школи Анжеліки (Родлер) Кун. Після закінчення гімназії в 1917 р. Ріхарда призвали на військову службу та відправили на фронт Першої світової війни. На його очах руйнувався світовий порядок, поховавши під уламками імперію, за яку він воював.

У листопаді 1918 р. Р. Кун неушкодженим повернувся до Відня і вступив до Віденського університету, але через три семестри перейшов до Мюнхенського університету, який на той час був відомий славетними традиціями хіміків *Ю. Лібіха* і *А. Байєра*. У Мюнхені він вивчав хімію у *Р. Вільштеттера* (нобелівський лауреат з хімії, 1915) і в 1922 р. отримав докторський ступінь за дисертацію «*Про специфічну роль ензимів у вуглеводному метаболізмі*». В лабораторії Р. Вільштеттера Р. Кун пройшов школу дослідника складних органічних речовин рослинного та тваринного походження. Із перших кроків роботи в лабораторії Р. Кун зарекомендував себе як природжений експериментатор. Під впливом Р. Вільштеттера сформувались його основні наукові інтереси.

У 1926 р. Р. Кун отримав запрошення на роботу до Федерального технологічного інституту в Цюріху, а у 1929 р. вже очолив хімічне відділення Інституту медичних досліджень кайзера Вільгельма, який тільки-но було створено при Гейдельберзькому університеті (з 1950 р. — Інститут Макса Планка), і одночасно займав посаду професора хімії. У 1937 р. він став директором цього інституту і залишався на цій посаді до кінця наукової діяльності. Саме в цьому інституті Р. Кун підготував майже півтораста учнів і саме тут повною мірою розкрився його талант експериментатора й організатора науки.

На перших етапах наукової діяльності під великим впливом авторитету Р. Вільштеттера Р. Кун досліджував *ензими*. Його зацікавило, яким чином структура органічних сполук пов'язана з їх функціонуванням у біологічних системах. *Ензими*, або *біологічні каталізатори*, — це протеїни, які прискорюють

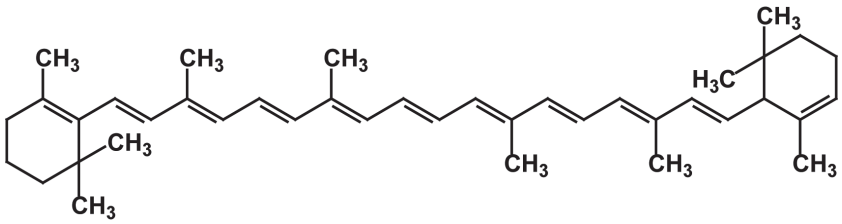
хімічні реакції, що відбуваються в клітинах живих організмів. Кожний ензим специфічно реагує з певною хімічною речовиною (субстратом). Р. Кун прагнув з'ясувати питання розміщення атомів у тих або інших органічних молекулах (тобто *визначити конформацію молекул*). Він також намагався зрозуміти, яким чином ці молекули спроможні відхиляти світло, що проходить через них, з метою встановлення їхньої *оптичної ізомерії*. Його також цікавила природа *спряжених подвійних зв'язків* у органічних молекулах.

Всі ці наукові напрями Р. Кун поєднав, коли почав досліджувати *каротиноїди* — біологічні пігменти, які є важливою складовою багатьох живих, особливо рослинних, клітин. Хімічну формулу одного з пігментів, а саме *каротину*, велика кількість якого міститься в моркві, раніше встановив Р. Вільштеттер. У 1930—1931 рр. Р. Кун і П. Каррер, незалежно один від одного, виявили в *каротині* два компоненти, що відрізнялись один від одного. Це — α-*каротин*, здатний відхиляти світло (*оптично активний*), і β-*каротин*, що не відхиляє світла (*оптично неактивний*).

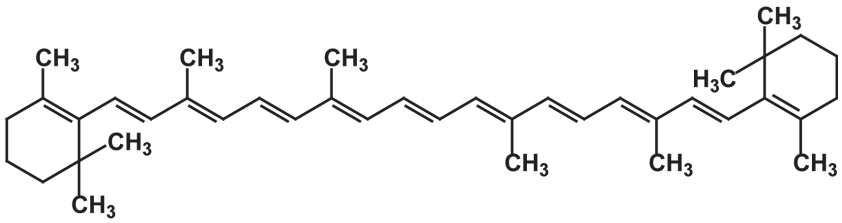
Два роки потому Р. Кун знайшов ще третій вид каротину — γ-*каротин*. Усі три ізомери мають однакову хімічну формулу, але різну просторову конфігурацію молекул. Надалі він відкрив δ-*каротин* і ε-*каротин*.

Продовжуючи дослідження, Р. Кун з'ясував, що *каротин* є вихідною речовиною для *вітаміну А*, тобто він є *провітаміном*, з якого утворюється вітамін А. Цей вітамін відіграє життєво важливу роль у організмі людини і тварин. Фізіологічні функції вітаміну А прийнято поділяти на дві групи: *фоторецепторну*, пов'язану з його участю в зоровому акті, і *системну* — в процесах росту, клітинного диференціювання, репродуктивної функції, забезпечення адекватного імунологічного і гематологічного статусу.

Р. Кун також визначив роль печінки в утворенні вітаміну А. Так, він встановив, що в печінці з однієї молекули β-*каротину* або з двох молекул

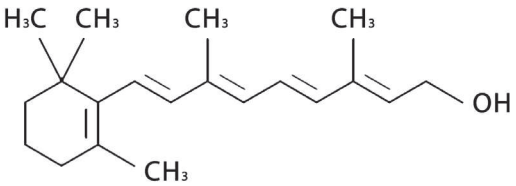


Структура альфа-каротину



Структура бета-каротину

α-*каротину* утворюється дві молекули вітаміну А. Використовуючи метод адсорбційної хроматографії, запропонований М.С. Цвєтом, Р. Кун зі співробітниками виявили *каротиноїди* в організмах багатьох тварин і рослин.



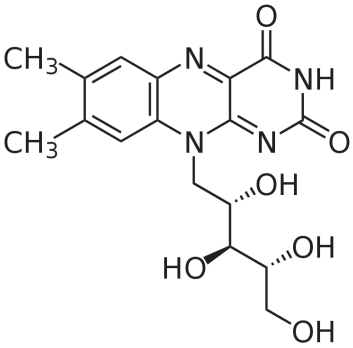
Структура вітамину А

Від вітаміну А Р. Кун перейшов до вивчення наступної літери алфавіту — вітамінів В. На той час вже було відкрито вітамін B_2, проте його не було ізольовано. Незалежно від П. Каррера, Р. Кун у 1933 р. у співпраці з двома іншими вченими: Паулем Дьйорді (не переплутати з нобелівским лауреатом (1938) Альбертом Сент-Дьйорді) і Теодором Вагнером-Яуреггом (не переплутати з нобелівським лауреатом (1927) Юліусом Вагнером-Яуреггом, який запропонував лікування третинного сифілісу зараженням малярією) виділив близько одного грама *лактофлавіну* з тисячі літрів молока. Спочатку Р. Кун встановив структуру *люміфлавіну*, який був продуктом розпаду *лактофлавіну*, потім хімічний склад самого лактофлавіну і, кінець кінцем, синтезував ці обидві сполуки. Він також показав, що *лактофлавін* (тепер він має назву *рибофлавін*, або *вітамін* B_2) є *важливим компонентом дихальних ензимів*.

У 1936 р. вчений синтезував *рибофлавін-5-фосфат*, а в 1938 р. встановив будову *флавінаденіндинуклеотиду* (FAD) — коферменту, що бере участь в окисновідновних метаболічних процесах. Як простетична група він входить до складу багатьох ферментів *флавінопротеїнів*. FAD утворюється з вітаміну B_2 (рибофлавіну) внаслідок конденсації з аденозиндифосфатом (ADP). Отже, Р. Кун одним із перших (якщо не перший) зробив крок до розуміння функції вітамінів у живих організмах як *коензимів*.

У 1938 р. Р. Кун виділив із дріжджів *адермін*, який нині називають *вітаміном* B_6, визначивши спочатку його елементарну, а потім і структурну формулу. На сьогодні відомо, що він міститься в багатьох продуктах, а в організмі синтезується кишковою флорою.

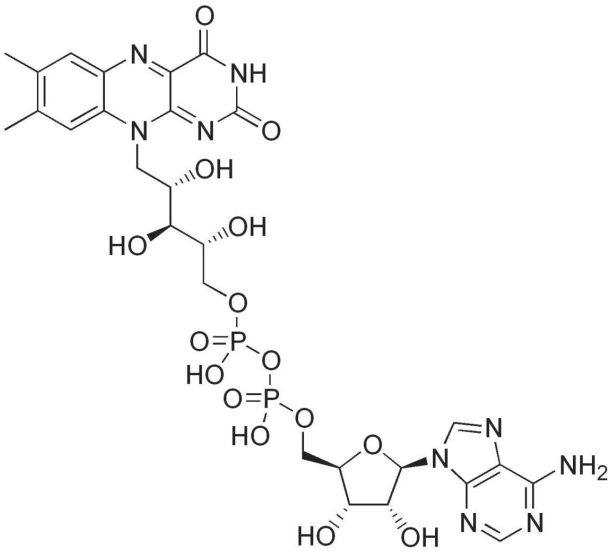
У 1939 р. Р. Кун одночасно з групою американських дослідників синтезував *адермін*, або *вітамін* B_6 (це загальна назва трьох речовин — *піридоксину*, *піридоксалю*, *піридоксаміну*).

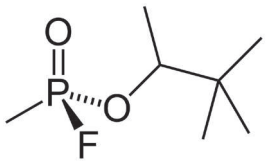


Структура вітамину B_2

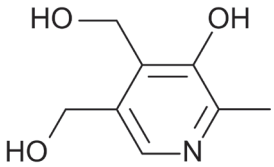
У 1939 р. Ріхарду Куну присудили Нобелівську премію з хімії за 1938 р. «*на знак визнання проведеної ним роботи з каротиноїдами і вітамінами (for his work on carotenoids and vitamins)*». Але нацистське керівництво не дозволило йому отримати нагороду. Нобелівську медаль і чек на гроші Р. Кун одержав лише в 1949 р. на церемонії в Стокгольмі.

(Зауважимо, що Ріхард Кун, можливо, через свій конформізм, у часи Третього рейха з дивною легкістю спілкувався з його верхівкою. Якщо йому наказували не спілкуватися з єв-

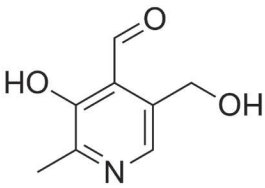




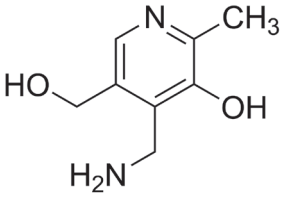
Структура зоману



Піридоксин



Піридоксаль



Піридоксамін

Структура флавінаденіндинуклеотиду

реями, він припиняв з ними працювати. Якщо дали команду розробити отруйні речовини — будь ласка! Якби Німеччина наважилась застосувати створений Куном у 1944 р. *зоман* (фосфорорганічна бойова отруйна речовина, «прадідусь» «Новичка»), то хто знає, чи не опинився б Кун замість Стокгольма у 1949 р. у Нюренберзі у 1945-му...).

Після війни Р. Кун продовжив активно займатися науковою діяльністю, яка виявилась навіть більш плідною, ніж до Нобелівської премії. Вже після її одержання Р. Кун виділив *пара-амінобензойну кислоту* — сполуку, яка входить до складу *фолієвої кислоти* (вітамін B_c, або B_9). Коензимна функція фолієвої кислоти полягає в міжмолекулярному перенесенні одновуглецевих фрагментів (*метильних*, *оксиметильних*, *формільних* тощо). Вона бере участь у біосинтезі азотистих основ нуклеїнових кислот, креатину, метіоніну та інших. *Фолієва кислота* біохімічно пов'язана з обміном та функціями *вітаміну* B_{12}.

У 1950 р. Р. Кун обійняв посаду професора біохімії на медичному факультеті Інституту Макса Планка, де він з метою з'ясування молекулярної взаємодії між організмом людини й її «ворогами», досліджував *віруси грипу*, *вібріони холери* і *лічинки колорадського жука*. Ці дослідження зробили певний внесок у розуміння молекулярного механізму опірності організму.

Ріхард Кун пішов з життя 1 серпня 1967 р. у Гейдельберзі у віці 66 років.

Як вченого-професіонала Р. Куна характеризувала точність, наполегливість у роботі, творчий підхід і надзвичайна інтуїція. Він був глибоко зацікавлений у практичному використанні одержаних результатів, особливо в сільському господарстві та медицині. В цьому аспекті його порівнюють з такими вченими, як Луї Пастер і А. Віртанен (Нобелівська премія, 1945), які намагались поєднати академічні дослідження з практичними потребами.

Ріхард Кун був рідкісним зразком всебічно обдарованої особистості. Наприклад, він був футболістом і входив до основного складу команди «Аустрія»; грав на скрипці у Віденському симфонічному оркестрі; досконало знав шість європейських мов, а хінді і японською міг читати.

Р. Кун був членом наукових товариств багатьох країн і мав почесні ступені Мюнхенського технічного і Віденського університетів, Університету св. Марії у Бразилії та низки інших. Він також був президентом Німецького хімічного товариства і віце-президентом Товариства Макса Планка. Крім того, був нагороджений пам'ятною медаллю Адольфа фон Байера (1934), медаллю Котеніуса (1937), премією Гете (1942), медаллю Вільгельма Екснера (1952), Премією Пауля Ерліха і Людвига Дармштадтера (1958), Премією століття (1962) тощо. На його честь названо «медаль Ріхарда Куна», а його зображення увічнено на поштовій марці Австрії у 1992 р. Міжнародний астрономічний союз присвоїв ім'я Ріхарда Куна кратеру на зворотному боці Місяця [24—29].

Таким чином, хімік-органік *Ріхард Кун* зробив величезний внесок у розвиток біохімічної науки, здебільшого в дослідження структури *каротиноїдів і вітамінів*. Його головні наукові досягнення: методом адсорбційної хроматографії він разом зі співробітниками *розділив каротиноїди*; незалежно від П. Каррера *встановив структуру* α- *і* β-*ізомерів каротину та запропонував його синтез*; *виділив кристали вітаміну* B_2 (*рибофлавіну*) і, що особливо важливо, (одночасно з О. Варбургом) *синтезував рибофлавін-5-фосфат* і визначив будову *флавінаденіндинуклеотиду*, започаткувавши тим самим з'ясування *коензимної функції вітамінів*. Крім того, він *виділив з дріжджів вітамін* B_6 *(адермін) і встановив його структурну формулу*. Синтезував близько 300 рослинних пігментів; опублікував майже 700 наукових праць. Узагальнюючи, можна зазначити, що життя Р. Куна — це приклад відданого служіння науці. Його ім'я вкарбовано в історію хімії та біохімії XX ст.

ВІТАМІН К

У 1943 р. Нобелівську премію з фізіології та(або) медицини отримали данський біохімік *Генрік Дам* «*за відкриття вітаміну К*» і американський біохімік *Едуард Дойзі* «*за відкриття хімічної структури вітаміну К*».

ГЕНРІК ДАМ

Генрік Карл Петер Дам (дан. *Carl Peter Henrik Dam*) народився 21 лютого 1895 р. у Копенгагені (Данія) в сім'ї хіміка-фармацевта та автора історичних і біографічних книг Еміля та вчительки Емілії (Петерсон) Дам. Він вивчав хімію у Копенгагенському політехнічному інституті (нині — Данський техніч-

Генрік Дам (1895—1976)

ний університет) і в 1920 р. одержав ступінь магістра. Три роки Г. Дам викладав хімію в Королівській сільськогосподарській школі, а в 1923 р. отримав посаду асистента у фізіологічній лабораторії Копенгагенського університету. Тоді до його нобелівського відкриття залишалося шість років. За цей час він встиг пройти стажування в австрійського аналітика *Фріца Прегля* (нобелівського лауреата (1923) з хімії «*за створення методів мікроаналізу речовин*»). Починаючи з 1928 р., у створеному на гроші Рокфеллера *Данському інституті біохімії та фізіологічної хімії* Генрік Дам почав працювати на посаді асистента професора, а вже в наступному році став ад'юнкт-професором. За дисертацію з біологічного дослідження стеринів у 1934 р. він отримав ступінь доктора філософії.

У період 1928—1930 рр. Г. Дам досліджував метаболізм *холестеролу* в курчат. Він годував їх знежиреною їжею, майже позбавленою *холестеролу*. Через кілька тижнів такої «дієти» у піддослідних тварин починалися *важкі крововиливи*. З'ясувалося, що у курчат перестала зсідатися кров. Зрозуміло, першою гіпотезою було те, що на зсідання крові впливає холестерол. Проте рятувало їх не додавання чистого холестеролу, а додавання зерна. Науковець дійшов висновку, що річ не в жирі, а в невідомому «*жиророзчинному факторі*», який і впливає на зсідання крові. Пізніше Генрік Дам написав: «*... можна впевнено казати, що нове експериментальне захворювання зумовлене відсутністю в харчовому раціоні невідомого до цього часу фактора в дієті*».

За кошти Рокфеллрівського фонду Г. Дам у 1932—1933 рр. продовжив дослідження разом з *Рудольфом Шейнгеймером* у Фрайбурзі (Німеччина), а двома роками пізніше — у Цюріху (Швейцарія). Тут знадобились його знання і навички з мікроаналізу органічних речовин, а також співпраця з відомим швейцарським хіміком-органіком і біохіміком *П. Каррером*, який мав досвід дослідження та синтезу вітамінів. Їм необхідно було виділити цей невідомий фактор і встановити його будову. Разом вони виділили харчовий фактор із зеленого листя рослин і з'ясували, що це і є невідомий «*жиророзчинний фактор*». Пізніше Г. Дам назвав цю речовину вітаміном К (від першої літери німецького та скандинавського слова «коагуляція»), підкресливши його здатність прискорювати процес зсідання крові та запобігати крововиливам. Цей вітамін також виявили в печінці тварин, що вказувало на механізм його дії. З'ясувалося, що в печінці виробляється ензим, який бере участь у зсіданні (коагуляції) крові; за відсутності вітаміну К він не працює і вся система зсідання крові виходить з ладу.

У журналі «Nature» 1935 р. було надруковано ключову працю Г. Дама «*The Anti-haemorrhagic Vitamin of the Chick: Occurrence and Chemical Nature*», в якій він вже використовує не термін «*фактор*», а «*вітамін*» з літерою К.

Після виділення *вітаміну К* Генрік Дам і Пауль Каррер зрозуміли, що насправді існує дві форми вітаміну К. Але в цій частині досліджень їх випере-

дила група американських вчених на чолі з професором біохімії університету Сент-Луїса *Едуардом Адельбертом Дойзі*, які в 1939 р. виділили дві різні форми вітаміну К — одну з рослини (*люцерни*), другу з тварин (*риб'ячого борошна*) і назвали їх *вітамінами* K_1 *та* K_2. (Зазначимо, що в 1942 р. співробітники Інституту біохімії під керівництвом академіка О.В. Палладіна розробили технологію одержання водорозчинного препарату вітаміну К — *метилнафтохінону*, названого *вітаміном* K_3, який згодом отримав торговельну назву «*вікасол*».)

Досліджуючи роль вітаміну К у процесі зсідання крові, Г. Дам виявив, що утворення тромбіну з протромбіну залежить від наявності в ньому вітаміну К. Він також з'ясував, що вітамін К у людини і тварин синтезують бактерії кишечника і що в здорових людей його синтезованої кількості достатньо для зупинення кровотеч. (Насправді нині встановлено, що всмоктування природних вітамінів К й їхніх синтетичних жиророзчинних аналогів відбувається не в товстому відділі, де знаходяться ці бактерії, а у верхніх відділах тонкого кишечника.)

Генрік Дам вказав також напрями застосування вітаміну К у медицині: *для зупинки кровотеч, під час хірургічних операцій, для лікування захворювань печінки, а також у гінекологічній практиці.* Результати спостережень засвідчили, що звичайна доза вітаміну К, яку призначали вагітним жінкам до пологів, а потім — немовлятам, значно знижувала їх смертність від кровотеч. (Цікавим, на думку авторів, є те, що однією з перших, ще немовлям, вітамін К з метою попередження кровотеч отримувала майбутня королева Данії Маргрете II, яка народилась 16 квітня 1940 р. і залишається королевою дотепер. Історія також свідчить про те, що Г. Дам врятував не тільки її життя, а й життя дуже великої кількості як немовлят, так і дорослих.)

У 1940 р. Г. Дам за підтримки Американо-Скандинавського фонду читав лекції в Канаді, а згодом і в Сполучених Штатах Америки. Після окупації Данії нацистами він вирішив залишитися в США, де проводив дослідження спочатку в лабораторії біології моря в Вудс-Голлі (1941), а згодом — упродовж наступних трьох років — у Рочестерському університеті як старший науковий співробітник. У 1945 р. Г. Дам став членом ради Рокфеллерівського інституту медичних досліджень (нині — Рокфеллерівський університет).

Генріка Дама в 1940 р. було номіновано на Нобелівську премію з фізіології та(або) медицини за відкриття вітаміну К, але під час війни (1940—1942) її не присуджували. Нобелівську премію Г. Даму і Е. Дойзі присудили тільки в 1943 р. у Стокгольмі під час Другої світової війни. Проте не відбувалось і церемоній вручення цієї високої нагороди. Саме тому обидва номінанти отримали премії від посла Швеції в США на спеціальній церемонії в Нью-Йорку під егідою Шведсько-Американського фонду. А нобелівську лекцію «*Відкриття вітаміну К, його біологічні функції та терапевтичне використання*» Г. Дам прочитав лише в 1946 р. після повернення на батьківщину.

Під час перебування Г. Дама за кордоном Політехнічний інститут Копенгагена в 1941 р. обрав його професором біохімії, але цю посаду він обійняв тільки в 1946 р. Тут він продовжив дослідження вітамінів К і Е, жирів, холестеролу, а також умов утворення жовчних каменів. За результатами цих досліджень він опублікував понад 100 статей. Взагалі впродовж життя він видав по-

над 400 праць. З 1956 до 1962 р. Г. Дам керував біохімічним відділенням Данської ради з дослідження жирів. Особливо важливою вважають його працю, в якій висвітлено роль вітаміну Е як антиоксиданта.

Генрик Дам пішов з життя 17 квітня 1976 р. у Копенгагені на 82-му році життя.

Г. Дам був членом Американського товариства біохіміків, Американського інституту харчування, Ботанічного товариства Америки, Королівської академії наук Данії, Данського біологічного товариства, Швейцарського хімічного товариства та Американського товариства експериментальної біології та медицини.

За характером Г. Дам був дуже скромною людиною і трудоголіком. Навіть як головний експерт із харчування в своїй країні впродовж трьох десятиліть і як нобелівський лауреат він був абсолютно не публічною людиною і вважав свою премію випадковою, хоча дуже приємною нагородою. Він постійно повторював, що наявність «нобеля» зовсім не свідчить про те, що така людина дуже талановита. В одній із статей Данського біохімічного товариства (дан. *Biokemisk Forening*; англ. *The Danish Society for Biochemistry and Molecular Biology*) підкреслюється, що «...як дослідник і як людина Г. Дам "*...належав до останнього покоління, яке має всі класичні чесноти*"» [30—34].

На завершення цього опису наукової діяльності нобеліанта Генріка Дама зазначимо, що головною його заслугою перед біологічною наукою, зокрема перед вітамінологією, є те, що він першим відкрив вітамін К, розробив методи його виділення й очищення, дослідив біологічні функції та вказав шляхи його використання в медичній практиці. Проте, на думку багатьох науковців, він є «найневідомішим нобеліантом» так само, як і Едуард Адельберт Дойзі, який досі залишається в тіні.

ЕДУАРД ДОЙЗІ

Разом з Генріком Дамом Нобелівську премію з фізіології та(або) медицини за 1943 р. отримав американський біохімік *Едуард Дойзі «за відкриття хімічної структури вітаміну К»*.

Едуард Адельберт Дойзі (англ. *Edward Adelbert Doisy*) народився 3 листопада 1893 р. у селищі Хьюм (штат Іллінойс) у родині комівояжера французького походження Едуарда Перетця та Ади (Аллей) Дойзі. Незважаючи на сільське походження, Едуард отримав вищу освіту. Він навчався в Іллінойському університеті (який одночасно працював у двох містах: у Шампейні і Ербані). У студентські роки Едуард цікавився громадською роботою, займався спортом, був членом студентських наукових товариств, але не забував і про навчання.

У 1914 р. Дойзі отримав ступінь бакалавра, а через два роки — магістерський ступінь і одночасно розпочав викладати біохімію в Гарвардській медичній школі, але спокійне викладання продовжувалося всього три роки: в 1917 р. США вступили у Першу світову війну, і Е. Дойзі встав під знамена армії США. Спочатку він пройшов військову медичну підготовку в Рокфеллерівському інституті, а потім два роки прослужив офіцером медичної служби в шпиталі Вальтера (Уолтера) Ріда.

Едуард Дойзі (1893—1986)

До «цивільної» біохімії Дойзі повернувся в 1919 р. Тоді він обіймав посаду викладача біохімії в медичній школі Вашингтонського університету. В 1920 р. Дойзі отримав науковий ступінь доктора філософії. З цього моменту почалася його самостійна наукова робота і надалі його кар'єра склалася таким чином: 1922 р. — ад'юнкт-професор Вашингтонського університету, 1923 р. — повний професор у медичній школі Університету в Сент-Луїсі та завідувач відділу біохімії; 1951 р. — провідний професор. У 1965 р. отримав звання заслуженого професора у відставці.

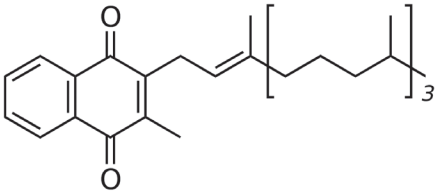
За перші десять років Е. Дойзі зробив роботу нобелівського рівня: він досліджував жіночі статеві гормони і в 1930 р. незалежно від Адольфа Бутенандта, про якого йшлося раніше [18], відкрив естрон. Разом з Едгаром Алленом вони розробили тест для визначення профілю жіночих гормонів (*естрону, естріолу* та *естрадіолу*) в мазку з піхви, який називають *тест Аллена—Дойзі*. Проте в 1939 р. Нобелівську премію одержав лише А. Бутенандт, хоча Е. Дойзі номінували на цю премію і в 1931 р., і в 1936 р.

Наукові інтереси Е. Дойзі були різнобічними. Вони стосувалися таких питань, як буферні системи крові, транспорт вуглецю, вміст молочної кислоти в м'язах, дослідження нервової тканини і антибіотиків, очищення інсуліну тощо.

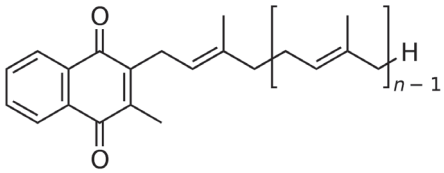
Але одна робота Дойзі, за яку його все таки відзначили Нобелівською премією, потребує детальнішого аналізування. Як йшлося вище, в 1936 р. данський біохімік Генрік Дам відкрив речовину, яку назвали «вітамін К» і яка прискорювала процес зсідання крові, що попереджувало кровотечі. Е. Дойзі з колегами почали досліджувати структуру цього загадкового вітаміну. Перші два роки роботи не дали результатів, оскільки виявилося, що вітамін К є світлочутливою сполукою і світло значно знижує його активність. Ще рік витратили на експерименти в умовах «світломаскування», і результат не забарився. Виявилось, що вітамін К існує у двох різних формах: вітамін, який було виділено із люцерни (*вітамін* K_1), і вітамін, одержаний із рибної муки (*вітамін* K_2), що мають однаковий біологічний ефект, але дещо різну структуру. Е. Дойзі визначив структури цих двох форм вітаміну К і синтезував їх. Це відбулося у 1939 р., саме тоді, коли Бутенандт отримав Нобелівську премію.

Окрім відкриття двох форм вітаміну К та їхніх структур, Е. Дойзі та його колеги синтезували в 1940 р. вітамін K_3, який був значно простішим за структурою, але вдвічі активнішим за природний вітамін. Його назвали «*менадіон*» (аналог «вікасолу» О.В. Палладіна, про який йшлося вище). Вітамін K_3 посилював синтез факторів зсідання крові, підвищуючи активність протромбіну (внаслідок так званої вітамін-К-залежної модифікації протромбін перетворюється на тромбін, який і спричинює незворотне склеювання тромбоцитів).

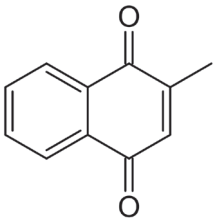
Хоча вітамін К одночасно було синтезовано і очищено в різних лабораторіях США, Університет Сент-Луїса, де працював Е. Дойзі, отримав патент



Вітамін K_1 (філлохінон)



Вітамін K_2 (менахінон)



Вітамін K_3 (менадіон)

на *менадіон*. Фармацевтична фірма «Парк-Девіс енд компані» фінансувала роботи Е. Дойзі й університету, що є *зразком взаємовідносин між промисловими фірмами та науковими установами під час проведення досліджень.*

Тому й не дивно, що «*за відкриття хімічної структури вітаміну К*» Едуард Дойзі разом з Хенріком Дамом отримали Нобелівську премію з фізіології та(або) медицини за 1943 р. Як зазначалося, під час Другої світової війни церемонії вручення премій в Стокгольмі не проводились, і премію було вручено Е. Дойзі разом із Х. Дамом послом Швеції в США в 1944 р., але нобелівської лекції Е. Дойзі так і не прочитав.

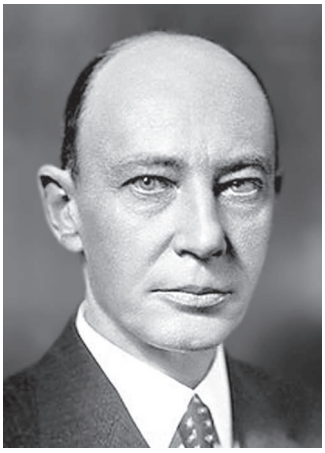
Після вручення Нобелівської премії Едуард Дойзі прожив ще 42 роки, але важливішого відкриття, ніж дві форми вітаміну К, не зробив. Він пішов з життя в Сент-Луїсі від хвороби серця 23 жовтня 1986 р.

Серед численних нагород Е. Дойзі — медаль Уїларда Гіббса Американського хімічного товариства (1941), премія Свібба Американського товариства інфекційних захворювань (1944) і медаль Баррена (1972). Його було обрано почесним доктором низки університетів, таких як Йєльський, Вашингтонський, Чеський, Чиказький, Паризький; він був членом кількох наукових товариств, членом Національної академії наук США, президентом Американського товариства біохіміків, членом Товариства ендокринологів і Товариства експериментальної біології та медицини [35—37].

Едуард Дойзі увійшов у історію біохімічної науки як дослідник, який вперше виділив у кристалічній формі жіночі статеві гормони: *естрол* (1929) і *естрадіол* (1936 р.). У 1939—1940 рр. одночасно з Г. Дамом відкрив і встановив *структуру вітаміну K_1 та K_2 і синтезував вітамін K_3 (менадіон)*. Крім того, він *відкрив декілька жовчних кислот і здійснив їхній синтез.* Іншими словами, Е. Дойзі був одним із засновників таких наук, як ендокринологія та вітамінологія, і за це наступні покоління біохіміків щиро йому вдячні.

ВІТАМІН B_{12}

Цікавою, на думку авторів, є історія відкриття *вітаміну B_{12}*, який також називають *антианемічний вітамін*, або *кобаламін*. Він був одним з останніх вітамінів із вітамінного алфавіту, відкритий у першій половині XX ст. Відкриття цього вітаміну — важливе досягнення в дослідженні такої хвороби, як злоякісна анемія та її лікування. До відкриття, встановлення структури та механіз-


Джордж Майнот (1885—1950)

Вїл'ям Мерфі (1892—1987)

Джордж Віпл (1878—1976)

му дії цього вітаміну долучилися багато медичних працівників і дослідників, вчених-хіміків, наслідки роботи яких були відзначено Нобелівською премією.

Справа в тому, що анемію довгий час вважали невиліковною хворобою. Її називали *злоякісним недокрів'ям* (*перніціозною анемією, хворобою Аддісона—Бірмера*). Лікарі не мали можливості лікувати її, тому вважали страшнішою за злоякісну пухлину, оскільки останню можна видалити хірургічним шляхом і поліпшити стан хворого.

Цю страшну форму недокрів'я вперше описав у 1855 р. англійський лікар *Аддісон*. Під час неї виникали зміни в крові: сироватка крові ставала золотаво-жовтого кольору через високий вміст білірубіну; значно зменшувалась кількість еритроцитів і вони були різної форми, суттєво пригнічувалось кровотворення, а в кістковому мозку та крові накопичувалось багато особливих клітин — *мегалобластів* (неповноцінних клітин еритроцитів). За злоякісної анемії значно порушувались і функції шлунково-кишкового тракту.

Наукове рішення важливого завдання з лікування злоякісної анемії було знайдено майже випадково. Американський гематолог і патофізіолог **Джордж Річардс Майнот** (англ. *George Richards Minot*; 2.12.1885—25.02.1950 рр.), який працював у клінічному центрі в Гарварді і досліджував харчування хворих на злоякісну анемію, в 1921 р. захворів на цукровий діабет. Це було за рік до відкриття інсуліну *Ф.Дж. Бантингом* і *Чарлзом Бестом*, тому основним методом лікування *цукрового діабету* на той час була малокалорійна дієта. *Дж. Майнот* вирішив перевірити, чи можна лікувати спеціальною дієтою і *злоякісну анемію*. Саме тоді (1921) він почав співпрацювати з американським лікарем і патологом, терапевтом-гематологом **Вїл'ямом Паррі Мерфі** (англ. *William Parry Murphy*; 06.02.1892—09.10.1987 рр.). Вони встановили, що деякі види їжі можуть бути корисними для хворих зі злоякісним недокрів'ям. Крім того, ще один американський лікар і патофізіолог **Джордж Хайт Віпл** (англ. *George Hoyt Whipple*; 28.08.1878—01.02.1976 рр.) завершив експерименти на собаках (1923—1925), в яких спочатку спричинював кровотечу та анемію, а потім з'ясовував,

яка їжа впливає на відновлення еритроцитів у їхній крові. Так було встановлено, що для кровотворення деякі види м'яса (баранина, яловичина), а також овочі є достатньо ефективними. Але найбільший терапевтичний ефект спостерігався за додавання до їжі собакам *сирої печінки*. Після того, як Дж. Майнот, включивши сиру (або напівсиру) печінку до дієти своїм приватним пацієнтам, побачив позитивний ефект, він і В. Мерфі почали вводити її й у раціон хворих у шпиталях.

У 1926 р. на конференції Асоціації американських лікарів Дж. Майнот і В. Мерфі доповіли, що в 45 хворих на анемію у разі «*лікування сирою печінкою протягом двох тижнів*» спостерігалося клінічне поліпшення та підвищувалася кількість ретикулоцитів і еритроцитів у крові. І якщо до 1926 р. кожний рік у світі вмирало загалом до 6 тис. хворих на перніціозну анемію, то використання дієти з високим вмістом печінки виявилося досить високоефективним, але для цього необхідно було в день з'їсти пів фунта (226,8 г) сирої або напівсирої телячої печінки. Тому виникла необхідність зробити споживання печінки менш обтяжливим, а також зменшити вартість лікування.

У 1928 р. гарвардський спеціаліст з Медичної школи — лікар у галузі медичної хімії *Едвін Кон* отримав і очистив *екстракт печінки* для перорального та внутрішньом'язового використання. Цей препарат за своєю ефективністю був у 50—100 разів сильнішим, ніж сира печінка; крім того він був простішим у використанні і значно дешевшим. Коли екстракт печінки почала виробляти фармацевтична промисловість, то нагляд за стандартизацією препаратів поклали на утворений Гарвардський комітет, членом якого став *Дж. Майнот*.

За «*відкриття, пов'язані з розробкою методу лікування перніціозної анемії з використанням печінки*» *Дж. Майнот*, *В. Мерфі* і *Дж. Віпл* у 1934 р. були удостоєні Нобелівської премії в галузі фізіології та(або) медицини [38—40]. Під час презентації *Ізраель Холмгрен* із Каролінського інституту зазначив: «*Ми отримали нові знання щодо неоднозначного впливу різних продуктів харчування на стимулювання активності кісткового мозку. Ми ознайомились з новою інкреторною функцією печінки, що має дуже важливе значення, отримали спосіб лікування перніціозної анемії, а також інших захворювань, який допоможе врятувати кожен рік життя багатьох тисяч людей*».

Але діюча речовина, яка входить до складу печінки і дає позитивні результати, залишалася невідомою. Розкрити цілющі властивості печінки зміг інший американський фізіолог і гематолог, лікар *Віл'ям Ернест*. Він помітив, що видалення шлунку, пов'язане з онкологічним захворюванням, часто призводить до смерті пацієнтів від *перніціозної анемії*. Він також звернув увагу на те, що яловичина і баранина не є ефективними для лікування такого стану хворих, і припустив, що зміни в самому шлунку пов'язані з прогресуванням захворювання на анемію. Інший американський лікар, фізіолог і гематолог *В. Касл* (англ. *William Castle*) встановив, що за подібного до анемії захворювання — *спру* (ентеріт, який зустрічається в тропічних і субтропічних країнах) також виникають суттєві зміни в шлунково-кишковому тракті, а в кістковому мозку з'являється багато *мегалобластів*, і що цю хворобу успішно лікують, зокрема, вітаміном B_2 (рибофлавіном). Крім того, він припустив, що в печінці здорових людей виробляється невідомий *фактор*, який сприяє кровотворенню,

Александер Тодд
(1907—1997)

Дороті Ходжкін
(1910—1994)

Роберт Вудворд
(1917—1979)

і що цей *фактор*, імовірно, утворюється *в печінці* з речовини, яка в нормі надходить із шлунково-кишкового тракту. Коротко і просто він описав цей процес так: у шлунку здорової людини виробляється речовина («внутрішній фактор»), яка з'єднується з невідомою речовиною з їжі («зовнішнім фактором») і утворює ту саму речовину, що потім накопичується в печінці і є необхідною для *еритрогенезу* в кістковому мозку. У хворих на анемію цей «внутрішній фактор» (названий «фактором Касла») відсутній.

Прогноз В. Касла виявився правильним, але для його підтвердження знадобилося понад 20 років наполегливої праці багатьох вчених. У 1948 р. нарешті було виділено печінковий фактор, який назвали *вітаміном* B_{12}. У його структурі виявили ціан і велику кількість *кобальту*, тому його також називають «*ціанкобаламін*». Саме в слизовій оболонці шлунку виробляєтья «внутрішній фактор», який знайшов польський вчений *Гласс* у 1952 р. Це складний протеїн *гастромукопротеїн* (апоеритрин), необхідний для транспортування вітаміну B_{12} через кишковий бар'єр до печінки, а з неї — в кров, а з кров'ю — до кісткового мозку, де B_{12} і стимулює утворення еритроцитів.

Пізніше вчені виділили, а потім синтезували вітамін B_{12}, одержавши його в чистому стані для широкого використання в клініці, що дало змогу вважати злоякісну анемію переможеною.

Хімічну структуру вітаміну B_{12} було встановлено в 1955 р. нобелівським лауреатом з хімії за 1957 р. шотландським хіміком **Александером Робертусом Тоддом** (англ. *Alexander Robertus Todd*; 02.10.1907—10.01.1997 рр.) «*за роботи з нуклеотидів і нуклеотидних коензимів*» [41].

Вітаміном B_{12} ще в 1948 р. зацікавилася британський хімік і біохімік **Дороті Мері Кроуфут-Ходжкін** (англ. *Dorothy Mary Crowfoot Hodgkin*; 12.05.1910—29.07.1994 рр.). Структуру вітаміну B_{12} вона досліджувала методом рентгеноструктурного аналізу, в галузі якого була висококласним спеціалістом. Для розрахунків вона використовувала електронні комп'ютери, що з'явилися на

той час. У 1957 р. Д. Ходжкін остаточно визначила молекулярну структуру вітаміну B_{12} — місцезнаходження всіх його 90 атомів.

Раніше, у 1949 р., Д. Ходжкін та її колеги визначили молекулярну структуру *пеніциліну* — антибіотика, відкритого в 1928 р. *Александером Флемінгом* і пізніше очищеного *Ернстом Б. Чейном* і *Хоуардом У. Флорі* (нобелівськими лауреатами з фізіології та(або) медицини, 1945).

Нобелівську премію з хімії «*за визначення за допомогою рентгенівських променів структур біологічно активних речовин*» Д. Ходжкін отримала у 1964 р. [42].

Під час вручення Дороті Ходжкін Нобелівської премії з хімії член Шведської королівської академії наук *Гуннар Хегг* зазначив: «*Знання структури сполуки є абсолютно необхідним для того, щоб інтерпретувати її властивості й реакції та вирішувати, яким чином її синтезувати із простіших сполук... Визначення структури пеніциліну було дивовижним стартом нової ери кристалографії... Визначення структури вітаміну B_{12} — це тріумф рентгеноструктурного аналізу кристалів з точки зору хімічного і біологічного значення результатів через велику складність цієї структури*».

У 1972 р. після сорока років роботи Д. Ходжкін завершила аналіз Zn-*інсуліну* (майже 800 атомів). Робота була ускладнена тим, що інсулін кристалізується з утворенням декількох структурних форм.

Розроблені Д. Ходжкін методи рентгеноструктурного аналізу кристалів органічних сполук пізніше використали *Макс Перутц* і *Джон К. Кендрю* під час дослідження структури протеїнів, а також *Розалінд Франклін*, *Моріс Х. Ф. Уілкінс*, *Джеймс Д. Уотсон* і *Френсіс Крік* для аналізу спіральної структури ДНК.

Вершиною досліджень вітаміну B_{12} є його синтез, який виконав у 1971 р. американський хімік-органік і біохімік **Роберт Бернс Вудворд** (англ. *Robert Burns Woodward*; 10.04.1917—08.07.1979 рр.).

У 1965 р. Р. Вудворту було присуджено Нобелівську премію з хімії «*за видатний внесок у мистецтво органічного синтезу*» [43]. У промові від імені Шведської академії наук *Арне Фредта* зазначав: «*Інколи говорять, що органічний синтез одночасно є точною наукою і витонченим мистецтвом. Тут незаперечний Майстер — природа. Але я наважуся стверджувати, що теперішній лауреат доктор Р. Вудворд по праву займає друге місце*». Колеги Р. Вудворда вважали його «*...надзвичайним спеціалістом свого часу в галузі синтетичної та структурної органічної хімії*».

На початку 1960-х років Вудворд приступив до складного на ті часи *синтезу природного продукту — синтезу вітаміну B_{12}*. Плідно співпрацюючи з колегою із Цюріха, Вудворд з командою, яка складалась майже зі 100 студентів і молодих науковців, кілька років працював над синтезом цієї молекули. Роботу було закінчено і опубліковано в 1973 р., проте до 2006 р. практично ніяких публікацій з питання повного синтезу вітаміну B_{12} не було.

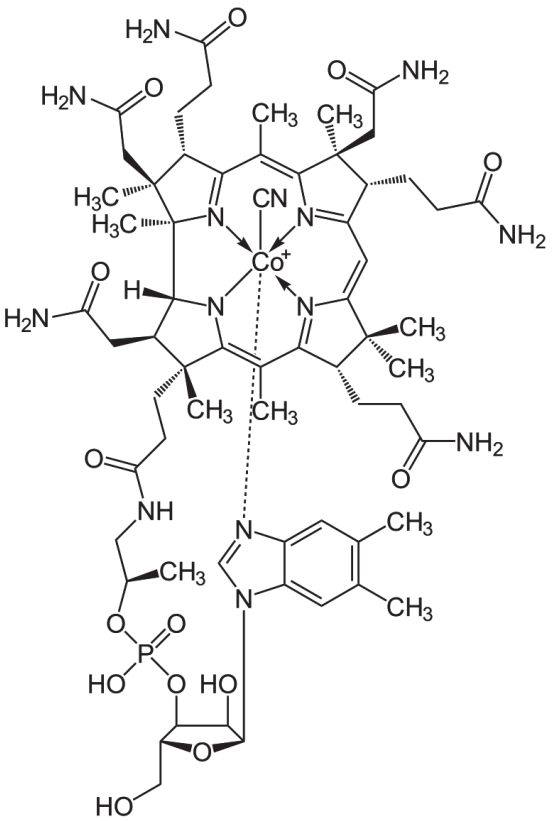
Синтез вітаміну B_{12} став поворотним моментом в історії органічної хімії. Він включав в себе майже 100 стадій, кожну з яких ретельно планували та аналізували, що було характерно для всіх робіт Вудворда. Він переконав хіміків-органіків у тому, що синтез будь-якої складної речовини можливий за достатнього часу і розумного планування. Вудворд і Роалд Гоффман

(нобелівський лауреат з хімії «*за розробку теорії перебігу хімічних реакцій*», 1981, про що йшлося в [44]) розробили правила, нині відомі як правила Вудворда—Гоффмана, які пояснюють стереохімію продуктів органічних реакцій. Вудворд, ґрунтуючись на своєму досвіді хіміка-синтетика, сформулював ідеї, які базуються на симетричних властивостях молекулярних орбіталей, а потім попросив Гоффмана виконати теоретичні обчислення для підтвердження цих ідей, що й було зроблено. Коректність правил Вудворда—Гоффмана підтвердили результати багатьох експериментів. Вудворд, безсумнівно, отримав би ще одну Нобелівську премію, якби на той час був живим.

Окрім вітаміну B_{12}, Р. Вудворд розробив методи синтезу таких біологічно важливих речовин, як *хлорофіл*, *ланостерин*, *резерпін*, *простагландин F*, *колхіцин* та багато інших, які застосовують у фармацевтичній промисловості. Зокрема, він синтезував антибіотики *нефалоспорин С* (типу пеніциліну) та *еритроміцин*.

Але повернемося до вітаміну B_{12}. За будовою він є найскладнішим із усіх вітамінів, належить до класу *кориноїдів* (має коринове кільце); його молекула складається з двох частин — *кобальтвмісної порфіриноподібної* (хромофорної) та *нуклеотидної структури*. Тому його синтез і вважається верхівкою досягнень у органічному синтезі.

Таким чином, довга історія досліджень вітаміну B_{12} завершилася з'ясуванням його структури та механізму дії [45]. Він є фактором росту, необхідним для нормального кровотворення та визрівання еритроцитів, бере участь у синтезі лабільних метильних групп і в утворенні холіну, метіоніну, адреналіну, азотистих основ нуклеїнових кислот, протеїнів. Вітамін B_{12} сприяє накопиченню в еритроцитах сполук, що мають сульфгідрильні групи, стимулює функцію печінки і нервової системи. Біохімічна функція цього вітаміну тісно пов'язана з фолієвою кислотою. Вітамін B_{12} бере участь в багатьох хімічних процесах клітинного метаболізму, але механізм його дії вивчено ще не остаточно. Тому є поле для діяльності майбутніх молодих поколінь біохіміків-експериментаторів.



Структурна формула вітаміну B_{12}

Вітамін B_{12} майже не синтезується в тваринних і рослинних організмах. Його синтезують деякі гриби та мікроорганізми. Мікрофлора кишечника жуйних

тварин продукує необхідну для них кількість вітаміну B_{12}. Для людини активним джерелом цього вітаміну є тільки продукти тваринного походження.

Завершуючи огляд робіт нобелівських лауреатів, присвячених дослідженню вітамінів, зазначимо, що в першій половині XX ст. завдяки експериментальним роботам лікарів, хіміків-органіків, біохіміків було виявлено всі відомі на цей час вітаміни, встановлено їхню структуру і охарактеризовано основні властивості механізму їхньої біологічної дії. Виявилось, що багато вітамінів є коензимами в дуже важливих біохімічних перетвореннях.

Результати експериментальних досліджень у галузі біохімії вітамінів, одержані в різних лабораторіях світу в останні роки, засвідчують, що транспорт, обмін і реалізація біологічної дії вітамінів у клітинах відбувається за участю протеїнів (транспортувальних, рецепторних, ензимних). Експерименти з протеїнами, які зв'язують вітаміни, започаткували новий ефективний методологічний підхід у дослідженні обміну та функції вітамінів і нової галузі біохімії та вітамінології — молекулярної вітамінології. Все це науково-експериментально обґрунтовує створення і впровадження в практику нових препаратів на основі вітамінів, коензимів та інших біологічно активних речовин.

THE DEVELOPMENT OF KNOWLEDGE OF VITAMIN BIOCHEMISTRY: THE CONTRIBUTION OF THE NOBEL PRIZE LAUREATES CH. EIJKMAN, F.G. HOPKINS (1929), A. SZENT-GYÖRGYI (1937), W. HAWORTH, P. KARRER (1937), R. KUHN (1938), H. DAM, E.A. DOISY (1943), G. MINOT, W. MURPHY, G. WHIPPLE (1934), D. HODGKIN (1964), R. WOODWARD (1965)

V.M. Danilova, R.P. Vynogradova, S.V. Komisarenko

In the first half of the 20th century, the experimental research of chemists, biochemists and physiologists in collaboration with doctors led to the discovery of a new class of biologically active compounds — vitamins. Many of these scientists were awarded the Nobel Prizes. Thanks to their efforts, almost all currently known vitamins (B_1, B_2, B_6, B_9, B_{12}, C, A, E, K) were identified, their structure and the mechanism of biological action were characterized. Many vitamins were found to serve as coenzymes in important biochemical conversions. This article talks about the history of the discovery of the most familiar vitamins and scientists involved in their research. The contribution made by these distinguished scientists to the development of modern biochemical science, in particular, vitaminology, cannot be overestimated.

Keywords: *vitamins, coenzymes, vitaminology, Ch. Eijkman, F.G. Hopkins, A. Szent-Györgyi, W.N. Haworth, P. Karrer, R. Kuhn, H. Dam, Ed.A. Doisy, G. Minot, W. Murphy, G. Whipple, D. Hodgkin, R. Woodward.*

REFERENCES

1. Eijkman Christiaan. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 793—796.
2. Eijkman Christiaan. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 721.
3. Neurologist who opened the way to vitamins: Christiaan Eijkman. Regime of access : https://biomolecula.ru/articles/nevrolog-otkryvshii-put-k-vitaminam-khristian-eikman.
4. Eijkman Christiaan. Regime of access : http://n-t/ru/nl/mf/eijkman.htm.

5. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Scientific investigations of the Nobel prize winner Emil Fischer as a launching pad for the development of biochemistry: a brief overview. *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90, N 4. P. 135—142.

6. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of the Nobel Prize laureates to the development of dynamic biochemistry and bioenergetics. E. Buchner, A. Kossel, R. Willstätter, O. Meyerhof, A. Hill, O. Warburg, A. Szent-Györgyi. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 1. P. 108—126.

7. Hopkins Frederick Gowland. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 682—685.

8. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Hopkins Frederick Gowland. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 477—478.

9. Hopkins Frederick Gowland. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 184—185.

10. Hopkins Frederick Gowland. Regime of access : http://biographerai/net/biography/php.

11. Hopkins Frederik Goulend. Regime of access : http://www.krugosvet.ru.enc/nauka i tehnika/biologiya.

12. Haworth Walter Norman. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 685—687.

13. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Haworth Walter Norman. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 474—475.

14. Haworth Walter Norman. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 675—676.

15. Regime of access : https://indicator.ru/article/2018/01/17/uolter-houors/

16. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/himiya/HOUORS_UOLTER_NORMAN.html.

17. Vynogradova R.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. Development on knowledge of hormone biochemistry in the works of the Nobel Prize laureates of the first half of the 20th century: F.G. Banting, John J.R. Macleod, H.O. Wieland, A.O. Windaus, A.F. Butenandt, L. Ružička, E. Kendall, P. Hench, T. Reichstein. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 3. P. 107—126.

18. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. Nobel Laureates of the early 20th century E. Behring, I. Mechnikov, P. Ehrlich, C. Richet, J. Bordet, K. Landsteiner and their contribution to the development of molecular immunology. *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90, N 6. P. 126—142.

19. Karrer Paul. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 519—521.

20. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Karrer Paul. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 195.

21. Karrer Paul. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 290.

22. Regime of access : https://indicator.ru/article/2018/03/16/paul-karrer/

23. Karrer Paul. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki.

24. Kuhn Richard. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 618—620.

25. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Kuhn Richard. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 238.

26. Kuhn Richard. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 347.

27. Kuhn Richard. Regime of access : http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/nobel/1938-Kuhn.html

28. Regime of access : https://www.library.ethz.ch/en/Resources/Digital-library/Short-portraits/Richard-Kuhn-1900-1967.

29. Regime of access : https://www.britannica.com/biography/Richard-Kuhn.

30. Dam Henrik. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 384—385.

31. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Dam Henrik Carl Peter. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 142.

32. Dam Henrik. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 208.

33. Regime of access : https://med-history.livejournal.com/6477.html.

34. Regime of access : http://www.biokemi.org/biozoom/issues/489/articles/1922.

35. Doisy Edward. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 419—421.

36. Doisy Edward Adelbert. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 229.

37. Regime of access : https://indicator.ru/article/2018/03/23/nobelevskie-laureaty-eduard-dojzi/

38 Minot George R. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 4—7.

39. Murphy William P. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 65—67.

40. Whipple George H. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 523—526.

41. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/himiya/TODD_ALEKSANDER.html.

42. Hodgkin Dorothy. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 677—680.

43. Woodward Robert Burns. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 291—293.

44. Danylova T.V, Komisarenko S.V. Born in Ukraine: Nobel prize winners Ilya Mechnikov, Selman Waksman, Roald Hoffmann, and Georges Charpak. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 3. P. 127—137.

45. Regime of access : http://vitaminas.ru/vit_b12hist.html.

ISSN 2409-1943 Ukr. Biochem. J. 2019. Vol. 91, N 4. P. 95—117.

МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ, ЙОГО РЕГУЛЯЦІЯ ТА ВНЕСОК НОБЕЛІВСЬКИХ ЛАУРЕАТІВ В ЇХ ДОСЛІДЖЕННЯ: А. ГАРДЕН, Г. ЕЙЛЕР-ХЕЛЬПІН, Г.Т. КОРІ, К.Ф. КОРІ, Б. УСАЙ, Е. САЗЕРЛЕНД, Л.Ф. ЛЕЛУАР, Г. КРЕБС, Ф. ЛІПМАН, П. МІТЧЕЛЛ

Р.П. Виноградова, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

Метаболізм вуглеводів — складний і багатоступеневий процес. До розшифрування цього процесу було залучено багато науковців — біохіміків, фізіологів, хіміків, але тільки деяких із них було удостоєно Нобелівської премії. Так, завдяки роботам А. Гардена і Г. Ейлер-Хельпіна із дріжджовими клітинами на початку XX ст. було встановлено, що перетворення вуглеводів (цукрів) у живих клітинах до кінцевих продуктів відбувається багатостадійно за участю ензимів і що для цього перетворення необхідна наявність залишку фосфорної кислоти. Ці дослідження стали початком вивчення хімічних реакцій, на яких ґрунтується життєдіяльність клітини, тобто реакцій проміжного метаболізму. Ганс Кребс у 1932 р. відкрив орнітиновий цикл — послідовність хімічних реакцій, завдяки яким у печінці тварин утворюється кінцевий продукт азотистого обміну — сечовина. Апогеєм його досліджень було встановлення циклу три- і дикарбонових кислот, який об'єднує окиснення фактично всіх органічних речовин у живих організмах. Доповненням до робіт Г. Кребса були роботи Фріца Ліпмана, який у 1945 р. відкрив коензим А і встановив його роль в активації органічних сполук. Тоді й стало зрозумілим, як неактивна оцтова кислота та інші органічні кислоти активуються в живому організмі, щоб окиснитися в циклі трикарбонових кислот. Величезну роботу провели подружжя Герті й Карл Корі та Бернардо Усай, а також їхні учні та послідовники, зокрема Луїс Лелуар, для з'ясування механізму перетворення (синтезу та розщеплення) глікогену в печінці й м'язах. Вершиною в дослідженні цього напряму в обміні вуглеводів було встановлення Ерлом Сазерлендом у 1958 р. регуляції активності ензимів, які беруть участь у перетворенні хімічних сполук (на прикладі фосфорилази), за участю ензиму аденілатциклази і с-АМР. Відкриття с-АМР виявило один із фундаментальних принципів практично всіх процесів життєдіяльності. Завершенням досліджень метаболізму вуглеводів стали неперевершені роботи Пітера Мітчелла, наукові інтереси якого були пов'язані з вивченням спрямованості біохімічних реакцій у просторі відносно певних внутрішньоклітинних орієнтирів і створенням хеміосмотичної теорії окиснювального фосфорилювання, яка є основою біоенергетики.

Ключові слова: *метаболізм вуглеводів, дріжджові клітини, цикл Кребса, синтез і розщеплення глікогену, фосфорилаза, теорія окиснювального фосфорилювання.*

Обмін речови́н, або метаболі́зм, — це сукупність хімічних реакцій, що відбуваються в живому організмі. Метаболізм вуглеводів в організмі людини і тварин полягає в утворенні *універсальної енергетичної «валюти» — АТР* та створенні низькомолекулярних сполук-попередників для біосинтезу біополімерів: *протеїнів*, *полісахаридів*, *ліпідів*, *нуклеїнових кислот*. Отже, метаболізм вуглево-

дів в організмі полягає в *катаболічних процесах*, в яких разщеплюються молекули полі-, оліго- та моносахаридів із вивільненням і акумулюванням енергії, утворенням низькомолекулярних проміжних і кінцевих метаболітів, що залучаються як будівельні блоки в *анаболічні реакції* біосинтезу і власних макромолекул, й інших біологічно активних сполук. Важливою характеристикою основних метаболічних шляхів та їх компонентів є те, що вони спільні для більшості живих організмів. Це свідчить про єдність походження живої природи. Проте певні особливості метаболізму властиві не лише кожному виду, а й окремим особинам у межах виду.

Метаболізм вуглеводів — складний і багатоступеневий процес. До розшифрування цього процесу було залучено багато науковців — біохіміків, фізіологів, хіміків, деяких з яких було удостоєно Нобелівської премії (О. Мейєргоф, О. Варбург, А. Сент-Дьйорді) [1]. Проте детальний механізм анаеробного та аеробного перетворення вуглеводів і особливо механізм регуляції цих перетворень ще довго залишався невідомим.

З'ясуємо внесок нобелівських лауреатів у розшифрування *тонких механізмів перетворення (метаболізму) вуглеводів*, які дали можливість створити сучасне уявлення про ці процеси в живих клітинах.

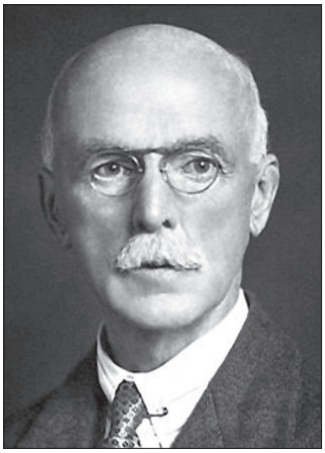
Одним із перших отримав Нобелівську премію з хімії за дослідження обміну вуглеводів у бактеріях і дріжджах англійський хімік *Артур Гарде*н. Його було відзначено премією у 1929 р. разом з німецько-шведським біохіміком *Гансом фон Ейлер-Хельпіном «за дослідження ферментації цукру та ферментів (ензимів) бродіння* (*for their investigations on the fermentation of sugar and fermentative enzymes*)».

АРТУР ГАРДЕН

Артур Гарден (англ. *Arthur Harden*) народився 12 жовтня 1865 р. у Манчестері і був єдиним сином із дев'яти дітей в родині бізнесмена Альберта Тайєса та Ельзи (Макалістер) Гарденів. Його батьки були набожними сектантами, які виховували дітей в релігійній пуританській атмосфері, де не святкували навіть Різдво. Проте Артур закінчив початкову школу, потім — коледж і в 1881 р. вступив до Оуенс-коледжу при Манчестерському університеті. У 1885 р. він склав іспити на відмінно і отримав ступінь бакалавра з хімії.

У наступному році Артур отримав персональну стипендію, яку використав для навчання в Німеччині в *Отто Фішера* в *Ерлангенському університеті* (1887—1888). Там він досліджував властивості хімічних сполук — *нітрозонафтиламінів*. За цю роботу йому було присуджено докторський ступінь. З 1888 до 1897 р. А. Гарден був лектором з хімії Манчестерського університету, потім його запросили до *Дженнерівського* (пізніше *Лістерівського*) *інституту* профілактичної медицини в Лондоні. Спочатку він викладав хімію та мікробіологію, а пізніше зацікавився історією природознавства. Але через декілька років А. Гарден зрозумів, що його найбільше цікавить дослідницька діяльність, і він заглибився у вивчення *ферментації цукрів*, у процесі якої така макроенергетична сполука, як цукор, без наявності кисню розщеплюється або *до спирту і* CO_2, або до *органічних кислот*.

А. Гарден зацікавився *ферментацією цукрів у бактерій* і, починаючи з 1899 р., опублікував кілька праць за цією тематикою. Ферментація відбувається



Артур Гарден (1865—1940)

також за участю дріжджів і одноклітинних грибів. А. Гарден був знайомий з працями Едуарда Бухнера, який в 1897 р. довів, що сік із дріжджів спричинює таке саме бродіння цукру, як і самі клітини, про що йшлося раніше [1]. Крім того, Е. Бухнер продемонстрував, що один із компонентів екстракту є ензимом і назвав його *зимазою*. Ензим — продукт життєдіяльності клітин і функціонує як каталізатор, прискорюючи специфічні хімічні реакції в клітині.

Деякі вчені вважали, що бродіння відбувається за впливу загадкової «життєвої сили» на живу клітину, але А. Гарден у 1904 р. остаточно довів, що *ферментація — це сукупність хімічних процесів*. Для підтвердження цього він одержав *препарат зимази*, профільтрувавши його під високим тиском крізь *пористий фарфор*, який був просочений желатиною, виявив, що *ензим зимаза* складається з двох компонентів, один з яких проходить через фільтр, а інший — ні. Крім того, А. Гарден з'ясував, що бродіння припиняється тоді, коли видаляється один із компонентів дріжджового екстракту. Це було першим доказом наявності в клітинах двокомпонентних ензимів і необхідності присутності в деяких із них *коензимів*. За одним компонентом А. Гарден залишив назву «*зимаза*», а другий компонент назвав «*козимаза*». Пізніше він виявив, що *зимаза є протеїном*, а *козимаза — непротеїновою речовиною*. Це було його першим відкриттям.

У 1905 р. А. Гарден зробив друге відкриття — *процес ферментації для нормального перебігу потребує наявності фосфорної сполуки, яка складається з одного атома фосфору і чотирьох атомів кисню*. Спочатку він помітив, що швидкість розщеплення молекули цукру до діоксиду вуглецю і спирту через певний час зменшується, але коли він додавав у розчин *фосфат*, активність ферментації стрімко зростала. А. Гарден дійшов висновку, що молекули фосфату зв'язуються з молекулами цукру, утворюючи *гексозодифосфат* (зимодифосфат), тим самим створюючи умови для ензимного індукування бродіння. Крім того, він виявив, що фосфат у процесі ферментації відокремлюється від продуктів реакції внаслідок складного ланцюга перетворень і залишається вільним. Ці дані дали йому змогу *вперше запропонувати балансове рівняння спиртового бродіння*.

Дослідження А. Гардена ролі фосфату в процесі бродіння — це величезний внесок у його розуміння, яке пізніше назвали «*проміжним метаболізмом*», тобто в дослідження сполук, які утворюються в процесі проміжних хімічних реакцій в живому організмі. Праці А. Гардена з ферментації цукрів (вуглеводів) стали моделлю для наступних експериментаторів, які працювали з рослинними і м'язовими тканинами.

Наслідком визнання важливості та значущості цих робіт було те, що в 1906 р. А. Гардена запросили керувати *біохімічним факультетом Лістерівського інституту*. Через п'ять років він став *почесним професором Лондонського університету* і одночасно *директором Лістерівського інституту*.

За винятком періоду 1914—1918 рр., коли він займався військовими дослідженнями з хімії водорозчинних вітамінів, А. Гарден весь науковий час віддавав дослідженню процесів ферментації. Так, у 1914 р. він виявив ще один фосфорний ефір — *гексозомонофосфат*; також він вивчав дію ензимів *карбоксилази*, *каталази, пероксидази*.

Ще однією великою заслугою А. Гардена є те, що разом з М.В. Бейлісом у 1913 р. вони заснували біохімічний журнал — «*Biochemical Journal*», який став одним із провідних наукових видань і з яким він співпрацював 26 років.

У 1929 р. А. Гардену разом з *Гансом фон Ейлер-Хельпіном* вручили Нобелівську премію з хімії «*за дослідження ферментації цукру та ферментів (ензимів) бродіння*». У привітанні під час презентації член Шведської королівської академії наук Х.Г. Седербаум (*C.G. Söderbaum*) зазначив, що нобеліанти розширили і уточнили результати робіт Е. Бухнера. «З*ацікавленість спеціалістів до вивчення механізмів складних реакцій ферментації цукрів,* — узагальнив Х.Г. Седербаум, — *дала змогу зробити важливі висновки про основні шляхи метаболізму вуглеводів рослин і тварин*».

У наступному році після вручення Нобелівської премії А. Гарден залишив посаду директора Лістерівського інституту і наступні 10 років повністю присвятив науковій діяльності.

Пішов з життя А. Гарден 17 червня 1940 р. внаслідок нервового розладу, що прогресував протягом декількох років. Людиною він був потайною, із стриманим почуттям гумору, але прекрасним експериментатором. Як вважав Ф.Г. Гопкінс, «*...для А. Гардена як експериментатора була властива точність в спостереженнях, виразність думки, здатність неупереджено аналізувати результати експериментів і оцінювати їх значущість*».

У 1926 р. А. Гарден отримав дворянський титул. Його було нагороджено медаллю Деві Лондонського королівського товариства (1935), а також він мав почесні вчені ступені університетів Манчестера, Ліверпуля й Афін [2—6].

Говорячи сьогодні про нобелівського лауреата Артура Гардена, зазначимо, що його основні наукові роботи присвячено дослідженню механізмів спиртового бродіння та природи ензимів, які спричинюють цей процес. Він виявив роль фосфату в перетворенні вуглеводів і встановив наявність двокомпонентних ензимів. Його дослідження стали початком вивчення хімічних реакцій, на яких базується в основі життєдіяльність клітин, тобто реакцій проміжного метаболізму. А. Гардену пощастило зробити два відкриття в галузі ензимології, але не менш важливою його заслугою є заснування біохімічного журналу «Biochemical Journal», який став не тільки англійським науковим виданням, а й одним із найпрестижніших міжнародних часописів.

Ще одним нобелівським лауреатом з хімії за 1929 р. був німецько-шведський біохімік Ганс фон Ейлер-Хельпін, який отримав її «за дослідження із ферментації цукру та ферментів (ензимів) бродіння», як і Артур Гарден.

ГАНС ФОН ЕЙЛЕР-ХЕЛЬПІН

Ганс Карл Август Симон фон Ейлер-Хельпін (швед. *Hans Karl August Simon von Euler-Chelpin*) народився 15 лютого в Аугсбурзі (Німеччина) в родині капітана королівського баварського полку (в майбутньому генерала) Рігаса і Габрі-

Ганс фон Ейлер-Хельпін
(1873—1964)

ели (Фіртнер) фон Ейлер-Хельпін. Його прапрадідом був великий Леонард Ейлер. Початкову освіту Ганс здобув у Мюнхені, Вюрцбурзі та Ульмі, а в 1884 р. вступив до Мюнхенської академії живопису. Під час навчання він зацікавився проблемами кольору, що дало поштовх до дослідницької діяльності в галузі хімії.

У 1893 р. Ганса прийняли до Берлінського університету, де в нього були видатні викладачі: фізику він вивчав під керівництвом *Еміля Варбурга* та *Макса Планка* (нобелівський лауреат з фізики, 1918), органічну хімію — в *Еміля Фішера* (нобелівський лауреат з хімії, 1902) [7].

Докторський ступінь він отримав у 1895 р. і деякий час продовжував дослідження з фізичної хімії.

Надалі Гансу пощастило працювати з видатними хіміками-нобеліантами різних років. Так, з 1896 до 1897 р. він працював у Геттингенському університеті з *Вальтером Нернстом* (премія з хімії, 1920), у наступному році він став асистентом у лабораторії *Сванте Арреніуса* (премія з хімії, 1903) у Стокгольмському університеті, в який у 1899 р. його призначили приват-доцентом. Протягом того самого періоду він продовжив дослідження під керівництвом таких нобелівських лауреатів, як *Якоб Вант-Гофф* (премія з хімії, 1901) і *Едуард Бухнер* (премія з хімії, 1907) у Берліні, де працював до 1900 р. У Парижі він зустрічався з *М. Складовською-Кюрі* (премія з фізики, 1903, і з хімії, 1911). Усі ці видатні особистості залишили глибокий слід в його душі та вплинули на його подальшу наукову роботу.

У 1902 р. Г. Ейлер-Хельпін повернувся до Стокгольма і отримав шведське громадянство. У цей період його дослідження стосувались дії каталізаторів у реакціях неорганічних сполук, але поступово його наукові інтереси перейшли в галузь *органічної хімії*, особливо після того, як він ознайомився з дослідженнями Е. Бухнера *з хімії ферментації*.

У 1906 р. Г. Ейлер-Хельпін став професором загальної та органічної хімії в Стокгольмському університеті, у 1929–1937 рр. — директором Біохімічного інституту Стокгольмського університету, у 1938—1948 рр. — директором Інституту органічної хімії і одночасно (1940) — директором Вітамінного інституту.

Хоча Г. Ейлер-Хельпін мав шведське громадянство, в душі він залишався німцем. Так, коли розпочалась Перша світова війна, він домовився з керівництвом, що прочитає курс лекцій у Стокгольмському університеті за шість місяців, а інші шість місяців служитиме вільнонайманим пілотом у німецькій армії. У 1916—1917 рр. він брав участь у роботі військової місії, створеної для збільшення виробництва боєприпасів для Туреччини — союзниці Німеччини. Протягом останніх років війни він керував ескадрильєю бомбардувальників.

Після припинення бойових дій у 1918 р. Г. Ейлер-Хельпін почав виконувати свої обов'язки на факультеті в повному обсязі, також він розгорнув дослідження з хімії ензимів. Особливо його увагу привернуло питання *ролі ензимів у процесі бродіння*. На той час було мало відомо про механізм цього про-

цесу, за винятком окремих фактів, одержаних *Е. Бухнером* і англійським хіміком *А. Гарденом*.

Ще в 1897 р. *Е. Бухнер* показав, що дріжджовий сік може спричинити ферментацію (бродіння) без наявності живих клітин у середовищі, і один із компонентів соку він назвав *зимазою*. А в 1904 р. *А. Гарден* виявив наявність двох частин у зимазі — *протеїнової та непротеїнової (козимази)* і в 1905 р. встановив, що для *процесу бродіння* (перетворення цукрів) потрібен *фосфат*.

Г. Ейлер-Хельпін пішов далі. Спочатку він встановив, що для виконання своєї функції *ензим має з'єднатись* з молекулою, на яку діє, тобто із *субстратом*. Аби зрозуміти складний хімічний процес ферментації, необхідно було ідентифікувати кожний із *субстратів* на всіх етапах процесу. З цією метою в розчини, де проходила ферментація, він додавав *іони різних металів*, що спричинювало на певних стадіях гальмування процесу. Саме такий підхід дав можливість показати, що *процес перетворення цукрів відбувається в декілька стадій*.

Якщо А. Гарден вважав, що *дві молекули гексози* і *два аніони фосфору* об'єднуються з утворенням *спирту*, *діоксиду вуглецю*, *води* і *фосфоровмісної сполуки*, яку він назвав *зимодифосфатом*, то Г. Ейлер-Хельпін зрозумів, що реакція відбувається значно складніше. Він показав, що фрагменти двох молекул гексози, які утворились під час розщеплення сахарози, різні. Енергія одного з фрагментів більша, ніж іншого. Крім того, фосфат приєднується до фрагмента з меншою енергією, й саме цей фрагмент поступово руйнується і перетворюється на *зимодифосфат* (*гексозодифосфат*).

Окрім спостереження за перетворенням фосфату під час бродіння, Г. Ейлер-Хельпін дослідив хімічну природу молекули козимази. Завдання виявилось складнішим, ніж гадалось, через малі розміри козимази. Використавши багатостадійний процес очищення, що був проведений з великою майстерністю експериментатора, Г. Ейлер-Хельпін одержав *висококонцентрований розчин козимази, визначив її молекулярну масу та встановив, що в складі козимази є вуглеводний компонент, фосфорна кислота і аденін*. Він також з'ясував, що козимаза є компонентом ензимів, які регулюють перенесення водню в клітині і, таким чином, впливає на процес дихання. *Нині цей коензим називають нікотинамідаденіндинуклеотид — NAD*.

У промові під час презентації лауреатів 1929 р. голова Нобелівського комітету з хімії, член Шведської королівської академії наук Х.Г. Седербаум (*C.G. Söderbaum*) назвав процес дослідження ферментації «*однією з найскладніших і важких проблем хімії*».

Роботи Г. Ейлер-Хельпіна і А. Гардена про участь *фосфат-іона* в процесі бродіння зробили фундаментальний внесок у дослідження явища, яке називають метаболізмом (проміжним метаболізмом), і вивчення сполук, які утворюються в процесі хімічних реакцій в живому організмі. Але з'ясування *фундаментальної ролі фосфорилювання в процесах метаболізму, природи ключових ензимів*, які беруть участь у механізмах його реалізації, було завданнями для майбутніх дослідників, які їх блискуче виконали, розшифрувавши детальний механізм анаеробного та аеробного перетворень вуглеводів у живих клітинах, про що йтиметься далі.

Методи дослідження ферментації цукрів, розроблені Г. Ейлер-Хельпіном і А. Гарденом, *стали моделлю* для наступних експериментаторів, які досліджували розщеплення вуглеводів у рослинах і в м'язах тварин. Вони також запропонували науковий підхід до майбутнього аналізу *ензим-субстратної взаємодії*, до *з'ясування ролі ензимів і коензимів у біохімічних процесах.*

Г. Ейлер-Хельпін працював і в інших напрямах біохімії. Зокрема, він співпрацював з П. Каррером, досліджуючи вітаміни, хімічну структуру яких пізніше визначили нобелівські лауреати за 1937 р. П. Каррер, У.Н. Хоуорс і Р. Кун [8].

У 1935 р. він почав дослідження біохімії раку. У співпраці з Г. Хевеші (Нобелівська премія з хімії, 1943) він розробив методику мічення нуклеїнових кислот, які знаходяться в пухлинах, для спостережень за їхнім станом.

Упродовж всього життя Г. Ейлер-Хельпін займався біохімічними дослідженнями, серед яких особливу увагу приділяв вивченню ензимів. Він завжди першим приходив до лабораторії і залишав її останнім. Майже ніхто не міг повірити в його похилий вік.

Г. Ейлер-Хельпін був визнаним авторитетом серед біохіміків, брав активну участь у висуненні кандидатів на Нобелівську премію. Він запропонував 40 номінацій, серед його номінантів були такі майбутні лауреати як Е. Бухнер (1907), Р. Вільштеттер (1915), Ф. Прегль (1923), Р. Зигманді (1925), І. Легмюр (1932), П. Каррер і У. Хоуорс (1937) та інші.

Пішов з життя Ганс фон Ейлер-Хельпін 6 листопада 1964 р. у Стокгольмі у віці 91 рік. Усього шість років він не дожив до одержання Нобелівської премії з фізіології та медицини (1970) його сином — Ульфом фон Ейлером.

Крім Нобелівської премії Г. Ейлер-Хельпіна було нагороджено Великим Хрестом Федеральної служби ФРГ (1950); він мав почесні ступені університетів Стокгольма, Цюріха, Афін, Кіля, Берна, Турина і Нью-Брансвіка. Також був членом Шведської королівської академії наук, Шведської академії інженерних наук і Фінляндської академії наук та іноземним членом багатьох наукових товариств, зокрема АН СРСР (з 1927).

Ганс фон Ейлер-Хельпін належить до дуже невеликого кола вчених, серед предків яких були видатні дослідники свого часу. На думку авторів, цікавими є такі факти: його прапрадідом був великий математик *Леонард Ейлер.*Сам *Г. Ейлер-Хельпін* — нобелівський лауреат з хімії, його син *Ульф* — нобелівський лауреат з фізіології та медицини, тесть також був відомим хіміком, а дружина *Астрид Клеве* — першою в Швеції жінкою-доктором наук. Г. Ейлер-Хельпіну пощастило навчатися у таких видатних вчених — нобелівських лауреатів, як *Макс Планк* і *Еміль Фішер*, працювати з *В. Нернстом*, *С. Арреніусом*, *Я. Вант-Гоффом*, *Е. Бухнером*, які істотно вплинули на його наукові уподобання й інтереси. У такому оточенні він був «приречений» стати нобелівським лауреатом і залишити вагомий слід у науці, яка називається біохімією [9—14].

Отже, завдяки роботам А. Гардена і Г. Ейлер-Хельпіна з дріжджовими клітинами, а також О. Мейєргофа і А. Хілла з м'язами на початку XX ст. [1] *було встановлено, що перетворення вуглеводів (цукрів) у живих клітинах до кінцевих продуктів відбувається багатостадійно за участю ензимів і що для цього перетворення необхідна наявність залишку фосфорної кислоти. При цьому утворюються фосфориловані проміжні продукти.*

Але які саме проміжні продукти утворюються в процесі перетворення вуглеводів і які ензими каталізують кожну з реакцій перетворення — ці питання залишалися поки що без відповіді.

Знайти відповідь на них спробували наступні покоління біохіміків, які отримали вагомі результати, за що також були відзначені Нобелівськими преміями. І це, в першу чергу, стосується робіт подружжя *Корі — Герті та Карла*.

Подружжю Корі (Герті та Карлу) було присуджено Нобелівську премію з фізіології та(або) медицини (1947) «*за відкриття каталітичного перетворення глікогену* (*for their discovery of the course of the catalytic conversion of glycogen*)». Цю премію вони розділили з аргентинським фізіологом *Бернардо Усаєм*.

ГЕРТІ КОРІ

Корі Герті Тереза (Радніц) (англ. *Cori Gerty Theresa* (*Radnitz*)) народилась 8 серпня 1896 р. у Празі (в той час Чехія входила до складу Австро-Угорщини) в родині бізнесмена і керівника цукрорафінадним заводом Отто та Марти (Неуштадт) Радніц. Початкову й середню освіту Герті здобувала в приватних вчителів, а потім — у гімназії в Тетхені (нині — Дечин, Чехія), яку закінчила в 1914 р. У цьому самому році під впливом брата матері, професора педіатрії, вона вступила до німецького університету в Празі — Університет Карла Фердинанда (*Carl Ferdinand University*) — з метою вивчати медицину. Тут вона познайомилась із студентом-медиком *Карлом Ф. Корі*, з яким проводила спільні дослідження *сироваткового комплементу* — комплексу сироваткових протеїнів, які беруть участь в імунних реакціях. У 1920 р. вони одночасно отримали ступені докторів наук з медицини, того самого року одружились і переїхали до Відня. Пізніше Карл напише про Герті: «*Вона була такою самою студенткою, молодою жінкою, яка володіла шармом, життєвою силою, інтелектом, почуттям гумору та любов'ю до відкриттів, рисами, які відразу привернули мою увагу*».

У Відні Герті Корі два роки працювала асистентом в Каролінській дитячій лікарні, досліджуючи кретинізм у дітей (уроджену недостатність щитоподібної залози).

Зазначимо, що на той час в Європі після Першої світової війни панував розбрат і антисемітизм. Подружжя Корі зрозуміло, що в таких умовах неможливо нормально займатися науковою роботою, оскільки Герті за національністю була єврейкою. Крім того, в неї розвинулися симптоми ксерофталмії (висихання рогівки ока, гіповітаміноз А), спричинені нестачею харчування. Тому подружжя вирішило покинути Старий світ і переїхати до Сполучених Штатів.

У 1922 р. Карл Корі отримав роботу біохіміка в Баффало (*Buffalo*; штат Нью-Йорк) у Нью-Йоркському державному інституті злоякісних утворень (надалі — Інститут раку імені Розуелла Парка (*Roswell Park Cancer Institute*)). Але для Герті там не було місця; лише через пів року Карл знайшов їй місце спочатку асистента-патологоанатома, а пізніше вона почала працювати асистентом-біохіміком.

У 1923 р. Герті сама опублікувала серію статей про вплив рентгенівських променів на шкіру та на метаболізм органів тіла. Можливо, ці ранні роботи з джерелами випромінення призвели пізніше до летального захворювання її кісткового мозку — *мієлосклерозу*.

Герті Корі (1896—1957)

А поки що подружжя зацікавилося *обміном вуглеводів у тканинах у нормі та в злоякісних пухлинах*. Крім того, вони вивчали вплив *оваріоектомії* на ріст злоякісних клітин.

Характерною особливістю дослідницької роботи Герті була виняткова відповідальність і точність проведення експериментів. Вона рішуче виступала проти дилетантства в науці. «*Карл не був генієм лабораторії*, — зазначив В. Догедей з Вашингтонської медичної школи. — *Карл скоріше був спостерігачем, а генієм лабораторії була Герті. Вона була всеїдною в наукових інтересах, видавала нові ідеї. Вони обговорювали їх разом. Герті читала дуже багато та глибоко. Вона була дійсним генератором ідей, багато з яких Карл брав у неї і перетворював на концепції. Роль Герті в біології була великою. Без неї Карл не працював би так напружено і не зробив би так багато*». Тому закономірно, що в наукових публікаціях її прізвище, звичайно, було першим.

У 1928 р. подружжя Корі отримали американське громадянство, а три роки потому переїхали до Сент-Луїса (штат Міссурі) для роботи в медичній школі Вашингтонського університету, де чоловіку запропонували посаду професора фармакології, а Герті (хоча вона вже була відомим науковцем) — лише посаду наукового співробітника із зарплатою в одну десяту від зарплати чоловіка. Фінансування наукових досліджень Г. Корі було настільки малим, що вона змогла їх здійснювати лише разом із чоловіком.

Продовжуючи дослідження обміну вуглеводів, подружжя звернуло особливу увагу на *перетворення глюкози та глікогену* в тканинах тварин. *Глікоген* у 1857 р. виявив французький фізіолог *Клод Бернар*. У клітинах печінки експериментальних тварин він знайшов велику кількість крохмалеподібної речовини. *Полісахарид глікоген*, дійсно, як і *полісахарид крохмаль,* складається з молекул α-D-глюкози, але має розгалуженіші молекули, подібні до амілопектину крохмалю. Його також називають «тваринний крохмаль». Лінійні відрізки основного ланцюга глікогену містять 6—12 залишків молекули глюкози, з'єднаних α-1,4-глікозидними зв'язками; розгалуження формується завдяки α-1,6-глікозидним зв'язкам. Найбільша кількість глікогену міститься в печінці (2—5 %) та хребетних м'язах (0,5—2 %). За норми в печінці людини у вигляді *глікогену* знаходиться запас *глюкози* приблизно на три дні. А саме *глюкоза є основним джерелом енергії для життєдіяльності клітин*.

Яким чином глюкоза потрапляє до печінки і як з неї синтезується запасний вуглевод глікоген? Цим питанням і зацікавилися Герті та Карл Корі. Було відомо, що крохмаль (амілоза й амілопектин) з їжею надходить до кишечника і за дії ензиму підшлункової залози *амілази* розщеплюється до молекул глюкози. Потім глюкоза крізь стінки тонких кишок переходить у кров і судинами воротної вени переноситься до клітин печінки, де перетворюється на глікоген і накопичується для подальшого використання; глікоген знову може розщеплюва-

тися до глюкози і віддавати її в кров. Але як відбувається біосинтез глікогену та його розщеплення — біохімікам не було відомо. З огляду на результати ретельних досліджень, проведених у 30—40-х р. XX ст., саме Герті та Карл Корі розшифрували біохімічні реакції, які беруть участь у синтезі й розщепленні глікогену. Тому повний цикл цього взаємного перетворення назвали ***цикл Корі***.

У 1936 р. Г. і К. Корі виявили й ізолювали *глюкозо*-1-*фосфат* із м'язів жаби, який згодом було названо *ефіром Корі*. Дещо пізніше вони встановили *біохімічний механізм дії інсуліну* — гормону, який синтезується в клітинах острівців Лангерганса підшлункової залози і надходить у кров. Нестача інсуліну в організмі людини зумовлює захворювання — *цукровий діабет* першого типу.

Досліджуючи перетворення глюкози на глікоген, Г. і К. Корі спочатку описали перехід глюкозо-6-фосфату в глюкозо-1-фосфат (і зворотний процес) за дії ензиму *фосфоглюкомутази*, а потім перетворення глюкозо-1-фосфату на фруктозо-1-фосфат за участю ензиму *фосфогексоізомерази* (1938—1939). З цього часу подружжя зацікавилось *ензимологією*, звернувши особливу увагу на печінку. П'ять років потому в процесі виділення та очищення до кристалічної форми ензиму *фосфорилази* вони виявили, що цей ензим існує як в активному, так і в неактивному стані. Ці дві форми одного ензиму вони назвали відповідно *фосфорилазою «а»* і *фосфорилазою «б»*, а пізніше встановили біохімічні умови, за яких відбувається перетворення неактивної форми *фосфорилази* на активну.

Апогеєм цих досліджень стало проведення у 1944 р. *синтезу глікогену в пробірці*. Вихідними речовинами були: *коротколанцюговий глікоген*, *глюкоза*, *фосфат* і три ензими — *гексокіназа*, *фосфоглюкомутаза* та *фосфорилаза*. Так Корі підтвердили свою гіпотезу щодо синтезу глікогену з глюкози в три етапи. Іншими словами, на першому етапі *глюкоза фосфорилюється гексокіназою* з утворенням *глюкозо*-6-*фосфату*. Але глікоген із цієї сполуки не утворюється. Тому на другому етапі за участю *фосфоглюкомутази глюкозо*-6-*фосфат* перетворюється на *глюкозо*-1-*фосфат*, з якого з використанням *фосфорилази* синтезується *глікоген*. Під час розщеплення глікогену реакції перетворення проходять у зворотному напрямі, а на останньому етапі замість гексокінази діє ензим *фосфатази*.

За такою схемою синтезується лінійна структура глікогену, де молекули глюкози з'єднуються α-1,4-*глікозидними зв'язками*. Але глікоген — це компактно розгалужена молекула. І, дійсно, Г. Корі виявила ще один ензим, який бере участь у синтезі й розщепленні розгалуженої форми глікогену з утворенням α-1,6-*глікозидних зв'язків*.

Запропонований Г. і К. Корі механізм синтезу та розщеплення глікогену в печінці та м'язах тварин і людини, доповнений і деталізований іншими дослідниками, є загальноприйнятим і нині. Незважаючи на всі ці видатні наукові відкриття, Герті Корі лише в 1944 р. отримала посаду ад'юнкт-професора біохімії в медичній школі Вашингтонського університету, а за три роки стала професором з біохімії.

Зазначимо, що до робіт Корі вважалось, що глікоген у печінці і м'язах, як і крохмаль у кишечнику, розщеплюється за дії амілази (амілолітичний шлях). Але вони *чітко продемонстрували роль ензиму фосфорилази у цьому процесі, тоб-*

то запропонували фосфоролітичний спосіб перетворення глікогену в тканинах людини і тварин.

За таку складну, кропітку біохімічну роботу, яка відкрила одну із сторінок життєдіяльності людини, подружжю Корі — Герті і Карлу присудили Нобелівську премію з фізіології або медицини у 1947 р. з коротким формулюванням: «*за відкриття каталітичного перетворення глікогену*». Цю премію вони розділили з аргентинським фізіологом *Бернардо Усаєм*. У вітальній промові дослідник із Каролінського інституту *Аксель Хуго Теорелль* (швед. *Axel Hugo Theorell*) зазначив: «*...для хіміків безперечним доказом шляху утворення речовини є його синтез. Професор і доктор Корі досягли дивовижних результатів — вони змогли синтезувати глікоген у пробірці за участю набору ензимів, які вони виділили в чистому стані й розкрили при цьому механізм їхньої дії... Ензими, які одержали Корі, дали змогу здійснити цей синтез так, як вони каталізують певні реакції утворення хімічних зв'язків у організмі. За допомогою одних лише методів органічної хімії здійснити це було б неможливо*». Він також додав, що відкриття подружжям Корі ензиматичного механізму зворотних перетворень глюкози є «***одним із найвидатніших досягнень сучасної біохімії***».

Герті Корі стала не лише першою жінкою, яка отримала Нобелівську премію з фізіології або медицини, а й першою жінкою-нобеліанткою в Сполучених Штатах, а також третьою (після Марії Кюрі-Склодовської та її доньки Ірен Жоліо-Кюрі) — в усьому світі.

Після одержання премії Герті продовжувала досліджувати хімічну будову *глікогену* і на початку 50-х років XX ст. встановила *біохімічні порушення*, які є причиною *глікогенозів*. За цих захворювань кількість глікогену, що накопичується в клітинах печінки та інших тканин, значно перевищує фізіологічну. Вона показала, що *глікогенози* є групою захворювань, які пов'язані з нестачею певних ензимів, що беруть участь у перетворенні глікогену. Це було темою її останньої опублікованої праці (1957).

Герті завжди пам'ятала, яким важким був її шлях до визнання, і особливо приязно ставилась до жінок-науковців.

В останні роки життя Герті страждала на *мієлосклероз* — важку хворобу, за якої кістковий мозок поступово заміщується волокнистою сполучною тканиною. Упродовж 10 років вона боролася з цією хворобою, постійно роблячи переливання крові, але не залишала наукових досліджень.

Герті Корі пішла з життя 26 жовтня 1957 р. у себе вдома у Глейделі (штат Міссурі). Після її смерті вчені з усіх Сполучених Штатів зібрались на панахиду в Сент-Луїсі. Вони прослухали магнітофонний запис, який Герті зробила для телевізійного фільму Едварда Мерроу «**У що я вірю**». «*В житті вченого, — казала Герті, — бувають такі рідкісні хвилини, які не забуваються, коли після багаторічної важкої роботи завіса з таємниці природи водночас спадає і те, що вважалось у пітьмі і хаосі, стає світлим і гармонійним*». А Бернардо Усай якось сказав, що життя Герті Корі — «*...прекрасний приклад служіння ідеалам... прогресу науки і благу людства*».

Спільна робота подружжя Корі не обмежувалась лабораторними стінами. Обоє вони полюбляли походи, займались альпінізмом у австрійських Альпах і

в американських Скелястих горах. Крім того, вони любили грати в теніс, кататися на ковзанах і працювати в саду. У них був один син.

Герті Корі нагороджено премією Сквибба Ендокринологічного товариства (разом з Карлом Корі, 1947), медаллю Гарвена Американського хімічного товариства (1948) і премією Бордена за медичні дослідження Американської асоціації медичних коледжів (1951). Вона була членом Американського товариства біохіміків, Національної академії наук США, Американського хімічного товариства, мала почесне звання Бостонського, Йєльського, Колумбійського та Рочестерського університетів, а також Сміт-коледжу. В 1979 р. Міжнародна астрономічна спілка на честь Герті Терези Корі назвала кратер на зворотному боці Місяця [15—20].

А тепер мова йтиме про її чоловіка Карла Корі — людину, яка знаходилася пліч-о-пліч з Герті і в житті, і в наукових дослідженнях.

КАРЛ ФЕРДИНАНД КОРІ

Корі Карл Фердинанд (англ. *Cori Carl Ferdinand*), австрійсько-американський біохімік, народився 5 грудня 1896 р. у Празі (Чехія тоді входила до складу Австро-Угорщини) в сім'ї Марії (Ліббіх) і Карла Корі, професора зоології Празького університету. Коли Карлу було два роки, його родина переїхала до Трієста (Італія), де батько обійняв посаду директора морської біологічної станції. Ранні роки Карл провів у Трієсті в мультикультурному національному середовищі й дуже швидко навчився вільно розмовляти італійською мовою, про що написав в автобіографічному есе «Поклик науки». Навчаючись у класичній гімназії в Празі та Трієсті (1906—1914), він оволодів також основами латинської та грецької мов.

Родина Карла пишалась своїми родичами — відомими вченими в різних галузях науки. Так, Фердинанд Ліббіх, дід з боку матері, був професором математичної фізики Німецького інституту в Празі і зробив значний внесок у теоретичну фізику. Прадід Карла — Вільгельм Ліббіх був анатомом в університеті Падуї і професором у Відні. Його дядько, Фрідрих Ліббіх, був професором хімії в Празі, а батько — Карл Ісідор Корі — одним із видатних зоологів і біологів, дослідників морського середовища в Європі. Зрозуміло, що й молодий Карл обрав наукову кар'єру.

У 1914 р. він вступив до Університету Карла Фердинанда (німецький університет у Празі) і почав вивчати медицину. На той час це був стандартний шлях до дослідницької кар'єри. Але з початком Першої світової війни Карл був змушений перервати навчання. Його мобілізували до австрійської армії, де він служив офіцером санітарної служби на італійському фронті.

Після закінчення війни Карл повернувся до університету для завершення навчання. Йому пощастило зустріти там талановиту і чарівну студентку Герті Радніц, яка поділяла його інтереси в науці й любов до подорожей. У 1920 р. вони обоє отримали дипломи та одружились у Відні, де Карл Корі працював асистентом у Першій медичній клініці Відня протягом двох років, а потім асистентом із фармакології в університеті Граца. На той час Герті працювала асистентом у Каролінській дитячій лікарні.

Корі Карл Фердинанд
(1896—1984)

На дослідження К. Корі активності блукаючого нерва жаби звернув увагу Х.Х. Мейєр, який запропонував його кандидатуру доктору Гайлорду, директору Державного інституту з вивчення злоякісних новоутворень (нині — Інститут раку імені Розуелла Парка (Roswell Park Cancer Institute) в Баффало (США)). У 1922 р. К. Корі отримав пропозицію працювати в цьому інституті біохіміком, а Герті приєдналась до нього через шість місяців. Карл добре вивчив мову, закони і традиції Сполучених Штатів, але завжди був і залишався сином європейської культури, яка його виховала. У 1928 р. подружжя отримало громадянство США.

У Баффало К. Корі разом з Герті розпочали вивчати метаболізм вуглеводів і його регуляцію — роботу всього життя. У той час вони опублікували близько 80 наукових статей. У своїй нобелівській лекції К. Корі зауважив: «Наші зусилля були здебільшого комплементарними; ні один з нас не просунувся б так далеко без допомоги іншого».

Роботи подружжя Корі у Баффало довели значення інсуліну та епінефрину (адреналіну) для підтримки нормальної концентрації глюкози в крові й глікогену в печінці та м'язах.

У 1931 р. Карл і Герті Корі переїхали до Сент-Луїса, де Карл обійняв посаду голови фармакологічного факультету Вашингтонського університету, а Герті отримала посаду наукового співробітника. Тепер, окрім наукових досліджень, К. Корі мав займатися організаційною роботою, обладнанням і витрачати багато часу на викладацьку роботу. Тому основну наукову роботу та реалізацію їхніх ідей здійснювала Герті. Результати цієї діяльності наведено в нарисі про Г. Корі.

Зазначимо, що для доведення структури *α-глюкозо*-1-*фосфату* Герті і Карл Корі синтезували речовину, яку пізніше назвали «*ефіром Корі*». Відкриття ними *механізму синтезу та розщеплення глікогену в печінці та м'язах тварин* дало потужний імпульс для розвитку біохімічної науки в цілому; значення цього відкриття складно переоцінити. Саме тоді Якоб К. Парнас провів самостійне дослідження реакцій у м'язових екстрактах і зробив висновок, що одночасно з розщепленням глікогену зникає фосфат; таку реакцію він назвав «*фосфоролізом*».

Після закінчення Другої світової війни К. Корі залишив фармацевтичний факультет і став головою біохімічного відділення (1945), а вчені з усього світу з'їзджалися до Сент-Луїса, щоб попрацювати з Г. та К. Корі, де вони отримували дружню підтримку обох Корі.

К. Корі та Г. Корі у 1947 р. було удостоєно Нобелівської премії з фізіології або медицини «за відкриття каталітичного перетворення глікогену», яку вони розділили з доктором *Бернардо Усаєм* з Аргентини.

У 1956 р. колеги з Університету Вашингтона опублікували статтю, присвячену досягненням подружжя Г. і К. Корі. В спеціальному випуску «*Biochemica*

Biophysica Acta» було надруковано розділ під назвою: «З*бірка статей, присвячена Карлу Ф. і Герті Т. Корі в зв'язку з їхнім 60-річчям*». Серед його авторів були п'ять майбутніх Нобелівських лауреатів, роботи яких були близькі до наукових інтересів Г. і К. Корі — це *С. де Дюве, А. Корнберг, Л.Ф. Лелуар, С. Очоа і Е. Сазерленд.*

У 1966 р. К. Корі пішов з Вашингтонського університету і був призначений професором-консультантом з біохімії в медичній школі Гарвардського університету, де він до останніх днів життя продовжував дослідження. Карл Корі залишив незабутній слід у Вашингтонському університеті як приклад високих стандартів і великої ефективності роботи його наукової групи.

У 1984 р. у віці 87 років К. Корі пішов з життя в своєму домі в Кембриджі (штат Массачусетс).

Окрім Нобелівської премії Карл Корі мав багато інших нагород: премія Ласкера Американської асоціації охорони здоров'я (1946), премія Скибба Ендокринологічного товариства (разом з Герті, 1947), медаль Уїлларда Гіббса Американського хімічного товариства (1948). Його удостоєно почесних наукових ступенів багатьох університетів — Кембриджа (Англія), Гранади (Іспанія), Монаша (Monash University, Австралія), Трієста (Італія). К. Корі був також членом багатьох престижних наукових академій і товариств, зокрема Американської академії наук і мистецтв, Американської асоціації сприяння розвитку науки, Американської філософської спілки та спілки біохіміків, а також членом багатьох іноземних академій і товариств. На його честь названо астероїд (6175) Cori.

К. Корі написав бігато історичних і філософських праць про взаємодію науки і людства. Крім автобіографічного есе, він видав статті про вчених, яких добре знав, таких як *Френсіс Шмідт*, *Ерл Сазерленд, Джеймс Лето*, *Густав Ембден*, а також про *Герті Корі.*

Завершимо розповідь про особистість Карла Корі його ж словами: «*Грані фізики, астрономії та біології, а також інструмент їхнього пізнання — людська свідомість — наповнюють кожного таким самим захопленням, як і великі витвори живопису й архітектури. Із цього, а також з пізнання природи, з любові й дружби б'є джерело радості життя, розуміння суму та людської долі. Гуманізм може бути таким важливим для людства, як і успіх в окремих галузях науки*».

У біографічних мемуарах, опублікованих у 1986 р., видатний дослідник цукрового діабету сер *Філіп Рендл* зазначив, що для досліджень Карла і Герті Корі «*...перш за все були характерними інтелектуальна суворість щодо експериментальних методів (фізіологічних і хімічних), глибоке знання і критичний підхід до літератури, неупереджений, хоча іноді й різнобічний, аналіз розбіжностей, високий ступінь відтворення експериментів і старанне ставлення до деталей, особливо у випадку формулювання гіпотез*» [21—25].

Нобелівську премію Г. і К. Корі розділили з аргентинським фізіологом *Б.А. Усаєм.*

БЕРНАРДО УСАЙ

Усай Бернардо Альберто (англ. *Bernardo Alberto Houssay*) народився 10 квітня 1887 р. у Буенос-Айресі (Аргентина). У 1909 р. закінчив університет у Буенос-Айресі і отримав медичний ступінь магістра, а з 1919 р. був професором кафе-

дри фізіології в цьому університеті, де досліджував ендокринну систему, і був першим вченим, який показав провідну роль гіпофіза в обміні речовин.

Бернардо Усай (1887—1971)

Протягом 20—30-х років XX ст. Б. Усай провів детальне дослідження ендокринної, серцево-судинної та дихальної систем, а також органів травлення. Завдяки результатам цих робіт його вважали блискучим фізіологом, який знаходився на передньому краї медичних досліджень. Один з його колег зазначив: «*Не дивлячись на те, що Б. Усай ніколи не турбувався про пріоритети, він був завжди в перших рядах*».

Найзначнішими були його дослідження *ендокринної системи*. Він першим вивчив діяльність гіпофіза в обміні речовин, а також виявив його регуляторні зв'язки з іншими ендокринними залозами. Особливо його цікавило питання про вплив гормонів гіпофіза на вуглеводний обмін й їхній зв'язок із цукровим діабетом.

На підставі результатів досліджень Б. Усай встановив, що інсулін і гормони гіпофіза протилежно впливають на вміст глюкози в крові та її утилізацію клітинами. Підтримання нормального вмісту глюкози та її метаболізм відбувається внаслідок взаємодії гормонів гіпофіза й інсуліну підшлункової залози. Результати фундаментальних досліджень Б. Усая сприяли *створенню нових основних положень щодо ролі гормональних систем у регуляції обміну речовин у людей*.

Саме «*за відкриття ролі гормонів передньої долі гіпофіза в метаболізмі глюкози* (*for his discovery of the part played by the hormone of the anterior pituitary lobe in the metabolism of sugar*)» Бернардо А. Усай отримав Нобелівську премію з фізіології або медицини за 1947 р., поділивши її з Г. і К. Корі. Завершуючи нобелівську лекцію, Б. Усай підсумував дослідження ролі гіпофіза таким чином: «*Метаболізм вуглеводів та інші метаболічні процеси регулюються завдяки балансу, який підтримується секрецією декількох ендокринних залоз. Діабет та інші захворювання обміну речовин є наслідком порушення ендокринного балансу. Існує безліч невирішених проблем у цій галузі, але, без сумніву, можна сказати, що* ***гіпофіз*** *— це один з найважливіших органів у регуляції обміну речовин і він займає центральне місце в ендокринній системі*».

Невтомний вчений, за життя Б. Усай опублікував (самостійно або в співавторстві) майже 500 наукових статей і декілька монографій. Його було відзначено численними нагородами за наукові досягнення, почесними ступенями 28 університетів різних держав. Він був патріотом Аргентини і тоді, коли під час військового перевороту в 1943 р. було скинуто уряд президента Рамона Кастильо. Разом з групою вчених він звернувся до уряду із закликом повернути конституційне правління та демократичні вибори. За це його звільнили з університету і ліквідували його наукову лабораторію. Але він не здався і продовжував працювати в приватній науковій лабораторії, поки не скинули військовий режим Хуана Перона в 1955 р. [26, 27].

Усі геніальні ідеї народжуються не на порожньому місці, вони з'являються в мізках вчених після довгих років фундаментальних досліджень, коли вже накопичено великий багаж знань і проведено велику кількість експериментів.

Так, фундаментальні дослідження Герті та Карла Корі сприяли *розшифруванню одного з центральних шляхів метаболізму вуглеводів — глікогенолізу*, синтезу та розщепленню глікогену в тканинах людини і тварин, який назвали на їхню честь — *цикл Корі*. Вони не тільки відкрили ензими, завдяки яким відбувається перетворення глікогену, а й виділили їх у чистому кристалічному стані. І що дуже важливо, вони підтвердили свої припущення синтезом глікогену *in vitro*, тобто в пробірці. Відзначимо важливість ще одного їхнього відкриття — встановлення наявності *двох форм фосфорилази: активної «а» і неактивної «б»*. Біохімічний і регуляторний механізм перетворення неактивної форми фосфорилази на активну продемонстрував пізніше їхній учень, нобелівський лауреат з фізіології та медицини за 1971 р. Ерл Сазерленд. Те, що нині відомо в біохімії як анаеробне перетворення вуглеводів у клітинах тварин і людини — заслуга Герті та Карла Корі. Спадок пари Корі — це також декілька поколінь вчених, їхніх учнів і співробітників, серед яких не менше шести лауреатів Нобелівської премії, які працювали під їх керівництвом у Вашингтонському університеті: *Кристіан де Дюв, Артур Корнберг, Ганс Кребс, Луї Лелюар, Северо Очоа і Ерл Сазерленд.*

Роботи, розпочаті подружжям Г. і К. Корі, продовжив їх учень *Ерл Сазерленд*, який зацікавився *дослідженням ензиму фосфорилази, а пізніше механізмом регуляції його активності*. У 1971 р. йому було присуджено Нобелівську премію з фізіології або медицини «*за відкриття, що стосуються механізму дії гормонів*». Фактично *Е. Сазерленд* продовжив дослідження, розпочаті раніше Б. Усаєм, але вже на новому, молекулярному рівні.

Якою людиною, яким науковцем був *Е. Сазерленд* і який прорив у механізмі регуляції гормонів він зробив?

ЕРЛ САЗЕРЛЕНД

Американський біохімік **Сазерленд Ерл Уїлбур** (англ. *Sutherland Earl Wilbur*) народився 19.11.1915 р. у Східному Канзасі, в маленькому містечку Берлінгеймі. Його батько, з таким самим ім'ям як у сина (тому сина називали Сазерленд молодший), протягом 10 років працював фермером у Нью-Мексико в Оклахомі, а потім переїхав до Берлінгейма, де за допомогою дружини Едит (Хартшорн) і дітей розпочав мануфактурну справу. В дитинстві Ерл багато часу проводив у полі, в лісах і з того часу зберіг любов до природи. В школі він активно займався баскетболом, футболом, тенісом. Інтерес юного Ерла до біології та медицини викликала книга Поля де Крюї (також де Крайф, англ. *Paul de Kruif*) «*Мисливці за мікробами*», в якій дуже яскраво було описано роботи Луї Пастера та інших видатних вчених-медиків.

У 1933 р. С. Ерл вступив до Уошберн-коледжу в м. Топіка (штат Канзас). У період великої депресії в США його батьки повністю збанкрутували і на цьому навчання молодої людини могло б закінчитись, але Ерл отримував стипендію та підробляв санітаром у місцевій лікарні, що дало йому можливість продовжити освіту. В 1937 р. він отримав диплом бакалавра і почав вивчати медицину

Ерл Сазерленд (1915—1974)

в медичній школі Вашингтонського університету в Сент-Луїсі. Курс фармакології там викладав Карл Корі, і Ерл став його студентом. Наполегливою роботою та бажанням вчитися він привернув увагу К. Корі, і той запропонував йому посаду студента-лаборанта. Завдяки цьому Ерл не тільки зміг продовжити навчання, а й отримав уявлення стосовно того, що таке наукова робота, а також встановив теплі дружні відносини з подружжям Корі.

У 1942 р. Е. Сазерленд отримав медичний диплом і, бажаючи займатися практичною медициною, вступив інтерном до шпиталю Барнса в Сент-Луїсі. Наприкінці Другої світової війни його мобілізували до армії, де він працював спочатку батальйонним хірургом, а потім лікарем у війському шпиталі в Німеччині.

У 1945 р. Е. Сазерленд демобілізувався і повернувся до Сент-Луїса. Тут перед ним постала проблема вибору — займатися практичною медициною далі або перейти на наукову роботу. Пізніше він написав: «*Корі переконав мене — не стільки словами, скільки особистим прикладом — що мені слід зайнятися дослідницькою роботою*».

Протягом наступних восьми років Е. Сазерленд працював на факультеті біохімії Вашингтонського університету спочатку викладачем, а потім ад'юнкт-професором. У цей час його цікавило два питання. *По-перше, його цікавила дія фосфорилази — ензиму, який каталізує розщеплення глікогену в печінці та м'язах. По-друге, яким чином гормони: адреналін мозкового шару надниркових залоз і глюкагон із підшлункової залози спричинюють вивільнення глюкози із глікогену печінки.*

У 1953 р. Е. Сазерленд очолив факультет фармакології Університету Вестерн-Резерв у Клівленді. На той час він встановив, що перший етап розщеплення глікогену в екстрактах із печінки стимулюється адреналіном або глюкагоном, а потім каталізується фосфорилазою. Досліджуючи фосфорилазу, він з'ясував, що в екстрактах печінки є ще *два ензими*: один з них перетворює активну фосфорилазу на неактивну, і при цьому вивільнюється неорганічний фосфат, а другий — реактивує неактивну форму фосфорилази в активну, і при цьому використовується неорганічний фосфат. *Цей цикл реакцій фосфорилювання—дефосфорилювання є одним з найважливіших регуляторних процесів*. А наявність активної та неактивної форм фосфорилази виявили ще Г. та К. Корі.

У той самий час біохіміки з університету штата Вашингтон у Сієтлі *Ервін Кребс* і *Едмунд Фішер* знайшли подібний ензим у м'язах і показали, що реактивація фосфорилази в м'язовій тканині відбувається в присутності АТР і ензиму, який нині відомо як кіназа *фосфорилази*. Е. Сазерленд знав про ці досліди і разом зі співробітником *Теодором Роллом* провели такий експеримент. До препаратів з неактивною фосфорилазою вони додавали АТР і гормони, щоб з'ясувати, які гормони стимулюють реакцію активації фосфорилази. *Результати досліджень свідчили, що в безклітинних екстрактах як* ***адреналін****, так і* ***глю-***

кагон спричинюють *активацію фосфорилази. Оскільки на той час вважали, що гормони впливають в цілому на клітину, то експеримент Е. Сазерленда вперше показав, що гормони впливають на обмін вуглеводів на молекулярному рівні. Це дало можливість інакше подивитись на механізм дії гормонів. Це була сенсація.*

Е. Сазерленд продовжив дослідження і виявив раніше невідому хімічну сполуку — *циклічний 3′,5′-аденозинмонофосфат — ц-АМФ (с-АМР).* Саме ця сполука сприяла перетворенню неактивної форми фосфорилази на активну і відповідала за вивільнення глюкози в клітині. Відкриття с-АМР дало Е. Сазерленду змогу сформулювати гіпотезу про наявність *вторинних посередників — месенджерів у дії гормонів.* Ця гіпотеза пояснювала, яким чином гормони передають сигнали тканинам — мішеням. Е. Сазерленд вважав, що такі гормони як *адреналін* і *глюкагон є первинними посередниками*, які виділяються з тканин, де вони утворились, у кров і кров'ю переносяться до тканин-мішеней. Там вони зв'язуються з рецепторами на зовнішній поверхні мембран клітин, що є сигналом для клітини до підвищення активності *аденілатциклази*, яка знаходиться на внутрішній поверхні мембрани. У свою чергу активація *аденілатциклази зумовлює утворення с-АМР, що є вторинним посередником (медіатором) і яка стимулює специфічні функції багатьох ензимів у клітині.* Це пояснює, чому глюкагон і адреналін однаково впливають на клітини печінки.

Спочатку відкриття циклічного АМР не привернуло уваги більшості вчених. Але потім в наукових колах було визнано, що Е. Сазерленд виявив новий загальний механізм дії багатьох гормонів — новий біологічний принцип. *Пізніше він з'ясував, що аденілатциклазу можуть активувати не тільки адреналін і глюкагон, а й інші гормони. Крім тог, с-АМР діє не лише на фосфорилазу, а й на інші ензимні системи.*

У 1963 р. Е. Сазерленд отримав посаду професора фізіології в Університеті Вандербільта в Нешвіллі (штат Теннессі) і почав більше часу приділяти науковим дослідженням із с-АМР. Так, разом з колегами він показав, що ця сполука є вторинним менеджером для понад 12 гормонів ссавців. Крім того, виявилось, що с-АМР бере участь у регуляції активності нервових клітин, в експресії генів у бактерій. *Наявність с-АМР як у багатоклітинних, так і одноклітинних організмів свідчить про те, що ця сполука стала регулятором клітинних обмінних процесів на дуже ранніх стадіях еволюції.*

У 1971 р. Ерлу Сазерленду було присуджено Нобелівську премію з фізіології або медицини «*за відкриття, що стосуються механізмів дії гормонів*». Під час вручення нагороди дослідник з Каролінського інституту *Пітер Рейхард* (*Peter Reichard*) зазначив, що хоча про існування гормонів було відомо вже давно, механізм їх дії до робіт Е. Сазерленда був повною загадкою. Відкриття с-АМР виявило «*один з фундаментальних принципів практично всіх процесів життєдіяльності*».

Відкриття с-АМР зумовило появу нових напрямів у різних галузях науки — від ендокринології до онкології та навіть психіатрії. За словами Е. Сазерленда, *ця сполука «впливає на все — від пам'яті до кінчиків пальців»*. У 1971 р. він почав вивчати *циклічний 3′,5′-гуанозинмонофосфат (ц-ГМФ, с-GMP)*, який також широко розповсюджений у тканинах ссавців та інших тварин.

У 1973 р. він перейшов до університету в Маямі. Але вже в наступному році (1974) 3 вересня Е. Сазерленд пішов з життя від сильної кровотечі у стравоході. Йому було всього 58 років і він міг би зробити ще багато наукових відкриттів. Сучасники вважали Е. Сазерленда відкритою, товариською та доброзичливою людиною. За словами Карла Корі, який пережив свого учня на 10 років і написав про нього спогади, Ерла Сазерленда вирізняють декілька рис: «*Перше і, мабуть, найголовніше — це те, що він мав дар інтуїції. Він вмів виконати потрібний експеримент у найнеобхідніший час, не завжди чітко розуміючи, чому він це так робить. По-друге, його інтуїція була розвинена настільки, що народжувала дивовижні захоплення. По-третє, він був прекрасним лабораторним дослідником, який міг згадати будь-який експеримент, який було поставлено колись ним та його співробітниками*». За словами К. Корі, до наведеного слід додати такі його риси як «*...честолюбність, велику енергію, а також яскравість і оригінальність рішень*».

Крім Нобелівської премії Е. Сазерленда було удостоєно премії Торалла Соллмена в галузі фармакології Американського товариства фармакології та експериментальної терапії (1969), премії Діксона з медицини Пітсбурзького університету (1970), премії Альберта Ласкера за фундаментальні медичні дослідження (1970) і премії за наукові досягнення Американської кардіологічної асоціації (1971). Він був членом кількох Американських наукових товариств, мав почесні ступені Йєльського і Вашингтонського університетів [28—33].

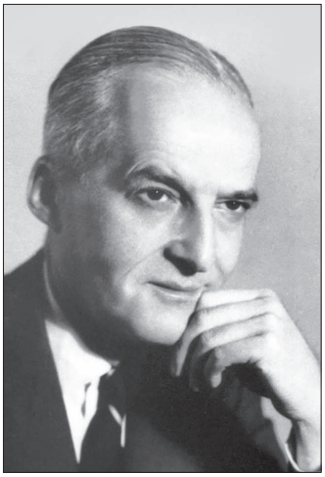
Яскрава особистість, прекрасний експериментатор і науковець — Ерл Сазерленд — відкрив завісу, яка знаходилася за сімома печатками. Він розшифрував механізм регуляції основних метаболічних перетворень гормонами на прикладі дії фосфорилази. Стало зрозуміло, що сигнал на подальше включення каскаду біохімічних реакцій передається вторинними посередниками, або месенджерами, тобто біомолекулами, які трансформують інформацію від первинного месенджера-гормону на ефекторні системи клітин. Його дослідження встановили універсальність с-АМР як вторинного месенджера в передачі сигналів біологічно активних сполук на клітину і стали хрестоматійними, увійшовши в навчальні підручники всього світу.

Роботи Е. Сазерленда стали стимулом для пошуку й інших вторинних посередників, що привело до виявлення циклічного *гуанозинмонофосфату, фосфоінозитидної системи,* Са-*кальмодуліну,* NO тощо. Подальша деталізація молекулярного механізму дії гормонів на клітини-мішені надала можливість відкрити в клітинній мембрані G-*протеїни*, протеїни-трансдуктори, які є ланцюгом, що зв'язує гормонрецепторний комплекс і аденілатциклазу. Отже, *роботи Е. Сазерленда сприяли повному розшифруванню механізму дії пептидних гормонів.*

Ще один науковець — учень Карла Корі, на напрям досліджень якого він вплинув, — аргентинський біохімік *Луїс Лелуар*, який також досліджував перетворення вуглеводів, але зацікавився не їх розщепленням, а синтезом і відкрив першу реакцію в біосинтезі вуглеводів за участю *уридиндифосфатглюкози*. Нобелівську премію з хімії йому присудили в 1970 р. «*за відкриття першого цукрового нуклеотиду та дослідження його функцій в перетворенні цукру і в біосинтезі складних вуглеводів* (*for his discovery of sugar nucleotides and their role in the biosynthesis of carbohydrate*s)». Доля цього дослідника пов'язана з долею Аргентини і його народом.

ЛУЇС ФЕДЕРІКО ЛЕЛУАР

Лелуар Луїс Федеріко (ісп. *Leloir Luis Federico*) народився 6 вересня 1906 р. у Парижі, де в той час жили його батьки Федеріко та Ортенсія (Агуїрре) Лелуар. Хлопчику виповнилось два роки, коли родина повернулась до Буенос-Айреса. Там він навчався в школі та університеті, який закінчив у 1932 р. і отримав медичний диплом. Два роки Луїс працював в університетській лікарні, а потім перейшов до університетського Інституту фізіології. Йому пощастило працювати під керівництвом відомого аргентинського фізіолога *Бернардо Усая (Houssay)*, нобелівського лауреата з фізіології та медицини за 1947 р., про якого йшлося вище. У 30-ті роки XX ст. під керівництвом Б. Усая юний Луїс досліджував роль надниркових залоз у метаболізмі вуглеводів, а саме гормону *адреналіну*.



Луїс Федеріко Лелуар (1906—1987)

У 1936 р. з метою подальшого освоювання біохімії Л. Лелуар поїхав в Англію до біохімічної лабораторії Кембриджського університету, яку очолював всесвітньо відомий біохімік *Ф.Г. Гопкінс* (нобелівський лауреат з фізіології та медицини, 1929 [1]). Протягом року Л. Лелуар досліджував у Лондоні ензими, а потім повернувся до Інституту фізіології в Буенос-Айресі. Тут він працював у групі вчених, які вивчали роль нирок у регуляції кров'яного тиску. Разом вони отримали пептид *ангіотензин* — речовину, яка надходить у кров у випадку захворювання нирок і підвищує кров'яний тиск.

У 1943 р. після військового перевороту в Аргентині, коли до влади прийшов Хуан Перон, за наказом якого Б. Усая звільнили з роботи, а його наукову групу ліквідували, Л. Лелуар переїхав до США. Там він працював асистентом-дослідником у біохімічній лабораторії К. Корі у Вашингтонському університеті в Сент-Луїсі (штат Міссурі), де проводили дослідження *механізму перетворення вуглеводів (глікогену) в організмі тварин*. Зацікавленість цією проблемою залишилася в Л. Лелуара на все подальше життя.

Через два роки Л. Лелуар повернувся до Буенос-Айреса, де спочатку працював під керівництвом Б. Усая в приватному Інституті біології та експериментальної медицини, а в 1947 р. очолив Інститут біохімічних досліджень, створений завдяки фінансовій підтримці власника текстильної компанії *Хаїме Кампомара*.

Спочатку завданням наукових досліджень цього інституту було синтезувати *молочний цукор (лактозу)*. На той час вже більш-менш достатньо вивчили механізм розщеплення вуглеводів-полісахаридів, але відомостей про синтез складних вуглеводів у живому організмі було значно менше.

Шукаючи ензим для синтезу дисахариду *лактози*, Л. Лелуар з колегами виявили, що цей процес потребує наявності двох нестійких коензимів, які він ідентифікував як *глюкозо*-1,6-*дифосфат і нуклеозид-уридиндифосфатглюкоза (UDP-глюкоза)*. Як пізніше зауважив Л. Лелуар: «*...присутність уридину як ко-*

ензиму було в деякому сенсі новиною, оскільки в інших сполуках зустрічався тільки нуклеозид з аденіном. Поява похідних цукрів у поєднанні з нуклеозидом була також новим фактом».

У 1959 р. Л. Лелуар зі співробітниками показали, що глікоген синтезується в печінці за участю *UDP-глюкози* з утворенням α-1,4-*глікозидних зв'язків*. Проаналізувавши синтез крохмалю в рослинах, вони довели, що в цьому процесі бере участь *аденозиндифосфатглюкоза*. Пізніше співробітники різних лабораторій відкрили багато інших цукрових нуклеотидів, які беруть участь у процесах взаємоперетворення простих цукрів, а також є донорами глюкози для синтезу полісахаридів. Нині відомо, що метаболічно активною формою глюкози, яка використовується у формуванні нерозгалужених гомополісахаридних ланцюгів, є саме *UDP-глюкоза*.

Коли в 1955 р. диктатуру Перона в Аргентині було повалено, нова влада надала Інституту біохімічних досліджень нове приміщення та нові можливості. В 1962 р. інститут приєднали до Університету в Буенос-Айресі як його філіал, а Л. Лелуара призначили його керівником. Від цієї посади він потім відмовився, щоб приділити більше часу науковій роботі в лабораторії.

За наукові дослідження Луїс Лелуар у 1970 р. отримав Нобелівську премію з хімії з таким формулюванням: «*за відкриття першого цукрового нуклеотиду та дослідження його функцій в перетворенні цукру і в біосинтезі складних вуглеводів*». Представляючи Л. Лелуара від імені Шведської королівської академії наук, *Карл Мірбак* зазначив: «*Л. Лелуар встановив, що реакція перетворення відбувається не в цукрах, а у відповідних цукрових нуклеотидах*». Потім він додав: «*Інші вчені швидко зрозуміли фундаментальне відкриття Л. Лелуара. На сьогодні відомо і добре охарактеризовано більше ніж сотню цукрових нуклеотидів, участь яких у різних реакціях є вирішальною*».

Отримання Нобелівської премії зробило Л. Лелуара національним героєм Аргентини; було навіть випущено поштову марку з його портретом.

Подальші роботи Л. Лелуар присвятив дослідженню ролі ліпідів як проміжних хімічних сполук у синтезі полісахаридів із цукрових нуклеотидів, а також синтезу глікопротеїнів, які є компонентами біологічних мембран.

Студенти та колеги вважали Л. Лелуара людиною ввічливою й співчутливою. Він проводив важливі наукові дослідження навіть за обмежених фінансових можливостей.

Л. Лелуар брав активну участь у роботі Аргентинського товариства біохімічних досліджень і Панамериканської асоціації біохімічних товариств. Мав почесні нагороди та почесні наукові ступені різних країн; був членом Національної академії наук США, Американської академії наук і мистецтв, Американського філософського товариства, Папської академії наук і Лондонської королівської академії [34—38].

Помер Л. Лелуар 2 грудня 1987 р. у Буенос-Айресі від гострого інфаркту міокарда.

За своє 81-річне життя Луїс Лелуар багато зробив для розвитку біохімічної науки. Так, він першим отримав безклітинний препарат, здатний окиснювати жирні кислоти in vitro; довів наявність гуморального фактора (ангіотензину), який підвищує кров'яний тиск. Але найважливішими є його роботи, присвя-

чені дослідженню обміну та біосинтезу вуглеводів. Він вперше показав, що всі біохімічні реакції утворення складних вуглеводів — оліго- та полісахаридів — потребують наявності метаболічно й енергетично активних форм моносахаридів, роль яких відіграють сполучені з цукрами різні нуклеотиди. У 1950—1960 рр., крім UDP-глюкози, він відкрив декілька десятків нуклеотиддифосфатцукрів, які належать до пуринових і піримідинових похідних. Крім того, він встановив ензиматичні реакції, які ведуть до утворення таких похідних цукрів. Луїс Лелуар неодноразово відзначав, що основна заслуга в досягненні ним наукових вершин належить його вчителям.

До плеяди вчених із глибоким розумінням результатів своїх досліджень, що уможливило відкрити відразу два цикли біохімічних перетворень — *орнітиновий* і *цикл ди- та трикарбонових кислот*, належав англійський біохімік німецького походження *Ганс Кребс*. Він отримав Нобелівську премію з фізіології або медицини в 1953 р. «*за відкриття циклу лимонної кислоти* (*for his discovery of the citric acid cycl*)» і розділив її з *Фріцем Ліпманом*.

ГАНС КРЕБС

Кребс Ганс Адольф (нім. *Krebs Hans Adolf*) народився 25 серпня 1900 р. у Гільдесгаймі (Німеччина) в родині отоларинголога Георга Кребса та Альми Кребс (Давидсон). Початкову освіту він отримав у Андреанум-гімназії в Гільдесгаймі, яку закінчив у 1918 р., коли ще тривала Перша світова війна. Тому його мобілізували до Імператорської німецької армії. Він служив у полку зв'язку, але через два місяці війна закінчилась і Ганс повернувся додому.

У 1919—1924 рр. Г. Кребс вивчав медицину в Геттінгенському, Фрайбурзькому, Мюнхенському та Берлінському університетах, а в 1925 р. отримав медичний диплом в Гамбурзькому університеті. Потім він протягом року вивчав хімію в Інституті патології Берлінського університету, а до 1930 р. працював асистентом-лаборантом в Отто Варбурга в Інституті біології Кайзера Вільгельма в Берліні.

На той час О. Варбург розробив експериментальний метод дослідження клітинного дихання — метод визначення величини поглинання кисню і виділення діоксиду вуглецю в процесі метаболізму вуглеводів, ліпідів, протеїнів [1]. Замість того, щоб досліджувати дихання тварин або їхні цілі органи, О. Варбург почав використовувати зрізи свіжих тканин, вміщуючи їх у герметичну посудину, з'єднану з датчиком тиску (манометром). Коли в процесі біохімічних реакцій тканини поглинали кисень, тиск у посудині знижувався і це було об'єктивним показником їхньої дихальної активності. Прилад назвали «апарат Варбурга». Цим методом добре оволодів Г. Кребс і, використовуючи фактично тільки його, зробив блискучі відкриття.

Але спочатку Г. Кребс вирішив зайнятися клінічною медициною (1930) і почав працювати асистентом у муніципальному шпиталі в Алтоні в Гамбурзі, а також приват-доцентом (позаштатним викладачем) у медичній клініці Фрайбурзького університету. В той самий час він продовжував біохімічні дослідження в біохімічній лабораторії клініки Таннгаузера (Фрайбург). Використовую-

Ганс Кребс (1900—1981)

чи експериментальну систему типу «апарата Варбурга», він спочатку *виявив у тканинах нирок і печінки ензими, які каталізують оксидне дезамінування D- та L-амінокислот* (1932).

Потім Г. Кребс зацікавився *механізмом синтезу сечовини* (основним кінцевим продуктом перетворення азотистих речовин), яка виводиться з організму людини, ссавців, амфібій та риб із сечею. Ще в 1904 р. А. Коссель разом зі своїм видатним учнем *Генрі Дрісдейлом Дакіном* (*Henry Drysdale Dakin*) відкрили в тканині печінки ензим *аргіназу*, яка каталізує гідролітичне відщеплення сечовини від *аргініну* з утворенням *орнітину. Аргіназа* найактивнішою є тільки в печінці, а в інших тканинах такої активності не виявлено. І ось у 1932 р. Г. Кребс разом з доктором *Куртом Гензелейтом* (*Kurt Henseleit*) показали, що *синтез сечовини* може відбуватися в зрізах печінки. Так, за додавання до зрізів печінки, які інкубували в аеробних умовах, *амонійної солі* вони спостерігали *синтез сечовини*.

У дослідах із заміною амонійної солі різними амінокислотами було встановлено, що *тільки додавання аргініну до зрізів печінки зумовлює посилене утворення сечовини*. Цей факт Г. Кребс пояснив тим, що *аргінін за дії аргінази утворює сечовину та орнітин*. Потім з'ясувалось, що і *додавання малої кількості орнітину, цитруліну та аргініну за наявності амонійої солі також спричинює утворення сечовини*. Результати цих досліджень свідчили про те, що *аргінін, орнітин і цитрулін каталізують процес синтезу сечовини*, а не є просто матеріалом для її утворення.

Крім того, Г. Кребс виявив, що орнітин, який додається до зрізів печінки, прискорює синтез сечовини, але сам при цьому не зникає. Тому в Г. Кребса виникла думка, що *біосинтез сечовини є циклічним процесом, в якому орнітин займає центральне місце*. Він запропонував таку схему утворення сечовини в клітинах печінки: *аргінін за дії ензиму аргінази утворює сечовину й орнітин; на наступному етапі до орнітину приєднується молекула аміаку та молекула діоксиду вуглецю з утворенням цитруліну; потім до цитриліну приєднується ще одна молекула аміаку з утворенням аргініну; на останньому етапі з аргініну за участю аргінази утворюється сечовина й орнітин*. Таким чином, весь цикл утворення сечовини повторюється. Г. Кребс назвав його орнітиновий цикл, а пізніше його назвали цикл утворення сечовини Кребса—Гензелейта. Важливо, що утворення сечовини за цим циклом у зрізах печінки відбувається тільки в присутності кисню та речовин, які окиснюються, наприклад *лактату*. Експерименти тривали майже рік, було проведено понад 200 дослідів для підтвердження наявності *орнітинового циклу* в печінці та опубліковано (1932) результати досліджень у двох журналах.

Утворення сечовини за циклом Кребса—Гензелейта підтвердилося результатами численних досліджень і є загальноприйнятим. Однак зазначимо, що в подальшому цикл було суттєво деталізовано і дещо змінено, але ім'я Г. Креб-

са та К. Гензелейта залишилися за орнітиновим циклом у всіх підручниках із біохімії. Крім того, розробка концепції циклічних процесів у біохімії принесла Г. Кребсу всесвітню славу.

У 1933 р. до влади в Німеччині прийшов А. Гітлер, і Г. Кребс, єврей за походженням, залишився без роботи і без грошей — його звільнили з Фрайбурзького університету. Але Г. Кребсу пощастило. Рокфеллерівське дослідницьке товариство дало йому можливість продовжити біохімічні дослідження під керівництвом всесвітньо відомого *Ф.Г. Гопкінса* (нобелівського лауреата з фізіології та медицини, 1929) в Інституті біохімії Кембриджського університету у Великій Британії. Г. Кребс приїхав до Кембриджа, не взявши із собою «*практично нічого, крім почуття полегшення, кількох книжок і 16 посудинок Варбурга*».

У Кембриджі Г. Кребс почав працювати демонстратором-біохіміком і досить швидко отримав ступінь магістра. У 1935 р. його призначили викладачем фармакології Шеффілдського університету. В наступному році його запросили на роботу до Єврейського університету в Рехоботі (Палестина), але він відмовився і залишився в Англії, де став викладачем із погодинною оплатою на кафедрі біохімії Шеффілдського університету.

Працюючи в університеті, Г. Кребс зацікавився дослідженням *проміжного обміну вуглеводів у аеробних умовах*. На той час було відомо, що одним із проміжних продуктів обміну речовин у клітині, який утворюється за аеробного розпаду вуглеводів, ліпідів, а також низки амінокислот, є *оцтова кислота*. Але накопичення її в організмі тварин не спостерігалось, а це свідчило про те, що вона розщеплюється до кінцевих продуктів — CO_2 і H_2O. Проте в неї стабільна хімічна структура, вона не окиснюється відщепленням від неї водню, не декарбоксилюється, як це відбувається з α-кетокислотами і амінокислотами. Виникло питання: *яким хімічним шляхом відбувається розщеплення оцтової кислоти в тканинах живих організмів*.

У ранніх роботах таких дослідників, як Франц Кнооп (*Franz Knoop*), було запропоновано *теорію* β-*окиснення жирних кислот* (1904). На початку 30-х років XX ст. А. Сент-Дьйорді досліджував перетворення дикарбонової *фумарової кислоти* і відкрив ензими перетворення дикарбонових кислот — *янтарної (бурштинової)* і *лимонної (цитрату)*, які каталізують проміжні окисні реакції в процесі перетворення пірувату до CO_2 і H_2O [1]. Саме праці А. Сент-Дьйорді стали відправним пунктом для досліджень Г. Кребса.

Використовуючи манометричний метод Варбурга, Г. Кребс дослідив вплив понад 20 органічних кислот, близьких за будовою до вуглеводів, на поглинання кисню тканинами грудних м'язів голуба. Як згадував пізніше молодий помічник і співавтор Г. Кребса *Вільям Джонсон* (*W. A. Johnson*), досліди проводили з 9-ї години ранку до 8-ї години вечора, а потім ще планували постановку дослідів на наступний день. Унаслідок такої кропіткої та важкої праці протягом року *Г. Кребс зробив друге найважливіше відкриття — він описав цикл лимонної кислоти, або цикл три- і дикарбонових кислот, який зараз називають циклом Кребса*. Важливість цього циклу полягає в тому, що це загальний кінцевий шлях окиснювального катаболізму вуглеводів, протеїнів і ліпідів у клітинах в аеробних умовах. Нині відомо, що реакції та ензими циклу трикарбонових кислот локалізовані в матриксі та внутрішній мембрані мітохондрій і

функціонально та біохімічно вони спряжені з мітохондріальними електронно-транспортними ланцюгами.

Що ж з'ясував Г. Кребс? *За його уявленням, залишок оцтової кислоти (двовуглецева молекула) взаємодіє з чотиривуглецевою щавлевооцтовою кислотою (оксалоацетатом), що приводить до утворення шестивуглецевої* (C_6) *молекули лимонної кислоти (цитрату). Внаслідок подальшого багатоступеневого перетворення три- та дикарбонових кислот (інтермедіатів циклу) відбувається регенерація оксалоацетату* (C_4) *та виділяються дві молекули діоксиду вуглецю* (C_2). *І цикл повторюється.* Просто та геніально!

Результати роботи Г. Кребс поспішив опублікувати і запропонував статтю до найвпливовішого видання «**Nature**», але в найближчих номерах часопису місця не було. Тоді Г. Кребс надіслав статтю до журналу «**Enzymologia**», де вона і вийшла в 1937 р. у 4-му номері з назвою: «*The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues*». Таким чином, **1937 р.** став важливою віхою в історії біохімічної науки.

Крім того, Г. Кребс з'ясував, що *молочна (лактат)* і *піровиноградна (піруват) кислоти* самі по собі можуть самостійно перетворюватися. Надалі він показав, що під час окиснення пірувату утворюється проміжна сполука — *ацетил-КоА* (ацетилкоензим А, СоА). Коензим А відкрив у 1945 р. Ф. Ліпман із колегами. *Тому в сучасному уявленні перша реакція циклу три- та дикарбонових кислот починається не з оцтової кислоти, а з конденсації ацетил-СоА з оксалоацетатом та з утворенням лимонної кислоти і вивільненням СоА. За повного окиснення однієї молекули ацетил-СоА до* CO_2 *та* H_2O *у циклі трикарбонових кислот генерується 12 молекул АТР і утворюється низка метаболітів, які в подальшому використовуються в інших синтетичних процесах.*

Зазначимо, що сучасне уявлення про цикл три- та дикарбонових кислот склалося завдяки численним експериментальним дослідженням, серед яких особливо важливими є дослідження саме Г. Кребса. Він вважав, що основні принципи цього циклу, як і орнітинового, підходять і для пояснення перетворення інших метаболітів у організмі людини та тварин, таких як, наприклад, перетворення жирних кислот.

Відкриття циклічного принципу проміжних обмінних реакцій, таким чином, стало віхою в розвитку біохімії, бо дало ключ до розуміння шляхів метаболізму взагалі. Крім того, воно стимулювало інші експериментальні роботи та розширяло уявлення вчених про послідовність хімічних реакцій у живих клітинах.

У 1939 р. Г. Кребс отримав британське громадянство. Під час Другої світової війни він керував дослідженнями в Британській медичній раді з харчування, зокрема й стосовно потреб у вітамінах А і С для солдат. У 1945 р. його призначили завідувачем кафедри біохімії та директором Медичної дослідницької ради з клітинного метаболізму Шеффілдського університету.

Нобелівську премію з фізіології або медицини Гансу Кребсу присудили в 1953 р. «*за відкриття циклу лимонної кислоти*». Він розділив її з *Фріцем Ліпманом*. У привітальному слові дослідник з Каролінського інституту *Ерік Хаммарстен* зазначив: «*Цикл Кребса пояснює два одночасних процеси: розщеплення, за якого вивільнюється енергія, і синтетичний, за якого ця енергія використовується*».

У нобелівській лекції Г. Кребс підсумував свої відкриття в галузі циклу трикарбонових кислот. Завершуючи промову «екскурсом у загальну біологію», він звернув увагу на широке значення цих відкриттів. «*Наявність одного й того самого механізму утворення енергії в усіх живих істотах дає змогу зробити ще два висновки, — сказав він. — По-перше, цей механізм виник на дуже ранніх етапах еволюції й, по-друге, життя в його теперішньому стані зародилося лише один раз*».

Через рік після отримання Нобелівської премії Г. Кребса призначили на посаду професора біохімії Наффілдського відділення клінічної медицини Оксфордського університету, куди переїхала Медична дослідницька рада з клітинного метаболізму.

У 1957—1958 рр. Г. Кребс разом із учнем *Гансом Лео Корнбергом* (*Hans Leo Kornberg*) виявили *гліоксилатний цикл (шунт)* — видозмінений цикл трикарбонових кислот, який є в рослин, бактерій і грибів. У цьому циклі дві молекули ацетил-СоА перетворюються на *сукцинат*, який потім може використовуватися для синтезу вуглеводів. Його можна вважати однією з *анаплеротичних реакцій* циклу трикарбонових кислот, завдяки якому поповнюється кількість *сукцинату* та *малату*. Вчені з'ясували ензими та реакції гліоксилатного циклу. Також вони разом працювали над монографією «*Перетворення енергії в живій матерії*» («*Energy Transformation in living Matter: A Survey*», 1957), в якій розглядали цикл лимонної кислоти і його функції в живому організмі. Крім того, Г. Кребс написав книгу роздумів — «*Reminiscences and Reflections*» (Oxford, 1982) і працю про Отто Варбурга.

Після виходу на пенсію з Оксфордського університету в 1967 р. Г. Кребса призначили професором-консультантом із біохімії в Лондонській королівській вільній шпитальній медичній школі, де він продовжував дослідження з регуляції швидкості обмінних процесів, а також «уроджених порушень метаболізму» та зі збереження печінки для її пересадження.

Свої дослідження зі з'ясування хімічних процесів, які відбуваються в живих клітинах, Г. Кребс порівнював із розшуком відсутніх файлів у головоломках-мозаїках.

Ганс Кребс пішов із життя 22 листопада 1981 р. в Оксфорді на 82-му році життя.

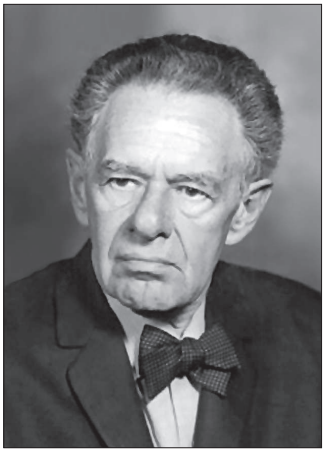
Г. Кребс був удостоєний багатьох нагород, серед них премії Ласкера Американської асоціації охорони здоров'я (1953), Королівської медалі (1954) і медалі Коплі (1961) Королівського наукового товариства, а також золотої медалі Королівського медичного товариства (1965). У 1958 р. королева Англії Єлізавета II надала йому дворянський титул («звела в лицарську гідність). Він був іноземним членом різних академій, співробітником Американської колегії лікарів і членом Вейцманівського інституту (Ізраїль) [39—45].

Аналізуючи результати наукової роботи Ганса Кребса, слід зазначити, що багато з того, що відомо нині про обмін речовин в організмі (метаболізм), зроблено цією непересічною людиною. Так, досліджуючи тканинний азотистий обмін, він виявив у нирках і печінці ензимні системи окисного дезамінування амінокислот. У 1932 р. він відкрив послідовність хімічних реакцій, завдяки яким у печінці тварин утворюється кінцевий продукт азотистого обміну — сечовина. Це цикл сечо-

вини, або орнітиновий цикл Кребса. Він також відкрив і дослідив процес синтезу глютаміну з глютамінової кислоти та аміаку; досліджував властивості ензимів і вплив на них хімічних і фізичних чинників. А апогеєм його досліджень було встановлення циклу три- і дикарбонових кислот із восьми реакцій, які в присутності кисню забезпечують перетворення продуктів розщеплення вуглеводів, ліпідів і протеїнів до діоксиду вуглецю на високоенергетичну сполуку аденозинтрифосфат (АТР). Іншими словами, цикл Кребса об'єднує окиснення фактично всіх органічних речовин у живих організмах.

Ще одним нобелівським лауреатом із фізіології та медицини за 1953 р. був американський біохімік німецького походження *Фріц Ліпман*, який отримав премію «*за відкриття коензиму А і його значення для проміжних стадій метаболізму* (*for his discovery of coenzyme A and its importance for intermediary metabolism*)».

ФРІЦ ЛІПМАН



Фріц Ліпман (1899—1986)

Ліпман Фріц Альберт (нім. *Lipmann Fritz Albert*) народився 12 червня 1899 р. у Кенігсберзі (нині — Калінінград) у Прусії в єврейській родині Леопольда та Гертруди (Лахманської) Ліпман. Його батько був адвокатом. Під впливом дядька, який працював педіатром, у 1917 р. Фріц почав вивчати медицину в Кенігсберзькому університеті. Оскільки на той час ще тривала Перша світова війна, Фріц до її закінчення прослужив кілька місяців у армії в медичних військах. Після повернення з армії він продовжив освіту в Мюнхенському, а пізніше в Берлінському університеті. Тут у 1922 р. він отримав медичний ступінь магістра за дисертацію з колоїдної хімії. Особливе враження на молодого Ф. Ліпмана справив навчальний курс, який він потім назвав «*граматико-хімічним курсом*» професора *Клінгера*. Закінчивши університет, Ф. Ліпман пройшов тримісячні курси з біохімії, а в 1923 р. отримав грант на проведення досліджень із фармакології в Амстердамському університеті (Нідерланди). Через три місяці він повернувся до Кенігсберга і вирішив стати біохіміком, тому вступив до Кенігсберзького університету, де продовжив вивчати хімію під керівництвом видатних вчених того часу — професорів Меєрвейна та Клінгера. У 1927 р. Ф. Ліпман за дисертацію з досліджень біохімічних реакцій у м'язових клітинах отримав докторський ступінь з хімії в Берлінському університеті. Протягом наступних двох років Ф. Ліпман працював асистентом в *Отто Мейєргофа* в Біологічному інституті Кайзера Вільгельма спочатку в Берліні, а з 1929 р. — у Гейдельберзі. Саме в Гейдельберзі він познайомився з *Отто Ганом* — спеціалістом з ядерної фізики, а також з біохіміками *Отто Варбургом* і *Гансом Кребсом*. Останні досліджували *процеси перетворення вуглеводів у тканинах тварин.*

Що було відомо на той час про ці процеси?

Так, у середині 20-х років XX ст. вчені розробили *загальну схему клітинного метаболізму вуглеводів*. Вже було відомо, що *за анаеробного гліколізу піруват перетворюється на лактат (молочну кислоту)*, яка може накопичуватися в м'язах. Але О. Мейєргоф показав, що за наявності кисню тільки 1/5 лактату повністю окиснюється до CO_2 і H_2O. З цього він дійшов висновку, що клітинна енергія, яка виникає внаслідок окиснення лактату киснем, використовується клітиною для повторного синтезу глюкози з 4/5 залишків молекул лактату. «За відкриття тісного взаємозв'язку між процесом поглинання кисню та метаболізмом молочної кислоти в м'язах» О. Мейєргоф отримав Нобелівську премію з фізіології або медицини за 1922 р. [1].

Зрозуміло, що працюючи під керівництвом О. Мейєргофа, Ф. Ліпман також зацікавився з'ясуванням механізмів, завдяки яким живі клітини виробляють і утилізують енергію. Досліджуючи ці механізми, він виявив, що *натрію фторид* гальмує окиснення лактату в м'язах. Крім того, він досліджував *креатинфосфат* (фосфокреатин), розщеплення якого пов'язане з м'язовим скороченням.

У 1931 р. Ф. Ліпман повернувся до Біологічного інституту Кайзера Вільгельма в Берліні як асистент *Альберта Фішера*, який навчив його вирощувати *фібробласти* (клітини ембріональної тканини) в культурі *in vitro* — дуже корисний метод для вивчення клітинного метаболізму.

У тому самому році Ф. Ліпман зустрів американку *Елфреду М. Холл*, з якою одружився і переїхав до Нью-Йорка, де отримав субсидію Рокфеллерівського фонду. Тут, у Рокфеллерівському інституті медичних досліджень (нині — Рокфеллерівський університет) разом з хіміком *П.А. Левіним* він досліджував *фосфорилювання протеїнів*.

Але в 1932 р. Ф. Ліпман знову повернувся до А. Фішера, який працював у новій лабораторії Біологічного інституту Карлсберзького фонду в Копенгагені (Данія). Протягом наступних семи років Ф. Ліпман цікавився питанням: як клітини виробляють енергію для забезпечення біохімічних реакцій, необхідних для підтримання життя. Він з'ясував, що за наявності кисню анаеробний гліколіз пригнічується. Це відомий ефект Пастера. Але чому це відбувається? Для аналізу цього ефекту Ф. Ліпман досліджував окиснення пірувату, проміжного продукту метаболічного процесу. З цією метою він використав ензимну систему, яку отримав з бактерії *Lactobacillus delbrueckii*. Результати дослідів засвідчили, що перетворення пірувату на ацетат повністю залежить від присутності неорганічного фактора і приводить до утворення фосфорилованої форми ацетату — *ацетилфосфату*. Ф. Ліпман дійшов висновку, що саме *ацетил фосфат є хімічно активною формою ацетату, яка, з'єднуючись з оксалоацетатом, утворює лимонну кислоту (цитрат) на першому етапі циклу Кребса*. Це твердження було помилковим, проте він зрозумів, що в циклі Кребса повинна перетворюватись активна форма ацетату. Але яка?

На превеликий жаль, продовжити дослідження в Копенгагені Ф. Ліпман не зміг. Наприкінці 30-х років XX ст. нацистська Німеччина розповсюдила сферу впливу і на Данію. Розуміючи, що як єврей він не зможе ані повернутися до Німеччини, ані залишитися в Данії, Ф. Ліпман з дружиною в 1939 р. емігрували до Сполучених Штатів. Там він отримав посаду наукового співробітни-

ка відділу біохімії (керівник *Вінсент Дю Віньо*) у медичному коледжі Корнелльського університету (Нью-Йорк). У Корнеллі він залишався до 1941 р., а потім переїхав до Бостона, де став науковим співробітником хірургічного відділення Гарвардської медичної школи та Массачусетського шпиталю загального типу. Через два роки Ф. Ліпман став науковим співробітником, а в 1949 р. — професором біохімії в Гарварді. В 1944 р. він здобув американське громадянство.

Працюючи в різних установах США, Ф. Ліпман продовжував розпочате в Копенгагені дослідження клітинного метаболізму. Результати цієї роботи дали йому можливість висловити припущення, що основним джерелом енергії для підтримання метаболічних реакцій у живих клітинах є аденозинтрифосфат (АТР). Хімічні (макроергічні) зв'язки, що утворюються фосфорною групою АТР, постачають енергію, яка утилізується клітинами тварин і людини. Але залишалось незрозумілим, як АТР вивільнює енергію. Цей механізм було розшифровано після того, як у 1945 р. Ф. Ліпман з колегами відкрив коензим А (*коензим ацилювання, КоА, СоА*). Виділивши та встановивши структуру і синтезувавши СоА, Ф. Ліпман зрозумів, що саме АТР допомагає перетворити енергію своїх фосфатних зв'язків на інші, необхідні для організму форми хімічної енергії. Так, активація оцтової кислоти й інших карбонових кислот відбувається ензиматичним шляхом за участю АТР, що сприяє утворенню активної форми ацил-СоА з макроергічним зв'язком між ацильною групою та сіркою сульфгідрильної групи СоА. Це відкриття дало можливість зрозуміти, *яким чином неактивна форма оцтової кислоти активується і завдяки якій енергії утворюється лимонна кислота в циклі трикарбонових кислот Кребса*. Фактично Ф. Ліпман розшифрував перший етап перетворень у циклі Кребса.

Щоб зрозуміти важливість відкриття Ф. Ліпмана, необхідно знати будову і значення СоА. До складу СоА входить *пантотенова кислота* (вітамін B_3), *ADP* і β-*меркаптоетаноламін*, який має дуже важливу SH-групу, тому коензим А правильно треба писати СоА-SH. До цієї сульфгідрильної груп за участю АТР і приєднуються ацетильні та інші ацильні залишки з утворенням макроергічного зв'язку, наприклад CH3-CO~SCoA. Отже, коензим А бере участь у багатьох реакціях, до яких залучені не тільки ацетильні, а й будь-які ацильні групи. Перетворення вуглеводів, жирів (особливо жирних кислот) і значною мірою амінокислот пов'язане з СоА. Він необхідний для дії багатьох ензимів, одні з яких здійснюють перенесення ацильних груп до СоА від тіолових груп або від β-оксокислот, а інші — переносять ацильні групи від СоА до речовин, які не мають сірки.

Таким чином, функціонально активною групою СоА є кінцева сульфгідрильна група SH, *яка зазнає почергово ацилювання з утворенням ацил-СоА та деацилювання з вивільненням СоА*-SH. *Ацил-СоА має великий запас енергії; як і АТР, він належить до сполук із макроергічним зв'язком, завдяки якому відбувається багато реакцій синтезу й розщеплення біомолекул у живій клітині.*

І тому зрозуміло, чому Ф. Ліпмана відзначили Нобелівською премією з фізіології або медицини у 1953 р. «*за відкриття коензиму А і його значення для проміжних стадій метаболізму*» (разом з Г. Кребсом, який був нагороджений «*за відкриття циклу лимонної кислоти*»). У вітальному слові на честь їх нагородження *Ерік Хаммарстен* із Каролінського інституту зазначив: «*Це — визнання*

глибоких і значних досягнень у галузі досліджень функцій живої клітини». Звертаючись до Ф. Ліпмана, він продовжив: «*Ви подолали основні перешкоди, чітко продемонструвавши механізм широко розповсюдженої реакції і однозначно відкрили новий спосіб передачі енергії в клітині*».

У 1957 р. Ф. Ліпман став професором біохімії Рокфеллерівського університету, де займався дослідженням *карбамоїлфосфату*, *структури ракових клітин*, *гормону щитоподібної залози* і його ролі в регуляції обміну енергії в організмі, процесів у проміжних фазах метаболізму. Він був активним дослідником до останніх днів життя, хоча ще в 1970 р. отримав звання почесного професора Рокфеллерівського університету.

Фріц Ліпман пішов з життя 24 липня 1986 р. у Поускінсі (штат Нью-Йорк).

Ф. Ліпмана було нагороджено медаллю Карла Нойберга Американського товариства хіміків (1948), національною медаллю «За наукові досягнення» Національного наукового фонду (1966), а також він мав нагороду Міда Джонсона Американської академії педіатрії (1948). Він був почесним членом багатьох наукових товариств і почесним доктором університетів Парижа, Марселя, Чикаго і Копенгагена [46—50].

Аналізуючи наукові дослідження Ф. Ліпмана, зазначимо, що *найважливішим його досягненням є відкриття фактора ацетилювання (ацилювання), а саме — CoA*. Він розшифрував його структуру, показав його участь у циклі Кребса та встановив наявність і участь CoA в процесах ацетилювання в усіх тканинах тварин, рослин і мікроорганізмів. Ще дуже важливим є те, що саме *Ф. Ліпман ввів поняття про «багаті енергією фосфорні сполуки» і створив теорію накопичення та використання енергії в біохімічних процесах*. У 1948 р. Ф. Ліпман показав, що *динітрофенол* за дії на мітохондрії стимулює їх дихання, але інгібує спряжене з ним окисне фосфорилювання, тобто синтез ATP з ADP і фосфату.

Досягненням обох нобеліантів — Ганса Кребса і Фріца Ліпмана є те, що вони розшифрували основні метаболічні шляхи в організмі людини та тварин. Г.Кребсу належить уявлення про циклічність перетворення хімічних речовин у живих організмах і він відкрив два основних цикли — орнітиновий та лимонної кислоти. Завдяки працям цих двох корифеєв біохімії нині відомо, що цикл ди- та трикарбонових кислот (цикл лимонної кислоти, цикл Кребса) — це циклічна послідовність ензиматичних реакцій, внаслідок яких ацетил-SCoA — продукт основних видів метаболічного палива (вуглеводів, жирів, амінокислот), окиснюється до діоксиду вуглецю з утворенням атомів водню, які використовуються для відновлення первинних акцепторів дихального ланцюга мітохондрій — нікотинамідних або флавінових коензимів.

Отже, до початку 60-х років XX ст. було встановлено всі основні шляхи перетворення енергії в мітохондріях, бактеріях і рослинах. Однак *механізм окисного фосфорилювання* залишався нез'ясованим. Для встановлення механізму поєднання окиснення та фосфорилювання пропонувалося безліч гіпотез. Проте всі вони не задовольняли дослідників. Кроком вперед була «*хеміосмотична теорія*» перенесення біологічної енергії, запропонована *Пітером Мітчелом*.

У 1978 р. Нобелівську премію з хімії було присуджено англійському біохіміку *Пітеру Д. Мітчеллу «за внесок у розуміння процесу перенесення біологічної енергії на основі створеної ним хеміосматичної теорії* (*for his contribution to the understanding of biological energy transfer through the formulation of the chemiosmotic theory*)».

ПІТЕР МІТЧЕЛЛ

Мітчелл Пітер Денніс (англ. *Mitchell Piter Dennis*) народився 29 вересня 1920 р. у Мітчемі (графство Суррей) у родині службовця Кристофера Гіббса і Беатрис Дороті (Теплан) Мітчелл.

Він закінчив Королівський коледж у Тонтоні, де навчався у відомого математика і музиканта Ч.Л. Уайтмана, а в 1943 р. — коледж у Кембриджі, де вивчав хімію, фізику, математику і біохімію та отримав ступінь бакалавра з відзнакою. В тому самому році він почав готувати докторську дисертацію з біохімії під керівництвом Дж. Ф. Даніеллі в лабораторії, яка займалась дослідженням перенесення біохімічних речовин крізь клітинні мембрани, і водночас продовжував вивчати біохімію. Дж. Даніеллі створив концепцію про молекулярну будову біологічних мембран. Після від'їзду Дж. Даніеллі з Кембриджу П. Мітчелл перейшов до групи з вивчення ензимів, яку очолював відомий ензимолог М. Диксон. У 1950 р. П. Мітчеллу присудили докторський ступінь за дисертацію про механізм дії *пеніциліну*, відкритий *Александром Флемінгом* у 1922 р. (нобелівський лауреат з фізіології та медицини, 1945), лекції якого П. Мітчелл слухав ще студентом.

Пітер Мітчелл (1920—1992)

Того самого 1950 р. П. Мітчелла призначили демонстратором на біохімічній кафедрі в Кембриджі. Тут він досліджував *механізм окисного фосфорилювання* (цим шляхом утворюється 95 % енергії в аеробних організмах) і подібний до нього *механізм фотосинтетичного фосфорилювання в рослинах.*

Яким чином живі організми генерують енергію? Як вони її перетворюють і як використовують для переміщення в просторі та для біосинтезу органічних сполук? Ці питання цікавили не тільки П. Мітчелла. На той час (1955) біохіміки всього світу вже визнали *теорію Фріца Ліпмана* (про нього йшлося вище), що *аденозинтрифосфат (АТР) є універсальним джерелом енергії в живих організмах.* Саме АТР підтримує різні енергетичні процеси завдяки своїм багатим енергією двофосфорильним зв'язкам. А шведський біохімік Аксель Хуго Теодор Теорелль (*Theorell*; 06.07.1903—15.08.1982 рр.) — нобелівський лауреат з фізіології та медицини «*за відкриття, що стосуються природи та механізму дії окиснювальних ензимів*» за 1955 р. — у нобелівській лекції зазначив, що кінцевою метою досліджень ензимів є «*...заповнення зіяючої безодні між біохімією та морфологією*».

Отже, в середині XX ст. вже чітко вимальовувались контури *біоенергетики — науки про шляхи та способи перетворення енергії в біологічних системах.* Залишалось тільки відпрацювати деталі цього процесу на молекулярному рівні.

Але це завдання було надзвичайно складним, оскільки ензими окиснювального та фотосинтетичного фосфорилювання тісно пов'язані з *ліпопротеїнами мембран мітохондрій і хлоропластів.* Цей факт не давав можливості проводити експерименти й аналізувати їх результати у водних розчинах.

П. Мітчелл не досліджував мітохондрії спеціально. Він вивчав метаболічні процеси, які відбуваються в *цитоплазматичних мембранах бактерій* під час перенесення речовин. Ця тема зацікавила його ще тоді, коли він був студентом у Кембриджі. П. Мітчелл знав, що *поєднання окиснення та фосфорилювання відбувається лише в препаратах, де збережено мембранну структуру. Це свідчить про те, що мембрана має бути частиною апарату окисного фосфорилювання. Дихальні ензими* відрізняються від ензимів бродіння тим, що вони не «плавають» у клітинному соку, а прикріплені до мембран. Перед П. Мітчеллом постало питання: для чого дихальним ензимам потрібна мембрана. Відповідь на нього знайшли в 1958 р. П. Мітчелл і його колега Дженіфер Мойл. Вони дійшли висновку, що *ензиматичні реакції здебільшого є векторними.* Далі вони припустили, що напрямок таких реакцій можна з'ясувати лише тоді, коли ензими включені в мембрану. Фактично ензимний комплекс може бути так сильно зв'язаний з мембраною, що «маршрут» реакції перетне цей бар'єр, одночасно змінюючи дислокацію хімічних груп. Вони назвали цей процес «*векторним метаболізмом*». У 1961 р. П. Мітчелл опублікував у журналі «Nature» невелику статтю, де висловив свої теоретичні припущення (*гіпотезу*) *відносно ролі мембран у біохімічних процесах.* Минуть роки і ця стаття стане самою цитованою працею з біоенергетики.

До П. Мітчелла біохіміки, які досліджували мембранні ензими, вважали мембрани просто штативом, до якого ці ензими приєднуються, а ензиматичні процеси відбуваються на поверхні, а не«всередині» мембрани. П. Мітчелл висунув нову гіпотезу для пояснення проблеми об'єднання енергії в механізмах окисного і фотосинтетичного фосфорилювання. Він припустив, що ланцюг реакцій, які відбуваються в процесі дихання, є послідовністю носіїв водню й електронів, які змінюють один одного. Ці протеїнові носії організовані у внутрішній мембрані мітохондрій і вони переносять протони крізь мембрану. *Оскільки мітохондріальна мембрана унеможливлює пасивний тік протонів, то в процесі дихання генерується електрохімічна різниця потенціалів — мембранний потенціал* ($\Delta\varphi$). *За його дії протони із зовнішньої поверхні мембрани прагнуть повернутися назад у внутрішньоклітинний простір. Саме цей потік протонів, який можна порівняти з потоком електронів у батареї, і виконує всю роботу.*

Згідно з гіпотезою П. Мітчелла *окиснення* та *фосфорилювання* можуть *відбуватись тільки за збереження мембранних структур мітохондрій.* Основне положення цієї гіпотези полягає в тому, що в процесі функціонування електронно-транспортних ланцюгів на мембранах виникає градієнт електрохімічного потенціалу іонів водню ($\Delta\mu H^+$), який є рушійною силою процесу фосфорилювання ADP з утворенням ATP. *Таким чином, цей механізм енергетичного поєднання включає в себе стадію перетворення хімічної енергії окиснення на* $\Delta\mu H^+$ *з наступним перетворенням її на хімічну енергію ATP.* Величина $\Delta\mu H^+$ складається з двох компонентів — електричного (різниця електричних потенціалів $\Delta\varphi$) і осмотичного (концентраційного — ΔpH). Тому П. Мітчелл назвав свою схему «*хеміосмотичною гіпотезою*». Згідно з його гіпотезою взагалі не потрібні ніякі спеціальні продукти, загальні для реакцій дихання і фосфорилювання. Ланцюгом, що об'єдную ці два процеси, є водневі іони. Схематично це має такий вигляд:

хімічна енергія окиснення ↔ $\Delta\mu H^+$ ↔ *хімічна енергія високоенергетичних сполук (у першу чергу АТР).*

Зрозуміло, що за гіпотезою П. Мітчелла необхідна наявність двох просторів, які розділені мембраною, крізь яку не проходять іони H^+ і OH^-. У разі порушення властивостей мембрани, наприклад, за підвищення її проникності для H^+, тобто протонної провідності, має знижуватись синтез АТР. Унасідок підвищення проникності для H^+ під час дихання зростає його сила, оскільки перенесення водню й електронів зумовлює не накопичення енергії, а перетворення всієї енергії дихання на теплоту. Так П. Мітчелл пояснив дію речовин, що роз'єднують дихання та фосфорилювання.

Багато біохіміків і біоенергетиків того часу не прийняли хеміосмотичну гіпотезу П. Мітчелла, оскільки в ній був відсутній зв'язок між ланцюгом хімічних реакцій, які відбуваються в процесі дихання, та ензимом АТР. Крім того, гіпотеза була теоретичною і потребувала практичних підтверджень.

П. Мітчелл дійсно не ставив дослідів для перевірки своєї концепції. Він захворів, полишив роботу в університеті і в 1968 р. виїхав з Единбурга. На кошти, отримані від спадку, купив ферму на півдні Англії в декількох милях від маленького містечка Бодмін та зайнявся господарством: відновив будинок британського адмірала, де до того проживала родина Глінна, і це стало його родинним Глінн-Хаусом. Він видужав, зацікавився науковими новинками і з'ясував, що науковці світу не помітили чи забули його *хеміосмотичну гіпотезу*.

Для підтвердження існування хеміосмотичного механізму П. Мітчелл створив у Глінн-Хаусі наукову лабораторію з виразною назвою «Глінновські лабораторії для стимулювання фундаментальних біологічних досліджень», в якій, крім нього, працювала його давня колега Дженіфер Мойл.

Завданням створеної П. Мітчеллом лабораторії стало підтвердити практично запропоновану ним концепцію. Для її доведення було розроблено нові методи дослідження й за їх допомогою П. Мітчелл і Дж. Мойл практично перевірили теоретичні висновки гіпотези. Експерименти дали змогу П. Мітчеллу з'ясувати *тонку структуру мітохондріальної мембрани і підтвердити існування в ній ланцюга ензимів, які переносять електрони та протони. Було також безпосередньо виміряно мембранну різницю потенціалів.*

Результати експериментальних досліджень, що підтверджують існування хеміосмотичного механізму на мембранах, П. Мітчелл описав у невеликій книзі, яку він сам набрав на ротапринті. Так з'явилась брошура в сірій обкладинці з написом «Х*еміосмотичне спряження в окисному та фотосинтетичному фосфорилюванні*» (1966, Glynn Reseach LTD, Bodmin, Cornwell, England). Цю працю П. Мітчелл розіслав відомим біоенергетикам і біохімікам усього світу.

І вже в 1970 р. на підтримку створеної П. Мітчеллом концепції виступило декілька відомих вчених Великої Британії, США й СРСР. Чаша вагів схилилась на користь гіпотези П. Мітчелла.

А в 1978 р. Пітеру Д. Мітчеллу було присуджено Нобелівську премію з хімії «*за зроблений внесок у розуміння процесу перенесення біологічної енергії на основі створеної ним хеміосмотичної теорії*» [51]. У вступному слові від Шведської королівської академії наук шведський біохімік *Ларс Ернстер* (*Lars Ernster*) звер-

нув увагу на дискусію, яку спричинила запропонована теорія П. Мітчелла, підкресливши вагомість наведених у відповідь експериментальних даних. У кінці промови він вказав на практичне значення роботи нобеліанта: «*Хлоропласти, мітохондрії та бактерії можна розглядати як сонячні та паливні елементи, що утворюються природним шляхом і можуть слугувати як модель, а в майбутньому, ймовірно, і "будівельним матеріалом" для енергетичної технології*».

Відомий російський біоенергетик В.П. Скулачьов у праці «*Розповіді про біоенергетику*» (1985) висловив думку про те, що П. Мітчелл отримав Нобелівську премію «*...всупереч традиції цих премій, не за відкриття якогось нового явища, а за передбачення його існування*» [52]. Але ж він це довів своїми експериментами!

Працював П. Мітчелл багато, але знаходив час і для участі в громадському житті: він боровся за збереження природних ресурсів, відновлював будинки середньовіччя в Англії. З роками його дедалі більше цікавили питання відносин між людьми (а не взаємовідношення молекул) у цивілізованому світі, особливо питання придушення індивідуальності в людському середовищі. На власному досвіді він дійшов висновку, що невеликі наукові установи більш живучі та ефективніші. Він багато думав над тим, як можна поліпшити відносини та кооперацію між вільними особистостями.

Крім Нобелівської премії П. Мітчелл удостоєний численних нагород, зокрема медалі Коплі Лондонського королівського товариства. Він був членом багатьох наукових товариств і мав почесні звання університетів Берліна, Чикаго, Ліверпуля, Единбурга та інших.

Отже, основний напрям наукових робіт Пітера Мітчелла пов'язаний з дослідженням біохімічних реакцій у певних внутрішньоклітинних органелах. Його можна вважати *фундатором нового напряму в біохімії — векторного метаболізму та автором нової хеміосмотичної теорії біоенергетики, яка пояснювала природу спряження окиснення і фосфорилювання в клітині. Він першим показав, що процеси дихання і фосфорилювання локалізовані в біологічній мембрані та пов'язані між собою через електрохімічний потенціал іонів водню.* Наразі хеміосмотичну теорію П. Мітчелла наведено в усіх підручниках з біохімії.

Пішов з життя П. Мітчелл 10 квітня 1992 р. у Бодміні [53, 54].

У розвитку будь-якої науки, зокрема й біохімії, є періоди порівняно спокійного накопичення фактів, перевірки гіпотез, обговорення проблем. Але час від часу ці періоди перериваються осяянням одного або одночасно декількох вчених, унаслідок цього з'являються нові ідеї та теорії. Саме таким періодом у розвитку біохімічної науки є перша половина XX ст., коли було встановлено основні метаболічні шляхи перетворення хімічних речовин у живих клітинах.

Це, в першу чергу, стосується роботи Ганса Кребса, який у 1932 р. відкрив цикл утворення сечової кислоти, так званий *орнітиновий цикл,* а в 1937 р. — *цикл ди- та трикарбонових кислот*, відомий нині всім біохімікам як *цикл Кребса* — цикл, який поєднав окиснення всіх органічних сполук у живому організмі — вуглеводів, ліпідів і протеїнів.

Доповненням до робіт Г. Кребса були роботи Фріца Ліпмана, який у 1945 р. відкрив *коензим А* і встановив його роль в активації органічних сполук. Тоді і стало зрозумілим, як неактивна *оцтова кислота* та інші органічні кис-

лоти активуються в живому організмі, щоб окиснитися в *циклі трикарбонових кислот* (циклі Кребса).

Величезну роботу провели подружжя Корі — Герті і Карл, а також їхні учні та послідовники (зокрема Луїс Лелуар) для з'ясування *механізму перетворення* (синтезу та розщеплення) *глікогену в печінці і м'язах* (1936—1944).

Найзначнішим досягненням в дослідженні обміну вуглеводів було встановлення Ерлом Сазерлендом у 1958 р. *регуляції активності ензимів*, які беруть участь у перетворенні хімічних сполук (на прикладі *фосфорилази*) *за участю ензиму аденілатциклази та циклічної АМР*.

Завершенням досліджень метаболізму вуглеводів стали неперевершені роботи Пітера Мітчелла, наукові інтереси якого стосувалися вивчення спрямованості біохімічних реакцій у просторі відносно певних внутрішньоклітинних орієнтирів і створення *хеміосмотичної теорії окиснювального фосфорилювання, на якій ґрунтується біоенергетика*.

І, насамкінець, наголосимо, що всі ці відкриття сталися не на порожньому місці, не з нуля. Роботам вказаних корифеїв передувала напружена праця багатьох попередніх науковців, зокрема й нобелівських лауреатів, таких як Едуард Бухнер, Артур Гарден, Ганс фон Ейлер-Хельпін, Альберт Сент-Дьйорді та інших, про яких йшлося раніше.

THE NOBEL LAUREATES' CONTRIBUTIONS TO THE STUDY OF CARBOHYDRATE METABOLISM AND ITS REGULATION: A. HARDEN, H. EULER-CHELPIN, G.T. CORI, C.F. CORI, B. HOUSSAY, E. SUTHERLAND, L.F. LELOIR, H. KREBS, F. LIPMANN, P. MITCHELL

R.P. Vynogradova, V.M. Danilova, S.V. Komisarenko

Carbohydrate metabolism is a complex and multi-stage process. Many scientists (biochemists, physiologists, chemists) worked on deciphering this process, but only some of them were awarded the Nobel Prize. Thus, in the early XXth century, the work of A. Garden and H. Euler-Chelpin with yeast cells revealed that the conversion of carbohydrates (sugars) into end products occurs in living cells in several steps with the involvement of enzymes and that this conversion requires the presence of phosphoric acid residue. These studies were the beginning of exploring the chemical reactions (the reactions of intermediate metabolism) that are fundamentals for the vital functions of cells. In 1932, Hans Krebs discovered the ornithine cycle, a sequence of chemical reactions, in which the end product of nitrogen metabolism, urea, is formed in the liver of animals. The apogee of his research was the discovery of tri- and dicarboxylic acid cycle, which combines the oxidation of almost all organic compounds in living organisms. Fritz Lipmann, who in 1945 discovered coenzyme A and identified its role in the activation of organic compounds, furthered the works of H. Krebs. At the time, it became clear how inactive acetic acid and other organic acids are activated in living organisms to be oxidized in the tricarboxylic acid cycle. The great work was done by the spouses Gerty and Carl Cori, and Bernardo Houssay, as well as their students and followers, in particular, Luis Leloir to clarify the mechanism of conversion (synthesis and breakdown) of glycogen in the liver and muscles. The peak of studying the carbohydrate metabolism was the research of Earl Sutherland who in 1958 revealed the regulation of the activity of enzymes involved in the conversion of chemical compounds (the example — phosphorylase), with the participation of the adenylate cyclase enzyme and c-AMP. The discovery of c-AMR established one of the fundamental

principles of almost all vital processes. And the culmination of research on carbohydrate metabolism was the unrivaled works of Peter Mitchell, who studied the course of biochemical reactions in cells relative to certain intracellular «landmarks» and who formulated the chemiosmotic theory of oxidative phosphorylation that underlies bioenergetics.

Keywords: *carbohydrate metabolism, yeast cells, Krebs cycle, glycogen synthesis and breakdown, phosphorylase, oxidative phosphorylation theory.*

REFERENCES

1. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of the Nobel Prize laureates to the development of dynamic biochemistry and bioenergetics. E. Buchner, A. Kossel, R. Willstätter, O. Meyerhof, A. Hill, O. Warburg, A. Szent-Györgyi. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 1. P. 108—126.

2. Harden Artur. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 310—312.

3. Artur Harden. Regime of access : https://biography.com.ua/nauka/artur-garden.html.

4. Artur Harden. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki.

5. Harden Artur. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 161—162.

6. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Harden Artur. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 112.

7. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Scientific investigations of the Nobel prize winner Emil Fischer as a launching pad for the development of biochemistry: a brief overview. *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90, N 4. P. 135—142.

8. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of the Nobel prize laureates to the development of knowledge of vitamin biochemistry: Ch. Eijkman, F.G. Hopkins, A. Szent-Györgyi, W. Haworth, P. Karrer, R. Kuhn, H. Dam, E.A. Doisy, G. Minot, W. Murphy, G. Whipple, D. Hodgkin, R. Woodward. *Ukr Biochem. J.* 2018. Vol. 91, N 4. P. 95—117.

9. Hans von Euler-Chelpin. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 799—801.

10. Hans Karl August Simon von Euler-Chelpin. Regime of access : http://www.krugosvet/ru/node/41406.

11. Nozdrachev A.D., Polyakov E.L., Zelenin K.N. Vivos voco! Nobel Prizes in Chemistry for 100 Years. St. Petersburg, Humanism, 2003.

12. Nobel laureates: Hans von Euler-Chelpin. A failed painter or an accomplished chemist. Regime of access : https://news.rambler.ru/other/38487933-nobelevskie-laureaty-hans-fon-eyler-helpin-nesostoyavshiysya-zhivopisets-ili-sostoyavshiysya-himik.

13. Hans Karl August Simon von Euler-Chelpin. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 721—722.

14. Volkov V.A., Vonsky E.V., Kuznetsova G.I. Hans Karl August Simon von Euler-Chelpin. Prominent chemists of the world: Biographical reference book; ed. V.I. Kuznetsova. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 519.

15. Cori Gerty Theresa. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 574—576.

16. Gerty Cori. Regime of access : http://cyclowiki.org/wiki.

17. Gerty Cori is a Nobel Prize winner in physiology or medicine in 1947. Regime of access : https://feminism.livejournal.com/502541.html.

18. Cori Gerty Theresa. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dщ9umka, 1984. P. 322.

19. Cori G.T., Colowick S.P., Cori C.F. The activity of the phosphorilating enzyme in muscle extracts. *J. Biol. Chem.* 1939. Vol. 127. P. 771—782.

20. Green A.A., Cori G.T. Crystalline muscle Phosphorylase. I. Preparation, properties and molecular weight. *J. Biol. Chem.* 1943. Vol. 151. P. 21—29.

21. Cori Carl Ferdinand. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 576—579.

22. Carl Ferdinand Cori. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki.
23. Cori Carl Ferdinand. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki.
24. Cori Carl Ferdinand. Regime of access : http://n-t.ru/nl/mf/corik.htm.
25. Carl F. Cori (1896–1984) Medical Journeys. Regime of access : http://beckerxhibits.wustl.edu/mig/bios/coric.html.
26. Houssay Bernardo. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 539—542.
27. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1947/houssay/biographical.
28. Sutherland Earl. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 342—345.
26. Regime of access : http://krugosvet.ru/enc/medicina/Cazerlend Erl Uulbur. html.
30. Robison G.A., Butcher R.W., Sutherland E.W. Cyclic AMP. Academic Press, New York, 1971. 544 p.
31. Sutherland E.W. Studies on the Mechanism of Hormone Action. *Science*. 1972. Vol. 177, N 4047. P. 401—408.
32. Regime of access : http://Calder.med.miami.edu/Sutherland/biography.htm.
33. Carl F. Cori, Eael W. Sutherland, 1915—1974. National Academy of Sciences, Washington D.C., 1978. 350 p.
34. Leloir Luis Federico. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 675—677.
35. Leloir Luis Federico (1906—1987). Argentinean doctor and biochemist. Regime of access : https://biography.wikipeading.ru/165074.
36. Luis F. Leloir (1906—1987). Regime of access : http://beckerexhibits.wustl.edu/mig/bios/leloir.html.
37. Luis F. Leloir (1906—1987). Regime of access : https://hsl.lib.unc.edu/specialcollections/bios/leloir.
38. Regime of access : http://www.biblioteca.anm.edu.ar/leloir.htm.
39. Krebs Hans. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 601—603.
40. Krebs H.A., Henseleit K. Untersuchungen uber die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Hoppe-Seylerrs Zeitschrift für physiologische Chemie*. 1932. Vol. 210, N 1—2. P. 33—66.
41. Krebs H.A., Johnson W.A. Metabolism of ketonik acids in animal tissues. *Biochem. J*. 1937. Vol. 31, N 4. P. 645—660.
42. Krebs H.A., Johnson W.A. The role of citric acid in intermetiate metabolism in animal tissues. *Enzymologia*. 1937. Vol. 4. P. 148—156.
43. Krebs Hans Adolf. Regime of access : http://www.krugosvet.ru/enc/istoriya/krebs-hans-adolf.
44. Krebs Hans Adolf. Regime of access : http://n-t ru/nl/krebs.htm.
45. Krebs Hans Adolf. Regime of access : http://cyclowiki.org/wiki/hans-adolf-krebs.
46. Lippmann Fritz. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 705—708.
47. Lipmann F., Kaplan N.O., Novelli G.D., Tuttle L.C., Guirand B.M. Isolation of coenzyme A. *J. Biol. Chem*. 1950. Vol. 186, N 1. P. 235—243.
48. Baddiley J., Thain E.M., Novelli G.D., Lipmann F. Structure of coenzyme A. *Nature*. 1953. Vol. 171, N 4341. P. 76.
49. Fritz Albert Lippmann. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki.
50. Regime of access : http://www.krugosvet.ru/medicina/LIPMAN ALBERT.html.
51. Mitchell Piter Dennis. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 93—96.
52. Skulachev V.P. Mitchell and his guess. In Bioenergy stories. M.: Molodaya Gvardiya, 1985. Regime of access : http://vivovoco.astronet/ru//VV/Papers Mitchell/History/htm.
53. Regime of access : http://www.krugosvet.ru/enc/nauka i technika/himiya/Mitchell Piter Dennis.html.
54. Regime of access : https://www.nobelsprize.org/prizes/chemistry/1978/mitchell/biographical/Piter Mitchell.

БРОУНІВСЬКИЙ РУХ, ЕЛЕКТРОФОРЕЗ, ХРОМАТОГРАФІЯ ТА МАКРОМОЛЕКУЛЯРНА ХІМІЯ: ЯК ВСЕ ЦЕ ОБ'ЄДНУЄ НОБЕЛІВСЬКИХ ЛАУРЕАТІВ ПЕРШОЇ ПОЛОВИНИ XX СТ. — Т. СВЕДБЕРГА, А. ТІЗЕЛІУСА, Р. СІНГА І Г. ШТАУДІНГЕРА

М.В. Григор'єва, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

Важко уявити як би розвивалися хімія, біологія і медицина без таких аналітичних методів дослідження як ультрацентрифугування, електрофорез та хроматографія. Наразі інноваційні високотехнологічні лабораторні ультрацентрифуги широко застосовуються в різних напрямах наукової та практичної діяльності, зокрема в колоїдній хімії, біохімічному аналізі, вірусології, клінічній діагностиці, фармації, нанотехнології та ін. Електрофорез із високою ймовірністю дає змогу виявляти протеїнові аномалії, а тому широко використовується в багатьох медичних центрах різних країн для діагностики інфекційнозапальних захворювань, генетичних та імунних порушень, злоякісних пухлин тощо. Хроматографія широко застосовується для біохімічних досліджень, контролю лікарських препаратів, харчових продуктів. Але як виникли ці методи досліджень, що мали величезний вплив на розвиток не лише різних галузей науки, а й багатьох напрямів людської діяльності? Хто були ті особистості, роботи яких стали піонерськими та вплинули на дослідження наступних поколінь науковців? Спробуємо відповісти на ці питання.

Ключові слова: *броунівський рух, електрофорез, хроматографія, макромолекулярна хімія, Т. Сведберг, А. Тізеліус, Р. Сінг, Г. Штаудінгер.*

1925—1926 роки виявилися тріумфальними у розвитку колоїдної хімії та теорії броунівського руху. Троє вчених — *Ріхард Зігман*, *Жан Батист Перрен* і *Теодор Сведберг* — одержали Нобелівські премії з фізики та хімії майже за одне й те саме. Вони підтвердили теорію броунівського руху. З цих трьох лауреатів про *Теодора Сведберга* знають мабуть менше, ніж про інших. Навіть у рідній шведській Вікіпедії його біографія займає всього чотири маленьких абзаци [1]. Спробуємо детальніше висвітлити найважливіші факти його життя та творчої діяльності.

ТЕОДОР СВЕДБЕРГ

Шведський хімік, нобелівський лауреат з хімії 1926 року «*за роботу в галузі дисперсних систем*» **Теодор Сведберг** (*Theodor Svedberg*) народився 30 серпня 1884 р. у маєтку Флеранг (Швеція). Він був єдиною дитиною *Еліаса* та *Августи (Алстермарк) Сведберг.* Батько хлопчика, інженер і керівник місцевого чавуноливарного заводу, часто брав його із собою на заміські прогулянки, намагаючись прищепити йому інтерес до природи і розвивати дослідницьку допитливість, яку згодом юний Теодор задовольняв під час експериментів у маленькій лабораторії заводу. Навчаючись в Каролінській школі (Еребу), Сведберг

захопився фізикою, хімією та біологією. Понад усе його захоплювала ботаніка, але він вирішив стати хіміком, вважаючи, що це допоможе глибше розуміти біологічні процеси.

Теодор Сведберг
(1884—1971)

У січні 1904 р. Сведберг вступив до Уппсальського університету, в якому провів майже все своє життя. Вчився він дуже наполегливо і виявив неабиякі здібності до природничих наук. У цей час Сведберг починає вивчати колоїдні системи, знайомиться з «Теоретичною хімією» В. Нернста, а також із працями Р. Зігмонді «Природа колоїдів» і Г. Бредіга «Неорганічні ензими». Він вважав, що вивчення колоїдних систем допоможе в розумінні процесів, які відбуваються в живих організмах [2]. У 1905 р. Сведберг здобув ступінь бакалавра, а через два роки йому присудили ступінь доктора філософії за дисертацію *з вивчення колоїдних систем*, в якій він описав новий спосіб одержання відносно чистих колоїдних розчинів металів із застосуванням металевих електродів, розташованих у рідині [3]. *Викладені в цій дисертації докази реального існування молекул покладено в основу сучасних молекулярно-кінетичних уявлень.*

У 1912 р. Т. Сведберг став першим в Уппсальському університеті викладачем фізичної хімії й залишався на цій роботі впродовж 36 років. У 1923 р. його запросили до Вісконсинського університету, де він приступив до створення *оптичної центрифуги*, в якій осадження частинок фіксувалося за допомогою фотографування. Виявилось, що частинки переміщувались не тільки тому, що осаджувались, а й під впливом конвекційних струмів, що заважало встановити їх розміри. Тоді Сведберг сконструював *клиноподібну кювету* і разом із *Т. Ринде* використав її в дослідженнях, результатом яких було осадження частинок без конвекції (1924). Через рік Сведберг встановив, що *біологічні макромолекули (протеїни)* можуть випадати з розчину в осад і що молекули досліджуваного протеїну є монодисперсними на відміну від металевих часток колоїдних систем, які є полідисперсними, а також показав, що *за швидкістю осадження протеїну можна визначити розмір його молекул* [4]. Унаслідок цієї роботи центрифуга стала головним інструментом біохімічних досліджень, а *ім'ям Сведберга названо одиницю вимірювання відношення швидкості седиментації до центробіжного прискорення — сведберг*: 1 сведберг = 10^{-13} с; позначається великою латинською літерою **S** (приклад: *протеїн* 7 S, *протеїн* 22 S).

У 1926 р. Т. Сведбергу присуджено Нобелівську премію з хімії «*за роботи в галузі дисперсних систем*» [4]. Після цього шведський уряд створив для Сведберга нову лабораторію фізичної хімії, де він працював над удосконаленням конструкції центрифуги впродовж 15 років.

Подальшим етапом його досліджень став *аналіз седиментаційних характеристик понад ста (100) протеїнів* (у тому числі *гемоглобіну* і *гемоціаніту*). Він встановив, що молекули всіх досліджуваних протеїнів сферичні, монодисперсні й мають велику молекулярну масу.

Сведберг цікавився і явищем радіоактивності. Результати його спільної з *Даніелем Стремгольмом* роботи довели, що деякі радіоактивні елементи хімічно не розрізняються між собою й займають однакове місце в Періодичній системі хімічних елементів Д.І. Менделєєва. Після відкриття *Джеймсом Чедвіком* нейтрона (1932) *Сведберг сконструював генератор нейтронів* для вивчення впливу опромінення нейтронами й одержання радіоактивних ізотопів як хімічних, так і біологічних індикаторів. Після виходу на пенсію (1949) Т. Сведберг, завдяки своїм заслугам, залишився директором Інституту ядерної хімії ім. Густава Вернера, де ще 22 роки працював над створенням *синхроциклотрона.* Ці роботи знайшли певне застосування в геніальних дослідженнях нашого славетного земляка, нобелівського лауреата в галузі фізики за 1992 р. — *Жоржа Шарпака* [5].

Сведберг багато зробив *для зміцнення зв'язку між академічною наукою та практичним застосуванням наукових досліджень.* Під час Другої світової війни Сведберг домігся розгортання в Швеції *виробництва синтетичного каучуку* [6].

Т. Сведберу було присуджено чимало нагород — медаль Берцеліуса Шведської королівської академії наук (1944), медаль Франкліна Франклінського інституту (1949), медаль Адольфа Густава Уппсальського університету (1964). Він був членом Шведської академії наук.

Помер Т. Сведберг 25 лютого 1971 р. в Еребрі (Швеція).

Роботи Сведберга відкрили для природознавців принципово нові можливості в дослідженнях, зокрема привернули увагу до ультрацентрифугування. Ультрацентрифуга Сведберга (в різних модифікаціях) стала найважливішим обладнанням для вивчення високомолекулярних сполук.

АРНЕ ТІЗЕЛІУС

Шведський біохімік, нобелівський лауреат із хімії 1948 р. «*за дослідження електрофорезу, адсорбційного аналізу....*», **Арне Вільгельм Каурін Тізеліус** (*Tiselius, Arne Vilhelm Kaurin*) народився 10 серпня 1902 р. у Стокгольмі. Його батько, *Арне Ханс Абрахам Йісон Тізеліус*, отримав ступінь з математики в Уппсальському університеті, а мати, *Роза Каурін*, була дочкою священика. Прізвище *Тізеліус* у Швеції дуже славетне; вихідці з цієї сім'ї були відомі з XVII ст. як священнослужителі й вчені, часом поєднуючи цю діяльність.

Коли Арне виповнилося чотири роки, його батько помер і сім'я переїхала до Гетеборга, де жили дідусь і бабуся. Дідусь, *Нільс Абрахам Йохансен,* був директором гімназії, в якій після школи вчився Арне. У гімназії відбулася доленосна зустріч Арне з учителем хімії та біології *Людвигом Йоханссоном*, який, розгледівши в хлопця талант, всіляко заохочував і підтримував його і навіть видав йому ключі від шкільної лабораторії з правом робити там все, що заманеться.

Після закінчення гімназії для продовження навчання Тізеліус вибрав, можливо, найкращий для себе варіант, який був на той момент, — Уппсальський університет. Він закінчив його в 1925 р. і залишився там працювати разом з кращим фізико-хіміком Швеції того часу — *Теодором Сведбергом*, який через рік став лауреатом Нобелівської премії. Новий наставник Тізеліуса Т. Сведберг, як вже зазначалося, вивчав колоїдну хімію і першим застосував центри-

фуги для дослідження протеїнів, намагаючись розділити їх за розміром.

Арне Тізеліус (1902—1971)

Саме в той час, коли до нього прийшов Тізеліус, Сведберг почав займатися ще й *електрофорезом* — процесом руху колоїдних частинок у розчині під впливом зовнішнього електричного поля. Він припустив, що за рахунок різних форм і розмірів протеїни будуть рухатися з різною швидкістю і це дасть змогу розділити компоненти розчину на молекулярному рівні.

Але сталося все не так. На практиці конвекційні потоки дуже заважали розподілу протеїнів, сам процес розподілу забирав багато часу, тому Сведберг доручив зайнятися цими дослідженнями своєму талановитому учню. Тізеліус за 13 років роботи настільки поліпшив техніку електрофорезу, що розділив такі протеїни, які не міг розділити Т. Сведберг із використанням тільки одного методу — центрифугування [7, 8]. Згодом А. Тізеліус (1926) описав прилад для електрофорезу з використанням U-подібної трубки з кварцу, яка давала змогу завдяки флуоресценції яєчного альбуміну в ультрафіолетовому світлі визначати межі рухливості протеїну [9]. Пізніше, в 1930 р., йому вдається розділити *фікоеритрин* та *легкий ланцюг імуноглобуліну* з молекулярною масою 22—24 кДа, так званий протеїн Бенса Джонса (*Bence Jones*), та захистити докторську дисертацію на тему «*Рухомо-граничний метод вивчення електрофорезу протеїнів*» (*«The moving-boundary method of studying the electrophoresis of proteins»*) [10]. Знаковою подією 1930 р. для Тізеліуса також було його одруження з Інгрид Маргарет, яка згодом народила двох дітей — Єву і Пера.

Отримавши ступінь доктора наук, А. Тізеліус не міг продовжувати роботу з біологічними матеріалами через відсутність на той час у Швеції академічних кафедр із біохімії. Однак в Уппсальському університеті була вільна позиція на кафедрі з неорганічної хімії. Для того щоб бути привабливішим кандидатом на цю посаду, Тізеліус скоригував свої наукові інтереси і почав працювати з *кристалами цеолітів*. Виявилося, що ці мінерали можуть утворювати регулярні структури, здатні як молекулярні сита розділяти молекули за їхнім розміром.

Згодом А. Тізеліус переїхав до Принстонського університету (США) в лабораторію С. Тейлора, в якій вивчав явища дифузії. З вересня 1934 р. до серпня 1935 р. Тізеліус отримував стипендію Фонду Рокфеллера на навчання. *У ці роки Тізеліус опублікував низку праць щодо дифузії та адсорбції в природних цеолітах.* У Принстоні Тізеліус продовжив роботу з електрофорезу. У 1936 р. він залишив Сполучені Штати з планами ґрунтовного вивчення причин помилок в електрофорезі і, повернувшись до Швеції, змінив форму електрофоретичної U-трубки на вузькі скляні секції. За його розрахунками за їх нової форми результативніше усуватиметься теплота, яка виробляється під час проходження електричного струму, і це, в свою чергу, приведе до поліпшення роздільної здатності. Для підтвердження цієї ідеї Тізеліус через свій апарат провів

зразок діалізованої в буферному розчині кінської сироватки. За дві години сироватка крові розділилася на чотири смуги, які були ідентифіковані як *альбумін* та *альфа-*, *бета-* та *гамма-глобуліни.* Такий чіткий розподіл було здійснено вперше.

Цікавим є той факт, що працю, присвячену цій важливій роботі, Тізеліус подав до біохімічного журналу, де її було відхилено як занадто «фізичну». Стаття з'явилася в «*Transactions of the Faraday Society*» [11] і відразу отримала позитивну підтримку вчених усього світу [12]. Адже відкриття *гамма-глобулінів підштовхнуло науковців до подальшого вивчення імунітету та його розуміння.*

Експериментальні роботи А. Тізеліуса набули широкого застосування в медицині. *Так, електрофорез використовується в клінічних лабораторіях для аналізу сироватки крові, сечі та спинномозкової рідини; під час діагностики раку, наприклад мієломи, автоімунних захворювань, захворювань нирок і гемоглобінопатій. Нині електрофорез є також фізіотерапевтичним методом лікування та профілактики багатьох захворювань.*

Після такої титанічної роботи авторитет Тізеліуса зріс настільки, що спеціально для нього в Швеції створили посаду — професор біохімії — лише для того, аби талановитий вчений працював у себе вдома і нікуди не їздив.

Основний напрям наукових досліджень Тізеліуса змінився під час Другої світової війни; ці зміни стосувалися всієї Швеції, незважаючи на її нейтральний статус. Під час війни в його лабораторії, враховуючи досвід роботи співробітників із протеїнами, займалися *розробкою методу сублімаційної сушки плазми крові для військового використання.*

Тізеліус звернув увагу також на *хроматографію*, оскільки вважав, що електрофорез не має достатньої специфічності для розділення численних компонентів біологічних матеріалів [13]. На той час хроматографію застосовували лише для виділення *ензимів*, і Тізеліус зосередився на розділенні біологічних матеріалів із використанням *активного вуглецю як стаціонарної фази.* Він зробив кілька корисних доповнень до цієї техніки розподілу, але вони не виправдали його очікувань. У 1947 р. *Арне Тізеліус* і *Фредерік Сенгер* (*Frederick Sanger*) опублікували статтю про використання адсорбції для розділення інсуліну на чотири компоненти.

У 1948 р. Тізеліусу присудили Нобелівську премію з хімії за роботу в галузі електрофорезу і адсорбційного аналізу. Формулювання Нобелівського комітету було таким: «*за дослідження електрофорезу і адсорбційного аналізу, особливо за відкриття, що стосуються складної природи сироваткових протеїнів (for his research on electrophoresis and adsorption analysis, especially for his discoveries concerning the complex nature of the serum proteins)*» [14].

Наведемо ще один цікавий факт із життя Тізеліуса. Шведська корпорація виробників цукру звернулася до вчених з'ясувати причину забруднення, яке спостерігалося в екстрактах буряків. Тізеліус виявив, що слизовий забрудник, який перешкоджає їх фільтраії — це полісахарид, що продукується *Leuconostoc mesenteroides.* У спробі знайти реагент, який був би здатний специфічно реагувати на цей полісахарид, у лабораторії Тізеліуса імунізували кроликів *декстраном.* Проте навіть у великих дозах вони не змогли одержати імунну відповідь.

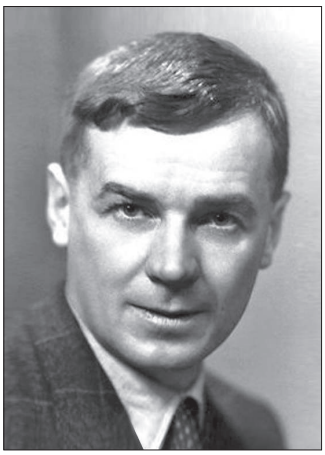
Біохіміки, які брали участь у дослідженні плазми крові та декстрану, зрозуміли, що *нереактивний декстран* може бути корисним як замінник сироватки крові. Згодом шведська фармацевтична компанія «**Pharmacia**» почала виробляти *декстран* для клінічного застосування як *антитромботичний* (антитромбоцитарний) засіб для зниження в'язкості крові і лікування анемії.

Останні 30 років життя Тізеліус займався не тільки фундаментальними дослідженнями, а й організацією науки. Він був головою Шведської ради з наукових досліджень (1946—1950) і головою дослідницького комітету Шведського ракового товариства (1951—1955). Крім того, його обрали президентом Міжнародного союзу чистої та прикладної хімії (IUPAC), членом Нобелівського комітету з хімії (1947) і Президентом Нобелівського фонду (1960—1964).

Помер А. Тізеліус в Уппсалі 29 жовтня 1971 р. від серцевого нападу.

Методи електрофорезу та адсорбційного аналізу, які започаткував А. Тізеліус, і нині широко застосовуються у фундаментальних і прикладних дослідженнях у багатьох галузях науки, зокрема, таких як біологія, хімія, фізика, а відкриття, пов'язане з розумінням комплексної природи протеїнів сироватки крові, зробило його одним із найвизначніших світил лабораторної медицини.

РІЧАРД СІНГ



Річард Сінг (1914—1994)

Англійський біохімік, нобелівський лауреат із хімії 1952 р. «*за відкриття методу розподільної хроматографії*» (разом з *Арчером Мартіном*), **Річард Лоренс Міллінгтон Сінг** (англ. *Richard Laurence Millington Syng*e) народився 28 жовтня 1914 р. у Ліверпулі і був єдиним сином *Кетрін Шарлотти (Суонн)* і *Лоренса Міллінгтона Сінга*, біржового маклера Ліверпульської фондової біржі. У 1928 р. він вступив до Вінчестерського коледжу, де до 1931 р. вивчав переважно класичні науки і став відомим завдяки стипендії, яку він виграв у Триніті-коледжі Кембриджського університету саме за успіхи в латинській і грецькій мовах.

Проте під впливом двоюрідного дідуся і натхненний зверненням до Британської асоціації *Фредеріка Гоуленда Хопкінса* (нобелівського лауреата з фізіології та медицини, 1929), який вразив Сінга думкою про те, що живі істоти на молекулярному рівні виконують дивовижно точну та складну роботу [15], він зрозумів, що біохіміки мають найкращі шанси з'ясувати, як ця робота виконується. Тому Річард Сінг почав вивчати природничі науки в Кембриджському університеті в біохімічній лабораторії під керівництвом *Н.В. Пірі* (1936—1939).

Р. Сінг встановив, що в *ацетильованих амінокислот* різна спорідненість до води та хлороформу і ця відмінність заважає розділяти сполуки для проведення їх аналізу. Директор лабораторії *Чарльз Мартін* запропонував Річарду співпрацю зі студентом старшого курсу Кембриджського університету *Арчером Мартіном* (*Archer John Porter Martin*), який на той час був відомий завдяки умінню

розділяти складні хімічні суміші. Але А. Мартін у 1938 р. перейшов із Кембриджського університету в *лабораторію Науково-дослідницької асоціації вовняної промисловості в Лідсі*, куди за ним наступного року перейшов і Р. Сінг, отримавши фінансову підтримку Міжнародного секретаріату вовняної промисловості. У Лідсі з 1939 р. до 1941 р. Сінг працював над дисертацією, тема якої стосувалася *аналізу протеїнів*.

Результатом співпраці А. Мартіна та Р. Сінга став *новий метод хроматографії із застосуванням інертного наповнювача*, який утримував сильно асоційований розчинник у нерухомому стані, тоді як через нього проходили інший розчинник і розчинена суміш. Таким чином, розподіл речовин відбувався між рухомою та фіксованою фазами розчинників. Цей метод назвали *розподільною хроматографією* (1941) [16].

Два роки потому Сінг отримав докторський ступінь і увійшов до штату *Лістерівського інституту профілактичної медицини в Лондоні* вже як біохімік. Він продовжував займатися аналізом *пептидних антибіотиків* і одночасно співпрацював з А. Мартіном над *удосконаленням методу розподільної хроматографії*. Вони виявили, що целюлоза у фільтрувальному папері чудово зв'язує полярні розчинники, і згодом розробили технологію паперової хроматографії (1944). Виявилося, що якщо взяти одночасно дві різні системи розчинників і спрямувати їх так, щоб вони переміщалися під прямим кутом одна до одної, то розподіл компонентів суміші, що аналізується, буде чіткішим. Такий метод назвали *двовимірною паперовою хроматографією*. Застосувавши цей метод, Сінг разом з колегами довели, що антибіотик *граміцидин С* є досить простим протеїном, який містить всього *п'ять різних амінокислот*.

У 1945 р. Р. Сінг займався переважно дослідженням таких пептидних молекул, як антибіотики і проміжні продукти протеїнового обміну. Як відомо, результати цієї роботи пізніше допомогли *Фредеріку Сенгеру* в його дослідженнях з визначення структури інсуліну [17].

У 1946—1947 рр. він вісім місяців працював в *Інституті фізичної хімії в Упсалі*, де разом з професором Арне Тізеліусом вивчав адсорбцію *амінокислот* і *пептидів*. Після повернення до Англії у 1948 р. Р. Сінга призначили керівником *відділу хімії протеїнів і вуглеводів у Науково-дослідному інституті Роуєта в Буксберні (Абердін, Шотландія)*. В цьому інституті Р. Сінг разом з *Д. Кутбертсоном* і *А. Філліпсон* досліджував *проблеми засвоєння тваринами їжі* та займався *очищенням проміжних продуктів метаболізму протеїнів*.

У 1950 р. доктора Р. Сінга обрали членом *Лондонського королівського товариства* з розвитку знань про природу, а в 1952 р. — почесним *членом Американського товариства біологічних хіміків* (*the American Society of Biological Chemists*).

У 1952 р. *Р. Сінгу* і *А. Мартіну* присудили Нобелівську премію з хімії «*за відкриття методу розподільної хроматографії*» [18]. У Нобелевській лекції Сінг говорив *про широке застосування цього методу для біохімічних досліджень, про вивчення амінокислот і розподіл протеїнів у живих організмах, про дію ензимів, послідовність амінокислот у пептидних ланцюгах протеїнів, а також про застосування його для аналізу вуглеводів, ліпідів і нуклеїнових кислот*. Крім того, він описав широкі можливості *методу розподільної хроматографії* в промисловій

органічній хімії і наголосив на застосуванні його *для контролю харчових продуктів і лікарських препаратів* [19].

У 1958—1959 рр. Сінг працював консультантом з питань біохімії *Руакурської станції вивчення тварин у Гамільтоні* (Нова Зеландія), де брав участь *у програмі дослідження причин виникнення екземи овець.* Це захворювання спричинював *Sporidesmium bakerii,* яким були інфіковані пасовища. Разом з *Е. Вайт* він виділив з культурального середовища, в якому вирощували грибок, високотоксичну сполуку, яку назвали «*споризміном*».

Р. Сінга нагородили медаллю Джона Прайса Уезерілла Франклінського інституту (1959), він був членом Лондонського королівського товариства, Ірландської королівської академії, Американського товариства біохіміків і Європейського товариства фахівців із хімії рослин. Із 1967 р. до виходу у відставку (через дев'ять років) працював у раді з наукових досліджень у галузі сільського господарства Науково-дослідного інституту продуктів харчування в Норвіч (Англія). Р. Сінг був почесним професором школи біологічних наук Університету Східної Англії (1968—1984) і членом (1949—1955) редакційної ради «Biochemical Journal».

Помер Р. Сінг 18 серпня 1994 р. у Норвічі (Англія).

Р. Сінг був одружений (1943 р.) з *Енн Стівен*, племінницею письменниці *Вірджінії Вулф.* У подружжя було четверо дочок і троє синів. Сінг любив працювати в саду, ходити на лижах, подорожувати, вивчати іноземні мови, цікавився літературою.

Біограф Р. Сінга С. Елден писав: «*Спостерігаючи Діка впродовж майже 60 років, я прийшов до розуміння того, що йому притаманні два принципи, якими він керувався:* ***порядок*** *(він часто цитував "ordnung muss sein", тобто "порядок мусить бути") і* ***чесність****. У звичайний день він виглядав дещо недбало одягненим — велика твідова куртка, нечищені черевики і рюкзак на спині. До цього ще треба додати його відсутній погляд, притаманний людині, яка глибоко зосереджена на своїх думках. При цьому він мав потужний інтелект у поєднанні з чудовою пам'яттю і все, що він робив, за винятком особливих випадків, було продумано і вкрай організовано*» [20].

Наразі завдяки високому рівню розвитку експериментальної техніки та інструментального оснащення сучасна хроматографія дає змогу вирішувати з найвищим ступенем надійності та відтворюваності найскладніші аналітичні завдання з хімії, біології та медицини, зокрема:

• якісний і кількісний аналіз складних сумішей речовин;

• розділення багатокомпонентних за складом сумішей на індивідуальні компоненти;

• концентрування речовин з їх дуже розбавлених розчинів;

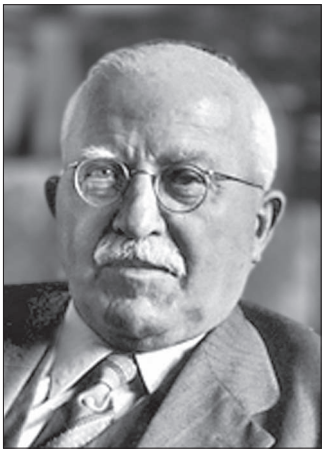
• очищення технічних продуктів від домішок, доведення цих продуктів до заданого ступеня хімічної чистоти, отримання чистих хімічних реактивів;

• контроль різних виробництв методами хроматографії;

• визначення молекулярної структури деяких сполук унаслідок встановлення зв'язку між здатністю до сорбції та будовою цієї речовини.

ГЕРМАН ШТАУДІНГЕР

Німецький хімік, нобелівський лауреат з хімії 1953 р. «*за відкриття в галузі макромолекулярної хімії*», **Герман Штаудінгер** (нім. *Hermann Staudinger*) народився 23 березня 1881 р. у Вормсі (Рейнланд-Пфальц, Німеччина) в сім'ї професора філософії *Франца Штаудінгера* і *Августи (Венк)*. У нього були три брати і сестра.



Герман Штаудінгер
(1881—1965)

Г. Штаудінгер мріяв стати ботаніком, але батько порадив йому спочатку вивчати хімію, бо, як вважав, саме знання цього предмета допоможуть Штаудінгеру в обраній професії. Герман Штаудінгер здобув початкову освіту в гімназії у *Вормсі*, а в 1899 р. почав вивчати хімію в *Галльському університеті*. Проте невдовзі, коли його батько обійняв викладацьку посаду в Технічному університеті в *Дармштадті,* Герман почав там навчатися, але через короткий час продовжив свої студії в *Мюнхенському університеті*. Потім він знову повернувся до Галльського університету, де під керівництвом *Даніеля Форландера* написав дисертацію «*про малонові ефіри ненасичених сполук*». У 1903 р. Штаудінгер здобув докторський ступінь з органічної хімії і після цього став асистентом *Йоганнеса Тила*, провідного вченого в галузі хімії ненасичених органічних сполук, у Страсбурзьскому університеті. У 1905 р. він відкрив новий клас органічних сполук — *кетенів*.

У 1912 р. Штаудінгер став наступником нобелівського лауреата з хімії за 1915 р. *Ріхарда Вільштеттера* (нім. *Richard Martin Willstätter*) — світового лідера з органічної хімії [21] — у престижній *Вищій технічній школі (Eidgenцssische Technische Hochschule)* в Цюріху, де продовжував дослідження з органічного синтезу. Він розробив *метод заміщення атома кисню карбонільної групи аміногрупою за допомогою трифенілфосфінімінів* (реакція Штаудінгера), а також довів, що *полімери — це сполуки, що утворюються з великих молекул (макромолекул), атоми в яких з'єднані між собою ковалентним зв'язком*. Він також висунув *теорію ланцюгової будови макромолекул*. Оскільки ця теорія не могла пояснити втрату деякими полімерами здатності плавитися та розчинятися, *доповнив її уявленнями про розгалужену макромолекулу та тривимірну полімерну сітку*. Показав залежність між молекулярною масою полімеру та в'язкістю його розчину. Вже потім на підставі результатів цих досліджень *розробив віскозиметричний метод визначення молекулярної маси полімерів*.

Крім синтетичних полімерів, він почав досліджувати *біологічно активні природні сполуки*. Разом з *Леопольдом Ружичкою* (нобелівський лауреат з хімії, 1939, «*за роботи з поліметиленів і вищих терпенів*» [22]) Штаудінгер у 1924 р. визначив структуру природних *піретринів* із суцвіть ромашки і *розробив способи синтезу цих важливих природних інсектицидів*.

У 1926 р. його направили на кафедру *Альберта Людвіга* у *Фрайбурзькому університеті*, де він керував хімічною лабораторією і працював із полімерами. Штаудінгер досліджував *натуральний каучук*, *целюлозу та синтетичні по-*

лімери (поліоксиметилен, полістирол і поліетилен оксид), які він вважав модельними системами для вивчення значно складніших за структурою *біополімерів* [23—26]. У дослідженнях Штаудінгер застосовував різні методи для визначення молекулярних мас синтетичних полімерів (*аналіз кінцевих груп, метод віскозиметрії, аналіз у термомеханічних кривих*, а також *електронномікроскопічний аналіз*) [27, 28]. Саме в 1926 р. Штаудінгер наголосив на *важливості дослідження макромолекул для біохімії та біології*. Його наміром було створення нової дослідницької дисципліни — *макромолекулярної біологічної науки*. У 40-х роках XX ст. лабораторію Штаудінгера було перетворено на *Інститут макромолекулярної хімії,* директором якого він був з 1940 до 1951 р. і почесним директором — до квітня 1956 р.

У 1953 р. Герману Штаудінгеру присудили Нобелівську премію з хімії «*за відкриття в галузі хімії високомолекулярних сполук*».

Помер учений у Фрайбурзі 8 вересня 1965 р. від хвороби серця.

Герман Штаудінгер завжди підтримував тісні зв'язки з промисловістю, що давало йому можливість отримувати кошти для своїх досліджень і надавати консультації фірмам, зацікавленим у роботі з пластмасами та гумою. Протягом багатьох років Асоціація прихильників (нім. «Förderverein») *Інституту хімії високомолекулярних сполук* об'єднувала наукових керівників різних компаній, які спонсорували дослідження полімерів у Фрайбурзі. *Семінар з полімерів Штаудінгера*, започаткований у 1950 р., привернув увагу спеціалістів як з фундаментальної, так і з прикладної хімії і згодом став найбільшою щорічною зустріччю понад 700 учасників упродовж багатьох років.

Герману Штаудінгеру належить більше ніж 800 публікацій. Його праці були відредаговані Магдою Штаудінгер і опубліковані під назвою «Das Wissenschaftliche Werk von Hermann Staudinger» («*Наукові здобутки Германа Штаудінгера*») протягом 1969—1976 рр. [29].

Сам він підсумував свої дослідження в автобіографії «*Arbeitserinnerungen*», виданій у 1970 р. [30] і яка в Україні перекладається як «Від органічної хімії до макромолекул».

Протягом багатьох років підручник Штаудінгера «Die hochmolekularen organischen Verbindungen Kautschuk und Cellulose» («Високомолекулярні органічні сполуки каучук та целюлоза»), виданий у 1932 р. у Берліні [25], був «біблією» багатьох вчених. У 1947 р. Штаудінгер разом з видавцями в Базелі «Wepf & Company» заснував новий журнал «*Makromolekulare Chemie*».

Понад 50 років цей журнал був платформою для наукових обмінів і сприяв розширенню знань про полімерну науку, яка бурно розвивалася, стимулюючи виробництво дешевих і різноманітних полімерних матеріалів та розвиток високих технологій.

Завдяки плідному зв'язку між хіміками і молекулярними біологами останнім часом досліджено структуру, конформацію та функції таких біополімерів, як поліпептиди, нуклеїнові кислоти та полісахариди, сформовано нове бачення фундаментальної ролі макромолекулярної хімії в науках про життя.

Отже, революційний прорив, який зроблено за останні десятиліття в розвитку «наук про життя», зумовлений відкриттям і застосуванням таких методів дослідження біополімерів (поліпептидів, протеїнів, нуклеїнових кислот, полісаха-

ридів тощо), як ультрацентрифугування, адсорбційний аналіз, електрофорез та розподільна хроматографія, які було відкрито в першій половині XX ст. відповідно Т. Сведбергом, А. Тізеліусом, Р. Сінгом і Г. Штаудінгером, імена яких увічнено присудженням їм Нобелівських премії.

BROWNIAN MOTION, ELECTROPHORESIS, CHROMATOGRAPHY, AND MACROMOLECULAR CHEMISTRY: HOW IT ALL UNITES NOBEL LAUREATES OF THE FIRST HALF OF THE 20th CENTURY — T. SVEDBERG, A. TISELIUS, R. SYNGE AND H. STAUDINGER

M.V. Grigorieva, V.M. Danilova, S.V. Komisarenko

It is hard to imagine how chemistry, biology and medicine would develop without such techniques as ultracentrifugation, electrophoresis and chromatography. At present innovative hi-tech laboratory ultracentrifuges are widely used in various fields of fundamental science and practice, including colloid chemistry, biochemical analysis, virology, clinical diagnostics, pharmacy, nanotechnology, to name a few. Electrophoresis enables to detect protein abnormalities with high probability, and, therefore, has wide application for the diagnosis of infectious-inflammatory diseases, genetic and immune disorders, malignant tumors and others. Chromatography is widely used for biochemical research and analytical detection and control of drugs and food. But where did these methods, which have had a significant impact on the development of various fields of scientific and economic activity, come from? Who were the pioneers in this field and whose work influenced the formation of the next generation of researchers? These are the questions we address in this article.

Keywords: *Brownian motion, electrophoresis, chromatography, macromolecular chemistry, T. Svedberg, A. Tiselius, R. Synge, H. Staudinger.*

REFERENCES

1. The Svedberg Biographical. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1926/svedberg/biographical/

2. Uppsala universitet (Svenska). Regime of access : https://sv.wikipedia.org/wiki/Uppsala_universitet.

3. Svedberg T. Ueber die elektrische Darstellung einiger neuen colloпdalen Metalle. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft.* 1905. Vol. 38, N 3. P. 3616—3620.

4. Svedberg T., Pedersen K.O. The Ultracentrifuge. Oxford, 1940.

5. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Born in Ukraine: Nobel prize winners Ilya Mechnikov, Selman Waksman, Roald Hoffmann, and Georges Charpak. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 3. P. 128—138.

6. Tiselius A., Claesson S. The svedberg and fifty years of physical chemistry in sweden. *Annual Review of Physical Chemistry.* 1967. Vol. 18. P. 1—9.

7. Svedberg T., Jette E.R. The cataphoresis of proteins. *Journal of the American Chemical Society.* 1923. Vol. 45, N 4. P. 954—957.

8. Scott N.D., Svedberg T. Measurements of the mobility of egg albumin at different acidities. *Journal of the American Chemical Society.* 1924. Vol. 46, N 12. P. 2700—2707.

9. Svedberg T., Tiselius A. A new method for determination of the mobility of proteins. *Journal of the American Chemical Society.* 1926. Vol. 48, N 9. P. 2272—2278.

10. Tiselius A. The moving-boundary method of studying the electrophoresis of proteins. *Nova Acta Regiae Societatis Scientiarium Upsaliensis.* 1931. Vol. 7, N 4, ser. IV. 107 p.

11. Tiselius A. A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. *Trans Faraday Society.* 1937. Vol. 33. 524 p.

12. Tiselius A., Kabat E.A. Electrophoresis of immune serum. *Science*. 1938. Vol. 87, N 2262. P. 416—741.

13. Tiselius A. Reflections from both sides of the counter. *Annual Review of Biochemistry*. 1968. Vol. 37. P. 1—24.

14. The Nobel Prize in Chemistry 1948. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1948/summary/

15. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of the Nobel prize laureates to the development of knowledge of vitamin biochemistry: Ch. Eijkman, F.G. Hopkins, A. Szent-Györgyi, W. Haworth, P. Karrer, R. Kuhn, H. Dam, E.A. Doisy, G. Minot, W. Murphy, G. Whipple, D. Hodgkin, R. Woodward. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 4. P. 95—117.

16. Martin A.J., Synge R.L. A new form of chromatogram employing two liquid phases: A theory of chromatography. 2. Application to the micro-determination of the higher monoamino-acids in proteins. *Biochemical Journal*. 1941. Vol. 35, N 12. P. 1358—1368.

17. Regime of access : https://upclosed.com/people/richard-laurence-millington-synge/

18. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1952/summary/

19. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1952/synge/facts/

20. Regime of access : http://www.rse.org.uk/wp-content/uploads/2017/11/synge_richard.pdf.

21. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of the Nobel Prize laureates to the development of dynamic biochemistry and bioenergetics. E. Buchner, A. Kossel, R. Willstätter, O. Meyerhof, A. Hill, O. Warburg, A. Szent-Györgyi. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 1. P. 108—126.

22. Vynogradova R.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. Development on knowledge of hormone biochemistry in the works of the Nobel prize laureates of the first half of the 20th century: F.G. Banting, John J.R. Macleod, H.O. Wieland, A.O. Windaus, A.F. Butenandt, L. Ružička, E. Kendall, P. Hench, T. Reichstein. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 3. P. 107—126.

23. Staudinger H. Die Ketene. Enke Verlag: Stuttgart, 1912.

24. Staudinger H. Anleitung zur organischen qualitativen Analyse; Springer-Verlag Berlin, 1. Auflage 1923 und 6. Auflage 1955.

25. Staudinger H. Die hochmolekularen organischen Verbindungen Kautschuk und Cellulose; Springer Verlag: Berlin, 1932, Nachdruck, 1961.

26. Staudinger H. Über Polymerisation. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 1920. Vol. 53, N 6. S. 1073—1085.

27. Staudinger H. Über die Konstitution des Kautschuks (6.Mitteilung). *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 1924. Vol. 57, N 7. S. 1203—1208.

28. Hermann Staudinger and Macromolecules. http://www.acs.org/content/acs/en/education.

29. Staudinger H. Das Wissenschaftliche Werk von Hermann Staudinger. Verlag Hüthig & Wepf: Basel, 1969—1976.

30. Staudinger H. From organic chemistry to macromolecules; a scientific autobiography on my original papers. Wiley-Interscience: New York, London, Sydney, and Toronto, 1970 (translation of Arbeitserinnerungen, Dr. Alfred Hüthig Verlag: Heidelberg, 1961).

ISSN 2409-1943 Ukr. Biochem. J. 2019. Vol. 91, N 5. P. 70—79.

ВНЕСОК ЛАУРЕАТІВ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ ДРУГОЇ ПОЛОВИНИ XX СТ. У ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРИ ПРОТЕЇНІВ: Дж. САМНЕР, Дж. НОРТРОП, У. СТЕНЛІ, Л. ПОЛІНГ, Ф. СЕНГЕР, М. ПЕРУЦ, Дж. КЕНДРЮ

В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.В. Комісаренко

Друга половина XX ст. ознаменувалася епохальними відкриттями в галузі хімії та біохімії протеїнів, зокрема у встановленні структури протеїнів. Нобелівські лауреати з хімії за 1946 р. Джеймс Самнер, Джон Нортроп і Венделл Стенлі першими виділили у чистому кристалічному стані окремі ензими і віруси та довели їхню протеїнову природу, зробивши тим самим неоціненний науковий внесок у розвиток таких важливих біологічних дисциплін, як біохімія, особливо ензимологія, вірусологія та молекулярна біологія. Величезний внесок у з'ясування хімічних зв'язків, завдяки яким утворюється вторинна структура та інші рівні організації протеїнів, зробив видатний хімік XX ст. кристалограф, американський вчений Лайнус Полінг. Він одержав Нобелівську премію з хімії в 1954 р. «за дослідження природи хімічного зв'язку і його використання для встановлення структури складних сполук». Біохімікам він відомий як автор вторинної будови протеїнів — α-спіралі і β-структури. А Фредерік Сенгер — двічі лауреат Нобелівської премії (1958 і 1980) — перший серед дослідників, хто визначив первинну амінокислотну послідовність протеїну, зокрема двох поліпептидних ланцюгів А та В інсуліну. Ф. Сенгер довів, що впорядкованість структури протеїну є аналогічною до послідовності генів у ДНК, і тому вона має бути підпорядкована таким самим закономірностям. Складне питання, яким чином протеїнова молекула розміщується в просторі, змогли вирішити англійські біохіміки Макс Ф. Перуц (Перутц) і Джон К. Кендрю, які рентгеноструктурним методом встановили будову протеїнів — гемоглобіну і міоглобіну — в просторі і яким у 1962 р. було присуджено Нобелівську премію з хімії «за дослідження структури глобулярних протеїнів».

Ключові слова: *Дж. Самнер, Дж. Нортроп, У. Стенлі, Л. Полінг, Ф. Сенгер, М. Перуц, Дж. Кендрю, протеїни, структура, уреаза, пепсин, трипсин, вірус тютюнової мозаїки, α-спіраль, β-структура, інсулін, гемоглобін, міоглобін.*

З усіх органічних речовин, які входять до складу живих організмів, найскладнішими за хімічною будовою є *протеїни* (*білки*). Вони зустрічаються всюди, де має місце прояв життя (в тваринах, рослинах, мікроорганізмах, вірусах) і становлять 50 % сухої речовини клітин. Усього в різних видах організмів в біосфері Землі знаходиться 1010—1012 різних протеїнів.

З хімічної точки зору *протеїни — це біополімери*, які складаються з різних *амінокислот* і які належать до особливо реактивних речовин. Вони легко реагують між собою, взаємодіють з ліпідами, вуглеводами, нуклеїновими кислотами, утворюючи численні комплекси, з яких побудовані клітини живих організмів і віруси. Подібна хімічна реактивність протеїнів визначає багато їхніх біологічних властивостей і функцій в організмі. Насамперед усі *біологічні ката-*

лізатори, тобто ензими, є *протеїнами,* і саме *протеїнова частина* ензимів визначає специфічність і швидкість їх дії. Вони беруть участь у транспортуванні катіонів і аніонів крізь біологічні мембрани, в передаванні сигналів від одних клітин до інших, у захисних реакціях організму (*імуноглобуліни*), в регуляції метаболізму (*гормони*), в процесах скорочення м'язів і руху; деякі протеїни виконують структурну або механічну функцію, утворюючи *цитоскелет*.

Структура протеїнів живих клітин ускладнюється пропорційно до ступеня складності *геному* та етапу *еволюційного розвитку організму*.

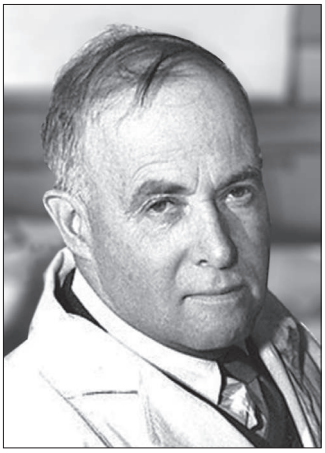
Один із найскладніших розділів біологічної хімії та молекулярної біології — *хімія протеїнів (білків)* — довго був до кінця не дослідженим, хоча цією проблемою дослідники цікавились давно. Перша гіпотеза стосовно будови протеїнів належить нідерландському хіміку і лікарю *Г. Мюльдеру* (нід. *Gerardus Johannes Mulder*), який в 1836–1838 рр. на основі теорії радикалів сформулював поняття про мінімальну структурну одиницю, що входить до складу всіх білків. Цю одиницю разом зі співробітником *Я. Берцеліусом* (швед. *Jöns Jakob Berzelius*) він назвав «*протеїном*» від грецької *protos*, що означає первинний, тобто сполукою, що є «первинною субстанцією», початком багатьох інших сполук. Концепція Г.Й. Мюльдера виявилась хибною, але термін «протеїни» в науковій літературі залишився. Термін «білки» з'явився значно раніше; прийнято вважати, що його запропонував французький фізіолог *Ф. Кене* в 1747 р. для позначення всіх рідин тваринного організму, які за нагрівання випадали в осад (згортались) за аналогією з яєчним білком (*albumineise*). Вперше цей термін з'явився в 1751 р. в «Енциклопедії» *Д. Дідро* і *Ж. Д'Аламбера*.

Обидва терміни не відповідають сучасному уявленню про структуру, роль і значення протеїнів (білків), але ними досі користуються науковці всього світу — найчастіше терміном «*протеїни*». Будову протеїнів досліджували відомі хіміки і біохіміки багатьох країн — це і О.Я. Данилевський, і Е. Фішер, і А. Коссель та багато інших. У кінці XIX — на початку XX ст. склалось уявлення про те, що *протеїни — це біополімери, тобто високомолекулярні сполуки, які складаються з амінокислот, з'єднаних між собою кислотно-амідними (пептидними) зв'язками*. Значним досягненням в галузі хімії протеїнів були роботи нобелівського лауреата з хімії за 1902 р. *Еміля Фішера*, який синтезував понад 125 пептидів [1]. Але те, яким чином поліпептидний ланцюг розміщується в просторі і завдяки яким зв'язкам, залишалося нез'ясованим до середини XX ст. На той час відкритим залишалось і питання структури ензимів, хоча з їхньою дією людина була знайома здавна, оскільки широко використовувала їх у житті. Над цими питаннями працювало багато дослідників у різних країнах світу, але значних результатів не було досягнуто.

Величезним внеском у розвиток хімії протеїнів були, в першу чергу, роботи *Д. Самнера*, *Д. Нортропа* і *У. Стенлі*, які отримали кристали *ензимів і вірусів* і встановили їхню протеїнову природу, за що в 1946 р. одержали Нобелівську премію з хімії з таким формулюванням: «*за відкриття явища кристалізації ензимів* (*for his discovery that enzymes can be crystallized*)».

ДЖЕЙМС САМНЕР

Самнер Джеймс Бетчеллер (англ. *Sumner James Batcheller*) народився 19.11.1887 р. у Кантоні (штат Массачусетс, США), недалеко від Бостона в родині Елізабет Ренд (Келлі) і Чарльза Самнера, успішного фермера та хазяїна бавовнопрядильної фабрики. Для США кінця XIX ст. належати до родини, яка емігрувала до Бостона ще в 1636 р., було почесно. Закінчивши початкову школу, Джеймс перейшов до латинської школи Роксбері, де зацікавився такими науковими предметами, як хімія та фізика.



Джеймс Самнер
(1887—1955)

Коли Джеймсу виповнилось 17 років, з ним стався нещасний випадок, який міг би поставити хрест на його кар'єрі експериментатора. На полюванні його приятель випадково прострелив ліву «робочу» руку Джеймса, який був шульгою. Кисть руки довелось ампутувати, але такі риси його характеру, як завзятість, наполегливість і, навіть, упертість стали вирішальними в його подальшій роботі. Він настільки добре навчився володіти правою рукою, що не тільки писав, а й грав у теніс, більярд, стріляв із рушниці.

Спочатку молодий Дж. Самнер вирішив стати інженером-електриком і в 1906 р., коли йому виповнилось 19 років, вступив до Гарвардського університету, але швидко зрозумів, що йому подобається хімія. У 1910 р. він вже здобув ступінь бакалавра наук з хімії. Закінчивши один з провідних університетів США, Дж. Самнер спочатку зайнявся родинним бізнесом, працюючи протягом десять годин на день на фабриці свого дядька «Sumner Knitted Padding Company». Як він пізніше згадував, це була настільки «*брудна і нецікава робота*», що він від неї втік, і, хоча ніколи не цікавився викладацькою діяльністю, прийняв пропозицію тимчасово зайняти посаду професора з хімії аж у Канаді в Еллісон-коледжі Санквілла (штат Нью-Брансвік).

На свій подив, Дж. Самнер зрозумів, що має задоволення від «книжкового життя» (про експерименти мови не було), і після закінчення строку договору в коледжі він ще деякий час працював викладачем в Уорчестерському політехнічному інституті в Массачусетсі. Але в 1912 р. Дж. Самнер повернувся до Гарварду з метою поглибити свої знання з хімії та фізіології. Йому дуже пощастило з вчителем, бо в медичній школі Гарвардського університету він працював під керівництвом чудового хіміка-аналітика, який багато зробив для дослідження метаболізму протеїнів — незвичайного шведа, який переїхав до США — *Отто Кнута Фоліна* (швед. *Otto Knut Folin*), автора відомої реакції Фоліна на протеїни. Саме О. Фолін «зробив» з Джеймса Самнера дослідника-експериментатора і подарував людству ще одного нобелівського лауреата. Від самого початку він робив все, щоб переконати молодого хіміка в тому, що фізичний недолік не завадить зробити йому кар'єру дослідника. І дійсно, Д. Самнер швидко оволодів своєю правицею краще, ніж дворукі інші аспіранти і студенти. У 1913 р. Д. Самнер став магістром природничих наук, а

в 1914 р. отримав докторський ступінь, захистивши дисертацію про утворення сечовини в організмі тварин.

Закінчивши медичну школу Гарвардського університету, Д. Самнер зайняв посаду асистент-професора з хімії в медичному коледжі Корнельського університету, який тоді знаходився в м. Ітака (штат Нью-Йорк). У 1929 р. він став там професором і повністю занурився в науку. Амбіційний дослідник Д. Самнер, як він пояснював пізніше, хотів «*...з'ясувати, що таке життя, що спонукає організми рости, від чого взагалі все "кружляє"*». Тому він поставив перед собою завдання виділити й отримати в чистому стані ензим і в такий спосіб зробити перший крок для з'ясування хімічного складу цієї важливої і мало дослідженої на той час біологічної сполуки.

Коли Д. Самнер розпочав дослідження ензимів, було мало відомостей щодо їхньої структури. З часів робіт *Едуарда Бухнера* (1897) і присудження йому Нобелівської премії з хімії в 1907 р. «*за відкриття позаклітинної ферментації*» погляди на структуру ензимів майже не змінилися. Так, видатний німецький хімік *Ріхард Вільштеттер* (нобелівський лауреат з хімії, 1915) вважав, що ензими не належать ні до вуглеводів, ні до протеїнів або ліпідів і вони є невідомим класом хімічних сполук [2]. Навіть йому не вдалося одержати ензими в чистому стані. Водночас у науковій літературі з'явились повідомлення, що в розчинах, де знаходяться ензими, присутні також протеїни.

Джеймс Самнер ще під час підготовки докторської дисертації з вивчення утворення сечовини в організмі тварин проводив досліди з *уреазою — ензимом, який розщеплює сечовину до* CO_2 *і* NH_3:

$$H_2NC(O)NH_2 + H_2O \rightarrow 2NH_3 + CO_2$$

Пізніше, в 1916 р., він виявив у тропічній рослині сімейства бобових з Центральної Америки *канавалії мечоподібної* (*Canavalia ensiformis*) високу концентрацію уреази. Саме з цієї рослини — з квітів і, особливо, бобів — Дж. Самнер спробував виділити ензим *уреазу*.

У 1921 р. Дж. Самнер розпочав підготовку до виділення *уреази* і завдяки американсько-бельгійської стипендії їде до Брюселя для обговорення свого наукового проєкту з відомим європейським ензимологом, батьком промислової ензимології Ж. Еффроном. Останній не підтримав ідей Дж. Самнера, вважаючи їх легковажними. Але треба було знати упертий характер Джеймса — він таки розпочав заплановані експерименти. Використовуючи велику кількість методів і реагентів, після кількох років начебто безуспішної роботи він нарешті виділив мікроскопічні кристали, які виявилися *глобулярними протеїнами* і водночас мали *активність уреази*. Матеріали щодо його відкриття, опубліковані в серпневому номері «*Journal of Biological Chemistry*» (1926), науковці зустріли скептично, дехто — з відкритим глузуванням. Особливо критично поставився до роботи Д. Самнера *Р. Вільштеттер*, авторитет якого був незаперечним. Він вважав, що цей «*однорукий американець нічого не вміє*» і що він отримав якусь незначну активну непротеїнову сполуку.

Упродовж наступних чотирьох років Дж. Самнер захищав свою точку зору в серії статей, де наводив додаткові експериментальні дані на користь *протеїнової природи ензимів*. У 1929 р. він отримав першу підтримку в Європі: працюючи з ензимами в лабораторії Стокгольмського університету з *Гансом фон*

Ейлер-Хельпіном — нобелівським лауреатом з хімії за 1929 р. «за дослідження ензимів бродіння» [3], Дж. Самнер отримав одну з вищих шведських нагород — медаль Шеєле. Пізніше, вже в 1937 р., працюючи в Уппсальському університеті в лабораторії Т. Сведберга, Дж. Самнер одержав *препарати уреази з високою каталітичною активністю*. Крім того, він отримав *кристали каталази*, а також *встановив її протеїнову природу*.

Найбільшу підтримку протеїнової природи ензимів Дж. Самнер здобув від американського біохіміка *Джона Говарда Нортропа*, який у 1929 р. виділив у кристалічному стані *пепсин* (опубліковано в 1930 р.), а через декілька років *Д. Нортроп* і *М. Кунітц* одержали з підшлункової залози свині *трипсин*, *хімотрипсин* і деякі інші ензими. Ці роботи переконали біохіміків у тому, що *ензими є протеїнами*, хоча в складі деяких з них є і непротеїнові компоненти. На 1946 р. було виділено і визначено майже **30 ензимів** і *всі вони були протеїнами*.

Нобелівську премію в галузі хімії в 1946 р. було присуджено Джеймсу Самнеру фактично «*за відкриття явища кристалізації ензимів*», хоча ще в 1941 р. його вперше номінували на Нобелівську премію з хімії, а з фізіології та медицини його кандидатуру пропонували на премію декілька разів, починаючи з 1932 р. Одержану премію він розділив з *Джоном Г. Нортропом* і *Уенделлом М. Стенлі*. У вітальній промові від імені Шведської королівської академії наук Арне Тіселіус (швед. *Arne Tiselius*) наголосив: «*...одержані Д. Самнером результати... свідчать про проведену ним новаторську роботу, яка вперше переконала дослідників у тому, що ензими є тими речовинами, які можна виділити в чистому стані і в достатній кількості»,* і що зусилля Д. Самнера *«...заклали основи для детальнішого проникнення в хімічну природу тих речовин, від яких нарешті має залежати розуміння механізму реакцій, що відбуваються в живих клітинах*».

У нобелівській лекції Д. Самнер зазначив: «*Чимало людей говорили мені, що бажання виділити ензим — це безглуздя. Але ці слова ще більше переконували мене в тому, що коли ця спроба буде успішною, то за неї необхідно боротися*». Крім того, він звернув увагу на досягнення, зроблені в останній час у галузі ензимології: «*Завдяки порівняно нещодавно проведеним дослідженням було з'ясовано механізми практично всіх складних реакцій, які відбуваються під час розщеплення глікогену на діоксид вуглецю і воду. Більш того, робота, проведена К.Ф. Корі та його колегами, свідчить про те, що гормони функціонують завдяки своїй дії на ензими*» [3].

Між іншим, Дж. Самнер на початку лекції висловив негативне ставлення до Ріхарда Вільштеттера, який багато років не визнавав його досягнень, і назвав невірний погляд Р. Вільштеттера блокуванням на шляху правильних ідей в хімії. На таке ставлення Д. Самнер мав право — він переміг опонента вірою в себе, надзвичайною працьовитістю та філігранною технікою своєї «непрацюючої» правої руки. Але Р. Вільштеттер цієї промови вже не почув, бо помер ще у 1942 р.

Через рік після отримання Нобелівської премії Дж. Самнера призначили директором нової *Лабораторії хімії ензимів Корнельського університету*, де він продовжив дослідження і багато займався педагогічною роботою. Як викладач він був не дуже терплячим і вимогливим, але студенти поважали його за те, що сам він дуже багато працював. «*Головне, чому я намагався навчити сту-*

дентів, — говорив Дж. Самнер, — *це розбурхати в них зацікавленість до світу, який нас оточує, бажання пізнати цей світ, керуючись однією провідною зіркою — істиною*».

Поза наукової роботи Джеймс захоплювався тенісом, походами, займався фотографією, полюбляв куховарити, вивчати іноземні мови. Він був тричі одружений і мав шестеро дітей.

У 1927 р. він опублікував підручник «***Textbook of Biological Chemistry***» (New York, Macmillan Co. 283 p.), а в 1944 р. — «***Laboratory Experiments in Biological Chemistry***» (New York, Academic Press, 169 p.). У 1950—1952 рр. *Дж. Самнер* разом із *К. Мірбеком* (*Karl Myrback*) опублікували чотиритомник «*The Enzymes. Chemistry and Mechanism of Action*» (Academic Press, New York) — справжню енциклопедію ензимології, яка стала настільною книгою для багатьох наступних поколінь науковців-ензимологів.

Після виходу у відставку з Корнельського університету в 1955 р. Д. Самнер захворів і 12 серпня того самого року пішов з життя в Баффало (штат Нью-Йорк) від онкологічного захворювання.

Серед великої кількості нагород, які мав учений, дуже почесною була золота медаль Шеєле Шведського хімічного товариства (1937). Дж. Самнер був членом Національної академії наук США, Американської академії наук і мистецтв, Товариства експериментальної біології та медицини тощо [4—8].

На завершення короткого життєпису Джеймса Самнера зазначимо, що основним його досягненням було те, що, використовуючи прості й ефективні методи хімії, *він одержав кристалічний препарат ензиму уреази, який являв собою чистий протеїн*. Можна, звичайно, вважати, що йому пощастило, бо *уреаза є однокомпонентним ензимом*, але *саме він вперше довів протеїнову природу ензимів* і, нарешті, таким чином, було вирішено питання про природу біокаталізаторів, що відкрило нову, дуже важливу сторінку в історії науки *ензимології*.

Другу половину Нобелівської премії з хімії «*за одержання в чистому стані ензимів і вірусних протеїнів* (*for their preparation of enzymes and virus proteins in pure form*)» у 1946 р. отримали американські біохіміки *Джон Г. Нортроп* і *Венделл М. Стенлі*.

ДЖОН Г. НОРТРОП

Нортроп Джон Говард (англ. *Nortrop John Howard*) народився 05.07.1891 р. у Йоркерсі (штат Нью-Йорк) у родині викладачів природознавства Аліси Белл (Puч) і Джона Ісаї Нортропа. Джон Г. Нортроп — янкі у восьмому поколінні, нащадок *Джозефа Нортропа*, який прибув до Мілфорда (штат Коннектикут) у 1632 р. Предки Джона були впливовими людьми. Вони подарували Колумбійському університету великий хімічний будинок, який назвали на честь цієї родини. Батько Джона Г. Нортропа викладав зоологію в Колумбійському університеті, але незадовго до народження сина (за два тижні) загинув: у лабораторії, де він працював, стався вибух. Після трагедії мати хлопчика змушена була працювати; вона викладала ботаніку в Хантер-коледжі (Нью-Йорк). Саме за її ініціативи і завдяки її зусиллям у навчальну програму середніх шкіл Америки ввели нову дисципліну — *природознавство*. На жаль, мати Джона загинула в автомобільній катастрофі в 1922 р.

Джон Г. Нортроп
(1891—1987)

Закінчивши середню школу в Нью-Йорку в 1908 р., Джон-молодший вступив до Колумбійського університету, де багато часу приділяв вивченню хімії (і зовсім мало біології). У 1912 р. він отримав ступінь бакалавра природничих наук і вступив до аспірантури з хімії. Під час навчання в аспірантурі Д. Нортроп у складі фехтувальної команди Колумбійського університету в 1913 р. виграв міжуніверситетські змагання. В тому самому році він став магістром природничих наук. Улітку 1915 р., закінчивши написання докторської дисертації, працював старателем, добуваючи золото в Аризоні, оскільки треба було заробляти гроші на подальшу наукову роботу та навчання.

Отримавши стипендію Уїльяма Бейарда, Д. Нортроп протягом року працював у Рокфеллерівському інституті (нині — Рокфеллерівський університет) у *Жака Лоеба*, потім його призначили асистентом, а в 1917 р. — викладачем цього закладу.

Але в 1917 р., коли США вступили в Першу світову війну, наукову роботу в інституті було перервано. Д. Нортроп служив капітаном у хімічних військах американської армії. В цей час він запропонував метод виробництва ацетону з використанням процесу бродіння. Ацетон і тоді, і пізніше широко застосовували в різних галузях промисловості, а також у науковій роботі.

Після закінчення війни Д. Нортроп повернувся до Рокфеллерівського інституту та продовжив роботу з дослідження ензимів, передусім зі з'ясування хімічної природи ензимів.

У 1920—1930-х рр. проблема ензимів цікавила багатьох дослідників. Але, незважаючи на досягнення нобеліантів *А. Гардена*, *Р. Вільштеттера*, *Г. Ейлер-Хельпіна* [3] та інших видатних біохіміків у виділенні та в очищенні ензимів, не було впевненості в тому, що препарати одержаних ензимів є протеїнами. Тому не було змоги зробити висновок про хімічну природу ензимів.

Хоча деякі вчені вважали, що *ензими є протеїнами*, але висновок видатного німецького хіміка Ріхарда Вільштеттера був категоричним — ензими не схожі ні на одну з відомих органічних сполук. Сам він не зміг отримати ензими в чистому стані. З таким твердженням Р. Вільштеттера не погодився не тільки Д. Самнер, а й науковий керівник Д. Нортропа *Жак Лоеб*. Останній вважав, що ензими мають протеїнову природу, отже, їх можна досліджувати за законами хімії.

За пропозицією Ж. Лоеба Д. Нортроп у 1920 р. спробував отримати в чистому стані протеолітичний ензим шлунку *пепсин*. Але це йому не вдалося, хоча він провів багато кінетичних досліджень пепсину та трипсину. Тому вчений відновив розпочату раніше роботу з дослідження тривалості життя та довів, що життя організмів залежить від температури: висока температура скорочує його тривалість. Це відкриття підтвердило твердження його і Ж. Лоеба про те, що життя ґрунтується на хімічних процесах. Зазначимо, що на формуван-

ня Д. Нортропа як науковця величезний вплив зробив саме *Жак Лоеб* — один з великих експериментаторів, з яким він працював протягом десятиліття. Але Жак Лоеб раптово помер у 1924 р.

У 1926 р., коли Д. Нортроп уже працював у лабораторії Рокфеллерівського інституту, Д. Самнер з медичного коледжу Корнельського університету опублікував результати своєї роботи з *виділення і очищення уреази*. І хоча відкриття Д. Самнера зазнавало нападок з боку багатьох учених, Д. Нортропа воно надихнуло на продовження досліджень із виділення *пепсину*. Через три роки (1929) Д. Нортроп виділив із шлункового соку свині *кристали речовини, яка мала властивості пепсину і була одночасно чистим протеїном*. Ще через рік було опубліковано його роботу з *доказом протеїнової природи пепсину без жодних домішок*.

У наступні роки Д. Нортроп з колегами, серед яких найбільшим був внесок М. Кунітца (25 років спільної праці), виділили *трипсин*, *хімотрипсин*, *карбоксипептидазу* і деякі інші ензими з підшлункової залози свині. Їхні роботи експериментально та остаточно *підтвердили твердження Д. Самнера щодо протеїнової природи ензимів* і поклали початок їх інтенсивному дослідженню, особливо первинної структури і конформації.

Для доведення чистоти кристалічного пепсину Д. Нортроп проводив *перекристалізацію, фракціонування солями, зміну* pH*, нагрівання або радіаційну інактивацію*, а кінцеву фракцію аналізував із розрахунку *активності на міліграм протеїну*. Д. Нортроп і М. Кунітц розробили «*метод дослідження розчинності*» спеціально для виявлення чистоти протеїну пепсину, і це було остаточним доказом чистоти отриманих кристалів пепсину.

Метод розчинності Д. Нортропа і М. Кунітца достатньо простий і його можна використовувати для будь-якої речовини, оскільки теоретично він ґрунтується на правилі фази Гіббса. Якщо в розчині є дві або більше речовини, то результати будуть відмінними від ідеального стану однорідної речовини. Цей метод широко використовувався ензимологами і тими дослідниками, які працювали з протеїнами, для визначення чистоти одержаних препаратів після кристалізації полімерних сполук (*метод визначення чистоти протеїнових препаратів за розчинністю — метод Нортропа і Кунітца*).

Наступний крок у виділенні активних протеїнів було зроблено в 1935 р. Колега Д. Нортропа з Рокфеллерівського інституту *Венделл Мередіт Стенлі* вперше отримав кристали *вірусу тютюнової мозаїки*, які виявилися *нуклеопротеїном*. На початку наукової кар'єри Д. Нортроп також цікавився вірусами. Разом з *Пітером Оліцким* у 1925 р. він опублікував статтю про *вірус мозаїки картоплі*, а в 1929—1931 рр. разом з *Альбертом Крюгером* провів кінетичний аналіз дії *бактеріофагових інфекцій культур стафілокока* та розробив динамічний метод аналізу фага.

Але пізніше Д. Нортроп сконцентрував зусилля на виділенні *пепсину* та інших ензимів (про що вже йшлося). І все-таки в 1936 р. він знову повернувся до вивчення хімічної природи бактеріофага *Staphylococcus*, виділив його і виявив присутність нуклеїнової кислоти в найчистіших препаратах фагів.

Під час Другої світової війни Д. Нортроп працював консультантом, офіційно обіймав посаду дослідника в Науково-дослідному комітеті національної

оборони. В цей період він розробив високочутливі хімічні та біологічні методи виявлення токсичних хімічних речовин. За цю роботу в Міністерстві оборони його удостоїли президентської нагороди, якою він дуже пишався.

Фактично за визнання його внеску в *ензимологію*, а саме за очищення та кристалізацію ензимів, що доводило їх протеїнову природу, Д. Нортроп разом із В.М. Стенлі отримали половину Нобелівської премії з хімії за 1946 р. Це була перша Нобелівська премія за роботу, виконану в Рокфеллерівському інституті. Від імені Шведської академії наук її вручив Арне Тіселіус, який в своїй промові сказав: «*Ви і ваші сподвижники перетворили кристалізацію ензимів та інших активних протеїнів у мистецтво, а Ви в ньому — Майстер*». У нобелівській лекції Д. Нортроп зазначив, що досліди, які були проведені ним з колегами-лауреатами, «*...підтверджують висновок про те, що джерело активності ензимів знаходиться в самій молекулі протеїну, а не спричинюється позапротеїновими домішками*».

Після отримання Нобелівської премії Д. Нортроп серйозно зайнявся дослідженням вірусів і знову повернувся до бактеріофага; він приділяв особливу увагу з'ясуванню їхньої хімічної природи. Цю роботу він виконував з 1949 р. як професор на факультеті бактеріології та біофізики в Каліфорнійському університеті (Берклі), але не залишав зв'язків із Інститутом Рокфеллера. Водночас він займав посаду професора-біофізика в університетській лабораторії Доннера.

У 1961 р. Д. Нортропа було удостоєно звання почесного професора Рокфеллерівського інституту у відставці, а в 1962 р. — Каліфорнійського університету. Офіційно Д. Нортроп вийшов на пенсію в 1962 р., але продовжував свою лабораторну роботу, результати якої публікував до 1968 р. У той час його дружина Луїза (Уокер), з якою він одружився в 1917 р., захворіла і він піклувався нею декілька років; вона померла 21 квітня 1975 р. У них було двоє дітей — син Джон і донька Аліса, яка була дружиною Фредеріка Роббінсома (нобелівський лауреат з фізіології та медицини, 1954). Одже, їхні діти і онуки були нащадками нобелівських лауреатів.

Джон Говард Нортроп прожив довге життя. Він дожив до 96-річного віку, почав почувати себе погано, але не хотів бути тягарем для своїх близьких і друзів, тому самостійно пішов з життя 27 травня 1987 р. у своєму домі в Уїкіберзі (штат Арізона).

Серед численних нагород Д. Нортропа — медаль Чарльза Фредеріка Чендлера Колумбійського університету (1937), почесний диплом президента (уряду) США (1948) і медаль Олександра Гамільтона Колумбійського університету (1960). Вчений був членом Національної академії наук США та інших американських товариств, а також іноземним членом Британського хімічного товариства, Королівського товариства мистецтв і Німецької академії природознавців «Леопольдіна».

Д. Нортроп завжди багато і з задоволенням займався спортом, любив полювання та риболовлю, птахів, займався садівництвом [9—16].

Завершуючи знайомство з Джоном Г. Нортропом, зазначимо, що він був проникливим вченим, який зробив великий внесок одночасно в кілька різних галузей науки, але найважливіших досягнень здобув у галузі ензимології. Як писав *Джон Едсалл* (*John Tileston Edsall*): «*Джон Нортроп, мабуть, зробив знач-*

но більше, ніж хто-небудь інший, для того, щоб встановити, що чисті ензими дійсно є протеїнами». Оскільки ензими беруть участь практично в усіх біологічних реакціях, з'ясування їхньої хімічної природи було науковим внеском першої величини.

Третім нобеліантом з хімії за 1946 р. був американський біохімік і вірусолог *Венделл М. Стенлі.*

ВЕНДЕЛЛ М. СТЕНЛІ

Венделл М. Стенлі
(1904—1971)

Венделл (Уенделл) Мередіт Стенлі (англ. *Wendell Meredith Stanley*) народився 16 серпня 1904 р. у Ріджвіллі (штат Індіана, США) у родині Клер (Плессінджер) і Джеймса Стенлі, видавців місцевої газети. Ще школярем Венделл часто допомагав батькам працювати в редакції і продавати газети. Після закінчення середньої школи в Ріджвіллі він вступив до Ерлем-коледжу в Річмонді (штат Індіана), де вивчав хімію та математику. Обдарованого студента та відмінного спортсмена на останньому курсі обрали капітаном футбольної команди. Якийсь час він хотів бути тренером з футболу. Але його доля повернулась інакше. В 1926 р., незадовго до закінчення коледжу, Венделл відвідав Іллінойський університет із вчителем хімії, який познайомив його з *Роджером Адамсом*, викладачем хімічного факультету університету. Саме захопленість Р. Адамса наукою збудила у Венделла бажання самому зайнятися науковою роботою і привела його до аспірантури Іллінойського університету, де в 1927 р. він отримав магістерський, а в 1929 р. — докторський ступінь. Його дисертація присвячувалася сполукам, які використовуються для лікування *прокази.*

Через рік після захисту докторської дисертації В. Стенлі отримав стипендію Національної науково-дослідної ради для роботи в галузі хімії у Генріха Віланда в Мюнхенському університеті, який перед тим (1927) отримав Нобелівську премію з хімії «за дослідження жовчних кислот і будову подібних їм сполук» [17]. Після повернення через рік до США В. Стенлі став асистентом у Рокфеллерівському інституті медичних досліджень (Рокфеллерівський університет) в Нью-Йорку. Але в 1932 р. він перейшов до інститутської лабораторії патології тварин і рослин у Принстоні (штат Нью-Джерсі). Бажання займатися науковою (дослідницькою) роботою переважило, і У. Стенлі в Принстоні розпочав роботу з вивчення вірусів, які спричинюють захворювання в рослин.

Що було відомо на той час про віруси? Ще в 1898 р. нідерландський (голландський) ботанік *Мартінус Уіллем Бейєринк* (нідерл. *Martinus Willem Beijerinck*) повідомив, що *тютюнова мозаїка* — один з видів захворювання — спричинюється носієм інфекції значно меншого розміру, ніж найменша бактерія. Цей носій неможливо побачити під мікроскопом, і М. Бейєринк назвав такий носій «*вірусом*». Природа вірусів була невідомою, але водночас віруси, вірніше хво-

Модель протеїну оболонки вірусу тютюнової мозаїки [18]

роби, які зумовлюються вірусами, були великим лихом протягом всієї історії людства.

Коли В. Стенлі приступив до роботи у 1932 р., було вже відомо, що *віруси здатні до відтворення та мутацій*, тому мають бути живими організмами. Однак на той час здавалося сумнівним, що така маленька субстанція може самостійно дихати, харчуватися і здійснювати інші функції обміну речовин.

Мікробіологія не змогла відповісти на питання стосовно природи та біологічної активності цих незвичайних об'єктів. Розгадування цієї загадки потребувало нових підходів і нових методів. Дуже знаменно, що встановити природу вірусів, зробити перший принциповий крок у створенні науки вірусології вдалося хіміку за освітою, який присвятив себе вирішенню біологічних проблем, американському вченому *Венделлу Мередіту Стенлі*. Хоч він сам багато цікавився проблемою природи вірусів, його вирішальні експерименти були стимульовані результатами досліджень Д. Нортропа і Д. Самнера.

У 1934 р. У. Стенлі вирішив виділити вірус не за традиційною мікробіологічною схемою — виростити його на поживному середовищі, а використати методи виділення та кристалізації ензимів. З тонни листя тютюну, враженого *вірусом тютюнової мозаїки (ВТМ)*, використавши методи ензимології — елюції і осадження різними реагентами, У. Стенлі отримав *декілька грамів голкоподібних кристалів*. Він обробляв їх трипсином і пепсином, які перед тим одержав Джон Нортроп, а також іншими хімічними реагентами (понад 100 реагентів) і дійшов висновку, що *вірус тютюнової мозаїки складається переважно з протеїнів*. Отримані ним кристали вірусу за методом Нортропа можна було розчинити, профільтрувати, ще раз очистити, перекристалізувати і ці процедури не перешкоджали здатності вірусу вражати здорові рослини та розмножуватися в їхніх тканинах (1935).

Повідомлення В. Стенлі про виділення кристалічного життєздатного вірусу спричинило запеклі суперечки — «живий» кристал вважали чимось неймовірним. Але всі подальші контрольні досліди підтвердили справедливість тверджень американського хіміка. У наступному році він виділив із кристалічного вірусу тютюнової мозаїки *нуклеїнову кислоту*, а в 1937 р. двоє англійських вчених *Фредерік Ч. Боуден* і *Норман У. Пайрі* встановили, що вірус тютюнової мозаїки не є чистим протеїном і має в своєму складі 5 *% нуклеїнової кислоти*, тобто є *нуклеопротеїном* — стійкою сполукою протеїну та нуклеїнової кислоти. Надалі вдалося з'ясувати, що *ВТМ має одну нитку рибонуклеїнової кислоти і майже 2200 протеїнових субодиниць, кожна з яких складається із 158 амінокислотних залишків*. Протеїн ВТМ — із перших протеїнів, будову якого вдалося розшифрувати, а також встановити послідовність усіх його 158 амінокислотних залишків.

Під час Другої світової війни В. Стенлі увійшов до складу *Комітету медичних досліджень Науково-дослідного управління США у Вашингтоні*. В наступ-

ні три роки він і його колеги отримали кілька штамів *вірусу грипу і першу протигрипозну вакцину*, за це в 1948 р. В. Стенлі нагородили Почесним дипломом президента США. Фактично він створив нову галузь науки — *молекулярну вірусологію*.

Наукові дослідження В. Стенлі не залишились непоміченими. Так, «*за одержання в чистому стані ензимів і вірусних протеїнів*» Венделлу Стенлі та Джону Нортропу було присуджено половину Нобелівської премії з хімії за 1946 р. Другу половину, як йшлося вище, було присуджено Джеймсу Самнеру. У нобелівській лекції В. Стенлі зазначив, що з часу відкриття вірусу тютюнової мозаїки було виявлено ще понад 300 різних вірусів, включаючи ті, які спричиняють *віспу, жовту гарячку, тропічну лихоманку, поліомієліт, кір, епідемічний паратит (свинку), запалення легенів і звичайну застуду. «Нова галузь дослідження вірусів фактично тільки відкривається,* — додав він, — *і попереду має бути ще багато роботи. Деякі основні ... проблеми, які стосуються відтворення та мутації вірусів, вже набули певної форми. Їх вирішення могло би дати надзвичайно цінну інформацію для біології, хімії, генетики і медицини»*.

Після одержання Нобелівської премії життя і наукову діяльність В. Стенлі пов'язав із факультетом Каліфорнійського університету (Берклі), до якого його запросив президент цього університету *Роберт Спроул* (1948). Це запрошення відіграло вирішальну роль у подальшій кар'єрі В. Стенлі. Ще молодий і дивовижно творчий вчений, він переїхав до Берклі з метою створити лабораторію вірусології, щоб займатись *молекулярною вірусологією*, і залишився там до кінця своєї наукової діяльності. Переїзд до університету дав В. Стенлі можливість зібрати групу молодих учених для проведення фундаментальних досліджень бактеріальних, рослинних і тваринних вірусів.

У створеній лабораторії В. Стенлі керував дослідженнями, спрямованими на подальше з'ясування природи вірусів. Разом з молодими колегами він брав участь у роботах із кристалізації та характеризування *вірусу поліомієліту*, а також у визначенні повної послідовності 158 амінокислотних залишків у протеїні *вірусу тютюнової мозаїки*. Його колега *Хайнс (Гайнс) Френкель-Конрат* встановив, що *протеїнова частина вірусу є тільки «житлом»*, а його *гени знаходяться в рибонуклеїновій кислоті (РНК)*. Після цього стало зрозуміло, чому в попередні 1930-ті роки В. Стенлі не вдалося отримати генетичні зміни у *вірусі тютюнової мозаїки*, впливаючи різними хімічними та біологічними чинниками тільки на його протеїнову структуру.

Переїзд до Берклі розкрив і другий бік видатної кар'єри В. Стенлі — адміністратора освіти, оскільки він був ідеальним лідером. Сотні студентів і докторантів пройшли навчання у Лабораторії вірусології, а потім перейшли на дослідницьку та викладацьку роботу в наукові центри різних країн світу. Його зусиллями було створено потужну *кафедрау вірусології*, якою він керував з часу створення в 1958 р. і до 1964 р., коли її було розширено і вона стала *кафедрою молекулярної біології*. В. Стенлі всіляко сприяв поєднанню викладацької та наукової роботи. Він був зацікавлений у постдокторській освіті, створюючи відмінні умови для досягнення цієї мети в лабораторії вірусології.

Після утворення *кафедри молекулярної біології* в 1964 р. адміністративні обов'язки В. Стенлі було скорочено, і він більше часу присвятив пропаганді

наукових знань. Так, він виступав з лекціями перед населенням, організував цикл лекцій на телебаченні «*Віруси і природа життя*», став почесним членом Національної асоціації письменників науки тощо. Він відіграв важливу роль у формуванні національної та міжнародної політики щодо фундаментальних наукових досліджень на благо людства, сприяв створенню ефективних фундаментальних програм, спрямованих на боротьбу з вірусними захворюваннями. У ході своєї наукової діяльності В. Стенлі переконався, що саме у вірусах полягає причина багатьох онкологічних захворювань людини. На V з'їзді Іспанського біохімічного товариства, який відбувся в Саламанці (Іспанія), він представив доповідь про віруси пухлин. Він також припустив, що віруси були первинною формою життя на Землі.

Слід відзначити громадську діяльність В. Стенлі. Він був членом багатьох комісій і комітетів: з 1951 до 1958 р. був опікуном Міллз-коледжу, а з 1945 р. і до кінця життя — радником Національного інституту здоров'я. Він входив також до складу фахівців-консультантів Комісії з вірусних захворювань при Всесвітній організації охорони здоров'я (1951—1966), до Національної ради з онкологічних захворювань Державної служби охорони здоров'я США (1952—1956) та низки інших комітетів і комісій США.

Окрім Нобелевської премії В. Стенлі нагороджено багатьма американськими та міжнародними нагородами і преміями, йому присуджено почесні ступені низки університетів. Його було обрано членом Національної академії наук США, Американської академії наук і мистецтв, Американського товариства біохіміків, Американської асоціації сприяння розвитку науки, Американського хімічного товариства, Американського філософського товариства та Товариства експериментальної біології, а також іноземним членом наукових організацій Японії, Аргентини та Франції. Багато років він був президентом Американського товариства онкологів тощо [19—26].

В.М. Стенлі був одружений з Меріан Степлз Джей, з якою познайомився, коли навчався в аспірантурі. У них було три доньки і син.

Пішов з життя Венделл М. Стенлі 15 червня 1971 р. у м. Саламанка (Іспанія) від серцевого нападу.

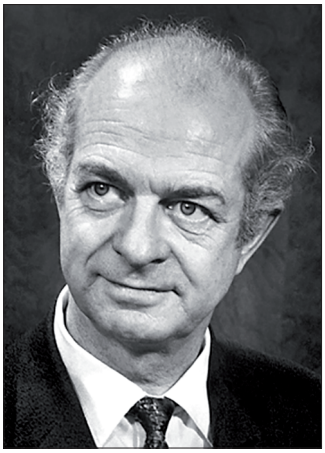
Завершуючи розповідь про американського вченого — хіміка *Венделла Мередіта Стенлі,* який зробив неоціненний внесок у розвиток сучасної біохімії, молекулярної біології та вірусології, а також довів світові, що віруси є фізико-хімічними частинками з деякими властивостями живої матерії, наведемо слова академіка *В.О. Енгельгардта*: «*В. Стенлі можна назвати батьком сучасної вірусології*». Біохімії вірусів він присвятив понад 150 праць. У співавторстві з *Ф. Барнеттом* видав монографію «**Віруси**» (1959), а в співавторстві з *Е. Веленсом* (*Evans G. Valens*) — монографію «**Віруси і природа життя**» («*Viruses and the Nature of Life*», 1961).

Таким чином, нобелівські лауреати з хімії за 1946 р. Д. Самнер, Д. Нортроп і В. Стенлі зробили неоціненний науковий внесок у розвиток таких важливих біологічних дисциплін як біохімія, особливо ензимологія, вірусологія та молекулярна біологія. Прізвища цих нобеліантів золотими літерами вкарбовано в історію природознавства, їхні наукові розробки та досягнення увійшли до підручників з біохі-

мії та вірусології країн усього світу, надихаючи молодь на дослідження таємниць життя.

Наступний крок у дослідженні протеїнів — встановлення їхньої хімічної будови: первинної структури і конформації у просторі поліпептидних ланцюгів. Великий внесок у з'ясування *хімічних зв'язків*, завдяки яким утворюється *вторинна структура та інші рівні організації протеїнів*, зробив видатний хімік XX ст. кристалограф, американський вчений *Лайнус Полінг.* Він одержав Нобелівську премію з хімії в 1954 р. «*за дослідження природи хімічного зв'язку та його використання для встановлення структури складних сполук* (*for his research into the nature of the chemical bond and its application to the elucidation of the structure of complex substances*)». Він є автором *вторинної будови протеїнів — α-спіралі та β-структури.* Але його внесок в розвиток органічної хімії та хімії взагалі значно ширший. У біографії цієї унікальної людини зійшлися майже всі найважливіші події XX ст. (він народився на початку століття і пішов із життя наприкінці нього). З цією людиною та її внеском у науку та мир на планеті Земля познайомимося нижче.

ЛАЙНУС КАРЛ ПОЛІНГ



Лайнус К. Полінг
(1901—1994)

Полінг Лайнус Карл (англ. *Pouling Linus Carl*) народився 28.02.1901 р. у Портленді (штат Орегон, США) в родині сина німецьких емігрантів Германа Полінга та Люсі Ізабель (Дарлінг) Полінг із дореволюційного ірландського роду. На той час його батько, Герман Полінг, працював комівояжером у медичній компанії, а в 1905 р. переїхав до Кондону (штат Орегон), де відкрив аптеку. Саме в цьому містечку Лайнус вперше пішов до школи. Він рано навчився читати і почав «поглинати» книжки: вже в дев'ять років він читав Біблію та ознайомився з теорією еволюції Дарвіна. У 1910 р. родина переїхала до Портленда, де юнак навчався у Вашингтонській середній школі. Коли Лайнусу було лише 9 років його батько помер.

Юний Л. Полінг з дитинства захоплювався наукою: спочатку він збирав комах і мінерали, а в 13 років вирішив стати хіміком. Вже в той час проявлявся його твердий, упертий характер: у школі він відвідував заняття тільки з природничих наук, вважаючи, що знання із суспільних наук він може отримати самостійно з книжок. Тому атестата про закінчення середньої школи він не отримав. У 1917 р. Лайнус вступив до Орегонського державного сільськогосподарського коледжу (пізніше — Орегонський державний університет) у Корваллісі, куди його прийняли без атестата і де він вивчав, переважно, хімічну технологію, хімію та фізику. Для підтримання матеріального стану родини Л. Полінг підробляв тим, що мив посуд, сортував папір, працював у фірмі, яка займалась покриттям доріг. Але одночасно Л. Полінг добре вчився і в 1919 р., коли він був на передостанньому курсі, йому, як дуже обдарованому учню, за-

пропонували штатну посаду викладача на хімічному факультеті. А на останньому курсі він вже став асистентом з хімії, механіки та матеріалів. Серед його студентів на той час була й Ава Хеве Міллер. Обоє справили приємне враження одне на одного й за рік після знайомства побралися.

У 1922 р. Л. Полінг отримав ступінь бакалавра природничих наук з хімічної технології й у тому самому році вступив до аспірантури Каліфорнійського технологічного інституту (Калтех) у Пасадені (Пасадіна, англ. *Pasadena*), де потім пропрацював понад 40 років. Щоб підтримати молодого науковця, дирекція запропонувала невелику стипендію за часткову роботу асистентом. Це був вдалий вибір як для Л. Полінга, так і для Калтеху. Наприкінці життя (1994) Л. Полінг написав: «*Багато років потому... я зрозумів, що в 1922 р. не було в світі іншого місця, в якому б мене підготували краще до моєї кар'єри вченого*». Він був першим у цьому інституті, кого відразу після закінчення взяли на роботу спочатку асистентом, а потім викладачем на кафедрі хімії. У 1925 р. Л. Полінгу присудили докторський ступінь з хімії з «найвищою похвалою» (лат. *summa cum laude*). Протягом наступних двох років він працював дослідником і став членом Національної науково-дослідної ради при Каліфорнійському технологічному інституті, де в 1927 р. отримав звання асистент-професора, в 1929 р. — ад'юнкт-професора, а в 1931 р. — професора з хімії.

У 1926 р. Л. Полінг отримав тільки-но утворену стипендію Гуттенгейма, що дало змогу йому з молодою дружиною провести навчальний 1926/1927 рік в Інституті теоретичної фізики в Мюнхені за вивченням *квантової механіки* під керівництвом *Арнольда Зюммерфельда*. Крім того, він побував у Цюріху в *Ервіна Шредінгера* (нім. *Erwin Schrödinger*) — майбутнього нобелівського лауреата з фізики за 1933 р. [27], та в Копенгагені у *Нільса Бора* (дан. *Niels Bohr*) — нобелівського лауреата з фізики за 1922 р. Знайомство Л. Полінга зі створеною Е. Шредінгером у 1926 р. *квантовою механікою* суттєво вплинуло на його наступні дослідження хімічних зв'язків. Працюючи всі ці роки дослідником у Калтехі, Л. Полінг став прекрасним спеціалістом з *рентгенівської кристалографії*, яку він використовував для дослідження природи хімічних зв'язків у бензолі та інших ароматичних сполуках. У 1928 р. він запропонував *теорію резонансу,* або *гібридизації хімічних зв'язків у ароматичних сполуках*, яка ґрунтувалася на концепції електронних орбіталей у квантовій механіці.

У наступні дванадцять років (з 1927) Л. Полінг видав серію наукових статей, завдяки яким його ім'я стало відомим у світі. На той час Л. Полінг зарекомендував себе як *засновник структурної хімії*, що дало можливість інакше подивитись на будову молекул і кристалів.

Головне наукове досягнення Л. Полінга — *вчення про хімічні зв'язки* — було повністю реалізовано в його книзі «***The Nature of Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals***», яка вийшла в 1939 р.; друге видання з'явилося в 1940 р. (у 1942 і 1944 рр. були надруковані додаткові тиражі другого видання). Пізніше її переклали на десятки різних мов. Наприкінці 40-х років XX ст. праця була всесвітньо відомою, загально визнаною і на довгі роки стала основою численних навчальних курсів із загальної, неорганічної та органічної хімії. В історії хімії навряд чи знайдеться ще більш популярна книга. Повний переклад книги російською мовою мав назву: Л. Полинг «***Природа химической***

связи» (М.: Госхимиздат, 1947) (незрозуміло, чому сама назва є неповною). На сьогодні уявлення Л. Полінга про природу хімічних зв'язків здаються архаїчними, а структурна хімія, для становлення якої Л. Полінг багато зробив, бурхливо розвивається і завойовує все нові й нові рубежі.

Повернемось до досліджень Л. Полінга. У 20-х роках XX ст. у Калтехі з'явився *Т.Х. Морган* (*Thomas Hunt Morgan*), і його роботи вплинули на зацікавленість Л. Полінга біологією. Проте серйозну увагу на біохімію, а саме на біохімію протеїнів, Л. Полінг звернув лише в 1934 р. Унаслідок багаторічних досліджень він сформулював *теорію будови та функції протеїнів, дослідив вплив насичення киснем гемоглобіну на його магнітні властивості, заклав основи структурного аналізу молекул протеїнів.*

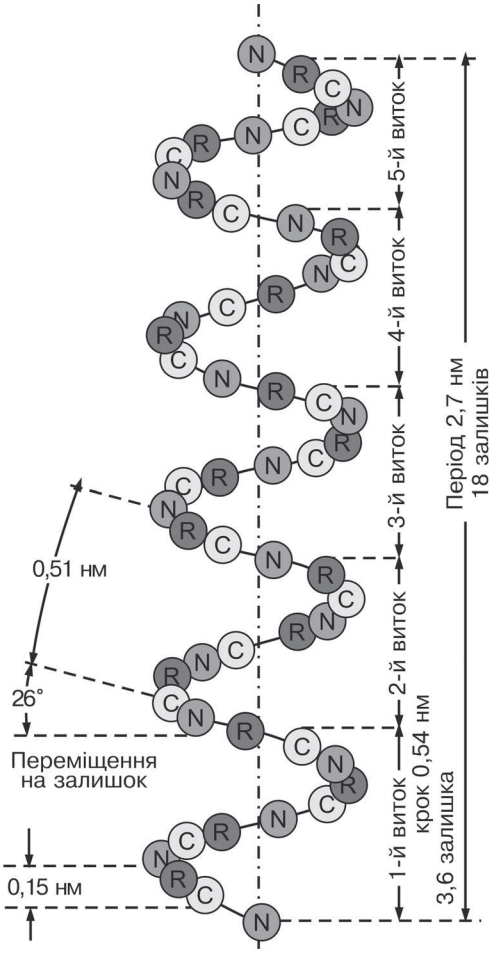
Коли в 1936 р. помер відомий американський хімік Артур Нойєс (*Arthur Noyes*), замість нього деканом факультету хімії й хімічної технології та директором хімічних лабораторій Гейтса і Крелліна в Каліфорнійському технологічному інституті призначили Л. Полінга. В цей час він почав *дослідження атомної й молекулярної структури протеїнів і амінокислот з використанням рентгенівської кристалографії (рентгенографії).* Саме тоді Л. Полінг разом зі співробітником Р.Б. Корі (*R.B. Corey*) встановив кристалічні структури найпростіших амінокислот, але до повного вивчення будови протеїнів було ще далеко. В навчальному 1937/1938 році він був також лектором з хімії в Корнельському університеті в м. Ітака (штат Нью-Йорк).

У 1942 р. Л. Полінг зацікавився питанням взаємодії *антигену з антитілом.* Дослідивши хімічну структуру деяких глобулінів сироватки крові, Л. Полінг дійшов висновку, що *тривимірні структури антигену та його антитіла є комплементарними і, таким чином, «несуть відповідальність» за утворення комплексу антиген—антитіло, тобто антигени можуть бути матрицею для відповідного поліпептиду-антитіла.* Пізніше, в 1947 р., Л. Полінг разом з американським генетиком *Дж.У. Бідлом* (*George Wells Beadle*) з'ясовували механізм, завдяки якому вірус поліомієліту руйнує нервові клітини. Для цієї роботи вони отримали спеціальну субсидію. Ідею комплементарності антигену й антитіла Л. Полінг обговорював також із *Максом Дельбрюком* (нім. *Max Ludwig Henning Delbrück*) — видатним вірусологом і генетиком, який у 1969 р. отримав Нобелівську премію з фізіології або медицини «*за відкриття механізму реплікації та генетичної структури вірусів*».

У 1949 р. Л. Полінг розпочав нову роботу — вивчення *серпоподібної клітинної анемії* (*Sickle cell anemia*). Назва цієї спадкової хвороби, яка часто призводить до летального кінця, пов'язана з тим, що форма еритроцитів хворого змінюється, набуваючи характерного серпоподібного вигляду, при цьому вони втрачають властивість переносити кисень. Л. Полінг виявив неабияку інтуїцію та припустив, що *ця хвороба зумовлена генетичним дефектом у будові глобіну — протеїну гемоглобіну, а саме порушенням амінокислотної послідовності в поліпептидному ланцюзі цього протеїну.* Три роки потому Л. Полінг методом електрофорезу відділив нормальний гемоглобін від дефектного та довів, що в структурі останнього є помилка: один із амінокислотних залишків, а саме *залишок кислої глутамінової амінокислоти в глобіні гемоглобіну замінено іншим залишком нейтральної амінокислоти — валіном.* Це відкриття підтвердило впевненість Л. Полінга в тому, що аномалія гемоглобінів пов'язана зі змінами в їхній протеїно-

вій будові. Пізніше було встановлено, що в молекулі глобіну гемоглобіну людини і вищих тварин у певній послідовності розташовано 574 амінокислотних залишки, а Л. Полінг вперше встановив, що заміна тільки одного з них веде до тяжкої хвороби. Наразі вже відомо понад 50 різних видів аномальних гемоглобінів, які спричинюють різні патологічні стани в людей.

Важливою подією в історії не тільки біохімії протеїнів, а й загальної біохімії була публікація в 1951 р. статті Л. Полінга і Р.Б. Корі стосовно *структури протеїнів*, яка підвела підсумки результатів досліджень довгих 14 років (з 1936). Використавши результати рентгеноструктурних досліджень амінокислот (значення характерних міжатомних відстаней і валентних кутів, величини вандерваальсівських радіусів), Л. Полінг і Р.Б. Корі провели *конформаційний аналіз поліпептидного ланцюга, який є основою структури будь-якого протеїну.* Проаналізувавши протеїни волосся, вовни, м'язів, нігтів та інших тканин, вони з'ясували, що поліпептидний ланцюг у просторі має форму спіралі, яку пізніше назвали *α-спіраль Полінга і Корі.*



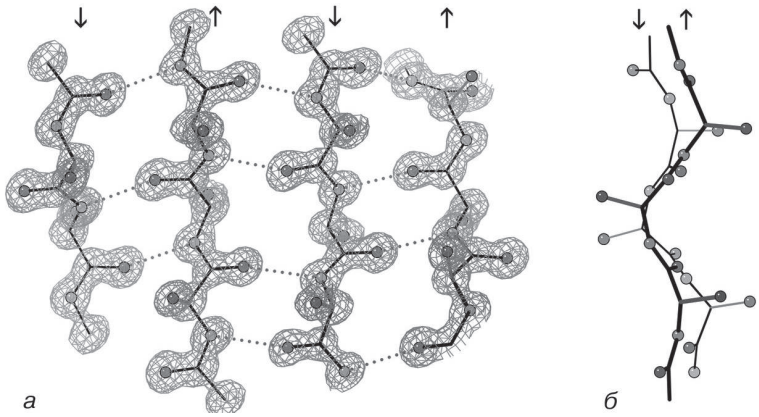
Альфа-спіраль [28]

Основні положення, запропоновані Л. Полінгом для організації поліпептидного ланцюга в просторі, можна визначити так:

1) ланцюг складається з досить жорстких пласких пептидних одиниць — CO—NH– та шарнирів, які їх з'єднують — CHR–; спосіб з'єднання двох послідовних одиниць можна охарактеризувати кутами ψ і ϕ; кут ψ — це поворот певної ланки ланцюга навколо ковалентного зв'язку C—C, а кут ϕ — поворот навколо наступного за нею зв'язку C—N;

2) для з'ясування просторової будови (конформації) основного ланцюга поліпептиду достатньо знати значення кутів ψ і ϕ для кожного з амінокислотних залишків;

3) істотне значення мають два найпридатніших способи сполучення пептидних одиниць (вони мають певні величини цих кутів): періодичне повторення першого типу сполучення веде до утворення α-спіралі, другого — до витягнутої β-структури, де паралельно розміщені β-ланцюги, об'єднані водневими зв'язками, що утворюють β-шар; у стабілізації α-спіралі також беруть участь водневі



Приклад бета-листка з 4-х антипаралельних ниток кристалічної структури ензиму каталази: *а* — вигляд зверху (лінії з крапок — водневі зв'язки між NH і CO в амінокислотах), *б* — вигляд збоку на центральні дві нитки [29]

зв'язки: група CO (n-го) амінокислотного залишку зв'язана водневим зв'язком з групою NH ($n+3$)-залишку.

Отже, на підставі результатів рентгеноструктурних досліджень автори запропонували два варіанти — α-спіраль і β-складчасту структуру — для просторового розміщення поліпептидного ланцюга.

Найхарактернішою для глобулярних протеїнів є α-спіраль з кроком 0,54 нм і діаметром 1,05 нм; на кожний крок спіралі припадає 3,6 амінокислотних залишків, а на один амінокислотний залишок — 0,15 нм довжини спіралі. У стабілізації цієї структури важливу роль відіграють водневі зв'язки, які виникають між атомом водню, з'єднаним з атомом амідного азоту одного пептидного зв'язку, та карбонільним атомом кисню четвертої від нього амінокислоти. Спрямовано ці зв'язки вздовж спіралі.

Структура типу складчастого шару — β-*структура — утворюється із зигзагоподібно розгорнутих поліпептидних ланцюгів, розташованих поряд.* Ця структура формується за рахунок міжланцюгових водневих зв'язків, які з'єднують групи C=O та NH сусідніх поліпептидних ланцюгів.

Л. Полінг одним з перших встановив значення водневих зв'язків для біомолекул: завдяки малій енергії зв'язку та малій енергії активації, що характеризує їхнє утворення і руйнування, водневі зв'язки відіграють важливу роль у реакціях, які відбуваються за нормальної температури. Важливість водневих зв'язків у структурі протеїнів навряд чи можна переоцінити. Тому Л. Полінг писав: «*Втрата нативної конформації руйнує характерні властивості протеїнів... За нагрівання або зміни* pH *розчину поблизу ізоелектричної точки протеїну розгорнуті сегменти кислотних або основних груп бічних ланцюгів переплутуються між собою, об'єднуючи молекули разом, і це веде до утворення згустку*». Тобто Л. Полінг, мабуть, першим запропонував сучасну теорію структури нативних і денатурованих протеїнів.

Саме тоді *Л. Полінг ввів і поняття про чотири різні рівні будови молекули протеїну*: первинна структура — це послідовність амінокислотних залишків у

поліпептидному ланцюзі, вторинна — наявність і співвідношення характерних фрагментів (таких, як α-спіраль і β-структура), третинна — просторове розміщення атомів (або хоча б амінокислотних залишків) завдяки їх просторовим координатам і четвертинна — притаманна тільки протеїнам, які складаються з декількох субодиниць (субмолекул), тобто розміщення цих субмолекул у просторі щодо одна одної. Ці поняття були сформульовані ще до появи даних повного рентгеноструктурного аналізу протеїнів. А вже незабаром, у 1960 р., з'явились експериментальні підтвердження, коли *М. Перуц* (нім. *Max Perutz*) встановив третинну структуру *гемоглобіну*, а *Дж. Кендрю* (*John Kendrew*) — *міоглобіну*, за що в 1962 р. вони отримали Нобелівську премію з хімії. Але про це йтиметься нижче.

Видатні досягнення Лайнуса Полінга в галузі дослідження хімічних зв'язків у біополімерах були достойно оцінені в 1954 р. Нобелівським комітетом, який удостоїв його премії з хімії «*за дослідження природи хімічного зв'язку і його використання для встановлення структури складних сполук*». У нобелівській лекції Л. Полінг зазначив, що майбутні хіміки «...спиратимуться на нову структурну хімію, зокрема на точно визначені геометричні взаємовідношення між атомами в молекулах і суворе використання нових структурних принципів, і що завдяки цій технології буде досягнуто значного прогресу у вирішенні проблем біології та медицини хімічними методами».

Л. Полінг не належав до тих вчених, які відсиджувалися в «*башті зі слонової кістки*» — його завжди цікавили питання впливу науки на життя людей і особливо моральна відповідальність вчених за свої здобутки. Він був відомим громадським діячем. Хоча в молоді роки, які припали на Першу світову війну, Л. Полінг був пацифістом, під час Другої світової війни вчений активно включився в боротьбу з фашизмом і зайняв офіційний пост члена Національної науково-дослідної комісії з оборони США. Він працював над створенням нового ракетного палива та над пошуком нових джерел кисню для підводних човнів і літаків, а також для підтримки новонароджених і людей під час хірургічних операцій з анестезією, багато зробив для розробки замінників крові для військових і цивільних. Внесок Л. Полінга в перемогу над фашизмом було відзначено державною медаллю «За видатні заслуги перед Сполученими Штатами», яку йому особисто вручив Президент Г. Трумен у 1948 р.

Але після атомного бомбардування Сполученими Штатами в 1945 р. міст Хіросима і Нагасакі в Японії Л. Полінг разом з А. Ейнштейном та іншими відомими в світі вченими долучився до боротьби за припинення випробувань і заборону виробництва ядерної зброї. Він підкреслював генетичну небезпеку для людства випробувань в атмосфері, виступав проти розробки водневої бомби в США, став одним з активних засновників *Пагво́шського руху вчених* (*Pugwash Conferences on Science and World Affairs*) за наукову співпрацю та міжнародну безпеку. Проти ядерних випробувань виступило 11 тис. вчених із 49 країн світу, серед яких було 52 нобелівські лауреати. Діяльність Л. Полінга сприяла тому, що спочатку всі ядерні держави добровільно припинили ядерні випробування в атмосфері, а в 1963 р. підписали відповідний договір.

Під час так званої «холодної війни» антивоєнна діяльність Л. Полінга суперечила офіційній лінії США; його двічі викликали до Комісії з національної безпеки, і він став «невиїзним» через свої політичні погляди. Тому нагород-

ження його Нобелівською премією миру в 1963 р. (за 1962) було для Л. Полінга великою моральною підтримкою. У вступній промові від імені Норвезького Нобелівського комітету *Гуннар Ян* заявив, що Л. Полінг «*...постійно проводив компанію не тільки проти випробувань ядерної зброї, не тільки проти розповсюдження цих видів озброєння, не тільки проти їх використання, а й проти будь-яких воєнних дій для вирішення міжнародних конфліктів*». А в нобелівській лекції, яку Л. Полінг назвав «*Наука і мир*» («Science and Peace»), він висловив сподівання, що договір про заборону ядерних випробувань покладе «*...початок серії договорів, які приведуть до створення нового світу, де можливість війни буде назавжди виключена*».

У 1963 р., коли Л. Полінг отримав другу Нобелівську премію, він пішов з Каліфорнійського технологічного інституту і став професором-дослідником у Центрі вивчення демократичних інститутів у Санта-Барбарі (штат Каліфорнія). Через два роки він звільнився і став професором хімії Стенфордського університету в Пало-Альто (штат Каліфорнія).

Ще на початку 60-х років XX ст. Л. Полінг зацікавився проблемою наркозу і запропонував свою гіпотезу відносно *механізму дії анестетиків*. Саме тоді його зацікавила можливість використання *вітаміну С* та інших вітамінів для лікування і профілактики різних захворювань — від застудних до онкологічних. Вчений і його дружина самі регулярно приймали вітамін С (3 г аскорбінової кислоти за добу). У монографії «**Вітамін С і застуда**» («*Vitamin C and the Common Cold*»), опублікованій у 1973 р., Л. Полінг узагальнив практичні свідчення й теоретичні викладки на підтвердження терапевтичних властивостей вітаміну С. На початку 1970-х років Л. Полінг сформулював теорію «*ортомолекулярної медицини*» (термін Л. Полінга), *основна ідея якої полягала у використанні вітамінів, амінокислот та інших присутніх в організмі речовин для коректування складу внутрішнього середовища та лікування захворювань.*

Для продовження досліджень терапевтичних властивостей вітамінів, зокрема і для лікування онкологічних захворювань, Л. Полінг у 1973 р. створив *Науковий інститут ортомолекулярної медицини* в Каліфорнії. Через деякий час його перейменували в *Науково-дослідний інститут науки і медицини імені Лайнуса Полінга*. Протягом перших двох років він був його президентом, а потім став професором. У 1979 р. Л. Полінг опублікував книгу «**Рак і вітамін С**» («*Cancer and Vitamin C*»), в якій стверджував, що використання значних доз вітаміну С подовжує життя і полегшує стан хворих на певні види раку. Правда, авторитетні дослідники онкологічних захворювань не вважають аргументи Л. Полінга переконливими. Але той факт, що Л. Полінг, який із 38 років страждав тяжкими хронічними захворюваннями, до 93 років зберіг творчу активність, бадьорість, ентузіазм, вогонь у серці й в очах, примушує повірити, що він знав «*Як прожити довше і почуватися краще*» («*How to Live Longer and Feel Better*») — це назва його останньої книги, яка вийшла в 1986 р. Усього Л. Полінг написав понад тисячі наукових статей, а також багато монографій і підручників.

Лайнус Полінг — видатний хімік XX ст., якого за широтою інтересів і творчий доробок іноді порівнюють з Леонардо да Вінчі, пішов з життя 19 серпня 1994 р. на своєму ранчо в Біг Сур (Каліфорнія). За результатами анкетування, проведеного британським журналом «New Scientist», серед кількох сотень

видатних вчених сучасності *Л. Полінг увійшов до двадцяти найвидатніших діячів науки всіх часів — поряд з Галілеєм, Ньютоном, Дарвіном, Ейнштейном.*

Ім'ям Полінга названо астероїд. В Орегоні є Інститут Лайнуса Полінга, де зберігають рукописи науковця, доступні для вивчення й аналізування.

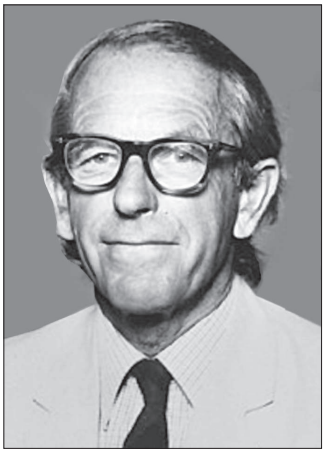
Окрім двох Нобелевських премій Лайнуса Полінга нагороджено багатьма американськими і міжнародними нагородами та преміями; йому присуджено почесні ступені низки університетів. Полінга було обрано членом Лондонського королівського товариства, Американського філософського товариства, Баварської академії наук, Національної академії наук США, International Academy of Quantum Molecular Science, Французької академії наук, Американської академії наук і мистецтв, Академії наук СРСР, Королівського товариства Единбурга, Паризької медичної академії тощо [30—37].

Насамкінець, зазначимо, що на відміну від більшості вчених, які створюють для себе певну наукову нішу, Лайнус Полінг мав надзвичайно широкий діапазон інтересів — *квантова механіка, кристалографія, структурна хімія, анестезія, імунологія, медицина, еволюція тощо.* І в усіх цих галузях, особливо в суміжних, він бачив, де заховано проблеми і, спираючись на останні наукові факти і свою феноменальну пам'ять, робив важливі й вирішальні відкриття. *Найвідомішим, особливо для біохіміків, він став завдяки вивченню хімічних зв'язків, відкриттю основних елементів вторинної структури протеїнів — α-спіралі і β-структури, а також унаслідок першої ідентифікації молекулярного (генетичного) захворювання — серпоподібноклітинної анемії.* Л. Полінга можна, по праву, назвати одним із засновників молекулярної біології в прямому розумінні цього терміна. Він займався нею в той час, коли цього поняття ще не існувало. Він близько підійшов до визначення структури «подвійної спіралі» ДНК, хоча Джеймс Уотсон (*James Watson*) і Френсіс Крік (*Francis Crick*) випередили його. У житті цього універсального вченого, мислителя-гуманіста віддзеркалились як найважливіші наукові відкриття XX ст., так і його політичні, інколи трагічні колізії.

Початок і середина XX ст. ознаменувались роботами ще одного видатного британського біохіміка і молекулярного біолога, двічі лауреата Нобелівської премії з хімії (1958 і 1980) за роботи в галузі білкової хімії та хімії нуклеїнових кислот *Фредеріка Сенгера*. Він є одним із чотирьох дослідників (разом з *Лайнусом Полінгом*, *Марією Кюрі* та *Джоном Бардіном*), які отримали Нобелівську премію двічі, і другим, який отримав премію в одній категорії (Джон Бардін отримав дві премії з фізики). Серед інших нагород Сенгера варто відзначити також премію *Альберта Ласкера* за фундаментальні дослідження у галузі медицини (1979).

ФРЕДЕРІК СЕНГЕР

Фредерік Сенгер (англ. *Frederick Sanger*) народився 13 серпня 1918 р. у селищі Рендкомб графства Глостершир (Велика Британія). Він був другим сином у родині Фредеріка Сенгера та Цецилії (Cicely) — доньки текстильного магната. Батько був практикуючим лікарем. Під його впливом та, навіть більше, під впливом свого старшого брата Теодора Фредерік рано почав цікавитись біологією та пройнявся повагою до цієї науки та її наукових методів досліджен-



Фредерік Сенгер
(1918—2013)

ня. Початкову та середню освіту Фредерік здобув у школі Брайанстоун в Дорсеті та коледжі Святого Джона (Іоанна) в Кембриджі. За власною оцінкою, він належав до категорії учнів «*вище середнього, але не найвищого рівня*». Розпочинаючи навчання в коледжі, Фредерік мав намір присвятити себе вивченню медицини, однак перед вступом до університету вирішив сконцентрувати зусилля та здібності на досягненні ширшої мети, ніж та, що була пов'язана з професією батька, а саме — на науковій діяльності. Тому він вступив до Кембриджа, де почав виявляти неабиякий інтерес до біохімії, вперше почувши про цю науку від *Ернеста Болдвіна* та інших співробітників відділу біохімії, нещодавно створеного Ф. Гопкінсом. Як сподівався Ф. Сенгер, саме тут він міг здобути необхідні фундаментальні знання, що слугуватимуть йому науковим підґрунтям для розуміння суті живої матерії та подальшого вирішення багатьох проблем у галузі медицини. Багато років потому він написав: «*Мені здавалось, що це був шлях до дійсного розуміння живої матерії та для розроблення більш наукових засад з метою вирішення багатьох проблем, що стояли перед медициною*».

Отримавши у 1939 р. ступінь бакалавра природничих наук Британської академії, він залишився в університеті ще на один рік для подальшого поглибленого вивчення курсу біохімії, вразивши своїх учителів (та й самого себе) тим, що одержав найвищі бали на іспитах. Під час Другої світової війни Фредерік відмовився від проходження служби в діючій армії з політичних і релігійно-етичних мотивів (він був квакером), і йому дозволили продовжити навчання в аспірантурі для здобуття ступеня доктора філософії. Докторський ступінь він отримав у 1943 р. за роботу *з вивчення метаболізму лізину* та вирішення практичної проблеми, що стосувалася ролі азоту в клітинах томата, виконану у відділі біохімії разом із *А. Ньюбергером*. Останній вважав, що Ф. Сенгер був першим, хто навчив його дослідницькій роботі, і не тільки в технічному аспекті, а й взагалі, визначивши її як життєвий шлях, і цій людині він багато чим завдячує.

Здобувши докторський ступінь, Ф. Сенгер увійшов до дослідницької групи, якою керував Е.Ч. Чібналл (*A.C. Chibnall*), що замінив Ф. Гопкінса на посаді професора біохімії в Кембриджі (1943). Дослідницька група під його керівництвом у той час займалась дослідженням хімії протеїнів, зокрема *структурою інсуліну*. Ф. Сенгер, починаючи працювати разом з А. Чібналлом, займався ідентифікацією *вільних аміногруп в інсуліні*. Це був час особливо успішний для хімії протеїнів. Було розроблено нові методики для фракціонування біополімерів, з'явилася реальна можливість визначити точну хімічну структуру цих фундаментальних компонентів живої матерії.

Розпочати роботу з визначення протеїнової структури також спонукав інтерес Ф. Сенгера до методів хроматографії, які були розроблені британськими біохіміками Арчером Мартіном (*Archer Martin*) і Річардом Сінгом (*Richard*

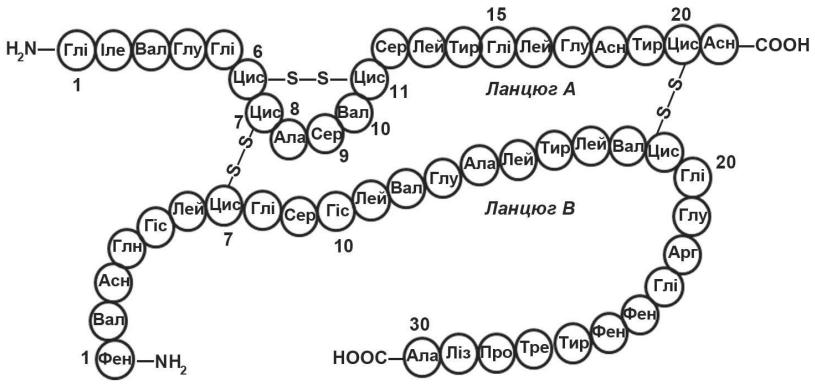
Synge) — нобелівськими лауреатами з хімії за 1952 р., про яких йшлося раніше [38]. Використовуючи як модель для дослідження інсулін, розмір молекули якого є досить малим і який можна одержати у великій кількості, *Ф. Сенгер розробив новий метод аналізу структури протеїнів і показав, що молекула інсуліну складається з двох поліпептидних ланцюгів, які з'єднані в одній молекулі двома дисульфідними зв'язками.* Ланцюг А має 21 амінокислотний залишок, а ланцюг В — 30. Йому знадобилося майже десять років для того, щоб остаточно ідентифікувати 51 амінокислоту в молекулі цього протеїнового гормону.

У чому ж полягає розроблений Ф. Сенгером новий метод? Ще в 1945 р. він повідомив, що в м'яких лужних умовах 2,4-*динітрофторбензол* може приєднуватись до азоту незарядженої вільної α-аміногрупи амінокислоти в протеїнах значно сильнішим зв'язком, ніж пептидний. Після цього протеїн можна розщипити кислотним гідролізом на складові амінокислоти з руйнуванням пептидного зв'язку, а амінокислоти, зокрема з динітрофенолом (динітробензолом), можна визначити хроматографічним методом. Утворення динітрофенольної похідної амінокислоти свідчить про її присутність у N-кінці. Цей метод назвали *методом Сенгера.* На початку дослідження інсуліну Ф. Сенгер виявив дві вільні N-кінцеві амінокислоти і *зробив висновок, що кожна молекула інсуліну має два різні поліпептидні ланцюги.* У 1949 р. *він показав, що ці два ланцюги зв'язані між собою двома дисульфідними зв'язками.*

Дослідження щодо встановлення послідовності амінокислот у ланцюгах Ф. Сенгер проводив разом з австрійським вченим *Гансом Туппі* (нім. *Gans Tuppi*), який приїхав з Відня. З цією метою вони спочатку використовували кислотний гідроліз, а потім виявили, що різні протеолітичні ензими діють специфічно. У 1950 р. дослідники встановили послідовність тридцяти амінокислот у довгому ланцюзі (В) і тільки в 1953 р. Ф. Сенгер повністю встановив послідовність 21 амінокислоти в короткому ланцюзі (А). *У 1955 р. Ф. Сенгер представив остаточну структуру дволанцюгової молекули інсуліну бика. Це була перша молекула протеїну, в якій повністю з'ясовано послідовність амінокислот, тобто показана його* ***первинна структура***. Ці роботи стали також основою для одержання синтетичного інсуліну та інших гормонів.

У 1958 р. Фредеріку Сенгеру було присуджено Нобелівську премію з хімії «*за його роботу зі структури протеїнів, особливо інсуліну* (*for his work on the structure of proteins, especially that of insulin*)». У нобелівській лекції Ф. Сенгер підкреслив велике практичне значення проведеної ним роботи: «*Встановлення структури інсуліну, безперечно, відкриває шлях до дослідження інших протеїнів. Можна також сподіватись, що вивчення протеїнів допоможе виявити зміни, які відбуваються в організмі під час хвороби, і що наші зусилля можуть принести людству велику практичну користь*». Цим відкриттям Ф. Сенгер дав можливість заглянути «всередину» молекули протеїну і тим самим відкрив нову еру в розвитку сучасної біохімії — хімії протеїнів.

Нобелівська премія мала дуже важливе значення для подальшої наукової кар'єри Ф. Сенгера. Його залишили в Кембриджі, де він сконцентрував зусилля на суто фундаментальних дослідженнях, уникаючи, за можливості, викладацької та адміністративної роботи. Такий напрям професійної діяльності дав



Первинна структура інсуліну бика [39]

Ф. Сенгеру змогу повірити в свої сили та з подвоєною енергією розпочати наступну роботу, остаточно ствердивши себе на обраному ним життєвому шляху. Завдяки цьому успіху він також отримав краще експериментальне обладнання і, що важливіше, залучив до своєї роботи багатьох здібних колег.

До 1943 р. Ф. Сенгер не отримував жодної платні. Фактично його утримувала мати, яка була донькою досить багатого промисловця. З 1944 до 1951 р. Ф. Сенгер обіймав посаду, яка давала йому змогу проводити досліди з експериментальної медицини, а з 1951 р. його було зараховано в штат Медичної вченої ради Кембриджа.

Другу Нобелівську премію Ф. Сегнер отримав у 1980 р. за цикл фундаментальних досліджень із біохімії нуклеїнових кислот. Половину премії він розділив із *Уолтером Гільбертом* (*Walter Gilbert*), а другу половину отримав *Пауль (Пол) Берг* (*Paul Berg*). Першим автором у цьому списку Нобелівських лауреатів був П. Берг. *У. Гілберт і Ф. Сенгер отримали премію за цикл робіт із визначення послідовності нуклеотидів ДНК вірусу.*

Цю роботу було розпочато ще в 1962 р., коли Ф. Сенгер перейшов до новоствореної *Лабораторії молекулярної біології* в Кембриджі, якою керував *Макс Перуц* (нім. *Max Perutz*) і в якій працювали такі видатні вчені, як *Ф. Крік*, *Дж. Кендрю*, *Г. Хакслі* та *А. Клаг.* В оточенні цих дослідників у Ф. Сенгера з'явився інтерес до вивчення нуклеїнових кислот. Хоча він і відчував труднощі через різку зміну наукової тематики — від протеїнів до нуклеїнових кислот, однак *його інтерес до проблеми визначення первинної послідовності біомолекул — секвенування (sequencing) залишався незмінним.* Насправді, ця проблема була в центрі його професійної діяльності ще з 1943 р. через її актуальність, наукову привабливість і впевненість у тому, що *знання в цій галузі можуть дати більше інформації, необхідної для розуміння основ структури та функціонування живої матерії.* Суть його роботи з вивчення нуклеїнових кислот у цей період була резюмована у нобелівській лекції. Ф. Сенгер не раз наголошував, що успіхові в цій роботі він завдячує не стільки самому собі, скільки своїм висококваліфікованим співробітникам. Більшість із них були студентами та аспірантами, що працювали в лабораторії протягом кількох років; з ними Фредерік набував не-

обхідного наукового досвіду й ідей, але з особливою пошаною ставився до своїх постійних колег — *Б. Бареля, А. Каулсона* та *Г. Броунлі*, які також зробили величезний внесок у розроблення нових методів дослідження.

Після завершення роботи з інсуліном Ф. Сенгер послідовно розробляв різні інші методи дослідження протеїнів і, особливо, активних центрів деяких ензимів, а на початку 60-х років XX ст. розробив методи визначення невеликих послідовностей РНК. *Кульмінацією цієї роботи стало створення в 1973 р. дидезоксидної методики для секвенування ДНК.* Цей порівняно швидкий метод було застосовано в 1977 р. для визначення послідовності ДНК *бактеріофага fx174*, що складається із 5 375 нуклеотидів, *мітохондріальної ДНК людини* (16 338 нуклеотидів) і *бактеріофага* λ (48 500 нуклеотидів). Надалі метод вдосконалили та автоматизували для визначення послідовностей геному людини (3 більйони нуклеотидів). Результати роботи з розроблення методу було опубліковано в 1977 р. у PNAS [40]. Ця праця Сенгера мала вирішальне значення для виникнення та подальшого розвитку науки — молекулярної біології.

Який саме аналітичний метод встановлення нуклеотидної послідовності в ДНК розробив Ф. Сенгер? Запропонована ним процедура полягала в тому, що подвійний ланцюг ДНК розбивався на одинарні ланцюги (вони називалися стренги) і кожний зразок починали відновлювати до первинної послідовності подвійного ланцюга, виходячи з шаблону одинарного ланцюга.

До одноланцюгової ДНК-матриці додається радіоактивно мічений праймер, повний *набір дезоксинуклеозидтрифосфатів (dNTP), ДНК-полімераза та невелика кількість дидезоксинуклеозидтрифосфату одного із чотирьох типів (наприклад ddATP).* Дидезоксинуклеотид відрізняється тим, що містить атом Н замість ОН-групи не тільки при 2-му, а й при 3-му атомі пентози. Включення такого нуклеотиду в ланцюг, що синтезується, призводить до зупинки подальшого зростання ланцюга внаслідок відсутності 3,ОН-групи на його кінці. Оскільки ddATP присутній у невеликій кількості, така подія буде відбуватися в усіх точках ланцюга, де аденін розташований напроти тиміну в складі матриці. Денатурацією продуктів реакції отримують набір мічених одноланцюгових фрагментів від праймера до кінцевого аденіну. Довжина цих фрагментів у нуклеотидах визначить порядковий номер аденіну в складі ланцюга.

З метою визначення довжини фрагментів проводять *гель-елетрофорез у денатуруючих умовах*, на сусідні лунки гелю наносять також продукти синтезу в присутності інших дидезоксинуклеотидів. Після електрофорезу відбувається візуалізація смуг; розподіл смуг дає змогу прочитати послідовність азотистих основ.

В іншому методі секвенування — методі Максама–Гілберта (*Allan Maxam, Walter Gilbert*) — замість ензиматичного синтезу застосовували хімічне розрізання ланцюга на нуклеотиди певного типу. Отримані фрагменти різної довжини так само розділяли методом електрофорезу.

Сьогодні метод Сенгера використовується в роботі автоматичних *секвенаторів*, в яких замість радіоактивномічених застосовуються *флуоресцентномічені праймери*. Для кожної з чотирьох реакцій беруть чотири різні флуоресцентні мітки, котрі випромінюють світло в різних спектральних діапазонах. Продукти всіх чотирьох реакцій разом наносять на гель для електрофорезу. Скануван-

ня гелю після електрофорезу лазерним променем, що збуджує флуоресценцію, дає змогу ідентифікувати продукти різних реакцій, тобто різні кінцеві нуклеотиди, і, таким чином, зразу прочитати послідовність.

Цей метод визначення нуклеотидної послідовності ДНК є швидким, досить простим, недорогим і надійним. Окрім того, що нуклеотидна послідовність фрагмента ДНК є його вичерпною характеристикою на молекулярному рівні, вона дає можливість також ідентифікувати кодувальну ділянку, підібрати потенційні праймери для полімеразної ланцюгової реакції, виявити мутаційні зміни в гені. *Можливість прямого секвенування стала справжньою революцією в дослідженні молекулярних основ різних хвороб людини, а також у розробленні їх діагностики та лікуванні.*

Методом секвенування в 1995 р. розшифрували перший ген бактерії *Haemophilus influenza*, в 1996 р. — геном евкаріотичної клітини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, в 1998 р. — геном нематоди *Caenophabditis elegans.* У 1990 р. розпочався проєкт «*Геном людини*», який завершився в 2003 р., а 27 травня 2004 р. було опубліковано майже повну послідовність (92 %) нуклеотидів у геномі людини. І все це зроблено ще за життя Фредеріка Сенгера.

Як відомо, створення нових методів є необхідною передумовою для розвитку будь-якої галузі науки. Вони дають можливість отримувати нову, недоступну раніше інформацію, що, в свою чергу, сприяє глибшому розумінню сутності спостережуваних явищ, і спонукають до подальших досліджень, які породжують нові відкриття. Що стосується молекулярної біології, то рушійною силою її стрімкого розвитку стали нові потужні методи, серед яких передусім слід назвати саме *метод секвенування ДНК Сенгера*.

У 1980 р. *Фредерік Сенгер* і *Волтер Гілберт* отримали половину Нобелівської премії з хімії «*за внесок у встановлення послідовностей основ у нуклеїнових кислотах* (*for their contributions concerning the determination of base sequences in nucleic acids*)». Другу половину премії було присуджено *Полу Бергу* «*за фундаментальні дослідження біохімії нуклеїнових кислот, особливо рекомбінантних ДНК* (*for his fundamental studies of the biochemistry of nucleic acids particular regard to recombinant DNA*)». «*Ці троє вчених*, — сказав у промові від імені Шведської королівської академії наук Б.Г. Мальстрем, — *зробили можливим глибоке проникнення в наше розуміння взаємозв'язку між хімічною структурою та біологічною функцією генетичного матеріалу*». Технології, розроблені цими нобеліантами та їхніми колегами, дали змогу не тільки оперувати генами для створення нових фармацевтичних препаратів, таких як *інтерферон і гормони росту*, а й вперше так глибоко зануритись у молекулярну біологію вищих організмів. Це було початком нового наукового напряму — *генної інженерії.*

Після завершення у 1983 р. наукової кар'єри більшість часу Фредерік Сенгер проводив у своєму саду. Вірним другом та помічником у тій частині його життя, що не пов'язана з наукою, була його дружина Маргарет Джоан. Фредерік Сенгер одружився з Маргарет Джоан Хоув у 1940 р. Хоча дружина дослідника не займалася науковою діяльністю, вона мала на його роботу більший вплив, ніж будь-хто, забезпечуючи мир та злагоду в родині. У 1943 та 1946 р. у них народилося двоє синів — Робін та Пітер, а в 1960 р. донька — Саллі Джо-

ан. Окрім основної роботи Ф. Сенгер виявляв неабиякий інтерес до садівництва, а також до веслування в затишних водоймах.

Ф. Сенгер пішов із життя 19 листопада 2013 р. у віці 95 років у Кембриджі. За відгуками більшості його знайомих, Фредерік Сенгер завжди був справжнім джентльменом, винятково ввічливою, привітною, люб'язною та чарівною людиною.

Пам'ять Сенгера увічнено створенням у 1992 р. організацією Wellcome Trust разом з Британською Радою з медичних досліджень Інституту Сенгера (*The Wellcome Trust Sanger Institute*) — геномного дослідницького центру в Кембриджширі з метою дослідження геному людини та інших організмів. Названо його на честь Фредеріка Сенгера.

Ф. Сенгер був удостоєний численних нагород, серед яких: медаль Кордей—Моргана і премія Британського хімічного товариства (1951), премія Альфреда Бензонса Фонду Альфреда Бензонса (1966), медаль Королівського товариства (1969), щорічна нагорода Гарднерівського фонду (1971 і 1979), медаль Коплі Лондонського королівського товариства (1977), премія Альберта Ласкера за фундаментальні медичні дослідження (1979). Також він був почесним членом Американського товариства біохіміків і Національної академії наук США, мав почесні ступені університетів Лестера та Страсбурга, а також Кембриджа й Оксфорда тощо [41—45].

Завершуючи оповідь про Фредеріка Сенгера — видатного вченого, двічі лауреата Нобелівської премії, зазначимо, що він уперше припустив наявність упорядкованості в структурі протеїнів і *був першим серед дослідників, хто визначив первинну амінокислотну послідовність протеїну*. При цьому Ф. Сенгер довів, що впорядкованість структури протеїну має аналогію з послідовністю генів у ДНК, і тому вона має бути підпорядкована таким самим закономірностям. Він також досяг вагомих результатів у розробленні нових методів визначення лінійної послідовності амінокислот у протеїнах, які згодом використав *для встановлення повної амінокислотної послідовності двох поліпептидних ланцюгів А та В інсуліну*. Він з'ясував, що протеолітичні ензими можуть розривати пептидні зв'язки тільки між певними амінокислотними залишками.

Роботи Ф. Сенгера мали величезний вплив на розвиток біохімії і, особливо, на розвиток нового наукового напряму — *молекулярної біології*. Запропоновані ним методи визначення первинної структури протеїнів і нуклеїнових кислот допомогли біохімікам та молекулярним біологам визначити структуру багатьох протеїнів і нуклеїнових кислот, а також започаткували *генну інженерію*.

Фредерік Сенгер першим встановив, що протеїни не є сумішшю споріднених сполук, вони є хімічними речовинами з унікальною структурою і кожне місце в поліпептидному ланцюзі займає певна амінокислота. Але залишалося нез'ясованим питання, яким же чином ця протеїнова молекула розміщується в просторі. Відповіли на це складне питання англійські біохіміки *Макс Ф. Перуц* (*Перутц*) і *Джон К. Кендрю*, які рентгеноструктурним методом встановили будову протеїнів гемоглобіну та міоглобіну в просторі і яким у 1962 р. було присуджено Нобелівську премію з хімії «*за дослідження структури глобулярних протеїнів* (*or their studies of the structures of globular proteins*)».

МАКС Ф. ПЕРУЦ

Англійський біохімік, молекулярний біолог і кристалограф австрійського походження *Макс Фердинанд Пéруц* (Перутц) (нім. *Max Ferdinand Perutz*) народився 19 травня 1914 р. у Відні (Австро-Угорщина) в родині Х'юго та Адель (Голдсміт) Перуц. Батьки походили з багатих родин текстильних фабрикантів і хотіли, аби Макс вивчав юриспруденцію та в майбутньому займався родинним бізнесом. Але він зацікавився хімією, ще навчаючись у середній школі. Тому в 1932 р. вступив до Віденського університету спочатку на відділення неорганічної хімії, проте швидко зрозумів, що неорганічна хімія йому нецікава, і перейшов на відділення органічної хімії. Саме там, вивчаючи органічну хімію, молодий Перуц уперше почув про дослідження в галузі рентгенівської кристалографії, які тоді проводилися в Кембриджському університеті. Після закінчення університетської освіти у Відні М. Перуц у 1936 р. вирушив до Кембриджа, щоб працювати у всесвітньо відомого фізика-кристалографа *Джона Десмонда Бернала* (*John Desmond Bernal*) у Кавéндиській лабораторії (*Cavendish Laboratory*).

Макс Ф. Перуц (1914—2002)

Метод рентгенівської кристалографії започаткував ще в 1912 р. *Макс фон Лауе* (нім. *Max von Laue*) — нобелівський лауреат з фізики в 1914 р. («*за відкриття дифракції рентгенівськими променями на кристалах*»). І вже через два роки *сер Вільям Генри Брегг* (*Sir William Henry Bragg*) і його син *сер Вільям Лоренс Брегг* (*Sir William Lawrence Bragg*) — нобелівські лауреати з фізики у 1915 р. «*за дослідження кристалів за допомогою рентгенівських променів*» — цим методом досліджували достатньо прості кристали, такі як хлорид натрію, що складаються всього з кількох видів атомів. Але Дж. Бернала цікавили складніші структури — *протеїни*, і він сподівався, що дослідження *методом рентгенівської кристалографії* дасть змогу зрозуміти функцію конкретних протеїнів. Цією проблемою зайнявся і М. Перуц, який добре оволодів *методом дифракції рентгенівських променів* у Дж. Бернала та фізика *Ісидора Фанкюхена* і розпочав дослідження кристалів гемоглобіну — глобулярного протеїну еритроцитів крові, що переносить кисень. Зазначимо, що в структурі гемоглобіну є непротеїнова частина — *гем* і протеїн *глобін*.

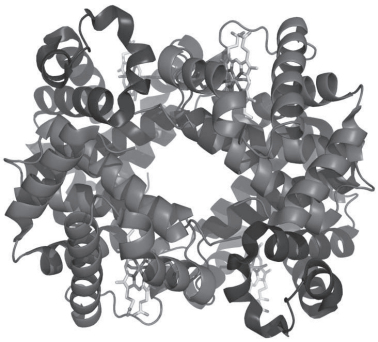
У 1938 р. Дж. Бернал пішов з університету, а через рік М. Перуц лишився фінансової підтримки батьків через анексію Австрії нацистами. Саме тоді Вільям Лоренс Брегг (син), який незадовго до того почав також працювати в Кембриджському університеті, допоміг йому отримати субсидію фонду Рокфеллера. Завдяки цій субсидії М. Перуц залишився асистентом-дослідником у В.Л. Брегга і в 1940 р. отримав докторський ступінь. Але через рік його було інтерновано до Канади як підданого ворожої держави. Проте його інтерес до кристалічних властивостей льодовиків сприяв тому, що в 1943 р. його призначили співробітником секретного проєкту союзників, у рамках якого досліджу-

валася можливість використання льодовиків для побудови аеродромів (літовищ). Однак цей проєкт ніколи не було реалізовано.

Після закінчення Другої світової війни М. Перуц отримав стипендію від компанії «*Imperial Chemical Industries*» для проведення досліджень і повернувся до Кавéндиської лабораторії для подальшого вивчення *гемоглобіну*. Через два роки, коли строк виплати стипендії закінчився, його призначили керівником *групи молекулярної біології* в Кембриджському університеті, створеної Медичною науково-дослідною радою в 1947 р. Спочатку в М. Перуца був тільки один колега *Джон К. Кендрю*, який на той час готував докторську дисертацію, досліджуючи рентгенівським методом кристали *міоглобіну* — протеїну м'язів людини і тварин. Але згодом штат групи з молекулярної біології поповнився *Френсісом Кріком* (1949), *Джеймсом Уотсоном* (1951), а пізніше — *Фредеріком Сенгером*, про якого йшлося вище. Ось така суперпотужна група науковців, майбутніх нобелівських лауреатів, під керівництвом *М. Перуца* зайнялась пошуками упорядкованості спочатку в структурі молекул протеїнів, а пізніше і нуклеїнових кислот. Вони виходили з того, що якщо така упорядкованість дійсно існує, то методом спроб і помилок можна розшифрувати будову цих складних молекул і побудувати їх моделі в просторі.

Для з'ясування структури *гемоглобіну* М. Перуц використав *метод рентгенівської кристалографії*, відомий як *метод ізоморфного заміщення*, який полягає в тому, що в молекулу кристалічного протеїну вводять атом важкого металу, такого, наприклад, як ртуть, який приєднується до конкретного атома в молекулі протеїну. Атоми важкого металу спричинюють істотніше відхилення рентгенівських променів, і при цьому утворюється інша дифракційна картинка. Порівнюючи дві картинки (без ртуті та з додаванням ртуті), можна встановити місцезнаходження специфічних атомів і, таким чином, одержати важливу інформацію про структуру молекули в кристалі.

У 1953—1956 рр. М. Перуц одержав багато рентгенівських знімків молекули гемоглобіну, на кожному з яких атом важкого металу перебував у різних місцях. За наступні чотири роки вчений зібрав вже тисячі фотографічних пластинок, обробив отримані на них дані в комп'ютері і в 1960 р. запропонував модель тривимірної структури гемоглобіну.



Тривимірна структура гемоглобіну, класичного глобулярного білка [46]

Вдосконалений метод рентгеноструктурного аналізу дифракції, яка спостерігається на протеїнових кристалах у присутності солей важких металів, дав змогу Перуцу першим одержати дані про просторову структуру протеїну, зокрема гемоглобіну. Результати цих досліджень було опубліковано в лютневому номері журналу «Nature» за 1960 р. разом з відкриттям тривимірної структури міоглобіну Джоном Кендрю. І вже за два роки, в 1962 р., *Максу Перуцу* і *Джону Кендрю* присудили Нобелівську премію з хімії «*за дослідження структури глобулярних протеїнів* (*for their studies of the structures of haemoglobin and myoglobin*)». У

вступній промові від імені Шведської королівської академії наук *Гуннар Хагг* зазначив: «*Завдячуючи внеску М. Перуца і Д. Кендрю з'явилась можливість бачити принципи, які лежать в основі структури глобулярних протеїнів. Це дослідження означає великий крок у розумінні процесів життя*». У нобелівській лекції М. Перуц підкреслив, що «*...відкриття помітної структурної зміни, якою супроводжується взаємодія гемоглобіну з киснем, дає змогу вважати, що можуть існувати й інші ензими, структура яких змінюється у разі приєднання до них субстрату, і це, ймовірно, є важливим чинником у ензимному каталізі*».

Після отримання Нобелівської премії М. Перуц продовжив досліджувати глобулярні протеїни. Він вдосконалив створену ним модель гемоглобіну та зміг показати, як функціонує ця структура під час перенесення кисню. Згодом метод Перуца було застосовано для аналізу структури десятків тисяч інших протеїнів. Крім того, Перуц досліджував структурні особливості протеїнів у разі патологій. Він вважав, що гемоглобін можна використовувати як рецептор лікарських препаратів і що буде знайдено способи зміни його структури за генетичних мутацій, наприклад за *серпоподібноклітинної анемії*. Він також цікавився змінами структури гемоглобіну в процесі еволюції, а в останні роки життя — змінами структури протеїнів за хвороби Га́нтінгтона (відома також як хоре́я Га́нтінгтона) та інших нейродегенеративних захворювань. *Він започаткував аналіз взаємодії протеїнів з низькомолекулярними сполуками, які наразі використовуються для дизайну лікарських препаратів у фармацевтичній індустрії.*

У 1979 р. він пішов з посади керівника *Лабораторії молекулярної біології* (яка раніше була *групою молекулярної біології*). Його величезною заслугою було також те, що в Кембриджі під дахом цієї лабораторії він зібрав, навчив і дав напрям у науці плеяді видатних науковців, роботи яких у наступні роки були високо оцінені Нобелівським комітетом за їхній надзвичайно вагомий внесок у розвиток як біохімії, так і молекулярної біології. М. Перуц багато зробив і як голова Європейської організації молекулярних біологів. Він був головою Європейської організації молекулярних біологів (1963—1969), професором фізіології Королівського інституту в Лондоні (1977—1979), консультантом у Британському міністерстві оборони.

М. Перуц був одружений з Гізелі Кларі Пейзер, яка працювала фотографом медичної служби (1942). У подружжя народилися син і донька. Запеклий лижник і альпініст, свою зацікавленість льодовиками він пояснював тим, що це був «*головним чином привід для роботи в горах*». Колеги вважали його досить сором'язливим, але в роботі він зарекомендував себе як надзвичайно креативний і наполегливий дослідник.

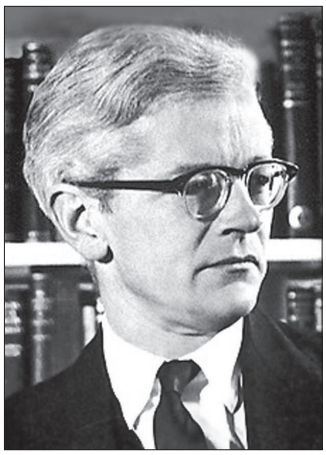
М. Перуц пішов із життя 6 лютого 2002 р. у Кембриджі.

Крім Нобелівської премії його нагороджено медаллю Вільгельма Екснера (1967), FEBS Sir Hans Krebs Medal (1968, перший з удостоєних), Королівською медаллю (1971) і медаллю Коплі (1979); він був членом Лондонського королівського товариства, іноземним членом Французької академій наук і Національної академії наук США, мав почесні ступені університетів Единбурга, Нориджа, Зальцбурга і Відня тощо [47—50].

Разом з М. Перуцем Нобелівську премію з хімії в 1962 р. отримав його учень і колега англійський біохімік, спеціаліст у галузі молекулярної біології, хімік, кристалограф *Джон К. Кендрю*.

ДЖОН К. КЕНДРЮ

Кендрю Джон Коудері (англ. *Sir Kendrew John Cowdery*) народився 24 березня 1917 р. в Оксфорді (Велика Британія). Він був єдиним сином Уїлфріда Джорджа Кендрю, відомого кліматолога, який викладав в Оксфордському університеті, та Евелін Мей Грем (Сендберг) Кендрю, історика мистецтв, яка спеціалізувалась на італійських художниках-примітивістах. Молодий Джон отримав освіту спочатку в Дрегон-скул (Оксфорд), а потім у Кліфтон-коледжі (Бристоль), де й вирішив зайнятись наукою. З цією метою він вступив не до Оксфордського університету, де працював його батько, а до Кембриджського. Там у 1939 р. Дж. Кендрю отримав ступінь бакалавра природничих наук, а в 1943 р. — ступінь магістра.



Джон К. Кендрю
(1917—1997)

З 1940 р. під час Другої світової війни Дж. Кендрю служив у Міністерстві промислової авіації як молодший офіцер і науковий співробітник. У 1944 р. він став науковим радником головнокомандувача військово-повітряних сил союзників у Південно-Східній Азії. Але наприкінці війни Дж. Кендрю познайомився з відомим фізиком і хіміком Дж. Берналом і американським хіміком Л. Полінгом і так само, як вони, зацікавився проблемою молекулярної структури протеїнів. Тому в 1946 р. він залишив державну службу і почав працювати в Кембриджі разом з М. Перуцем у Кавéндиській лабораторії, де в 1949 р. отримав ступінь доктора філософії, а в 1962 р. став доктором природничих наук.

У 1947 р. Дж. Кендрю разом з М. Перуцем перейшли працювати до новоствореної Медичною науково-дослідною радою *групи молекулярної біології* при Кавéндиській лабораторії. Спочатку їм удвох довелося проводити дослідження просто в сараї, що не вплинуло на отримані ними блискучі остаточні результати.

Тоді, коли Дж. Кендрю почав працювати в Кавéндиській лабораторії, М. Перуц досліджував молекулярну структуру *гемоглобіну*, використовуючи метод рентгенівської кристалографії. Як його найближчий помічник Дж. Кендрю зайнявся встановленням структури м'язового протеїну — *міоглобіну*. Хоча структура міоглобіну простіша за структуру гемоглобіну, в ході його вивчення виникли значні труднощі. До складу міоглобіну входить приблизно 50 амінокислотних залишків — це майже 2600 атомів. Визначення місцезнаходження кожного атома методом рентгенівської кристалографії залежить передусім від правильної інтерпретації отриманих даних.

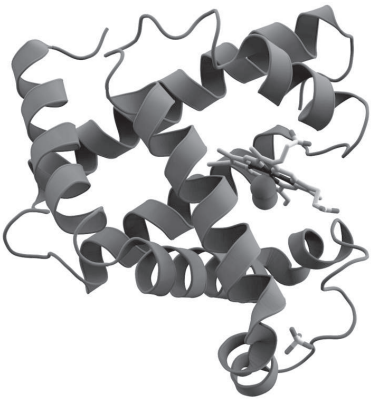
Початково вихідним джерелом для одержання міоглобіну було *серце коня*, але отримані кристали були дуже малі для рентгенографії. Дж. Кендрю розу-

мів, що найбільший вміст міоглобіну має бути в м'язах тих тварин, які можуть довго знаходитись під водою (ссавців, що пірнають, а для того накопичують кисень в м'язах). Завдяки випадковій зустрічі він отримав великий шматок *м'яса кита* з Перу. І дійсно, з м'яса кита він виділив великі кристали міоглобіну, придатні для рентгенографічного аналізу. Але проблема отримання хорошої рентгенограми міоглобіну залишалася. Річ у тому, що для дослідження гемоглобіну М. Перуц запропонував метод ізоформного заміщення (введення атомів металів у кристали протеїнів). Дж. Кендрю виявив, що цей метод не можна використати для з'ясування структури міоглобіну, оскільки його кристали не «утримують» атоми ртуті. Тому для заміщення необхідно було шукати атоми інших важких металів. На 1957 р. дослідники на чолі з Дж. Кендрю змогли розрізнити в кристалах міоглобіну атоми, які розміщені на відстані шести ангстремів (0,6 нм). Хоча за таких масштабів дифракційна картинка не дає можливість встановити місцезнаходження окремих атомів, вони побачили «*...таке, чого ніхто раніше не бачив*, — згадував пізніше Дж. Кендрю. — *Це була тривимірна молекула протеїну в усій її складності*». У цій структурі Дж. Кендрю виявив наявність α-спіралі, передбачену в 1951 р. Ф. Сенгером. З цього приводу він повідомив: «*Найдивовижнішою особливістю цієї молекули була її упорядкованість і повна відсутність симетрії*».

Ці особливості ще більше виявились в 1959 р., коли Дж. Кендрю отримав зображення молекули міоглобіну за умов дозволеної здатності 2 ангстреми (0,2 нм). Це досягнення стало можливим завдяки використанню потужних комп'ютерів для проведення математичних розрахунків. Результати цих досліджень було опубліковано в журналі «Nature» в 1960 р. разом з результатами роботи М. Перуца з дослідження гемоглобіну, про що йшлося раніше.

Саме «*за дослідження глобулярних протеїнів*» *Джону Кендрю* і *Максу Перуцу* присудили Нобелівську премію з хімії в 1962 р. У нобелівській лекції Дж. Кендрю зазначив: «*Протеїни унікальні в тому сенсі, що в них поєднується велике розмаїття функцій і складність конструкції з відносною простотою та однаковою хімічною будовою. Встановлення структури тільки двох протеїнів, що ми зробили, це не кінець, а тільки початок. Перед нами виникло узбережжя Великого континенту, який очікує своїх дослідників*».

З 1953 до 1974 р. Дж. Кендрю був заступником завідувача Лабораторії молекулярної біології (раніше — групи молекулярної біології) в Кембриджі, а в 1975 р. став першим директором Європейської лабораторії молекулярної біології в Гейдельберзі (Німеччина), яким він залишався до 1982 р. У 1981 р. вченого обрали президентом коледжу св. Іоанна Оксфордського університету, де в 2010 р. на його честь встановлено пам'ятний знак. Він був засновником і багаторічним головним редактором часопису «**Journal of Molecular Biology**». З 1974 до 1988 р. Дж. Кендрю був послідовно генеральним секретарем, віце-президентом і пре-



Модель міоглобіну [51]

зидентом Міжнародної ради наукових спілок. Він був членом Британської асоціації сприяння розвитку науки, а протягом 1974—1979 рр. — опікуном Британського музею.

Пішов з життя Джон Кендрю 23 серпня 1997 р. у віці 80 років у Кембриджі (Велика Британія). Він не був одружений. Колеги вважали його людиною спокійною, скромною та вразливою. У вільний час він любив слухати музику і зібрав велику колекцію записів композиторів-класиків.

Крім Нобелівської премії Дж. Кендрю було нагороджено медаллю Лондонського королівського товариства (1965), а в 1963 р. його посвятили в пери Великої Британії. Він був почесним членом багатьох академій наук і мав почесні наукові ступені низки університетів [52—55].

Отже, проривні роботи Ф. Сенгера, М. Перуца і Дж. Кендрю, які встановили первинну та третинну структури таких протеїнів, як інсулін, гемоглобін і міоглобін, започаткували в XX ст. новий потужний напрям у галузі хімії та біохімії протеїнів. А розроблені ними методи дослідження біополімерів стали додатковим стимулом для розшифрування в майбутньому структури не лише багатьох інших протеїнів, а й ще одних життєво важливих сполук — нуклеїнових кислот.

THE CONTRIBUTION OF NOBEL PRIZE LAUREATES TO RESEARCH OF THE PROTEIN STRUCTURE: J. SUMNER, J. NORTHROP, W. STANLEY, L. PAULING, F. SANGER, M. PERUTZ, J. KENDREW

V.M. Danilova, R.P. Vynogradova, S.V. Komisarenko

The second half of the 20th century was marked by remarkable discoveries in the chemistry and biochemistry of proteins, in particular, in establishing the protein structure. James Sumner, John Northrop, and Wendell Stanley, the Nobel Laureates in chemistry in 1946, were the first to isolate individual enzymes and viruses in a pure crystalline form and prove their protein nature, thereby making an invaluable scientific contribution to the development of important biological disciplines such as biochemistry, enzymology, virology, and molecular biology. A significant contribution to understanding chemical bonding in the formation of the different levels of a protein structure was made by Linus Pauling — a prominent American scientist of the 20th century. He was awarded the Nobel Prize in Chemistry in 1954 «for his research into the nature of the chemical bond and its application to the elucidation of the structure of complex substances». Biochemists know him well as the author of the secondary structure of proteins — the α-helix and the β-sheet. Frederick Sanger, a two-time Nobel Prize winner (1958 and 1980), was the first among researchers who determined the primary amino acid sequence of a protein, for example, of two insulin polypeptide chains A and B. F. Sanger proved that the sequence nature of proteins' structures is analogous to that of gene sequences in the DNA, and thus, the same principles may be applied. The difficult question of how a protein molecule is arranged in space was answered by the English biochemists Max F. Perutz and John C. Kendrew. They determined the three-dimensional structure of hemoglobin and myoglobin proteins by X-ray diffraction and were awarded the Nobel Prize in Chemistry in 1962 «for their studies of the structures of globular proteins».

Keywords: *J. Sumner, J. Northrop, W. Stanley, L. Pauling, F. Sanger, M. Perutz, J. Kendrew, proteins, structure, urease, pepsin, trypsin, tobacco mosaic virus, α-helix, β-structure, insulin, hemoglobin, myoglobin.*

REFERENCES

1. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Scientific investigations of the Nobel Prize winner Emil Fischer as a launching pad for the development of biochemistry: a brief overview. *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90, N 4. P. 135—142.

2. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of the Nobel Prize laureates to the development of dynamic biochemistry and bioenergetics. E. Buchner, A. Kossel, R. Willstätter, O. Meyerhof, A. Hill, O. Warburg, A. Szent-Györgyi. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 1. P. 108—126.

3. Vynogradova R.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. The Nobel laureates' contributions to the study of carbohydrate metabolism and its regulation. A. Harden, H. Euler-Chelpin, C.F. Cori, G.T. Cori, E. Sutherland, L.F. Leloir, H. Krebs, F. Lipmann, P. Mitchell. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 1. P. 135—163.

4. Sumner James Batcheller. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M-Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 351—354.

5. Sumner James Batcheller. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/himiya/SAMNER_DZHEMS_BETCHELLER.html.

6. Regime of access : https://indicator.ru/chemistry-and-materials/dzhejms-samner.htm.

7. Leonard A. Maynard. James Batcheller Sumner. 1887—1955. National Academy of sciences, Washinton, 1958.

8. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1946/sumner/biographical/

9. Nortrop John Howard. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 165—166.

10. John H. Northrop. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1946/northrop/biographical.

11. Roger M. Herriott. John Howard Northrop. National Academy of Sciences. 1994. Biographical Memoirs. Vol. 63. Washington, DC: The National Academies Press.

12. Northrop J.H. Crystalline pepsin. *Science*. 1929. Vol. 69, N 1796. P. 580.

13. Northrop J.H. Crystalline pepsin : I. Isolation and test purity. *Journal of Genetal Physiology*. 1930. Vol. 13, N 6. P. 739—766.

14. Northrop J.H. Crystalline pepsin : II. General properties and experimental methods. *Journal of Genetal Physiology*. 1930. Vol. 13, N 6. P. 767—780.

15. Northrop J.H., Kunitz M. Crystalline trypsin : I. Isolation and tests of purity. *Journal of Genetal Physiology*. 1932. Vol. 16, N 2. P. 267—294.

16. Northrop J.H., Kunitz M. Isolation of protein crystals prossessing tryptic activity. *Science*. 1931. Vol. 73, N 1888. P. 262—263.

17. Vynogradova R.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. Development on knowledge of hormone biochemistry in the works of the Nobel prize laureates of the first half of the 20th century: F.G. Banting, John J.R. Macleod, H.O. Wieland, A.O. Windaus, A.F. Butenandt, L. Ružička, E. Kendall, P. Hench, T. Reichstein. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 3. P. 107—126.

18. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/Вирус_табачной_мозаики.

19. Wendell Meredith Stanley. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 452—454.

20. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/stanley.htm.

21. Regime of access : https://n-t.ru/nl/hm/stanley.htm.

22. Wendell M. Stanley. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1946/Stanley/biographical.

23. Schachman H.K., Ballou C.E., Arhur Knight C. Wendell Meredith Stanley, Molecular Biology; Biochemistry: Berkeley. Academic Senate—Berkeley—Division. University of California: Memoriam, 1974. P. 95—97,

24. Colvig R., Wendell M.. Stanley, PhD (1905—1971). *Cancer*. 1972. Vol. 29, N 2. P. 541—542.

25. Wendell M. Stanley. The isolation and properties of crystalline tobacco mosaic virus, Nobel Lecture, December 12, 1946.

26. Regime of access : http://chem.msu.ru/rus/elibrary/nobel/1946-Sumner,Northrop,Stanley.html.

27. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Nobel Prize Winner Erwin Schrцdinger: The physicist, philosopher, and godfather of molecular biology and genetics. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 3. P. 93—100.

28. Alpha helix. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/

29. Secondary catalase structure. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/

30. Pouling Linus Carl. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 232—237.

31. Kakhovsky L. The 20th century chemist. *Himia i zhizn*. 1995, N 7. P. 8—15.

32. Linus Pouling — the greatest chemist of the 20th century (to the 100th birthday anniversary). Regime of access : http://www.chem.msu.su/zorkii/istkhim/paulin.html.

33. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki.

34. Regime of access :http://www.chem.msu.su/rus/journal/chemlife/poling.html.

35. Linus Pauling. X-ray crystallography and the nature of the chemical bond. Oregon State University's Special Collection, April 1991. Regime of access : http://scarc.library.oregonstate.edu/coll/pauling/bond/notes/1991a3.3.html.

36. Ridgway D. Interview with Linus Pauling. *Journal of Chemical Education*. 1976. Vol. 53, N 8. P. 471—476.

37. Linus Pauling. The last interview. 1994 The Institute for Optimum Nutrition. Regime of access : http://www.internetwks.com/pauling/lastpinv.html.

38. Grigorieva M.V., Danilova V.M., Komisarenko S.V. Brownian motion, electrophoresis, chromato-graphy, and macromolecular chemistry: how it all unites Nobel laureates of the first half of the 20th century — T. Svedberg, A. Tiselius, R. Synge and H. Staudinger. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 5. P. 70—79.

39. Regime of access : https://studfile.net/preview/8172226/

40. Sanger F, Nicklen S, Coulson A.R. DNA Sequencing With Chain-Terminating Inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1977. Vol. 74, N 12. P. 5463—5467.

41. Frederick Sanger. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 379—383.

42. Regime of access : https://en.wikipedia.org/wiki/Frederick Sanger.

43. Regime of access : http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/nobel/1958-Sanger.html.

44. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/himiya/SENGER_FREDERIK.html.

45. Levytsky E.L. Frederick Senger is one of the founders of modern biotechnology. *Biotechnology*. 2008. Vol. 1, N 1. P. 123—125.

46. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/Globular proteins.

47. Max Ferdinand Perutz. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 214—216.

48. Regime of access : https://en.wikipedia.org/wiki/Max Perutz.

49. Regime of access : http://www.pluschem.chimfak.rsu.ru/Source/History/Persones/Perutz.html.

50. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka/himiya/Perutz Maks Ferdinand.html.

51. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/myoglobin.

52. Kendrew John Cowdery. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 541—543.

53. Regime of access : https://en.wikipedia.org/wiki/John Kendrew.

54. Kendrew John. Regime of access : https://uk/wikipedia.org/wiki.

55. Regime of access : http://www.physchem.chimfak.rsu.ru/Source/History/Persones/ Kendrew.html.

СТРУКТУРА, МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ ТА НОБЕЛІВСЬКІ ЛАУРЕАТИ ДРУГОЇ ПОЛОВИНИ XX ст.: К. АНФІНСЕН, С. МУР, В. СТАЙН, С. ПРУЗИНЕР, Є. СКОУ, Д. БОЙЄР, Д. ВОКЕР

Р.П. Виноградова, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

Від часу встановлення протеїнової природи ензимів у 40-і роки XX ст., про що йшлося раніше, молекулярна структура та конкретний механізм їх дії залишалися невідомими. Ці завдання постали перед дослідниками наступних поколінь, які досягли значних успіхів в їх вирішенні. Так, у 1960 р. американські біохіміки С. Мур і В. Стайн з'ясували повну послідовність амінокислот в ензимі — рибонуклеазі. Це був один із перших протеїнів і перший ензим, в якому було встановлено первинну структуру. За це відкриття в 1972 р. їм було присуджено половину Нобелівської премії з хімії; другу половину за вирішення цієї самої проблеми отримав Крістіан Анфінсен. Роботи нобелівських лауреатів з хімії за 1997 р. — Єнса Крістіана Скоу (відкриття ензиму Na^+,K^+*-активованої АТРази) та Пола Бойєра і Джона Вокера (відкриття механізму дії* H^+*-АТР-синтази — найважливішого ензиму біоенергетики) були величезним кроком уперед у розшифруванні механізму дії ензимів — найважливіших компонентів метаболізму в живих організмах. Друга половина XX ст. відзначена ще одним видатним відкриттям у галузі біології та медицини — виявленням і дослідженням протеїнів — пріонів, які спричинюють спонгіоформні нейродегенеративні енцефалопатії в людей та тварин, за яке американський біохімік Стенлі В. Прузинер у 1997 р. отримав Нобелівську премію з фізіології та медицини. Це відкриття має велике теоретичне значення для біохімічної науки. Розроблення нових методів дослідження та, особливо, їх апаратурне оформлення стали основою для розвитку цих робіт із хімії протеїнів, що привело до значних наукових досягнень в цій галузі біохімії та молекулярної біології — «золотої ери» біохімії протеїнів.*

Ключові слова: *К. Анфінсен, С. Мур, В. Стайн, С. Прузинер, Є. Скоу, Д. Бойєр, Д. Вокер, рибонуклеаза,* Na^+,K^+*-активована АТРаза,* H^+*-АТР-синтаза, пріони.*

Ензими — це *біологічні каталізатори-протеїни*, що утворюються в живих клітинах, їм властиво активувати тисячі хімічних реакцій, з яких складається клітинний обмін. Існування життя зумовлено наявністю протеїнів із функціями ензимів, а характер обміну речовин у кожній клітині — наявністю певних ензимів. Різні зміни умов існування організму спричинюють зміни в ензиматичному апараті клітин.

Каталітична дія ензимів дуже специфічна, ефективна і відбувається за нижчої температури порівняно з хімічними реакціями і каталізаторами, які використовують у промисловості. Тому механізм дії ензимів цікавить не тільки біологів-біохіміків, а й хіміків. Це необхідно як для розуміння біохімічних процесів, що відбуваються в живих організмах, так і для створення нових сучасних каталізаторів для хімічної промисловості.

Із часу виникнення цивілізації і дотепер *ензими* широко використовуються людиною в різних галузях промисловості, зокрема у виноробстві, виробництві спирту, хлібопеченні, сироварінні, виробництві органічних кислот, амінокислот, чаю, вітамінів, антибіотиків тощо. Дія різних фізіологічно активних речовин, які використовуються в медичній, ветеринарній і агрохімічній практиці, зокрема деяких лікарських речовин, стимуляторів росту рослин, гербіцидів, фунгіцидів, інсектицидів і т.п., полягає в тому, що ці сполуки стимулюють або інгібують ті чи інші ензиматичні процеси. Саме тому дослідження їх впливу має велике значення не лише для з'ясування механізму дії ензимів, а й для медицини і сільського господарства в цілому.

У ранній період становлення і розвитку ензимології головну увагу науковців було сконцентровано на вивченні ензимів травлення та бродіння; значно пізніше було виявлено важливість внутрішньоклітинних ензимів.

Ще в XVII ст. *Ван Гельмонт* (нід. *Jan Baptista van Helmont*) запропонував термін *ферменти* (від лат. *fermentation* — бродіння, *fermentum* — бродило, закваска). Термін «*ензими*» з'явився пізніше, його запропонував *Вільгельм Кюне* (нім. *Wilhelm Kühne*) у 1876 р. для позначення так званих неорганізованих ферментів, що секретуються клітинами тварин (*пепсин*, *трипсин*, *амілаза* тощо). Термін походить від грецької мови ἐν в і ζύμη — дріжджі, тобто «в дріжджах». Спочатку терміни «*ферменти*» і «*ензими*» позначали, начебто, різні сполуки. Але в 1897 р. *Едуард Бухнер* опублікував працю «*Спиртове бродіння без дріжджових клітин*», в якій навів експериментальне свідчення того, що екстракт дріжджів здійснює спиртове бродіння так само, як і незруйновані дріжджові клітини. За неї Е. Бухнер отримав Нобелівську премію з хімії в 1907 р. [1]. Нині терміни «*ферменти*» і «*ензими*» використовуються як синоніми, частіше — термін «*ензими*».

Як йшлося у праці [2], перший кристалічний ензим — *уреаза* було одержано Дж. Самнером у 1926 р. Вже в 1930 р. Дж. Нортроп ізолював кристалічний *пепсин*, а в 1931 р. Дж. Нортроп разом із М. Кунітцем — кристалічний *трипсин*. Усі очищені ензими були простими протеїнами. *Роботи цих авторів довели протеїнову природу ензимів, а Дж. Самнер і Д. Нортроп у 1946 р. отримали Нобелівську премію з хімії.* Відтоді ензимологи провели велику роботу з виділення кристалічних ензимів.

Проте молекулярна структура і конкретний механізм дії ензимів залишались невідомими. Ці завдання постали перед дослідниками наступних поколінь, які і досягнули певних успішних результатів. Так, у 1960 р. американські біохіміки *С. Мур* і *В. Стайн* встановили повну послідовність амінокислот у *рибонуклеазі.* Це *один з перших протеїнів і перший ензим, для якого було встановлено первинну структуру, тобто послідовність усіх амінокислот.* За це відкриття в 1972 р. С. Муру і В. Стайну було присуджено половину Нобелівської премії з хімії; другу половину було присуджено *Крістіану Анфінсену* за вирішення цієї ж проблеми, а саме «*for work on ribonuclease, especially concerning the connection between the amino acid sequence and the biologically active conformation*».

Оскільки К. Анфінсен — перший у списку лауреатів, з ним першим і познайомимось.

КРІСТІАН БЕМЕР АНФІНСЕН

Американський біохімік **Крістіан Бемер Анфінсен** (англ. *Christian Boehmer Anfinsen*) народився 26.03.1916 р. у маленькому промисловому містечку Монессен недалеко від Піттсбурга (штат Пенсільванія). Його батько, Крістіан Бемер Анфінсен, інженер-механік і мати, Софія Рассмуссен, були іммігрантами з Норвегії. У 20-х роках XX ст. родина переїхала до Філадельфії, де Крістіан Ансфінсен-молодший вступив до Свортмор-коледжу і де він зацікавився хімією. Пізніше, в 1964 р. К. Анфінсен скромно відзначав, що в ті роки всі студенти, крім нього, були геніями. Після отримання ступеня бакалавра з хімії в 1937 р. він продовжив навчання в Пенсільванському університеті, де в 1939 р. отримав ступінь магістра з органічної хімії. Цього самого року він отримав стипендію Американсько-Скандинавського фонду і поїхав до Карлберзької лабораторії в Копенгагені (Данія), де працював під керівництвом фізико-хіміка Кая Ліндерстрома-Ланга (дан. *Kaj Linderstrom-Lang*). Саме він допоміг К. Анфінсену по-новому подивитись на ензими, як він писав пізніше, «*...знявши з цих органічних сполук ... завісу таємничості*». Складні політичні обставини, які склались в Європі з початком Другої світової війни, змусили К. Анфінсена повернутися в 1940 р. до Сполучених Штатів [4, 5].

Крістіан Анфінсен (1916—1995) [3]

У США К. Анфінсен отримав стипендію в Гарвардському університеті. Протягом трьох поспіль років йому було присуджено ступінь доктора з біохімії і він став викладачем факультету біологічної хімії в Гарвардській медичній школі в Бостоні. У 1944—1946 рр. він працював в Управлінні науково-дослідних і конструкторських робіт США, у 1947—1948 рр. був молодшим дослідником Американського онкологічного товариства при біохімічному відділенні Нобелівського медичного інституту в Швеції, створеному в 1947 р. завдяки підтримці Рокфеллерівського товариства і Національного інституту охорони здоров'я США. В ньому він працював під керівництвом біохіміка, пізніше нобелівського лауреата з фізіології та медицини за 1955 р. «*за відкриття, що стосуються природи і механізму дії окиснювальних ензимів*» — *Акселя Хуго Теодора Теорелля* (швед. *Axel Hugo Teodor Theorell*). Наприкінці 40-х років XX ст. А.Х.Т. Теорелль разом з Брайтоном Чансом з Пенсільванського університету встановив механізм перетворення алкоголю на ацетальдегід за дії алкогольдегідрогенази [6].

Після повернення до США К. Анфінсен став ад'юнкт-професором у Гарварді, а в 1950 р. очолив лабораторію клітинної фізіології та метаболізму в Національному кардіологічному інституті, що входив до складу Ради охорони здоров'я США в Бетесді (штат Меріленд), де працював до 1962 р. Саме в цій лабораторії К. Анфінсен провів дослідження *структури рибонуклеази*, результати яких було відзначено Нобелівською премією.

Ензими зацікавили К. Анфінсена з початку його наукової діяльності. Так, працюючи над докторською дисертацією, він розробляв методи вимірювання активності ензимів у сітківці ока. На той час було відомо, що ланцюг з амінокислот утворює тривимірну структуру, але чому кожний протеїн утворює певну структуру було невідомо. Також не було визначено повну амінокислотну послідовність у жодному ензимі. К. Анфінсена зацікавило питання, чому і завдяки яким хімічним зв'язкам протеїни згортаються в різноманітні тривимірні структури та який взаємозв'язок існує між структурою і функцією ензимів.

На той час Ф. Сенгер у Кембриджському університеті розробив метод дослідження послідовності амінокислот у протеїнах і використав його для встановлення первинної будови *інсуліну* [2]. К. Анфінсен вважав, що, застосовуючи методи Сенгера, він зможе синтезувати ланцюг із амінокислот і, приєднуючи послідовно різні амінокислоти одну за одною, отримає можливість вимірювати активність на кожному етапі. Так він зможе точно визначити взаємозв'язок між властивостями ензиму та його будовою. Як модель для досліджень він обрав *рибонуклеазу з підшлункової залози бика*. Вибір цього ензиму був вдалим з практичної точки зору, оскільки компанія з упаковки м'яса в Чикаго «Армор» надала К. Анфінсену лабораторію з джерелом сирого матеріалу. К. Анфінсен і тодішні аспіранти *Майкл Села* (*Michael Sela*) і *Фред Уайт* (*Fred White*) під час експериментів у лабораторії показали, що амінокислотний ланцюг у активному ензимі згортається в спонтанну форму, яку пізніше він назвав «*нативною конформацією*» *ензиму*. У статті, яку було надруковано в 1954 р., К. Анфінсен зауважив, що *послідовність амінокислот у пептидному ланцюзі визначає його нативну структуру*.

Майже в той самий час дослідницька група Рокфеллерівського інституту (нині — університет) на чолі із *Станфордом Муром* і *Вільямом Х. Стайном* розпочала роботу з *вивчення структури РНКази*. К. Анфінсен зрозумів, що ця група може визначити амінокислотну послідовність цього ензиму раніше, ніж це зробить він сам, а тому, окрім синтезу рибонуклеази, її необхідно досліджувати ширше і в різних умовах.

У 1954 р. Рокфеллерівський фонд нагородив К. Анфінсена постдоковою стипендією в лабораторії Карлсберга в Копенгагені, де він працював у 1939—1940 рр. Тут, під керівництвом *Кая Ліндерстрома-Ланга* він вирішив дослідити всю молекулу РНКази, спостерігаючи за нею в різних умовах, що спричинювали денатурацію ензиму. Тоді вже було відомо, що одним із чинників, який підтримує третинну будову протеїнів, є наявність *дисульфідних зв'язків* — містків, які утворюються між сірковмісними амінокислотами — *цистеїнами*. Виходячи з цього, К. Анфінсен частково розкрутив РНКазу, денатурував її й хімічно зруйнував у ній чотири дисульфідні зв'язки та отримав неактивний ланцюг із амінокислот. Потім він з'ясував, що коли таку невпорядковану структуру перевести в хімічне середовище, подібне до того, в якому РНКаза знаходиться у фізіологічних умовах у організмі, то активна третинна структура починає відновлюватися. Цей докладний фізичний аналіз структури РНКази К. Анфінсен опублікував у журналі «*Biochimica et Biophysica Acta*» в 1955 р. («*Studies on the structural basis of ribonucleases activity*» / Anfinsen C.B., Harrington W.F., Hvidt Aa., Linderstrom-Lang K., Ottesen M. and Schellman J.).

У 1962 р. у К. Анфінсена остаточно сформулювалася ідея, яку він назвав «*термодинамічною гіпотезою*» згортання протеїну, що пояснювала *нативну конформацію амінокислотного ланцюга.* Згідно з його уявленням, третинна структура активної РНКази формується внаслідок перегрупування амінокислот за фізіологічних умов. Ця природна конформація утворюється, оскільки вона є термодинамічно найстабільнішою у внутрішньоклітинному середовищі. Отже, молекула протеїну (ензиму) набуває цієї форми внаслідок обмеження пептидних зв'язків, а також хімічних і фізичних властивостей амінокислот. *Саме амінокислотна послідовність у поліпептидному ланцюзі зумовлює третинну структуру ензиму і його функціональну активність.* Таємничий складний процес утворення нативної структури протеїнів можна повністю пояснити хімічними та фізичними взаємодіями між бічними групами амінокислот. К. Анфінсен встановив явище, яке нині називають «*протеїновий фолдинг*». Результати цих досліджень він опублікував у 1959 р. у амбіційній книзі «*Молекулярні основи еволюції*». В ній він *доводив наукову спорідненість між молекулярною генетикою та хімією протеїнів*, оскільки вважав, що містика навколо ДНК знизила значення протеїнів для живих істот. Хімія протеїнів не здобула тієї наукової уваги, на яку вона заслуговувала. До цієї теми він повернувся в 1984 р., коли опублікував статтю «*Класична хімія протеїнів у світі Слайсинга і Сплайсинга*».

У 1962 р. К. Анфінсен перейшов до Гарвардської медичної школи на посаду професора, але вже в 1963 р. став завідувачем лабораторії хімічної біології в Національному інституті артриту, метаболізму та захворювань травної системи. У цьому інституті він досліджував структурно-функціональні зв'язки в різних протеїнах. Він відійшов від досліджень РНКази підшлункової залози бика і розпочав роботу з бактеріями золотистого стафілокока (*Staphylococcus aureus*). У 1966 р. К. Анфінсен і його колеги виділили РНКазу з цієї бактерії методом афінної хроматографії, на той час інноваційної лабораторної технології, яку було вперше розроблено в 1951 р. Деном Хемпстоном Кемпбелом — професором Каліфорнійського технологічного інституту. Будова РНКази зі стафілокока була простішою за ензим із підшлункової залози бика: в ній не було дисульфідних зв'язків. Завдяки методу афінної хроматографії К. Анфінсен зміг проаналізувати різні фрагменти тривимірного поліпептидного ланцюга. В усіх експериментах фрагментовані ділянки ланцюга згорталися в нативну конформацію. У 1966—1967 рр. він встановив повну послідовність 149 амінокислотних залишків у структурі РНКази стафілокока.

У 1968 р. К. Анфінсен розпочав роботу, про яку він розповів у січні 1970 р. в інтерв'ю ізраїльському виданню «*Jerusalem Post*»: «*Ми робимо те, що Ви можете назвати молекулярною інженерією. Ми дивимось на структуру ензиму і, наприклад, якщо ми бачимо фрагмент у ланцюзі, який, здається, не робить нічого, то ми подивимось, що відбудеться, якщо ми відщепимо його. Деякі люди вважають, що найважливіші відкриття в галузі молекулярної біології вже зроблено, що на подвійній спіралі все завершено, але я думаю, що фолдинг протеїну тільки відкрив велике поле діяльності для нас*». Він мав на увазі тих, хто працює в галузі хімії протеїнів.

«За роботу з дослідження рибонуклеази, особливо за взаємозв'язок між послідовністю амінокислот і біологічно активною конформацією» Крістіан Анфінсен

отримав половину Нобелівської премії з хімії за 1972 р., *С. Мур* і *В. Стайн* розділили другу половину премії за аналогічну роботу. У промові під час презентації нобеліантів член Шведської королівської академії наук Б.Г. Мальстрем поздоровив трьох лауреатів, які «озброїли» інших дослідників «*...підходом для вирішення проблем активності ензимів на молекулярному рівні*». Він також відзначив, що особлива зацікавленість К. Анфінсена була сконцентрована на механізмі, який відповідає за конформацію пептидного ланцюга: «*В серії витончених експериментів він показав, що необхідну інформацію закладено в лінійній послідовності амінокислот пептидного ланцюга і що ніякої додаткової генетичної інформації, більшої, чим та, яку закладено в ДНК, непотрібно*».

Після одержання Нобелівської премії К. Анфінсен зацікавився *інтерфероном* — протеїном, який утворюється в клітинах людини і стимулює потужну атаку імунної системи організму на віруси та інші хвороботворні об'єкти. У 1974 р. К. Анфінсен і команда молодих дослідників використали афінну хроматографію для одержання великої кількості інтерферону, який раніше могли одержувати в мізерній кількості. В 1979 р. К. Анфінсен вже керував новою командою дослідників, які визначили *повну послідовність амінокислотного складу інтерферону*. Результати цих робіт було опубліковано у 1980 р. в статті у «*Хроніках Нью-Йоркської Академії Наук*». Потенціал біомедичних висновків у цій праці був величезним. Фармацевтичні компанії могли легко виробляти інтерферон і розробляти препарати, які мають ґрунтуватися на його антивірусній властивості. Наразі ліки на основі інтерферону, виготовлені за технологією рекомбінантної ДНК, використовуються для лікування деяких пухлин та інфекційних хвороб, а також розсіяного склерозу, гепатиту С, лейкемії та саркоми Капоші. І все це завдяки геніальним роботам біохіміка та хіміка з великої літери *Крістіана Анфінсена*.

Провівши 1981—1982 рр. як запрошений науковий співробітник у Інституті Вейцмана в Ізраїлі, К. Анфінсен повернувся до США і став професором біології в університеті Джонса Гопкінса (Хопкінса). Його програма досліджень була зосереджена на «*гіпертермофільних бактеріях*» (*Pyrococcus turiosus*), які живуть і розмножуються за дуже високих температур. Ці незвичайні бактерії зачарували К. Анфінсена і про них він написав: «*Ці божевільні тварини, здається, насолоджуються життям при 350 °С і 300 атмосферах тиску, і вони повинні мати у своєму складі дивовижні протеїни і нуклеїнові кислоти*». Він вважав, що біохіміки можуть використати ці термофільні бактерії з практичною метою — як й інтерферон.

До самої смерті, яка сталася 14 травня 1995 р. від серцевого нападу, К. Анфінсен працював над проєктом від Національного наукового фонду для одержання ензимів із термофільних бактерій, які можна було б використовувати для детоксикації речовин і радіоактивних сполук, які забруднюють Світовий океан. І це знов була глобальна проблема.

К. Анфінсен багато часу також приділяв гуманітарній і політичній роботі. Так, він брав участь в організаційній роботі над договором від 1963 р. про заборону ядерних випробувань. У травні 1969 р. разом з нобелівським лауреатом Маршалом Ніренбергом він виступав проти бразильського уряду, який репресував своїх відомих учених. Він виступав на підтримку наукового обміну між

США і СРСР. Критикував лідерів Бразилії, Мексики, Туреччини і СРСР за гоніння вчених за політичні погляди. З 1984 до 1989 р. К. Анфінсен очолював Комітет з прав людини Національної академії наук США. У 1981 р. він із членами цього комітету поїхав до Аргентини з метою визволити 12 вчених, засуджених військовим урядом. Про цю місію він написав: «*На той момент мого життя я не палив протягом 10 років. Але два тижні, проведені в Буенос-Айресі, повернули мене знову до тютюну як антидоту проти численних інтерв'ю з родичами і державними службовими особами, що відбувались як вдень, так і вночі*».

На початку 1980-х років К. Анфінсен виступив проти потенційних зловживань у біотехнології та генній інженерії. В 1983 р. він зауважив: «*...дуже мало зусиль витрачається на використання нових біотехнологій в галузі виробництва продуктів харчування та контролю кількості населення. Ми не хочемо пам'ятати, що кількість хворих у світі дійсно досить мала порівняно з кількістю відносно здорових людей, які лягають спати голодними кожну ніч*». У 1992 р. він поставив свій підпис під маніфестом «Попередження вчених людству» [3].

Отже, поєднання біомедичних досліджень і політичної діяльності, пов'язаної із захистом прав людини та досягненням соціальної рівності, зробило Крістіана Анфінсена під час бурхливого наукового прогресу та соціальних перетворень народним вченим.

За наукову кар'єру К. Анфінсен опублікував понад 200 статей і монографій, які здебільшого стосувалися *зв'язку між структурою і функцією протеїнів*. Окрім того, він також є *засновником вчення про молекулярну еволюцію — нового біохімічного напряму в науці*. Так, він запропонував нове пояснення процесу біологічної еволюції на прикладі структури ензимів: амінокислотні послідовності в молекулах ензимів можна розподілити на дві групи. Перша група амінокислотних послідовностей необхідна для досягнення певної каталітичної активності, тому в процесі еволюції обов'язково зберігається, а друга група амінокислотних послідовностей ензимів є «хімічним рудиментом», вона може змінюватись у процесі еволюції. Його монографію «*Молекулярні основи еволюції*» в 1962 р. перекладено російською мовою за редакцією академіка В.О. Енгельгардта [3].

К. Анфінсен був редактором журналу «*Advances in Protein Chemistry*» і членом редакційних рад таких відомих наукових видань, як «*Journal of Biological Chemistry*» і «*Proceedings of the National Academy of Sciences*».

У 1996 р. міжнародне товариство The Protein Society заснувало щорічну премію Крістіана Анфінсена, яку присуджують дослідникам за видатні досягнення в протеоміці (науці про протеїни).

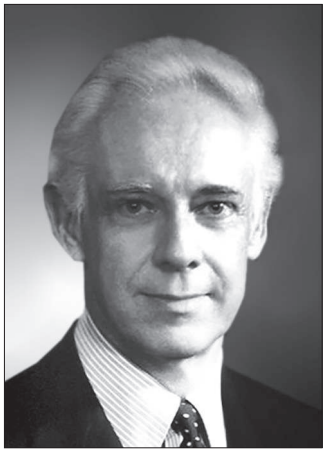
К. Анфінсен був членом Національної академії наук США, Американської академії науки і мистецтв, іноземним членом Данської королівської академії наук і членом ради Вейцманівського інституту наук у Роховаті (Ізраїль). Він мав почесні наукові звання багатьох університетів (Джорджтаунського, Пенсільванського, Брансдейського тощо). У 1981 р. Анфінсен став одним із засновників Всесвітньої культурної ради, яка займається підтримкою розповсюдження знань і розвитку взаємовідносин між людьми, країнами, урядами і різними галузями науки [3, 6, 7].

У вільний від роботи час К. Анфінсен займався парусним спортом, захоплювався музикою, грав на фортеп'яно та віолончелі.

Завершуючи розповідь про К. Анфінсена, відзначимо його видатний внесок у розвиток сучасної біохімії та молекулярної біології, а саме: він дослідив вторинну структуру рибонуклеази, встановив структуру її молекули — довгий поліпептидний ланцюг, який формує «складки», що з'єднані дисульфідними містками; запропонував спосіб гідролізу окисненої рибонуклеази трипсином із попереднім блокуванням ε-аміногруп лізину; дослідив залежність біологічної активності ензиму від структури його молекул у просторі, встановив, що за ензиматичну активність відповідає вся молекулярна структура; запропонував хроматографічний метод розділення ензимів на фіксованих аналогах субстрату; розробив метод розгортання ланцюга поліпептиду через відновлення тіогліколевою кислотою дисульфідних зв'язків.

Другу половину Нобелівської премії з хімії за 1972 р. поділили між собою два американські біохіміки *Станфорд Мур* і *Вільям Г. Стайн*.

СТАНФОРД МУР



Станфорд Мур
(1913—1982) [8]

Станфорд Мур (англ. *Stanford Moore*) народився 04.09.1913 р. у м. Чикаго (штат Іллінойс) у родині Джона Гоуарда та Рут (Фаулер) Мур. Після його народження батьки переїхали до Нашвіллу (штат Теннессі), де батько викладав право у Вандербілтському університеті. Станфорд виріс в освіченій родині і рано, завдяки вчителю, ще в середній школі, зацікавився хімією. У 1931 р. Станфорд вступив до Вандербілтського університету і спочатку не знав, що йому обрати — хімію чи авіаційну інженерію. Але після вивчення під керівництвом *Артура Інгерсолла* молекулярної структури хімічних сполук він зупинив вибір на *органічній хімії*.

У 1935 р. С. Мур отримав ступінь бакалавра з найвищою відзнакою (лат. *summa cum laude*) і стипендію науково-дослідного фонду *Вісконсин Алумні*. Це дало йому можливість продовжити навчання у Вісконсинському університеті, де його безпосереднім керівником був *Карл Пол Лінк*, який перед тим працював у Європі із *Фріцем Преглем* — нобелівським лауреатом з хімії 1923 р. «*за винахід методу мікроаналізу органічних речовин*». У К. Лінка С. Мур виконав дисертаційну роботу, присвячену *дослідженню вуглеводів і похідних бензимідазолу,* за яку в 1938 р. отримав докторський ступінь. Ця робота була настільки важливою, що К. Лінк рекомендував С. Мура німецькому хіміку *Максу Бергману*, який приїхав до США для роботи в Рокфеллерівському інституті (Нью-Йорк), як молодого і талановитого вченого. М. Бергман у свій час був помічником знаменитого Еміля Фішера [9] і вважався видатним спеціалістом у галузі хімії протеїнів. Отже, в 1939 р. доля спрямувала С. Мура в Рокфеллерівський інститут на роботу *над методом визначення аміно-*

кислотного складу протеїнів. Одним із його колег над цією темою був американський біохімік *Вільям Говард Стайн*.

У 1941 р., коли США вступили в Другу світову війну, С. Мур взяв в Інституті відпустку і пішов служити як молодший офіцер в Управління наукових досліджень і розвитку США, а потім в оперативно-науковий відділ військових сил США на Гавайських островах.

Коли наприкінці війни в 1945 р. С. Мур повернувся з армії, виявилось, що М. Бергман помер і майбутнє молодого вченого в Рокфеллерівському інституті є невизначеним. Директор Інституту *Герберт С. Гассер* (нобелівський лауреат, 1944, з фізіології та медицині «*за відкриття, що має відношення до високодиференційованих функцій окремих нервових волокон*») запропонував С. Муру та В. Стайну відновити роботу над розробленням методів кількісного аналізу амінокислот у протеїнах. Вчені отримали в своє розпорядження лабораторію і з ентузіазмом приступили до роботи. На той час вже було досягнуто певного прогресу у виділенні й очищенні протеїнів. У 1944 р. *Арчер Мартін* (*Martin*) і *Річард Сінг* (*Synge*), англійські біохіміки, запропонували для розділення амінокислот метод паперової хроматографії, в якому як носій використовували фільтрувальний папір. Спочатку вони застосовували метод одновимірної, а пізніше — двовимірної хроматографії. І в 1952 р. одержали Нобелівську премію «*за відкриття методу розподільної хроматографії*» [10]. У той самий час англійський біохімік Фредерік Сенгер почав використовувати метод паперової хроматографії для з'ясування якісного і кількісного складу амінокислот у інсуліні [2]. Але цей метод був довготривалим і не давав повної уяви про амінокислотний склад протеїнів.

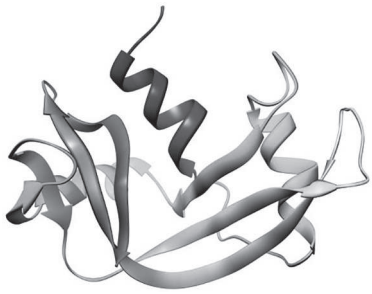
С. Мур і В. Стайн зайнялись пошуком такого методу розділення, який давав би більше інформації про кожну з амінокислот у протеїнах. Вони зупинились на методі *колонкової хроматографії*, який ще на початку XX ст. запропонував М.С. Цвєт. Пропускаючи через колонку з картопляним крохмалем гідролізат протеїнів, С. Мур і В. Стайн вперше в 1948 р. отримали позитивні результати. Але метод колонкової хроматографії є також довготривалим: експеримент відбувався майже два тижні, тому вчені для досягнення мети почали шукати ефективніші методи. На початку 50-х років XX ст. С. Мур і В. Стайн звернули увагу на *метод іонообмінної хроматографії*, в якому також використовується колонка, заповнена іонообмінними смолами, що дає можливість розділяти іони не тільки відповідно до їх заряду, а й розмірів молекул. Цей аналітичний метод був швидшим і давав значно якісніше розділення суміші амінокислот. Застосовуючи обидва методи колонкової хроматографії, С. Мур і В. Стайн проаналізували амінокислоти у багатьох протеїнах [11, 12].

У 1950 р. С. Мур перервав цю роботу, оскільки спочатку шість місяців працював у Вільному університеті в Брюсселі, а потім ще шість місяців провів у Кембриджському університеті (Англія), співпрацюючи зі Ф. Сенгером. Повернувшись до Рокфеллерівського інституту, С. Мур продовжує роботу зі В. Стайном, вивчаючи ензим *рибонуклеази*. Завдяки працям Д. Самнера і Д. Нортропа стало відомо, що ензими є протеїнами, але даних про їхню структуру та механізм дії спочатку було дуже мало [2]. Тому С. Мур разом зі В. Стайном вирішили встановити *взаємозв'язок між будовою і функціонуванням ензиму рибонукле-*

ази. Для вирішення цієї проблеми необхідно було отримати значну кількість чистого ензиму. В цьому вченим допомогла м'ясопакувальна фірма «*Армор*» (Чикаго), яка забезпечила їх необхідним матеріалом, а саме підшлунковою залозою биків. Першою стадією дослідження всіх протеїнів, і зокрема рибонуклеази, є їх виділення та очищення. Одержання протеїнів у високоочищеному й індивідуальному стані стало можливим переважно внаслідок *використання іонообмінної хроматографії на колонках.* Вагомий внесок у розвиток цього методу зробили саме С. Мур і В. Стайн; вони також запропонували фотометричний нінгідриновий метод кількісного визначення амінокислот.

Таким чином, С. Мур і В. Стайн, *використовуючи розроблений ними метод іонообмінної хроматографії, отримали достатню кількість високоочищеного препарату ензиму.* Потім вони розщепили поліпептидний ланцюг цього ензиму на ділянки, розділили ці ділянки і також методом іонообмінної хроматографії ідентифікували присутні в них амінокислоти. Цей процес став ще ефективнішим, коли в 1958 р. С. Мур, В. Стайн і Даррел Спекман автоматизували метод іонообмінної хроматографії, створивши добре відомий *аналізатор амінокислот*, який згодом почали постійно застосовувати, досліджуючи будь-які протеїни.

Зазначимо, що зацікавленість технікою та інженерні знання, які С. Мур здобув у університеті, допомогли йому в конструюванні приладів для наукової роботи та в створенні амінокислотного аналізатора, який нині необхідний для роботи в протеїнових лабораторіях усього світу. Завдяки використанню *синтетичних іонообмінників — сульфокатіонітів, коротких колонок* і *великій швидкості* експерименту стало можливим зменшити час проведення аналізу до декількох годин (замість одного тижня). Тепер вже існують системи, які протягом однієї години дають результати детального аналізу з автоматичним розрахунком кількості амінокислот у зразках (пробах), що містять усього кілька нанамолей амінокислот. І ось у 1960 р. ця група вчених встановила *повну послідовність амінокислот у рибонуклеазі з підшлункової залози бика.* Це був перший ензим і другий протеїн, для якого було з'ясовано первинну структуру. Одержані результати дали можливість С. Муру і В. Стайну виявити ті амінокислоти, які входять до активного центру рибонуклеази і безпосередньо взаємодіють із молекулою РНК, розщеплюючи її на фрагменти. Молярна маса *ензиму з підшлункової залози бика становить 13 683 і він має один поліпептидний ланцюг, який складається із 124 амінокислотних залишків.* Роботи С. Мура і В. Стайна стосовно первинної структури рибонуклеази дали можливість у подальшому встановити третинну будову цього ензиму, дослідити механізм його дії, а також здійснити його хімічний синтез (групою Меррифільда).



Структура рибонуклеази А
із підшлункової залози бика [13]

У 1968 р. С. Мур працював запрошеним професором у медичній школі Вандербілтського університету. Потім повернувся до Рокфеллерівського інституту, де разом з В. Стайном досліджував структуру *дезоксирибонуклеази.*

У 1972 р. *С. Муру* та *В. Стайну* присудили половину Нобелівської премії з хімії «*за їх внесок у виявленні зв'язку між хімічною струк-*

турою та каталітичною дією активного центру молекули рибонуклеази». Другу половину, як йшлося вище, присудили К. Анфінсену за роботу, пов'язану з цією самою темою. У промові від імені Шведської королівської академії наук *Б. Г. Мальстрем* підкреслив, що розуміння каталітичної дії ензиму залежить від встановлення місцезнаходження його активної ділянки. «*Завдяки цим дослідженням*, — сказав він, — *С. Муру і В. Стайну вдалося створити детальну картину активної ділянки рибонуклеази задовго до того, як було встановлено тривимірну структуру цього ензиму*» [14].

У нобелівській лекції С. Мур і В. Стайн зазначили: «*...існує дуже небагато макромолекул, про які можна говорити так детально, які описано для молекул рибонуклеази або гемоглобіну. Таке знання взаємозв'язку між структурою та функцією є обов'язковим для раціонального підходу до складного синергізму живих систем*».

Після одержання Нобелівської премії С. Мур продовжив дослідження ензимів у Рокфеллерівському інституті. Ідентифікуючи функціональні групи активних центрів ензимів, він разом із В. Стайном відкрили важливий принцип: *реакційна здатність функціональних груп амінокислот, які формують активний центр ензимів, є аномально високою порівняно з такими самими амінокислотами у вільному стані*. С. Мур ніколи не був одружений, всього себе він віддавав науковій роботі. Останні роки він страждав від аміотрофічного бічного склерозу — прогресуючого захворювання центральної нервової системи. Доглядати за ним не було кому, тому 23 серпня 1982 р. у віці 68 років він покінчив із собою в своєму будинку в Нью-Йорку.

С. Мур твердо вірив у те, що «*...пізнання людиною людини має вищий пріоритет у дослідженнях, ніж пізнання людиною Всесвіту*». Крім Нобелівської премії, С. Мур разом з В. Стайном отримав нагороду за досягнення в галузі хроматографії та електрофорезу (1964), медаль Теодора Уїльяма Ричардса Американського хімічного товариства (1972), медаль Ліндстрема-Ланга (Копенгаген, 1972). Він мав почесні ступені університетів Брюсселя та Парижа, був членом Американської асоціації сприяння розвитку науки, Національної академії наук США, Американського хімічного товариства, Американського товариства біологічної хімії та Американської академії наук і мистецтв та ін. [8].

Багаторічним колегою та співавтором у науковій роботі Станфорда Мура був американський біохімік і прекрасний хімік-аналітик *Вільям Стайн*, який і розділив з ним половину Нобелівської премії з хімії в 1972 р.

ВІЛЬЯМ ГОВАРД СТАЙН

Вільям Говард Стайн (англ. *William Howard Stein*) народився 25.06.1911 р. у Нью-Йорку в родині бізнесмена Фріда М. Стайна та Беатріс (Борг) Стайн. Батьки намагались прищепити сину любов до медицини та фундаментальних наук. Вільям навчався в школі Лінкольна — прогресивному навчальному закладі при вчительському коледжі Колумбійського університету, а коли вже був у останніх двох класах, одночасно займався в Академії Філіпс-Екзестер у Андовері (штат Массачусетс), яка забезпечувала класичну англійську освіту. Школа також сприяла розвитку в нього інтересів до мистецтва, музики, літератури і хімії.

Вільям Стайн
(1911—1980) [15]

У 1929 р. Вільям вступив до Гарвардського університету і за чотири роки отримав ступінь бакалавра з хімії. Вирішивши спеціалізуватися в галузі хімії, він продовжив освіту в аспірантурі Гарвардського університету, але перший рік дався йому так погано, що його ледь не виключили з аспірантури і він, навіть, думав залишити кар'єру вченого. Але потім вирішив переключитись на біохімію і в 1934 р. перейшов до відділення біохімії професора *К. Кларка* Коледжу лікарів і хірургів Колумбійського університету в Нью-Йорку. В цьому коледжі В. Стайн знайшов ту мотивацію для інтелектуальної діяльності, якої йому не вистачало раніше; і він, за його словами, «*...в короткий термін опанував велику кількість літератури*». За дисертацію, присвячену дослідженню амінокислотного складу протеїну *еластину*, йому в 1938 р. присудили докторський ступінь. Дисертація Стайна була кроком уперед у дослідженні таких складних структур, як протеїни.

Після отримання докторського ступеня В. Стайна прийняли до Рокфеллерівського інституту медичних досліджень (з 1965 р. — Рокфеллерівський університет) і він залишався в ньому до останніх днів життя. З 1954 р. він обіймав посаду професора біохімії. В. Стайн розпочинав наукову діяльність під керівництвом *Макса Бергмана*, про якого він потім говорив як «*...про одного із самих великих спеціалістів XX ст. у галузі хімії протеїнів*». У цьому інституті доля звела його зі *Станфордом Муром* і вони розпочали спільні дослідження в галузі аналітичної хімії протеїнів і ензимів. Перед ними постало завдання розробити ефективніші методи аналізу амінокислот у протеїнах. Результати роботи, які отримали С. Мур і В. Стайн, істотно визначили обличчя сучасної біохімії.

Під час Другої світової війни С. Мур пішов до армії, а В. Стайн з колегами працював над проєктами, пов'язаними з військовими завданнями для керування науковими дослідженнями і розвитком США. У 1945 р. вони обидва повернулись до наукової роботи в галузі досліджень кількісного й якісного аналізу амінокислот у протеїнах у Рокфеллерівському інституті. Про їхню спільну роботу над встановленням послідовності амінокислот у структурі рибонуклеази з підшлункової залози бика йшлося вище.

Отже, на 1960 р. С. Муром і В. Стайном вже було *встановлено первинну структуру рибонуклеази, яка складається з 1876 атомів* C, H, N і S, *та 124 амінокислотних залишків, а її молярна маса дорівнює 13 683.* Завдяки одержаним ними результатам інші вчені Рокфеллерівського університету в 1967 р. встановили *тривимірну конфігурацію рибонуклеази та підтвердили припущення С. Мура та В. Стайна щодо розташування активного центру цієї молекули* [16].

У 1972 р. В. Стайну і С. Муру присудили половину Нобелівської премії з хімії «*за внесок у виявлення зв'язку між хімічною структурою та каталітичною дією активного центру молекули рибонуклеази*», тобто за дослідження, які вони проводили понад 30 років. У сумісній нобелівській лекції вчені відзначили:

«*...на базі знань структури великих ензимів отримують обґрунтовані принципи розуміння того, як за "задумом" природи каталізатори слугують певним цілям*».

Зацікавленість В. Стайна в розповсюдженні наукової інформації сприяла тому, що значну частину часу він присвячував «*Journal of Biological Chemistry*», в якому був редактором, членом редакційної ради і шість років — головою цієї ради.

У 1969 р. В. Стайн тяжко захворів. Незважаючи на те, що в нього розвинувся параліч і він був прикутий до крісла-гойдалки, він зберіг живий інтерес до наукових досліджень до останніх днів життя. Пішов із життя В. Стайн 2 лютого 1980 р. у 68 років.

У 1968—1969 рр. В. Стайн очолював Комітет з біохімії США, був опікуном лікарні Монтефіор і членом консультативної ради медичної школи Ходасса Європейського університету в Єрусалимі [17].

Обидва вчених, Станфорд Мур і Вільям Стайн, прожили по 68 років. Здається не так багато, але завдяки їхній кропіткій роботі зі *встановлення хімічної структури рибонуклеази та дезоксирибонуклеази* було закладено фундамент для широкого фронту робіт із вивчення первинної структури багатьох протеїнів. Розроблення нових методів дослідження й, особливо, їх апаратурне оформлення стали основою для розвитку робіт із хімії протеїнів у всьому світі, що сприяло значним науковим досягненням у цій галузі біохімії та в молекулярній біології — «золотій ері» біохімії протеїнів.

У 1997 р. Нобелівську премію з фізіології та медицини отримав американський біохімік і невролог, 55-річний тричі професор (з неврології, вірусології та біохімії) *Стенлі В. Прузинер* за сенсаційне відкриття в галузі біохімії протеїнів та інфекційних хвороб, а точніше — «*за відкриття пріонів, нового біологічного принципу інфекції*».

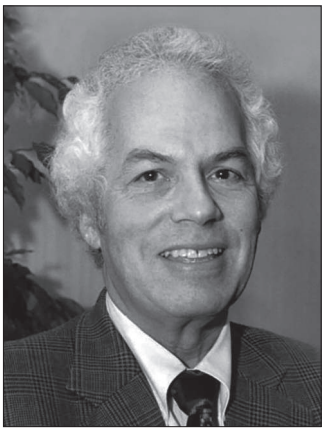
Хто ж такий цей дослідник і яке саме сенсаційне відкриття він зробив?

СТЕНЛІ ПРУЗИНЕР

Прузинер Стенлі Бенджамін (англ. *Stanley Benjamin Prusiner*) народився 28.05.1942 р. у Де-Мойн (штат Айова) в родині єврейських емігрантів із Російської імперії Лоренс (Лоуренс) і Міріам (Спігель) Прузинер. Його батько був архітектором, а під час Другої світової війни служив у ВМС США, брав участь у випробуванні першої американської водневої бомби [19].

У 1952 р. родина Прузинер переїхала до Цинциннаті (штат Огайо). Після закінчення середньої школи Стенлі вступив до Пенсільванського університету, де одержав ступінь бакалавра з хімії. Продовжив навчання в Медичній школі при цьому університеті і став доктором медицини. З 1968 р. працював три роки в Національному інституті здоров'я США, а в 1972 р. обійняв посаду ординатора-невролога в Медичній школі Каліфорнійського університету в Сан-Франциско. В 1980 р. С. Прузинер став професором неврології, а в 1988 р. — професором біохімії [19].

Саме працюючи в Каліфорнійському університеті, Стенлі Прузинер зацікавився пошуком інфекцій, які спричинюють енцефалопатії, такі як хвороба *Крейцфельда—Якоба*. На той час вважали, що цю хворобу викликає вірус, і він почав його шукати [19]. Аби оцінити значення роботи С. Прузинера,



Стенлі Прузинер (1942) [18]

слід зануритися в історію. Ще задовго до його народження, в 1920 р. німецький нейрофізіолог *Ганс Герхард Крейцфельд* (правильніше *Кройцфельд*) описав незвичайне захворювання в людей: порушення поведінки та зору, координації рухів, епілептичні приступи і, як наслідок, смерть [20]. Через рік його співвітчизник і колега, невролог *Альфонс Марія Якоб* також описав це захворювання та пов'язав його з ураженням рогів спинного мозку і пірамідальної системи. Так світ дізнався про *губчасту енцефалопатію*, яку назвали *хворобою Крейцфельда—Якоба (ХКЯ)* у людей і *коров'ячим сказом*, або *скрейпі* (*свербець*) — у тварин (*хвороба овець та кіз*, відома в Англії з 1732 р.).

Ще одним дослідником таких хвороб у людей був американський педіатр і вірусолог словако-угорського походження *Деніел Карлтон Гайдушек* (*Daniel Carleton Gajdusek*) [21]. У 1957 р. він вивчав розвиток дітей і населення Австралії та Нової Гвінеї, яка перебувала під австралійським протекторатом. Там він познайомився з *Вінсентом Зігасом*, працівником австралійської служби охорони здоров'я, який розповів Д. Гайдушеку про незвичайне *плем'я форе*, люди якого живуть високо в горах Нової Гвінеї й розвиток яких знаходився на рівні кам'яного віку. Багато членів цього племені страждали смертельним дегенеративним захворюванням мозку, яке вони називали «куру» і яке ніколи не досліджували. Слово «куру» перекладається як «трясіння, дрижання» або «порча». Вчені разом провели в племені майже рік. Д. Гайдушек опанував їхню мову і вивчав незвичайне захворювання. Д. Гайдушек і В. Зігас спочатку вважали, що збудником «куру» є вірус. Але вони не змогли виділити хвороботворний агент, щоб спричинити захворювання в тварин традиційними вірусологічними методами. Оскільки здебільшого хворіли члени однієї родини, вчені припустили складну генетичну природу захворювання. Але в 1959 р. спеціаліст із захворювання нервової системи у тварин Уїльям Хадлоу, проаналізувавши результати досліджень «куру», виявив, що ця хвороба подібна до «свербця», дегенеративного захворювання овець. «Свербець» («скрейпі») характеризується винятково довгим інкубаційним періодом. Зазвичай між зараженням тварин і появою в них певних симптомів захворювання проходять роки. Тому його збудник отримав назву «повільного вірусу». Хоча ця хвороба передавалась від однієї тварини до іншої, вірус «свербця» не було виявлено.

Д. Гайдушек зрозумів, що передача захворювання «куру» може відбуватися «повільним вірусом». Справа в тому, що в племені форе існував ритуальний канібалізм: після смерті родича члени його сім'ї з поваги до нього їли його головний мозок. Таким шляхом забезпечувалася пряма передачу вірусу [22].

У 1963 р. Д. Гайдушек почав експерименти з пересадженням тканини головного мозку людей, які померли від «куру», до людиноподібних мавп. Через два роки в експериментальних тварин з'явились ознаки захворювання. Спочатку він ставив досліди на шимпанзе, але потім перейшов на нижчих мавп.

Досягнуті успіхи поставили перед Д. Гайдушеком і його колегами питання пошуку інших «повільних вірусів». У 1971 р. було встановлено, що ХКЯ, симптоми якої подібні до «куру», може передаватися і тваринам. Результати проведених Д. Гайдушеком досліджень «свербця», «куру» і ХКЯ свідчили, що в усіх цих хвороб є низка загальних ознак. Всі вони мають довгий інкубаційний період. Збудники цих хвороб, на відміну від звичайних вірусів, не дають імунної реакції: запалення, підвищення температури, вироблення антитіл й інтерферону тощо, в їхній будові не було виявлено ані молекул ДНК, ані РНК. «Повільні віруси» не інактивуються такими лікувальними засобами, як формальдегід, ультрафіолетове проміння, висока температура, які руйнують нуклеїнові кислоти. Крім того, їх наявність в уражених тканинах не виявили, навіть, за допомогою електронного мікроскопа [22, 23].

Усі такі факти переконали Д. Гайдушека й інших вчених у тому, що «повільні віруси» є принципово новим хвороботворним агентом, а саме інфекційним протеїном [23]. Залишалось незрозумілим, чим саме зумовлені відхилення в утворенні аномальних за формою або за кількістю клітинних протеїнів. Виявилось, що протеїнові тяжі (або бляхи) знаходяться в мозку людей з хворобою Альцгеймера, а також тих, які страждають на старече недоумство.

У 1976 р. Деніел Карлтон Гайдушек розділив Нобелівську премію з фізіології та медицини з Барухом Самуїлом Бламбергом (американським лікарем і вченим) «за відкриття нових механізмів походження і розповсюдження інфекційних захворювань» [24]. Б.С. Бламберг отримав премію «за дослідження носіїв і вірусу гепатиту та за те, що він отримав дані про можливість утворення раку печінки після зараження вірусом гепатиту В». Д.К. Гайдушека нагородили не за те, що відкрив походження «куру», а за те, що його дослідження дали змогу «...розпізнавати нову категорію людських хвороб, які спричинюють унікальні інфекційні агенти», — зауважив у вітальній промові Ерлінг Норбі з Каролінського інституту.

Повернемось до робіт Стенлі Прузинера. Як зазначалося вище, він зіткнувся з «повільним вірусом» у 1972 р., коли перейшов у відділення неврології Каліфорнійського університету (Сан-Франциско). Через два місяці після початку роботи в нього померла пацієнтка з незворотніми ушкодженнями, зумовленими хворобою Крейцфельда—Якоба. Тоді він з'ясував, що до того часу не було впевненості, що цю хворобу спричинюють саме віруси. І молодий амбіційний лікар вирішив встановити молекулярну структуру збудника ХКЯ. Після детального вивчення наукової літератури С. Прузинер у 1974 р. відкрив власну лабораторію. Для дослідження ХКЯ він працював за грантом з глутамінового метаболізму. Перша його стаття про виділення нового агента — протеїну пріона — вийшла тільки в 1982 р. Саме С. Прузинер є автором терміна «пріон». Ця назва складається з двох англійських слів: proteinaceous infection — протеїнова інфекція. Стаття викликала резонанс в медичних колах. Медицина взагалі консервативна, але передбачити, щоб хвороба передавалась лише протеїнами? Небагато науковців прийняли цю концепцію відразу. Навіть Д.С. Гайдушек так і не погодився з відкриттям С. Прузинера до самої смерті в 2008 р. А наука продовжувала розвиватись.

Через деякий час стало зрозумілим, що пріони — це не нова форма життя, а власні протеїни людини, які стали патогенними через зміну їхньої конформації. Ці зміни можуть зумовлюватися різними чинниками — від зовнішньої дії до генетичних змін. Майже через десять років С. Прузинер опублікував велику підсумкову працю в журналі «Science» (1991) — «Молекулярна біологія пріонових хвороб» [25].

У промові на банкеті після вручення Нобелівської премії С. Прузинер зазначив: «*Так звані конформаційні хвороби зумовлені трансформацією α-спіральних ділянок молекул протеїну в β-структури (листки) з наступною агрегацією та полімеризацією таких молекул у токсичні для клітин амілоїдні сфероїди і фібрили (внутрішньоклітинні депозити, «бляшки»). Список протеїнів, здатних до формування амілоїдних агрегатів, постійно розширюється. Найвідомішими є β-амілоїд і τ-протеїн (хвороба Альцгеймера), пріонний протеїн ХКЯ, α-синуклеїн (хвороба Паркінсона), гантингтін (хвороба Гантингтона), β-мікроглобулін (діалізний амілоїдоз). Амілоїдози розвиваються повільно, часто десятиліттями. Амілоїдози поділяються на неінфекційні («вікові» нейродегенеративні захворювання) й інфекційні — трансмісивні спонгіоформні (губчасті) енцефалопатії — це пріонні хвороби куру, ХКЯ, скрепі (свербець) овець та інші. Пріонними є також спадкові захворювання, такі як синдром Герстманна—Штраусслера—Шейнкера та фатальне родинне безсоння*».

Що являють із себе пріони і чим визначається їхня інфекційність?

Збудник пріонних хвороб — це мутантна (інфекційна) форма звичайного протеїну, який синтезується в багатьох клітинах, але найактивніше в нервовій тканині. Пріони протеїну ссавців С. Прузинер назвав — PrPC (PrPc) — індекс «С» — cellular, клітинний. Цей «нормальний» пріон може переходити в патологічну форму — PrPSc (PrPsc — «sc» від слова «скрепі»). Остання форма протеїну легко агрегує, вона стійка до протеїназ, до різних фізичних чинників і виникає або спонтанно, або через контакт із такою самою формою — PrPsc. Але контактувати мають протеїни з подібною амінокислотною послідовністю, тому випадків міжвидового зараження мало. Молекулярна маса PrPc становить 33—35 кДа і він зв'язується з клітинною мембраною завдяки глікоінозитолфосфатидному заякорюванню. Первинна структура цієї ізоформи в різних видів тварин досить подібна: в людини він має 253 амінокислотних залишки, у гризунів — 254, в овець — 256. Молекулярна маса біологічно активного, «інфекційного пріону» (PrPsc) дорівнює 27—30 кДа і він мало чим відрізняється за амінокислотною послідовністю від звичайного, клітинного PrPc. Тоді як нормальний клітинний, низькомолекулярний протеїн (PrPc) стає «інфекційним»? З'ясувалось, що вся справа в третинній конформації цих двох протеїнів. Якщо у будові клітинного пріону є чотири α-спіралі і не має β-листків, то в «інфекційному» є чотири β-шари і дві α-спіралі. Тому останній є структурою гідрофобною, на нього не діють протеїнази і його молекули здатні взаємодіяти між собою, утворюючи агрегати («бляшки», «тяжі») [26]. Що провокує перетворення нормальних протеїнів, які виконують якісь важливі функції в клітинах (можливо, пов'язані з клітинним циклом, вродженим імунітетом), на патогенні, поки що не відомо. Вважається, що «інфекційність» пріонів й інших амілоїдних протеїнів виявляється тільки разом з іншими молекулами-

модуляторами конверсії нормальних протеїнів у патогенні, наприклад нуклеїнові кислоти і глікозаміноглікани. Взагалі, протеїни, які здатні до агрегації, є не тільки у ссавців; їхнє еволюційне коріння сягає давнини. Так, амілоїдні агрегати виявлено в дріжджів та міцелярного гриба, але особливих патологічних властивостей вони не мають.

Таким чином, друга половина XX ст. відзначена видатним відкриттям у галузі біології та медицини — виявленням і дослідженням протеїнів пріонів, які спричинюють спонгіоформні нейродегенеративні енцефалопатії в людей та тварин. Це відкриття має велике теоретичне значення для біохімічної науки саме тому, що конформація пріонного протеїну є носієм певної біологічної інформації, а саме інфекційності, всупереч основному постулату молекулярної біології про те, що спадкова інформація передається лише через нуклеїнові кислоти. Пріони — це не екзотичний випадок, а загальнобіологічне явище.

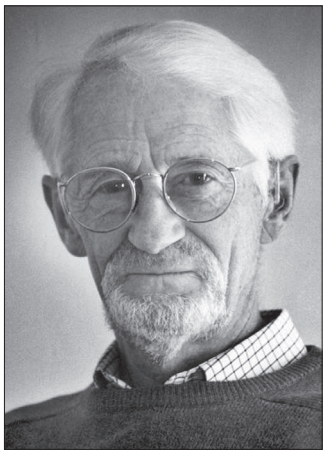
Завершимо розповідь про Стенлі Прузинера його словами: «*Люди часто запитують мене, чому я став займатися дослідженням такої складної проблеми. Я зазвичай відповідаю, що всього лише декільком вченим випала велика удача досліджувати теми, настільки нові та незвичайні, що тільки невелика кількість людей може оцінити значення таких відкриттів від самого початку. Я — один із тих, дійсно, «везучих» вчених, якому пощастило працювати над такою проблемою — проблемою пріонів*».

Нобелівським лауреатом за 1997 р. з хімії став також біохімік, вчений з Данії *Єнс Крістіан Скоу* «за відкриття іонтранспортного ензиму, Na^+,K^+-АТРази (for the first discovery of an ion-transporting enzyme, Na^+,K^+-ATPase)». Цю нагороду він чекав довгих сорок років, оскільки перші відомості про відкриття такого ензиму з'явились ще в 1957 р. у журналі «Biochimica et Biophysica Acta», де він описав його властивості і яка стала однією з основних публікацій з біоенергетики. Можна вважати, що Є. Скоу прийшов до біоенергетики разом з виникненням цієї науки.

ЄНС КРІСТІАН СКОУ

Єнс (Йєнс) Крістіан Скоу (дан. *Jens Christian Skou*) народився 8.10.1918 р. у Лемвічі, містечку на заході Данії. Його батько, Магнус Мартінус Скоу, разом з братом Пітером торгували лісом і вігуллям, а мати — Ане-Мардрет займалася дітьми (їх було четверо) і брала участь у громадському житті містечка. Коли Єнсу було 12 років, батько помер від пневмонії, і сімейними справами займався дядько з матір'ю.

У 15 років він поїхав до школи-пансіонату в Хаслів, невеличке містечко на острові Зеландія, в якій навчався до 1937 р. Потім Є. Скоу вступив на медичне відділення Копенгагенського університету, який закінчив у 1944 р. Останні роки навчання припали на окупацію Данії німецькими фашистами. В 1944 р. Є. Скоу вступив до інтернатури при лікарні Х'єринга на півночі Данії і два роки стажувався переважно із хірургії, одночасно працюючи в ортопедичній клініці в Оргусі (Орхусі; дан. Århus). Але в 1947 р. Є. Скоу перейшов до Інституту медичної фізіології при Університеті Оргуса на посаду асистента професора для виконання дисертаційної роботи про знеболювальний і токсичний механізм дії анестетиків. З 1954 до 1963 р. він був асоційованим



Єнс Крістіан Скоу (1918—2018) [27]

професором, 1963—1978 рр. — професором відділу фізіології, а 1978—1988 р. — професором відділу біофізики Оргуського університету. В 1988 р. пішов на пенсію [28].

Саме з Оргуським університетом пов'язана вся професійна діяльність Є. Скоу. Вивчаючи механізм дії анестетиків, він виявив, що їхня дія пов'язана зі здатністю розчинятись у шарі ліпідів клітинної мембрани і перекривати натрієві канали. Є. Скоу припустив, що цей канал є протеїновою молекулою і саме його блокування в нейронах приводить до анестезії.

Справа в тому, що в 1950-х роках англійські дослідники Р. Кейнс (*Richard Keynes*) та Алан Ллойд Хо́джкін (*Alan Lloyd Hodgkin*) — нобелівський лауреат 1963 р. з фізіології та медицини «за відкриття стосовно іонних механізмів збудження та гальмування в периферичних і центральних ділянках нервових клітин», виявили, що катіон натрію входить у клітину під час збудження нерва і при цьому використовується АТР. Вони також показали, що перенесення катіона натрію з клітини уповільнюється, якщо інгібується синтез АТР. Так почало розвиватися уявлення про ензим АТРазу, яку вважали відповідальною за синтез АТР.

У 1957 р. Є. Скоу виявив таку АТРазу, яка активується катіонами натрію та калію. Так виявили перший іонний насос — ензим, який відповідає за прямий транспорт іонів крізь клітинну мембрану. У 1958 р. на конференції у Відні Є. Скоу дізнався про відкриття серцевого глікозиду уабаїну — інгібітора натрій-калієвого насоса. Використовуючи уабаїн, він швидко довів зв'язок між ензимом АТРазою й іонним каналом, а також досконало вивчив властивості цього ензиму.

Як же працює цей ензим? Виявилось, що Na^+,K^+-АТРаза здатна відкриватися в позаклітинний простір, тоді вона може зв'язати три іони натрію. Коли ензим зв'язується з цими іонами, до нього приєднується молекула АТР. Потім один з фосфат-іонів відщеплюється від молекули АТР і це змінює конформацію ензиму та відкриває вхід до внутрішньоклітинного простору, куди виходять іони натрію. Тепер ензим готовий прийняти два іони калію. Після того як іони калію перекачано в клітину, ензим повертається у вихідний стан і знову готовий прийняти катіони натрію. Коли зв'язуються іони K, то вивільнюється фосфат-іон, який відщепився від АТР. Так здебільшого і працює ця «молекулярна машина» за назвою Na^+,K^+-АТРаза [28].

Єнс Крістіан Скоу розробив першу схему роботи ензиму та з'ясував властивості проміжного фосфорильованого інтермедіату. Він сформулював принцип конформаційної лабільності Na^+,K^+-АТРази та показав, що зміна спорідненості ензиму до іонів натрію й калію, що індукується АТР, зумовлює конформаційні зміни в молекулі АТРази, які забезпечують фізичне переміщення іонів крізь мембранний бішар. Завдяки піонерським дослідженням Є. Скоу виникла думка про регуляторну роль АТР, яка є не тільки джерелом енер-

гії, а й може бути модулятором ензиматичної активності. Тепер став зрозумілим механізм перенесення іонів натрію й калію назовні та всередину клітини [29].

Пізніше були відкриті й інші іонні насоси. Всі вони постійно функціонують у живих тканинах. Якщо їх зупинити, то клітина розбухне і, кінець-кінцем, розірветься. Для підтримки роботи іонних каналів необхідна велика кількість енергії — до 1/3 АТР, яка виробляється клітиною.

На роботу іонних насосів впливають різні хімічні речовини. Наприклад, серцеві глікозиди дигіталісу інгібують Na^+,K^+-АТРазу, що зумовлює накопичення іонів натрію в клітинах. Використання таких речовин, як лікарські препарати, спричинює підсилення активності серцевого м'яза.

Структура Na^+/K^+-АТРази [29]

Все наукове життя Є. Скоу присвячене дослідженню єдиного ензиму — Na^+,K^+-АТРазі. Із часом до групи Скоу приєдналося багато молодих дослідників, його лабораторія мала контакти із вченими різних країн світу, а сам він багато часу приділяв читанню лекцій за кордоном. Після виходу на пенсію Є. Скоу продовжував наукову роботу: він розробляв комп'ютерну модель загальної реакції, яка відбувається в іонному насосі. Останню статтю він опублікував у 2015 р. Улюбленими заняттями його були яхтспорт і риболовля в фіордах навколо Оргуса; також він захоплювався класичною музикою [28, 30].

Пішов із життя Є. Скоу 28 травня 2018 р. у віці 99 років, не доживши до свого століття п'ять місяців.

За довге життя його обрано членом Німецької академії наук Леопольдина, Національної академії США, Американської академії наук і мистецтв, Європейської організації молекулярної біології, Європейської академії наук, Данської королівської академії наук та ін. [27, 28, 30].

У лабораторії, де в 1957 р. Є. Скоу відкрив натрій-калієвий насос, у співпраці з групою японських колег було встановлено кристалічну структуру ензиму (2007—2009).

Na^+,K^+-АТРаза — єдиний ензим, якому з 1974 р. присвячувались і присвячуються міжнародні конференції, що об'єднують учених, які працюють у цій галузі. Є. Скоу ніколи не виступав як голова цього напряму, але він завжди був центром інтелектуального притяжіння.

У 1997 р. Нобелівську премію з хімії «за відкриття ензиматичного характеру синтезу АТР (for their elucidation of the enzymatic mechanism underlying the

synthesis of adenosine triphosphate ATP)» отримали ще два дослідники — американський хімік, біохімік-біоенергетик *Пол Бойєр* і англійський молекулярний біолог, хімік *Джон Вокер*.

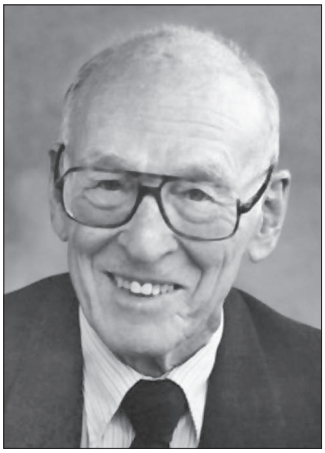
ПОЛ ДЕЛОС БОЙЄР

Пол Делос Бойєр (англ. *Paul Delos Boyer*) народився 31.07.1918 р. у містечку Прово (штат Юта, США), який було засновано мормонами за 70 років до його народження. Як пізніше писав П. Бойєр, у цьому місті, яке було добре спланованим, зі стабільними районами, з гордістю за свою історію та духом необмежених можливостей, він прожив перший 21 рік. Нащадки його батька, Делос Бойєра — лікаря-остеопата, походили з Голландії та Німеччини. П. Бойєр згадував: «...батько навчив мене логічному мисленню, співчуттю, любові до інших, чесності та дисципліні». Мати — Грейс Гаймон була з французьких гугенотів, померла в 1933 р. у віці 45 років від хвороби Аддісона, коли Полу було 15 років. Її смерть стала причиною того, що П. Бойєр вирішив зайнятися вивченням біохімії. А перше знайомство з хімією відбулося тоді, коли Полу на Різдво подарували хімічний набір, який зайняв гідне місце в будинку. Державні школи у Прово були високого рівня. Він розпочав навчання в Паркіровській школі, а закінчив Фаррерівську школу у 16 років. У характеристиці відзначалося, що він зарекомендував себе як «видатний учень» [32].

П. Бойєр продовжив освіту в коледжі університету імені Бригама Янга (Бригамському молодіжному коледжі). Там добре навчали хімії та математиці: курс з якісного і кількісного аналізу дав йому уявлення про необхідність і красу точних вимірювань, але особливе зацікавлення викликав курс з органічної хімії. Біохімії в учбовій програмі коледжу не було. Влітку Пол, як і його однолітки, підробляв, працюючи офіціантом, службовцем у готелі тощо. Після закінчення коледжу П. Бойєр отримав стипендію як аспірант Вісконсинського університету в Медісоні, де навесні 1943 р. захистив дисертацію, присвячену дослідженню ензиму піруваткіназі. Оскільки йшла Друга світова війна, П. Бойєра було включено до військового проєкту, який на базі Станфордського університету займався альбумінами крові. Його основним завданням було віднайти спосіб стабілізації розчинів протеїнів, і він запропонував метод стабілізації додаванням бутирату. Метод прийняли і його використовують дотепер. Дослідження у Станфорді дали П. Бойєру досвід роботи з протеїнами. Концентрований сироватковий альбумін із плазми крові був ефективним у ході лікування шоку під час війни [32].

Наприкінці війни П. Бойєра запросили на посаду асистента Міннесотського університету, але його мобілізували служити до флоту США. Там у нього була своя лабораторія в медичному інституті ВМФ у Бетесді. Менше ніж за рік (у 1946) він переїхав до Міннесоти, де розпочав вивчати механізми дії ензимів, здобувати знання зі структури і функції протеїнів. Зарплатня викладача була невелика і, щоб утримувати родину, в якій вже було троє дітей, П. Бойєр у вільний час працював сантехніком, водопровідником, електриком, теслярем та на інших роботах.

У 1955 р. П. Бойєр отримав стипендію Гуттенхайма і це дало йому можливість рік пропрацювати в Швеції. Для нього цей рік був особливо корис-



Пол Бойєр (1918—2018) [31]

ним, оскільки він проводив дослідження в Інституті Веннер-Грена Стокгольмського університету разом з Оловом Ліндбергом і Ларсом Ернстером, а також у Нобелівському медичному інституті, де працював у науковій групі Акселя Хуго Теодора Теорелла [32] — нобелівського лауреата з фізіології та медицини за 1955 р.

А сам П. Бойєр в 1955 р. отримав премію Американського хімічного товариства за вивчення ензимів. У 1956 р. він став професором фонду Хілла і переїхав до філіалу Міннесотського університету в Міннеаполісі. Більшу частину роботи його групи було присвячено різним ензимам, але це не була АТР-синтетаза. Питання про те, як відбувається окисне фосфорилювання, одне із самих складних проблем біохімії, турбувало його весь час.

Використовуючи важкий ізотоп кисню (^{18}O) і радіоактивний фосфор (^{32}P) як зонди, об'єднавши зусилля співробітників і аспірантів, П. Бойєр відкрив новий тип фосфорилювання протеїну, каталітичного проміжного ланцюга в утворенні АТР із фосфорильною групою, приєднаного до залишку гістидину.

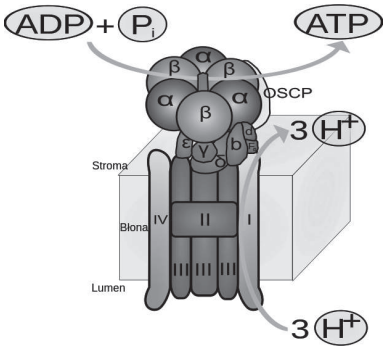
Улітку 1963 р. П. Бойєр розпочав роботу в новій лабораторії Каліфорнійського університету в Лос-Анджелісі. Тут разом зі співробітниками він з'ясував, що зв'язаний з ензимом фосфогістидин є проміжною ланкою в циклі фосфорилювання лимонної кислоти (цитрату). Це був крок на шляху до майбутнього відкриття.

У 1965 р. П. Бойєр прийняв пропозицію стати директором щойно створеного Інституту молекулярної біології в Каліфорнійському університеті (Лос-Анджеліс). Основна мета створення нового Інституту — посилити фундаментальні дослідження для того, щоб з'ясувати, яким чином живі клітини працюють на молекулярному рівні. Дослідження окисного фосфорилювання продовжились, і вже в 1971 р. він запропонував перший головний постулат у механізмі синтезу АТР: основним етапом, де використовується енергія, є не синтез АТР із ADP і неорганічного фосфату, а процес вивільнення АТР від ензиму.

У наступне десятиліття він запропонував дві інші концепції механізму дії АТР-синтази, а саме: три каталітичні сайти ензиму беруть участь у синтезі послідовно й одночасно. Це можна було пояснити, використовуючи ротаційний каталіз. У цей час було успішно досліджено й інші аспекти механізму дії цього ензиму: утворення комплексу з Mg^{2+}, інгібування ADP. Подібний механізм та інші властивості синтази, крім синтази мітохондрій ссавців, виявили також у хлоропластах, кишковій паличці та в термофільній бактерії Кагави.

Ці роботи П. Бойєра було відзначено нагородою Роуз Американського товариства біохіміків і молекулярних біологів [33].

Що собою являє АТР-синтаза, яка її будова і, головне, як вона працює в клітині, утворюючи велику кількість макроергічної сполуки АТР з точки зору результатів дослідження П. Бойєра?



Структура H^+-АТР-синтази [35]

За його даними вона складається із шести сайтів, які зв'язують нуклеотиди. Три сайти (*а*, *в*, *с*) знаходяться в мембрані дискової частини і мітохондрій, а частина ензиму, яка виступає з мембрани (знаходиться поза нею), також складається з трьох субодиниць — α, β і γ. Під час проходження іонів водню крізь *с*-субодиницю дискової частини у складі мембрани ця частина ензиму починає обертатись. Оскільки γ-субодиниця тієї частини ензиму, що виступає, фіксовано пов'язана з дисковою частиною, то вона також обертається. Верхня частина АТР-синтези, що виступає з мембрани, подібна до циліндра і складається з α- і β-субодиниць (кожних три). У центрі циліндра знаходиться несиметричної форми γ-субодиниця, обертання якої веде до зміни конформації β-субодиниці. Оскільки γ-субодиниця функціонує як несиметричний вал, то структура під час обертів кожної із трьох β-субодиниць вимушена змінюватися. До однієї з β-субодиниць приєднується молекула ADP і фосфатіон, у другій відбувається синтез АТР, а в третій — вивільнення готової АТР. Унаслідок одного циклу всі три форми міняються місцями і відбувається синтез АТР. Ензим готовий до нового циклу. Таким, загалом, є механізм роботи АТР-синтетази [34, 35].

Отже, обмінно-зв'язувальний механізм, запропонований П. Бойєром для пояснення механізму дії АТР-синтази, містить три принципові стадії:

1. Основним етапом, що потребує енергії, є не синтез АТР із ADP і неорганічного фосфату, а процес вивільнення АТР від ензиму.

2. У АТР-синтазному комплексі зв'язування субстратів і вивільнення продуктів реакції відбувається в трьох окремих ділянках ензиму, які не взаємодіють між собою. При цьому кожна каталітична ділянка може існувати тільки в одному з трьох конформаційних станів.

3. Потік іонів водню (H^+) крізь протонний канал F_0 за градієнтом електрохімічного потенціалу спричинює обертання γ-субодиниці АТР-синтазного комплексу. Це обертання зумовлює конформаційні зміни в каталітичних ділянках, що дає змогу молекулі АТР вивільнюватися з ензиму, а процесу тривати далі [34, 35].

Дві перші стадії отримали багато підтверджень на підставі, здебільшого, аналізу кінетики процесу і є загальноприйнятими. Підтвердження про обертальний механізм процесу, спряженого між потоком H^+ і синтезом АТР, довести було складніше. Це змогла зробити група англійських вчених у лабораторії Джона Вокера в Кембриджі в 1981—1991 рр. Вони провели кристалографічний аналіз структури F_1-комплексу АТРази мітохондрій бика. Було показано, що в каталітичний комплекс входять три β- і три α-субодиниці, які розташовані, чергуючись як часточки апельсина. Три β-субодиниці відрізняються одна від одної і конформаційно, і за зв'язаними з ними нуклеотидами, що підтверджує механізм синтезу АТР за принципом зв'язування — обмін. При цьому γ-субодиниця як стрижень знаходиться в середині каталітичного

комплексу. Між α- і β-субодиницями виявлено високогідрофобні взаємодії, що дає можливість для обертання γ-субодиниці всередині порожнини, утвореної каталітичним центром ензиму. Іншими словами, γ-субодиниця виглядає як молекулярний підшипник, який «змащується» (за обертання) завдяки гідрофобним взаємодіям, що існують у каталітичному центрі ензиму.

Після аналізу кристалічної структури F_1-комплексу АТРази було знято всі питання стосовно механізму синтезу АТР. Однак остаточний доказ обертання γ-субодиниці в каталітичному центрі ензиму можна було б отримати, якщо б вдалось зареєструвати його візуально. Такий експеримент провели в 1997 р. Масасуке Йошида з колегами в Токійському технологічному інституті (Японія). Вони помітили актиновий філамент флуоресцентним зондом і «пришили» його до γ-субодиниці АТР-синтазного комплексу. Далі комплекс F_1 було прикріплено до спеціально обробленої скляної поверхні, на якій можливе ковзання. Дослідники припустили, що якщо γ-субодиниця справді здатна обертатися під впливом АТР, то обертатиметься і прикріплений до неї філамент. Оскільки розміри філамента становили близько 1 мкм, його обертання мало бути видно у флуоресцентний мікроскоп. Результати експерименту виявилися приголомшливими. Як тільки до модифікованого комплексу F_1 додали АТР, актинові філаменти почали обертатися по колу із середньою швидкістю 4 оберти за секунду. Розміри актинового філаменту значно перевищували розміри ензимного комплексу, тому реальна швидкість обертання γ-субодиниці має бути значно більшою. Демонстрація обертального руху γ-субодиниці дала змогу остаточно вирішити питання про механізм синтезу АТР в АТР-синтазному комплексі. Автори зняли про це фільм, який став сенсацією в науковому світі [36].

Під керівництвом П. Бойєра над проблемою АТР-синтетази працювала велика група молодих науковців (здебільшого аспірантів) з різних країн світу: Туреччини, Ізраїлю, Голландії та з різних університетів США й Великої Британії [32, 33].

Як біохімік він одержав можливість відвідувати різні країни. П. Бойєр вважав, що інформація, яку отримує вчений на наукових конференціях і симпозіумах, дуже важлива для прогресу його наукової думки і роботи лабораторії. Зустрічі з ученими або візити в лабораторії Японії, Швеції, Франції, Німеччини, Росії, Італії, Аргентини, Ірану та інших країн дали йому можливість обмінюватися інформацією, перевіряти нові ідеї, розширити світогляд, отримати нові перспективи.

Фактично все своє творче життя Пол Бойєр присвятив дослідженню з'ясування будови і особливо механізма дії одного єдиного ензиму — АТР-синтази, ензиму, який назвали «полум'яним мотором», одному з найважливіших ензимів.

Саме за «відкриття ензиматичного характеру синтезу АТР-синтази» Пол Бойєр разом з англійським біохіміком Джоном Вокером у 1997 р. отримав Нобелівську премію з хімії.

Пішов із життя Пол Бойєр 2 червня 2018 р. від дихальної недостатності в Лос-Анджелісі (Каліфорнія, США), не доживши двох місяців до свого 100-річчя. Впродовж життя його було обрано членом Національної академії

наук США, Американської академії наук і мистецтв, Американського філософського товариства та інших наукових товариств [33].

У своїй біографії П. Бойєр писав: «Дослідження життєвих процесів дало мені глибоку оцінку живої клітини. Прекрасно спостерігати красу, дизайн і елементи керування, відточені за роки еволюції, а також здатність людей все більше і більше розуміти життя на планеті Земля. Я твердо вірю, що наші сучасні і майбутні знання всього, чим ми є і що нас оточує, залежать від інструментів і підходів науки».

Разом з П. Бойєром Нобелівську премію з хімії в 1997 р. отримав британський молекулярний біолог, хімік, викладач університету *Джон Вокер* (Уокер) «за встановлення ензимного механізму, який керує синтезом аденозинтрифосфату (АТР)».

ДЖОН ЕРНЕСТ ВОКЕР

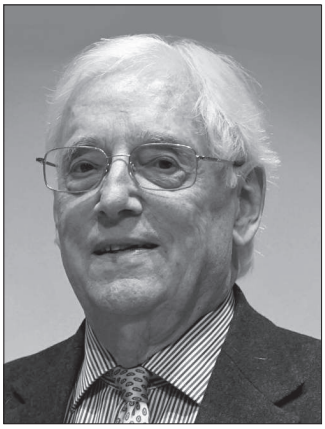
Джон Вокер, повністю **сер Джон Ернест Вокер** (англ. *John Ernest Walker*) народився 07.01.1941 р. у Галіфаксі, Йоркшир (Велика Британія). Батько був звичайним каменярем, а мати талановитим піаністом-любителем і вокалістом. Джон виховувався з двома молодшими сестрами в сільській місцевості. Освіту він отримав у Растрік-гімназії, яка спеціалізувалася на фізичних науках, останні три роки його навчання були присвячені вивченню математики. В 1960 р. Джон вступив до Оксфордського коледжу Святої Катерини і в 1964 р. отримав ступінь бакалавра з хімії.

У 1965 р. Д. Вокер разом з Е.П. Абрахамом почав дослідження пептидних антибіотиків у Школі патології сера Вілліана Данна (Оксфорд) і в 1969 р. отримав ступінь доктора філософії. У цей час він зацікавився молекулярною біологією, цьому сприяли дві монографії — «Молекулярна біологія гена» Дж.Д. Вотсона (1965) і «Генетика бактерій» Вільяма Хейза.

Потім був п’ятирічний період роботи Д. Вокера за кордоном, спочатку в школі фармацевтики при Вісконсинському університеті (1969—1971), а з 1971 до 1974 р. у Франції в Національному центрі наукових досліджень та Інституті Пастера [37].

На запрошення Фредеріка Сенгера Д. Вокер у 1974 р. розпочав роботу у відділі хімії протеїнів і нуклеїнових кислот у лабораторії молекулярної біології Ради медичних досліджень Кембриджського університету, де і зробив видатні відкриття стосовно будови АТР-синтази. Проте свою діяльність він розпочав із дослідження протеїнів, які кодуються ДНК у деяких бактеріофагах і мітохондріях — органелах, які генерують енергію.

У 1978 р. Д. Вокер вирішив застосувати методи хімії протеїнів у дослідженні мембранних протеїнів, оскільки він вважав це складною і важливою галуззю. Він багато читав наукової літератури і зупинився на дослідженні АТР-синтази. На той час було відомо, що ензими окисного фосфорилювання із внутрішньої сторони мембрани мітохондрій є великими і складними комплексами, але їх, незважаючи на всю важливість, практично не було досліджено з хімічної точки зору. Тому Д. Вокер у 1978 р. розпочав структурні дослідження АТР-синтази з мітохондрій серця великої рогатої худоби і з еубактерій. Ці дослідження сприяли повному послідовному аналізу комплексу, який скла-



Джон Вокер (1941) [37]

дається з багатьох структур, що дало нове уявлення про те, як АТР синтезується в біологічному світі. Орієнтуючись на хімічний склад ензиму, Д. Вокер визначив послідовність амінокислот протеїнових одиниць синтази [38]. Працюючи з рентгенівськими кристалографами, вчений у 1994 р. встановив тривимірну структуру ензиму. Він складається з однієї групи протеїнів (частина F_0), яка вбудована у внутрішню мембрану та сполучена протеїновим стрижнем з іншою групою протеїнів. Група протеїнів (частина F_1) розміщена в матриці органели. Проходження іонів водню крізь мембрану спричинює обертання частини F_0 і ніжки, і це обертання змінює конформацію протеїнів у частині F_1. Результати, одержані Д. Вокером, підтвердили «механізм зміни зв'язування», запропонований П. Бойєром, який вважав, що ензим функціонує, змінюючи конформацію протеїнів таким чином, щоб змінити їх хімічну спорідненість до АТР і до молекул попередників.

Саме «*за встановлення ензиматичного механізму, який керує синтезом аденозинтрифосфату (АТР)*» Джон Вокер разом з Полом Бойєром отримали Нобелівську премію з хімії в 1997 р.

У 1988 р. Д. Вокер став директором відділу харчування людини в MRCDunn у Кембриджі. Завдяки його науковим роботам цей відділ у 2009 р. почав займатися біохімією мітохондрій і зосередив увагу на перетворенні енергії в мітохондріях здорових і хворих людей. Він також керував групою, яка вивчала склад і функції всіх протеїнів мітохондрій. У 2013 р. він пішов з посади директора відділу біології мітохондрій.

Крім Нобелівської премії, Д. Вокер отримав багато нагород за наукову роботу. В 1999 р. його посвятили в лицарі. В 1995 р. його обрали членом Королівського товариства, а в 2012 р. нагородили вищою нагородою товариства — медаллю Коплі. Також Д. Вокер у 1959 р. отримав золоту медаль А.Т. Клеа, в 1994 р. — премію Джонсона Пенсільванського університету, в 1995 р. — медаль і премію Біохімічного товариства і медаль Пітера Мітчелла Європейського біоенергетичного конгресу. Він є членом багатьох міжнародних товариств біохіміків і молекулярних біологів [39].

Насамкінець відзначимо, що в 70—80-ті роки XX ст. П. Бойєр і Д. Вокер стали всесвітньо відомими завдяки своїм роботам над протонним насосом, тобто H^+-АТР-синтазою — найважливішим ензимом біоенергетики. Після появи революційної хеміосмотичної теорії Пітера Мітчелла [40] головним завданням біоенергетиків було зрозуміти, як цей ензим перетворює електрохімічний градієнт протонів на хімічну енергію АТР, тобто синтезує АТР із ADP і неорганічного фосфату (а може і зворотний процес). Д. Вокер, використавши електронну мікроскопію та рентгеноструктурний аналіз, зміг з'ясувати будову ензиму й підтвердити правильність гіпотези П. Бойєра про триактний алгоритм його роботи. П. Бойєр передбачив, що внутрішня субодиниця протеїну обертається, послідовно змінюючи при цьому конформацію кожного із трьох каталітичних протеїнів. І це було блискавично підтверджено в Японії в 1997 р.

Роботи нобелівських лауреатів з хімії за 1997 р. — Єнса Крістіана Скоу (відкриття ензиму Na^+,K^+-активованої АТРази) та Пола Бойєра і Джона Вокера (відкриття механізму дії АТР-синтази) були величезним кроком уперед у розшифруванні механізму дії ензимів — найважливіших компонентів метаболізму в живих організмах.

STRUCTURE, MECHANISM OF REGULATION OF ENZYME ACTIVITY AND THE NOBEL LAUREATES: C. ANFINSEN, S. MOORE, W. STEIN, S. PRUSINER, J. SKOU, P. BOYER, J. WALKER

R.P. Vynogradova, V.M. Danilova, S.V. Komisarenko

Although the protein nature of enzymes was identified in the 40s of the 20th century, (we wrote about this in our previous article), their molecular structure and the specific mechanism of action remained unknown. Researchers of the next generations faced the challenges and a major breakthrough was achieved. In 1960, American biochemists S. Moore and W. Stein determined the complete amino acid sequence of enzyme ribonuclease. It was one of the first proteins and the first enzyme whose primary structure was established. In 1972, for this discovery, they received the Nobel Prize in Chemistry jointly to Christian Anfinsen who worked on the same problem. Works of Nobel Laureates in Chemistry in 1997 — Jens Christian Skou (for the discovery of the Na^+,K^+-activated ATPase), Paul Boyer and John Walker (for the discovery of the mechanism of action of H^+-ATP synthase — the most important enzyme for bioenergy) were a huge step forward in the deciphering the mechanisms of enzyme action. The second half of the 20th century was marked by another outstanding discovery in the field of biology and medicine — the identification and characterization of prions — the proteins that cause neurodegenerative spongiform encephalopathies in humans and animals. For this work, American biochemist Stanley B. Prusiner received the Nobel Prize in Physiology or Medicine in 1997. This discovery is of great theoretical significance for biochemical science. The development of new research methods and technological advances formed the basis for significant scientific achievements in this field of biochemistry and molecular biology. This was the golden era of protein chemistry.

Keywords: *C. Anfinsen, S. Moore, W. Stein, S. Prusiner, J. Skou, P. Boyer, J. Walker, ribonuclease, Na^+,K^+-activated ATPase, H^+-ATP synthase, prions.*

REFERENCES

1. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of the Nobel Prize laureates to the development of dynamic biochemistry and bioenergetics. E. Buchner, A. Kossel, R. Willstatter, O. Meyerhof, A. Hill, O. Warburg, A. Szent-Gyorgyi. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 1. P. 108—126.

2. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of the Nobel prize winners to the study of protein structure: J. Sumner, J. Nortrop, W. Stanley, L. Pouling, F. Sanger, M. Perutz, J. Kendrew. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 127—153.

3. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/Christian_Boehmer_Anfinsen.

4. Anfinsen Christian. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 29—32.

5. Anfinsen Christian B. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/himiya/Anfinsen_Kristian_BeMeR.html.

6. Regime of access : https://en.wikipedia.org/wiki/Christian_B._Anfinsen.

7. Regime of access : https://spravochnick.ru/himiya/kristian_bemer_anfinsen_amerikanskiy_biohimik/

8. Stanford Moore. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/

9. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Scientific investigations of the Nobel prize winner Emil Fischer as a launching pad for the development of biochemistry: a brief overview. *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90, N 4. P. 135—142.

10. Grigorieva M.V., Danilova V.M., Komisarenko S.V. Brownian motion, electrophoresis, chromatography, and macromolecular chemistry: how it all unites Nobel laureates of the first half of the 20th century — T. Svedberg, A. Tiselius, R. Synge and H. Staudinger. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 5. P. 70—79.

11. Stanford Moore. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M—Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 129—131.

12. Regime of access : http://www.physchem.chimfak.rsu.ru/Source/History/Persones/Moore.html.

13. Ribonuclease. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/

14. Regime of access : http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/nobel/1972-Moor,Stein.html.

15. William Howard Stein. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/

16. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/himiya/Stan_Uilyam_Houard.html.

17. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/ HIV.

18. Stanley B. Prusiner Regime of access : http://cyclowiki.org/wiki/

19. Stanley Benjamin Prusiner. Regime of access : https://eleven.co.il/jews-in-world/science/15831/

20. Hans-Gerhard Creutzfeldt. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/

21. Daniel Carleton Gajdusek. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A—L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 300—303.

22. Regime of access : https://ru.qwe.wiki/wiki/Daniel_Carleton_Gajdusek.

23. Vynogradova R.P., Berdyshev G.D., Veryovka S.V. Biochemistry and genetics of prions, pathogens of spongiform encephalopathy. Kyiv, Phyto Sociocenter, 2000. 56 p.

24. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/ Daniel Carleton Gajdusek.

25. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/Prion.

26. Prion. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/

27. Jens Christian Skou. Regime of access : https://rue.wikipedia.org/wiki/

28. Jens Christian Skou. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/

29. Натрий-калиевая аденозинтрифосфатаза. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/

30. Jens C. Skou. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1997/skou/facts/

31. Paul Boyer. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/

32. Regime of access : https://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/himiya/BOER_POL.html.

33. Regime of access : https://ru.qwe.wiki/wiki/Paul_D._Boyer.

34. ATP synthase. Regime of access : https://vlab.wikia.org/ru/wiki/

35. ATP synthase. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/

36. Regime of access : https://www.researchgate.net/scientific-contributions/39109605_Masasuke_Yoshida.

37. John E. Walker. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/

38. Regime of access : https://ru.qwe.wiki/wiki/John_E._Walker.

39. John Ernest Walker. Regime of access : http://ru.knowledgr.com/01059947/

40. Vynogradova R.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. The Nobel laureates' contributions to the study of carbohydrate metabolism and its regulation. A. Harden, H. Euler-Chelpin, C.F. Cori, G.T. Cori, E. Sutherland, L.F. Leloir, H. Krebs, F. Lipmann, P. Mitchell. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 1. P. 135—163.

ВНЕСОК НОБЕЛІВСЬКИХ ЛАУРЕАТІВ У ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТАБОЛІЗМУ ЛІПІДІВ І ЙОГО РЕГУЛЯЦІЇ: Ф. ЛІНЕН, К. БЛОХ, С. БЕРГСТРЕМ, Б. САМУЕЛЬСОН, Д. ВЕЙН, М. БРАУН, Д. ГОЛДСТАЙН

О.П. Матишевська, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

Мета праці — аналіз експериментальних досягнень у такій галузі біохімічної науки, як структура та метаболізм ліпідів. Від початку 60-х років XX ст. стався справжній прорив у дослідженні проміжного метаболізму ліпідів і його регуляції, який ознаменувався не лише присудженням низки нобелівських премій, а й формуванням клінічної ліпідології як розділу метабології. Відкриття, зроблені Феодором Ліненом і Карлом Блохом, сприяли з'ясуванню ключової ролі холестеролу в розвитку атеросклерозу та серцевих нападів. Відкриття Суне Бергстрема і Бенгта Самуельсона дали поштовх низці досліджень біологічних функцій простагландинів. Людство має бути вдячним англійському фармакологу Джону Роберту Вейну за відкриття простацикліну та за ту важливу роль, яку він відіграв у розумінні здатності аспірину блокувати утворення простагландинів з арахідонової кислоти. Джозеф Голдстайн і Майкл Браун зробили фундаментальний внесок у розкриття механізму регуляції обміну холестеролу в організмі. Вони вивчали гіперхолестеролемію, зокрема форму спадкового захворювання, яка характеризується високим вмістом холестеролу і ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) в крові, за якого в клітинах кровоносних судин утворюються атеросклеротичні відкладення. Саме завдяки фундаментальним дослідженням усіх цих нобеліантів на сьогодні загальновизнаними є досягнення в таких сферах, як генетика сімейної гіперхолестеролемії, регуляція функціонального стану артерій та мікросудин біологічно активними ліпідними молекулами, попередження атеросклерозу, профілактика судинних ускладнень та у багатьох інших сферах.

Ключові слова*: нобелівські лауреати, метаболізм ліпідів, Ф. Лінен, К. Блох, С. Бергстрем, Б. Самуельсон, Д. Вейн, М. Браун, Дж. Голдстайн.*

Експериментальні досягнення в такій галузі, як структура і метаболізм ліпідів, тривалий час були не такими значними, як в інших галузях біохімії через відсутність чутливих і адекватних методів розділення та ідентифікації представників цього різнорідного класу біологічних молекул. Проте з початку 60-х років XX ст. стався справжній прорив у дослідженні проміжного метаболізму ліпідів і його регуляції, який ознаменувався не лише присудженням низки Нобелівських премій, а й формуванням клінічної ліпідології як розділу метабології, який вивчає етіологію, патогенез і клінічні прояви порушень ліпідного обміну та його регуляції в організмі людини та розробляє методи діагностики, лікування й профілактики таких порушень. На сьогодні загальновизнаними є досягнення в таких сферах, як генетика сімейної гіперхолестеролемії, регуляція функціонального стану артерій та мікросудин біологічно активними

ліпідними молекулами, попередження атеросклерозу, профілактика судинних ускладнень та в багатьох інших сферах.

У 1964 р. **Нобелівську премію з фізіології та медицини** присудили *Феодору Лінену* та *Конраду Блоху* «*за відкриття механізмів і регуляції метаболізму холестеролу та жирних кислот* (*for their discoveries concerning the mechanism and regulation of the cholesterol and fatty acid metabolism*)» [1].

ФЕОДОР ФЕЛІКС КОНРАД ЛІНЕН

Феодор Фелікс Конрад Лінен (нім. *Feodor Felix Konrad Lynen*) — німецький вчений, народився у 1911 р. у Мюнхені (Німеччина). Був сьомою дитиною в сім'ї професора інженерного факультету Мюнхенського технічного університету. Змалечку він цікавився хімією, особливо після того, як старший брат влаштував вдома невелику хімічну лабораторію. У 1930 р. Ф. Лінен вступив на хімічний факультет Мюнхенського університету. Серед його педагогів і наставників був нобелівський лауреат, професор Генріх Віланд, про якого йшлося раніше [3]. За дисертаційну роботу про отруйні речовини гриба *Amanita phalloides* Ф. Лінен у 1937 р. отримав ступінь доктора філософії. У тому самому році він одружився з Євою Віланд, дочкою Генріха Віланда; подружжя мало п'ятеро дітей.

Феодор Лінен
(1911—1979) [2]

Грошова субсидія дала змогу Ф. Лінену залишитися працювати в університеті за спеціальністю «біохімія». Під час Другої світової війни його звільнили від призову в армію через травму колінного суглоба, яку він отримав у 1932 р., катаючись на лижах. У 1943 р. хімічне відділення Мюнхенського університету було повністю зруйновано, і лабораторія Ф. Лінена переїхала до невеличкого селища на околиці міста. Після того, як Німеччина капітулювала, а непричетність Лінена до політики було доведено, йому дозволили відновити викладання в університеті.

У перші повоєнні роки ставлення до німецьких вчених з боку європейських та американських колег було вкрай негативним. Лише чотирьох німецьких біохіміків було запрошено до участі в Першому міжнародному конгресі з біохімії, що відбувся у 1949 р. у Кембриджі (Англія). Ф. Лінен був одним із тих, хто став «послом доброї волі» з Німеччини: його доброзичлива вдача, почуття гумору та вагомий науковий доробок приваблювали іноземних колег. Значимість його особистості було підтверджено пізніше, коли в 1975 р. його обрали президентом фонду Александра фон Гумбольта, діяльність якого спрямовувалася на налагодження зв'язків між Німеччиною та міжнародною науковою спільнотою [4].

У 1953 р. Ф. Лінена призначили професором хімії Мюнхенського університету, а наступного року — директором Інституту клітинної хімії Макса Планка. Упродовж роботи в університеті, з яким Лінен не поривав зв'язків до самої

смерті, він був керівником наукової роботи понад 90 студентів, багато з яких досягли керівних посад як в академії, так і в промисловості.

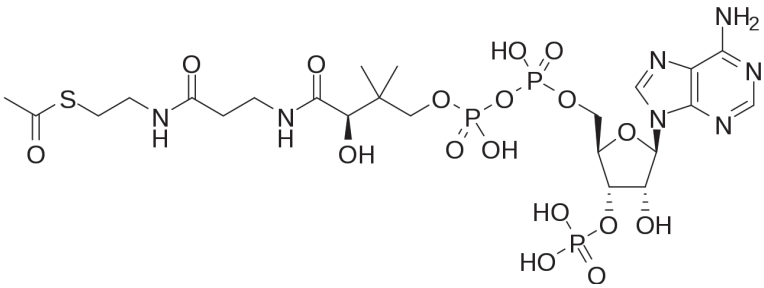
Дослідження Ф. Лінена в Мюнхенському університеті протягом багатьох років були присвячені проміжному метаболізму, окисненню та біосинтезу жирних кислот, а також синтезу *холестеролу*, механізму дії *біотину* та *біотин-залежних ензимів*.

Значний прорив у з'ясуванні синтезу *холестеролу* стався у 1951 р., коли Ф. Лінен опублікував статтю, де описав першу реакцію з низки ланцюгових реакцій синтезу *холестеролу*. Вчений довів, що для запуску ланцюгових реакцій необхідна присутність активної форми ацетату — *ацетил-коензиму А* (*ацетил-КоА*), який утворюється за взаємодії ацетату з *коензимом А* (*коензим — це термостійка водорозчинна частина ензиму, яка необхідна для його нормальної активності*). Лінен виділив ацетил-КоА з дріжджів і вперше детально й точно описав його хімічну структуру. Він показав, що функціональною групою КоА є *тіолова група меркаптоетанолу у його складі і що ацетил-КоА — це тіоловий ефір оцтової кислоти та КоА*.

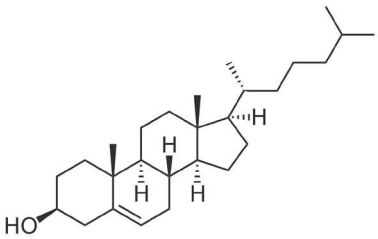
У той час Ф. Лінен ознайомився з результатами досліджень, які проводив у цій самій галузі вчений зі США *Конрад Блох*. З часом між двома вченими зав'язалося листування, в якому вони ділилися результатами своїх досліджень та обговорювали їх. Унаслідок такої співпраці вони встановили послідовність тридцяти шести реакцій синтезу *холестеролу* тваринними клітинами.

Було доведено, що утворення *холестеролу* починається з конденсації двох молекул ацетил-КоА з утворенням чотиривуглецевої сполуки *ацетоацетил-коензиму А*. Дві такі сполуки поєднуються, утворюючи β-*гідрокси-бета-метилглутарил-коензим А* (ГОМГ-КоА), який перетворюється на *мевалонову кислоту* під час реакції, що каталізується *ГОМГ-КоА редуктазою*. *Мевалонова кислота* надалі перетворюється на активований вуглевод *ізопрен* — основну будівельну одиницю для синтезу попередника холестеролу — *сквалену* та інших *терпенових молекул*. Біосинтез *холестеролу* регулюється за механізмом зворотного зв'язку — в разі надмірного накопичення в клітині *холестеролу* система *ГОМГ-КоА редуктази* пригнічується, і кількість синтезованого *холестеролу* зменшується.

Вирішення цієї складної біохімічної проблеми сприяло зміцненню міжнародного авторитету Ф. Лінена і водночас поставило низку нових запитань. Зокрема, Лінен припустив, що *ацетил-коензим А* може брати участь в інших біохімічних процесах.



Структурна формула ацетил-коензиму А



Структурна формула холестеролу ($C_{27}H_{46}O$)

Досліджуючи *біосинтез жирних кислот*, він показав, що першим етапом у цьому процесі, так само як у біосинтезі холестеролу, є утворення *ацетил-коензиму А*. Ацетил-коензим А поєднується з *діоксидом карбону* з незворотним утворенням *малоніл-коензиму А* — тривуглецевої молекули, що є активною формою малонілу, який бере участь у хімічних перетвореннях, не зазнаючи змін. Далі було з'ясовано функцію вітаміну B_7 — *біотину* як коензиму *карбоксилази*, яка здійснює перенесення *діоксиду карбону* на ацетил-КоА в процесі синтезу *малоніл-КоА*. Ф. Лінен із колегами показали, що утворення довгих ланцюгів жирних кислот здійснюється завдяки повторюваному приєднанню *малоніл-коензиму А* до кінця подовжуваної молекули *жирної кислоти* з одночасним вивільненням молекули CO_2. *Контроль за біосинтезом жирних кислот* відбувається за механізмом зворотного зв'язку — у разі надмірного накопичення молекул жирних кислот активність карбоксилази пригнічується і синтезується менше жирних кислот.

Також у процесі подальшої наукової діяльності Ф. Лінен *дослідив катаболізм жирних кислот* та з'ясував хімічні реакції їх згоряння до *діоксиду карбону* та *води*, у ході яких вивільнюється енергія; *ввів поняття «активовані» жирні кислоти* для позначення КоА-похідних жирних кислот із макроергічним тіоефірним зв'язком і показав, що *саме активовані жирні кислоти є субстратом на всіх етапах їх окиснення*. Він *довів участь ацетил-КоА в розщепленні жирних кислот; ідентифікував послідовні ензиматичні стадії* β*-окиснення жирних кислот; виділив деякі ензими та з'ясував механізм їхньої дії*.

У 1972 р. Ф. Лінен перейшов працювати в щойно заснований Інститут біохімії Макса Планка. У 1974—1976 рр. Лінен був виконавчим директором цього інституту, продовжуючи, однак, роботу в лабораторії університету Мюнхена.

Наприкінці життя Ф. Лінен став не тільки відомим вченим, а й гордістю Баварії. Він був автором понад 300 наукових праць, працелюбною, вимогливою до себе й до своїх студентів людиною. За визнанням Кребса: «*Лінен був, мабуть, останнім представником тієї традиційної школи професорів, які вміли організувати роботу великих дослідницьких колективів для реалізації певних особистих інтересів. Завдяки його авторитету та компетентності, відкритості й душевній теплоті співробітники охоче визнавали його беззаперечне лідерство*» [5].

Ф. Лінен помер у 1979 р. у віці 68 років через шість тижнів після операції з приводу аневризми черевної аорти.

Він був іноземним членом Національної академії США, Лондонського королівського товариства; мав нагороди: пам'ятна медаль Лібіха (1955), медаль Каруса Леопольдіни (1961), медаль Отто Варбурга (1963), Премія століття (1964), Нобелівська премія з фізіології та медицини (1964), Pour le Merite (1971), Австрійський почесний знак «За науку і мистецтво» (1972).

КОНРАД ЕМІЛЬ БЛОХ

Конрад Еміль Блох (нім. *Konrad Emil Bloch*) — американський вчений німецького походження — народився у Нейсі, східна Німеччина (нині — Ниса, Польща). Він був другою дитиною в сім'ї, що належала до середнього класу. З дитинства він більше цікавився інженерними та природничими науками, тому вступив до Технічного університету Мюнхена. Проте лекції з органічної хімії, які викладав майбутній нобелівський лауреат *Ханс Фішер*, змінили його уподобання. Конрад так згадував ці лекції: «*Тема захоплювала, наповнення було грандіозним, а читання монотонним*». Проте, незважаючи на монотонність фішерового викладання, Блох був достатньо ним вражений, щоб стати студентом з хімії в його лабораторії [6].

Коннрад Блох (1912—2000)

У 1934 г. Блох отримав ступінь бакалавра із прикладної хімії у Технічному університеті Мюнхена. Це сталося через рік після того, як Гітлер став рейхсканцлером Німеччини. Конрад Блох, який був за національністю євреєм, за допомоги Фішера переїхав до Швейцарії, де почав працювати у Швейцарському науково-дослідницькому університеті в Давосі. Тут він вивчав ліпіди *туберкульозної палички* і показав, що повідомлення про наявність *холестеролу* в складі цієї бактерії було помилковим. Так Блох вперше зіткнувся з холестеролом, у вивченні якого зрештою досяг визначного успіху.

У 1936 р. Конрад Блох емігрував до Сполучених Штатів, де розпочав навчання в аспірантурі з біохімії у Коледжі лікарів та хірургів Колумбійського університету Нью-Йорка. У 1938 р. він отримав докторський ступінь і його прийняли до дослідницької групи, яку очолював *Рудольф Шонхеймер*, німецький вчений, який також переїхав до США (саме *Шонхеймера* визнано тією людиною, яка вперше назвала *холестерол причиною атеросклерозу*). У Шонхеймера Блох навчився використовувати ізотопні мітки, виявив «...*стійкий інтерес до проміжного обміну і до проблем біосинтезу*» [7]. В цій дослідницькій групі працював також *Девід Рітенберг* — спеціаліст із використання *дейтерію* як біологічної мітки. Шонхеймер запропонував Блоху застосувати *ізотопну мітку* для вивчення *біосинтезу холестеролу*, але спочатку з'ясувати, з *води* чи з *оксигену* утворюється гідроксильна група у складі цієї молекули. На жаль, Блох не зміг виконати своє перше завдання, оскільки на той час ще не існувало методу мас-спектроскопічного аналізу для ідентифікації міцно зв'язаного оксигену в складних органічних сполуках. Лише у 1956 р. учень Блоха *T. Tchen* зміг довести походження гідроксильної групи холестеролу з молекулярного кисню.

У 1941 р. Шонхеймер помер, і тематику його лабораторії розділили між співробітниками: *Блоху* дісталися ліпіди, а *Рітенбергу* — синтез протеїнів. Поєднуючи свої знання та вміння, Рітенберг і Блох здійснили досить простий експеримент: вони додали *мічений ацетат* до корму щурів і мишей. Виявило-

ся, що значна частина дейтерію включається до складу *холестеролу*. Такий результат, проте, залишав невирішеним питання, які саме з 27 атомів вуглецю в молекулі холестеролу походять з оцтової кислоти.

Відповідь було знайдено через 10 років, коли Конрад Блох став професором біохімії в Чиказькому університеті (1952). Він зі співробітниками використали в експериментах мутантний штам плісеневого гриба хліба *Neurospora crassa,* для росту якого необхідне зовнішнє джерело *ацетату*. Вирощуючи цей гриб у культуральному середовищі, що містило мічений радіоізотопами ацетат, Блох довів, що всі 27 атомів вуглецю в складі *холестеролу* цього мутанта походять з екзогенного *ацетату*.

Із 1954 р. Блох почав працювати в Гарвардському університеті США. У той самий час дослідник із Мюнхенського університету *Феодор Лінен*, про якого йшлося вище, виявив, що хімічно активною формою ацетату є *ацетилкоензим А*. Конрад Блох та інші дослідники встановили, що ацетил-КоА шляхом низки проміжних етапів, унаслідок необоротної реакції, перетворюється на *мевалонову кислот*у. Результатами своїх досліджень Блох ділився під час листування з Ліненом. Незалежно один від одного вони довели, що *мевалонова кислота* перетворюється на хімічно активний *ізопрен*; з нього утворюється ненасичений 30-вуглецевий *сквален*, який перетворюється на циклічну сполуку *ланостеро*л, а той, у свою чергу, — на *27-вуглецеву молекулу холестеролу*.

У експериментах Блох спочатку хотів використати акул, оскільки в їхній печінці в значній кількості є *сквален*. Вчений планував ввести цим тваринам *радіоактивний ацетат*, а після цього виділити з печінки *сквален* та визначити, чи саме він є проміжним метаболітом на шляху синтезу *холестеролу*. Проте акули не витримували неволі й помирали; натомість експерименти довелося ставити на щурах [7].

Ще в одному експерименті Рітенберг і Блох згодовували щурам та мишам *ацетат натрію, мічений* ^{13}C *і дейтерієм*, та виявили, що не лише холестерол, а й інші тваринні жири містять мічені *вуглець* і *гідроген*. З цього було зроблено висновок, що *атоми карбону в складі оцтової кислоти використовуються також для синтезу жирних кислот*. Дуже важливим стало відкриття того факту, що *холестерол* є необхідним компонентом усіх клітин організму та попередником *жовчних кислот* і одного *із жіночих статевих гормонів*. Завдяки цьому ми сьогодні знаємо, що *усі стероїдні речовини в організмі людини синтезуються з холестеролу*.

Коли Блох розпочав дослідження холестеролу як попередника в синтезі інших стероїдів, він зіткнувся з декількома проблемами. По-перше, мічений холестерол був комерційно недоступним, тому вчений витратив багато часу на введення дейтерію до складу холестеролу *методом платинового каталізу* в суміші важкої води та оцтової кислоти. По-друге, єдиним доступним джерелом одержання прогестеронового метаболіту *прегнандіолу* в достатній кількості була сеча вагітних жінок, але запит вченого до відділення гінекології на дозвіл ввести мічений холестерол пацієнтці відхилили. Проте йому пощастило отримати *прегнандіол* та показати, що він дійсно синтезується з *холестеролу* [8].

Окрім Нобелівської премії, Конрада Блоха було нагороджено премією Фріцше Американського хімічного товариства (1964) і премією за видатні до-

сягнення Асоціації випускників — медиків Чиказького університету (1964). Він був членом Американської академії наук і мистецтв, Американських наукових товариств: хімічного, біохімічного, філософського.

Помер він у Сполучених Штатах у 2000 р. у віці 88 років через закупорку серцевих судин та параліч серця.

Конрад Блох був одружений з Лорою Тойч (*Lore Teutsch*); подружжя мало двоє дітей. Вчений захоплювався лижним спортом, тенісом та музикою.

Важливість робіт Конрада Блоха та Феодора Лінена важко переоцінити.

Коли вони розпочинали свої дослідження, мало що було відомо про утворення холестеролу та жирних кислот, хоча вже існували припущення щодо зв'язку між *атеросклерозом* та вмістом *холестеролу* й інших ліпідів у їжі та в крові. Лінену і Блоху присудили Нобелівську премію з медицини та фізіології в 1964 р. передусім за те, що Нобелівський комітет визнав важливе значення їхньої роботи для медицини. Комітет зазначив, що глибоке розуміння метаболізму стеролів і жирних кислот сприятиме з'ясуванню можливої ролі холестеролу в розвитку атеросклерозу та серцевих нападів, а також передбачив, що майбутні дослідження зв'язку між холестеролом і серцевими хворобами будуть ґрунтуватись на відкриттях, зроблених Ліненом і Блохом.

«*Значення робіт Блоха та Лінена полягає в тому, що ми тепер знаємо, які реакції потрібно досліджувати в зв'язку з вродженими та іншими факторами. Можна стверджувати, що майбутні дослідження в цій галузі дадуть змогу розробити індивідуальну терапію захворювань, які є головною причиною смертності в розвинених країнах*», — так привітав новоспечених лауреатів швед Суне Бергстрем [9].

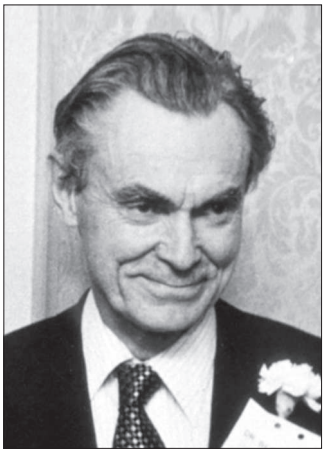
У 1982 р. **Нобелівську премію з фізіології та медицини** присудили вченим *Суне Бергстрему*, *Бенгту Самуельсону* та *Джону Вейну* «*за відкриття, що стосуються простагландинів і близьких до них біологічно активних речовин* (*for their discoveries concerning prostaglandins and related biologically active substances*») [10].

СУНЕ КАРЛ ДЕТЛОФ БЕРГСТРЕМ

Суне Карл Детлоф Бергстрем (швед. *Sune Karl Detlof Bergström*) — шведський біохімік, народився в 1916 р. у Стокгольмі. Його батьками були Сверкер та Вера Бергстреми. У 1934 р. він закінчив середню школу і почав працювати у Каролінському інституті на посаді асистента біохіміка *Еріка Йорпеса* (*Erik Jorpes*), який на той час вивчав клінічне застосування *гепарину* — речовини, що перешкоджає зсіданню крові. Йорпес запропонував молодому Бергстрему дослідити біохімію *ліпідів* (жирів) і *стероїдів* (*групи сполук, основою структури яких є карбонове кільце особливої форми, в яку включено низку гормонів і жовчних кислот*) і, вражений результатами його роботи, у 1938 р. домігся для нього однорічної стипендії для стажування в університеті Лондона. Тут Суне Бергстрем вивчав біохімію *жовчних кислот* (*це — кислоти, які утворюються клітинами печінки й через жовчні протоки виділяються в тонку кишку, де беруть участь у перетравлюванні й усмоктуванні ліпідів*) [12].

Наступного року Карл Бергстрем одержав стипендію від Британської ради для продовження досліджень в Единбурзі, однак у цей час почалася Друга світова війна, і стипендію було скасовано. На щастя, в 1940 р. він отримав дво-

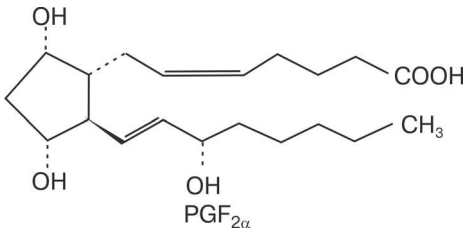
річний Шведсько-Американський грант для стажування у США і почав працювати в Інституті медичних досліджень Сквибба в Нью-Джерсі [13]. Тут він співпрацював з *Оскаром Вінтерштейнером* — визнаним авторитетом у галузі самоокиснення *холестеролу* (*самоокиснення — це хімічний процес, за якого та чи інша речовина сполучається з киснем за кімнатної температури й звичайного тиску*) і займався перетворенням холестеролу, зокрема, реакцією його хімічного поєднання з оксигеном за кімнатної температури. Цей процес, відомий як самоокиснення холестеролу, залишився об'єктом його досліджень після повернення в 1942 р. до Каролінського інституту.



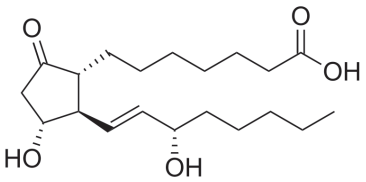
Суне Бергстрем
(1916—2004) [11]

У 1944 р. Бергстрем одержав медичний диплом і його призначили асистентом відділу біохімії Нобелівського медичного інституту (при Каролінському інституті). Тут він почав вивчати *самоокиснення лінолевої кислоти*, яка є незамінною в харчовому раціоні людини, і показав, що цю реакцію каталізує ензим *ліпоксигеназа*, що міститься в соєвих бобах. У 1945 р. Бергстрем з колегами розробили метод очищення *ліпоксигенази*. Того самого року він доповів результати цієї роботи на засіданні Фізіологічного товариства, де зустрівся із вченим Каролінського університету *Ульфом фон Эйлером*, який займався *простагландинами* (ПГ). Вражений досягненнями Бергстрема в очищенні ліпоксигенази, Ейлер переконав його взятися за складне завдання — очистити ПГ та встановити їхню хімічну структуру.

Простагландини були відкриті у 1930 р. гінекологами (*R. Kurzrok* та *C. Lieb*) із Колумбійського університету (США), які спостерігали значне скорочення гладенького м'яза матки за дії неідентифікованої сполуки, яку вони вважали *ацетилхоліном* у складі сім'яникової рідини. У. Ейлер був першим, хто усвідомив, що виявлена біоактивність не належить жодному з відомих медіаторів чи каталізаторів, і вважав, що вміст сполуки в сім'яниковій рідині пояснюється її синтезом у передміхуровій залозі (лат. *glandula prostatic*а), тому й назвав її *«простагландином»*. Ейлер зберіг одержані під час Другої світової війни витяжки передміхурової залози і у 1945 р. надав їх Бергстрему, який у співпраці з колегами зміг досягти високого ступеня очищення простагландинів, перевіряючи їх активність на смужці гладенького м'яза кроля. Бергстрем пові-



Простагландин F



Простагландин E_1

домив, що *«...навіть після очищення до майже невагомого стану ПГ зберігають надзвичайну активність»*.

У 1947 р. Бергстрема запросили на посаду професора фізіологічної хімії Лундського університету в Швеції, де він працював, зокрема, над відновленням і розвитком наукових підрозділів університету, занедбаних під час війни. Крім того, він займався навчанням аспірантів, одним з яких був *Бенгт Самуельсон*, та відновив дослідження ПГ. У 1957 р. у співпраці з Самуельсоном та іншими членами своєї команди Бергстрем одержав декілька міліграмів очищених до кристалічного стану ПГ, які назвали ПГF і ПГE через їх розчинність відповідно у *фосфатному буфері* та *етері*, а також уперше повідомив про їхню хімічну структуру.

У 1963—1966 рр. Суне Бергстрем працював деканом медичного факультету Каролінського інституту, а у 1969—1977 рр. — його ректором. За ці роки в інституті було здійснено низку робіт із дослідження біологічних функцій *простагландинів*, встановлено, що ПГ контролюють кров'яний тиск та температуру тіла, захищають тканини від дії шлункового соку та утворення виразок, відіграють важливу роль у заплідненні та народжуваності. Завдяки одержаним результатам почалося широке застосування ПГ у медичній практиці для контролювання зсідання крові, больових синдромів, процесу пологів. Бергстрем особливо цікавився проблемами підтримання здоров'я породіль, допомагав Всесвітній організації охорони здоров'я в ініціації відповідного проєкту та приклав багато зусиль для його здійснення в Індії, де післяродові кровотечі були головною причиною смертності жінок. Ураховуючи практичне значення одержаних наукових результатів, Бергстрем започаткував роботу з біосинтезу ПГ і розпочав співпрацю з фармацевтичними компаніями для масового виробництва лікарських препаратів на основі ПГ.

Спочатку були сумніви щодо висунення кандидатури Бергстрема на отримання Нобелівської премії, оскільки він був головою Ради директорів Фонду Нобеля, і така номінація могла спричинити конфлікт інтересів. Проте значення його робіт було визнано настільки великим, що зрештою в 1982 р. йому разом з *Бентом Самуельсоном* і *Джоном Вейном* присудили Нобелівську премію з фізіології та медицини. Дізнавшись, що премію з ним розділяє його учень Самуельсон, Бергстрем сказав: *«Немає більшого вдоволення, ніж бачити успіх своїх учнів»*.

Окрім Нобелівської премії, Бергстрем був удостоєний премії Андерса Яре з медицини, яка присуджується університетом Осло (1970), премії Луїзи Гросс-Хорвіц Колумбійського університету (1975), премії Альберта Ласкера за фундаментальні медичні дослідження (1977) і медалі Бара Хольберга Шведського товариства. У 1975 р. його обрали головою Ради директорів Нобелівського фонду. З 1977 до 1982 р. він був головою Консультативного комітету з медичних досліджень Всесвітньої організації охорони здоров'я. За словами Бергстрема, цій роботі він присвячував третину свого часу, *«...подорожуючи світом і допомагаючи створювати наукові установи»*.

Бергстрем був членом Шведської королівської академії наук, Американської академії наук та мистецтв, Академії наук СРСР [12].

Суне Бергстрем був одружений з *Мей Гернандт* (Бергстрем). Подружжя мало одного сина, який став відомим бізнесменом. Також він мав позашлюбного сина, який став еволюційним генетиком і досліджував геном неандертальців. Обидва сини познайомились лише після смерті батька. А помер він 15 серпня 2004 р. у Стокгольмі після тривалої хвороби.

БЕНГТ ІНГЕМАР САМУЕЛЬСОН

Бенгт Інгемар Самуельсон (швед. *Bengt Ingemar Samuelsson*) — шведський біохімік, народився у 1934 р. у портовому місті Хальмстад (Швеція). Його батьками були Крістіна та Андерс Самуельсони. Після закінчення місцевої школи Бенгт Самуельсон вступив до медичного коледжу Лундського університету та почав роботу в дослідницькій лабораторії, де в той час працював Суне Бергстрем. У 1958 г. Самуельсон разом з дослідницькою командою Бергстрема перейшов до Каролінського інституту в Стокгольмі, де в 1960 р. захистив дисертацію, отримав ступінь доктора медичних наук і його призначили асистент-професором медичної хімії [15].

З 1962 р. Самуельсон працював разом з Бергстремом над дослідженням ПГ, у ході якого було встановлено роль *арахідонової кислоти* як попередника ПГ та розшифровано хімічну структуру трьох типів (груп) ПГ. Самуельсон був співавтором Бергстрема опублікованої в 1962 р. статті, присвяченої результатам цих досліджень. Згодом Самуельсон дослідив структуру ПГ інших типів і вдосконалив метод виділення та ідентифікації ПГ, а також метод кількісного оцінювання їх продукування за вмістом продуктів розщеплення у крові та сечі. Він вивчав утворення ПГ в живих організмах і показав, що *арахідонова кислота* та ензиматичні системи утворення ПГ присутні в усіх ядерних клітинах тварин, причому різні клітини виробляють різні ПГ, які виконують неоднакові функції.

Після заснування власної лабораторії Бенгт Самуельсон розпочав дослідження з метою з'ясування механізмів перетворення ПГ упродовж усього декількох хвилин їх існування. Цей напрям досліджень частково запропонував *Джон Вейн*, який виявив, що ПГ інактивуються за декілька секунд під час легеневої циркуляції.

Ґрунтуючись на цих даних, Самуельсон зі співробітниками Каролінського університету в 1973 р. показали, що проміжним етапом у синтезі ПГ є утворення *ендопероксиду*, і згодом виділили два *ендопероксиди* та з'ясували їхню структуру. Було встановлено також, що за дії *аспірину* та *індометацину* синтез ПГ майже повністю припиняється саме на стадії утворення *ендопероксиду*.

Самуельсон також виявив, що в тромбоцитах один з *ендопероксидів арахідонової кислоти* перетворюється на сполуку, яка активує зсідання крові й яку він назвав *тромбоксаном*. У 1975 р. Самуельсон із колегами опублікували статтю, в якій повідомили про відкриття *тромбоксану* A_2 — нестабільного інтермедіату, який утворюється на шляху перетворення ПГ G_2 на *тромбоксан* B_2. Ця стаття до 1983 р. зібрала 1330 цитувань. Виявилося, що *аспірин пригнічує синтез тромбоксану*, тому препарат аспірину в малих дозах почали використовувати для попередження зсідання крові у хворих з високим ризиком *інфаркту міокарда*, спричиненого тромбозом коронарних судин.

Бенгт Самуельсон (1934) [14]

У середині 1970-х років Самуельсон встановив, що у лейкоцитах *арахідонова кислота* за дії іншого ензиму (*ліпоксигенази*) перетворюється на сполуки, які він назвав *лейкотрієнами* (ЛТ). Було виявлено, що ЛТ провокують напади бронхіальної астми та розвиток анафілаксії, підвищують проникність стінок кровоносних судин бронхіол для рідини, спричиняючи набряк.

Завдяки дослідженням Самуельсона сьогодні вже відомо, що *простагландини* — це гормоноподібні речовини, які контролюють низку важливих процесів у організмі. У 1960—1970-х роках Бенгт Самуельсон детально показав, як *простагландини* утворюються з *ненасичених жирних кислот* і як вони перетворюються, а також дослідив різні типи *простагландинів: ендопероксиди*, *тромбоксани* і *лейкотрієни*. Дослідження Бенгта Самуельсона відіграло важливу роль у розробленні ліків, які використовуються для лікування багатьох захворювань, таких як тромбоз крові, запалення та алергії [16].

У 1976 р. Самуельсон працював запрошеним професором Гарвардського університету, а наступного року — Массачусетського технологічного інституту. Упродовж наступних п'яти років він був деканом медичного факультету Каролінського інституту, а в рік отримання Нобелівської премії його призначили ректором Каролінського інституту. У 2016 р. Самуельсон підписав лист із закликом до Грінпіс (*Greenpeace*), ООН та урядів усіх країн припинити боротьбу з генетично модифікованими організмами (ГМО).

Наймолодший із трьох вчених, які розділили Нобелівську премію з фізіології та медицини за 1982 р., Самуельсон продовжує наукові дослідження. У вітальній промові від Нобелівського комітету було зазначено: *«Якщо Бергстрем вперше ізолював ПГ та показав, що вони є елементами складної фізіологічної системи, то Самуельсон не лише виділив та з'ясував структуру деяких найважливіших компонентів цієї системи, а й встановив взаємозв'язки між її різними компонентами»* [17].

Бенгта Самуельсона обрано членом Шведської королівської академії наук та іноземним членом Американської академії наук і мистецтв. Серед інших нагород і премій слід відзначити: премію Андерса Яре з медицини, яка присуджується університетом Осло (1970), премії Луїзи Гросс-Хорвіц Колумбійського університету (1975), премії Альберта Ласкера за фундаментальні медичні дослідження (1977) і медалі Бара Хольберга Шведського товариства (1982) [18].

Бенгт Самуельсон одружений з Карін Бергштейн. Вони мають одного сина та дві доньки [19].

Підсумовуючи цю частину огляду, зазначимо, що відкриття *Бергстрема* та *Самуельсона* дали поштовх низці досліджень біологічних функцій *простагландинів*, розпочатих у Каролінському інституті. Виявилося, що *простагландини типу Е* спричинюють зниження тонусу стінок кровоносних судин і відповідно зниження артеріального тиску, тобто *можуть бути корисними речовинами*

для лікування хворих з деякими серцево-судинними захворюваннями. Простагландини типу F зумовлюють скорочення гладеньком'язових волокон стінки кровоносних судин і *підвищення артеріального тиску, а також скорочення матки*, тому деякі гінекологи почали використовувати їх у разі штучного переривання вагітності.

ДЖОН РОБЕРТ ВЕЙН

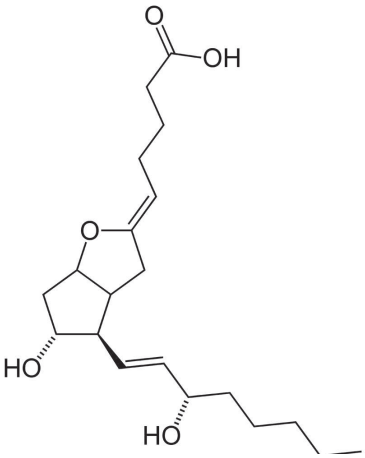
Джон Роберт Вейн (англ. *John Robert Vane*) — британський фармаколог, народився в 1927 р. у Тардебігге (Вустершир). Його батько, Моріс Вейн, був сином єврейських емігрантів з Російської імперії, а мати, Френсіс Вейн, походила з вустерширської сім'ї фермерів. Він був молодшим із трьох дітей у сім"ї. З п'яти років Джон навчався в місцевій державній школі, а потім перейшов до середньої школи короля Эдуарда IV у Бірмінгемі. Коли Джону виповнилось 12 років, батьки подарували йому набір хімічних реактивів, тоді хлопчик і захопився хімічними дослідами. У 1944 р. він вступив до Бірмінгемського університету з наміром зайнятися хімією, проте з часом втратив цікавість до цієї науки. Як згадував пізніше Вейн, коли один із професорів Оксфорда запропонував йому зайнятись фармакологією, він ухопився за цю можливість і відразу пішов до бібліотеки, щоб з'ясувати, що таке *фармакологія*. Це рішення Джон Вейн вважав подією, яка змінила всю його кар'єру [21].

Джон Вейн (1927—2004) [20]

Після отримання у 1946 р. ступеня бакалавра природничих наук Д. Вейн упродовж двох років був стажером-дослідником у фармакологічній лабораторії професора *Гарольда Берна* в Оксфорді, де засвоїв принципи біологічних методів дослідження.

У 1953 р. він здобув ступінь доктора філософії та переїхав до Нью-Гейвен (*City of New Haven*; штат Коннектикут, США), де працював асистентом професора на кафедрі фармакології Йєльського університету під керівництвом *Арнольда Уелча*. У 1955 р. він повернувся до Англії й упродовж 18 років працював у Лондонському університеті, пройшовши шлях від старшого викладача до професора експериментальної фармакології в Королівському коледжі хірургів. За цей час він, зокрема, розробив метод каскадного *суперфузійного біоаналізу*, який давав змогу вимірювати біологічні ефекти декількох речовин у паралельних тестових системах

Якщо Самуельсон у цей час працював над з'ясуванням процесів утворення ПГ, то Вейн зосередився на вивільненні та перетворенні ПГ в організмі та на дослідженні дії селективних інгібіторів *циклооксигенази*. Спочатку з використанням безклітинних систем та очищених препаратів ензимів, а потім в експериментах *in vivo* він довів, що терапевтичні ефекти *аспірину*, *індометацину* та подібних до них ліків пояснюються їх здатністю пригнічувати ензими синтезу ПГ. Надрукована на цю тему стаття зібрала до 1983 р. 2570 циту-



Простациклін

вань. Одержані дані дали можливість глибше зрозуміти *роль простагландинів* за різних станів організму, зокрема, за *ревматоїдного артриту. Виявлення механізму терапевтичної активності аспірину було одним із досягнень, за яке Джона Вейна удостоїли Нобелівської премії.*

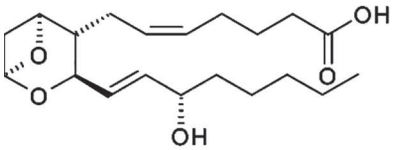
Іншим видатним досягненням Вейна було відкриття *простацикліну* та його властивостей. У 1973 р. Вейн залишив академічну посаду в Королівському коледжі хірургів і посів посаду директора з досліджень у фонді Wellcome Foundation. Він забрав із собою колег, які згодом сформували *відділ дослідження простагландинів*. Під керівництвом *С. Монкади* (*Salvador Moncada — британський лікар і фармаколог гондураського походження*) ця група продовжила дослідження, результати яких зрештою сприяли відкриттю *простацикліну* [22].

В експериментах на ендотеліадьних клітинах було виявлено, що ці клітини синтезують абсолютно інший простагландин, який нині називають PgI_2. Було показано, що дія *тромбоксану* A_2 і *простацикліну* на тромбоутворення та гладенький м'яз судин є протилежною. *Тромбоксан* A_2 стимулює утворення тромбу та спричинює *вазоконстрикцію*, тоді як *простациклін* пригнічує зсідання крові та приводить до розширення судин. *Простациклін є найпотужнішим інгібітором коагуляції крові з усіх відомих.* Вейн і Монкада припустили, що *тромбоксан* A_2 *і простациклін утворюють своєрідну гомеостатичну систему*: тромбоксан A_2 прискорює тромбоутворення в місцях пошкодження судинної стінки, а простациклін зменшує розміри тромбу та дає можливість зберегти циркуляцію крові. *Простациклін застосовують за різних клінічних ситуацій, зокрема, для захисту міокарда від ушкодження під час нападів стенокардії, для попередження тромбоутворення в апаратах кровообігу під час операцій на відкритому серці* [23].

У нобелівській лекції «Пригоди та екскурси в біоаналізі: сходи до простацикліну (*Adventures and Excursions in Bioassay: The Stepping Stones to Prostacyclin*)» Вейн проаналізував дослідження *простацикліну* та його дію на кровоносне русло.

Дослідження Вейна відкрило новий шлях вивчення механізмів виникнення та профілактики нападів *стенокардії* — основної причини смертності в розвинених країнах. «*В наступне двадцятиріччя,* — передбачив Вейн, — *ми будемо свідками потужного наступу на цей процес*». Він стверджував, що будуть знайдені нові ефективні препарати проти серцево-судинних захворювань, бронхіальної астми і навіть тих недуг, що пов'язані з віком.

У співпраці з лабораторією у Північній Кароліні (США) Вейн одержав нові лікарські препарати — *артакуріум* (релаксант м'язів короткої дії), *ламотриджин* (протисудомний препарат, що застосовується в разі епілепсії) та ацикловір (протигерпесний препарат).



Тромбоксан A_2

У 1986 р. Джон Вейн полишив роботу у «Велком Фаундейшн» («Wellcome Foundation») і створив науково-дослідний інститут Уільяма Гарвея при Варфоломіївській лікарні медичного коледжу, який переймався переважно проблемами запалень та серцево-судинних захворювань. У 1991 р. Джон із колегою, Еріком Анггардом, створили фармацевтичну компанію «Vanguard Medica Ltd.» для розроблення сполук, які не були цікавими іншим фармацевтичним компаніям через їхню токсичність. Ця компанія проіснувала до 1996 р. [24].

Разом із Суне Бергстемом і Бенгтом Самуельсоном Джона Вейна удостоїли Нобелівської премії з фізіології та медицини в 1982 р. У 1984 р. за заслуги перед фармацевтичною наукою його було посвячено в лицарі. З 1985 до 1987 р. він обіймав пост віце-президента Королівського товариства. Вейн був активним членом Британського фармакологічного товариства: першим секретарем товариства (1968—1970), генеральним секретарем (1970—1973) і міністром іноземних справ у 1982 р. Почесним членом цього товариства його обрали в 1985 р. Він був також членом Американської академії наук і мистецтв та Американського товариства лікарів. Окрім Нобелівської премії, він був удостоєний медалі Бейлі Королівського коледжу лікарів (1977), премії Альберта Ласкера за фундаментальні медичні дослідження (1977), премії Сіба-Гейджі Дрю Університету Дрю (1980), медалі Дале Товариства ендокринологів (1981) [23].

У травні 2003 р. Джона Вейна в Кракові нагородили Хрестом за заслуги перед Польщею *«на знак визнання його внеску в англійсько-польське співробітництво»*.

Вейн був одружений на Елізабет Пейг (Вейн); у них народилися дві доньки. Дружина Вейна зазначала, що він постійно був захоплений роботою, для нього робота — це саме життя; проте під час коротких періодів відпочинку він із задоволенням катався на водних лижах та насолоджувався підводним плаванням у тропічних водах.

У Джона Вейна було хворе серце. Йому провели успішну операцію у 1992 р., а потім додаткову — у 2002 р. Відновлення після другої процедури було ускладненим через переломи ноги і стегна. Він помер від запалення легень 19 листопада 2004 р. в Королівській університетській лікарні принцеси (Кент) [24].

Джон був геніальним фармакологом, легко розробляв наукові гіпотези, був талановитим оратором і письменником, мотиватором і вчителем кількох поколінь фармакологів.

Людство має бути вдячним англійському фармакологу **серу Джону Роберту Вейну** за відкриття *простацикліну* та за ту важливу роль, яку він відіграв у розумінні здатності *аспірину* блокувати утворення *простагландинів* з *арахідонової кислоти*, а також за те, що його робота врешті-решт сприяла появі нових методів лікування серця та кровоносних судин і застосуванню інгібіторів АПФ.

У 1985 р. **Нобелівську премію з фізіології та медицини** присудили *Майклу Брауну* та *Джозефу Голдстайну* *«за відкриття стосовно обміну холестеролу та лікування порушень обміну холестеролу в крові* (*for their discoveries concerning the regulation of cholesterol metabolism*)» [25].

МАЙКЛ СТЮАРТ БРАУН

Майкл Стюарт Браун (англ. *Michael Stuart Brown*) — американський лікар, генетик і біохімік, народився 13 квітня 1941 р. у Нью-Йорку (США) у сім'ї Харві Брауна та Евелін Браун (Кац). Майкл навчався у Пенсільванському університеті, де вивчав хімію та співпрацював у університетській газеті. У 1962 р. у цьому університеті він отримав ступінь бакалавра, а у 1966 р. — ступінь доктора медицини. У 1966—1968 рр. Браун працював лікарем — інтерном у Массачусетській лікарні загального типу в Бостоні. Саме тут Майкл Браун вперше зустрів Джозефа Гольдстайна, який також проходив дворічне стажування, і потоваришував з ним. На той час обидва інтерни навіть не уявляли, що упродовж 30 років їхні життєві шляхи будуть тісно переплетеними. Згодом Майкл Браун працював у Національному інституті артриту і хвороб обміну речовин у м. Бетесда (штат Меріленд), а з 1971 р. — на Південно-Західному медичному факультеті Техаського університету в м. Даллас (з 1977 р. — професор генетики та директор центру спадкових захворювань) [27].

Майкл Браун (1941) [26]

Ще наприкінці 1960-х років у тісній співпраці з *Дж. Гольдстайно*м Майкл Браун розпочав експериментальні дослідження *порушень холестеролового обміну*. Він не тільки зробив низку вагомих відкриттів у гастроентерології, а й корінним чином змінив наукові уявлення про механізм взаємодії крові та клітин у організмі в цілому. Зокрема, він довів, що в поверхневих структурах клітин тканин є *специфічні рецептори*, які відповідають за обмін речовин між цими клітинами і кров'ю; відкрив саме ті *рецептори*, які регулюють абсорбцію клітинами холестеролу з крові; встановив, що н*адлишок холестеролу в крові* є результатом генетичного дефекту — відсутність рецепторів цього виду [28].

У 1985 р. Майкл Браун (разом з *Дж. Голдстайном*) отримав Нобелівську премію з фізіології та медицини саме за ці відкриття (*дослідження спадкової гіперхолестеролемії та відкриття рецептора ліпопротеїнів низької щільності*).

Майкл Стюарт Браун — член Національної АН США, Американської академії мистецтв і наук, а також багатьох інших національних і міжнародних наукових товариств і організацій. Він одружений, має двоє дітей [29].

ДЖОЗЕФ ЛЕОНАРД ГОЛДСТАЙН

Джозеф Леонард Голдстайн (англ. *Joseph Leonard Goldstein*) — американський медик і хімік, піонер у дослідженні генетики людини, народився 18 квітня 1940 р. у Самтері (штат Південна Кароліна, США) в Айседора Е. та Фанні А. Голдстайн. Навчався в університеті Вашингтона та університеті Лі у Лексингтоні (штат Вірджинія; ступінь бакалавра у 1962 р.). У 1966 р. здобув ступінь доктора медицини в Техаському університеті Далласа. Джозеф Голдстайн

Джозеф Голдстайн (1940) [30]

був настільки блискучим студентом, що вже тоді отримав пропозицію залишитися працювати в цьому університеті.

Після отримання наукового ступеня доктора медицини Голдстайн у 1966—1968 рр. пройшов стажування в Массачусетській лікарні загального типу у Бостоні, де познайомився з Майклом Брауном, з яким у подальшому проводив спільні дослідження *холестеролу*. Потім Голдстайн два роки працював науковим співробітником у лабораторії клінічної генетики Національного інституту охорони здоров'я (NIH). У 1970—1972 рр. він проходив стажування з медичної генетики в Університеті штату Вашингтон в Сієтлі.

У 1972 р. Голдстайн повернувся до Техаського університету з метою очолити відділення медичної генетики; одночасно він обійняв посаду асистента-професора відділення внутрішніх хвороб. За два роки йому присвоїли звання екстраординарного професора, потім — старшого лікаря у Меморіальній лікарні Паркленд (штат Техас; 1974) і професора відділення внутрішніх хвороб (1976). З 1977 р. Дж. Голдстайн — керівник відділу молекулярної генетики Техаського університету, професор медицини і генетики [31].

Але повернемося до досліджень холестеролу. Закінчивши інтернатуру, Майкл Браун працював ад'юнктом в лабораторії біохімії у відділі спадкових захворювань Національного інституту здоров'я. У цьому інституті в лабораторії клінічної генетики М. Ніренберга на посаді наукового співробітника почав працювати Джозеф Голдстайн. Їхня дружба зміцніла, зокрема, завдяки тому, що обоє були завзятими гравцями у брідж. Але головне, що саме тут молоді вчені звернули увагу на епідеміологічні дані щодо підвищеного рівня холестеролу в багатьох хворих із інфарктом міокарда. Працюючи у першокласній науковій лабораторії, Голдстайн оволодів методами наукового дослідження та усвідомив роль молекулярно-біологічних підходів до вивчення хвороб. Особливо він зацікавився хворими з клінічним *синдромом гомозиготної сімейної гіперхолестеролемії* та ділився з Брауном своїми спостереженнями.

Сімейна гіперхолестеролемія — генетичне захворювання, що успадковується за домінантним типом і характеризується надзвичайно високим рівнем ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), а також холестеролу в крові та відкладанням його в тканинах. У *гетерозиготних хворих* у віці 30—40 років виникає *ішемічна хвороба серця*.

Зважаючи на спільну зацікавленість метаболічними хворобами, Голдстайн переконав колегу приєднатися до нього у відділі медичної генетики медичної школи Техаського університету (Даллас) для спільної роботи над проблемою *генетичної регуляції метаболізму холестеролу та ролі рецепторів у підтриманні його гомеостазу*.

Голдстайн і Браун скористалися *методом культури тканин*и для вирощування клітин шкіри, взятих у хворих на *сімейну гіперхолестеролемію*, і по-

казали, що такі клітини містять надлишкову кількість ензиму 3-гідрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктази (ГОМГ-КоА-редуктаза), який контролює *швидкість синтезу холестеролу.* Через надмірну активність ензиму кількість утвореного холестеролу набагато перевищувала кількість холестеролу, утилізованого клітинами. Вчені також виявили, що клітини хворих не здатні ефективно зв'язувати ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ). Це спостереження привело до *відкриття рецепторів до ЛПНЩ на поверхні клітин.*

Вивчаючи залучення рецепторів ЛПНЩ до регуляції синтезу холестеролу, дослідники описали механізм рецепторного ендоцитозу як такий, що складається зі зв'язування апопротеїнової частини ЛНЩ з рецепторами у вкритих *клатрином* ділянках клітинної мембрани, поглинання комплексу рецептор–ЛПНЩ, його розпадання всередині клітини з від'єднанням ЛПНЩ та вивільненням холестеролу. Як виявилося згодом, за механізмом рецепторного ендоцитозу в клітину проникають й інші великі молекули — *інсулін, фактори росту, трансферин та імунні комплекси.*

У разі надлишку внутрішньоклітинного холестеролу активність ГОМГ-КоА-редуктази та синтез рецепторів ЛПНЩ пригнічуються та посилюється активність ензиму *холестерол-ацилтрансферази*, здатного знижувати клітинний вміст холестеролу. Так *здорова клітина підтримує баланс між вмістом у крові холестеролу, який потрапляє з їжею, та його внутрішньоклітинним синтезом.* У разі порушення цього балансу на стінках кровоносних судин утворюються атеросклеротичні відкладення.

У 1984 р. за допомогою *методів молекулярного клонування* Браун і Голдстайн визначили *нуклеотидну послідовність гена, відповідального за синтез рецепторів ЛПНЩ,* та описали декілька генних мутацій, які спричиняють *сімейну гіперхолестеролемію.* Це мутації, що призводять до порушення синтезу рецепторів ЛПНЩ, до втрати здатності рецептора зв'язувати ЛПНЩ або до нездатності передати сигнал до ензимних систем клітини після зв'зування ЛПНЩ.

Результати наукових досліджень Брауна і Голдстайна успішно впроваджуються в клінічну практику для розроблення рекомендацій та методів лікування. Ефективним для збільшення кількості рецепторів ЛПНЩ, що синтезуються під контролем неушкодженого гена, може бути призначення таких ліків, як компактин, мевиполін та інші. У 1984 р. було здійснено експериментальну трансплантацію печінки шестирічній дівчинці з гомозиготною формою хвороби. Як і слід було очікувати з теорії Брауна і Голдстайна, завдяки наявності у здоровій пересадженій печінці рецепторів ЛПНЩ рівень холестеролу в крові пацієнтки різко знизився.

У 1985 р. **Джозефу Леонарду Голдстайну** (разом з **Майклом Стюартом Брауном**) присуджено Нобелівську премію з фізіології та медицини *«за дослідження, які суттєво поглибили розуміння метаболізму холестеролу та підвищили можливості профілактики і лікування атеросклерозу».*

Дж. Голдстайна удостоєно багатьох нагород, серед яких премія Американського хімічного товариства за дослідження в галузі хімії ензимів (1976), Національної академії наук США (1979) та ін. [32].

Голдстайн — член Національної академії наук США (з 1980), Американської академії мистецтв і наук, Американської асоціації лікарів та інших науко-

вих товариств. Він є почесним доктором багатьох університетів США, входить до постійного складу редколегій таких наукових часописів, як «Atherosclerosis Reviews», «Arteriosclerosis, Cell, Molecular Biology and Medicine» і «Science». Голдстайн є також одним із редакторів видання «The Metabolic Basis of Inherited Disease» [33].

Джозеф Голдстайн, який залишився неодруженим, у вільний час із задоволенням слухає класичну музику.

Отже, підсумовуючи цей огляд, відзначимо, що Голдстайн і Майкл Браун зробили фундаментальний внесок у розкриття механізму регуляції холестеролового обміну в організмі. Вони вивчали гіперхолестеролемію, зокрема форму спадкового захворювання, яка характеризується високим вмістом холестеролу та ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) у крові, за якого в клітинах кровоносних судин утворюються атеросклеротичні відкладення. У 1984 р. Голдстайн і Браун описали кілька мутацій гена, відповідального за рецептори ЛПНЩ.

Наукова діяльність Брауна та Голдстайна постійно була пов'язана з медичною школою Техаського університету, де Браун займав посаду директора Центру генетичних хвороб, а Голдстайн — завідувача відділу молекулярної генетики. Нині обидва вчені продовжують наукове керівництво дослідницькими групами і є членами правління цього університету. Браун і Голдстайн, ділячись своїми міркуваннями, зазначають, що *вражені швидкістю біотехнологічного прогресу в біології; стурбовані недостатньою залученістю клініцистів до біомедичних досліджень та наголошують на підтриманні балансу між наукою, медициною та освітою, що, на їхню думку, є необхідним для формування сучасної генерації успішних дослідників.*

THE CONTRIBUTION OF THE NOBEL LAUREATES TO THE STUDY OF LIPID METABOLISM AND ITS REGULATION: F. LYNEN, K. BLOCH, S. BERGSTRÖM, B. SAMUELSSON, J. VANE, M. BROWN, J. GOLDSTEIN

O.P. Matyshevska, V.M. Danilova, S.V. Komisarenko

The aim of this work was to analyze the experimental achievements in the field of biochemical science, such as the structure and metabolism of lipids. Since the early 1960s, there has been a real breakthrough in the study of intermediate lipid metabolism and its regulation, which has been marked not only by the award of a number of Nobel Prizes, but also by the formation of clinical lipidology as a section of metabology. The discoveries made by Feodor Lynen and Konrad Bloch helped clarify the key role of cholesterol in the development of atherosclerosis and heart attacks. The discoveries of Sune Bergstrцm and Bengt Samuelsson have given impetus to a number of studies on the biological functions of prostaglandins. Humanity should be grateful to English pharmacologist John Robert Vane for discovering prostacyclin and for the important role he played in understanding the ability of aspirin to block the production of prostaglandins from arachidonic acid. Joseph Goldstein and Michael Brown have made a fundamental contribution to the discovery of the mechanism of regulation of cholesterol metabolism in the body. They studied hypercholesterolemia, in particular a form of hereditary disease characterized by high levels of cholesterol and low-density lipoprotein (LDL) in the blood, in which atherosclerotic deposits are formed in the cells of the blood vessels. Thanks to fundamental research of all the above-mentioned nobelians, achievements in such fields as genetics of family hyperchesterolemia, regulation of the functional

state of arteries and microvessels, prevention of atherosclerosis, and other vascular complications are generally recognized today.

Keywords: *Nobel laureates, lipid metabolism, F. Lynen, K. Bloch, S. Bergström, B. Samuelsson, J. Vane, M. Brown J. Goldstein.*

REFERENCES

1. Regime of access : http://nob-lit.ru/page.php?id=308.
2. Feodor Felix Konrad Lynen. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/
3. Vynogradova R.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. Development on knowledge of hormone biochemistry in the works of the Nobel prize laureates of the first half of the 20th century: F.G. Banting, John J.R. Macleod, H.O. Wieland, A.O. Windaus, A.F. Butenandt, L. Ružička, E. Kendall, P. Hench, T. Reichstein. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 3. P. 107—126.
4. Lyan N.A. John Robert Vane. *Allergol Immunol Pediatr.* 2015. Vol. 4, N 43. P. 4—8.
5. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia. Trans. from English M.: Progress, 1992.
6. Konrad Emil Bloch. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/ wiki/
7. Regime of access : https://indicator.ru/medicine/konrad-emil-blokh.htm.
8. Konrad Emil Bloch. Regime of access : https://eleven.co.il/jews-in-world/science/10658/
9. Konrad Bloch. Regime of access : http://n-t.ru/nl/mf/bloch.htm.
10. List of Nobel laureates. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/
11. Sune Bergström. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/
12. Bergström Sune. Regime of access : http://n-t.ru/nl/mf/bergstrom.htm.
13. Bergström Sune. Regime of access : http://journal.osnova.com.ua/article/6807.
14. Bengt Samuelsson. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/
15. Regime of access : https://www.peoples.ru/science/biochemist/bengt_ingemar_samuelsson/
16. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1982/samuelsson/biographical/
17. Bengt Samuelsson. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/
18. Bengt Ingemar Samuelsson. Regime of access : https://en.wikipedia.org/wiki/
19. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1982/samuelsson/biographical/
20. John Robert Vane. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/
21. Regime of access : https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1982/vane-autobio.html.
22. Regime of access : https://ru.qwertyu.wiki/wiki/John_Vane.
23. Regime of access : https://www.peoples.ru/medicine/john_robert_veyn/
24. John Robert Vane. Regime of access : http://cyclowiki.org/wiki/
25. Regime of access : http://garfield.library.upenn.edu/essays/v7p077y1984.pdf.
26. Michael Stuart Brown. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/
27. Michael Stuart Brown. Regime of access : http://cyclowiki.org/wiki/
28. Regime of access : https://ru.qwertyu.wiki/wiki/Michael_Stuart_Brown.
29. Regime of access : https://eleven.co.il/jews-in-world/science/10736/
30. Joseph Leonard Goldstein. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/
31. Joseph Leonard Goldstein. Regime of access : https://ru.qwertyu.wiki/wiki/
32. Joseph Leonard Goldstein. Regime of access : https://ru.wikipedia.org/wiki/›
33. Regime of access : https://persons-info.com/persons/GOLDSTAIN_Dzhozef_Leonard.

A LEGEND IN HIS OWN LIFETIME: DOUBLE NOBEL PRIZE WINNER LINUS PAULING

The Nobel prize in chemistry, 1954; the Nobel peace prize, 1962

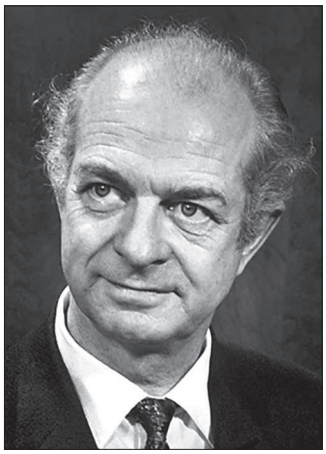
T.V. Danylova, S.V. Komisarenko

Linus Pauling — a prominent American chemist, biochemist, chemical engineer, peace activist, author, and educator — was one of the scientists-humanists whose life echoed the key milestones of the 20th century and who could be compared with Leonardo da Vinci in terms of the breadth of interests and creative achievements. He is one of the four scientists to have won two Nobel Prizes (the Nobel Prize in Chemistry 1954; the Nobel Peace Prize 1962) and the only one to have been awarded two unshared Nobel Prizes. As a result of his long-lasting research, Pauling formulated a theory of structure and function of proteins; studied the effect of oxygen saturation of hemoglobin on its magnetic properties, laid the foundations for structural analysis of protein molecules, made a contribution to the study of antibodies. Believing that people had to develop a new type of thinking for the sake of the survival of humanity, Linus Pauling spoke out strongly against nuclear testing, and the contemporary world is indebted to Pauling for his courage and moral leadership in reminding us about the dangers of nuclear war. The versatile innovative activities of the brilliant scientist and humanist Linus Pauling, his unconventional personality, and the huge scientific heritage have left a deep mark in the history of humankind.

Keywords: *Linus Pauling, Nobel Prize in Chemistry, Nobel Peace Prize, structure of proteins, Pauling's α-helix, structure of DNA, vitamin C, fight against the nuclear arms race.*

Each historical epoch is reflected in the lives of its representatives. Cultural-civilizational crisis affects the human identity and leads to the loss of the meaning of human existence. It's the time for humanity to revise the values and to «return to the vertical, to some spiritual ideal principle» [2] about which we can orient our lives [3]. The outlook of the epoch is intricately woven into our perception and behavior. Science as one of the main social institutions of society is a mirror that reflects the economic, political, social, and spiritual life of any given community, and its outstanding representatives are the beacons that determine the place of humanity in the ocean of chaos. One of the scientists-humanists whose life echoed the key milestones of the 20th century and who could be compared with Leonardo da Vinci in terms of the breadth of interests and creative achievements was Linus Pauling (1901—1994) — a prominent American chemist, biochemist, chemical engineer, peace activist, author, and educator [4]. He is one of the four scientists to have won two Nobel Prizes (the Nobel Prize in Chemistry 1954; the Nobel Peace Prize 1962) and the only one to have been awarded two unshared Nobel Prizes [5, 6].

Linus Carl Pauling was born in Portland, Oregon, USA, on February 28, 1901, in the family of a druggist Herman Henry William Pauling and Lucy Isabelle Darling.



Linus Carl Pauling. Photo from the Nobel Foundation archive [1]

Herman Pauling was of German descent and his wife Lucy — of English-Scottish ancestry. One of Linus Pauling's sisters, Pauline Darling Pauling, was born in 1902 and the other, Frances Lucile Pauling, in 1904.

In 1905, Pauling family moved to Condone, Oregon, and in 1906 Linus Pauling entered school there, where he especially enjoyed arithmetic and spelling.

In 1909, the family moved to Portland and little Linus attended the Clay school and then Glencoe School. In 1910, Linus and his sisters started attending Sunnyside Grammar School. Young Linus was a great reader deeply involved in the study of the ancient history and the natural sciences. From his early age, Linus Pauling was interested in all facets of the world, and this interest had run like a red thread throughout his life. His father died in 1910 and the family lost a drugstore he had owned. Because of money issues, Linus held different jobs after school. Unlike his father who nurtured boy's craving for knowledge, his mother guided him to earn money scorning his love for knowledge [8]. For young Pauling it was a road to nowhere, but good fortune saved him. His friend Lloyd A. Jeffress had a small chemistry lab. Going there, Linus was hooked. He described it later: «I was simply entranced by chemical phenomena, by the reactions in which substances, often with strikingly different properties, appear; and I hoped to learn more and more about this aspect of the world» [9].

In the high school, Linus Pauling took all the available science and math courses and had enough credits to enter the Oregon Agricultural College (known now as Oregon State University). Lacking two American history courses required for the school diploma and having received a refusal to take these courses concurrently during the college semester, he dropped out of the school without a diploma. He received it many years later. In 1917, Linus applied to the Oregon Agricultural College. He earned the degree of B.Sc. in Chemical Engineering in 1922.

During his college time, Linus Pauling had to support his mother, and luckily the Chemistry Department offered him a job teaching the quantitative chemistry. In the class of women students of home economics, he met a bright and very attractive Ava Helen Miller who became his wife in 1923. Their happy marriage had lasted until Ava Helen's death in 1981. They had four children — Linus Carl Jr. who became a psychiatrist; Peter who was a crystallographer at University College London; Edward Crellin who was a biologist; and Linda Helen who became a geologist and glaciologist [11].

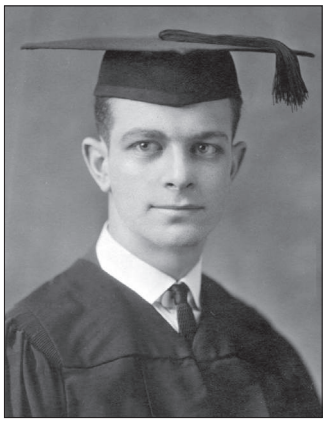
Linus Pauling highly appreciated Ava Helen's role in his life: «She was interested in the work that I was doing... She strove to take as many burdens as possible from my shoulders, in order that I could devote myself to my scientific and educational work as effectively as possible» [12, 13].

In 1922, Linus Pauling enrolled in the PhD Program at the California Institute of Technology (Caltech) where he was a graduate student working under Prof. R.G.

Pauline, Linus, and Lucile Pauling [7]

Dickinson, who showed him how to determine the structures of crystals using X-rays, and R.C. Tolman [14]. «Perhaps no other school could have done as much for Pauling as Caltech did. Without question, he knew this was the place where he belonged, and where he discovered his life's work» [8]. In 1925, he was awarded the PhD in Chemistry with minors in Physics and Math for a dissertation derived from his crystal-structure papers. After a quite brief period of time as a National Research Fellow, Pauling received a Guggenheim Fellowship to study quantum mechanics in Europe. He studied with physicists who were exploring the implications of quantum physics for atomic structure [11]. Most of the time in Europe he spent at Arnold Sommerfeld's Institute for Theoretical Physics in Munich, Germany [15]. In Europe Linus Pauling also worked with E. Schrцdinger in Zurich and N. Bohr in Copenhagen. Here Pauling found a physical and mathematical framework for his future theories.

Linus Pauling returned to Caltech in 1927 starting his career of research and teaching. At the age of 26 he became an Assistant Professor in theoretical chemistry, worked on X-ray crystal studies, and performed quantum mechanical calculations on molecules and atoms. Studying crystal structures and the types of bonding and coordination that occurred within them, Pauling found out that crystal structures obeyed the rules now known as Pauling's rules [16, 17]. In his seminal paper «The Nature of the Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals: An Introduction to Modern Structural Chemistry» [17], Linus Pauling reconstructed the foundations of chemistry — for the first time he explained the structure of molecules in terms of quantum mechanics. Linus Pauling described it this way: «From Richard C. Tolman, Harry Bateman, and other remarkable teachers at Caltech, I obtained an excellent grounding in chemistry, physics, and mathematics, with emphasis on the old quantum theory and atomic structure. Quantum mechanics was discovered a few months after I had received my PhD degree. The Schrödinger papers on wave mechanics were published about the time that I arrived at the Institute for Theoretical Physics (Professor Arnold Sommerfeld) at the University of Munich in April 1926. I immediately began to apply an approximate quantum mechanical treatment to the problem of the structure of atoms with many electrons and to simple molecules,



Pauling's graduation photo. 1922 [10]

making use of the treatments of the hydrogen molecule-ion and hydrogen molecule that had been formulated by Ø. Burrau, E.U. Condon, W. Heitler, and F. London.

These new ideas had applications to many aspects of chemistry. The applications included the nature of square, tetrahedral, and octahedral coordination complexes of metals; the stability of aromatic substances as determined by the resonance energy; the planarity of resonating and conjugated systems of single and double bonds; the secondary structures of proteins and the importance of the hydrogen bond in proteins, polynucleotides, and other substances; and the nature of interatomic forces in metals» [18].

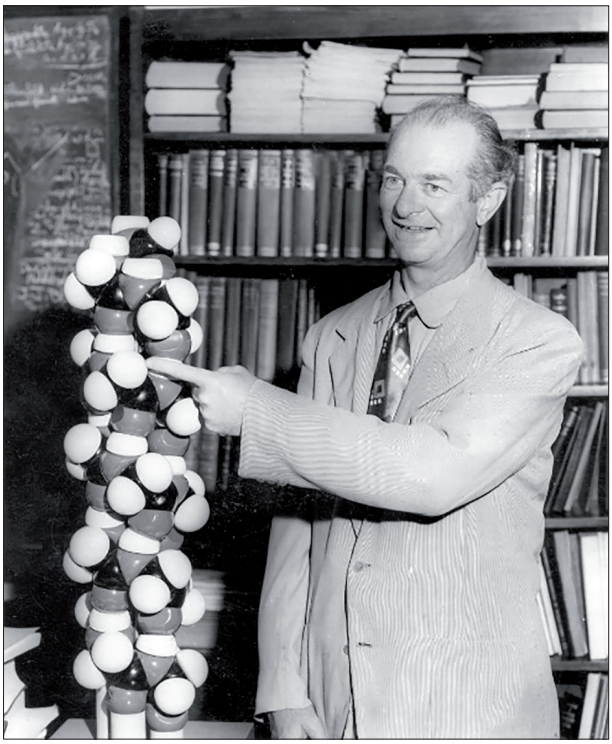
In 1929, Pauling was promoted to Associate Professor, and in 1931, to Full Professor. This year he became the first recipient of the Langmuir Prize — the American Chemical Society Award in Pure Chemistry. It was the recognition of Pauling's productivity and talents, and the young researcher was described as the «prodigy of American science» [19, 20].

Pauling's interest in biological molecules, especially proteins, was stimulated in the late 1920s. He was inspired by the geneticist T.H. Morgan, who arrived at Caltech. However, he paid serious attention to biochemistry, namely the biochemistry of proteins, only in 1934. Pauling performed successful magnetic studies on the hemoglobin. Developing a deep interest in protein, he, together with an American scientist A.E. Mirsky, published a paper on general protein structure [21]. Since 1936 upto 1958, Linus Pauling had held senior management positions, such as a Chairman of the Division of Chemistry and Chemical Engineering and a Director of the Gates and Crellin laboratories of Chemistry [14]. As a result of his long-lasting research, Pauling formulated a theory of structure and function of proteins; studied the effect of oxygen saturation of hemoglobin on its magnetic properties, laid the foundations for structural analysis of protein molecules.

An Austrian-American immunologist and pathologist K. Landsteiner contributed to Pauling's interest in immunochemistry. Being thrilled by antibody-antigen reactions, Linus Pauling later developed a theory which explained the specificity of these reactions through a «unique folding of the antibody's polypeptide chain» [15].

Because of his contribution to the study of antibodies, he was chosen as the first Harrison Howe lecturer. In his talk, Pauling thanked K. Landsteiner for his experienced guidance: «Dr. Landsteiner, as well as Professor Michael Heidelberger, encouraged me, in 1940, to publish my first paper on the structure of antibodies and to begin experimental work in this field, and he followed the course of the work, carried on in Pasadena in collaboration with Dan H. Campbell, David Pressman, and several graduate students, and with the support of The Rockefeller Foundation, until his death in 1943» [22].

During World War II, J.R. Oppenheimer proposed Pauling to head the chemistry section of the Manhattan Project, but Pauling refused. Instead, he offered the US government his services as a research consultant. His project group originated a

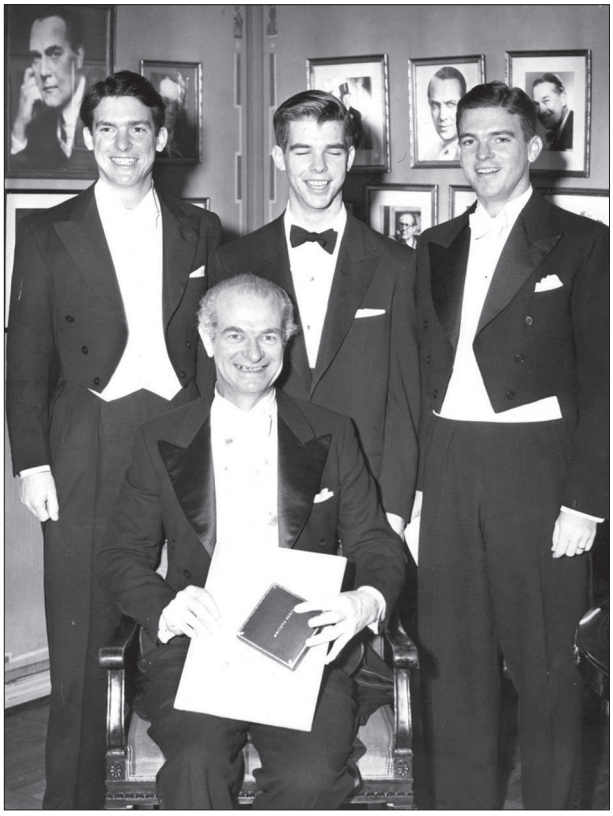


A model of the α-helix [26]

synthetic form of blood plasma for use in battlefield clinics. He designed the Pauling oxygen meter developed and manufactured by A.O. Beckman. The oxygen analyzers were adopted for use in incubators for premature babies after World War II. Linus Pauling was involved in the activity of a wartime presidential commission, which was formed to recommend the future directions of government-funded scientific and medical research programs. His patriotic activity was highly acknowledged by the government of the United States of America, and in 1948 President Harry Truman awarded the Presidential Medal for Merit to him for «extraordinary fidelity and exceptionally meritorious conduct» «in the performance of outstanding services to the United States from October, 1940 to June, 1946» [23].

After World War II, as a visiting professor at the University of Oxford, Linus Pauling returned to the problem he was deeply interested for many years, namely, the structure of proteins. He found out that the polypeptide chain would coil into a particular helical structure — the α-helix. In PNAS papers, L. Pauling and R. B. Corey proposed the α-helix and the β-sheet that formed the backbones of thousands of proteins [24]. The most significant aspect of Pauling's structure was its determination of the number of amino acids per turn of the helix. His theoretical configuration was based on «chemical-bonding considerations and x-ray diffraction evidence from certain fibrous proteins» [11]. Eventually, Pauling's α-helix was confirmed and has proved to be a real breakthrough [25].

At the same time, DNA had become a magnet that attracted the representatives of the various sciences. In the 1950s, there were three groups of researchers aimed



Linus Pauling and his sons at the Nobel Prize ceremony in Stockholm [33]

at determining the structure of DNA. The first group at King's College, London, was led by M. Wilkins, while R. Franklin joined this group later. They examined X-ray diffraction patterns of DNA fibers. Cambridge was represented by F. Crick and J. Watson. They were focused on building physical models [27]. Being involved in the study of the structure of DNA, Linus Pauling led Caltech group and discovered that many proteins included helical shapes [28].

In 1953, L. Pauling and R.B. Corey introduced their vision of a structure for DNA. They suggested a model for nucleic acids, including DNA, that consisted of three nucleic acid strands wound together in a triple helix [29]. Shortly thereafter, their successful competitors J. Watson and F. Crick proposed an accurate description of DNA double-helical structure [30]. Though Pauling's model appeared to be incorrect, his paper «A Proposed Structure for the Nucleic Acids» helped scientists «understand DNA's structure and function as genetic material» [31].

Despite this setback, Pauling's outstanding scientific discoveries were rewarded — the Nobel Prize in Chemistry 1954 was awarded to Linus Carl Pauling «for his research into the nature of the chemical bond and its application to the elucidation of the structure of complex substances» [32].

It would seem that Linus Pauling reached the pinnacle of his scientific career — the Nobel Prize. But his versatile personality and restless desire for knowledge and activities brought him to a different path — the path of the struggle for peace. After

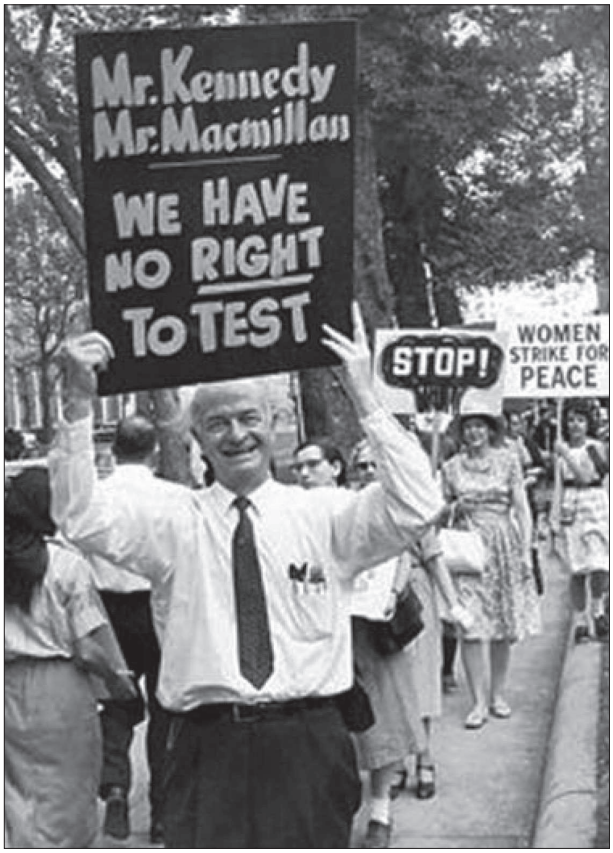
Ava Helen and Linus Pauling [34]

the atomic bomb was exploded over Hiroshima and Nagasaki in 1945, Pauling began thinking about the destructive implications of scientific development, as well as about the responsibility of scientists. Joining Albert Einstein's Emergency Committee of Atomic Scientists and believing that science and peace should be closely related, Linus Pauling started speaking out strongly against nuclear testing. The great scientist believed that it was his duty because most people were not aware of the dangers of nuclear testing as the government was trying to conceal it. In the Cold War time, this position was rather dangerous, and Pauling was treated as a traitor and for several years he was denied a passport to travel abroad. Only in 1954, his passport was restored that enabled him to visit Stockholm to be awarded with the Nobel Prize in Chemistry [11, 15].

However, Linus Pauling could not remain silent, he believed that people had to develop a new type of thinking for the sake of the survival of humanity. During 1950s Linus Pauling and his wife Ava Helen became well-known through their efforts to stop the atmospheric testing of nuclear weapons. Over the years of their marriage, Ava Helen Pauling strongly supported her husband in his scientific work and in his struggle for peace.

In 1957, Pauling and his wife drafted a petition calling for the end to the atmosphere testing of nuclear weapons, and in 1958 they presented an appeal for the test ban signed by some 9 000 and eventually more than 11 000 scientists worldwide [11, 15, 33]. Linus Pauling also wrote the book «No More War!» [35], which became a bestseller. In 1960, he was forced to defend his actions on test ban before a congressional subcommittee. Despite the risk of being jailed, Pauling refused to name persons who had helped him collect signatures, «a stand initially condemned but later widely admired» [15].

In 1962, the president of the United States John Kennedy invited forty nine US Nobel Prize winners to the dinner that provided Linus Pauling with an opportunity



Linus Pauling [11]

to appeal to the president. The famous scientist led a protest near the White House carrying a placard «Mr. Kennedy. Mr. Macmillan. WE HAVE NO RIGHT TO TEST» [36].

Eventually Pauling's anti-testing activity was recognized with the 1962 Nobel Prize for Peace. It was awarded on October 10, 1963, the day that the Nuclear Test-Ban Treaty went into effect [15]. This belated Nobel Peace Prize was awarded to Linus Pauling «for his fight against the nuclear arms race between East and West» [37, 38].

Strongly believing in human rationality and universal peace, Linus Pauling stated in his Nobel Lecture: «We, you and I, are privileged to be alive during this extraordinary age, this unique epoch in the history of the world, the epoch of demarcation between the past millennia of war and suffering, and the future, the great future of peace, justice, morality, and human well-being. We are privileged to have the opportunity of contributing to the achievement of the goal of the abolition of war and its replacement by world law. I am confident that we shall succeed in this great task; that the world community will thereby be freed not only from the suffering caused by war but also, through the better use of the earth's resources, of the discoveries of scientists, and of the efforts of mankind, from hunger, disease,

illiteracy, and fear; and that we shall in the course of time be enabled to build a world characterized by economic, political, and social justice for all human beings and a culture worthy of man's intelligence» [39].

Though the dreams about the realm of reason have never become reality that is evidenced by the terrible social, political, economic cataclysms of the last decades, the world is indebted to Linus Pauling for his courage and moral leadership in reminding us about the dangers of nuclear war.

The struggle for peace cost Pauling his friends, funding, and his job. In the US media Linus Pauling was branded as «the eccentric Dr. Pauling» whose «weird politics has never been taken seriously by American opinion» [40]. Even a headline in Life magazine described 1962 Nobel Peace Prize as «a weird insult from Norway» [40]. In 1964, Linus Pauling left his tenured professorship at Caltech because of pressure from the University administration and some of the trustees who didn't support and approve his peace-making activity. He had spent three years at the center for the Study of Democratic Institutions and in 1967 he moved to the University of California at San Diego [9]. From 1969 to 1974, he had accepted a position as Professor of Chemistry at Stanford University. In 1973, Linus Pauling founded the Linus Pauling Institute of Science and Medicine in Palo Alto and there he centered his activities [9]. From here on, Pauling is best known as a strong proponent of vitamin C. Becoming deeply interested in the role of nutrition in health, he advocated for the idea of treating diseases with vitamin supplements, in particular, vitamin C. In his book «Vitamin C and the Common Cold», which was published in 1970, Pauling recommended high doses of vitamin C to prevent colds or lessen their symptoms [41]. Elaborating his new scope of interest, he published «Vitamin C, the Common Cold, and the Flu» (1976) [42], «Cancer and Vitamin C: A Discussion of the Nature, Causes, Prevention, and Treatment of Cancer with Special Reference to Vitamin C» (1979, coauthored with E. Cameron) [43], «How to Live Longer and Feel Better» (1986) [44]. Linus Pauling coined the term «orthomolecular», which means the right molecules in the right amounts. His ideas formed the basis of orthomolecular medicine. His unorthodox ideas were severely criticized and have generated much controversy. Despite medical community criticism, the great scientist continued promoting vitamin C for treating diseases; he worked with The Institutes for the Achievement of Human Potential to use vitamin C in the treatment of brain-injured children [45]. Nowadays, the re-evaluation of Linus Pauling's research has shown that «dietary supplementation with antioxidants such as vitamin C can have significant beneficial effects on health. Pauling's ideas about molecular balance and health are increasingly important to a health-conscious public, as well as to a growing number of health professionals» [46].

The last few years of his life, Linus Pauling spent at his coastal ranch and his apartment at Stanford. His wife Ava Helen Pauling died of stomach cancer in 1981. In tribute to her commitment to peace in the world, the Ava Helen and Linus Pauling Lectureship in World Peace has been established in Oregon State University. In 2001 to honor Ava Helen Pauling's memory, the Linus Pauling Institute established the endowed Ava Helen Pauling Chair [11].

On August 19, 1994, Linus Pauling died of prostate cancer at his home in Big Sur, California. A cenotaph was placed in the Pauling family plot in the Oswego Pioneer

Linus Pauling [11]

Cemetery by his sister Pauline. However, only in 2005, Pauling's ashes, along with those of his wife, were moved from Big Sur to the Oswego Pioneer Cemetery [47, p. 2].

Linus Carl Pauling has been recognized with numerous awards and honors, including Langmuir Prize, American Chemical Society (1931); Nichols Medal, New York Section, American Chemical Society (1941); Davy Medal, Royal Society (1947); United States Presidential Medal for Merit (1948); Pasteur Medal, Biochemical Society of France (1952); Nobel Prize, Chemistry (1954); Addis Medal, National Nephrosis Foundation (1955); Phillips Memorial Award, American College of Physicians (1955); Avogadro Medal, Italian Academy of Science (1956); Paul Sabatier Medal (1957); Pierre Fermat Medal in Mathematics (1957); International Grotius Medal (1957); Nobel Peace Prize (1963); Order of Merit, Republic of Italy (1965); Medal, Academy of the Rumanian People's Republic (1965); Linus Pauling Medal (1966); Silver Medal, Institute of France (1966); Supreme Peace Sponsor, World Fellowship of Religion (1966); United States National Medal of Science (1972); International Lenin Peace Prize (1972); Lomonosov Medal, USSR Academy of Science (1978); Medal for Chemical Sciences, National Academy of Science (1979); Priestley Medal, American Chemical Society (1984); Award for Chemistry, Arthur M. Sackler Foundation (1984); Award in Chemical Education, American Chemical Society (1987); Vannevar Bush Award, National Science Board (1989); Richard C. Tolman Medal, Southern California Section, American Chemical Society (1990) [48].

The versatile innovative activities of the brilliant scientist and humanist Linus Pauling have left a deep mark in the history of humankind. Therefore, it is no coincidence that his name has been immortalized. In 2008, the United States Postal Service released a stamp honoring Linus Pauling [49]. On December 15, 2008, Linus Pauling was inducted into the California Hall of Fame. One of the greatest scientists of all times was represented by his eldest son, Dr. Linus Pauling [50]. By proclamation of Gov. John Kitzhaber, February 28th is «Linus Pauling Day» in the state of Oregon [51]. In 1991, the asteroid 4674 Pauling in the inner asteroid belt was named after Linus Pauling on the occasion of his ninetieth birthday [52].

In 1996, the Linus Pauling Institute moved from Palo Alto, California, to Corvallis, Oregon, where it is a part of the Linus Pauling Science Center at Oregon State University. The Linus Pauling Institute's mission «is to promote optimal health through cutting-edge nutrition research and trusted public outreach» [53].

Linus Pauling stated that he had «always liked working in some scientific direction that nobody else is working in» [33]. As a pioneer, he was way ahead of his time. His versatile activities, unconventional personality and the huge scientific heritage are an important chapter in the book of human history.

ЛЕГЕНДА СВОГО ЧАСУ: ДВІЧІ ЛАУРЕАТ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ ЛАЙНУС ПОЛІНГ

Нобелівська премія з хімії, 1954; Нобелівська премія миру, 1962

Т.В. Данилова, С.В. Комісаренко

Лайнус Полінг — видатний американський хімік, біохімік, інженер-хімік, активіст, автор і педагог — один із вчених-гуманістів, життя яких перегукувалося з ключовими віхами XX ст., і якого можна порівняти з Леонардо да Вінчі з позиції широти інтересів і творчих досягнень. Він є одним із чотирьох вчених, які отримали дві Нобелівські премії (Нобелівська премія з хімії, 1954; Нобелівська премія миру, 1962) і єдиний, хто отримав ці дві премії одноосібно. Внаслідок своїх тривалих досліджень Полінг сформулював теорію структури та функції протеїнів; вивчив вплив насичення киснем гемоглобіну на його магнітні властивості, започаткував структурний аналіз молекул протеїнів, зробив внесок у вивчення антитіл. З вірою в те, що людям необхідно розвинути новий тип мислення задля виживання всього людства, Лайнус Полінг рішуче виступав проти ядерних випробувань, і сучасний світ вдячний Полінгу за моральне лідерство та мужність нагадати про небезпеку ядерної війни. Різнобічна інноваційна діяльність блискучого вченого та гуманіста Лайнуса Полінга, його непересічна особистість і величезна наукова спадщина залишили глибокий слід в історії людства.

Ключові слова: *Лайнус Полінг, Нобелівська премія з хімії, Нобелівська премія миру, структура протеїнів, α-спіраль Полінга, структура ДНК, вітамін С, боротьба з гонитвою ядерних озброєнь.*

REFERENCES

1. Linus Pauling. Facts. The Nobel Prize. 1962. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/peace/1962/pauling/facts/.

2. Cairns G.E. The philosophy and psychology of the oriental mandala. *Philosophy East and West*. 1962. Vol. 11, N 4. P. 219—229.

3. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Born in Ukraine: Nobel prize winners Ilya Mechnikov, Selman Waksman, Roald Hoffmann and Georges Charpak. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 3. P. 127—137.

4. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of Nobel Prize laureates to research of the protein structure: J. Sumner, J. Northrop, W. Stanley, L. Pauling, F. Sanger, M. Perutz, J. Kendrew. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 127—153.

5. Nobel Prize facts. The Nobel Prize. 2020. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/facts/nobel-prize-facts/.

6. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Double Nobel Prize winner: Frederick Sanger — the father of genomics. *Ukr. Biochem. J.* 2021. Vol. 93, N 2. P. 116—122.

7. Linus Pauling's Childhood (1901–1910). Special Collections & Archives. OSU Libraries. Regime of access: http://scarc.library.oregonstate.edu/coll/pauling/chronology/page3.html.

8. Valiunas A. The Man Who Thought of Everything. The New Atlantis. 2015. Regime of access: https://www.thenewatlantis.com/publications/the-man-who-thought-of-everything.

9. Abrams I. The Nobel Peace Prize and the Laureates. All Illustrated Biographical History. USA: Science History Publications, 2001. 350 p.

10. Linus Pauling. (2021). Wikipedia. Regime of access: https://en.wikipedia.org/wiki/Linus_Pauling.

11. Linus Pauling. Biography. Oregon State University. Regime of access: https://lpi.oregonstate.edu/about/linus-pauling-biography.

12. The Pauling's Wedding Anniversary. The Pauling Blog. 2008. Regime of access: https://paulingblog.wordpress.com/2008/06/17/the-paulings-wedding-anniversary/.

13. Pauling L. An Episode that Changed My Life. Unpublished typescript by Linus Pauling recounting Ava Helen Pauling's impact upon his peace activism. 1980s. Linus Puling and the International Peace Movement. Regime of access: http://scarc.library.oregonstate.edu/coll/pauling/peace/notes/NDa.23.html.

14. Linus Pauling. Biographical. The Nobel Prize. 1954. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1954/pauling/biographical/.

15. Paradowski P.J. Linus Pauling. American Scientist. Encyclopedia Britannica. Regime of access: https://www.britannica.com/biography/Linus-Pauling.

16. Pauling L. The Principles Determining the Structure of Complex Ionic Crystals. *Journal of the American Chemical Society*. 1929. Vol. 51, N 4. P. 1010—1026.

17. Pauling L. The Nature of the Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals: An Introduction to Modern Structural Chemistry. Ithaka, NY: Cornell University Press, 1939. 429 p.

18. Linus Pauling. This Week's Citation Classics. Current Contents. 1985: 4. Regime of access: http://garfield.library.upenn.edu/classics1985/A1985TZ93600001.pdf.

19. The Langmuir Prize. Linus Pauling. The Nature of the Chemical Bond. Regime of access: http://scarc.library.oregonstate.edu/coll/pauling/bond/narrative/page28.html.

20. Pictures and Illustrations. Linus Pauling. The Nature of the Chemical Bond. Regime of access: http://scarc.library.oregonstate.edu/coll/pauling/bond/pictures/index.html.

21. Mirsky A.E., Pauling L. On the Structure of Native, Denatured, and Coagulated Proteins. *PNAS*. 1936. Vol. 22, N 7. P. 439—447.

22. Pauling L. Analogies between Antibodies and Simpler Chemical Substances. *Chemical Engineering News*. 1946. Vol. 24, N 8. P. 1064—1065.

23. Presidential Medal for Merit (1948). Linus Pauling: Awards, Honors and Medals. Regime of access: http://scarc.library.oregonstate.edu/coll/pauling/awards/1948h.1.html.

24. Pauling L., Corey R.B., Branson H.R. The structure of proteins: Two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. *PNAS*. 1951. Vol. 37, N 4. P. 205—211.

25. Hargittai I. Linus Pauling's quest for the structure of proteins. *Structural Chemistry*. 2010. Vol. 21, N 1. P. 1—7.

26. Pictures and Illustrations. Linus Pauling and the Structure of Proteins. Regime of access: http://scarc.library.oregonstate.edu/coll/pauling/proteins/pictures/1954i.38.html.

27. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Standing on the shoulders of giants: James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin and the birth of molecular biology. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 154—165.

28. Navarro S. Molecular Biology Gene to Proteins. ED-TECH Press, 2018. 308 p.

29. Pauling L., Corey R.B. A Proposed Structure For The Nucleic Acids. *PNAS*. 1953. Vol. 39, N 2. P. 84—97.

30. Matyshevska O.P., Danilova T.V., Komisarenko S.V. 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. Vol. 92, N 6. P. 183—198.

31. Hernandez V. A Proposed Structure for the Nucleic Acids (1953); by Linus Pauling and Robert Brainard Corey. The Embryo Project Encyclopedia. 2019. Regime of access: https://embryo.asu.edu/pages/proposed-structure-nucleic-acids-1953-linus-pauling-and-robert-brainard-corey.

32. The Nobel Prize in Chemistry 1954. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1954/summary/.

33. Linus C. Pauling, Ph.D. Academy of Achievement. Regime of access: https://achievement.org/achiever/linus-pauling/.

34. Alpkunt B. Linus Pauling. Architect of structural chemistry, and an activist. Science & People. Evren Atlasi. 2020. Regime of access: https://evrenatlasi.com/en/2020/11/who-is-linus-pauling/.

35. Pauling L. No More War! Dodd, Mead, 1958. 254 p.

36. Agre P.C. Fifty Years Ago: Linus Pauling and the Belated Nobel Peace Prize. 2013. Science & Diplomacy. AAAC Center for Science Diplomacy. Regime of access: https://www.sciencediplomacy.org/letter-field/2013/fifty-years-ago-linus-pauling-and-belated-nobel-peace-prize.

37. The Nobel Peace Prize, 1962. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/peace/1962/summary/.

38. Nobel Prize for Peace. Certificate (1963). Linus Pauling. Awards, Honors and Medals. Regime of access: http://scarc.library.oregonstate.edu/coll/pauling/awards/1963h2.1-certificate.html.

39. Pauling L. (1963). Science and Peace. Linus Pauling Nobel Lecture. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/peace/1962/pauling/lecture/.

40. A Weird Insult from Norway. *Life*. 1963. Vol. 5, N 17.

41. Pauling L. Vitamin C and the Common Cold. W.H. Freeman & Co., 1970. 122 p.

42. Pauling L. Vitamin C, the Common Cold, and the Flu. Freeman & Co., 1976. 230 p.

43. Cameron E., Pauling L. Cancer and Vitamin C: A Discussion of the Nature, Causes, Prevention, and treatment of Cancer with Special Reference to Vitamin C. Linus Pauling Institute of Science and Medicine, 1979. 240 p.

44. Pauling L. How to Live Longer and Feel Better. Oregon State University Press, 2006. 338 p.

45. Pauling L. Orthomolecular enhancement of human development. In: R. Pelligra (Ed). Human Neurological Development: Part, Present, and Future. NASA Conference Publication. 1978. Vol. 2063. P. 47—51.

46. Promoting Vitamin C. Linus Pauling. The Linus Pauling Papers. U.S. National Library of Medicine. Regime of access: https://profiles.nlm.nih.gov/spotlight/mm/feature/medicine.

47. Who's Buried in Linus Pauling's Grave? The Centennial. July1, 2010. Regime of access: https://www.ci.oswego.or.us/sites/default/files/fileattachments/publicaffairs/webpage/13678/centennial_july2010.pdf.

48. Linus Pauling, interview by Jeffrey L. Sturchio at Executive Tower Inn, Denver, Colorado, 6 April, 1987 (Philadelphia: Chemical Heritage Foundation, Oral History Transcript # 0067).

49. Four Legends of American Science Now on U.S. Postage Stamps. United States Postal Service. Postal News. Release No. 08-23. March 6, 2008. Regime of access: https://about.usps.com/news/national-releases/2008/sr08_023.pdf.

50. Governor & First Lady participate in 2008 CA Hall of Fame Induction Ceremony. CA. gov. Archived from the original on June 2, 2015. Regime of access: https://web.archive.org/web/20150602035158/http://gov.ca.gov/news.php?id=11255.

51. Linus Pauling Research Notebooks Online. Natural Science. Archived from the original on September 5, 2015. Regime of access: https://web.archive.org/web/20150905114549/http://naturalscience.com/ns/news/news40.html.

52. Schmadel L.D. Dictionary of Minor Planet Names. Springer, 2016. 1464 p.

53. About the Linus Pauling Institute. Linus Pauling Institute. Oregon State University. Regime of access: https://lpi.oregonstate.edu/about/about-linus-pauling-institute.

ВІДКРИТТЯ МЕХАНІЗМІВ БІОЛОГІЧНОГО СИНТЕЗУ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

Нобелівська премія в галузі фізіології або медицини, 1959

О.П. Матишевська, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

Поряд з хімічними та фізичними дослідженнями нуклеїнових кислот у 40—50-ті роки XX ст. проводилися дослідження механізмів їх біосинтезу. Так, Северо Очоа і Артур Корнберг були удостоєні Нобелівської премії в галузі фізіології та медицини у 1959 р. за відкриття механізмів біологічного синтезу РНК і ДНК. Здійснені Очоа і Корнбергом експерименти сьогодні вважають наріжним каменем генної інженерії, бо вони вперше продемонстрували можливість синтезу РНК та ДНК поза живою клітиною і відкриті ними ензими були одними з перших інструментаріїв цієї технології.

Ключові слова: *Северо Очоа, Артур Корнберг, РНК, ДНК, ензими, полінуклеотидфосфорилаза, ДНК-полімераза I, ДНК-лігаза, реплікація.*

Одночасно з хімічними і фізичними дослідженнями нуклеїнових кислот у 40—50-ті роки XX ст. проводили експерименти, метою яких було висвітлення механізмів їх біосинтезу. В 1946 р. у Нью-Йоркському університеті зустрілися Северо Очоа — баск із Іспанії і Артур Корнберг із Нью-Йорка. З того часу розпочалася їхня тривала та плідна співпраця. Очоа працював з РНК бактерій, які спричинюють оцтовокислу ферментацію, а Корнберг — з ДНК відомої бактерії *E. coli*, що живе в травному тракті людини. Вченим пощастило виявити ензими, які синтезують довгі полімерні ланцюги ДНК і РНК, за що вони й отримали Нобелівську премію. Саме про ці великі постаті й ітиметься в наступному нарисі.

Нобелівську премію з фізіології й медицини 1959 р. присудили *С. Очоа* та *А. Корнбергу* «за відкриття механізмів біологічного синтезу РНК і ДНК (*for their discovery of the mechanisms in the biological synthesis of ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid*)» [1].

СЕВЕРО ОЧОА

Северо Очоа (ісп. *Severo Ochoa de Albornoz*) — іспано-американський біохімік, народився 25 вересня 1905 р. у невеликому містечку Луарка (Іспанія) на узбережжі Атлантичного океану [2].

Він був наймолодшим із сімох синів у сім'ї адвоката Северо Мануеля та Кармен де Альборнос. Сім'я була небідною і вирізнялась «артистизмом у крові» — племінниця Северо стала знаменитою іспанською поетесою, а дядько — главою Другої республіки у вигнанні. Очоа старший помер, коли молодшому виповнилось сім років. Сім'я переїхала до Малаги, де Северо пішов спочатку до єзуїтської, а згодом — до вищої школи. Під час навчання він захопився біологією та гістологією; його мрією стало працювати в одного з най-

Северо Очоа (1905—1993)

відоміших в Іспанії вчених — гістолога *Сантьяго Рамон-і-Кахаля* (ісп. *Santiago Ramyn y Cajal*), який у 1906 р. отримав Нобелівську премію. Северо не хотів ставати медиком, але Р. Кахаль працював у Медичній школі Мадридського університету, тож Северо вступив до цього закладу. На момент вступу його кумир відійшов від науки, тому керівником Северо став учень *Кахаля — Хуан Негрін* (ісп. *Juan Negrín López*), який пізніше посів посаду прем'єр-міністра Республіки.

Негрін доручив молодому вченому виділити креатинін із сечі та спробувати визначити його вміст у м'язах. Северо зумів розробити простий мікрокількісний метод визначення креатиніну. Негрін заохотив Северо читати наукові статті не лише іспанською, а й англійською, і коли той поїхав на два місяці у відрядження до Шотландії, то мав на меті не лише впровадити розроблений метод, а також вивчити англійську. Після повернення до Іспанії Северо добре розмовляв англійською і навіть зумів написати та подати до «*Journal of Biological Chemistry*» свою першу статтю, яку після незначних правок прийняли до друку [3], розпочавши, таким чином, біохімічну кар'єру.

Розвивав Северо наукову кар'єру в провідних лабораторіях Німеччини, Англії, США, Іспанії, переїжджаючи з країни до країни, де оволодівав новими методами та з безпрецедентним ентузіазмом проводив дослідження.

Вивчення обміну креатину зумовило інтерес Очоа до хімії скорочення м'язів та до робіт німецького вченого *Отто Мейєргофа* (нім. *Otto Fritz Meyerhof*), присвячених фосфокреатину. Саме до нього в Інститут Кайзера Вільгельма в Німеччині Очоа вирушив у 1929 р. для роботи над докторською дисертацією, присвяченою впливу фосфокреатину на м'язове скорочення. Молодому вченому була властива природжена здатність до вивчення мов і за час роботи в лабораторії Мейєргофа він опанував німецьку.

Повернувшись до Мадрида, С. Очоа захистив дисертацію в 1930 р. і одружився з Кармен Гарсія. У подружжя не було дітей. У 1931 р. С. Очоа разом з дружиною виїхав до Лондона, де працював у Національному інституті медичних досліджень над своїм першим ензимом — *гліоксилазою*, водночас підтримуючи зв'язки з Мадридським університетом.

У 1935 р. Очоа призначили на посаду директора відділу фізіології у новоствореному інституті в Мадриді. Проте через декілька місяців у країні розпочалася громадянська війна. Вчений спочатку вирішив продовжити дослідницьку роботу в лабораторії Мейєргофа, проте Німеччина в 1936 р. переживала пік нацизму. Зрештою, Очоа знайшов місце в університеті Оксфорда в Англії [4]. Тут йому вдалося довести, що окиснення *пірувату* супроводжується *фосфорилюванням АМР до АТР,* що свідчило про *спряження процесів окиснення і фосфорилювання.* Проте через початок Другої світової війни оксфордський період тривав недовго. Лабораторію було використано для потреб війни, і Очоа як іноземця було ввічливо звільнено.

Тоді він, вирішивши їхати до США, написав листа видатним вченим біохімікам Карлу та Герті Корі, які працювали на медичному факультеті Вашингтонського університету в Сант-Луїсі, з проханням його прийняти. Лабораторія Корі на той час займала провідне місце в світі в галузі дослідження ензимів, зокрема *глікогенфосфорилази* (у 1947 р. подружжю присудили Нобелівську премію) [5]. Працюючи з 1940 р. у Вашингтонському університеті, Очоа набув неоціненного досвіду з виділення, очищення та вивчення властивостей ензимів.

У 1942 р. С. Очоа виповнилося 37 років і він мав рухатися далі як самостійний дослідник. Ситуація стабілізувалась, коли Очоа отримав роботу в Нью-Йоркському університеті. Спочатку він працював на посаді наукового співробітника медичного факультету, потім — як асистент професора біохімії (1945), професор і керівник відділу фармакології (1946), професор біохімії (з 1954) і, зрештою, деканом факультету біохімії цього університету (1954–1974). В університеті Нью-Йорка наукова кар'єра вченого набула справжнього розмаху. Саме тут на початку 1940-х років він зустрівся і деякий час працював з *Артуром Корнбергом* (*Arthur Kornberg*), який був на той час стажером, і саме в університеті Нью-Йорка Северо Очоа в 1955 р. зробив головне відкриття — відкриття *ензиму полінуклеотидфосфорилази* [4].

Улюбленою темою досліджень вченого у Нью-Йоркському університеті було окисне фосфорилювання. Особливу зацікавленість викликав один з відомих на той час ензимів циклу трикарбонових кислот — *сукцинілтіокіназа*. Механізм здійснюваної цим ензимом реакції субстратного фосфорилювання було вивчено з використанням ADP та міченого ортофосфату $^{32}PP_i$, що лише нещодавно став доступним для біохіміків. Метод видавався дуже перспективним, і Очоа вирішив застосувати його для вивчення інших реакцій, пов'язаних з фосфорилюванням.

У середині 50-х років XX ст. лабораторію Очоа вже було обладнано устаткуванням, необхідним для роботи з ізотопами, тож вчений запропонував своїй новій аспірантці із Франції *Маріанні Грюнберг-Манаго* (франц. *Marianne Grunberg-Manago*), яка у 1982 р. стане першою жінкою-президентом Міжнародного біохімічного товариства, а в 1995 — першою жінкою-президентом Французької академії наук, дослідити реакції *окисного фосфорилювання в бактерій із застосуванням мітки. Метою цієї роботи було вивчення включення радіоактивного ортофосфату в ATP з використанням бактеріальної ензиматичної системи як каталізатора.* Історія цього дослідження, що завершилося неочікуваними результатами, свідчить про талант й інтуїцію молодої дослідниці, яка працювала в лабораторії й ніколи раніше не займалася нуклеїновими кислотами [4].

Як виявилося, в аморфному препараті ATP, що використовувався для досліджень, містився домішок ADP, і в екстрактах *Azotobacter vinilandi* дослідниця спостерігала включення міченого ортофосфату не лише в ATP, а й в ADP. У випадку використання очищеного препарату ATP виробництва фірми «Sigma» включення взагалі не спостерігалося, тоді як за використання лише ADP реакція обміну з ортофосфатом значно пришвидшувалась. *На основі цього факту група Очоа дійшла висновку, що в бактеріальному екстракті присутній раніше невідомий ензим, що каталізує включення мітки в ADP. У подальшому виявилось, що ензим каталізує включення ортофосфату і в інші дифосфатні нуклео-*

тиди (UDP, CDP, GDP, IDP). Під час роботи з чистим протеїновим препаратом у ході реакції виділявся фосфат, що дивно, адже препарат був очищений від фосфатаз. Це наводило на думку, що ензим каталізує також реакцію гідролізу, у ході якої утворюється PO_4^{2-}. Хоча зворотність гідролітичної реакції здавалася неможливою, насправді, це було саме так. Маріанна Грюнберг-Манаго вирішила ідентифікувати інший продукт реакції методом розділення на дауексівській колонці, але їй це не вдалося, тому вона зробила висновок, що продукт є високомолекулярною сполукою, який утримується в колонці. Дослідниця вирішила застосувати метод хроматографії на папері. Пізніше вона писала: «*...ніколи не забуду той день, коли після розділення реакційної суміші я побачила свіжу пляму на хроматограмі і зрозуміла, що утворений продукт — полінуклеотид. Мене переповнювали емоції і я зателефонувала Очоа. Він був вкрай здивований і, звісно, втішений цим відкриттям, хоча у глибині душі все ще сподівався, що синтезований продукт має пірофосфорний зв'язок і якось пов'язаний з окисним фосфорилюванням. Це добре ілюструє, як далеко від молекулярної біології були тодішні ензимологи...*».

Результати поглибленішого аналізу свідчили, що ензим каталізує синтез полірибонуклеотидів з нуклеозиддифосфатів із вивільненням неорганічного фосфату, а у зворотній реакції у присутності неорганічного фосфату розщеплює РНК-подібні полімери з утворенням нуклеозиддифосфатів:

$$n(\mathrm{NDP}^*) \leftrightarrow (\mathrm{NMP})_n + n\mathrm{P}_i^* .$$

Очоа сподівався, що за умов *in vivo* ензим може брати участь у синтезі РНК, і спочатку пропонував назвати його РНК-синтетазою, проте зрештою ензиму було дано назву, яка враховує зворотну реакцію фосфоролізу РНК, — *полінуклеотидфосфорилаза*.

Нині з огляду на результати досліджень багатьох вчених стало зрозумілим, що *полінуклеотидфосфорилаза* бере участь у розщепленні РНК, видаляючи інформаційну РНК та забезпечуючи попередниками синтез РНК і ДНК.

У 1955 р. за допомогою *полінуклеотидфосфорилази* та з використанням суміші аденозин-, уридин-, цитозин- та гуанозиндифосфатів у лабораторії Очоа було синтезовано РНК-подібний полімер, нуклеозидні одиниці якого були зв'язані 3,5′-фосфодіефірними містками, а константа седиментації та молекулярна маса були подібними до таких натуральної РНК. Для ініціації синтезу РНК необхідно було додати в розчин невелику кількість олігомера — тоді відбувалося нарощування ланцюга. Для підтвердження факту відкриття нового ензиму знадобилася низка публікацій у найпрестижніших виданнях упродовж 1955—1956 рр. [6].

Ця робота викликала неабиякий інтерес, адже це був перший випадок позаклітинного синтезу РНК-подібної високополімерної сполуки. Відкриття полінуклеотидфосфорилази спонукало біохіміків у всьому світі вивчати не лише проміжний метаболізм і окисне фосфорилювання, а й синтез нуклеїнових кислот і протеїнів. *Так розпочинався новий період розвитку біохімії — період становлення молекулярної біології.*

Через два роки учень Очоа — *Артур Корнберг* виділив із бактерії *E. coli* ензим *ДНК-полімерази* і з його допомогою синтезував ДНК. У 1959 р. обом вче-

ним присудили Нобелівську премію. На церемонії вручення нагороди в Стокгольмі Очоа назвав Корнберга «*своїм кращим студентом*».

Восени 1961 р. Ніренберг (*Marshall Warren Nirenberg*) та його колега Матеї (нім. *Heinrich Matthaei*), використавши для трансляції екстракт кишкової палички та синтезовану за методом Очоа РНК, що містила лише залишки *урацилу,* показали, що синтезований пептид складається тільки із залишків *фенілаланіну*. Так вперше було встановлено значення триплетного коду: *кодон UUU кодує фенілаланін* [7].

Стало зрозумілим, що відкриваються великі можливості для експериментів із вивчення генетичного коду. Між лабораторіями Очоа і Ніренберга наступними місяцями почалися перегони з дослідження залежності між складом штучної РНК та вмістом включених до синтезованого поліпептиду амінокислот. Очоа особисто здійснював цей проєкт, і технічні ресурси факультету були повністю кинуті на синтез за допомогою *полінуклеотидфосфорилази* як найбільшої кількості РНК-подібних полімерів, необхідних для роботи з декодування.

Поступово в лабораторії Северо Очоа було показано, що *поліаденілова РНК* (AAA...) транслюється в *полілізиновий пептид*, а на матриці *поліцитозинової РНК* (CCC...) синтезується пептид, що складається лише із залишків *проліну*. Усього за допомогою різноманітних кополімерів вдалося розшифрувати триплетний код для 11 амінокислот. Використовуючи полінуклеотиди, які починалися з кодону ініціації AUG, Очоа визначив, що зчитування відбувається в напрямку 5′ → 3′, а одним із кінцевих кодонів є UAA [8, 9].

Таким чином, вперше у тестовій системі вдалося синтезувати РНК з відомою послідовністю азотистих основ та протеїнові молекули з відповідними амінокислотними залишками. Це було першим в історії біохімії досягненням, яке дало вченим змогу надалі розшифрувати роль генетичного коду в синтезі протеїнів у клітині, що ще в 30-х роках XX ст. прогнозував у своїй класичній праці видатний фізик-теоретик Ервін Шредінгер [10].

На початку 1970-х предметом досліджень Северо Очоа був процес ініціації трансляції в евкаріот та роль у цьому процесі протеїну EiF2B, який каталізує обмін між GTP і GDP [11].

Улітку 1974 р. 69-річний Очоа полишив крісло декана біохімічного факультету Нью-Йоркського університету і приєднався до роботи в Інституті молекулярної біології Рош у Натлі (штат Нью Джерсі, США), де до 1985 р. продовжував досліджувати роль фосфорилювання в процесі ініціації трансляції.

У 1985 р. Очоа з дружиною повернулись до Іспанії та продовжив працювати почесним директором Центру молекулярної біології при Мадридському університеті. Центр був заснований за його ініціативи і на сьогодні є одним з провідних центрів молекулярної біології.

Смерть дружини, Кармен, у 1986 р. спустошила вченого. Адже саме вона підтримувала баланс між його напруженою роботою та дозвіллям — відвідуванням концертів, художніх виставок, театрів.

Северо Очоа помер від пневмонії в 1993 р. у Мадриді; похований у місті Луарка, де народився. Біографію-некролог, присвячений Очоа як члену Королівського товариства, написала його вірна учениця — *Маріанна Грюнберг-*

Манаго, та сама *Грюнберг-Манаго*, руками якої Очоа зробив перший крок до Нобелівської премії [12].

Маючи громадянство США з 1956 р. і насолоджуючись життям у цій країні, Северо Очоа зберіг особливу любов до Іспанії, своєї Батьківщини (практично, в його групі завжди працював іспанець). І ця любов, безумовно, була взаємною. Він був одним з найвідоміших людей у своїй країні, хоча і жив переважно за кордоном. Його зображення є в музеї воскових фігур у Барселоні, а в більшості іспанських міст є вулиця, названа на його честь; його портрет можна побачити в ресторані в Мадриді, який він любив відвідувати; у Валенсії є його музей, створений його колегою Сантьяго Гризоліа. Очоа надавав імпульс кар'єрам багатьох своїх талановитих студентів, починаючи з Артура Корнберга та закінчуючи Чарльзом Вайсманом; багато його учнів стали видатними вченими.

В Очоа завжди були аристократичні манери і поведінка європейського джентельмена, дуже рідко він бував напруженим, завжди був незворушним у конфліктах, які виникали під час інтерпретації результатів, написанні статей та визначенні пріоритетів авторів. Як усякий патріарх, він засмучувався, коли кращі студенти та співробітники вилітали з-під його крила в самостійне незалежне життя.

Окрім Нобелівської премії за 1959 р., Северо Очоа отримав багато інших нагород. Він був членом Національної академії наук США, Американської академії наук і мистецтв, іноземним членом Лондонського королівського товариства, іноземним членом Академії наук СРСР, президентом Міжнародного товариства біохіміків у 1961—1967 рр. У нього було 36 почесних докторських ступенів і понад сто медалей [12].

АРТУР КÓРНБЕРГ

Артур Кóрнберг (англ. *Arthur Kornberg*) — американський біохімік, народився 3 березня 1918 р. у Брукліні (Нью-Йорк, США). Він був молодшим із трьох дітей в сім'ї Джозефа Корнберга та Лені Кац, які походили з польської Галіції і володіли невеликим магазином товарів для дому. Артур був дуже розвиненою дитиною, він закінчив середню школу в 15 років, а в 1933 р. вступив до Сіті-коледжу в Нью-Йорку, проте особливо не цікавився наукою чи світом природи і не мріяв про кар'єру в цій сфері. На вибір майбутньої спеціальності вплинула Велика депресія — перспективним вибором видавалася медична школа. За успіхи в навчанні його в 1937 р. прийняли до Школи медицини Університету Рочестера. У 1941 р. Артур Корнберг став доктором медицини. У медичній школі Корнберг провів невелике дослідження хвороби печінки, що супроводжувалася накопиченням *білірубіну* в крові і легкою формою жовтяниці, яка відома сьогодні як синдром Жільбера. Цю хворобу він переніс особисто [13].

Із початком Другої світової війни Корнберга як медика відправили на фронт. Він служив лікарем на кораблі берегової охорони США в Карибському морі і мав залишатися там до кінця війни. Проте його кар'єра несподівано змінилась. У 1942 р. Корберг опублікував першу медичну статтю, присвячену результатам дослідження хвороби печінки, яке він провів під час навчання в медичній школі. Сталося так, що саме на момент публікації керівництво

Артур Кóрнберг
(1918—2007)

Національних інститутів здоров'я (NIH) США терміново шукало нові відомості про жовтяницю через її спалах у військах, спричинений новою вакциною проти жовтої лихоманки. Внаслідок цього восени 1942 р. Корнберга відізвали з військової служби і призначили на посаду дослідника в Лабораторію харчування NIH [14].

Першим його проєктом було вивчення механізмів дії нещодавно синтезованих *сульфаніламідних антибіотиків*, які спричиняли в щурів вітамінну нестачу та смертельні хвороби крові. Корнберг з колегами встановили, що структура сульфаніламідних препаратів дуже подібна до структури *парааамінобензойної кислоти* — ключового компонента *фолієвої кислоти* — і вони конкурують з нею за *ензим синтезу фолієвої кислоти*, тим самим попереджаючи її продукування кишковими бактеріями та негативно впливаючи на самі бактерії. Оскільки бактерії продукують необхідний для зсідання крові вітамін K, сульфаніламідні препарати спричиняли дефіцит цього вітаміну в щурів.

У 1945 р. Корнберг зацікавився не так відкриттям нових вітамінів, як механізмами їх функціонування, адже багато з них функціонують як компоненти ензимів (коензими). Його особливо цікавили ензими, що каталізують розщеплення глюкози для одержання енергії АТР. Проте вчений розумів, що для дослідження синтезу АТР необхідно оволодіти методами очищення ензимів. У 1946 р. він стажувався в Нью-Йоркському університеті, де вчився під керівництвом Северо Очоа виділяти ензими, з яким через 13 років розділить вищу наукову нагороду — Нобелівську премію. На той час ні Корнберг, ні Очоа і не думали про синтез ДНК і РНК у пробірці. Очоа доручив Корнбергу очищення *аконітази*, і той старанно працював над цим упродовж шести місяців [14].

У науковій долі цих Нобелівських лауреатів є ще один збіг — Корнберг проходив стажування в Вашингтонському університеті в Карла та Герті Корі у 1947 р., які отримали Нобелівську премію того самого року за дослідження метаболізму глюкози і в яких незадовго до того стажувався Очоа.

Восени 1947 р. Корнберг повернувся до NIH, щоб реалізувати здобуті навички та організувати відділ ензимів у Інституті артриту та хвороб обміну речовин. Його зацікавили ензими, що відповідають за обмін *коензиму NAD*, і він легко виділив з картоплі *нуклеотидпірофосфатазу*, яка розщеплює динуклеотид, а згодом — і *NAD-синтетазу*. Успіхи у з'ясуванні обміну *коензимів* не лише затвердили авторитет Корнберга як біохіміка, а й наштовхнули його на думку, що синтез інших складних молекул, таких як РНК і ДНК, може відбуватись подібним способом.

Корнберг розпочав дослідження синтезу нуклеїнових кислот саме тоді (на початку 1950-х), коли Джеймс Вотсон і Френсіс Крік намагалися встановити вірогідну структуру ДНК [15, 16]. Корнберг припустив, що ДНК і РНК мають синтезуватися ензимами, які поєднують разом не фрагменти нуклеїнової кис-

лоти, а окремі *нуклеотиди*. Тому насамперед треба було дослідити, як синтезуються ці будівельні блоки. Корнберг розпочав із синтезу *урацилу*, *цитозину* та *тиміну*. У цьому дослідженні він використовував дріжджі, а також нові методи радіактивного мічення та йонно-обмінної хроматографії для відстеження продуктів реакцій [14].

Після того, як Корнберг приступив до цієї роботи, він покинув NIH, де все більше уваги приділялося клінічним, а не фундаментальним дослідженням, і став завідувачем кафедри мікробіології Школи медицини Вашингтонського університету в Сент-Луїсі. Викладачі та наукові співробітники, які увійшли до його команди, упродовж наступних десятиріч стануть важливими учасниками дослідження синтезу ДНК поза клітиною.

Корнберг припустив, що *ймовірним попередником урацилу є оротова кислота*, яка є *карбоксильованим урацилом*. Наприкінці 1953 р. він підтвердив це припущення і показав, що першим продуктом на шляху його синтезу є *фосфорибозилпірофосфат (PRPP)*, який поєднується з оротовою кислотою з утворенням *ороторибозофосфату*. Після відщеплення CO_2 від ороторибозофосфату утворюється урацилрибозофосфат, відомий як *уридинмонофосфат*, який і є нуклеотидом. Після цього Корнберг з колегами швидко віднайшли ензими, які синтезують *цитозин*, *аденін* та *гуанін* [14].

Маючи в розпорядженні усі необхідні для синтезу нуклеотиди, Корнберг був готовий до пошуку ензимів, відповідальних за їх збирання в РНК або ДНК. У 1955 р. лабораторія Северо Очоа оголосила про відкриття ензиму *полінуклеотидфосфорилази*, який синтезує РНК, проте згодом з'ясувалося, що цей ензим здійснює лише нематричний синтез РНК-подібних ланцюгів. Тому Корнберг зосередився на синтезі ДНК.

Щоб віднайти необхідний ензим у екстракті клітин кишкової палички *Escherichia coli*, вчений додав до середовища АТР суміш чотирьох дезоксинуклеозитрифосфатів, з яких дТТР був мічений ^{32}P за α-фосфатною групою, зв'язаною ефірним зв'язком з 5′-гідроксильною групою дезоксирибози, а також фрагмент ДНК як праймер для ініціації синтезу ланцюга. Після інкубації радіоактивний фосфат виявили в складі фосфатних груп міжнуклеотидних зв'язків синтезованої високомолекулярної ДНК. Для виділення ензиму, що здійснював синтез ДНК, знадобилися тривалі експерименти з міченим тимідином, а також широкий спектр методів фракціонування та очищення від інших протеїнів та ензимів, що впливають на синтез. Зрештою, Корнбергу вдалося одержати невелику кількість високоочищеного ензиму, який він назвав *ДНК-полімеразою* (сьогодні відомою як *ДНК-полімераза I*). Очищена ДНК-полімераза каталізувала приєднання мононуклеотидних одиниць до вільного 3′-гідроксильного кінця ланцюга ДНК, тобто синтез ДНК відбувався у напрямку $5' \rightarrow 3'$.

Перше повідомлення про «синтез ДНК у пробірці» Корнберг опублікував у 1956 р. у журналі «Biochimica et Biophysica Acta». Воно зайняло дві сторінки і в ньому зазначалося: «*Для полімеризації дТТР необхідні АТР, стійкий до нагрівання фрагмент ДНК, тимчасово названий затравкою, та дві фракції ензимів*» (одна містила ДНК-полімеразу, інша — суміш нуклеаз та нуклеотидкіназ).

За допомогою ДНК-полімерази та ДНК із різних організмів Корнбергу вдалося упродовж року шляхом включення чотирьох дезоксирибонуклеоти-

дів синтезувати нові комплементарні ланцюги ДНК. Результати роботи Корнберг описав у двох статтях, поданих у жовтні 1957 р. до «Journal of Biological Chemistry (JBC)». Але ці статті відхилили, бо один із рецензентів — Ервін Чаргафф — не сприймав молекулярної біології та був проти «*втручання у гени*», а редактори заперечували проти назви ДНК як продукту реакції; вони надавали перевагу громіздкому терміну «*полідезоксирибонуклеотид*», а також стверджували, що генетична активність синтезованого продукту є сумнівною. Навесні 1958 р. було призначено нового редактора JBC, який негайно відкинув заперечення проти статей Корнберга та опублікував їх [17, 18]. Ці публікації про вперше здійснений синтез ДНК стали підставою для номінації на здобуття Нобелівської премії з медицини та фізіології, яку Корнберг отримав у 1959 р., розділивши її з Северо Очоа [19].

Від 1959 р. Корнберг працював професором та завідувачем кафедри біохімії факультету медицини Стенфордського університету. Умови для наукової діяльності тут були оптимальними і він привів із собою більшу частину співробітників і викладачів з Вашингтонського університету. Вчений продовжив намагання синтезувати генетично активну ДНК, що виявилося набагато складнішим, ніж просто копіювати шаблон ДНК, адже будь-яке пошкодження високомолекулярної ДНК-матриці позначалось на її життєвій функції. Тому Корнберг розпочав роботу з найменшими з бактеріальних вірусів (фагів) phi X174 та M13 кишкової палички. Ці віруси містили коротколанцюгові ДНК, і їхню біологічну активність було нескладно оцінити.

Корнбергу та його команді вдалося синтезувати обидві вірусні ДНК, проте вони не були кільцевими. Виявилося, що *саме кільцева форма ДНК є необхідною умовою інфекційності*. Постала задача віднайти ензим, що здатен поєднати разом вільні кінці ниток ДНК, а також полагодити розриви ДНК. У 1967 р. п'ять різних дослідницьких груп, серед яких і група Корнберга, виявили ензим *ДНК-лігазу*. Того самого року Корнберг з використанням цього ензиму синтезував ДНК phi X174, що за кільцевою формою, складом та інфекційністю тотожна до ДНК із природного вірусу. *Так було здійснено першу реплікацію життєздатної ДНК вірусу*.

Щоб оголосити про це досягнення Артур Корнберг і бюро новин Стенфорда організували прес-конференцію, наперед домовившись із журналістами, щоб результати не були охарактеризовані як «*синтез життя в пробірці*», адже вірусна ДНК є нежиттєздатною поза клітиною. Проте в той самий день президент США — Ліндон Джонсон, виступаючи у Смітсонівському інституті, несподівано відклав підготовлений спічрайтером текст і повідомив аудиторії: «*Деякі генії зі Стенфордського університету створили життя в пробірці!*». Наступного дня всі газетні статті про роботу Корнберга починалися з цієї заяви.

Під час подальшої роботи з вірусною ДНК було виявлено низку інших ензимів, задіяних у синтезі ДНК. Корнберг показав, що ДНК-полімераза не лише збирає молекули ДНК, а й може руйнувати їх, здійснюючи редагування невідповідних нуклеотидів, видаляти частину нуклеотидів та виконувати репарацію. Ці відкриття змусили деяких вчених замислитись над тим, чи дійсно ДНК-полімераза Корнберга відповідає за реплікацію ДНК. Сумнівів дода-

ло відкриття Джоном Кернсом мутантної кишкової палички, здатної нормально ділитися за відсутності цього ензиму.

З урахуванням цього на початку 1970-х років було здійснено серію досліджень, провідну роль в яких відіграв старший син Корнберга—Томас. Було виявлено, що *Escherichia coli* містить різні полімерази (до п'яти), здатні синтезувати та копіювати ДНК. Відкрита Корнбергом ДНК-полімераза (ДНК-полімераза I) брала участь у процесах редагування та репарації ДНК, інша (ДНК-полімераза III) працювала переважно на синтез ДНК. Це був тріумфальний науковий дебют Томаса, талановитого віолончеліста, який лише нещодавно розпочав дослідницьку роботу після травми руки, що зашкодила його роботі на сцені.

Відкриття репаративної здатності *ДНК-полімерази I* та існування інших полімераз свідчило про те, що синтез і реплікація ДНК були набагато складнішими, ніж уявлялося. Корнберг і його Стенфордська команда повернулися до досліджень на бактеріофагах phi X174 і M13 та впродовж двох наступних десятиріч ретельно дослідили процеси, що відбуваються в репликативній вилці, де два ланцюги розходяться і кожний подвоюється. Вони ідентифікували комплекс із семи різних протеїнів, що ініціювали синтез нового ланцюга ДНК, та багатокомпонентний ензим, який назвали *ДНК-полімераза III холофермент*, який завершував збирання нової молекули ДНК.

Пізніше Корнберг писав : «*... ми відкрили та застосовували реагенти, необхідні для маніпуляції з ДНК:* ***полімеразу*** *для синтезу довгих ланцюгів ДНК та заповнення пробілів,* ***лігазу*** *для з'єднання суміжних кінців,* ***екзонуклеазу III*** *для видалення фосфатних груп на кінцях ланцюга,* ***екзонуклеазу фага лямбда*** *для відщеплення одного кінця ланцюга ДНК і* ***термінальну трансферазу*** *для додавання нуклеотидів на іншому кінці ланцюга ДНК. Ці п'ять ензимів були реагентами, які уможливили створення технології рекомбінантної ДНК та генної інженерії*» [19].

Через зацікавленість у придбанні вигідних патентів на рекомбінантну ДНК до Корнберга зверталися біотехнологічні та фармацевтичні компанії, але їхні пропозиції було відхилено через їхню винятково комерційну спрямованість. Водночас Корнберг підтримав ідею організації Науково-дослідного інституту для створення нових терапевтичних продуктів на основі технології рекомбінантної ДНК і в 1980 р. став одним із засновників DNAX Інституту молекулярної та клітинної біології, до якого вдалося залучити найкращих молодих вчених. Згодом DNAX став частиною дослідницького відділу «Biopharma» та спрямував роботу на вирішення імунологічних і онкологічних проблем. Корнберг продовжував працювати у Раді директорів компанії та допомагати у підборі персоналу.

У 1991 р., після багатьох десятиріч роботи над реплікацією ДНК, Корнберг зацікавився *неорганічними поліфосфатами* і досліджував їх до кінця життя, значно розширивши уявлення про біологічні функції цих сполук.

Артур Корнберг помер у 2007 р. у віці 89 років. Упродовж своєї довгої кар'єри він опублікував понад 300 наукових праць, монографії з реплікації ДНК, наукову автобіографію, інсайдерську оцінку біотехнологічної промисловості, а також дитячу книжку «*Germ stories*» з історіями, які він розповідав своїм дітям і онукам. І головне — він встиг побачити, як Нобелівську премію в

2006 р. отримував його молодший син Роджер «*за дослідження молекулярних основ транскрипції в еукаріот*».

Артур Корнберг був тричі одружений; у нього було троє синів: Томас — професор біохімії та біофізики в Каліфорнійському університеті в Сан-Франциско, Роджер — професор структурної біології в Стенфорді та Кеннет — архітектор і засновник фірми «*Kornberg Associates*», що спеціалізується на лабораторному дизайні, а також вісім онуків. Він любив подорожі, музику, теніс і цінував час, проведений із сім'єю.

Серед його відзнак, окрім Нобелівської премії з фізіології та медицини (1959), — членство в Національній академії наук США, Королівському товаристві, Американському філософському товаристві, а також низка почесних ступенів, Національна медаль за науку (1979), нагорода Космос-клубу (1995) та інші медалі та нагороди.

Віра Корнберга в цінність фундаментальних досліджень і необхідність їх підтримки залишалася незмінною протягом усього його життя. В листі журналу SCIENCE у 1996 р. він закликав до безперервного державного фінансування фундаментальних наукових досліджень: «*Я можу документально підтвердити, що всі великі досягнення медицини в діагностиці, терапії та запобіганні хворобам були спричинені зацікавленістю біологів, хіміків і фізиків, інтереси яких лежали далеко від практичного застосування результатів фундаментальних досліджень у виробництві ліків і приладів*» [20]. Роботи Артура Корнберга з дослідження синтезу ДНК є яскравим прикладом того, як суто науковий інтерес, просте прагнення зрозуміти, як працюють клітинні машини і як вони можуть бути зібрані в пробірці, сприяє неймовірному технічному прориву [21].

Проведені Очоа та Корнбергом експерименти вважають наріжним каменем генної інженерії, бо вони вперше продемонстрували можливість синтезу РНК та ДНК поза живою клітиною, і оскільки відкриті ними ензими були одними з перших інструментаріїв цієї технології, Корнберга також часто називають піонером штучного синтезу життя, адже він синтезував ДНК як життєздатну молекулу з вірусу і довів її інфекційність.

THE DISCOVERY OF THE MECHANISMS OF BIOLOGICAL SYNTHESIS OF NUCLEIC ACIDS
The Nobel prize in physiology or medicine, 1959

O.P. Matyshevska, V.M. Danilova, S.V. Komisarenko

Alongside the chemical and physical research of nucleic acids in the 1940s-50s, the mechanisms of their biosynthesis were investigated. Thus, in 1959, Severo Ochoa and Arthur Kornberg were awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine for the discovery of the mechanisms of biological synthesis of RNA and DNA. The experiments performed by Ochoa and Kornberg are considered today the cornerstone of genetic engineering, as they first demonstrated the possibility of synthesizing RNA and DNA outside the living cell, and also as the enzymes they discovered were among the first tools of this technology.

Keywords: *Severo Ochoa, Arthur Kornberg, RNA, DNA, enzymes, polynucleotide phosphorylase, DNA polymerase I, DNA ligase, replication.*

REFERENCES

1. Regime of access: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1959 (engl.)

2. Severo Ochoa. Regime of access: https://indicator.ru/medicine/nobelevskie-laureaty-severo-ochoa.htm.

3. Ochoa S., Valdecasas J.G. A micro method for the estimation of total creatinine in muscle. *Journal of Biological Chemistry*. 1929. Vol. 81, N 2. P. 351—357.

4. Ochoa_Severo. Regime of access: https://www.krugosvet.ru/biologiya/ OCHOA_SEVERO.

5. Vynogradova R.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. The Nobel laureates' contributions to the study of carbohydrate metabolism and its regulation. A. Harden, H. Euler-Chelpin, C.F. Cori, G.T. Cori, E. Sutherland, L.F. Leloir, H. Krebs, F. Lipmann, P. Mitchell. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 1. P. 135—163.

6. Grunberg-Manago M., Ochoa S. Enzymatic synthesis and breakdown of polynucleotides; polynucleotide phosphorylase. *Journal of the American Chemical Society*. 1955. Vol. 77. P 3615—3166.

7. Nirenberg M.W., Matthaei H.J. The dependence of cell-free protein synthesis in E. coli upon naturally occurring or synthetic polyribonucleotides. *PNAS*. 1961. Vol. 47, N 10. P. 1588—1602.

8. Salas M., Smith M.A., Stanley W.M.Jr., Wahba A.J., Ochoa S. Direction of reading of the genetic message. *Journal of Biological Chemistry*. 1965. Vol. 240, N 10. P. 3988—3995.

9. Last J.A., Stanley W.M.Jr., Salas M., Hille M.B., Wahba A.J., Ochoa S. Translation of the genetic message, IV. UAA as a chain termination codon. *PNAS*. 1967. Vol. 57, N 4. P. 1062—1067.

10. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Nobel prize winner Erwin Schrödinger: the physicist, philosopher, and godfather of molecular biology and genetics. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 3. P. 93—100.

11. Zasloff M., Ocho S. Polypeptide chain initiation in eukaryotes. IV. Purification and properties of supernatant initiation factor from Artemia salina embryos. *Journal of Molecular Biology*. 1973. Vol. 73, N 1. P. 65—76.

12. Severo Ochoa. Regime of access: https://ru.wikipedia.org/wiki/Severo Ochoa.

13. Arthur Kornberg. Regime of access: https:// uk.wikipedia.org/wiki/Arthur Kornberg.

14. Kornberg Arthur. Regime of access: https://ru.wikipedia.org/wiki/Kornberg, Arthur.

15. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Standing on the shoulders of giants: James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin and the birth of molecular biology. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 154—164.

16. Matyshevska O.P., Danilova V.M, Komisarenko S.V. 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. Vol. 92, N 6. P. 183—198.

17. Lehman I.R., Bessman M.J., Simms E.S., Kornberg A. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid. I. Preparation of substrates and partial purification of an enzyme from Escherichia coli. *Journal of Biological Chemistry*. 1958. Vol. 233, N 1. P. 163—170.

18. Bessman M.J., Lehman I.R., Simms E.S., Kornberg A. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid. II. General properties of the reaction. *Journal of Biological Chemistry*. 1958. Vol. 233, N 1. P. 171—177.

19. Kornberg A. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1959kornberg/biographical/

20. Ianniello L., Burk M., Kornberg A. Funding Basic Research. *Science*. 1996. Vol. 273, N 5277. P. 857a—861.

21. Burgers P.M. Arthur Kornberg (1918—2007). *Molecular Cell*. 2007. Vol. 28, N 4. P. 530—532.

STANDING ON THE SHOULDERS OF GIANTS: JAMES WATSON, FRANCIS CRICK, MAURICE WILKINS, ROSALIND FRANKLIN AND THE BIRTH OF MOLECULAR BIOLOGY

The Nobel prize in physiology or medicine, 1962

T.V. Danylova, S.V. Komisarenko

In the 20th century DNA has become a magnet, attracting representatives of various sciences. Prominent researchers competed among themselves to discover the structure of DNA and to explain the mechanisms that determine our «natural fate», i.e., our heredity. An American chemist, biochemist, chemical engineer Linus Pauling, a British physicist and molecular biologist Maurice Wilkins, a British chemist, biophysicist, and X-ray crystallographer Rosalind Franklin, an American geneticist, molecular biologist, zoologist James Watson, a British molecular biologist, biophysicist, and neuroscientist Francis Crick were among them. They searched for the scientific explanation for the enigma of life hidden in DNA. An accurate description of DNA double-helical structure belongs to James Watson and Francis Crick. However, the missing pieces of the puzzle were elaborated by Rosalind Franklin, who didn't get enough credit for her dedicated scientific work. Unlike her, Francis Crick, James Watson, and Maurice Wilkins were awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962 for their discoveries concerning the molecular structure of nucleic acids and its significance for information transfer in living material. Whatever the DNA story is, it shows that all great scientific discoveries are not made from scratch. The immense number of people have contributed to the development of science and literally every researcher stands on the shoulders of giants, while the idea itself is in the air. The discovery of the structure of DNA became a cornerstone for the new scientific paradigm — biology acquired a molecular and biochemical basis.

Kewords: *DNA, DNA double helix, James Watson, Francis Crick, Rosalind Franklin, Maurice Wilkins, the Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962.*

Since time immemorial, humans have tried to understand whether they have free will or there is a predestined fate. Why are some born beautiful, healthy, and smart, while others have to eke out a miserable existence on the sidelines of a happy life? Who is to blame for this: sinful parents, own karma, or pure chance? Humans embrace both natural and cultural worlds being deeply rooted in each of them [1]. While in the world of culture (the world of symbols) people have freedom of choice, in the world of nature they have to obey its laws. Only by realizing the laws of nature and considering them, a person becomes free. What natural mechanisms determine our «natural fate», i.e., our heredity? This question has long been asked by many scientists who have tried to explain the genetic patterns. Information about a living creature is encoded in the genes, and the carrier of all human or animal genes is DNA — deoxyribonucleic acid.

DNA as a molecule located in the nucleus of a living cell was discovered in the 1860s by the Swiss physician F. Miescher [2]. In 1879, a German biologist and a founder of cytogenetics W. Flemming discovered chromatin (later known as

chromosomes) within the nucleus [3]. The key role played by chromosomes was revealed in the course of studies on cell division. Further analysis suggested that chromosomes contained DNA, and a German zoologist O. Hertwig recognized the role of the cell nucleus during inheritance and chromosome reduction during meiosis. In 1885, he wrote that nuclein, which was later called nucleic acid, is the substance responsible not only for fertilization, but also for the transmission of hereditary characteristics [4, p. 547]. «By 1900, it was known that the basic building blocks of DNA were phosphate, a sugar (later shown to be deoxyribose) and four heterocyclic bases — two of which were purines [adenine (A) and guanine (G)] while the other two were pyrimidines [cytosine (C) and thymine (T)]» [5]. In 1930s, a Swedish cytologist and geneticist T. Caspersson and a Swedish biochemist E. Hammersten showed that DNA is a polymer [6].

In 1935, N.W. Timoféeff-Ressovsky, K.G. Zimmer and M. Delbrück suggested that chromosomes were large molecules and their structure could be changed by X-rays and thus it was possible to change the heritable characteristics ruled by these chromosomes [7]. O. Avery, C. Macleod, and M. McCarty — medical microbiologists at the Rockefeller Institute in New York — in their paper published in 1944 described the experiment that isolated DNA as the material of which genes and chromosomes are made. They identified DNA as the transforming principle (genes) [8].

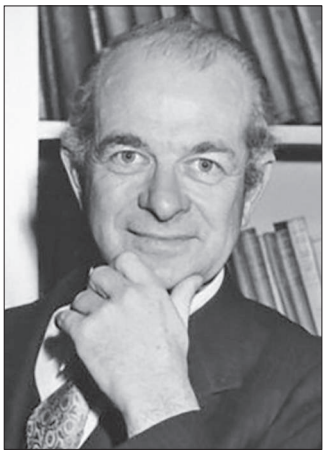
Physicist E. Schrödinger also contributed to this discovery [9]. He suggested the idea of a genetic code and argued that the genetic material had to have a non-repetitive molecular structure. Considering a molecule as a solid — a crystal, Schrцdinger claimed: «We believe a gene — or perhaps the whole chromosome fibre — to be an aperiodic solid» [10, p. 61]. This aperiodic crystal forms the hereditary substance.

A famous Austrian-American biochemist E. Chargaff introduced two rules that eventually led to the discovery of the double helix structure of DNA. He noticed that DNA contained equal amounts of adenine and thymine and equal amounts of cytosine and guanine. This idea contributed to the understanding of the chemical pairings that make up the double helix. E. Chargaff found that amount of guanine, cytosine, thymine and adenine vary with the species, which means that DNA is the genetic material for life [11].

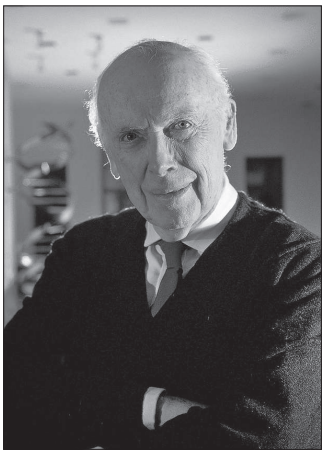
X-ray crystallography contributed greatly to the discovery of DNA. In 1938, an English physicist and molecular biologist W. Astbury and his research assistant E. Beighton had obtained X-ray image of DNA. It was a year before an English chemist and X-ray crystallographer R. Franklin took her incredibly famous Photo 51, which «showed a pattern of black spots arranged in the shape of a cross, formed when X-rays were diffracted by fibres of DNA» [12]. W. Astbury helped to develop the methods used by R. Franklin and M. Wilkins, as well as made early studies of the DNA molecule and paved the way for J. Watson and F. Crick's scientific discovery. In so far as «winner takes it all», the name of W. Astbury was undeservedly forgotten. K. Hall, the author of «The Man in the Monkeynut Coat» [13], emphasizes, «Astbury's name is today largely unknown except to a select group of historians of science» [14].

DNA has become a magnet attracting representatives of various sciences. In the 1950s, there were three groups of researchers aimed at determining the structure of DNA. The first group at King's College, London, was led by M. Wilkins. R. Franklin joined this group later. They examined X-ray diffraction patterns of DNA fibers.

William Astbury [15]



Linus Pauling [19]



James Watson (1928) [22]

Cambridge was represented by F. Crick and J. Watson. They were focused on building physical models. Caltech group was led by L. Pauling who discovered that many proteins included helical shapes [6, p. 7; 16]. Later L. Pauling was twice awarded the Nobel Prize: the first award in 1954 recognized «his research into the nature of the chemical bond and its application to the elucidation of the structure of complex substances» [17], the second award in 1962 — «for his opposition to weapons of mass destruction» [18].

However, an accurate description of DNA double-helical structure belongs to his more successful competitors J. Watson and F. Crick. In fact, the contemporary story of DNA began in 1953.

James Watson (James Dewey Watson), a prominent American geneticist, molecular biologist, zoologist, was born on April 6, 1928 in Chicago, USA. Being a bright and inquisitive child, he attended Horace Mann Grammar School and South Shore High School. At the age of 15, he earned a scholarship to the University of Chicago and enrolled the university [20]. He received his Bachelor of Science degree in zoology in 1947 and attended Indiana University. Here in 1950, he received his Ph.D. in zoology. After reading E. Schrödinger's book «What Is Life? The Physical Aspect of the Living Cell», J. Watson decided to study genetics. He was fascinated by the idea that the secret of life is hidden in genes and chromosomes. J. Watson wrote: «This book very elegantly propounded the belief that genes were the key components of living cells and that, to understand what life is, we must know how genes act» [21, p. 13].

Based on his virus research and Avery's experiments, J. Watson came to the conclusion that gene could be understood after a detailed explanation of nucleic acid molecules. J. Watson was influenced by the work of the geneticists H.J. Muller and T.M. Sonneborn and a microbiologist S.E. Luria who won the 1969 Nobel Prize in Physiology or Medicine for his work on the Luria—Delbrück experiment, which concerned the nature of genetic mutations.

In 1950, J. Watson began his postdoctoral studies in Copenhagen as a Merck Fellow of the National Research Council. He studied bacterial viruses to investigate

the structure of DNA. In 1951, he met Maurice Wilkins — a New Zealand-born British physicist and molecular biologist — and saw for the first time a crystalline DNA's X-ray diffraction pattern. This year, S. Luria and J. Kendrew helped J. Watson move his research to the University of Cambridge's Cavendish Laboratory, where he continued his work with X-rays, learning diffraction techniques [23]. J. Watson shared his office with a Ph.D. student Francis Crick.

Francis Crick
(1916—2004) [26]

Francis Harry Compton Crick — a distinguished British molecular biologist, biophysicist, and neuroscientist — was born on June 8, 1916, in Northampton, England. He studied at Northampton Grammar School and Mill Hill School, London.

Later he enrolled University College, London, graduating with a Bachelor Degree in 1937. He conducted research for a Ph.D. under Prof. E.N. da C. Andrade, however his scientific path was interrupted by WWII. During the war he was involved in military research working as a scientist for the British Admiralty. In 1947, he left the Admiralty to study biology, of which he knew not much at that time [24]. The next few years he spent learning biology, organic chemistry, and crystallography [25]. His early studies at Cambridge were supported by a studentship from the Medical Research Council (MRC). In 1949, F. Crick joined the MRC unit headed by M. Perutz. During this period, he worked on the X-ray crystallography of proteins. In 1954, he obtained his PhD on a thesis entitled «X-ray diffraction: polypeptides and proteins». During the academic year 1953—1954, F. Crick was on leave of absence at the Protein Structure Project of the Brooklyn Polytechnic in Brooklyn, New York. He had also lectured at Harvard as a Visiting Professor [25].

The friendship with J. Watson had a huge impact on F. Crick's career: «they shared an interest in the fundamental question of how genetic information could be stored in molecular form, leading in 1953 to the proposal of the double-helical structure for DNA» [27].

For about two years J. Watson and F. Crick worked together without success. Emulating L. Pauling, who had made an important but failed effort to describe DNA, they began building three-dimensional models using cardboard cutouts and sheet metal to represent the molecule's chainlike structure. They were aware that DNA might have the general winding shape of a helix. But it was not clear how adenine, guanine, thymine, and cytosine were arranged around a sugar and phosphate backbone [29]. An unexpected insight came from King College group led by M. Wilkins.

Maurice Hugh Frederick Wilkins (1916—2004) was born in New Zealand. His family moved to England when Maurice was 6 years old. He got his education at King Edward's School, Birmingham. He studied physics at St. John's College, Cambridge, obtaining his degree in 1938. Enrolling Birmingham University, he investigated the luminescence of solids and earned a Ph.D. in 1940.

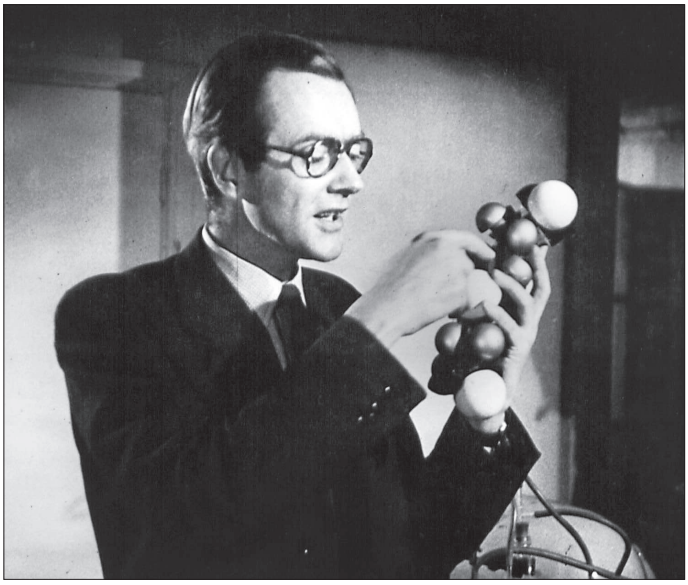
After WWII, M. Wilkins lectured at St. Andrews' University, Scotland. He had spent seven years in physics research and later started exploring biophysics that

Francis Crick
and James Watson [28]

moved him to King's College, London, where he became a member of the staff of the Medical Research Council Biophysics Research Unit. He studied genetic effects of ultrasonics, orientation of purines and pyrimidines in tobacco mosaic virus and in nucleic acids, arrangement of virus particles in crystals of TMV. Later on, M. Wilkins began X-ray diffraction studies of DNA and sperm heads. Further X-ray studies established the correctness of the Watson—Crick proposal for DNA structure [30].

A key role in determining the structure of DNA belongs to the other member of King College group — to Rosalind Franklin. ***Rosalind Elsie Franklin*** (1920—1958) was a British chemist, biophysicist, and X-ray crystallographer. She was born in London, England. Being exceptionally intelligent, she got her education at Norland Place in West London and St. Paul's Girls' School. Later she entered Cambridge University to study chemistry. In 1941, R. Franklin was awarded Second Class Honors in her finals (it was accepted as a bachelor's degree). Working as an assistant research officer at the British Coal Utilization Research Association, Rosalind studied the porosity of coal. This exploration became the basis of her Ph.D. thesis «The physical chemistry of solid organic colloids with special reference to coal» defended in 1945 [32]. In 1947—1950 she worked with J. Mering at the State Chemical Laboratory in Paris where she studied X-ray diffraction technology. This work led to her research on the structural changes caused by the formation of graphite in heated carbons. In 1951, R. Franklin joined the Biophysical Laboratory at King's College, London. There she applied X-ray diffraction methods to the study of DNA [33].

Though R. Franklin was not the first to obtain X-ray images of DNA, she managed to take a cardinal step in the right direction. Instead of crystals, Rosalind studied DNA fibers. She faced a very serious difficulty: the photographs were poorly reproduced and unclear. She made a machine, in which she maintained a fixed humidity, and began to change this humidity. She discovered two different forms of DNA molecule — A form (low humidity) and B form (high humidity) [35]. The latter



Maurice Wilkins (1916—2004) [31]

was of the greatest importance, because living cells are characterized by high humidity. One of the «X-ray diffraction pictures of the B form of DNA, known as Photograph 51, became famous as critical evidence in identifying the structure of DNA» [32]. R. Franklin had some ideas on DNA structure, but she had not developed them.

At the beginning of 1953, M. Wilkins without R. Franklin's permission showed Photo 51 to a competing scientist J. Watson [37]. J. Watson in his book «The Double Helix» put it this way: «since the middle of the summer Rosy (*R. Franklin — authors note*) had had evidence for a new three-dimensional form of DNA. It occurred when the DNA molecules were surrounded by a large amount of water. When I asked what the pattern was like, Maurice *(M. Wilkins authors note)* went into the adjacent room to pick up a print of the new form they called the "B" structure.

The instant I saw the picture my mouth fell open and my pulse began to race. The pattern was unbelievably simpler than those obtained previously ("A" form). Moreover, the black cross of reflections which dominated the picture could arise only from a helical structure. With the A form, the argument for a helix was never straightforward and considerable ambiguity existed as to exactly which type of helical symmetry was present. With the B form, however, mere inspection of its X-ray picture gave several of the vital helica1 parameters. Conceivably, after only a few minutes' calculations, the number of chains in the molecule could be fixed» [21, p. 58].

Based largely on Watson's memoirs, the «stealing myth» emerged. However, the situation that arose in the scientific community was not so simple — a photograph itself could not shed any light on the chemical structure of the molecule, as well as on the number of strands. J. Watson and F. Crick needed precise observations from X-ray crystallography and they got this data from the Franklin's report given to M. Perutz and from him to L. Bragg, the head of Watson and Crick's laboratory. Without asking R. Franklin for permission to interpret her data, F. Crick got the material to do his calculations. «Those numbers, which included the relative distances

Rosalind Franklin
(1920—1958) [34]

of the repetitive elements in the DNA molecule, and the dimensions of what is called the monoclinic unit cell — which indicated that the molecule was in two matching parts, running in opposite directions — were decisive...

By chance, Franklin's data chimed completely with what Crick had been working on for months: the type of monoclinic unit cell found in DNA was also present in the horse hemoglobin he had been studying for his PhD. This meant that DNA was in two parts or chains, each matching the other. Crick's expertise explains why he quickly realized the significance of these facts, whereas it took Franklin months to get to the same point» [38].

Getting the missing pieces of the puzzle, J. Watson and F. Crick began to build a model based on the parameters obtained from the Franklin's experiment.

They determined that the structure of DNA was a double-helix polymer, or a spiral of two DNA strands, each containing a long chain of monomer nucleotides, wound around each other [40]. «The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical *z*-coordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6» [41, p. 737]. According to their findings, DNA replicated itself by separating into individual strands, each of which became the template for a new double helix, «the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material» [41, p. 738]. By March 1953 the mystery of life was revealed.

This discovery was probably the most outstanding discovery not only in the field of biology and medicine, but also in the history of science in general.

In April 1953, J. Watson, F. Crick, R. Franklin, and M. Wilkins published their articles in Nature. It was decided that the model would be published by J. Watson and F. Crick [41]. The articles of R. Franklin [43] and M. Wilkins [44] were published separately. In 1953, R. Franklin left King's College, London, for Birkbeck College. She made important contributions to the X-ray crystallographic analysis of the structure of the tobacco mosaic virus. In 1958, she died. An inscription on her tombstone reads: «Her research and discoveries on viruses remain of lasting benefit to mankind» [45].

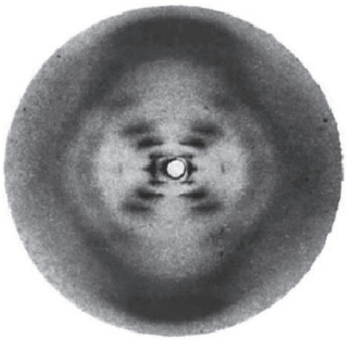
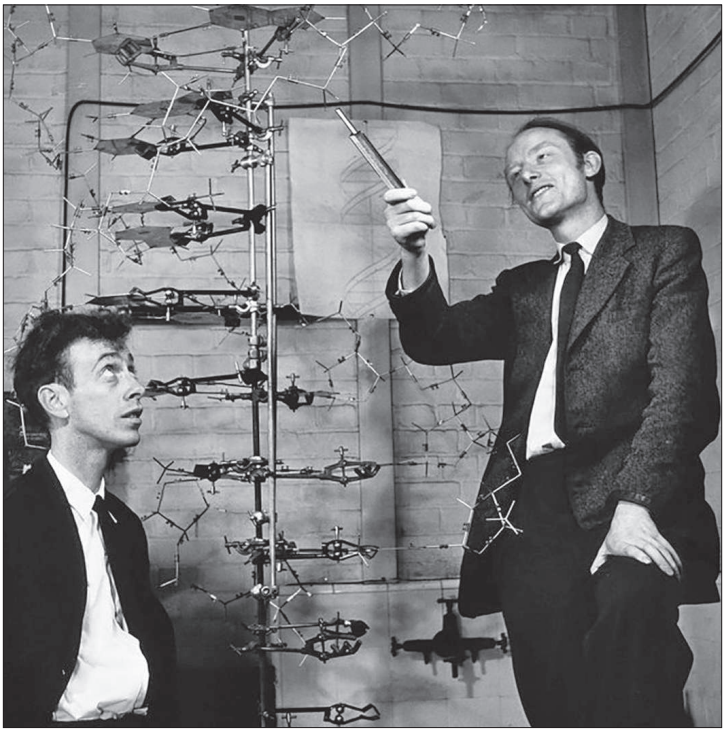


Photo 51 [36]

In 1962, **F. Crick, J. Watson, and M. Wilkins** were awarded **the Nobel Prize in Physiology or Medicine**



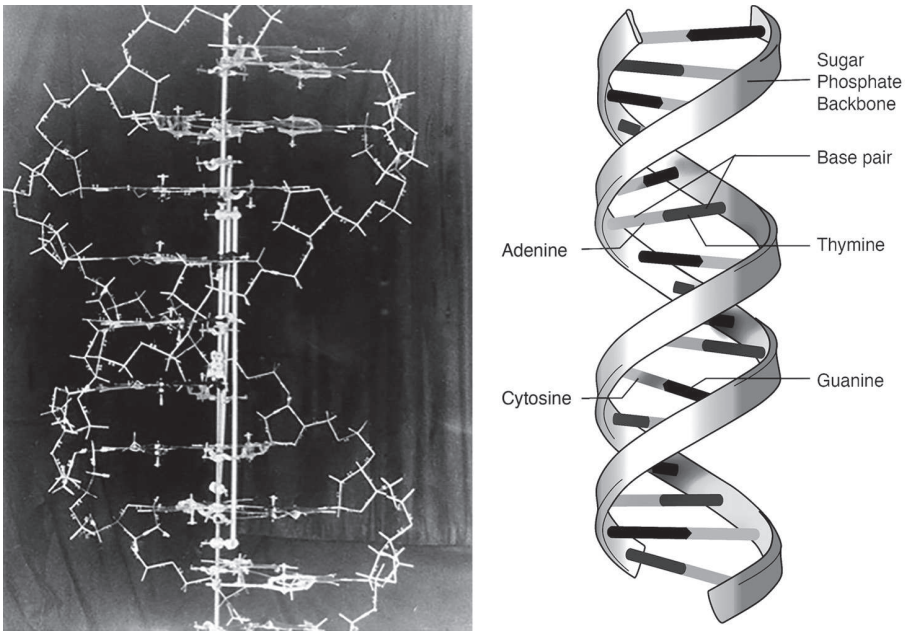
J. Watson
and F. Crick [39]

«for their discoveries concerning the molecular structure of nucleic acids and its significance for information transfer in living material» [46]. The Nobel Committee highly praised M. Wilkins's contribution into investigation of deoxyribonucleic acid of various biological origins by X-ray crystallographic techniques and Watson-Crick's DNA model, emphasizing that this discovery would provide new possibilities to conquer disease and to gain better knowledge of the interaction of heredity and environment and a greater understanding for the mechanisms of the origin of life.

Professor A. Engström, member of the Staff of Professors of the Royal Caroline Institute, in his Presentation Speech stated: «Dr. Francis Crick, Dr. James Watson, and Dr. Maurice Wilkins. Your discovery of the molecular structure of the deoxyribonucleic acid, the substance carrying the heredity, is of utmost importance for our understanding of one of the most vital biological processes. Practically all the scientific disciplines in the life sciences have felt the great impact of your discovery. The formulation of double helical structure of the deoxyribonucleic acid with the specific pairing of the organic bases, opens the most spectacular possibilities for the unravelling of the details of the control and transfer of genetic information» [47].

R. Franklin was neither awarded the Nobel Prize, no got enough credit for her dedicated scientific work. Firstly, her untimely death may have robbed her of the award, though no more than three recipients can share a Nobel Prize [48]. Secondly, R. Franklin became a victim of scientific disrespect that the report calls «gender harassment» [49].

Whatever the DNA story is, it shows that all great scientific discoveries are not made from scratch. The immense number of people have contributed to the



Watson and Crick DNA Model [42]

development of science and literally every researcher stands on the shoulders of giants, while the idea itself is in the air.

The discovery of the structure of DNA became a cornerstone for the new scientific paradigm — biology acquired a molecular and biochemical basis. Deep research into DNA brought to the fore new technologies, which revealed the complex chemistry of protein synthesis and reproduction [29]. «In an influential presentation in 1957, Crick laid out the "central dogma of molecular biology", which foretold the relationship between DNA, RNA, and proteins, and articulated the "sequence hypothesis". A critical confirmation of the replication mechanism that was implied by the double-helical structure followed in 1958 in the form of the Meselson-Stahl experiment. Work by Crick and coworkers showed that the genetic code was based on non-overlapping triplets of bases, called codons, and Har Gobind Khorana and others deciphered the genetic code not long afterward (1966). These findings represent the birth of molecular biology» [6, p. 8].

Life paths of the great DNA pioneers moved off in different directions. M. Wilkins continued research as a leader of a team that performed a range of experiments to establish the helical model as valid among different biological species, as well as in living systems, and to approve the universality of the double helix structure. He applied X-ray techniques to the structural determination of nerve cell membranes and of ribonucleic acid [50]. He became Deputy Director of the MRC Biophysics Unit at King's College, London, in 1955, and succeeded Randall as director of the unit from 1970 to 1972 [51]. In 1959, M. Wilkins was elected a Fellow of the Royal Society. In 1960, he was presented with the American Public Health Association's Albert Lasker Award. In 1962, he became a Commander of the Order of the British Empire.

In 1964, he was elected a European Molecular Biology Organization Member. In 2003, his book «The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins» was launched [52]. He died in 2004.

J. Watson's subsequent career eventually took him to the Biology Department at Harvard University, where he was focused on RNA and its role in the transfer of genetic information. In 1968, he took over the directorship of the Cold Spring Harbor Laboratory of Quantitative Biology on Long Island, New York. From 1988 to 1992 he headed the National Center for Human Genome Research at the National Institutes of Health. Afterward he returned to the Cold Spring Harbor Laboratory. J. Watson retired in 2007.

To raise money, DNA pioneer sold his Nobel Prize medal at Christie's in 2014. He became the first living Nobel Prize recipient to sell his medal. J. Watson intended to donate some money to Cold Spring and to University College Cork in Ireland [53]. A Russian billionaire A. Usmanov bought the medal and returned it to J. Watson commenting on the situation: «In my opinion, a situation in which an outstanding scientist has to sell a medal recognizing his achievements is unacceptable... Dr. Watson's work contributed to cancer research, the illness from which my father died. It is important for me that the money that I spent on this medal will go to supporting scientific research, and the medal will stay with the person who deserved it» [54].

J. Watson has won numerous awards, including Albert Lasker Award for Basic Medical Research (1960), Eli Lilly Award in Biological Chemistry (1960), Presidential Medal of Freedom (1977), European Molecular Biology Organization Membership (1985), Golden Plate Award of the American Academy of Achievements (1986), Copley Medal of the Royal Society (1993), Lomonosov Gold Medal (1994), National Medal of Science (1997), Liberty Medal (2000), Benjamin Franklin Medal for Distinguished Achievement in the Sciences (2001), Honorary Knight Commander of the Order of the British Empire (2002), Gairdner Foundation International Award (2002), Lotos Club Medal of Merit (2004), Honorary Member of Royal Irish Academy (2005), Othmer Gold Medal (2005), CSHL Double Helix Medal Honoree (2008), etc. In 2003, J. Watson became one of 22 Nobel Prize winners to sign the Humanist Manifesto [55].

F. Crick continued working at the Cavendish. In 1958, he substantiated his Sequence Hypothesis in «On Protein Synthesis» [56]. He proposed that any specific sequence of A-T-C-G bases in DNA is a code for building a specific amino acid sequence in a protein. He predicted the discovery of an adaptor that carries information from DNA to protein — transfer RNA [39].

In 1960, F. Crick accepted an honorary fellowship at Churchill College, Cambridge. During his tenure, he made fundamental contributions to unlocking the genetic code. Together with S. Brenner, they demonstrated that each group of three adjacent bases on a single DNA strand codes for one specific amino acid [57]. After many years at Cambridge, F. Crick joined the Salk Institute for Biological Studies in California, where he conducted research on the neurological basis of consciousness — the other great mystery that had intrigued him along with the mystery of life. He died age 88 in 2004.

F. Crick received many medals and honors, including The Royal Society Fellowship (1959), as well as the International Academy of Humanism and CSICOP Fellowship, European Molecular Biology Organization Membership (1964), the Royal and Copley Medals of the Royal Society (1972, 1975), the Order of Merit (1991), the Benjamin Franklin Medal for Distinguished Achievement in the Sciences of the American Philosophical Society (2001). He was the author of «Of Molecules and Men» [58], «Life Itself: Its Origin and Nature» [59], «What Mad Pursuit: A Personal View of Scientific Discovery» [60], «The Astonishing Hypothesis: Scientific Search for the Soul» [61].

Nowadays, our understanding of biology and medicine is based on the knowledge of the structure of DNA as a carrier of genetic information. This knowledge provides us with the opportunity to intervene efficiently in the processes and phenomena of life at all its levels [62]. However, Knowledge is a double-edged sword. Today more than ever, the responsibility and ethics of scientists, politicians, and world leaders, whose hands this Knowledge is in will come to the forefront. The Future of mankind all over the world depends on whether this Knowledge of the Book of Life is used for good or evil.

СТОЯЧИ НА ПЛЕЧАХ ГІГАНТІВ: ДЖЕЙМС ВОТСОН, ФРЕНСІС КРІК, МОРІС ВІЛКІНС, РОЗАЛІНД ФРАНКЛІН І НАРОДЖЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ

Нобелівська премія з фізіології або медицини, 1962

Т.В. Данилова, С.В. Комісаренко

У XX ст. молекула ДНК стала тим особливим магнітом, який привертав увагу представників різних наук. Відомі дослідники змагалися між собою, аби встановити структуру ДНК та пояснити механізми, які можуть визначати спадковість людства, а відтак — і «вроджену долю». Серед них були американський хімік і біохімік Лайнус Полінг, британський фізик і молекулярний біолог Моріс Вілкінс, британський хімік, біофізик і кристалограф Розалінд Франклін, американський генетик, молекулярний біолог і зоолог Джеймс Вотсон, британський фізик, молекулярний біолог і нейробіолог Френсіс Крік. Вони шукали наукове пояснення загадки життя, яка криється в ДНК. Точний опис подвійної спіральної структури ДНК належить Джеймсу Вотсону та Френсісу Кріку, хоча відсутні фрагменти цієї головоломки були ними «запозичені» у Розалінд Франклін, яка, на жаль, не отримала належного визнання за цю свою наукову роботу. На відміну від неї, Френсіса Кріка, Джеймса Вотсона та Моріса Вілкінса удостоїли Нобелівської премії з фізіології або медицини за 1962 р. «за відкриття щодо молекулярної структури нуклеїнових кислот та їх значення для передачі інформації в живому матеріалі». Але якою б не була історія ДНК, вона свідчить про те, що всі визначні наукові відкриття виникають не на порожньому місці: велика кількість людей сприяє розвитку науки, і буквально кожен дослідник стоїть на плечах «гігантів»-попередників, а сама ідея «витає в повітрі». Що ж до розшифрування структури ДНК у 1953 р., можна стверджувати, що вона стала одним з поворотних моментів у історії біології. Це фундаментальне відкриття змінило та надало людському життю багато нових аспектів. Воно поклало початок стрімкому розвитку генетики та молекулярної біології, який триває й нині, а подвійна спіраль ДНК стала символом науки про життя.

Ключові слова: *ДНК, подвійна спіраль ДНК, Джеймс Вотсон, Френсіс Крік, Розалінд Франклін, Моріс Вілкінс, Нобелівська премія з фізіології або медицини 1962 р.*

REFERENCES

1. Danylova T.V., Salata G.V. The Ecological Imperative and Human Nature: A New Perspective on Ecological Education. *Interdisciplinary Studies of Complex Systems.* 2018. Vol. 12. P. 17—24.

2. Dahm R. Friedrich Miescher and the Discovery of DNA. *Developmental Biology.* 2005. Vol. 278, N 2. P. 274—288. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.11.028

3. Paweletz N. Walther Flemming: pioneer of mitosis research. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology.* 2001. Vol. 2. P. 72—75.

4. Gribbin J. The Scientists: A History of Science Told Through the Lives of Its Greatest Inventors. Random House Trade Paperbacks, 2004. 646 p.

5. Aldridge S. The DNA story. Chemistry World. Royal Society of Chemistry. 2003. Regime of access: https://www.chemistryworld.com/news/the-dna-story/3003946.article.

6. Navarro S. Molecular Biology Gene to Proteins. ED-TECH Press, 2018. 308 p.

7. Timoféeff-Ressovsky N.W., Zimmer K.G., Delbrück M. Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. *Nachrichten von der Gesellschaft der Wissenschaften zu Göttingen*. Berlin: Wiedmannsche Buchhandlung, 1935. Vol. 1, N 13. P. 189—245.

8. Avery O.T., Macleod C.M., McCarty M. Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types. Induction of Transformation by a Deoxyribonucleic Acid Fraction Isolated from Pneumococcus Type III. *Journal of Experimental Medicine.* 1944. Vol. 79, N 2. P. 137—158.

9. Danylova T., Komisarenko S. Nobel Prize Winner Erwin Schrцdinger: The Physicist, Philosopher, and Godfather of Molecular Biology and Genetics (75 years of his book «What Is Life? The Physical Aspect of the Living Cell»). *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 3. P. 14—23.

10. Schrödinger E. What is Life? The Physical Aspect of the Living Cell. Cambridge University Press, 1967. 184 + viii p.

11. Erwin Chargaff. National Medal of Science. Biological Sciences. National Science & Technology Medals Foundation. Regime of access: https://www.nationalmedals.org/laureates/erwin-chargaff.

12. Hall K. Watson and Crick took all the glory, but there's a forgotten hero of the double helix. The Conversation. 2014. Regime of access: https://theconversation.com/watson-and-crick-took-all-the-glory-but-theres-a-forgotten-hero-of-the-double-helix-28536.

13. Hall K. The Man in the Monkeynut Coat. OUP Oxford, 2014. 256 p.

14. Hall K. William Astbury: Forgotten hero of DNA's discovery. The Guardian. 2015. Regime of access: https://www.theguardian.com/science/2015/sep/17/william-astbury-forgotten-hero-of-dnas-discovery.

15. Leeds honours DNA pioneer William Astbury. BBC. 2010. Regime of access: http://news.bbc.co.uk/local/leeds/hi/people_and_places/newsid_9228000/9228394.stm.

16. Данилова В.М., Виноградова Р.П., Комісаренко С.В. Внесок лауреатів Нобелівської премії в дослідження структури протеїнів: Дж. Самнер, Дж. Нортроп, У. Стенлі, Л. Полінг, Ф. Сенгер, М. Перуц, Дж. Кендрю. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 127—153.

17. The Nobel Prize in Chemistry 1954. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1954/summary/

18. Linus Pauling. Facts. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/peace/1962/pauling/facts/

19. Linus Pauling. Biographical. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1954/pauling/biographical/

20. James D. Watson. Biologist, Geneticist, Zoologist (1928). Biography. 2019. Regime of access: https://www.biography.com/scientist/james-d-watson.

21. Watson J. The Double Helix: A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA. Touchstone, 2001. 83 p. sites.bu.edu › files › 2017/09.

22. The James Watson papers. Wellcome Library. Regime of access: https://wellcomelibrary.org/collections/digital-collections/makers-of-modern-genetics/digitised-archives/james-watson/

23. James D. Watson. Biologist, Geneticist, Zoologist (1928). Biography. 2019. Regime of access: https://www.biography.com/scientist/james-d-watson.

24. Francis Crick. Biologist, Physiologist (1916—2004). Biography. Regime of access: https://www.biography.com/scientist/francis-crick.

25. Francis Crick. Biographical. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1962/crick/biographical/

26. Portrait of Francis Crick. 1955. Linus Pauling and the race for DNA. Regime of access: http://scarc.library.oregonstate.edu/coll/pauling/dna/pictures/portrait-crick.html.

27. About Dr. Francis Crick. The Francis Crick Institute. Regime of access: https://www.crick.ac.uk/about-us/our-history/about-dr-francis-crick.

28. Gallery 19: James Watson and Francis Crick. DNA Learning Center. Regime of access: https://dnalc.cshl.edu/view/16427-Gallery-19-James-Watson-and-Francis-Crick.html.

29. Genetics and Genomics Timeline. Genome News Network. Regime of access: http://www.genomenewsnetwork.org/resources/timeline/1953_Crick_Watson.php.

30. Maurice Wilkins. Biographical. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1962/wilkins/biographical/

31. Maurice Wilkins: why pursue «boring, confirmatory» X-Ray studies of RNA? Voices of Science. British Library. Regime of access: https://www.bl.uk/voices-of-science/interviewees/maurice-wilkins/audio/maurice-wilkins-why-pursue-boring-confirmatory-xray-studies-of-rna.

32. Rosalind Franklin (1920—1958). Biography. Regime of access: https://www.biography.com/scientist/rosalind-franklin.

33. Rosalind Franklin. British Scientist. Encyclopaedia Britannica. Regime of access: https://www.britannica.com/biography/Rosalind-Franklin.

34. Roman Mikhail. The story of Rosalind Franklin, who helped discover structure of DNA. Historical Snapshots. 2018. Regime of access: https://medium.com/a-moment-in-history/the-story-of-rosalind-franklin-who-helped-discover-structure-of-dna-3bc67ac3a20c.

35. Франк-Каменецкий М. Открытие структуры ДНК. Постнаука. 2015. Regime of access: https://postnauka.ru/video/42611.

36. Photo 51. Wikipedia. Regime of access: https://en.wikipedia.org/wiki/Photo_51.

37. Tobin M.J. April 25, 1953: three papers, three lessons. *Amtrican Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2003. Vol. 167, N 8. P. 1047-9. Regime of access: https://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/rccm.2302011?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed.

38. Cobb M. Sexism in science: did Watson and Crick really steal Rosalind Franklin's data? The Guardian. 2015. Regime of access: https://www.theguardian.com/science/2015/jun/23/sexism-in-science-did-watson-and-crick-really-steal-rosalind-franklins-data.

39. Francis Crick. Famous Scientists. The Art of Genius. Regime of access: https://www.famousscientists.org/francis-crick/?__cf_chl_captcha_tk__=b911d025383edac797b51d2a3c37badfc6ca76b8-1587501329-0.

40. Watson and Crick discover chemical structure of DNA. February 28. This Day in History. 2020. Regime of access: https://www.history.com/this-day-in-history/watson-and-crick-discover-chemical-structure-of-dna.

41. Watson J.D., Crick F.H. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953. Vol. 171. P. 737—738.

42. Watson & Crick. BioNinja. Regime of access: https://ib.bioninja.com.au/standard-level/topic-2-molecular-biology/26-structure-of-dna-and-rna/watson--crick.html.

43. Franklin R.E., Gosling R.G. Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature*. 1953. Vol. 171. P. 740—741.

44. Wilkins M.H.F., Stokes A.R., Wilson H.R. Molecular structure of deoxypentose nucleic acids. *Nature*. 1953. Vol. 171. P. 738—740.

45. Rosalind Franklin tomb. Himetop. The History of Medicine Topographical Database. Regime of access: http://himetop.wikidot.com/rosalind-franklin-tomb.

46. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1962/summary/

47. Award ceremony speech. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1962/ceremony-speech/

48. Starkey N. Would Rosalind Franklin have won a Nobel for her work on viruses? The Guardian. 2013. Regime of access: https://www.theguardian.com/science/blog/2013/jul/25/rosalind-franklin-nobel-viruses-google-doodle.

49. Benderly B.L. Rosalind Franklin and the damage of gender harassment. Science. 2018. Regime of access: https://www.sciencemag.org/careers/2018/08/rosalind-franklin-and-damage-gender-harassment#

50. Wilkins M.H.F. The molecular configuration of nucleic acids. Nobel lecture, December 11, 1962. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1962/wilkins/lecture/

51. Fuller W. Professor Maurice Wilkins. The Independent. 2004. Regime of access: https://www.independent.co.uk/news/obituaries/professor-maurice-wilkins-27635.html.

52. Wilkins M. The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins. Oxford University press, 2003. 288 p.

53. Borrell B. Watson's Nobel medal sells for US$4.1 million. Nature. 2014. Regime of access: https://www.nature.com/news/watson-s-nobel-medal-sells-for-us-4-1-million-1.16500.

54. Chappell B. After $4.75 Million Auction, Watson Will Get Nobel Medal Back. npr news. 2014. Regime of access: https://www.npr.org/sections/thetwo-way/2014/12/09/369690594/after-4-75-million-auction-watson-will-get-nobel-medal-back.

55. Humanism and its Aspirations. American Humanist Association. Regime of access: https://web.archive.org/web/20121005105825/http://www.americanhumanist.org/Humanism/Humanist_Manifesto_III/Notable_Signers#Nobel.

56. Crick F.H. On protein synthesis. Symp. Soc. Exp. Biol. 1958. Vol. 12. P. 138—163.

57. James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, and Rosalind Franklin. Science History Institute. Regime of access: https://www.sciencehistory.org/historical-profile/james-watson-francis-crick-maurice-wilkins-and-rosalind-franklin.

58. Crick F. Of Molecules and Men. Prometheus, 2004. 115 p.

59. Crick F. Life Itself: Its Origin and Nature. Touchstone, Simon & Schuster, 1982. 192 p.

60. Crick F. What Mad Pursuit: A Personal View of Scientific Discovery. Basic Books, 1990. 206 p.

61. Crick F. The Astonishing Hypothesis: Scientific Search for the Soul. Touchstone, 1995. 384 p.

62. Danylova T.V. Eastern Mysticism and Timothy Leary: Human Beyond. The Conventional Reality. *Anthropological Measurements of Philosophical Research*. 2017. Vol. 11. P. 135—142. doi 10.15802/ampr.v0i11.105498

ВІДКРИТТЯ ГЕНЕТИЧНОГО КОНТРОЛЮ СИНТЕЗУ ЕНЗИМІВ І ВІРУСІВ

Нобелівська премія з фізіології або медицини, 1965

О.П. Матишевська, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

Єдиним теоретичним продовженням відкриття Вотсона і Кріка стала здогадка Жакоба і Моно про інформаційну РНК та оперон. Правильність обох припущень підтверджено.

Г. Стент, професор молекулярної біології
Каліфорнійського університету

Середина XX ст. ознаменувалась низкою визначних подій у галузі молекулярної біології. Достатньо пригадати дійсно революційне відкриття подвійної спіралі ДНК, що могла самовідтворюватись і у такий спосіб здійснювати основну життєву функцію, виділення ензимів синтезу ДНК та синтезування ДНК поза клітиною тощо. Проте питання про регуляцію процесу передачі інформації від ДНК до протеїнів залишалося відкритим. Розроблена трьома французькими вченими (Андре Львов, Франсуа Жакоб і Жак Моно; Нобелівська премія, 1965) концепція про механізм регуляції активності генів прокаріот визнана одним із блискучих досягнень молекулярної біології, яке стало логічним розвитком досліджень, здійснених генетиками та біохіміками в попередні десятиріччя. Сутність відкриття Львова, Жакоба і Моно — це ідентифікація двох принципово відмінних груп генів — структурних і функціональних — та з'ясування внеску цих груп генів у процес передачі спадкової інформації, про що йдеться нижче.

Ключові слова: *Андре Львов, Франсуа Жакоб, Жак Моно, структурні та функціональні гени, спадкова інформація, молекулярна біологія.*

Середина XX ст. ознаменувалась низкою визначних подій у галузі молекулярної біології, що передували дослідженням *Андре Львова*, *Франсуа Жакоба* та *Жака Моно*. Це були дійсно революційні відкриття: *Вотсон* і *Крік* уперше віднайшли структуру ДНК [1, 2], що могла самовідтворюватись і у такий спосіб здійснювати основну життєву функцію, а *Корнберг* виділив ензими синтезу ДНК та вперше синтезував ДНК поза клітиною [3]. Проте питання про регуляцію процесу передачі інформації від ДНК до протеїнів залишалося відкритим. Розроблена трьома французькими вченими концепція про механізм регуляції активності генів прокаріот визнана одним із блискучих досягнень молекулярної біології, яке стало логічним розвитком досліджень, здійснених генетиками і біохіміками в попередні десятиріччя.

Коли член Нобелівського комітету з фізіології та медицини *Свен Гард* представляв лауреатів премії 1965 р. [4], то вказав на цікаву деталь: один з лауреатів уособлював *мікробіологію* (А. Львов), другий — *клітинну біологію* (Ф. Жакоб), а третій — *біохімію* (Ж. Моно). Лише за плідного поєднання зусиль представників різних біологічних напрямів вдалося відповісти на важливе питання, яке впродовж багатьох років залишалось невирішеним — як клітини, що мають однаковий набір генів, «вмикають» їх по-різному. Якщо коротко охарактеризувати сутність відкриття Львова, Жакоба та Моно, то це ідентифікація двох принципово відмінних груп генів — *структурних* і *функціональних* та з'ясування внеску цих груп генів у процес передачі спадкової інформації.

Нижче коротко наведено біографічні дані про творчу діяльність кожного з цих трьох непересічних особистостей, яких доля звела під один дах знаменитого Інституту Пастера в Парижі.

Андре Львов (1902—1994)

Андре Мішель Львов (франц. *André Michel Lwoff*) народився 8 травня 1902 р. у селищі Ене-ле-Шато (департамент Ал'є, Франція) в інтелігентній єврейській родині російського походження [5]. Його дідусь і бабуся з материнського боку були засновниками системи дошкільного виховання в Росії. Можна стверджувати, що зовнішність його матері, скульптора *Марії Львової* (*Марії Симонович*), набагато знайоміша, ніж зовнішність самого Андре Львова, адже саме Марію зобразив її двоюрідний брат, художник *Валентин Сєров* на відомій картині «*Дівчина, освітлена сонцем*». Батько вченого, *Соломон Львов*, був народовольцем, а після еміграції до Франції працював психіатром та був головним лікарем психіатричної лікарні під Парижем. Він часто брав юного Андре зі собою на вранішні огляди хворих, бо хотів, щоб той присвятив себе практичній медицині. Проте син більше цікавився фундаментальною мікробіологією, особливо після того, як друг його батька Ілля Мечников показав йому вигляд під мікроскопом тифозної палички *Salmonella typhi*. У 17 років Андре вступив до Сорбонни, обравши медико-біологічний напрям, а вже в 19 років став асистентом видатного мікробіолога Едуарда Шатона (франц. *Edouard Chatton*) в Інституті Пастера. Їхня спільна робота (і дружба) триватиме 17 років до самої смерті Шатона (1940) [6].

У 1927 р. Львов отримав медичний ступінь у Паризькому університеті, а в 1929 р. його призначили завідувачем лабораторії Інституту Пастера. У 1932 р. він отримав ступінь доктора філософії в Паризькому університеті. Перші дослідження стосувались морфогенезу та циклу розвитку паразитичних інфузорій і живлення найпростіших одноклітинних організмів. Завдяки гранту від Рокфеллерівського фонду (який отримували багато майбутніх нобелівських лауреатів того часу) Львов зміг упродовж 1933-го року проводити дослідження в лабораторії нобелівського лауреата *Отто Мейергофа* [7] в Інституті медичних досліджень у Гейдельберзі. У 1936 р. за іншим грантом того самого фонду він працював у лабораторії *Девіда Кейліна* в Кембриджі.

Після повернення в Париж в 1938 р. Львов був завідувачем відділу фізіології мікроорганізмів у Інституті Пастера; того самого року він став деканом факультету. Спочатку вчений займався чистою мікробіологією, зокрема виявив характерні особливості невірно класифікованого раніше роду бактерій та назвав його *Moraxella*. Один із видів бактерій цього роду названо на його честь — *Moraxella lwoffi*.

Попереду була плідна співпраця в стінах Пастерівського інституту з *Жаком Моно* і *Франсуа Жакобом* та видатні відкриття в новому напрямі біологічних досліджень — *молекулярній генетиці мікроорганізмів*.

Жак Люсьєн Моно́ (франц. *Jacques Lucien Monod*) народився 9 лютого 1910 р. у Парижі. Його батько, *Люсьєн Моно*, був відомим художником, гравером, що було незвичним покликанням для родини гугенотів, в якій переважали лікарі, служителі Церкви та державні службовці. Батько вважався знавцем мистецтва, інтелектуалом та надзвичайно ерудованою людиною, читав Дарвіна та був його шанувальником, що вплинуло на зацікавлення Жака біологією. Його матір, *Шарлотта Тодд* (*Мак Грегор*), була американкою шотландського походження, що знову було дещо незвично, враховуючи французьку буржуазну традицію наприкінці XIX ст. [8].

Жак Моно́ (1910—1976)

У 1917 р. сім'я переїхала на південь Франції, де Жак провів більшу частину життя, через що називав себе «провінціалом». Після закінчення навчання в Канському ліцеї у 1928 р. він вступив до університету Сорбонни на факультет природничих наук. Серед тих, хто допоміг йому у виборі правильного наукового напряму та прищепив любов до мікробіології й генетики, був викладач мікробіології Андре Львов, який стане його другом і колегою [8].

Жак Моно починає працювати в Інституті Пастера з 1936 р., коли звільнилась посада директора лабораторії на факультеті, який очолював Андре Львов. Тут він проводить експерименти з *E. coli*. На початку 1940 р. йому вдається виявити дивний і цікавий феномен: бактерія *E. coli* була здатна використовувати для живлення два різні вуглеводи, проте криві динаміки росту колоній бактерії виявились різними залежно від того, який з вуглеводів додавали до поживного середовища.

Андре Львов припустив, що його учневі вдалося відкрити важливий механізм адаптації: бактерія може синтезувати обидва ензими, необхідні для розщеплення обох вуглеводів як субстратів живлення; але якщо в середовищі наявний лише один із вуглеводів, то синтезується ензим саме його перетворення, а синтез ензиму перетворення іншого вуглеводу пригнічується, якщо ж у середовищі з'являється другий вуглевод, то все відбувається навпаки.

Під час Другої світової війни Андре Львов був єдиним з трьох майбутніх нобелівських лауреатів, хто не брав участі у військових діях, а продовжував працювати в Інституті Пастера і в 40-х роках XX ст. Проте дослідження Жака Моно з початком війни були перервані. Під час окупації Франції Німеччиною Моно брав активну участь у русі Опору. Його заарештувало гестапо, але він спромігся втекти. Вченому було заради чого жити, адже йому не терпілося продовжити розпочаті до війни дослідження і на нього чекала дружина, *Одетт Брюль*, майбутня кураторка Музею Гіме (франц. *Musée Guimet*) у Парижі [8].

Після закінчення війни Моно розшукав свою сім'ю і повернувся до роботи в Інституті Пастера і до відкритого ним раніше феномену. Логічними видавалися два припущення: ензим, що перетворює один із вуглеводів, є пригніченим, але у разі усунення цього пригнічення ензим активується; або ж пригнічується ген, що кодує потрібний ензим, а у разі усунення пригнічення цього гена розпочинається синтез ензиму. Стало зрозумілим, що вирішення цієї проблеми потребує генетичних підходів та обрання *перспективних об'єктів досліджень* [9].

Наприкінці 40-х років XX ст. Андре Львов зосередився на дослідженні генетики бактерій і вірусів. На той час перше покоління вірусологів вже встановило життєвий цикл бактеріофагів — вірусних частинок, що складаються з власної внутрішньої ДНК та зовнішньої протеїнової оболонки. Бактеріофаг проникає у бактеріальну клітину, а після латентної фази розмножується та спричиняє загибель бактеріальної клітини через її лізис. Бактерії, вражені бактеріофагом, назвали *лізогенними*, а процес руйнування клітини — *лізогенією* [10]. Львов розпочав вивчення лізогенних бактерій та процесу лізогенії. Він прослідкував за діленням однієї лізогенної бактерії упродовж 19 поколінь і продемонстрував, що фактор лізогенності успадковується. Вчений встановив, що бактеріофаг вбудовує свій генетичний матеріал у геном бактерії і в такий спосіб розмножується разом з бактеріальною клітиною, перебуваючи в неактивному стані. Львов виявив відмінності між частинками інфекційних та неінфекційних бактеріофагів і для позначення останніх увів термін *профаг* (сьогодні відомо, що *стадію профага має вірус імунодефіциту людини*).

Результати досліджень А. Львова довели, що бактерії та віруси можуть бути корисними об'єктами для дослідження механізмів генетичної регуляції.

Із 1950 р. в Інституті Пастера починає працювати Франсуа Жакоб як учень Андре Львова. Результати дослідження лізогенних бактерій та профагів стали базою його докторської дисертації, яку він захистив у Паризькому університеті в 1954 р.

У 1953 р. Жак Моно став керівником відділу клітинної біології в Інституті Пастера. Разом із новим колаборатором Ф. Жакобом він розпочинає вивчення генетичних механізмів у бактерій, Френсіс Крік (той самий) [1, 2] назвав спільні дослідження цих вчених «*великим співробітництвом*».

Франсуа Жакоб (франц. *François Jacob*) народився 17 червня 1920 р. у Нансі (Франція) в єврейській родині. Його батько, *Сімон Жакоб*, займався торгівлею, мати, *Тереза* (Форанк), — домогосподарством, а ось дід по материнській лінії був першим євреєм-генералом у французькій армії. У віці семи років Франсуа вступив до ліцею Карно. Він був обдарованим учнем, цікавився фізикою та математикою, проте після закінчення ліцею обрав медичну галузь і вступив до університету Сорбонни в Парижі на медичний факультет з наміром стати хірургом. Початок Другої світової війни перервав його навчання. У 1940 р. Жакоб залишає Париж та приєднується до очолюваного Шарлем де Голлем антифашистського визвольного руху «Вільна Франція». Згодом він долучається до військових дій: спочатку в Північній Африці у військах де Голля як офіцер санітарного загону, а потім у Нормандії в складі танкової дивізії Сполучених Штатів. У 1944 р. під час висадки військ союзників у Нормандії Жакоба було

Франсуа Жакоб (1920—2013)

декілька разів тяжко поранено. Про кар'єру хірурга довелось забути, спроби знайти в післявоєнний час роботу на різних посадах у медичній сфері його не задовольнили. Свій настрій у цей тяжкий для нього період Жакоб передав у написаному автопортреті [11].

У 1947 р. Жакоб закінчив навчання у Паризькому університеті. Він вирішує присвятити себе біологічній науці і з 1950 р. починає працювати в Інституті Пастера.

Франсуа Жакоб, згадуючи початок роботи під керівництвом Андре Львова в Інституті Пастера, свою нобелівську лекцію розпочав такими словами: «*Якщо я знаходжусь сьогодні тут, поділяючи з Андре Львовим і Жаком Моно цю велику честь, то це тому, що ... мені пощастило прибути в потрібне місце в потрібний час. У потрібне місце, бо там, на горищах Інституту Пастера, в атмосфері ентузіазму, нонконформізму і дружби зароджувалась нова дисципліна. У потрібний час, оскільки тоді біологія вирувала активністю, змінювала образ мислення, відкривала в мікроорганізмах новий і простий матеріал та поєднувалась із фізикою та хімією...*». [12].

50—60-ті роки XX ст. ці вчені присвятили *вивченню генетичних механізмів регуляції метаболічних перетворень у бактерій*. Саме Моно та Жакоб зуміли передбачити та довести існування *інформаційних* (як говорили раніше), або *матричних* (як говорять тепер) РНК, що переносять інформацію від ДНК на *рибосоми*.

Вже в 1940-х було з'ясовано, що, хоча носіями спадкової інформації є гени, які містяться в ДНК, активний синтез протеїнів відбувається не там, де багато ДНК, а там, де багато РНК. З огляду це було зроблено *припущення, що РНК — це посередник, який поєднує ДНК та синтез протеїну*. Проте більша частина РНК у клітині припадає на рибосомну РНК, нуклеотидний склад якої не є тотожним такому в ДНК, тому рибосомна РНК не підходить на роль матриці для синтезу закодованих у ДНК протеїнів. У 1955 р. вчені Е. Волкін і Л. Астрахан, про що йдеться в праці Джеймса Вотсона [13], показали, що в зараженій фагом бактеріальній клітині починається синтез нової РНК, нуклеотидний склад якої є тотожним складу фагової ДНК. Вміст такої РНК є низьким і вона швидко розпадається. Припускалося, що саме ця РНК слугує матрицею для синтезу протеїнів, проте доказів цього бракувало. Слід було відокремити цю недовговічну РНК та перевірити, чи кодує вона протеїни і які саме — бактеріальні чи фагові. У 1961 р. це незалежно зробили Франсуа Жакоб та ще декілька груп дослідників. Як і очікувалось, ця РНК кодувала протеїни бактеріофага, працюючи на рибосомах, які бактерія мала до зараження. Після цього і з'явився термін «*інформаційна*» РНК, а уявлення про її роль у біосинтезі протеїнів остаточно затвердилось у науці.

Революційним відкриттям Львова, Жакоба і Моно було виявлення у структурі ДНК двох різновидів генів — *структурних* і *регуляторних* (функціональних).

Структурні гени відповідають за передачу генетичної інформації та керують синтезом протеїнів, а регуляторні гени взаємодіють зі структурними та регулюють перебіг біохімічних процесів у клітині.

Автопортрет Ф. Жакоба (можливий альтернативний варіант життя після отриманих ним на війні поранень)

Вчені встановили, що в складі вбудованого в ДНК бактерії генетичного матеріалу бактеріофага містяться як структурні, так і регуляторні гени, які сприймаються бактерією як власні. На неінфекційній стадії (стадії профага) структурні гени вірусу, що відповідають за його розмноження (реплікацію), пригнічені регуляторним геном. Львову вдалося вперше продемонструвати, що ультрафіолетове випромінювання може спричиняти активацію структурного гена, відповідального за реплікацію вірусу, що й призводить до його розмноження та до руйнування бактеріальної клітини. Це відкриття уможливило використання явища *лізогенії* в молекулярному аналізі та було окремо відзначено Нобелівським комітетом під час нагородження Андре Львова премією [14].

1961-й рік увійшов в історію не лише як рік початку космічної ери. Він ознаменувався також подією, яка наблизила людство до вирішення найважливішого біологічного питання — про *механізм синтезу протеїнів*. Саме того року *Франсуа Жакоб і Жак Моно висунули гіпотезу, яка ґрунтувалась на перенесенні генетичної інформації за участю інформаційної РНК та зрештою дала відповідь на питання про те, як у бактеріальній клітині здійснюється генетична регуляція синтезу протеїнів* [15].

Вчені здійснили дуже красиве фундаментальне дослідження, яке пояснювало, як саме в бактеріальній клітині кишкової палички *E. coli* вмикається (і вимикається) синтез ензимів у разі появи в живильному середовищі нового харчового субстрату. Ця бактерія добре росла на середовищі, що містило глюкозу, проте могла рости і на середовищі, що містило дисахарид — лактозу. В останньому випадку бактерія починала синтезувати декілька нових ензимів, зокрема β-галактозидазу, яка розщеплювала лактозу на глюкозу та галактозу, а також ензими, що перетворювали галактозу на глюкозу, яка легко засвоювалась. Вчені використали бактеріальні клітини зі сконцентрованими в різних ділянках кільцевої бактеріальної ДНК мутаціями, що порушували утилізацію лактози. Завдяки цим експериментам Жакоб і Моно вперше продемонстрували індукцію структурних генів, що кодують ензими, необхідні для перетворення лактози в бактеріальній клітині та ввели в генетику нові поняття: *оперон*, *ген-оператор*, *ген-регулятор* [15].

Нижче наведено розшифровану Жакобом і Моно схему бактеріального *лактозного оперона* (*lac-оперона*) як приклад оперонної організації геному прокаріотів.

До складу *оперона* входять група *структурних генів* і *регуляторні елементи*. *Структурні гени* тісно зчеплені один з одним, на них синтезується одна спільна молекула мРНК, яка потім розщеплюється на кілька мРНК, що відповіда-

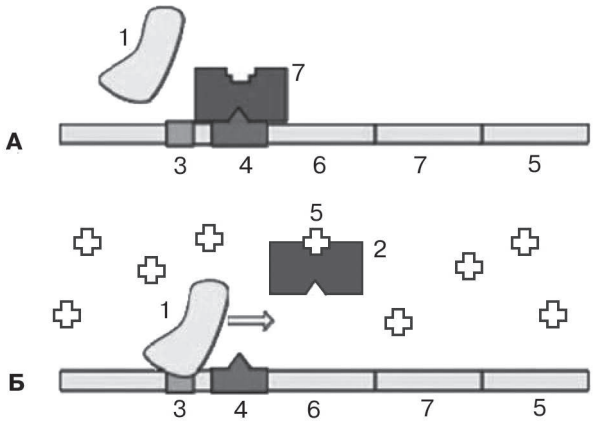


Схема організації лактозного оперона: 1 — РНК-полімераза; 2 — протеїн-репресор; 3 — промотор; 4 — оператор; 5 — лактоза (ефектор); 6, 7, 8 — три структурні гени, що кодують ензими катаболізму лактози. А — мРНК не синтезується; Б — лактоза взаємодіє з репресором, промотор стає доступним, тому РНК-полімераза синтезує мРНК [15]

ють окремим генам. У разі з лактозним опероном структурні гени відповідають за синтез ензимів катаболізму лактози. *Регуляторними елементами* (не плутати з геном-регулятором) оперона є: *промотор* — ділянка зв'язування РНК-полімерази; оператор — ділянка зв'язування регуляторного протеїну, *термінатор* — ділянка в кінці оперона, що сигналізує про припинення транскрипції. Транскрипція структурних генів у складі оперона йде зі спільного промотору і регулюється одним геном-оператором.

Поруч з опероном або на відстані від нього розташовується самостійний *ген-регулято*р. Цей ген відповідає за синтез регуляторних протеїнів, що бувають двох типів — *репресори* та *активатори*. Протеїн-репресор має два центри зв'язування — один для оператора, інший для *індуктора* (*ефектора*). Приєднуючись до оператора, протеїн-репресор перешкоджає зв'язуванню РНК-полімерази та транскрипції структурних генів. У цьому разі ензими катаболізму лактози не синтезуються. На роботу протеїна-репресора може впливати індуктор, роль якого у разі функціонування лактозного оперона виконує лактоза. Якщо в середовище замість глюкози додати лактозу, то відбувається її зв'язування з репресором, структурний стан репресора змінюється і він втрачає здатність взаємодіяти з оператором. При цьому РНК-полімераза може зв'язатись із промотором і, як наслідок, розпочинається транскрипція структурних генів, що кодують синтез ензимів, необхідних для перетворення лактози. Отже, якщо в середовищі вирощування *E. coli* одночасно присутні глюкоза та лактоза, то першою буде використана глюкоза. Транскрипція генів лактозного оперона почнеться тоді, коли вміст глюкози в середовищі вичерпається і голодна бактерія знайде як поживну сполуку лактозу, що буде перетворюватись ензимами, закодованими в генах лактозного оперона.

Саме за ці разом проведені роботи А. Львова, Ж. Моно і Ф. Жакоба удостоїли *Нобелівської премії з фізіології та медицини* за 1965 р. з формулюванням Нобелівського комітету «*за відкриття генетичного контролю синтезу ензимів та вірусів (for their discoveries concerning genetic control of enzyme and virus synthesis)*» [14].

До речі, А. Львов та його колеги з Пастерівського інституту були прибічниками *вірусної теорії канцерогенезу* — утворення ракових пухлин. Вони вважа-

ли, що вірусні частинки існують у людських клітинах у латентному стані (подібному до неактивної стадії профага в бактеріальних клітинах), а різноманітні чинники можуть виконувати роль індукторів активації їх канцерогенних властивостей.

На нобелівському банкеті Андре Львов вразив всіх своєю промовою [16]. Фактично це була не промова, а притча, що порівнює науку з вірою, вчених — з її адептами, а нобелівських лауреатів — з мучениками, принесеними в жертву славі. Й насправді, мало хто з учених-лауреатів у банкетній промові цитував Спінозу, Хрисіппа й Монтеня, а в самому кінці промови ще й приніс перед Його Величністю і «тінню Альфреда Нобеля» клятву Альбера Камю, який стояв на цьому самому місці вісім років тому, а в 1960 р. трагічно загинув в автокатастрофі.

А. Львов через три роки після отримання Нобелівської премії покинув Пастерівський інститут і з 1968 до 1972 р. був директором Національного інституту дослідження раку у Війжюіфе неподалік від Парижа. Із 1962 до 1971 р. він був президентом Міжнародної асоціації мікробіологів, а у 1970 р. — президентом Французького руху з планування сім'ї. Вченому було присуджено почесні ступені низки університетів: Чиказького, Оксфордського, Глазго, Лувені.

У 1979 р. померла дружина Андре Львова — *Маргерит Бурдале* (франц. *Marguerite Lwoff*), з якою він познайомився у Пастерівському інституті, одружився у 1925 р. і разом проводив дослідження.

Андре Львов прожив довге життя, перетнувши 92-річний рубіж. Він помер 30 вересня 1994 р. у Парижі. У біографічній статті про нього справедливо написали: «*Зник один з найвеличніших представників французької науки*» [17].

Жак Моно у 1954 р. став деканом факультету клітинної біохімії в Пастерівському інституті, у 1959 р. — професором хімії метаболізму в університеті Сорбонни. У 1967 р. він отримав посаду професора у Колеж де Франс. У 1971 р. Ж. Моно став директором Пастерівского інституту.

Ось два відгуки про нього від великих сучасників. «*Моно був чудовим експериментатором. Його бездоганна дедуктивна логіка забезпечувала строгість і точність висновків. Схильність до критичного аналізу ніколи не заважала роботі його уяви та оригінальності мислення*», — говорив Андре Львов [18].

«*Моно притягував своєю інтелігентністю, проникливістю та глибиною інтересів. Завжди мужній, він поєднував галантні манери й уїдливу мову з глибокими моральними принципами, які були домінантними серед тих понять, які він вважав фундаментальними*», — говорив Френсіс Крік [19].

Моно написав багато книг і статей, займався філософією науки. У 1970 р. вийшла його праця «*Le hasard et la nécessité*» («Випадковість і необхідність») [20], в якій він описав природу біохімічних процесів у клітині та висловив думку, що походження життя і процес еволюції є результатом випадковості.

Жак Моно цікавився усіма аспектами мистецтв і наук, його улюбленими розвагами були музика та вітрильний спорт.

У 1972 р. померла дружина Ж. Моно — *Одетта Моно-Бруль* (франц. *Odette Bruhl*), з якою він одружився у 1938 р. Вона була відомим археологом і сходознавцем з бездоганним смаком та привнесла до шлюбу з Моно культуру, що доповнювала його власну. У сім'ї народилось двоє синів-близнюків, Олів'є та

Філіп. Хоча батько не наполягав, щоб вони, як і він, стали людьми науки, обоє обрали саме такий шлях — один став геологом, другий — фізиком.

Моно прожив не дуже багато — усього 66 років; чотири останні роки він провів в очікуванні смерті від лейкемії. Його останніми словами були: «*Je cherche a comprendre...*» («*Я намагаюсь зрозуміти...* »). Це було тим, що він робив усе життя. Жак Моно помер у 1976 р. і похований на кладовищі Гран-Жас у Каннах на Лазурному узбережжі.

Франсуа Жакоб після отримання Нобелівської премії прожив найдовше з усієї трійці — майже півстоліття і встиг зробити дуже багато.

Починаючи з 1963 р., він зосередив увагу на генетичному аналізі механізмів клітинного ділення і разом з Сіднеєм Бренером висунув гіпотезу про «реплікон» як найменший, здатний до самовідтворення, генетичний елемент, що сприяло розумінню механізмів ділення в бактерій. У 1970 р. він перейшов від дослідження бактерій і бактеріофагів до вивчення генетичних властивостей клітин ссавців. У тому самому році він написав книгу «*La logique du vivant, une Histoire de l'Hŭrédité*» («Логіка живого, історія спадковості») [21], в якій простежив етапи дослідження живих організмів, починаючи з XVI ст. і до виникнення молекулярної біології.

З 1982 до 1988 р. Франсуа Жакоб був головою правління Інституту Пастера. Останні десятиліття свого життя вчений присвятив дослідженню ранньої стадії розвитку мишачого ембріона на моделі мишачої *тератокарциноми* та аналізу регуляторних механізмів розвитку і диференціації ембріона.

Майже до кінця життя Ф. Жакоб обіймав посаду канцлера Ордену Визволення — братства тих, хто боровся за свободу Франції. Серед його військових нагород — Великий Хрест ордена Почесного легіону, орден Визволення, Військовий хрест із пальмовою гілкою.

У 1992 р. вчений підписав знаменитий маніфест «*Попередження людству*», в якому йдеться про загрози життю на Землі та про необхідність змін у керуванні життям.

Франсуа Жакоб був одружений (з 1947) із піаністкою *Ліз Блох* (франц. *Lysiane Bloch*). У сім'ї було четверо дітей, з яких троє старших визначилися з професією — син П'єр став філософом, син Лорен — біологом, дочка Оділь — видавцем.

Ф. Жакоб був почесним доктором Чиказького університету, членом Данської королівської академії літератури і наук, Американської академії наук і мистецтв, Національної академії наук США, Лондонського та Бельгійського королівських товариств.

Жакоб — один із тих людей, яких нині вже майже немає — обпалених війною, загартованих допитливістю, відданих науці. Вчений помер 19 квітня 2013 р. у Парижі.

Насамкінець знову повернемось до церемонії вручення Нобелівської премії з фізіології та медицини за 1965 р. і знову процитуємо Свена Гарда, з якого й почалася наша розповідь: «*...Ми виправдано відчуваємо велике захоплення досягненнями в галузі електроніки, зокрема мініатюризацією з метою зменшення розмірів компонентів та зменшення маси і обсягу апаратури, які сприяли швидкому розвитку космічної науки. Однак ми повинні мати на увазі, що мільйони років*

тому природа удосконалила системи, які далеко перевершують все те, що винахідливий геній людини був здатний осягнути досі. Одна жива клітина розміром у кілька тисячних часток міліметра містить сотні тисяч хімічних контурів управління, точно узгоджених і функціонально безпомилкових. Навряд чи можна поліпшити мініатюризацію ще більше, адже ми маємо тут справу з рівнем, де компонентами є поодинокі молекули. Так у представленні лауреатів Нобелівський комітет визнав, що він нагороджує трьох видатних вчених не тільки за механізми регуляції активності генів і навіть не за відкриття механізмів самої трансляції інформації від гена до білка. Ця трійця фактично створила саму молекулярну біологію» [4].

THE DISCOVERY OF GENETIC CONTROL OF ENZYME AND VIRUS SYNTHESIS

The Nobel prize in physiology or medicine, 1965

O.P. Matyshevska, V.M. Danilova, S.V. Komisarenko

The middle of the 20th century was marked by a number of significant events in molecular biology, among which the groundbreaking discovery of the double helix of DNA, which could self-replicate and thus perform the main life function; the isolation of enzymes for DNA synthesis, and DNA synthesis outside the cell, to name but a few. However, the question of how the information transmission from DNA to proteins is regulated remained open. The concept of the mechanism of regulation of prokaryotic gene activity developed by three French scientists (Andrй Lwoff, François Jacob, Jacques Monod; Nobel Prize, 1965), which was a logical outcome of the research in genetics and biochemistry over the previous decades, is recognized to be one of the remarkable achievements in molecular biology. This article describes the essence of the discovery of Lwoff, Jacob and Mono that is the identification of two different groups of genes — structural and functional — and the role that these genes perform in the transmission of genetic information.

Keywords: *André Lwoff, François Jacob, Jacques Monod, structural and functional genes, genetic information, molecular biology.*

REFERENCES

1. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Standing on the shoulders of giants: James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin and the birth of molecular biology. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 154—165.

2. Matyshevska O.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. 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. Vol. 92, N 6. P. 183—198.

3. Matyshevska O.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. The discovery of the mechanisms of biological synthesis of nucleic acids: 1959 Nobel laureates S. Ochoa and A. Kornberg. *Ukr. Biochem. J.* 2021. Vol. 93, N 1. P. 129—138.

4. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1965/ceremony-speech/

5. André Lwoff. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki.

6. André Lwoff. Biographical. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1965/lwoff/biographical/

7. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of the Nobel Prize laureates to the development of dynamic biochemistry and bioenergetics. E. Buchner, A. Kossel,

R. Willstätter, O. Meyerhof, A. Hill, O. Warburg, A. Szent-Györgyi. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 1. P. 108—126.

8. Jacques Monod — Biographical. NobelPrize.org. Nobel Media AB 2021. Wed. 24 Feb. 2021. https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1965/monod/biographical/

9. Jacques Monod. Regime of access : https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1965/monod-lecture.pdf.

10. Lysogenia. Pharmaceutical encyclopedia. Regime of access : https://www.pharmencyclopedia.com.ua.

11. Jacob François. The statue within: an autobiography. Basic books, New York, 1988.

12. François Jacob. Regime of access : https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1965/jacob-lecture.pdf.

13. Watson J.D. RoLe of RNA in the synthesis of proteins. *Biofizika*. 1963. Vol. 8. P. 401—416. (In Russian).

14. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1965/summary/.

15. Jacob F., Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Journal of Molecular Biology*. 1961. Vol. 3, N 3. P. 318—356.

16. André Lwoff. Interaction among Virus, Cell, and Organism. Nobel Lecture, December 11, 1965.

17. Nobel laureates: André Lwoff. Regime of access : https://indicator.ru/biology/nobelevskie-laureaty-andre-lvov.htm.

18. Jacques Lucien Monod, 9 February 1910 — 31 May 1976. *Biografical Memoirs of Fellows of the Royal Society*. 1977. Vol. 3. P. 384—412.

19. Jacques Monod. Nobel Prize in Medicine 1965. Regime of access : http://www.nobeliat.ru/laureat.php?id=312.

20. Jacques Monod. Le hasard et la nécessité. Paris, Editions du Seuil, 1970.

21. Jacob François. La logique du vivant. Une histoire de l'hérédité. Paris, Éd. Gallimard, 1970.

ISSN 2409-4943 Ukr. Biochem. J. 2021. Vol. 93, N 4. P. 111—119.

РОЗШИФРУВАННЯ ГЕНЕТИЧНОГО КОДУ — НОВИЙ РЕВОЛЮЦІЙНИЙ ЕТАП РОЗВИТКУ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ

Нобелівська премія з фізіології або медицини, 1968

О.П. Матишевська, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

Генетичний код є квінтесенцією людства і буде актуальним, доки існують люди.

Майкл Декстер,
керівник британської частини міжнародного
проєкту HGP (Human Genom Project)

У статті наведено біографічні дані М. Ніренберга, Г. Корани, Р. Голлі — лауреатів Нобелівської премії з фізіології та медицини за 1968 р. й історію зроблених цими вченими відкриттів. Докладно обговорюються методичні підходи, використані в їхній роботі. Завдяки роботам М. Ніренберга та Г. Корани було розшифровано нуклеотидний склад усіх триплетних кодонів мРНК; Г. Корана вперше експериментально довів безпосередній зв'язок між нуклеотидною послідовністю ДНК та амінокислотною послідовністю синтезованого протеїну, а також здійснив синтез штучного гена. Р. Голлі вперше повністю розшифрував послідовність транспортної РНК, встановив її вторинну структуру та роль у синтезі протеїнів на рибосомі. Присуджена вченим Нобелівська премія стала визнанням їхнього внеску в розуміння механізмів кодування і зчитування генетичної інформації та знаменувала новий проривний етап розвитку молекулярної біології.

Ключові слова: *М. Ніренберг, Г. Корана, Р. Голлі, генетичний код, ДНК, триплетний кодон, тРНК, рибосоми, ензими, синтез протеїнів.*

Спочатку коротко нагадаємо основні віхи бурхливого розвитку молекулярної біології в другій половині XX ст. У 1953 р. Джеймс Вотсон і Френсіс Крік, ґрунтуючись на даних здійсненого Морісом Вілкінсом та Розалінд Франклін рентгеноструктурного аналізу, продемонстрували структуру подвійної спіралі ДНК [1, 2]. Френсіс Крік припустив існування матричної РНК та адаптерних молекул, що забезпечують відповідність послідовностей мРНК амінокислотному складу майбутнього протеїну. Існування матричної РНК підтвердилося результатами досліджень Жакоба і Моно, які встановили закономірності регуляції активності генів прокаріот [3]. За допомогою ензиму полінуклеотидфосфорилази, відкритого Северо Очоа в співробітництві з Маріанною Грюнберг-Манаго, вперше поза клітиною було синтезовано РНК-подібну високополімерну сполуку з відомою полінуклеотидною послідовністю [4]. Завдяки цим відкриттям з 1950-х років у науці закріпилось уявлення про передачу генетичної інформації від ДНК до мРНК та про синтез протеїнів на рибосомах і стало зрозумілим, що код із триплетів нуклеотидів, які відповідають певній амінокислоті у синтезованому протеїні, має міститись у мРНК. Але як зламати цей код?

Саме Ніренбергу—Корані—Голлі, цій біохіміко-генетичній трійці вчених, які працювали незалежно один від одного, вдалося експериментально розшифрувати всі літери генетичного коду, а також структуру транспортної РНК та встановити її роль у перенесенні амінокислот до рибосом під час синтезу протеїнів. І цілком закономірно, що в 1968 р. усі троє отримали Нобелівську

премію з фізіології та медицини із формулюванням «*за розшифровку генетичного коду і його ролі в синтезі протеїнів* (*for their interpretation of the genetic code and its function in protein synthesis*)».

МАРШАЛЛ НІРЕНБЕРГ

Маршалл Воррен Ніренберг (англ. *Marshall Warren Nirenberg*) народився 10 квітня 1927 р. у Брукліні, найнаселенішому районі Нью-Йорка (США) в сім'ї вихідців з Російської імперії — кравця Харі Едварда Ніренберга та Мінерви Биковської. У Нью-Йорку Маршалл прожив лише десять років. Через ревматичну хворобу йому було рекомендовано змінити клімат. Сім'я переїхала до м. Орландо (Флорида), де батько працював управителем молочної ферми та заснував ліберальну іудейську спільноту. У 1944 р. Маршалл вступив до університету Флориди для вивчення загальної біології та зоології. У 1952 р. він отримав ступінь магістра з таксономії та екології за дослідження флоридської мухи-веснянки. Згодом Маршалл зацікавився біохімією і почав викладати цей предмет в університеті Мічигану. У 1957 р. він захистив докторську дисертацію, присвячену поглинанню гексоз раковими клітинами, та розпочав роботу в Національному інституті здоров'я (NIH) у Бетесді, продовжуючи започатковані ще в дисертації дослідження [5].

Ніренберг не мав досвіду роботи в галузі молекулярної біології, він лише відвідував вечірні курси з генетики для вчених NIH, зацікавлених міждисциплінарними дослідженнями. Власне молекулярною біологією та проблемою синтезу протеїнів він почав займатися лише у 1960 р. — за рік до свого наукового тріумфу. У 1962 р. він стає керівником відділу біохімічної генетики NIH і перебував на цій посаді упродовж усієї своєї наукової кар'єри.

М. Ніренберг поставив за мету з'ясувати роль РНК як месенджера між ДНК та протеїнами. Як модель для дослідження він обрав безклітинну систему, отриману після руйнування клітин кишкової палички *Escherichia coli* і яка містила ДНК, РНК, рибосоми та ензими, необхідні для синтезу протеїнів. На його думку, така система давала багато можливостей для вирішення питань щодо потоку інформації від нуклеїнової кислоти до протеїну, тому впродовж двох років він вивчав властивості цієї системи, зокрема оптимальні умови синтезу протеїнів, вплив нуклеїнових кислот та інших чинників на швидкість процесу. Як з'ясувалось пізніше, безклітинна система цілком виправдала очікування вченого. Вже перші експериментальні результати, одержані з її використанням, виявилися переконливими. Так, Ніренберг показав, що в разі додавання ДНКази включення мічених амінокислот у протеїн пригнічувалося, що переконливо доводило залежність синтезу протеїнів у безклітинній системі від ДНК як матриці.

На цьому етапі до досліджень Ніренберга приєднався молодий німецький дослідник Генріх Маттеї (*Heinrich Matthaei*). Вчені значно оптимізували умови проведення експериментів. Так, хоча відділена від рибосом РНК стимулювала включення мічених амінокислот у протеїни, однак таке включення швидко відбувалось і без додавання РНК, тому зафіксувати РНК-залежний синтез протеїну було складно. Цю проблему дослідники вирішили, коли дода-

ли до середовища ДНКазу, що розрізала фосфодіефірні зв'язки між нуклеотидами, в такий спосіб запобігаючи синтезу мРНК із цієї ДНК. За цих умов синтез протеїнів зупинявся і поновлювався лише після додавання екзогенної матричної РНК. Окрім того, для прискорення експериментів було розроблено швидкий метод фільтрації отримуваних ^{14}С-протеїнових преципітатів.

Маршалл Ніренберг
(1927—2010)

Це дало змогу оцінити специфічність та активність багатьох одержаних із різних джерел препаратів РНК як матриць для синтезу протеїнів у клітинному екстракті. Було виявлено, що РНК з дріжджів, рибосом та вірусу мозаїки тютюну дуже активно стимулювали включення до протеїну кожної з досліджуваних амінокислот.

Далі було здійснено простий, але красивий і витончений експеримент. До безклітинної системи замість природної додавали синтетичну РНК, яку було одержано за допомогою відкритого Северо Очоа ензиму полінуклеотидфосфорилази і яка містила лише один повторюваний нуклеотид — уридилову кислоту (UUUUUUUUUUUU....). Виявилося, що в разі внесення полі-U жодна з перевірених амінокислот не включалась до складу синтезованого протеїну, окрім однієї — *фенілаланіну*. Кінцевим продуктом синтезу був *поліфенілаланін*.

Ці результати переконливо свідчили, що РНК є матрицею для синтезу протеїну і що *залишки U в складі полі-U відповідають фенілаланіну в протеїні*.

Якщо для кодування генетичної інформації достатньо 64 комбінацій, утворюваних за поєднання 4 нуклеотидів трійками (43), то одержані Ніренбергом і Маттеї дані означали, що кодоном для фенілаланіну буде UUU. І хоча теоретично ним могли бути і UUUU, і UUUUU, перша частина «головоломки» генетичного коду знайшла своє місце. Стало зрозуміло, що *з'явився метод розшифрування* і генетичний код буде невдовзі прочитано.

У 1961 р. Ніренберг і Маттеї опублікували свою, нині визнану класичною, працю: «*Залежність безклітинного синтезу протеїну в E. coli від природних або синтетичних полірибонуклеотидів*» [6].

У тому самому році, але ще до опублікування цієї статті, Ніренберг презентував результати своїх експериментів із *полі-U* в Москві на Міжнародному біохімічному конгресі, учасником якого був і Френсіс Крік. Повідомлення Ніренберга про те, що йому вдалося (за допомогою синтетичної РНК, отриманої методом Очоа) розшифрувати перший триплет, зустріли оглушливими оплесками, а один молодий співробітник біохімічної лабораторії Нью-Йоркського університету негайно зателефонував своєму вчителеві Северо Очоа, щоб повідомити цю надзвичайну новину.

На той час у лабораторії Очоа також проводились інтенсивні дослідження залежності між складом штучної РНК та вмістом включених до синтезованого поліпептиду амінокислот. У 1963 р. було показано, що *полі-А РНК* транслюєть-

ся у *полілізиновий*, а *полі-С РНК* — у *поліпроліновий* пептид. Виявилося також, що за використання полі-G матрична активність була відсутня [7].

Таким чином, можливий склад певних кодонів було визначено, однак кількість і послідовність розміщення основ всередині кодону залишалися невідомими. Складність полягала в тому, що в разі створення РНК, яка містила більше за одну основу, послідовність основ була випадковою. Так, РНК, створена за співвідношення U до C як 2:1, з високою частотою містила кодони *UCU*, *CUU*, *UUC*. У разі трансляції такої РНК рибосомами синтезувався протеїн, що містив амінокислоти *серин*, *лейцин* та *фенілаланін*, проте залишалося незрозумілим, який саме з кодонів відповідає певній амінокислоті.

Вирішенню цього питання М. Ніренберг присвятив другий етап досліджень з розшифрування генетичного коду. Використаний для цього метод ґрунтувався на експериментальних даних про те, що обов'язковим проміжним продуктом на шляху синтезу *поліфенілаланіну* є специфічна до фенілаланіну транспортна РНК (*феніл*-тРНК). Також було показано, що у відповідь на додавання *полі-U* спочатку відбувається приєднання *феніл*-тРНК до рибосом і лише потім утворюються пептидні зв'язки [8].

Ніренберг припустив, що тринуклеотиди або гексануклеотиди з відомою послідовністю також стимулюватимуть зв'язування певних C^{14}-аміноацил-тРНК із рибосомами.

Для перевірки цього припущення Ніренберг та його колега *Філіп Ледер* спочатку розробили швидкий метод відокремлення зв'язаної з рибосомами *аміноацил*-мРНК від незв'язаної. Метод ґрунтувався на пропусканні реакційної суміші через нітроцелюлозний фільтр, який пропускав вільну тРНК, але захоплював рибосоми, і якщо тРНК була зв'язаною з рибосомою, вона також залишалася на фільтрі разом із прикріпленою міченою амінокислотою. За допомогою цього методу вчені успішно продемонстрували, що тринуклеотид *AAA* стимулював зв'язування *[^{14}C]лізил*-тРНК з рибосомами. Також було встановлено, що тринуклеотиди *UUU*, *AAA* та *CCC* спричинюють зв'язування з рибосомами відповідно *фенілаланіл*-, *лізил*- та *проліл*-тРНК [9].

Оскільки відповідні динуклеотиди не стимулювали такого зв'язування, *дійшли висновку, що саме три послідовні основи у складі тРНК кодують одну амінокислоту в складі синтезованого протеїну.*

Подальший план експериментів був зрозумілим: синтезувати усі 64 комбінації тринуклеотидів та з'ясувати, яка з аміноацил-тРНК після інкубації з певним тринуклеотидом зв'яжеться з рибосомами і залишиться на фільтрі. Проте отримання чистих тринуклеотидів зі змішаними послідовностями основ, наприклад GUU, було складним завданням. У новаторських дослідженнях Ф. Ледера було використано тринуклеотиди, одержані розщепленням довгої випадкової полі-GU панкреатичною РНК нуклеазою з подальшим розділенням тринуклеотидів методом паперової хроматографії. З'ясувалось, що *UGA*, *UGU* і *UUG* кодують амінокислоти *метіонін*, *цистеїн* та *лейцин* відповідно. Пізніше у групі Ніренберга для конструювання тринуклеотидів було використано ензими, що приєднували основи до початку або до кінця молекули динуклеотидів. Було визначено, що *UUU* і *UUC* кодують *фенілаланін*, *UCU* і *UCC* — *се-*

рин, а *CCC* і *CCU* — *пролін*, що вказувало на надлишковість генетичного коду та його *виродженість* за третьою основою триплету.

Якщо в лабораторії Ніренберга для синтезу тринуклеотидів було використано ензиматичні методи, то група під керівництвом Корани досягла значного успіху в синтезі усіх 64 тринуклеотидів та олігонуклеотидів із відомою послідовністю хімічними методами, про що йтиметься нижче.

Завдяки спільним зусиллям М. Ніренберга та співробітників його лабораторії в NIH у 1966 р. було повністю розшифровано кодони РНК для всіх 20 природних амінокислот.

Під час отримання Нобелівської премії у 1968 р. свою лекцію М. Ніренберг розпочав такими словами: «*Генетична пам'ять зберігається в специфічних молекулах нуклеїнової кислоти. Інформація закодована в лінійній послідовності основ 4 різновидів, яка відповідає послідовності 20 амінокислот у протеїні. Передача інформації від нуклеїнової кислоти до протеїну відбувається послідовно, відповідно до коду та за порівняно простими правилами. Кожна одиниця нуклеїнової кислоти визначає вид молекули, яку слід відібрати, її положення та час події щодо попередньої події. Таким чином, нуклеїнова кислота функціонує одночасно як матриця для інших молекул і як біологічний годинник*» [10].

Після отримання Нобелівської премії Ніренберг не став «спочивати на лаврах». Він зацікавився нейробіологією. Його дослідження нейробластоми було одним із перших, де було використано тканинні культури як експериментальний метод, що зараз є поширеним у нейробіології. У 1970-х Ніренберг вивчав вплив морфіну на центральну нервову систему і створив клітинну лінію нейробластоми з великою кількістю морфінових рецепторів. А використавши як модель клітини сітківки курчати, вчений дослідив процес формування нервових синапсів.

Однак наприкінці 1980-х Ніренберг знову повернувся до генетики. Він зосередився на так званих гомеобоксних генах, що кодують транскрипційні фактори та контролюють програми формування органів і тканин. Результати експериментів Ніренберга щодо взаємозв'язку між активністю гомеобоксних генів та складанням частин нервової системи плодової мушки *Drosophila* мали важливе значення для прогресу в галузі нейробіології та досліджень розвитку нервової системи в людини.

Ніренберг переймався відповідальністю вчених перед суспільством, етичними та моральними аспектами досліджень з генетики. У 1998 р. він підписав адресований президенту США Біллу Клінтону та членам американського конгресу лист проти клонування людини, допоки не буде з'ясовано його безпечність для можливого застосування у профілактиці хвороб людини. У 2001 р. Ніренберг підтримав направлену президентові Джорджу Бушу заяву нобелівських лауреатів про необхідність дослідження стовбурових клітин, а в 2002 р. приєднався до сорока американських нобелівських лауреатів щодо підтримки терапевтичного клонування.

...А ще Ніренберг сумував за колишніми часами в науці: «*Раніше наука була зовсім іншою — набагато вільнішою. Зараз вона змагальна. Молоді вчені борються за позиції, більш зрілі — за фінансування. Це великий тиск і вимога: ти повинен видавати, видавати і видавати результат. А в науці все не так просто. Коли*

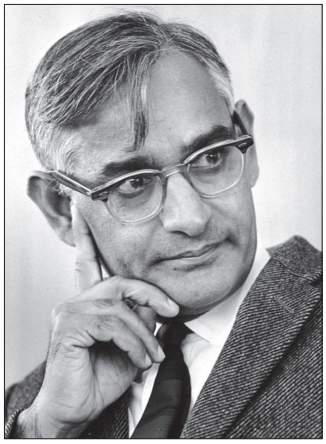
розпочинаєш тему, то не знаєш, чи правильний напрям ти обрав. А зробити нічого не можеш — лише взяти низький старт та бігти. Інколи це допомагає, інколи — ні».

Ніренберг був двічі одружений. У 1961 р. він одружився з випускницею хімічного факультету університету Ріо-де-Жанейро — *Перолі Зальцман*; в 2005 р. — з *Мірною Вайсман*, професором епідеміології та психіатрії Колумбійського університету.

Маршалл Ніренберг помер у віці 83 років 15 січня 2010 р. від раку в своїй квартирі в Нью-Йорку.

ГАР ГОБІНД КОРАНА

Національну належність нобелівського лауреата Гара Корани визначити непросто. Він народився в Британській Індії на території сучасного Пакистану, працював у Великій Британії, Швейцарії та Канаді, а останню частину життя провів у США.



Гар Гобінд Корана
(1922—2011)

Гар Гобінд Корана (англ. *Har Gobind Khorana*) народився 9 січня 1922 р. в індуїстській сім'ї в селищі Райпур у Західному Пенджабі, який на той час був частиною Індії, а тепер належить Пакистану. Його батько був сільським секретарем з питань оподаткування сільського господарства в системі державного управління Британської Індії. У сім'ї було п'ятеро дітей, одна дівчинка та чотири хлопчики. Гар Гобінд був наймолодшим. Сім'я була дуже бідною, проте батько навчав своїх дітей читати та готував їх до школи. Тому діти були одними з небагатьох грамотних людей на селі.

У дитинстві Гар Гобінд прокидався рано, а щоб розпалити вогнище для приготування сніданку полював на вугілля біля будинків, з димаря яких йшов дим. Удень звичним для нього було сидіти на сходах пошти та писати листи для неписьменних селян. Перші чотири роки навчання Гар здобував знання в сільського вчителя, сидячи під деревом, а потім навчався в середній школі у сусідньому місті Мултан. Хлопець ріс сором'язливим, проте після успішного закінчення школи наважився подати заяву на вивчення англійської літератури та хімії в Урядовому коледжі Пенджабського університету і був прийнятий. Зрештою він вирішив вивчати хімію і в 1943 р. здобув ступінь бакалавра. У 1945 р. Гар закінчив навчання у Пенджабському університеті й отримав не лише диплом магістра з відзнакою, а й стипендію від уряду Індії для здобуття ступеня PhD у Ліверпульському університеті (Велика Британія) [11].

Планувалось, що Корана вестиме дослідження у відділі інсектицидів та фунгіцидів Ліверпульського університету, проте через нестачу місць він розпочав роботу в лабораторії органічної хімії в групі під керівництвом професора Дж.С. Роджера, який не лише керував його дослідницькою роботою, а й турботливо доглядав, залучаючи до західної цивілізації та культури.

У 1948 р. за дослідження *синтезу меланіну* та *алкалоїдів* Корана отримав ступінь доктора філософії з хімії. Він приділяв багато часу вивченню німецької наукової літератури з органічного синтезу і зацікавився синтетичним реагентом *карбодиімідом*, який не згадувався в англомовній літературі. Через багато років він застосує саме цей реагент у своїх революційних наукових роботах.

Вирішивши підвищити науковий рівень, Корана обрав німецькомовну країну і наприкінці 1948 р. вирішив продовжити роботу у Вищій технічній школі в Цюріху (Швейцарія). Там працював *Володимир Прелог* — один з найвідоміших хіміків-органіків минулого століття, внесок якого у розвиток стереохімії був неоціненним, за що він спільно з Д.У. Корнфортом у 1975 р. був удостоєний Нобелівської премії з хімії. Корана не мав рекомендаційного листа чи направлення, він просто зайшов до кабінету Прелога і сказав: «*Я хочу у Вас працювати, ось моя дисертація*». Вчений перегорнув сторінки автореферату докторської дисертації Корани і сказав: «*Беру, але грошей немає*». Упродовж наступних 11 місяців Корана жив у лабораторії, спав на стільцях та столах і харчувався самим рисом та молоком. Гар тримався, підживлюючись любов'ю до науки та палким бажанням вчитися. Незважаючи на побутові труднощі, він налагодив тривалий творчий зв'язок з Прелогом і до кінця життя був вдячний наставнику за своє становлення як хіміка [12].

На жаль, Корані довелося перервати свій візит до Швейцарії, бо його скромні заощадження закінчувалися. У 1949 р. Гар Корана повернувся додому, щоб відпрацювати борг за попередню стипендію уряду Індії, однак вдома відбулись радикальні зміни, спричинені нещодавнім поділом Британської Індії. Індія здобула незалежність, його рідне селище відійшло до Пакистану, а велика сім'я розсіялася по різних містах. Доктору хімії довелось жити в будинку прислуги і проводити час за пошуками роботи. На щастя, уряд скасував його борг за стипендію, а на допомогу прийшла пропозиція про стипендію від Кембриджського університету. Велика сім'я Корани спільними зусиллями оплатила квиток на корабель. Так, у віці 27 років Гар повернувся до Англії.

У Кембриджі Корана досліджував реакції активації кінцевих карбоксильних груп пептидів за дії *карбодиіміду*. На час його перебування в Кембриджі Фредерік Сенгер займався встановленням послідовності протеїнів і вперше секвенував інсулін [13], а Макс Перутц і Джон Кендрю одержали перші рентгенівські знімки міоглобіну та гемоглобіну. Ця атмосфера надихнула Корану уважніше придивитись до протеїнів і нуклеїнових кислот.

У 1952 р. до лабораторії завітав голова Дослідницької ради Британської Колумбії (Канада) з проханням порекомендувати хіміка, який би згодився переїхати до університету у Ванкувері для створення нової, поки що недостатньо облаштованої дослідницької лабораторії, проте з наданням абсолютної свободи дій. Йому запропонували кандидатуру Гара Гобінда Корани. Останній погодився на переїзд, бо найбільше цінував свободу та можливість проводити власні дослідження.

Роботу у Ванкувері Корана розпочав із синтезу ADP та ATP за допомогою *карбодиімідної реакції* і в 1954 р. опублікував одержані результати. Пізніше він синтезував усі відомі *нуклеотиди*, *динуклеотиди*, *кофактори*, а у 1960 р. — *коензим А*, найскладніший з нуклеотидних кофакторів. Багато хто з відомих вчених,

зокрема Пол Берг, А. Корнберг, Ю. Кеннеді, відвідували лабораторію Корани, щоб навчитися в нього отримувати *карбодиімідні реагенти* [14].

Проте на піку свого успіху Корана заявив, що його дослідження в цій сфері завершено, і переїхав до Вісконсинського університету в Медісоні (США). Саме тут, на початку 1960-х, Корана підхопив естафету М. Ніренберга — *він хотів синтезувати ген.*

Групі Корани належало отримати всі можливі типи кодонів, необхідні для перевірки кодування 20 амінокислот. *Якщо в лабораторії Ніренберга для цього було застосовано ензиматичні методи синтезу тринуклеотидів, то Корана використав хімічні.*

Спочатку він планував синтезувати рибополінуклеотидні месенджери з повністю відомою послідовністю основ. Проте існуючими на той час хімічними методами вдавалося синтезувати рибонуклеотиди лише з декількох одиниць, тоді як хімічний синтез дезоксирибонуклеотидів був розвиненішим і давав можливість синтезувати довші ланцюги з 10—15 нуклеотидних одиниць. Для цього Корана мав успішно виконати такі завдання:

- активувати фосфомоноестерну групу мононуклеотиду для того, щоб забезпечити фосфорилювання гідроксильної групи іншого нуклеотиду;
- віднайти групи, придатні для захисту функціональних гідроксильних груп цукрових пентозних кілець та аміногруп пуринових і піримідинових кілець;
- розробити методи поетапного синтезу дезоксиолігонуклеотидів з відомою послідовністю.

Зрештою вчений синтезував не лише 64 нуклеотиди, а й оліго- та полінуклеотиди, необхідні для розшифрування генетичної інформації.

Корана високо оцінював розроблений Ніренбергом метод розшифрування кодонів, що ґрунтувався на зв'язуванні різних аміноацил-тРНК з рибосомами у присутності специфічних синтезованих тринуклеотидів та міченої амінокислоти. Цей метод був дуже ефективним, проте, на його думку, мав певні недоліки. Так, інколи зв'язування було дуже незначним, певні нуклеотиди стимулювали зв'язування неочікуваної тРНК і, навпаки, аутентичні тринуклеотидні кодони взагалі не спричинювали зв'язування тРНК з рибосомами. Тому *для розшифрування коду Корана запропонував оригінальний альтернативний метод із використанням коротких хімічно синтезованих дезоксиолігонуклеотидів з відомою послідовністю, ДНК-полімерази, РНК-полімерази та безклітинної системи синтезу поліпептидів.* Він сподівався, що ензим РНК-полімераза зможе використати короткі хімічно синтезовані *дезоксирибонуклеотиди* як матрицю для транскрипції на зразок того, як цей ензим використовує біологічно активну ДНК, і що синтезовану РНК можна буде використати для синтезу поліпептидів з відомою амінокислотною послідовністю *in vitro*. Було показано, що РНК-полімераза дійсно здатна синтезувати *рибополіаденілат* у присутності хімічно синтезованих *тимідинових олігонуклеотів*, при цьому РНК продукт завжди був набагато довшим за матрицю і містив принаймні 100 нуклеотидних одиниць.

Для роботи з ДНК-полімеразою Корана відвідав лабораторію Корнберга. Під час експериментів Корана пересвідчився, що цей ензим також може використовувати дуже короткі синтетичні олігонуклеотиди з почерговим розта-

шуваням А- та Т-основ і синтезувати dAT-полімери з високою молекулярною масою [15].

Отже, як РНК-, так і ДНК-полімеразам була властива ампліфікація утворених продуктів за наявності хімічно синтезованої дезоксиполінуклеотидної матриці. Спочатку ці результати видавалися невтішними, оскільки дослідники втрачали контроль за довжиною продукту, хоча ретельно перевіряли розмір матриці. Проте пізніше з'ясувалось, що таке повторне копіювання може бути дуже корисним для ампліфікації інформації, закодованої в короткому хімічно синтезованому полінуклеотиді.

Корана зазначав: «*Особливості реакцій, каталізованих ДНК-полімеразою, насправді чудові: (1) ензим забезпечує абсолютну точність відтворення послідовностей; (2) синтез екстенсивний, 50—200-кратний, а продукти мають високу молекулярну масу (від 300000 до понад 1 000000); (3) таким чином ензим підсилює та примножує інформацію, створену хімічними методами; (4) зрештою, мене як органічного хіміка найбільш задовольняє той факт, що отримані у такий спосіб полімери ДНК можна повторно використовувати для подальшого виробництва таких самих полімерів. Немає потреби повертатися до трудомісткого хімічного синтезу, щоб знову отримати матриці. ДНК-полімераза забезпечує безперервність їх послідовності*» [16].

Зазначимо, що за розробленим Кораною підходом можна не лише повністю розшифрувати генетичний код, а й він став основою для розроблення методу *полімеразної ланцюгової реакції*, який дає змогу ампліфікувати невеликі фрагменти ДНК до мільярдів копій протягом декількох годин та який широко застосовується в експериментальних і в клінічних дослідженнях, про що йшлося раніше [17].

Використання у безклітинній системі синтезованих Кораною довгих полінуклеотидів із повторюваною послідовністю основ було корисним ще з однієї причини. Грубий бактеріальний екстракт, без сумніву, містив потужні *нуклеази* та *пептидази*. Тому очікувалось, що використання месенджерів з повністю визначеними та чітко повторюваними нуклеотидними послідовностями дасть можливість отримати однозначну відповідь, не зважаючи на спричинені екзо- чи ендонуклеазами пошкодження синтетичних месенджерів і на активність протеолітичних ензимів щодо синтезованих поліпептидних продуктів.

На таких обнадійливих результатах ґрунтується схема (рис. 1), яку Корана застосував для дослідження кодування амінокислот *in vitro*. Період з весни 1963 до кінця 1967 р. був періодом безперервного успіху в роботі, присвяченій генетичному коду.

На початку в дослідженні виникали певні труднощі. Так, єдиною ДНК, що містила більш ніж один нуклеотидний залишок, була згадана вище полі-dAT. І хоча РНК-полімераза ефективно продукувала очікувану полі-rAU з двома чітко повторюваними основами, цей продукт через самокомплементарність мав щільну дволанцюгову структуру й у безклітинній системі не використовувався рибосомами як матриця для синтезу поліпептиду. Тому наступним етапом роботи стало застосування таких ДНК-подібних полімерів, транскрипція яких РНК-полімеразою дає одноланцюгові рибополінуклеотиди.

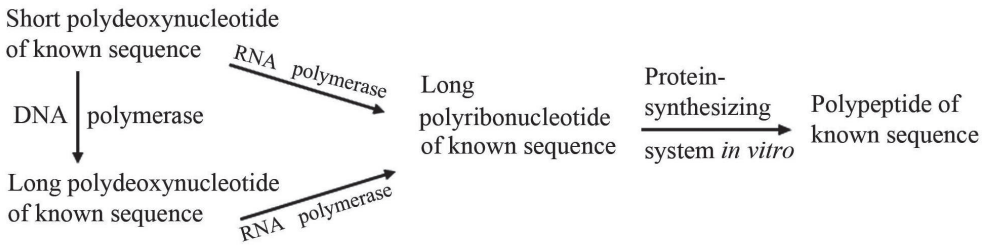


Рис. 1. Використана Кораною послідовність реакцій для отримання високомолекулярної месенджерної РНК та подальшого синтезу *in vitro* поліпептидів з відомою амінокислотною послідовністю [16]

Ще одна трудність полягала в тому, що ДНК-полімераза не могла каталізувати реакцію полімеризації за наявності лише одного ланцюга як матриці. Зрештою, використовуючи коротколанцюгові матриці, що містили три- і тетрануклеотидні послідовності, Корана домігся достатнього синтезу дволанцюгового ДНК-подібного полімеру. Окремі ланцюги такого полімеру містили дві або максимум три відмінні основи, тому, додаючи нуклеозидтрифосфати, необхідні для копіювання лише одного ланцюга, можна було обмежити дію РНК-полімерази на іншому.

Тепер можна було розпочати експерименти з безклітинною системою та використати синтезовані РНК-полімеразою *рибополінуклеотиди* з відомою послідовністю як месенджери для синтезу поліпептидів на рибосомі. Для прикладу наведемо такий прогноз групи Корани. Полімери з повторюваною динуклеотидною послідовністю $(UC)_n$ міститимуть два триплети UCU і CUC у почерговій послідовності. Враховуючи трибуквеність та неперекривання коду, слід очікувати, що такі полімери мають забезпечити включення двох амінокислот у чітко повторюваній послідовності. Дійсно, з використанням мічених амінокислот було переконливо доведено, що за присутності полі-UC до синтезованого на рибосомах поліпептиду включаються [^{14}C]-серин та [^{14}C]-лейцин. Передбачалось, що полімери з повторюваною тринуклеотидною послідовністю $(ABC)_n$ залежно від стартової точки міститимуть три повторюваних триплети ABC, BCA та CAB, і в разі включення певних амінокислот у гомополіпептидні ланцюги очікувалось утворення трьох таких ланцюгів. Ці прогнози було повністю підтверджено експериментально. Винятком виявились два полімери — полі-rUAG і полі-rAUG, які стимулювали включення лише двох амінокислот і містили, як з'ясувалось пізніше, кодони термінації UAG та UGA.

Результати трудомістких досліджень групи Корани свідчили, що:

- ДНК дійсно визначає послідовність амінокислот у протеїнах і ця інформація передається через РНК. Отже, вперше було експериментально доведено безпосередній взаємозв'язок між послідовностями ДНК та амінокислот у протеїні;
- генетичний код є трибуквеним і не перекривається.

Зрештою одержані результати дали змогу встановити призначення кодонів для шифрування кожної з амінокислот [16].

Таблиця для виведення кодонів РНК для різних амінокислот на сьогодні є загальновизнаною і відомою як карта генетичного коду (рис. 2). Хоча її було складено для *Escherichia coli*, усі живі організми (від бактерії до людини) використовують єдиний генетичний код. Таблиця враховує традиційний спосіб запису послідовності нуклеїнових кислот: перша буква (5′-кінець) тринуклеотиду знаходиться ліворуч, а третя (3′-кінець) — праворуч від середньої основи.

2nd base in codon

1st base in codon	U	C	A	G	3rd base in codon
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	STOP	STOP	A
	Leu	Ser	STOP	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Рис. 2. Таблиця кодонів РНК [16]

Аналізуючи структуру кодонів, Корана показав, що код є виродженим переважно за третьою основою. Так, кодонами для фенілаланіну є UUU та UUC, а для аланіну — GCU, GCC, GCA та GCG. Кодон GUG, який відповідає метіоніну, використовується також як сигнал для ініціації синтезу поліпептидного ланцюга (старт-кодон), а кодони UGA, UAA і UAG не відповідають жодній амінокислоті і використовуються для термінації синтезу (стоп-кодони).

Після отримання Нобелівської премії у 1968 р. за розшифрування генетичного коду Корана продовжував безперервно працювати. Недаремно про нього говорили як про людину повністю віддану науці — він не ходив у відпустку впродовж 12 років!

У 1970 р. Корана став професором у Массачусетському технологічному інституті, де працював до 2007 р. — до самої пенсії.

Коли у 1970 р. на зустрічі біохіміків та молекулярних біологів у його рідному Університеті Вісконсин-Медісон у Корани запитали, чим він наразі зайнятий, то вчений відповів, що його група працює над синтезом гена вже впродовж п’яти років і йому нарешті вдалося отримати **ген у пробірці!**

У той час *Роберт Голлі*, який одержав Нобелівську премію разом з Кораною, вже *встановив послідовність нуклеотидів транспортної РНК, що переносить аланін*. На основі цих даних Корана намалював на папері схему структу-

ри гена (ДНК), що відповідає за синтез цієї тРНК, і в 1970 р. дійсно отримав перший синтетичний ген, що складався із 77 пар нуклеотидів, розташованих у послідовності, з якої зчитувалась необхідна для синтезу аланіл-тРНК інформація. Для цього спочатку було здійснено хімічний синтез фрагментів ДНК довжиною від 5 до 12 нуклеотидів, потім їх з'єднали в певному порядку за допомогою ДНК-лігази фага Т4 та розмножили, використовуючи ДНК-полімеразу Корнберга. Проте в разі введення у безклітинну систему синтезований ген аланіл-тРНК не виявляв функціональної активності, оскільки був позбавлений промоторних та термінальних ділянок. Згодом Корані вдалося синтезувати ген тирозинової тРНК кишкової палички довжиною 207 пар основ, який окрім структурної ділянки (126 нуклеотидних пар) містив необхідні регуляторні елементи [18].

Цього разу штучно синтезований ген, вбудований у геном фага Т4, у випадку введення в живу кишкову паличку виявився працездатним.

Здійснений Кораною хімічний синтез функціональних генів тРНК став безпрецедентним і неперевершеним досягненням у галузі хімічної біології та поворотним пунктом у генетиці. Ця робота поклала початок епосі рекомбінантної ДНК і на ній ґрунтуються методи збирання цілих геномів із коротколанцюгових ДНК.

Гар Гобінд Корана був одним з останніх в університеті Медісона, хто дізнався про присудження йому Нобелівської премії. У той день 1968 р. він відправився з міста до свого котеджу на березі озера без телефону та радіо, щоб писати статті. Сповістила йому цю новину дружина Естер, яка спеціально приїхала туди.

Корана одружився з Естер Сільбер, швейцаркою за народженням, у 1952 р. Вони познайомились у 1947 р. на фестивалі пива у Празі. На відміну від усіх присутніх, екзотичний індієць споживав цей напій досить стримано, чим і привернув до себе увагу жінки. На той час після багатьох років життя поза рідною країною Корана скрізь почувався чужим, відірваним від дому. Естер привнесла в життя Гобінда впевненість у меті, разом з ним переїхала до Ванкувера (Канада), стала для нього надійною опорою та підтримкою впродовж майже 50 разом прожитих років. У них було дві дочки і син. Естер познайомила Корану із західною класичною музикою, якою він захопився; їхній будинок був наповнений картинами та книгами про науку, мистецтво і філософію. Вони були дуже гостинною парою, а сам Корана завжди пишався тим, що готував і подавав гостям пенджабські делікатеси.

Корана отримав американське громадянство в 1966 р., проте ніколи не забував про рідну країну. На честь великого вченого Університет Вісконсин-Медісон, уряд Індії та Індо-Американський науково-технічний форум у 2007 р. заснували «***Програму Корани***» для полегшення обміну студентами та аспірантами між Університетом та індійськими науковими установами.

Незважаючи на всесвітнє визнання його наукових досягнень та популярність, Корана був дуже скромною людиною з незгасимим бажанням дізнаватися нове та звичкою працювати понад 12 годин щодоби. Він любив класичну музику, природу, плавання, регулярно ходив у походи, ніколи не користувався ліфтом і, як справжній йог, ніколи нічим серйозним не хворів.

У 1979 р. померла одна з доньок Корани, а у 2001 р. померла його дружина, Естер Сільбер. Він залишився вдівцем з двома дорослими дітьми — Джулією та Дейвом.

Гар Корана пішов із життя у віці 89 років 9 листопада 2011 р. у Конкорді (штат Массачусетс) [12].

РОБЕРТ ВІЛЬЯМ ГОЛЛІ

Дивлячись на обличчя Роберта Голлі, не здогадаєшся, що цей хитрий і веселий очкарик — відомий американський біохімік і лауреат Нобелівської премії.

Роберт Вільям Голлі (англ. *Robert William Holley*) народився 22 січня 1922 р. у м. Ербана (штат Іллінойс, США). Він один із чотирьох синів у сім'ї шкільних вчителів Чарльза та Віоли Голлі.

Роберт Голлі (1922—1993)

Роберт навчався в загальноосвітній школі в Іллінойсі і після її закінчення у 1938 р. вступив до Університету Іллінойсу (University of Illinois) на факультет хімії. У 1942 р. він отримав ступінь бакалавра і перевівся до Університету Корнелла (Cornell University) для продовження вивчення органічної хімії та підготовки дипломної роботи. Проте навчання перервала Друга світова війна. Після вступу США у війну за завданням військового відомства Роберту довелось упродовж 1944—1946 рр. працювати в медичному коледжі Корнелльського університету в складі команди хіміків, біологів та медиків, які займалися синтезом та промисловим виробництвом *пеніциліну* — антибіотика, відкритого А. Флемінгом у 1928 р. і вкрай потрібного мільйонам поранених.

Після закінчення війни Роберт Голлі повернувся до виконання дипломної роботи у Корнелльському університеті і в 1947 р. здобув ступінь PhD з органічної хімії. Того самого року талановитому вченому надали стипендію від Американського хімічного товариства, завдяки якій він отримав можливість цілих два роки проводити дослідження в лабораторії Вашингтонського університету [19]. У 1949 р. Голлі повернувся до Корнелльського університету, де працював на посаді доцента кафедри органічної хімії до 1957 р.

Наукові інтереси вченого не обмежувалися хімічними дослідженнями, вони поступово зміщувались у бік органічної хімії натуральних продуктів, а згодом до біологічних об'єктів і, врешті-решт, до проблеми біосинтезу протеїнів. У 1955 р. фонд Гуггенхайма (Solomon R. Guggenheim Foundation) надав Роберту Голлі субсидію для проведення наукових досліджень у Департаменті біології Каліфорнійського технологічного інституту (California Institute of Technology; Caltech). Тут вчений і започаткував серію експериментів, які продовжувалися протягом десяти років і завершилися визначенням хімічної структури РНК.

Зазначимо, що дивовижні здібності, жвавість та наполегливість допомагали Роберту Голлі отримувати набагато більше різних грантів і стипендій порівняно з іншими вченими, тому процес дослідження РНК був безперервним.

У 1958 р. Голлі обійняв посаду хіміка-дослідника в лабораторії сільського господарства Департаменту США на території Корнелльського університету. Одночасно він викладав біохімію та молекулярну біологію в Корнелльському університеті. Основною темою його наукових пошуків стало дослідження транспортних РНК.

На той час завдяки працям Ліпмана (*F. Lippman*) та Замечника (*P. Zamechnik*) було відомо, що всі активовані амінокислоти приєднуються до термінального аденозинового залишку розчинної низькомолекулярної транспортної РНК. Оскільки різні амінокислоти не конкурували за одне й те саме місце приєднання, здавалося вірогідним існування різних транспортних РНК як акцепторів різних амінокислот. Для Голлі як для хіміка існування таких РНК було інтригуючим, адже малий їх розмір давав змогу детально проаналізувати їхню структуру.

У 1964 р. Голлі став професором, а згодом завідувачем кафедри біохімії і молекулярної біології в рідному Корнелльському університеті. За три роки до цього Маршалл Ніренберг відкрив основний триплетний код матричної РНК для амінокислоти фенілаланіну. Залишалось відповісти на питання, *як за участю матричної РНК на рибосомі відбираються необхідні для синтезу протеїну амінокислоти і як вони вбудовуються в послідовність у потрібному порядку*. Натхненний успіхом Ніренберга, Голлі поставив *за мету спочатку отримати високоочищену тРНК, специфічну для аланіну, а потім визначити її нуклеотидну послідовність та структуру*.

Для роботи було обрано пекарські дріжджі, оскільки з них можна було отримати значну кількість транспортної РНК. Через чотири роки напруженої роботи Голлі з колегами вдалося за допомогою методу протитечійного розподілу отримати препарати *аланінової, тирозинової* та валінової тРНК, що були відносно гомогенними та позбавленими акцепторної активності щодо інших амінокислот. Усього під час роботи над структурою *аланінової* тРНК було використано 1 г високоочищеного матеріалу, ізольованого приблизно з 200 г загальної маси РНК дріжджів, які було отримано фенольним екстрагуванням 140 кг комерційних пекарських дріжджів.

Група Голлі запропонувала такий алгоритм з'ясування послідовності аланінової тРНК: розщеплення ланцюга, що складався приблизно з 80 нуклеотидних залишків, на окремі невеликі фрагменти; їх ідентифікація та реконструкція вихідної послідовності визначенням порядку, за яким ці фрагменти поєднуються в молекулі РНК. Як зазначав Голлі, це завдання було аналогічним до розбиття речення з 80 літер на окремі слова, визначення літер у їх складі та відбудови послідовності літер у реченні за порядком розташування слів.

Щоб отримати набір фрагментів тРНК, кожен з яких закінчувався залишком цитидилової (C-) чи уридиловаої (U-) кислот, команда Голлі використала рибонуклеазу підшлункової залози, а для отримання набору фрагментів, що закінчувались залишком гуанілової кислоти (G-) — рибонуклеазу T1. Окремі фрагменти ізолювали іонообмінною хроматографією та електрофорезом на папері, гідролізували лугом та ідентифікували мононуклеотиди хроматографічним, електрофоретичним і спектральним методами.

Особливо багато часу знадобилося для визначення структури великих олігонуклеотидів та для ідентифікації таких незвичних нуклеотидів, як 1-*метилінозилова* (*metI*-) та 5,6-*дигідроурридилова* (*DiHU*-) кислоти. Останній нуклеотид

ніколи не траплявся в природних нуклеїнових кислотах, він не поглинав світло за довжини хвилі 260 нм, тому був невидимим за звичайної процедури визначення нуклеотидів [20].

Проте наявність незвичних нуклеотидів та певних унікальних послідовностей дала змогу виявити ділянки перекриття між двома наборами послідовностей тРНК. Так, було відомо, що в молекулі присутній лише один залишок I — і його було знайдено як у послідовності C-U-C-C-C-U-U-I фрагмента, отриманого після розщеплення рибонуклеазою T1, так і у послідовності I-G-C фрагмента після розщеплення панкреатичною рибонуклеазою. Обидві послідовності перекривалися, що дало можливість встановити послідовність C-U-C-C-C-U-U-I-G-C. З огляду на наявність вільної 5′-фосфатної групи (p) на лівому кінці молекули та вільної 3′-гідроксильної групи (OH) на її правому кінці з'ясували, що лівий кінець аланінової транспортної РНК має послідовність pG—G-G-C-, а правий — U-C-C-A-C-C — AOH.

Зрештою, аналіз великих фрагментів дав достатньо інформації для встановлення послідовностей двох половинок молекули РНК, отриманих після розщеплення рибонуклеазою T1, а оскільки кінцеві послідовності вже були відомі, ці половинки можна було поєднати лише в один спосіб. *Отже, наприкінці 1964 р. було з'ясовано повну нуклеотидну послідовність аланінової транспортної РНК дріжджів. Результати цього багаторічного дослідження важко переоцінити, адже це була перша нуклеотидна послідовність нуклеїнової кислоти, яку вдалося повністю розшифрувати!*

Голлі згадував: «*Звичайно, було дуже приємно мати можливість розв'язувати кожне експериментальне завдання в міру виникнення і врешті-решт встановити послідовність нуклеотидів. Задоволення було тим більшим, що ми почали з відкриття аланінової тРНК і змогли перейти до її виділення та структурного аналізу*» [21].

Проте Роберт Голлі не зупинився на цьому і визначення послідовності РНК було не єдиним відкриттям вченого та його колег. Їм вдалося встановити ще й *вторинну структуру* тРНК та з'ясувати *основний принцип взаємодії між тРНК та матричною РНК.*

Припускалося, що в структурі тРНК має міститися кодувальний триплет нуклеотидів (антикодон), експонований таким чином, щоб він міг взаємодіяти з відповідним триплетом нуклеотидів (кодоном) у складі інформаційної РНК.

Голлі встановив, що антикодоном аланінової тРНК є послідовність I-G-C в експонованій посередині ланцюга ділянці, де й містився зв'язок, чутливий до атаки рибонуклеазою T1. Запропонований спосіб розташування ланцюга враховував його симетрію, а також формування як дволанцюгових ділянок спарювання A з U та G з C згідно з моделлю Вотсона–Кріка, так і петель у неспарених ділянках. Таку модель вторинної структури тРНК назвали «*листком конюшини*» (*cloverleaf*) і вона стала класичною (рис. 3).

Згодом даними, одержаними в багатьох інших лабораторіях, було підтверджено, що всім тРНК властивий саме такий тип спарювання основ, як і розміщення антикодонової послідовності в одному і тому самому положенні середньої петлі. Завдяки компліментарності антикодонової послідовності та послідовності нуклеотидів у інформаційній РНК навантажена амінокислотою транспортна РНК знаходить правильне місце взаємодії з інформаційною РНК на рибосомі та забезпечує правильне розташування амінокислот у складі протеїну, що синтезується.

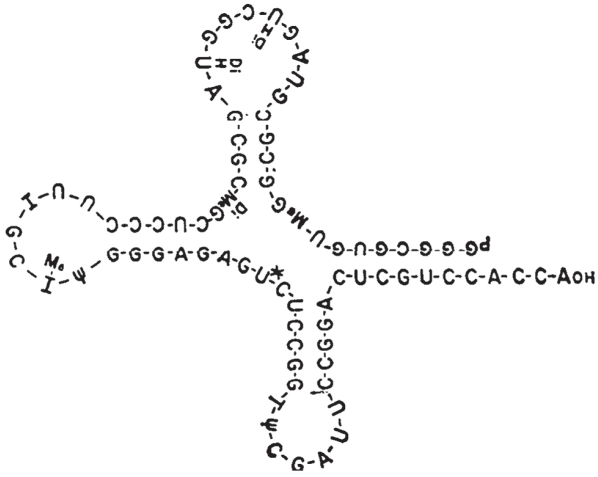


Рис. 3. Передбачувана Р. Голлі структура аланінової тРНК ***(«листок конюшини)***» [21]

Стаття Голлі зі співавторами під назвою «*Структура рибонуклеїнової кислоти*» була опублікована у 1965 р. в журналі «Science» у рубриці коротких повідомлень. Вона налічувала чотири сторінки, дві з яких були заповнені зображеннями первинної і вторинної структури тРНК. Анотація також була короткою: «*Встановлено повну нуклеотидну послідовність аланінової транспортної РНК, виділеної з дріжджів. Це перша нуклеїнова кислота, структуру якої вдалося визначити*» [22]. А через три роки після цієї публікації Р. Голлі разом з М. Ніренбергом та Х. Кораною отримали Нобелівську премію.

Як і передбачав у дослідженнях Роберт Голлі, подальше вивчення транспортної РНК поглибило уявлення про її структуру та функціонування. Так, було з'ясовано причину включення незвичного нуклеозиду інозину до складу антикодону аланінової тРНК та його зв'язок з виродженістю генетичного коду. Дріжджова аланіл-тРНК має антикодон IGC, який впізнає кодони GCU, GCC та GCA. Перші дві основи кодону впізнаються точно і спарюються в звичайний спосіб, а от I може спарюватись з U, C або з A, а це означає, що інозин збільшує кількість кодонів, які здатна зчитувати аланінова тРНК.

Підтвердився і прогноз Голлі про те, що нові методи дослідження, зокрема рентгеноструктурний аналіз, дають змогу встановити третинну структуру транспортної РНК. На сьогодні відомо, що усі тРНК мають однакову L-подібну 3D-структуру, яка забезпечує доступ до аміноацил-тРНК- та до пептидил-тРНК-зв'язувальних ділянок рибосоми (рис. 4).

Після отримання Нобелівської премії Роберт Голлі працював професором з молекулярної біології Американського онкологічного товариства та науковим співробітником Інституту біологічних досліджень Солка, де займався механізмами регуляції росту клітин ссавців.

У 1945 р., після війни, Голлі одружився з Анною Дворкін, вчителькою математики. У них народився син Фредерік. Усі троє понад усе полюбляли подорожі в гори та до океану.

Помер Роберт Голлі від раку легень у 1993 р. у Лос-Гатосі (США) у віці 71 рік.

Наприкінці ще раз наголосимо, що розшифрування генетичного коду і його ролі в синтезі протеїнів було одним із найважливіших наукових досяг-

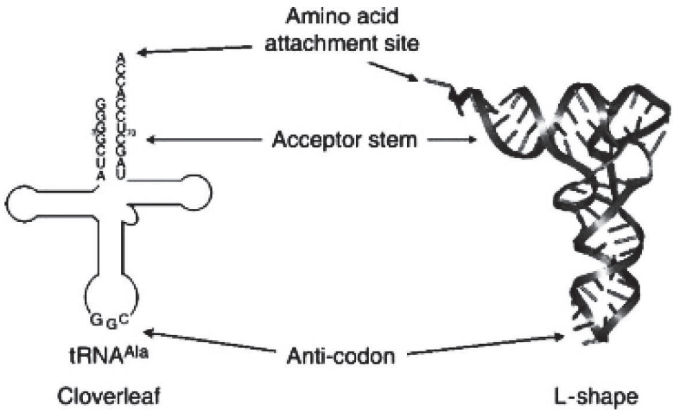


Рис. 4. Вторинна та третинна структура транспортної РНК [23]

нень XX ст. Присуджена М.В. Ніренбергу, Г.Г. Корані та Р.В. Голлі Нобелівська премія 1968 р. з фізіології та медицини стала визнанням їх істотного внеску в розуміння механізмів кодування та зчитування генетичної інформації, а також ознаменувала новий стрімкий етап розвитку молекулярної біології.

BREAKING THE GENETIC CODE — A NEW REVOLUTIONARY STAGE IN THE DEVELOPMENT OF MOLECULAR BIOLOGY

The Nobel prize in physiology or medicine, 1968

O.P. Matyshevska, V.M. Danilova, S.V. Komisarenko

This review presents the life stories of M. Nirenberg, H. Khorana, and R. Holley, winners of the 1968 Nobel Prize in Physiology or Medicine, the history of the discoveries made by these scientists, and the methodological approaches used in their works. Owing to the M. Nirenberg and H. Khorana research, the nucleotide compositions of all mRNA triplet codons were decoded. H. Khorana was the first scientist to experimentally prove the direct link between the nucleotide sequence of DNA and the amino acid sequence of the synthesized protein and to obtain a synthetic gene. R. Holley was the first to completely decode the sequence of transport RNA, determine its secondary structure and role in protein synthesis on the ribosome. The Nobel Prize awarded to the scientists was a recognition of their contribution in understanding the mechanisms of coding and reading genetic information and marked a breakthrough moment in the development of molecular biology.

Keywords: *M. Nirenberg, H. Khorana, R. Holley, genetic code, DNA, triplet codon, tRNA, ribosomes, enzymes, protein synthesis.*

REFERENCES

1. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Standing on the shoulders of giants: James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin and the birth of molecular biology. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 154—164.

2. Matyshevska O.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. 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. Vol. 92, N 6. P. 183—198.

3. Matyshevska O.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. The discovery of genetic control of enzyme and virus synthesis: 1965 Nobel Prize Laureates André Lwoff, François Jacob, Jacques Monod. *Ukr. Biochem. J.* 2021. Vol. 93, N 4. P. 111—119.

4. Matyshevska O.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. The discovery of the mechanisms of biological synthesis of nucleic acids: 1959 Nobel laureates S. Ochoa and A. Kornberg. *Ukr. Biochem. J.* 2021. Vol. 93, N 1. P. 129—138.

5. Marshall Warren Nirenberg. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/Marshall Warren Nirenberg.

6. Nirenberg M.W., Matthaei J.H. The dependence of cell-free protein synthesis in E. coli upon naturally occurring or synthetic polyribonucleotides. *PNAS.* 1961. Vol. 47, N 10. P. 1588—1602.

7. Speyer J.F., Lengyel P., Basilio C., Wahba A.J., Gardner R.S., Ochoa S. Synthetic polynucleotides and the amino acid code. *Cold Spring Harbor Symposia Quantitative Biology.* 1963. Vol. 28. P. 559—567.

8. Kaji A., Kaji H. Specific interaction of soluble RNA with polyribonucleic acid induced polysomes. *Biochem and Biophysical Research Communications.* 1963. Vol. 13, N 3. P. 186—192.

9. Nirenberg M., Leder P. RNA codewords and protein synthesis. The effect of trinucleotides upon the binding of sRNA to ribosomes. *Science.* 1964. Vol. 145, N 3639. P. 1399—1407.

10. Marshall W. Nirenberg. Nobel Lecture. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1968/nirenberg/lecture/

11. Har Gobind Khorana. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/Har Gobind Khorana.

12. Har Gobind Khorana. Regime of access : https://en.wikipedia.org/wiki/Har Gobind Khorana.

13. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Double Nobel prize winner: Frederick Sanger — the father of genomics. *Ukr. Biochem. J.* 2021. Vol. 93, N 2. P. 116—122.

14. Professor Har Gobind Khorana. Biographical summary. Regime of access : https://www.whatisbiotechnology.org/index.php/people/summary/Khorana.

15. Kornberg A., Bertsch L.L., Jackson J.F., Khorana H.G. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid, XVI. Oligonucleotides as templates and the mechanism of their replication. *PNAS.* 1964. Vol. 51, N 2. P. 315—323.

16. H. Gobind Khorana. Nobel Lecture. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1968/khorana/lecture/

17. Danilova V.M., Matyshevska O.P., Komisarenko S.V. Nobel Prize laureate Kary Mullis and the polymerase chain reaction (PCR). *Ukr. Biochem. J.* 2021. Vol. 93, N 5. P. 122—131.

18. Khorana H.G. Total synthesis of a gene. *Science.* 1979. Vol. 203, N 4381. P. 614—625.

19. Robert W. Holley. Regime of access : https://en.wikipedia.org/wiki/Robert W. Holley.

20. Madison J.T., Holley R.W. The presence of 5,6-dihydrouridylic acid in yeast «soluble» ribonucleic acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 1965. Vol. 18. P. 153—157.

21. Robert W. Holley. Nobel Lecture. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1968/holley/lecture/

22. Holley R.W., Apgar J., Everett G.A. et al. Structure of a ribonucleic acid. *Science.* 1965. Vol. 147, N 3664. P. 1462—1465.

23. Ewalt K.L., Schimmel P. tRNA synthetases. In Encyclopedia of Biological Chemistry (P. Modrich and W.J. Lennarz, eds.), Elsevier (Academic Press). 2003. Vol. 4. P. 263—266.

DOUBLE NOBEL PRIZE WINNER: FREDERICK SANGER —THE FATHER OF GENOMICS

The Nobel prizes in chemistry, 1958, 1980

T.V. Danylova, S.V. Komisarenko

This paper aims to outline briefly the main stages of Frederick Sanger's scientific activity — the only person to have won two Nobel Prizes in Chemistry (1958, 1980). His work on the structure of proteins, especially that of insulin, and the determination of base sequences in nucleic acids made an immense impact on the development of biochemistry and especially on the development of a new scientific field — molecular biology. His methods for determining the primary structure of proteins and nucleic acids helped biochemists and molecular biologists to determine the structure of many proteins and nucleic acids and laid the basis for genetic engineering.

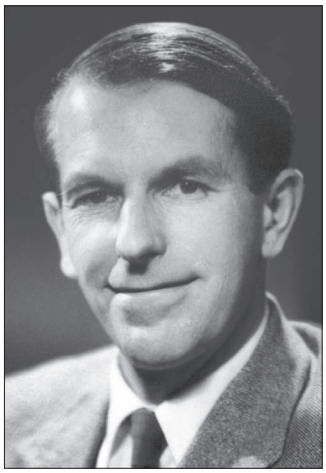
Keywords: *Frederick Sanger, Nobel Prize, insulin, proteins, nucleic acids, Sanger's method of DNA sequencing.*

The Nobel Prize is considered the highest honor in the scientific community. Reflecting the highest achievements one can attain in society, it has become more than just a prize — it provides worldwide recognition, respect, and prestige. It is a great honor to deliver a Nobel lecture, and even a greater honor to deliver it twice. Between 1901 and 2020, 934 Laureates and 28 organizations have been awarded the Nobel Prize. Four scientists obtained a Nobel Prize twice — Marie Skłodowska Curie (Physics 1903, Chemistry 1911), Linus Pauling (Chemistry 1954, Peace 1962), John Bardeen (Physics 1956, Physics 1972), and Frederick Sanger (Chemistry 1958, Chemistry 1980) [1]. Frederick Sanger and Linus Pauling's scientific creativity was directly related to the central focus of generating new Life Science knowledge [2]. This paper we devote to Frederick Sanger and his scientific legacy.

Frederick Sanger was born on August 13, 1918, in the village of Rendcomb (Gloucestershire, England). He was the middle child in the family of Frederick Sanger, a country medical doctor, and his wife Cicely Sanger (nйe Crewdson), the daughter of a wealthy cotton manufacturer. Cicely and Frederick Sanger had three children: Theodore was born in 1917, Frederick — in 1918, and Mary — in 1923.

All children were brought up as Quakers as their father was a devoted religious man active in the Society of Friends [5]. The children were taught such values as truth and hard work that defined Frederick's personality. Even when he no longer followed Quaker belief, these personal traits remained. When Frederick was 5 years old, his family moved in Tanworth-in-Arden, which was closer to Birmingham. His early schooling was taken care by a Quaker governess. At the age of nine, he went to the Downs School — a Quaker boarding school. In 1932, Frederick moved as a boarder to Bryanston, Dorset.

The liberal education there had a huge impact on Frederick. Being introduced to the joy of science and having a good rapport with his biology master *Frazer Hoyland*



Frederick Sanger [3]

and chemistry master *Henry Geoffrey Ordish*, he was involved in biology and chemistry clubs [6]. Doing well at school, he passed the School Certificate exams on seven subjects that qualified him for entry to Cambridge University. In 1936, he was accepted by St. John's College. Frederick's parents had been hoping their son would follow his father's footsteps by studying medicine. However, a young student abandoned the idea as he believed that science would provide him a more suitable lifestyle and would not be so time-consuming.

In Cambridge for Part I of the Natural Sciences Tripos, Frederick Sanger took chemistry, physics, and math and biochemistry as half subjects [6]. Explaining his choice of biochemistry, terra incognita for him at that time, Sanger wrote: «*When I arrived at the University of Cambridge as an undergraduate, I had to decide which three scientific subjects I should take. I had chosen two-and-a-half subjects and was looking through the list of "half" subjects when I noticed one I had not heard of before: «Biochemistry, supervisor Ernest Baldwin». The idea that biology could be explained in terms of chemistry seemed an exciting one, and this was amply confirmed when I met the enthusiastic Dr. Baldwin*» [7].

Ernest Baldwin was a member of the Biochemistry Department of the University of Cambridge established by an English biochemist *Frederick Gowland Hopkins* — the Nobel Prize winner in Physiology or Medicine 1929 for the discovery of vitamins [8]. Hopkins had the enthusiastic support of his younger colleagues. *Joseph* and *Dorothy Needhams* dubbed him the Fundator et Primus Abbas of biochemistry in England [9]. In 1961 during a Symposium on Biochemistry and Nutrition to celebrate the centenary of the birth of Frederick Gowland Hopkins, Joseph Needham stated: «*our meeting today symbolizes the feeling of discipleship which we all have for Frederick Gowland Hopkins, essentially the founder of modern biochemistry in our country*» [10]. When Frederick Gowland Hopkins retired, Joseph Needham moved out of biochemistry to focus on his other scope of interest — Chinese civilization and science. The Department of Biochemistry headed by Hopkins became an interesting and exciting place for Frederick Sanger. As he expected, it was here where he had a chance to acquire the necessary fundamental knowledge on living matter for solving problems in the field of medicine.

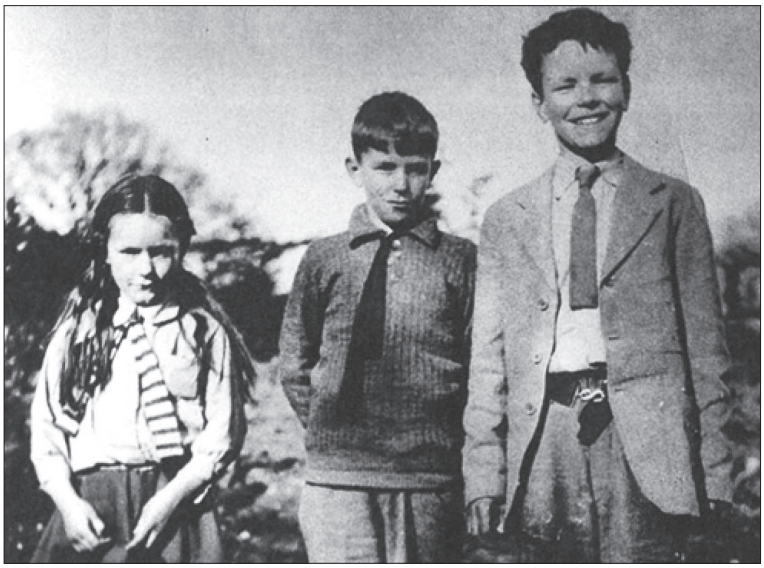
During his second year at the University, Frederick dropped physics and chose to study physiology instead, keeping his studies in chemistry, biochemistry, and math, which he was not happy with. He liked biochemistry most and it became the subject for Part II of the Tripos [5, 6].

In 1936, Frederick Sanger joined the Cambridge Scientists' Anti-War Group — a left-wing pacifist group founded in 1932 to campaign against militarism. Joseph Needham — one of his lecturers in biochemistry — was also a member of the Group. Sanger's religious background to a large extent shaped his pacifist views. Here he met his future wife *Joan Margaret Howe*. She was an economics student at Newnham College. They married in 1940 and remained married until her death in 2012. They

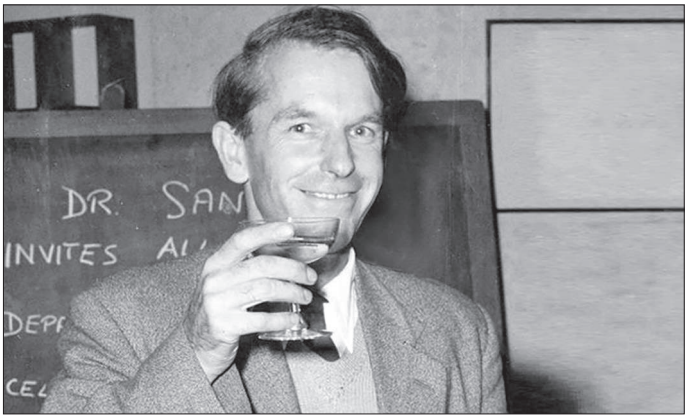
had three children — Robin (1943), Peter (1946), and Sally Joan (1960). Frederick Sanger ascribed his wife a key role in his successful career, saying: «*Although not a scientist herself she has contributed more to my work than anyone else by providing a peaceful and happy home*» [11].

In 1939, he graduated in biochemistry from St. John's College, Cambridge. Earning a First on his biochemistry exam, he was surprised. Being a modest person, Sanger wrote: «*I was not academically brilliant. I never won scholarships and would probably not have been able to attend Cambridge University if my parents had not been fairly rich...*» [7]. During World War II, a tribunal granted Sanger conscientious objector status and he became an orderly at a military hospital near Bristol. Frederick went to Cambridge to become a research student. As far as he did not need university financial support, he gained admission [5]. He started his PhD in October 1940 under the supervision of *Norman Wingate* (*Bill*) *Pirie*. He aimed to investigate whether edible protein could be obtained from grass. However, Pirie left the department, and *Albert Neuberger* was assigned as Frederick's new mentor. Sanger changed his thesis title and worked on the topic «*The metabolism of the amino acid lysine in the animal body*» [12]. Describing the beginning of his scientific journey, Sanger stated: «*I regard Albert as my main teacher. The most important thing he taught me, both by instruction and by example, was how to do research. I shall always be grateful for his kindness and patience. He also had an extremely wide knowledge of biochemistry, which I admired and used but could never emulate*» [7].

Frederick Sanger received his PhD in 1943. The emphasis on chemistry in Sanger's thesis was to be the mainstay of his future scientific project. After receiving his doctorate, Sanger joined a research group led by *Albert Charles Chibnall*, who replaced Hopkins as a professor of biochemistry at Cambridge. A research group led by him at the time was studying the chemistry of proteins including the structure of insulin.



Mary, Frederick and Theodor Sanger [4]



Frederick Sanger at his Nobel Prize celebration (1958) [23]

Working with Chibnall, Sanger became engaged in the identification of free amino groups in insulin. That time was particularly successful for protein chemistry. New methods have been developed for the fractionation of biopolymers, and there was a real opportunity to determine the exact chemical structure of these fundamental components of living matter. Sanger's interest in chromatography methods developed by the British biochemists *Archer Martin* and *Richard Synge*, the 1952 Nobel laureates in chemistry [13], prompted him to begin work on determining protein structure.

Using insulin as a model for study, Sanger developed a new method for analyzing the structure of proteins and showed that the insulin molecule is composed of two peptide chains referred to as the A chain and B chain. They are linked together by two disulfide bonds, and in most species, the A chain consists of 21 amino acids and the B chain of 30 amino acids. Benefiting from the method of paper chromatography, Sanger identified unmodified amino acids [14, 15]. It took him years to definitively identify 51 amino acids in the molecule of this protein hormone [16].

F. Sanger worked out the sequence of 30-residue-long B chain together with the Austrian scientist *Hans Tuppy* and 21-residue-long A chain with *Ted Thompson*, a PhD student from Australia [17—21].

In 1955, Sanger completed his investigation on the insulin sequence, and his work later became the basis for the production of synthetic insulin and other hormones. From 1944 to 1951, Frederick Sanger held a Beit Memorial Fellowship for Medical Research and since 1951 he has been a member of the External Staff of the Medical Research Council.

In 1958, Frederick Sanger received the Nobel Prize in Chemistry «*for his work on the structure of proteins, especially that of insulin*» [3]. In his Nobel Lecture «The Chemistry of Insulin», Sanger stressed: «*The determination of the structure of insulin clearly opens up the way to similar studies on other proteins and already such studies are going on in a number of laboratories. These studies are aimed at determining the exact chemical structure of the many proteins that go to make up living matter and hence at understanding how these proteins perform their specific functions on which the processes of Life depend. One may also hope that studies on proteins may reveal changes that take place in disease and that our efforts may be of more practical use to humanity*» [22].

Frederick Sanger's discovery made it possible to «look inside» the protein molecule and thus opened a new era in the development of *modern biochemistry — protein chemistry*.

Years after Nobel Prize award Sanger called «lean years». But moving to the new MRC Laboratory of Molecular Biology and joining forces with the group headed by *Max Perutz* marked a new period in Frederick's scientific life. One of three divisions was allotted to Sanger's group. Nucleic acids that were not of much interest before came to the fore of Sanger's scientific research. According to Sanger, «*with people like Francis Crick around, it was difficult to ignore nucleic acids or to fail to realize the importance of sequencing them. An even more seminal influence was John Smith, who was the nucleic acid expert in the new laboratory and who was extremely helpful to me, so that I could turn to him for advice in this new field*» [7].

Although nucleic acids as experimental material was new for Frederick, his interest in the problem of determining the primary sequence of biomolecules — sequencing — remained unchanged. Turning attention to the nucleic acids, RNA and DNA, Frederick Sanger developed methods for determining small sequences in RNA. And later, he developed the «***dideoxy***» technique for DNA sequencing [25]. This was a relatively rapid method and was used to determine the DNA sequence of the bacteriophage φX 174 of 5375 nucleotides in 1977, of human mitochrondrial DNA (16,338 nucleotides) and of bacteriophage λ (48,500 nucleotides) [11]. This method is also referred as «***Sanger's method of DNA sequencing***». Sanger stated: «*I suppose the dideoxy method can be regarded as the climax of my research career and the fulfilment of an ambition that had gradually been forming as I became more and more involved in sequencing*» [7]. **Sanger's sequencing was effectively adopted in the Human**

Frederick Sanger (left) with Sydney Brenner (center) and Max Perutz (right) at a social event at the MRC Laboratory of Molecular Biology in Cambridge [24]

Frederick Sanger — the father of genomics looking at an autoradiogram of DNA sequence. MRC Laboratory of Molecular Biology [24]

Genome Project (2000) which decoded the three-billion-letters human genetic code.

Sanger has repeatedly emphasized that this work owed much to his highly qualified collaborators. He had a high regard for *B.G. Barrell*, *A.R. Coulson*, and *G.G. Brownlee*, as well as for the students and postdoctoral fellows who had worked in the laboratory for several years.

In 1980, Frederick Sanger earned his second Nobel Prize in Chemistry jointly with *Paul Berg* and *Walter Gilbert*. One half was awarded to Paul Berg «*for his fundamental studies of the biochemistry of nucleic acids, with particular regard to recombinant-DNA*», the other half — jointly to Walter Gilbert and Frederick Sanger «*for their contributions concerning the determination of base sequences in nucleic acids*» [26]. An American physicist, biochemist, and molecular biologist Walter Gilbert and his student *Allan Maxam* independently devised a new technique for sequencing DNA in 1977 [27]. This amazing coincidence indicates that ideas are in the air [28, 29]. **The second Nobel Prize put Frederick Sanger in a select club of double Nobel Prize winners.**

Frederick Sanger retired shortly after this in 1983, saying he wanted to devote his remaining time to his family and hobbies. Explaining his decision to retire at the peak of his career, Sanger wrote: «*Unlike many scientists, I decided to retire and give up research when I reached the age of 65. This surprised my colleagues, and to some extent myself also. I had not thought about retirement until I suddenly realized that in a few years I would be 65 and would be entitled to stop work and do some of the things I had always wanted to do and had never had time for. The possibility seemed surprisingly attractive, especially as our work had reached a climax with the DNA sequencing method and I rather felt that to continue would be something of an anticlimax. The decision was I think a wise one — not only because I have greatly enjoyed the new life-style, but also because the aging process was not improving my performance in the laboratory and I think that if I had gone on working I would have found it frustrating and have felt guilty at occupying space that could have been available to a younger person. For more than 40 years I had had wonderful opportunities for research, and had been given the chance to fulfill some of my wildest dreams*» [7].

He spent the last decades of his life in tranquility cultivating his garden at his home in Swaffham Bulbeck, near Cambridge.

Frederick Sanger made an immense impact on modern biomedical science. In 1993, the Wellcome Trust and the MRC opened the **Sanger Centre** (now the **Wellcome Trust Sanger Institute**) near Cambridge, where a considerable part of the

Frederick Sanger at his second Nobel Prize ceremony [30]

The Wellcome Trust Sanger Institute [32]

human genome was decoded with the technique Sanger developed [31]. Still now, Sanger sequencing remains the gold standard. *The Wellcome Trust Sanger Institute is regarded as one of the pioneer DNA sequencing centers of the Human Genome Project, including sequencing of other organisms.*

Frederick Sanger — the only person to have won two Nobel Prizes in Chemistry — died on November 19, 2013, at age of 95. His death was a great loss to the scientific community. Being described as one of the greatest scientists of any generation, Sanger remained a very modest person throughout his life. He turned down the offer of an honorary title of knighthood as he was against the idea of being addressed as «Sir». He stated that a knighthood made people different, and he did not want to be different [12].

Frederick Sanger has been recognized with numerous awards and honors, including Corday-Morgan Medal and Prize, Chemical Society (1951); Fellow of

King's College, Cambridge Fellow of the Royal Society (1954), Foreign Honorary Member of the American Academy of Arts and Sciences (1958); Nobel Prize in Chemistry (1958); Honorary Member of the American Society of Biological Chemists (1961); Member of the Academy of Sciences of Argentina (1961); Member of the Academy of Science of Brazil (1961); Honorary Member of the Japanese Biochemical Society (1961); Corresponding Member of the Asociación Química of Argentina (1961); Member of the World Academy of Art and Science (1962); Commander of the Order of the British Empire (CBE) (1963); Alfred Benzon Prize, Denmark (1966); Honorary Fellow, National Institute of Sciences of India (1966); Foreign Associate of the US National Academy of Sciences (1967); Honorary DSc, Leicester University (1968); Royal Medal, Royal Society (1969); Honorary DSc, Oxford University (1970); Honorary DSc, Strasbourg University (1970); Sir Frederick Gowland Hopkins Memorial Medal, Biochemical Society (1971); Gairdner Foundation Annual Award, Canada (1971); William Bate Hardy Prize, Cambridge Philosophical Society (1976); Hanbury Memorial Medal, Pharmaceutical Society of Great Britain (1976); Fellow of the Royal Society of Edinburgh (1976); Copley Medal, Royal Society (1977); G.W. Wheland Medal, Chicago University (1978); Louisa Gross Horwitz Prize, Columbia University, New York (1979); Albert Lasker Award, New York (1979); Gairdner Foundation Annual Award, Canada (1979); Biochemical Analysis Prize, German Society of Clinical Chemists (1980); Nobel Prize in Chemistry (1980); Foreign Associate, French Academy of Sciences (1981); Companion of Honor (CH) (1981); Corresponding Member, Australian Academy of Sciences (1982); Dale Medal, Society for Endocrinology (1982); Honorary Fellow of King's College, Cambridge (1983); Gold Medal, Royal Society of Medicine (1983); Honorary ScD, University of Cambridge (1983); Honorary Member, Biochemical Society (1984); Order of Merit (OM) (1986); Association of Biomolecular Resource Facilities Award (1994); Honorary Fellow, St. John's College, Cambridge (2010); Fellow, American Association for Cancer Research Academy (2013) [16].

The DNA sequencing techniques Frederick Sanger and his colleagues developed during the 1970s are still being used today in genomics. His pioneering work defined genomics and provided the foundation for the way we explore genomes today, both at the Sanger Institute and worldwide.

• Sanger's scientific discoveries have had a huge impact on the development of biochemistry and especially on the development of a new scientific field — molecular biology. His methods for determining the primary structure of proteins and nucleic acids helped biochemists and molecular biologists to determine the structure of many proteins and nucleic acids and laid the basis for genetic engineering.

ДВІЧІ ЛАУРЕАТ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ: ФРЕДЕРІК СЕНГЕР — БАТЬКО ГЕНОМІКИ

Нобелівська премія з хімії, 1958, 1980

Т.В. Данилова, С.В. Комісаренко

Наведено короткий огляд основних етапів життєвої та наукової діяльності Фредеріка Сенгера — єдиної людини, яка двічі отримала Нобелівську премію з хімії (1958, 1980). Його роботи з вивчення структури протеїнів, особливо інсуліну, та встановлення послідовностей

основ у нуклеїнових кислотах мали величезний вплив на розвиток біохімії і, зокрема, на розвиток нової наукової галузі — молекулярної біології. Його методи визначення первинної структури біомакромолекул допомогли біохімікам і молекулярним біологам встановити структуру багатьох протеїнів і нуклеїнових кислот, а також заклали підвалини генної інженерії.

Ключові слова: *Фредерік Сенгер, Нобелівська премія, інсулін, протеїни, нуклеїнові кислоти, метод секвенування ДНК Сенгера.*

REFERENCES

1. Nobel Prize facts. The Nobel Prize. 2020. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/facts/nobel-prize-facts/

2. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of Nobel Prize laureates to research of the protein structure: J. Sumner, J. Northrop, W. Stanley, L. Pauling, F. Sanger, M. Perutz, J. Kendrew. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 127—153.

3. Frederick Sanger. Facts. The Nobel Prize. 1958. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1958/sanger/facts/

4. Sanger's early life: From the cradle to the laboratory. What is Biotechnology? Regime of access : https://www.whatisbiotechnology.org/index.php/exhibitions/sanger/early.

5. Jeffers J.S. Frederick Sanger: Two-Time Nobel Laureate in Chemistry. Springer, 2017. 99 p.

6. Brownlee G.G. Fred Sanger — Double Nobel Laureate (A Biography). Cambridge University Press, 2014. 223 p.

7. Sanger F. Sequences, sequences, and sequences. *Annual Review Biochemistry*. 1988. Vol. 57. P. 1—28.

8. Danilova V.M., Vynogradova R.P., Komisarenko S.V. The contribution of the Nobel prize laureates to the development of knowledge of vitamin biochemistry: Ch. Eijkman, F.G. Hopkins, A. Szent-Györgyi, W. Haworth, P. Karrer, R. Kuhn, H. Dam, E.A. Doisy, G. Minot, W. Murphy, G. Whipple, D. Hodgkin, R. Woodward. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 4. P. 95—117.

9. Weatherall M.W., Kamminga H. The making of a biochemist. II: The construction of Frederick Gowland Hopkins' reputation. *Medical History*. 1996. Vol. 40, N 4. P. 415—436.

10. Needham J. Opening address. *Proceedings of the Royal Society of London B.* 1962. Vol. 156, N 964. P. 289—294.

11. Frederick Sanger. Biographical. The Nobel Prize. 1980. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1980/sanger/biographical/

12. Keswani C., Ram R.M., Singh H.B. Discovering life on omics plane: the genius of Frederick Sanger. *Current Science*. 2014. Vol. 107, N 4. P. 707—708.

13. Grigorieva M.V., Danilova V.M., Komisarenko S.V. Brownian motion, electrophoresis, chromatography, and macromolecular chemistry: how it all unites Nobel laureats of the first half of the 20th century — T. Svedberg, A. Tiselius, R Synge and H. Staudinger. *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, N 5. P. 70—79.

14. Sanger F. The free amino groups of insulin. *Biochemical Journal.* 1945. Vol. 39, N 5. P. 507—515.

15. Sanger F. The terminal peptides of insulin. *Biochemical Journal.* 1949. Vol. 45, N 5. P. 563—574.

16. Brownlee G.G. Frederick Sanger CBE CH OM. 13 August 1918 — 19 November 2013. *Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society*. 2015. Vol. 61. P. 437—466.

17. Sanger F., Tuppy H. The amino-acid sequence in the phenylalanyl chain of insulin. I. The identification of lower peptides from partial hydrolysates. *Biochemical Journal.* 1951. Vol. 49, N 4. P. 463—481.

18. Sanger F., Tuppy H. The amino-acid sequence in the phenylalanyl chain of insulin. 2. The investigation of peptides from enzymic hydrolysates. *Biochemical Journal.* 1951. Vol. 49, N 4. P. 481—490.

19. Sanger F., Thompson E.O.P. The amino-acid sequence in the glycyl chain of insulin. I. The identification of lower peptides from partial hydrolysates. *Biochemical Journal*. 1953. Vol. 53, N 3. P. 353—366.

20. Sanger F., Thompson E.O.P. The amino-acid sequence in the glycyl chain of insulin. II. The investigation of peptides from enzymic hydrolysates. *Biochemical Journal*. 1953. Vol. 53, N 3. P. 366—374.

21. Sanger F., Thompson E.O.P., Kitai R. The amide groups of insulin. *Biochemical Journal*. 1955. Vol. 59, N 3. P. 509—518.

22. Sanger F. The Chemistry of Insulin. Nobel Lecture, December 11, 1958. Regime of access : https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/sanger-lecture.pdf.

23. Frederick Sanger. Department of Biochemistry. University of Cambridge. Regime of access : https://www.bioc.cam.ac.uk/about-us/history/nobel-prizes/frederick-sanger.

24. Giants in genomics: Fred Sanger. Yourgenome. Regime of access : https://www.yourgenome.org/stories/giants-in-genomics-fred-sanger.

25. Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *PNAS*. 1977. Vol. 74, N 12. P. 5463—5467.

26. The Nobel Prize in Chemistry 1980. The Nobel Prize. 1980. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1980/summary/

27. Maxam A.M., Gilbert W. A new method for sequencing DNA. *PNAS*. 1977. Vol. 74, N 2. P. 560—564.

28. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Standing on the Shoulders of Giants: James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin and the Birth of Molecular Biology. *Ukr. Biochem. J*. 2020. Vol. 92, N 4. P. 154—164.

29. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Nobel Prize Winner Erwin Schrödinger: The Physicist, Philosopher, and Godfather of Molecular Biology and Genetics. *Ukr. Biochem. J*. 2020. Vol. 92, N 3. P. 93—100.

30. The ultimate goal: Sequencing DNA. What is Biotechnology? Regime of access https://www.whatisbiotechnology.org/index.php/exhibitions/sanger/dna.

31. Walker J. Frederick Sanger (1918—2013). *Nature*. 2014. Vol. 505, N 7481. P. 27.

32. It Takes a Village. nbbj. Regime of access : http://www.nbbj.com/work/wellcome-trust-sanger-institute-genome-campus-expansion/

ISSN 2409-4943 Ukr. Biochem. J. 2021. Vol. 93, N 2. P. 116—122.

НОВИЙ ПОГЛЯД НА РНК: ВІДКРИТТЯ СІДНІ ОЛТМЕНА І ТОМАСА ЧЕКА

Нобелівська премія з хімії, 1989

М.В. Григор'єва, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

Нобелівським лауреатам із хімії 1989 р. Сідні Олтмену та Томасу Чеку належить одне з найважливіших відкриттів у молекулярній генетиці. Незалежно один від одного вони продемонстрували нові експериментальні докази того, що молекули РНК можуть не просто передавати генетичну інформацію від ДНК, а й за певних умов проявляти ензиматичні (каталітичні) властивості. Виявилося, що функції, виконання яких раніше відводили винятково протеїновим ензимам, можуть виконувати також РНК, названі рибозимами. Згодом рибозими стали новим інструментом у генній інженерії, біохімії, біотехнології та медицині.

Ключові слова: *Сідні Олтмен, Томас Чек, каталітичні властивості РНК, рибозими, сплайсінг, ендонуклеази.*

Як відомо, процес передачі спадкової інформації є визначальним для існування всього живого. За спрощеною схемою реалізація цього процесу відбувається переписуванням інформації з ДНК на РНК і далі на протеїни, але, насправді, передавання інформації є надзвичайно складною системою і реалізується з використанням величезної кількості механізмів.

Так, раніше вважалося, що нуклеїнові кислоти ДНК і РНК є лише носіями генетичної інформації, тоді як протеїни у формі ензимів каталізують хімічні процеси життєдіяльності. Погляди науковців на генетичну інформацію (спадковість) та функціонування (біокаталіз) у живих клітинах змінилися завдяки відкриттю каталітичних властивостей РНК Сідні Олтменом і Томасом Чеком.

Наведемо важливі біографічні факти цих дослідників та історію їхнього відкриття.

СІДНІ ОЛТМЕН

Сідні Олтмен (англ. *Sidney Altman*) народився в 1939 р. у Монреалі. Для Сідні та його сім'ї, бідних емігрантів із Радянського Союзу, Канада стала країною реальних можливостей для поліпшення свого життя. Батьки Сідні вважали, що наполеглива праця в стабільних умовах завжди принесе результат, навіть якщо до нього наближаєшся невеликими кроками. Для першого покоління дітей Олтменів, народжених у Канаді, цей шлях можливостей почався з отримання освіти.

Сідні згадував, що дві незабутні події зумовили його інтерес до науки, першою з яких стала поява атомної бомби. Ця подія вразила його неймовірно. Друга подія сталася приблизно через сім років, коли до рук Сідні потрапила книга про Періодичну систему хімічних елементів Д.І. Менделєєва, в якій він

Сідні Олтмен (1939)

вперше побачив «*витонченість наукової теорії та її прогностичну силу*» [1].

Після здобуття середньої освіти та закінчення коледжу Сідні мав намір вступити до університету Макгілла, але неочікувана серія подій привела його в Массачусетський технологічний інститут, де він почав вивчати фізику. Там він пережив «*чотири роки надмірного стимулювання серед блискучих, зухвалих і завзятих однолітків та видатних учителів*» [1]. Його дипломною роботою з ядерної фізики керував *Лі Гродзінс*, який допомагав у проведенні досліджень, а згодом їхня співпраця переросла в дружбу.

Під час свого заключного семестру в Массачусетському технологічному інституті Сідні пройшов короткий вступний курс молекулярної біології, який викладав *Сайрус Левінталь*. Завдяки цьому Сідні отримав базове уявлення про нуклеїнові кислоти та молекулярну генетику, тобто був вже підготовленим до майбутніх зустрічей з цією тематикою.

У 1960 р. Сідні Олтмен отримав ступінь бакалавра з фізики в Массачусетському технологічному інституті. Далі, як аспірант із фізики, він провів вісімнадцять місяців у Колумбійському університеті в Нью Йорку (1960—1962), чекаючи можливості попрацювати в лабораторії і розмірковуючи над тим, чи варто взагалі продовжувати вивчати фізику. Після марних пошуків наукової роботи в Колумбійському університеті, а потім — в Колорадо, Олтмен зустрівся з відомим фізиком *Георгієм Гамовим* (1904—1968), який першим зробив розрахунок генетичного коду. Останній познайомив його з *Л. Лерманом*, який займався в Медичному центрі університету Колорадо *інтеркаляцією (вбудовуванням) молекул акридинів у молекулу ДНК*. Так сталося посвячення Сідні в біохіміки (біофізики). Після роботи в літній програмі в Колорадо він почав працювати під керівництвом *Леонарда Лермана над інтеркаляцією акридинів у ДНК* вже як біофізик у Медичному центрі університету Колорадо в Боулдері, де в 1967 р. захистив дисертацію та здобув науковий ступінь із біофізики.

Після роботи з вивчення впливу акридинів на реплікацію ДНК бактеріофага Т4 Олтмен перейшов працювати в лабораторію *Метью Месельсона* в Гарвардському університеті, де протягом 1967—1969 рр. вивчав *участь ДНК-ендонуклеази в процесах реплікації та рекомбінації ДНК бактеріофага Т4.*

Два роки потому він став членом групи, яку очолювали *Сідні Бренер* (Нобелівська премія з фізіології або медицини, 2002) і *Френсіс Крік* (Нобелівська премія з фізіології або медицини, 1962) [2], у Медичній дослідницькій раді Лабораторії молекулярної біології в Кембриджі (Велика Британія). Це місце здалося Олтмену науковим раєм і він писав, що цей період у його житті був неймовірним. Як колишній фізик він порівняв його з відчуттям, еквівалентним до того, ніби він міг приєднатися до групи Бора в Копенгагені в 1920-х [1] або поспілкуватися з Е. Шредінгером, який у своїй блискучій книзі «Що таке жит-

тя? Фізичний аспект живої клітини» зробив вдалу спробу усунути розрив між фізикою і біологією [3].

Олтмен згадував: «*Бреннер і Крік зробили щось дуже незвичне в Кембриджі. Вони працювали разом в одному офісі. Я не знаю жодного викладача в США чи Канаді, який би ділився офісом із колегою. У них весь час було бажання спілкуватися між собою та ділитися ідеями. Більшість моїх детальних розмов про науку відбулася із Сідні Бреннером. Він насправді заслужив свого Нобеля ще за кілька десятиліть до того, як був нагороджений*» [1].

У лабораторії молекулярної біології Кембриджського університету Сідні розпочав роботу, яка сприяла відкриттю ензиму *рибонуклеази Р* (РНКаза Р) та ензиматичних властивостей РНК-субодиниці цього ензиму.

РНКаза Р — *рибозим* із особливою структурою молекули РНК, що діє в такий самий спосіб, як ензим протеїнової природи. РНКаза Р гідролізує певні послідовності в молекулах РНК, а каталітичною субодиницею цього ензиму є РНК М1.

Робота над РНК почалася як вивчення певних мутантів, які порушували здатність молекул тРНК нормально функціонувати під час трансляції [4]. Це дослідження, в свою чергу, привело до ідентифікації ще однієї стійкої молекули РНК, яка несподівано мала всі властивості ензиму. Вивчаючи каталітичні властивості РНКази Р, Олтмен встановив, що ензим складається зі структурної молекули РНК й одного (в прокаріот) або декількох (в евкаріот) протеїнів. Вважалося, що каталітична активність бактеріальної рибонуклеази, що бере участь в процесі дозрівання транспортних РНК, визначається протеїновою субодиницею. Однак Олтмен і співробітники його лабораторії виявили, що однієї молекули РНК, що входить до складу рибонуклеази, достатньо для здійснення каталітичної активності [5]. Таким чином, було встановлено, що не тільки ензими, а і молекули РНК можуть каталізувати хімічні реакції. Пізніше Олтмен з'ясував, що в евкаріотичному комплексі РНКаза Р, на відміну від бактеріальної рибонуклеази, протеїнова частина необхідна для каталізу і ця протеїнова субодиниця РНКази Р може змінювати місце розщеплення і впливати на швидкість реакції способом, залежним від природи конкретного субстрату [6, 7].

У 1971 р., після відкриття радіохімічно чистого попередника молекули тРНК, Сідней влаштувався на роботу доцентом Єльського університету в Нью-Хейвені (штат Коннектикут). Згодом, у 1980 р. він обійняв посаду професора, через три роки очолив кафедру (1983—1985), а потім з 1985 до 1989 р. працював деканом Єльського коледжу. За чотири роки роботи на посаді декана він, за його висловлюванням, набув досвіду, побачив повну панораму людських та академічних проблем, які існують в університетській спільноті, знайшов багато нових друзів. 1 липня 1989 р. Олтмен повернувся до роботи на посаді професора на денній основі.

У 1984 р. Сідні Олтмен отримав громадянство Сполучених Штатів, при цьому зберігши громадянство Канади.

У 1989 р. за дослідження каталітичної активності РНК Сідні Олтмен отримав Нобелівську премію з хімії, розділивши її з *Томасом Чеком*.

У нобелівській промові Сідні Олтмен подякував своїм наставникам і особистим друзям, серед яких назвав *Леонарда Лермана*, *Метью Месельсона*, *Сідні Бреннера* та *Лі Гродзінса*. Сідні Олтмен також зауважив, що його життя було надзвичайно збагачене шлюбом із *Енн Корнер* (вони побралися в 1972): «*Моя дружина — моя колега, наставник і друг у будь-якому відношенні. Вона і наші двоє чудових дітей: Даніель (1974) та Лія (1977), зробили незамінний внесок у кожен успіх, якого я досяг*» [8].

Наукова та суспільна діяльність Сідні Олтмена продовжується й дотепер. Так, у 2013 р. його заявка одержала мегагрант у третьому конкурсі мегагрантів. Дослідження на тему «*РНК-спрямовані антибактерійні та антивірусні препарати на основі олігонуклеотидів*» було заплановано провести в Інституті хімічної біології і фундаментальної медицини Сибірського відділення РАН, що й було з успіхом реалізовано.

У 2016 р. він підписав лист із закликом до Greenpeace, Організації Об'єднаних Націй та урядів всього світу припинити боротьбу з генетично модифікованими організмами (ГМО).

С. Олтмен є членом Національної академії наук США, Американської академії наук і мистецтв, Американського філософського товариства і Американської асоціації сприяння розвитку науки (AAAS) тощо.

Підсумовуючи, наголосимо, що Сідні Олтмену належить одне з найважливіших відкриттів в молекулярній генетиці. На початку 80-х років XX ст. *Олтмен і очолювана ним група дослідників вперше довели, що за певних умов молекули РНК виявляють ензиматичні (каталітичні) властивості.* Одночасно ним було одержано нові експериментальні докази того, що *молекули РНК можуть бути носіями генетичної інформації, а не тільки пасивними передавачами її від ДНК.* Відкриття С. Олтмена остаточно затвердило в науці запропоноване ще *Девідом Балтімором* (Нобелівська премія з фізіології або медицини, 1975) нове розуміння механізму спадковості й набуло практичного застосування в багатьох галузях біотехнології. Поряд із цим одержані ним *результати закріпили позиції прибічників концепції природного виникнення життя на Землі, вказавши на молекулу РНК як на першоджерело живої матерії* [9].

ТОМАС РОБЕРТ ЧЕК

То́мас Ро́берт Че́к (англ. *Thomas Robert Cech*) — американсьий біохімик народився в Чикаго 8 грудня 1947 р. Його дід Йозеф іммігрував до США з Богемії в 1913 р. Інші його бабусі та дідусі, також чеського походження, були американцями першого покоління. Його батько лікар, а мати домашня господиня.

Дитячі роки Томаса Чека, його сестри Барбари і брата Річарда пройшли в школі Айова-Сіті (штат Айова). У четвертому класі Том захопився збиранням гірських порід і корисних копалин, зацікавився процесом їх формування. Він міг годинами вивчати кристалічні структури, обговорювати метеорити та скам'янілості, словом, мріяв займатися геологією.

У 1966 р. Томас вступив до приватного Гріннелльського коледжу, відомого своїм серйозним ставленням до науки, новаторською педагогікою та відданістю соціальній справедливості. Там він, як пізніше згадував, із задоволен-

Томас Чек (1947)

ням поряд з хімією вивчав «Одіссею» Гомера, «Пекло» Данте та історію конституції Америки. У коледжі він познайомився з *Керрол Мартинсон* «*буквально над апаратом температури плавлення в лабораторії органічної хімії*» [10]. Згодом Керрол стала його дружиною; у шлюбі в них народилися дві доньки — Еллісон (1982) і Дженніфер (1986).

Навчаючись хімії у коледжі, Томас спочатку віддавав перевагу фізичній хімії, але під час виконання бакалаврської роботи в лабораторії *Лоуренса Берклі* він переконався, що не виявляє достатньо тривалої уваги до вивчення динаміки та швидкості хімічних процесів газової фази. Пізніше його «*зацікавила біологічна хімія завдяки майже щоденній взаємодії в дослідженнях експериментального дизайну, спостереження та інтерпретації*» [10].

У 1970 р. Томас Чек разом із дружиною працювали на кафедрі хімії у Каліфорнійському університеті (Берклі). Керівник його дисертаційної роботи — *Джон Херст* — у той час захоплювався дослідженнями структури та функції хромосом. Як зазначав пізніше Томас Чек в лекції: «*...ці хромосоми виявилися інфекційними; я від них ще не одужав і не хочу одужувати*» [10].

У 1975 р. Т. Чек і його дружина отримали ступінь доктора наук і перейшли на докторські посади в Кембриджі (штат Массачусетс): Керол — у Гарварді, а Томас — у Массачусетському технологічному інституті, де зміцнив свої знання з біології в лабораторії *Мері Лу Парду*. У 1978 р. Томас Чек отримав свою першу посаду викладача в університеті Колорадо (Боулдер), де викладав хімію та біохімію і де працює дотепер на кафедрі хімії та біохімії як заслужений професор.

У 2000 р. Т. Чек змінив *Пеннела Чоппіна* на посаді президента Медичного інституту Говарда Х'юза (Howard Hughes Medical Institute (HHMI)) в Мериленді. Він також продовжував очолювати свою біохімічну лабораторію в університеті Колорадо і викладати в ньому. Весною 2009 р. він пішов з посади президента HHMI, щоб повернутись лише до викладання та досліджень [11].

Основним напрямом досліджень Томаса Чека є *процес транскрипції в ядрі клітин*. Він також вивчав *структуру та функцію хромосом, механізм перенесення генетичного коду від ДНК до РНК*. У 1970-ті досліджував мозаїчну структуру генів, в яких кодуючі частини (*екзони*) чергуються з некодуючими вставками (*інтронами*). У 1980 р. встановив, що виділений із рибосом одноклітинного організму *Tetrahymena thermophila* ген, який кодує 265 рибосомних РНК, складається з двох екзонів, розділених одним інтроном. У пошуках протеїнового ензиму для реакції *сплайсингу* (видалення інтрону та зшивання екзонів) Т. Чек (1982) виявив, що ця реакція перебігає без будь-яких ензимів, тобто вперше показав, що молекули РНК не тільки є пасивними носіями генетичної інформації, а й можуть виконувати каталітичні функції та брати участь у клітинних реакціях. У 1983—1985 рр. він встановив, що каталізатором самосплайсингу є інтронна ділянка РНК — *рибозим* (у 1983 р. незалежно від Чека каталітичну активність

РНК виявив Сідні Олтмен, про що йшлося вище). У подальшому Чек встановив, що зміною нуклеотидної послідовності рибозиму можна створювати *ендонуклеази*, специфічні до будь-якої заданої ділянки іншої РНК. Показав, що *каталітична активність молекул РНК*, як і в разі протеїнових ензимів, залежить від *тривимірної структури*.

Ензими РНК, відомі як *рибозими*, стали новим інструментом у *генній інженерії*. Вони також мають потенціал для надання таких *терапевтичних ефектів,* як, наприклад, *здатність руйнувати і розщеплювати вірусні РНК*, що потрапляють в організм.

Саме «*за відкриття каталітичної активності рибонуклеїнових кислот*» Томас Роберт Чек разом з Сідні Олтменом у 1989 р. отримали Нобелівську премію з хімії. З цього приводу Чек писав: «*Не так давно більшість людей вважали РНК просто одноразовою копією дійсно важливої нуклеїнової кислоти — ДНК. Адже саме подвійна спіраль ДНК з'являється на обкладинках журналів та телеекранах; ДНК — це матеріал наших генів і хромосом, той матеріал, який визначає нашу генетичну спадковість. РНК — це копія інструкції ДНК, яка слугує месенджером для прямого синтезу протеїну, який руйнується після виконання своєї функції.*

Моя дослідницька група в Колорадо на початку 1980-х відіграла певну роль у відкритті нових видів діяльності РНК. Сідні Олтмен з Єльського університету, який розділив зі мною Нобелівську премію з хімії в 1989 році, зробив незалежне відкриття. Ми обидва виявили, що РНК може скластись у складні форми і каталізувати біохімічні реакції, тобто виконувати ті функції, які, як вважалося раніше, були обмежені протеїновими ензимами. Ми зробили висновок, що РНК іноді буває активним учасником хімії життя, а не просто пасивним месенджером, і ми назвали ці РНК — рибозимами» [12].

Інша галузь досліджень Томаса Чека — *теломери*, структура, яка захищає кінці хромосом. Теломери скорочуються з кожним дублюванням ДНК і мають подовжуватися кожного разу. У полі зору Т. Чека — ензим *теломераза*, що копіює теломерні послідовності і подовжує їх. Субодиниці протеїну активного сайта *теломерази* належать до нового класу *транскриптаз* — ензимів, які, як вважалося раніше, були транспортувальними елементами та обмежувалися вірусами. Нині встановлено, що *теломераза* активується у 90% випадків раку людини. Тому препарат, який інгібує його активність, може бути корисним для лікування цього захворювання.

Томас Чек одержав понад десяток національних та міжнародних нагород, які передували Нобелівській премії з хімії в 1989 р. Серед них: премія Pfizer у галузі хімії ензимів (Американське хімічне товариство), премія з молекулярної біології (Національна академія наук США), премія Хайнекена (Королівська нідерландська академія наук і мистецтв) та премія Ласкера. Він отримав почесний ступінь доктора наук у Гріннелльському коледжі (1987) і в Чиказькому університеті (1991). Його обрали до Національної академії наук США (1987) і Американської академії наук і мистецтв (1988). У 1987 р. Томасу Чеку присвоїли довічне професорство Американського товариства раку, а в 1988 р. він став дослідником Медичного інституту Говарда Х'юза. З 2009 р. — почесний доктор Рокфеллерівського університету, а з 2010 р. — Гарварду. Він є членом редколегії журналу «*Genes & Development*» [13].

Для Томаса Чека характерним є активна громадянська позиція. У 2016 р. він підписав лист із закликом до Greenpeace, Організації Об'єднаних Націй і урядів усього світу припинити боротьбу з генетично модифікованими організмами (ГМО) [14].

Насамкінець, відзначимо, що відкриття *каталітичної активності рибонуклеїнових кислот* Т. Чеком і С. Олтменом важко переоцінити, адже воно має надважливе значення не тільки для генної інженерії, біохімії, біотехнології та медицини, а й для розуміння біохімічного механізму виникнення життя на Землі [12].

Упродовж останніх двох десятиліть дослідження РНК досягли нового рівня. Нове розуміння ролі молекул РНК має не лише загальнонаукове, а й практичне значення. Нині зрозуміло, що РНК відіграють значно вагомішу роль у біології, ніж багато хто здогадувався. Крім того, що РНК є необхідною для запуску процесу реплікації молекул ДНК, вона виконує роль матриці в оборотній транскрипції, бере участь у синтезі протеїну (всі три типи РНК — мРНК, тРНК і рРНК) — у побудові рибосом, у нарощуванні теломерних кінців хромосом, виявляє здатність до самосплайсингу, має каталітичну активність тощо. Наразі вже відомо, що РНК виконує й роль геному у вірусів і віроїдів, а нещодавно подібні гени знайдено в ракових клітинах. А це означає, що можливе розроблення лікарських препаратів для дії на ці гени або на відповідні РНК.

Розкриття нових функцій РНК тільки починається. Можна з впевненістю стверджувати, що інформація, яка міститься в ядрі клітини, не є «пупом землі» і багато компонентів клітини поза ядром відіграють таку саму важливу роль, як і ДНК, що ми й намагалися показати у короткому нарисі про відкриття нобелівських лауреатів — *Сідні Олтмена* і *Томаса Чека*.

A NEW VIEW OF RNA: DISCOVERY BY SIDNEY ALTMAN AND THOMAS CECH
The Nobel prize in chemistry, 1989

M.V. Grigorieva, V.M. Danilova, S.V. Komisarenko

The 1989 Nobel Prize Laureates in Chemistry Sidney Altman and Thomas Robert Cech made one of the most important discoveries in molecular genetics. Independently of each other, they demonstrated new experimental evidence that RNA molecules can not only transmit information from DNA but, in certain conditions, have the enzymatic (catalytic) properties too. As it turned out, the functions previously attributed exclusively to protein enzymes can be also performed by RNA called ribozymes. Later, ribozymes became a new tool in genetic engineering, biochemistry, biotechnology and medicine.

Keywords: *Sidney Altman, Thomas R. Cech, RNA catalytic properties, ribozymes, splicing, endonucleases.*

REFERENCES

1. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1989/altman/biographical/
2. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Standing on the shoulders of giants: James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin and the birth of molecular biology. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 154—165.

3. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Nobel prize winner Erwin Schrödinger: the physicist, philosopher, and godfather of molecular biology and genetics. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 3. P. 93—100.

4. Altman S. Isolation of tyrosine tRNA precursor molecules. *Nature New Biology*. 1971. Vol. 229, N 1. P. 19—21.

5. Guerrier-Takada C., Gardiner K., Marsh T. et al. The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme. *Cell*. 1983. Vol. 35, N 3, Pt 2. P. 849—857.

6. Guerrier-Takada C., van Belkum A., Pleij C.W., Altman S. Novel reactions of RNAase P with a tRNA-like structure in turnip yellow mosaic virus RNA. *Cell*. 1988. Vol. 53, N 2. P. 267—272.

7. Guerrier-Takada C., Lumelsky N., Altman S. Specific interactions in RNA enzyme-substrate complexes. *Science*. 1989. Vol. 246, N 4937. P. 1578—1584.

8. Altman S., Baer M.F., Bartkiewicz M. et al. Catalysis by the RNA subunit of RNase P — a minireview. *Gene*. 1989. Vol. 82, N 1. P. 63—64.

9. Regime of access : http://cyclowiki.org/w/index.php?title=Сидни_Олтмен.

10. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1989/cech/article/

11. HHMI News: Thomas R. Cech to Step Down as HHMI President. Regime of access : https://www.hhmi.org/news/thomas-r-cech-step-down-hhmi-president.

12. From Les Prix Nobel. The Nobel Prizes 1989, Editor Tore Frдngsmyr, [Nobel Foundation], Stockholm, 1990.

13. Regime of access : http://genesdev.cshlp.org/site/misc/about.xhtml.

14. Laureates Letter Supporting Precision Agriculture (GMOs).

ISSN 2409-4943 Ukr. Biochem. J. 2021. Vol. 92, N 5. P. 155—165.

ЛАУРЕАТ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ КЕРІ МАЛЛІС І ПОЛІМЕРАЗНА ЛАНЦЮГОВА РЕАКЦІЯ (ПЛР)

Нобелівська премія з хімії, 1993

В.М. Данилова, О.П. Матишевська, С.В. Комісаренко

Наука, як ніщо інше серед інституцій людства, щороку росте як бур'ян

Кері Малліс

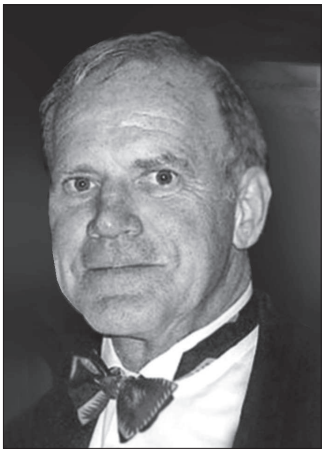
Висвітлено основні віхи життєвого і творчого шляху та неординарність особистості лауреата Нобелівської премії в галузі хімії за 1993 р. Кері Б. Маллісa. Описано історію відкриття Кері Маллісом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) — революційного методу молекулярної біології й генетики, одного з монументальних наукових методів XX ст. Метод заснований на багаторазовому вибірковому копіюванні певної ділянки ДНК за допомогою ензимів у штучних умовах (in vitro). При цьому відбувається копіювання лише тієї ділянки, яка задовольняє задані умови, і тільки в тому разі, якщо вона присутня в досліджуваному зразку. Відкриття методу ПЛР стало однією з найвидатніших подій у галузі молекулярної біології за останні десятиріччя.

Ключові слова: *Кері Малліс, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), ДНК, ампліфікація, ДНК-полімераза, історія науки.*

На початку 1970-х років норвезький вчений *Хьйолль Клеппе* (*K. Kleppe*) з лабораторії нобелівського лауреата *Гара Гобінди Корани* (*H. Gobind Khorana*) запропонував спосіб ампліфікації (копіювання) ДНК за допомогою пари коротких одноланцюгових молекул ДНК — синтетичних праймерів [1]. Однак експонентного збільшення кількості копій фрагмента вихідної ДНК унаслідок реакції досягнуто не було, і на той час ця ідея залишилася нереалізованою.

У 1983 р. Кері Малліс запропонував метод, який став надалі відомим як *полімеразна ланцюгова реакція* (ПЛР). Його суть полягає в багаторазовому копіюванні (ампліфікації) у пробірці певних ділянок ДНК у процесі повторюваних температурних циклів. На кожному циклі ампліфікації синтезовані раніше фрагменти заново копіюються ДНК-полімеразою (про її відкриття йшлося раніше) [2]. Завдяки цьому відбувається багаторазове збільшення кількості специфічних фрагментів ДНК у мільярди разів, що значно спрощує подальший аналіз. Перша публікація про метод ПЛР з'явилася в листопаді 1985 р. у журналі «Science» [3]. Через 8 років після цього за винахід методу ПЛР K. Mullis отримав Нобелівську премію з хімії [4].

Кері Бенкс Малліс (Мулліс) (англ. *Kary Banks Mullis*) народився в містечку Леноїр (*Lenoir*) у Північній Кароліні (США) 28 грудня 1944 р. у сім'ї фермера. Саме життя в сільській місцевості пробудило його ранній інтерес до біології. А дитинство його пройшло в місті Колумбія (Південна Кароліна, США). Вже тоді в Кері виявляються рідкісні риси, за словами Джеймса Вотсона, «відмінника-хулігана» [5]. Коли батьки розлучились, мати пішла працювати рієлтером і багато часу проводила на роботі, а діти залишалися без нагля-



Кері Малліс (1944—2019)

ду. Проте скарг зі школи на них не було, а в матері до них була тільки одна претензія: з кухні мішками пропадав цукор. Виявилося, він мав стати паливом для космічного корабля. Так, у 1959 р. чотирнадцятирічний Кері Малліс спроєктував ракету. Сплав цукру з калійною селітрою заливався в металеву трубку довжиною 120 см, запалювання відбувалося за допомогою детонатора (їх тоді продавали дітям без зайвих запитань). Ракета злетіла вгору на цілу милю. Після згоряння твердопаливної частини розкрився парашут населеної кабіни, і пасажир (!*обваляне в азбесті жабеня*) повернувся із тропосфери живим.

Не менш цікаві експерименти Кері продовжував проводити і в студентські роки. Він навчався і отримав ступінь бакалавра наук у галузі хімії в Технологічному інституті Джорджії (Georgia Institute of Technology, Atlanta) у 1966 р., а ступінь доктора філософії в галузі біохімії — в Університеті Каліфорнії (University of California, Berkeley) в 1972 р., де читав лекції з біохімії до 1973 р. У тому самому році став постдокторантом з педіатричної кардіології в Медичній школі Університету Канзасу (University of Kansas Medical School) з акцентом на галузь фізіології легеневих судин. У 1977 р. розпочав дворічну докторську роботу з фармацевтичної хімії в Університеті Каліфорнії [6].

У студентські роки Кері влаштував у гаражі лабораторію, де виробляв вибухівку, яку потім, як цілком легальний дилер, продавав гірникам. У Малліса з'явилися гроші й на третьому курсі він зумів отримати речовини на кшталт *психоделічних*. Щотижня однокурсники отримували від нього щось новеньке з цього класу речовин на пробу, після чого обмінювалися враженнями. На той час це ще було законно.

І от, споживаючи психоделічні речовини в Берклі, аспірант Малліс перейнявся новими *космологічними теоріями*. Він вирішив, що час для спостерігача із Землі і для спостерігача за межами сфери, що випускає реліктове випромінювання, має текти в різні боки. І тут же написав про це псевдонаукову статтю з амбітною назвою «*Космологічні наслідки обернення часу*», нахабно відіславши її в «*Nature*» [7]. На загальний подив, її було прийнято, хоча в цьому журналі не друкували статті аспірантів [8]. Як потім зауважив Малліс у нобелівській лекції: «*...то була типова "гіпотеза першокурсника", і редакції, напевно, до цих пір соромно за цю публікацію*» [9]. Але щось таки «зачепило» високоповажних рецензентів журналу, опублікуватися в якому вважають за честь наймаститіші метри!

Науковий керівник Малліса, біохімік *Джо Нейландс* (*Joe Neilands*) дозволяв своїм учням захищати роботи з будь-якої теми, аби вони хоч щось робили самостійно. Оскільки Малліс вирішив після Берклі покинути хімію та стати письменником, то написав свою дисертацію з космології в гумористичному жанрі, через що половина комісії була проти присудження йому науково-

го ступеня. «*Але стаття в “Nature”*, — як пожартував Малліс, — *переважила*»: його куратори дали добро на присудження йому PhD-ступеня з біохімії, незважаючи на те, що він не пройшов курсу з молекулярної біології.

Після Берклі розпочався період пошуків: дитяча кардіохірургія, фармацевтична хімія, невдала спроба стати письменником, бурхливе особисте життя і, нарешті, повернення до хімії в біотехнологічній корпорації «*Cetus Corp.*» в Емервіллі (Каліфорнія, США). Як хімік, що вивчав ДНК, він упродовж семи років досліджував синтез *олігонуклеотидів*, що й привело його до винаходу *полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР)* [3]. Але про це відкриття йтиметься нижче, а наразі повернемося до кар’єри Малліса та його особистого життя.

У 1986 р. Кері Малліса призначили відповідальним за дослідження з молекулярної біології в корпорації «*Xytronyx, Inc.*» в Сан-Дієго, де він зосередився на ДНК і фотохімії. Винайшовши чорнило, чутливе до ультрафіолетового випромінювання, він став скептично ставитись до існування озонової діри.

У 1987 р. він розпочав консультації з хімії нуклеїнових кислот для десятка корпорацій («*Angenics*», «*Cytometrics*», «*Eastman Kodak*», «*Abbott Labs*», «*Milligen/Biosearch*» тощо) та спеціалізованих лабораторій [10, 11]. Написавши звіт до Національного інституту охорони здоров’я про хід розроблення тесту на вірус імунодефіциту людини (ВІЛ) для спеціальних лабораторій, він скептично поставився до того, що ВІЛ є причиною синдрому набутого імунодефіциту (СНІД) [12].

У 1992 р. Малліс заснував компанію «*Gene Stones*», яка продавала штучні й дорогоцінні камені з імплантованими ДНК відомих людей, зокрема *Елвіса Преслі*, *Мерилін Монро*, *Джона Кеннеді*, *Наполеона* і багатьох інших [13].

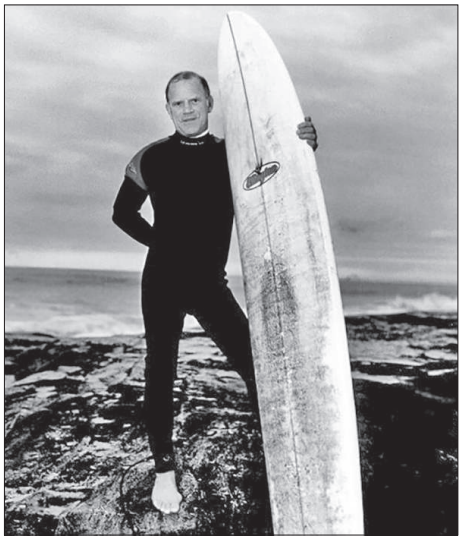
Того самого року він також заснував «*Atomic Tags*» у місті Ла-Холья (La Jolla, штат Каліфорнія). Підприємство прагнуло розробити технологію з використанням атомно-силової мікроскопії та штрихкодованих антитіл, позначених важкими металами, для створення високомультиплексованих паралельних імуноаналізів.

Після отримання Нобелівської премії з хімії «за винахід полімеразної ланцюгової реакції» в 1993 р. К. Малліс залишив і бізнес, і науку, оселився в Каліфорнії на березі океану, де займався віндсерфінгом і (у вільний час) приватним науковим консультуванням [5, 14].

У 2000 р. він увійшов до складу ради директорів Національної організації з реформи законів про марихуану (National Organization for the Reform of Marijuana Laws).

В останні роки працював заслуженим науковим співробітником дитячої лікарні та науково-дослідного інституту в Окленді (Каліфорнія, США), входив до складу ради наукових консультантів декількох компаній, надавав експертні консультації з правових питань, пов’язаних із ДНК, і часто виступав з лекціями в університетських кампусах, корпораціях та на академічних зустрічах у всьому світі.

За свою наукову кар’єру невгамовний Кері Малліс змінив кілька напрямів діяльності. Маючи науковий ступінь з біохімії, в один із важких моментів життя він навіть підробляв офіціантом у ресторані, а з мозку відловлених там щурів виділяв нейропептиди для своїх досліджень. Крім того, він писав («в стіл»)



Кері Малліс [5]

вірші та прозу, проте пізніше сам визнавав: «*Персонажі моїх творів були невиразними, бо я був занадто молодий, не зазнав тоді ще жодної персональної трагедії й не вмів описувати їх так, щоб інші повірили мені. Тому після неуспішної спроби проявити себе на письменницькому терені мені нічого не залишалося, як продовжити роботу в науці*» [12].

У 1998 р. доктор Малліс написав автобіографічну збірку нарисів «*Танцюючи голим у полі розуму*» («Dancing Naked in the Mind Field»), що зміцнило його репутацію вільної духом особистості. Це блискучий зразок соковитої та яскравої, повної лукавого гумору, дещо натуралістичної прози [12].

Малліс вирізнявся неординарними і суперечливими поглядами на багато наукових проблем. У біографії він висловив незгоду з науковими спостереженнями та висновками щодо зміни клімату, виснаження озонового шару і зв'язку між вірусом ВІЛ та СНІДом, пояснюючи це змовою між екологами, урядами і вченими, які, на його думку, такими методами намагаються просунути свої кар'єри і заробити гроші. У книзі він заявив також, що вірить в астрологію.

Як йшлося вище, Малліс експериментував з психоделічними речовинами, зокрема з ЛСД (LSD, нім. Lysergsäurediethylamid). В автобіографії Малліс написав, що цей психоделічний препарат зробив можливим його наступні піонерські відкриття в галузі біотехнології [12].

Він виступав із низкою ексцентричних ідей на кшталт необхідності легалізації продажу легких наркотиків, публічно заявляв, що американці на Місяці не були, а відповідний епізод був змонтований у Голлівуді; що СНІДу як окремої хвороби немає, а просто люди переповнені вірусами, які мовчать до нагоди; ставив під сумнів теорію глобального потепління (вигадка «*паразитів з вищою освітою в галузі економіки чи соціології*») тощо [12].

У Малліса було бурхливе особисте життя: він був одружений чотири рази, любив серфінг, гру на гітарі. Від двох дружин у нього народилося троє дітей, він мав і двох онуків.

Малліс помер від пневмонії 7 серпня 2019 р. у віці 74 років у Ньюпорт-Біч (штат Каліфорнія). На момент смерті біля нього залишилася четверта дружина — *Ненсі Косгроув Малліс*.

Кері Малліс залишив людству величезну спадщину у вигляді патентів і публікацій: ним запатентовано *технологію ПЛР і УФ-чутливий пластик, що змінює колір у разі освітлення*. Його остання заявка на патент присвячена способу миттєвої мобілізації імунної системи для нейтралізації хвороботворних патогенів і токсинів.

Серед його численних публікацій слід відзначити такі, як «*Космологічна роль повернення часу*» («The Cosmological Significance of Time Reversal») та «*Праймер-спрямована ферментативна ампліфікація ДНК з термостабільною ДНК-полімеразою*» («Primerdirected Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase») в «Nature», «*Незвичайне походження полімеразної ланцюгової реакції*» («The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction») у «Scientific American», «*Специфічний синтез ДНК in vitro за допомогою полімеразної ланцюгової реакції*» («Specific Synthesis of DNA In Vitro via a Polymerase Catalyzed Chain Reaction») у «Methods in Enzymology» та інші [10].

Малліс став єдиним Нобелівським лауреатом, який не був науковим співробітником і, по суті, зробив відкриття, працюючи в бізнесі. І тільки після опублікування його першої статті в журналі «Science» [3] про відкриття ПЛР до нього прийшло міжнародне визнання науковою спільнотою: в 1990 р. Малліса нагородили престижною національною німецькою премією в галузі аналітичної біохімії «*Preis Biochemishe Analytik*»; в 1992 р. його визнали Вченим року штату Каліфорнія та нагородили премією імені Роберта Коха; в 1993 році — Національною премією Японії та Нобелівською премією з хімії. Серед інших нагород Кері Малліса: премія Американського товариства з генетики людини «*William Allan Memorial Award of the American Society of Human Genetics*» (1990); Національна премія з біотехнології «National Biotechnology Award» (1991); канадська премія «*Gairdner Award*» (1991); R & D Вчений року (1991); премія Томаса Едісона «*Thomas A. Edison Award*» (1993); почесний ступінь доктора наук Університету Південної Кароліни (*University of South Carolina*; 1994); почесний ступінь фармацевтичної біотехнології в Університеті Болоньї, Італія (2004); почесний ступінь доктора *honoris causa* у галузі біологічних наук Університету Масарика, Чеська Республіка (2010). У 2014 р. його визнано видатним науковим співробітником Дослідницького інституту дитячої лікарні в Окленді (штат Каліфорнія). У 1998 р. К. Малліса введено до Національної зали слави винахідників США [14].

Але найголовніше, що світову славу й визнання він здобув унаслідок відкриття методу *полімеразної ланцюгової реакції*. Його винахід став центральним методом у біохімії та молекулярній біології, як «*надзвичайно оригінальний та значущий, фактично поділяючи біологію на дві епохи: до ПЛР та після ПЛР*» [5, 11]. *Витонченість, простота виконання, неперевершені показники чутливості та специфічності* принесли методу полімеразної ланцюгової реакції нечувану популярність у всьому світі. За короткий проміжок часу ПЛР-аналіз перейшов із лабораторій наукових закладів у лабораторії практичної медицини.

Метод ПЛР та історія його відкриття

Як йшлося вище, після дворічного пошуку себе Кері Малліс у 1979 р. повернувся до хімії в біотехнологічній корпорації «*Cetus Corp.*» в Емервіллі (Каліфорнія, США), де впродовж семи років досліджував синтез *олігонуклеотидів*.

Каліфорнійська компанія «*Cetus*» була однією із перших, де було запроваджено біотехнологічне виробництво. У 1979 р. тут виділялися значні фінанси для синтезу ДНК, у великій кількості вироблялись *олігонуклеотиди* (короткі

ланцюги ДНК). З огляду на це в К. Малліса виникла низка питань, як і де їх використати, чи можливо їх застосувати в діагностиці тощо ...

У 1983 р. у своїй роботі він наштовхнувся на проблему, яка стосувалася виявлення точкових мутацій у ДНК, зокрема тих, що призводили до тяжких генетичних захворювань, таких як *серпоподібноклітинна анемія*. У біографії Малліс писав, що ідея ПЛР прийшла йому, коли він уночі їхав автомобілем уздовж Каліфорнійського шосе 1 [12]. Він продумував новий метод аналізу мутацій у ДНК, коли усвідомив, що замість цього винайшов метод ампліфікації будь-якої ділянки ДНК за допомогою повторюваних циклів дублювання, здійснюваних ензимом ДНК-полімеразою. В журналі «*Scientific American*» Малліс підвів підсумок запропонованому методу: «*Починаючи з єдиної молекули ДНК, носія генетичної інформації, ПЛР може надати 100 мільярдів подібних молекул за кілька годин. Реакцію дуже легко провести, вона потребує однієї пробірки, незначної кількості реагентів та джерела теплоти*» [15].

Розмірковування Малліса над технічними складнощами вирішення цієї конкретної проблеми (про що детально йдеться в його нобелівській лекції [9]) привели його до відкриття способу одержання величезної кількості копій потрібної ділянки ДНК [16] та до розуміння того, що та процедура, яка прийшла йому випадково в голову для вирішення конкретної задачі, є **універсально значущою**.

Дійсно, ще з ранніх часів молекулярної біології саме розмноження потрібної ділянки ДНК було однією з центральних проблем. Справа в тому, що хромосомна ДНК має величезну протяжність, а кількість її копій у біозразках зазвичай мізерна, іноді це буває тільки одна молекула. А для більш-менш зручних досліджень потрібно, щоб все було навпаки: багато копій порівняно невеликої ділянки, з якою можна було б працювати (до ПЛР ці копії одержували методом клонування ДНК за допомогою бактерій; у деяких випадках його застосовують і тепер, але він набагато довший, дорожчий і не дуже зручний).

Ідея ПЛР є надзвичайно простою. Пригадаємо: ДНК складається із ланок-нуклеотидів чотирьох типів: A, G, C і T (від назви азотистих основ, які є в їхньому складі: *аденін, гуанін, цитозин і тимін*). Молекула ДНК складається з двох ланцюгів, кожний з яких повністю визначає інший: навпроти G в одному ланцюзі завжди стоїть C в другому, а навпроти A — завжди стоїть T. І це співвідношення називається *комплементарністю*. Саме завдяки комплементарності молекула ДНК копіює себе під час ділення клітини: ланцюги розділяються і на кожній будується комплементарний ланцюг із нуклеотидів [17, 18], а основний ензим, який за це відповідає, називається ДНК-полімеразою [2]. Ензим ДНК-полімераза зустрічається природно в живих організмах. Цей ензим у живих клітинах виконує функції реплікації ДНК протягом мітозу та мейозу. Полімераза працює, зв'язуючись з одним ланцюжком ДНК та синтезуючи інший, створюючи подвійну спіраль. Внаслідок цього із однієї молекули можна отримати дві тотожні.

Зазначимо, що два кінці кожного ланцюга не є еквівалентними між собою. Один називають 5′-кінцем, а другий — 3′; приєднання нових нуклеотидів можливе лише з 3′-кінця, тобто в кожного ланцюга є відповідний напрямок. У по-

Рис. 1. Структура ДНК [8]

двійній спіралі ДНК два комплементарних ланцюги завжди мають протилежний напрямок.

Що ж можна зробити, аби отримати достатньо велику кількість копій потрібної ділянки ДНК-матриці, яку ми назвемо *мішенню*?

Перш за все необхідно синтезувати два *праймери*. Праймери — це короткі ділянки одноланцюгової ДНК, так звані олігонуклеотиди, кожний з яких має довжину приблизно з 20 пар основ і які є комплементарними тим ділянкам ДНК, які потрібно ампліфікувати.

Специфічність ПЛР якраз і базується на властивості утворення комплементарних комплексів між ДНК і праймерами, короткими синтетичними нуклеотидами. Кожний із праймерів є комплементарним одному з ланцюгів дволанцюгової матриці та обмежує початок і кінець ділянки, яка ампліфікується.

Практично ДНК-матриця — це цілий геном і мета полягає у виділенні з неї тих фрагментів, які є цікавими. Для цього дволанцюгову ДНК-матрицю нагрівають до 95 °С кілька хвилин, аби ланцюги ДНК розійшлися. Цю стадію називають *денатурацією*, оскільки розриваються водневі зв'язки між двома ланцюгами ДНК. Коли ланцюги розійдуться, температуру знижують, щоб праймери могли зв'язатись з одноланцюговою ДНК-матрицею, далі ензим ДНК-полімераза починає реплікацію ДНК, зв'язуючись із фрагментом ланцюга нуклеотидів. ДНК-полімераза реплікує матричний ланцюг, використовуючи праймер як затравку або приклад для копіювання. Після першого циклу одержуємо багаторазове послідовне подвоєння відповідної ділянки ДНК. Потім ця процедура повторюється, і після кожного циклу отримуємо подвійну кількість ділянки-мішені. Після 35 циклів ПЛР (менше ніж за 2 год) маємо таку кількість потрібної ділянки ДНК, що перевищує вихідну в 225 разів (тобто ампліфікували її в 34 млн разів).

У першому запропонованому прототипі процесу ПЛР ензим використовувався *in vitro*. Дволанцюгова молекула ДНК розділялася на окремі ланцюги за допомогою нагрівання до 94—95 °С. Проте за цієї температури використовувана ДНК-полімераза денатурувалася, тому ензим доводилося додавати після стадії нагрівання під час кожного циклу реакції. Оригінальна процедура була дуже неефективна, бо потребувала багато часу, великої кількості ДНК-полімерази і безперервної уваги протягом усього процесу.

Пізніше цей оригінальний процес ПЛР було значно вдосконалено внаслідок використання ДНК-полімерази термофільних (теплолюбних) бактерій, що зазвичай ростуть в гейзерах за температури понад 110 °С. ДНК-полімераза, отримана з цих організмів, стійка за високих температур і після використання у ПЛР не пошкоджується за нагрівання до необхідної температури. З тих пір

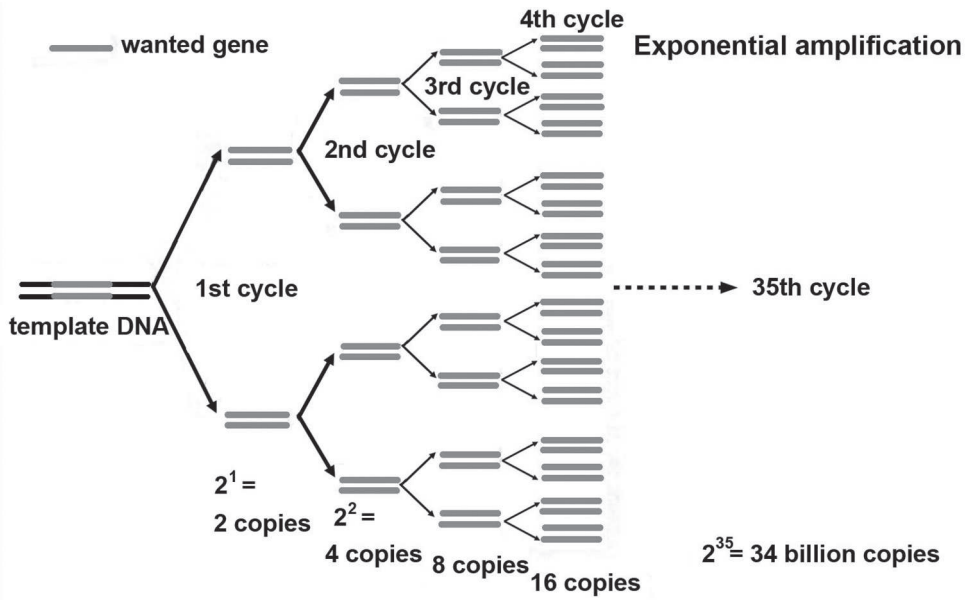


Рис. 2. Ампліфікація потрібної ділянки ДНК: полімеразна ланцюгова реакція (Andy Vierstraete, 2001) [16]

необхідність додавати нову ДНК-полімеразу в разі кожного циклу зникла, процес копіювання ДНК був спрощений і автоматизований.

Одну з перших теплостійких ДНК-полімераз отримали з бактерії *Thermus aquaticus*, вона стала відома під назвою «Taq» [19, 20]. Taq-полімераза широко використовується для ПЛР і зараз. Її недоліком є те, що через відсутність механізму корекції помилок у 3′ → 5′ напрямку вона робить відносно велику кількість помилок під час копіювання ДНК, що зумовлює мутації. Нові полімерази, такі як «Pwo» або «Pfu», отримані з *архей*, мають необхідний механізм корекції та можуть значно скоротити кількість мутацій, які зустрічаються у відтворюваній послідовності ДНК. Проте, ці ензими полімеризують ДНК набагато повільніше, ніж Taq. Зараз доступні комбінації Taq і Pfu, що забезпечують як високу процесивність (протяжність ділянки, що синтезується за одне зв'язування ензиму та швидкість синтезу), так і високу точність копіювання ДНК.

Отже, для проведення найпростішої ПЛР потрібні такі компоненти:

- ДНК-матриця, тобто фрагмент ДНК, що містить ту ділянку, яку потрібно ампліфікувати.
- Два праймери, комплементарні кінцям необхідного фрагмента.
- Термостабільна ДНК-полімераза.
- Дезоксинуклеотидтрифосфати (A, G, C, T).
- Буферний розчин.

ПЛР проводять у *ампліфікаторі* — приладі, що забезпечує періодичну та швидку зміну температури (охолоджування та нагрівання) тестових пробірок із розчином, зазвичай з точністю не меншою ніж до 0,1 °C.

Зазвичай за проведення ПЛР виконується 20–35 циклів [21], кожен з яких складається з трьох стадій (рис. 2):

1. Дволанцюгову ДНК-матрицю нагрівають до 94—96 °С (або до 98 °С, якщо використовується особливо термостабільна полімераза) 0,5—10 хв, щоб ланцюги ДНК розділилися. Цю стадію називають **денатурацією** — руйнуються водневі зв'язки між двома ланцюгами. Іноді перед першим циклом проводять попереднє прогрівання реакційної суміші протягом 2–5 хв для повної денатурації матриці й праймерів.

2. Коли ланцюги розійшлися, температуру знижують, аби праймери могли зв'язатися з одноланцюговою матрицею; відбувається гібридизація праймерів та матриці. Ця стадія називається **відпалом** (англ. *annealing*). Температура відпалу залежить від послідовності праймерів і зазвичай вибирається на 4—5 °С нижче за їхню температуру плавлення. Тривалість стадії — 0,5—2 хв.

3. ДНК-полімераза реплікує матричний ланцюг, використовуючи праймер як затравку. Це так звана стадія **елонгації**. Температура елонгації залежить від типу полімерази. Полімерази Taq і Pfu, що найчастіше використовуються, найактивніші за 72 °С. Час елонгації залежить як від типу ДНК-полімерази, так і від довжини фрагмента, який ампліфікують. Середня швидкість елонгації становить 1000 пар основ за 1 хв. Після закінчення всіх циклів зазвичай проводять додаткову стадію фінальної елонгації, щоб добудувати всі одноланцюжкові фрагменти. Ця стадія триває 5—15 хв.

Після кожного циклу кількість синтезованих копій фрагмента ДНК подвоюється. Зазначимо, що кількість специфічного продукту реакції (обмеженого праймерами) зростає *експоненціально*, а кількість «довгих» копій ДНК — *лінійно*, тому вони домінують у продуктах реакції.

За допомогою ПЛР можна ампліфікувати досить короткі (до 10 kbp) ділянки ДНК з відомими кінцями, в окремих випадках можна використовувати ділянки до 40 kbp (40 000 пар основ). Проте це однозначно менше за довжину хромосомної ДНК евкаріотичної клітини. Наприклад, **геном людини складається приблизно з 3 млрд пар основ** [10].

Отже, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) — це метод молекулярної біології, який дає змогу домогтися значного збільшення малих концентрацій певних фрагментів нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК) у біологічному матеріалі (пробі).

Наразі ПЛР-ампліфікація — рутинний і щоденний інструмент у кожній молекулярно-біологічній лабораторії. Але величезні можливості методу не всім відразу стали очевидними, і багато з тих, кому Кері Малліс виклав свою ідею, поставилися до неї з прохолодою, зокрема й науковці на семінарі фірми «*Cetus*» у серпні 1984 р., коли він вперше доповів свою ідею, та й багато інших молекуляр-

Рис. 3. Типовий ампліфікатор для ПЛР

них біологів. Як згодом зазначив у нобелівській лекції К. Малліс, єдиною людиною, яка з ентузіазмом підтримувала його ідею з самого початку, був його друг — засновник фірми «*Biosearch*», що виробляла апарати для автоматичного синтезу олігонуклеотидів [9] .

Доля статті, в якій Малліс вперше описав метод ПЛР-ампліфікації, теж була непростою. Її відразу відхилили редакції найпрестижніших міжнародних наукових журналів «*Science*» і «*Nature*» під приводом, що ці журнали публікують лише статті, які мають загальнонаукове значення, а метод ПЛР-ампліфікації є технічним і вартий уваги тільки фахівців. Редактори рекомендували Маллісу звернутися в спеціалізований науковий журнал. Тоді Малліс, який займався напівпромисловим синтезом олігонуклеотидів у фірмі «*Cetus*», з використанням обладнання сусідньої лабораторії продемонстрував можливості запропонованого ним методу на зрозумілому і безсумнівно практично важливому прикладі — для пренатальної діагностики спадкового захворювання. Статтю було опубліковано, як зазначалося, в журналі «Science» 20 грудня 1985 р. [3], прізвище К. Малліса там стоїть четвертим. Це була ціна поступки: зазвичай першим стоїть прізвище того, хто зробив найбільший експериментальний внесок у статтю, а останнім — головного ідеолога та керівника проєкту.

Відстояти свій пріоритет у винаході методу Малісу було вже непросто... Малліс оформив всі права на метод ПЛР на «*Cetus*», проте після декількох продажів прав патент зрештою перейшов до світового гіганту — швейцарської фармацевтичної компанії «*Hoffmann-La Roche Inc*», з монопольною політикою якої конкуренти намагалися боротися протягом всього часу дії патенту до 2005 р. Сьогодні користуватися методом ПЛР можуть всі компанії.

Використання ПЛР

Крім ампліфікації ДНК, ПЛР дає змогу проводити безліч інших маніпуляцій з нуклеїновими кислотами (*введення мутацій, зрощення фрагментів ДНК*), а також широко використовується в біологічній і медичній практиці, наприклад: для діагностики захворювань (*спадкових, інфекційних і т. ін.*), у сільському господарстві (*виявлення збудників інфекційних захворювань в організмі тварин, кормах, навколишньому середовищі; виявлення ГМО; контроль якості сільськогосподарської сировини і продуктів харчування тощо), в наукових дослідженнях (клонування і секвенування генів, виділення нових генів, визначення експресії генів і т. п.*).

Особливо високо ПЛР оцінили лікарі, адже цей метод виявляє ДНК будь-якого патогена, якщо в пробі знайдеться хоч одна бактерія або частка вірусу навіть задовго до того, як цей ворог розмножиться і спричинить хворобу. Нічого подібного медицина раніше не знала. Таке раннє виявлення надає лікарям істотну допомогу в лікуванні. Для прикладу досить згадати паніку з приводу відкритого в свій час СНІДу. Щойно віднайдена технологія ПЛР відразу стала доречною в тих умовах. Скільки людей тоді знайшли спокій і сон, побачивши нуль у результатах своєї ПЛР на ВІЛ! І наразі, під час пандемії COVID-19, метод ПЛР виявився більш ніж доречним!

Основними перевагами ПЛР як методу діагностики інфекційних захворювань є його висока специфічність і чутливість, пряме визначення наявності збудника, висока швидкість отримання результату, можливість діагностики не тільки го-

стрих, а й латентних інфекцій. Так, застосування ПЛР для діагностики туберкульозу дає змогу в короткі терміни (до 48 год) виявити мікобактерії в будь-якому біологічному матеріалі. Аналітична чутливість комерційних тест-систем дає можливість ідентифікувати поодинокі колонії (до 10 клітин). Це особливо важливо, бо мікобактерії вирізняються уповільненим ростом за культивування на поживних середовищах.

У медичній практиці цей метод зазвичай використовується також для *діагностики онкологічних і генетичних захворювань* (лікар може підтвердити діагноз, спостерігаючи відмінності послідовності ДНК, які, як відомо, пов'язані з захворюванням); *у трансплантології*, *судово-медичній експертизі* та, що особливо актуально, у *фармакогенетиці — так званій персоналізованій медицині*, враховуючи індивідуальні відмінності в дії лікарських препаратів на організм людини. Ці відмінності пов'язані з активністю ензиматичних систем і детермінуються на генетичному рівні. Проведення попереднього генотипування дає змогу встановити індивідуальну дозу препарату для кожного пацієнта.

І за все це людство має бути вдячним неординарній особистості — **Кері Бенксу Маллісу**, про якого засновник і генеральний директор компанії «*Wareham Development*» *Річ Роббінс* (*Richard K. Robbins*) справедливо говорив: «**Він і особисто, і професійно був однією з найбільш знакових постатей, коли-небудь спостережуваних наукою**» [22].

NOBEL PRIZE LAUREATE KARY MULLIS AND THE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

The Nobel prize in chemistry, 1993

V.M. Danilova, O.P. Matyshevska, S.V. Komisarenko

Science grows like a weed every year
Kary Mullis

The article highlights the major life and career milestones and the extraordinary personality of 1993 Nobel Prize laureate in Chemistry Kary B. Mullis. The background of Mullis' invention of the polyme-rase chain reaction (PCR), a revolutionary and monumental method of molecular biology and genetics of the 20th century, is described. The PCR technique is based on multiple selective copying of a particular segment of DNA with the help of enzymes in vitro. Under these conditions, only the target region is copied, and only if it is present in the studied sample. The invention of the PCR method has been one of the most outstanding events in molecular biology in recent decades.

Keywords: *Kary Mullis, polymerase chain reaction (PCR), DNA, amplification, DNA polymerase, history of science.*

REFERENCES

1. Kleppe K., Ohtsuka E., Kleppe R. et al. Studies on polynucleotides. XCVI. Repair replications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases. *Journal of Molecular Biology*. 1971. Vol. 56, N 2. P. 341—361.

2. Matyshevska O.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. The discovery of the mechanisms of biological synthesis of nucleic acids: 1959 Nobel laureates S. Ochoa and A. Kornberg. *Ukr. Biochem. J.* 2021. Vol. 93, N 1. P. 129—138.

3. Saiki R.K., Scharf S., Faloona F. et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 1985. Vol. 230, N 4732. P. 1350—1354.

4. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1993/summary/

5. Watson J., Berry A., Davis K. DNA. History of the genetic revolution Chapter 7. The human genome. Life scenario. Regime of access : https://habr.com/ru/company/piter/blog/463873/

6. Regime of access : https://uk.wikipedia.org/wiki/Kary Mullis.

7. Mullis K. Cosmological significance of time reversal. *Nature*. 1968. Vol. 218. P. 663—664.

8. Molchanova M. Kary Mullis, great and terrible. *Chemistry of Life*. 2019. N9. P. 2—5.

9. Mullis K. The Polymerase Chain Reaction, Nobel Lecture, December 8, 1993. LEX PRIX NOBEL. The Nobel Prizes. Almqvist and Wiksell Int., Stockholm, Sweden.

10. Regime of access : http://www.karymullis.com/pdf/karymullis-cv.pdf.

11. Wade N. Scientist at Work/Kary Mullis; After the 'Eureka,' a Nobelist Drops Out. The New York Times. September 15, 1998.

12. Mullis K. Dancing Naked in the Mind Field. USA: Vintage Books, 1998. 240 p.

13. Regime of access : https://en.wikipedia.org/wiki/Kary_Mullis.

14. Volkova N.E. Keri Mallis — inventor of PCR (to 70th anniversary). *Bulletin Ukraine Society of Geneticists and Breeders*. 2014. Vol. 12, N 1. P. 122—127.

15. Mullis K.B. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American*. 1990. Vol. 262, N 4. P. 56—61, 64—65.

16. Regime of access : https://studbooks.net/2481604/meditsina/printsip_diagnostiki.

17. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Standing on the shoulders of giants: James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin and the birth of molecular biology. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 154—164.

18. Matyshevska O.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. 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. Vol. 92, N 6. P. 183—198.

19. Chien A., Edgar D.B., Trela J.M. Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile *Thermus aquaticus*. *Journal of Bacteriology*. 1976. Vol. 127, N 3. P. 1550—1557.

20. Kaledin A.S., Sliusarenko A.G., Gorodetskii S.I. Isolation and properties of DNA polymerase from extreme thermophylic bacteria Thermus aquaticus YT-1. *Biokhimiia*. 1980. Vol. 45, N 4. P. 644—651. (In Russian).

21. Kary Mullis. Regime of access : https://www.britannica.com/biography/Kary-Mullis.

22. Regime of access : https://evilleeye.com/wareha....

UNRAVELING THE MYSTERY OF NITRIC OXIDE: NOBEL PRIZE WINNERS ROBERT FURCHGOTT, LOUIS IGNARRO, AND FERID MURAD

The Nobel prize in physiology or medicine, 1998

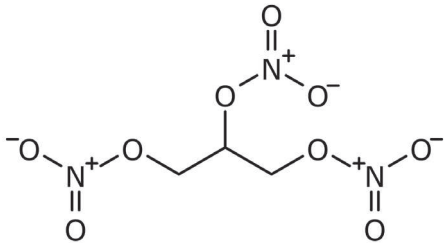
t.V. Danylova, S.V. Komisarenko

In the 21st century, none of the scientists denies the determining role of the cardiovascular system and its central organ, the heart. The ongoing attempts to design new medications, elaborate effective trainings, heart transplant programs testify that humanity does not abandon attempts to improve and prolong human life, especially given the fact that the world's biggest killer is ischemic heart disease. The most significant achievements in this field receive the highest rating in the scientific community — the Nobel Prize. In 1998, the Nobel Prize in Physiology or Medicine was awarded jointly to Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro and Ferid Murad «for their discoveries concerning nitric oxide as a signaling molecule in cardiovascular system». Their discovery triggered an international boom in research on nitric oxide. The paper aims to outline briefly the main stages of the scientific activity of R.F. Furchgott, L.J. Ignarro and F. Murad.

Keywords: *nitric oxide, nitroglycerin, Robert Furchgott, Louis Ignarro, Ferid Murad, the Nobel Prize in Physiology or Medicine.*

Since ancient times, the heart was associated with feelings, religious sensations, intuition, love, creativity, wisdom, gratitude, faith, and courage. Many thinkers consider human heart to be the center of human life. According to St. Augustine, God «wrote» his laws in the human's heart. «Philosophy of the Heart» is one of the main ideas of the Ukrainian philosophy, which reflects the specifics of Ukrainian mentality manifested in the vivid emotional forms of «cordocentrism». The idea of the heart as a hidden center of human existence was substantiated by the representatives of Hinduism, Buddhism and Christianity. Although such views may appear as mere poetic metaphors, none of the modern scientists denies the determining role of the cardiovascular system and its central organ, the heart. The ongoing attempts to design new medications, elaborate effective trainings, heart transplant programs testify that humanity does not abandon attempts to improve and prolong human life, especially given the fact that the «world's biggest killer is ischemic heart disease, responsible for 16% of the world's total deaths» [1]. The most significant achievements in this field receive the highest rating in the scientific community — the Nobel Prize [2]. In 1998, the Nobel Prize in Physiology or Medicine was awarded jointly to Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro and Ferid Murad «for their discoveries concerning nitric oxide as a signaling molecule in cardiovascular system» [3].

Nitric oxide (NO) is a small «universal» molecule, which involved in many processes in living organisms. This chemical compound is also called nitrogen monoxide. It is colorless toxic gas that performs chemical signaling functions in humans and animals and has various applications in medicine [4]. Nitric oxide was discovered by an English clergyman, political theorist, and scientist Joseph Priestley.



Nitroglycerin

Priestley coined it nitrous air [5]. Being relatively unstable highly lipophilic free radical, nitric oxide can gain or lose one electron to form the ions. It has a very short half-life and oxidizes very fast.

Though nitric oxide is considered as an air pollutant, it also plays a very important role in a human body being a signaling molecule. It controls vascular tone; relaxes vascular smooth muscles and reduces blood pressure; dilates vessels and relieves the pain of angina; inhibits the aggregation of platelets within the vessels and prevents thrombotic events. Nitric oxide acts as a neurotransmitter; increases cerebral blood flow and oxygenation of the brain; acts as one of the important mediators in penile erection; dilates pulmonary vessels; regulates the relaxation of smooth muscles; controls peristalsis; increases blood flow to the kidney, as well as the glomerular filtration rate and the production of urine; modulates T cell-mediated immune response; controls cutaneous microcirculation and shows antimicrobial properties against micro-organisms. In the human body it is produced from the amino acid L-arginine by the enzyme nitric oxide synthase (NOS) and from inorganic nitrates in green leafy vegetables, fruits, cereals, and cured meat [6].

Nitric oxide is a major active substance of nitroglycerin (also known as glyceryl trinitrate) — medication used for heart conditions, such as angina pectoris and chronic heart failure. According to the ClinCalc DrugStats Database, nitroglycerin was the 184th most commonly prescribed medication in the United States in 2019 [7].

Nitroglycerin was discovered in 1847 by Ascanio Sobrero, the student of the French chemist Theophile-Jules Pelouze. The explosive properties of nitroglycerin were appreciated immediately. However, it took a little longer to estimate its medical effects. Sobrero experimented with nitroglycerin and noted the headache, «a phenomenon quickly attributed to cerebral vasodilation. This simple clinical observation — that nitroglycerin dilates the vasculature — sparked a century-long dialogue between clinical pharmacologists and basic vascular physiologists, a dialogue that enabled many of the discoveries that are essential to our current understanding of the biologic functions of nitric oxide» [8, p. 277]. Nitroglycerin as the drug is a dilute form of nitroglycerin — a powerful and unstable explosive [9].

In 1879, nitroglycerin was introduced as a therapy for angina pectoris by the British physician William Murrell. It is interesting to note that the famous scientist, inventor, businessman, and founder of the Nobel Prizes Alfred Nobel, who had suffered from heart disease in the last years of his life, was already being treated with small doses of nitroglycerin — a substance contained in explosives he invented that, in fact, brought him fabulous wealth [10].

A century later, an American physician and pharmacologist Ferid Murad showed that the molecule released from nitroglycerin and related compounds was nitric oxide, which relaxed smooth muscle by elevating intracellular cyclic GMP. His discovery introduced «a new principle for transferring signals between cells; a gas as a signal-transferring molecule had never been observed before. The missing steps in the

signaling process were duly filled in by Furchgott and Ignarro, for which the three eventually shared the 1998 Nobel Prize» [11].

Robert Francis Furchgott [12]

Robert Francis Furchgott, a prominent American biochemist of Jewish origin, was born on June 4, 1916, in Charleston, South Carolina, the U.S., to Arthur Furchgott, a department store owner, and his wife Pena Furchgott. Robert grew up in a lovely rural place, where he developed his love for nature. He attended nature study classes, field trips to nearby woods and beaches and became a shell collector and bird watcher. In 1929, Robert's family moved to Orangeburg, South Carolina, a small town where his mother had some family members. There he spent his high school years and decided to become a scientist. This idea was supported by his parents. After school, Robert wanted to attend the University of North Carolina at Chapel Hill. But it was the time of the Great Depression and his father could not afford tuition, that is why Robert spent his freshman year at the University of South Carolina, where his tuition was much less. In 1934, Furchgott's family moved to Goldsboro, North Carolina, and Robert as a resident of the state had a chance to register at the University of North Carolina as a sophomore majoring in chemistry [13]. In 1937, Robert Furchgott graduated from the University of North Carolina at Chapel Hill with a Degree in Chemistry. Sending out dozens of letters in order to get a graduate fellowship or teaching assistantship, Robert unexpectedly got an offer of a teaching assistantship at Physiological Chemistry Department of Northwestern University Medical School in Chicago. And a new round of his life started there.

Robert Furchgott took physical chemistry, physiology, bacteriology, biochemistry courses at Northwestern University. During his study, Robert became very interested in the physical chemistry of the red blood cell membrane and decided to make his research on the red blood cells as a Ph.D. thesis project. In 1940, Robert defended his thesis and earned the Ph.D. Degree in Biochemistry. Then he was offered a postdoctoral position in the laboratory at Cornell University Medical School in New York City. Furchgott joined Ephraim Shorr's group, where he had spent nine years focusing on cardiovascular research [14].

During his first two years at Cornell, Robert was engaged in the project on phosphate exchange and turnover. Though the methods as well as lab equipment were outdated, Robert and his colleagues «did manage with chemical and some early enzymatic methods to show the extremely fast turnover of creatinine phosphate and the terminal phosphate of ATP in resting cardiac muscle» [13]. This work was presented in the paper «Phosphate exchange in resting cardiac muscle as indicated by radioactive studies» [15]. After the U.S. entering the World War II, Shorr's laboratory turned their attention to wartime issues, especially hemorrhagic shock. Being involved in research on circulatory shock and tissue metabolism, Furchgott joined Eugene DuBois's Department of Physiology at Cornell as an instructor. «Furchgott found evidence for a natural substance that contributes to irreversible vasodilation, and

attempted to isolate it using strategies that presaged his approach to studying EDRF some 40 years later» [14].

In 1949, Robert Furchgott got his first faculty position — the assistant professorship — at Washington University School of Medicine, where he examined the effects of drugs on blood vessels. He had spent seven years there before accepting the position of Chairman of the Department of Pharmacology at the State University of New York (SUNY) College of Medicine in Brooklyn. During his Washington University years, Furchgott continued his work on energy-metabolism and function of rabbit intestinal smooth muscle becoming more and more interested in using the aortic strip for studies on drug-receptor interactions. Robert also began the research on the pharmacology of in vitro cardiac muscle preparation, namely the isolated electrically-driven right atrium of the guinea pigs. It was Washington University where Robert Furchgott developed his lifelong interest in drug-receptor interactions, particularly in the adrenergic system that regulates blood vessel flow and smooth muscle tone.

In 1956, the new «era» started in Furchgott's life. After joining the Department of Pharmacology at SUNY College of Medicine, he continued his research on blood-vessel pharmacology. In addition, he spent time on organizing the department and learning the new role of a chairman. The first trip abroad took place in 1960: Robert was invited to present his paper at a CIBA Foundation Conference on Adrenergic Mechanisms in London. His sabbatical year 1962—1963 he spent in the Department of Physiology of the University of Geneva doing research, teaching, and writing papers. The second sabbatical leave in 1971 Furchgott spent in the medical school of the University of California at San Diego, where he became a visiting professor. He wanted to learn the Steve Mayer's method for analysis of cyclic AMP, however he devoted a lot of time to duties as a President of the American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics [13]. Returning to Brooklyn, Robert continued research on the role of receptors located on prejunctional terminals of adrenergic nerves. His research was reflected in a review «The Classification of Adrenoceptors (Adrenergic Receptors). An Evaluation from the Standpoint of Receptor Theory» [16].

The Department of Pharmacology at the State University of New York College of Medicine became very special to Robert Furchgott — it was there where the famous scientist made his prize-winning discoveries. In 1978, he discovered a substance produced by endothelial cells that causes relaxation of vascular smooth muscle and coined it endothelium-derived relaxing factor (EDRF) [13; 17]. This substance later proved to be nitric oxide [18; 19]. This discovery led to the award of the 1998 Nobel Prize in Physiology or Medicine (jointly with Louis J. Ignarro and Ferid Murad).

In 1982, Robert Furchgott resigned from the chairmanship of the Department of Pharmacology, but he continued his creative live as a professor. In 1989, he retired from the professorship. This retirement allowed him to spend some months each year as an Adjunct Professor in the Department of Molecular and Cellular Pharmacology of the University of Miami School of Medicine [13]. In 2008, Furchgott moved to Seattle's Ravenna neighborhood. He died on May 19, 2009.

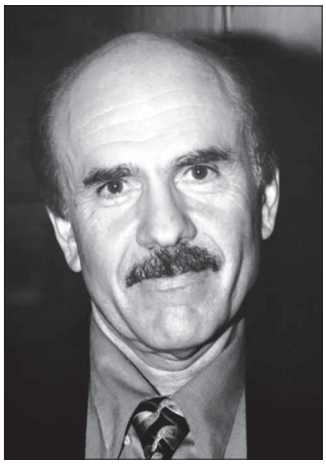
Robert Furchgott was married twice. He married Lenore Mandelbaum in 1941 and lived with her until she passed away. They had three daughters: Jane, Terry, and

Dr. Furchgott received the Nobel Prize in Physiology or Medicine 1998 [19]

Susan. His later years he spent with Margaret Gallagher Roth, who died in 2006 [17]. As he said: «*I have been very fortunate in having wives who encouraged my work, even though it often reduced the time I could give to family matters*» [13].

Even though Robert Furchgott received a Gairdner Foundation International Award for his groundbreaking discoveries (1991), the Albert Lasker Award for Basic Medical Research (1996), the Nobel Prize in Physiology or Medicine (1998), the Golden Plate Award of the American Academy of Achievement (1999), he was a mild-mannered, generous, and modest person. He wrote: «*In thinking back about what aspects of my research have given me the greatest pleasure, I would not place the honors and awards first. I think that my greatest pleasure has come from each first demonstration in my laboratory that experiments designed to test a new hypothesis developed to explain some earlier, often puzzling or paradoxical findings, have given results consistent with the hypothesis*» [13].

An American pharmacologist **Louis J. Ignarro** was born on May 31, 1941, in Brooklyn, New York, the U.S., in the family of Italian immigrants. Growing up in Long Beach, a suburb of New York City, on the shore of Long Island, a little boy was fond of building sand castles, and his friends predicted he would become an architect or engineer. But fate is a mysterious thing, and at the age of eight Louis got a present — his first chemistry set, which appeared to be much more fun than building sand castles. Louis's love for chemistry remained strong during his study at Central Grade School and Long Beach High School. This persistent interest eventually led him to apply to Columbia University to study chemistry and pharmacy. In 1962, Louis Ignarro received a Bachelor's Degree in Pharmacy. Upon graduation from Columbia University, Louis applied to graduate school in pharmacology and was admitted to the pharmacology program at the University of Minnesota in Minneapolis. At that time, this department was considered to be one of the best. Here Louis developed a better understanding why and how neurons of the sympathetic nervous system innervate



Louis J. Ignarro [20]

the heart and produce and release norepinephrine [21]. Ignarro's major was pharmacology and minor — cardiovascular physiology. He also took courses in biochemistry, anatomy, and especially enzymology, which was taught by Paul D. Boyer, the future Nobel Prize winner (the Nobel Prize in Chemistry 1997) [22]. In 1966, Louis Ignarro received a Ph.D. in Pharmacology from the University of Minnesota.

Ignarro's research was continued at the National Institutes of Health (NIH) in the Laboratory of Chemical Pharmacology in the National Heart, Lung and Blood Institute. The institute's atmosphere was favorable to learning new things and discussing new ideas. In 1968, Louis left NIH to accept the responsibility of heading the biochemical and anti-inflammatory program at Geigy Pharmaceuticals. Together with a group of researchers, Ignarro developed new drugs (diclofenac) and was able to continue research into new areas of pharmacology including cyclic GMP [23]. After Geigy Pharmaceuticals merged with Ciba Pharmaceuticals, Louis Ignarro decided to start academic research and teaching that led him to the position of Assistant Professor of Pharmacology at Tulane University School of Medicine in New Orleans. Making significant contribution to the study of cyclic GMP and cyclic nucleotides in general, Ignarro shifted his attention to blood vessels, given the fact he was quite interested in Ferid Murad group's work. As Ignarro said: «*It occurred to me that nitric oxide might account for the vascular smooth muscle relaxing action of nitroglycerin and that cyclic GMP might be the second messenger responsible for mediation the vasorelaxant effect of nitric oxide*» [21]. In 1979, Louis Ignarro showed that nitric oxide could relax vascular smooth muscles [24]. Continuing his research at Tulane, Louis Ignarro finally realized that the properties of nitric oxide were the same as those seen in the endothelium derived relaxing factor (EDRF) identified three years earlier by Robert Furchgott. Ignarro and Furchgott came to similar conclusions about nitric oxide as the EDRF and they both reported their findings at the conferences in 1986. Like a story on DNA discovery, this «scientific coincidence» obviously demonstrates that ideas, when time comes, are in the air [25, 26]. In 1998, Louis Ignarro shared the Nobel Prize in Physiology or Medicine with Robert Furchgott and Ferid Murad.

After his divorce, Louis Ignarro left Tulane University and began his academic career at UCLA School of Medicine. In was in 1985. His daughter Heather joined him and attended California State University at Northridge. In 1994, Ignarro met Sharon Elizabeth Williams, a medical student at UCLA. In 1997, Louis and Sharon were married.

Louis Ignarro had worked as a consultant for Herbalife for many years. He was a member of the Herbalife Nutrition Advisory Board [28] and collaborated in developing nutritional supplements. For activities such as promoting Herbalife products, Ignarro was subjected to criticism [29]. Nevertheless, Ignarro's activities have been marked by a number of awards and recognitions, including Merck Research Award (1974), Arthritis Foundation Research Award (1975—1977), Tulane Medical School —

Outstanding Teacher Award (1983), UCLA School of Medicine — Outstanding Teacher Award (1986), Roussel Uclaf Prize for Cell Communication and Signaling shared with Dr. Salvador Moncada and Dr. Robert Furchgott (1994), National Academy of Sciences (1999), Canadian Medal of Merit (2008), and many others.

Louis Ignarro receiving his Nobel Prize from the hands of His Majesty the King [27]

Ferid Murad — a co-winner of the 1998 Nobel Prize in Physiology or Medicine — is a famous American physician and pharmacologist. He was born on September 14, 1936, in Whiting, Indiana, the U.S., in the family of Albanian immigrant Jabir Murat Ejupi and Henrietta Josephine Bowman from Alton, Illinois. His parents ran a restaurant and had to work long hours. Their children also worked there. The parents' poverty and lack of education influenced Ferid and his younger brothers John Abderhaman and Turhon Allen to obtain a good education in order to advance career (one of his brothers became a dentist and another — a professor of anthropology). As Ferid said, at the age of 12 he knew he was going to become a doctor: «*I learned from my mother and grandmother Bowman about compassion and generosity for people and this in turn influenced my career choice in medicine*» [30]. In the eighth grade, Ferid wrote an essay on his top three career choices, which were a physician, a teacher, and a pharmacist. And these dreams became true. «*Today I do just that, as I am a board-certified physician and internist doing both basic and clinical research with considerable teaching in medicine, pharmacology and clinical pharmacology and with a Ph.D. in pharmacology*» [30], Ferid Murad emphasized.

As far as Ferid's parents could not afford to help him with college fees, a young man has to choose between available options. He competed for a Rector Scholarship at DePauw University in Greencastle, Indiana. He had studied there from 1954 to 1958 enjoying chemistry and biology. In 1957, Ferid met Carol Ann Leopold, an English and Spanish major at DePauw and in 1958 they got married. They have four daughters and a son. Murad speaks very warmly about his family: «*My wife and children were very understanding. They grew up as wonderful children and adults in spite of my absence, obviously due to a devoted wife and mother. My current fetish is my 5 grandchildren who I try to spend as much time with as possible*» [30].

In 1958, Ferid Murad entered the newly launched M.D./Ph.D. program at Case Western Reserve University. Murad was focused on the research on the catecholamine effects on cyclic AMP formation. Becoming interested in agents that could block

Ferid Murad [30]

the effects of cyclic AMP on phosphorylase kinase and phosphorylase activation, he had to investigate cyclic AMP analogues and other nucleotides deeper [30]. In 1965, Ferid Murad earned a doctorate in pharmacology, as well as his medical degree [31].

Ferid Murad served an internship and residency at Massachusetts General Hospital (1965—1967) before going to the National Institutes of Health as a clinical associate in the Heart Institute. He worked there until 1970, when he was invited as an Associate Professor in Medicine and Pharmacology at the University of Virginia. He had remained at the University of Virginia from 1970 to 1981 becoming one of the youngest professors (1975), the Director of the Clinical Research Center (1971), and the Director of Clinical Pharmacology (1973). Here he elaborated a research program with both clinical and basic studies. He trained many students and fellows making one of his dreams — to teach — true. As Ferid Murad put it, «*Of the 82 fellows and students I have trained and collaborated with to date twenty are professors, chairmen, research directors and division chiefs around the world. I view them as offspring and keep in contact with most of them in my travels. There is no question that one of my greatest accomplishments is to have participated in the training of such successful scientists in my own laboratory and also influenced the careers of many talented medical students, graduate students and housestaff*» [30].

Previously working on cyclic adenosine monophosphate, he moved on to cyclic guanosine monophosphate in 1970. In 1977, he demonstrated that nitroglycerin and some related heart drugs were pro-drugs converted into nitric oxide in the body. He showed that this colorless, odorless gas acts to increase the diameter of blood vessels, which leads to lowering blood pressure and increasing blood flow. «Since his discovery in 1977 there have been about 150,000 research publications with nitric oxide in various areas of biology» [32]. Later Robert Furchgott showed that cells in the endothelium of blood vessels produce a signaling molecule — endothelium-derived relaxing factor (EDRF), which signals smooth muscle cells in blood vessel walls to relax. Louis Ignarro, independently of Furchgott, identified endothelium-derived relaxing factor as nitric oxide [33]. Thus, independently made research had led to a great scientific discovery that received the attention of the Nobel Committee and eventually the Nobel Prize in Physiology or Medicine 1998, one of recipients of which was Ferid Murad.

In 1981, Ferid Murad became a Chief of Medicine of the Palo Alto Veterans Hospital, a Stanford university affiliated hospital. He was a Professor of Medicine and the Associate Chairman of Medicine.

In 1988, Ferid Murad left Stanford to become a Vice President at Abbot Laboratories, where he found himself under pressure dealing with the upper management, marketing staff, and researchers. After leaving Abbot in 1993, he became a founder, President and CEO of a new company — Molecular Geriatrics Corporation. After desperately seeking for funding in order to realize his plans, Ferid Murad decided

to rejoin academic community becoming the First Chair of a new Department of Integrative Biology, Pharmacology and Physiology at the University of Texas-Houston. He also created a new Division of Clinical Pharmacology [30]. In 2011—2016, Ferid Murad acted as a University Professor at George Washington University. Presently, Ferid Murad holds a position at Palo Alto Medical Center [32]. According to Murad, he had come full circle [30] and returned to his favorite academic environment.

Professor Ferid Murad has been the recipient of numerous awards including the Albert and Mary Lasker Award for Basic Medical Research in 1996 [35]. In 2019, Ferid Murad won the Shechtman International Leadership Award for «leadership through courage, conviction, persistence and willingness to break with the taboos and stereotypes in pioneering new ways of thinking that shape the future for a global sustainable development in the environment, economy and social points of view» [36].

Ferid Murad receiving his Nobel Prize from the hands of His Majesty the King [34]

The 1998 Nobel Prize in Physiology or Medicine sparked a heated debate about the role of a Honduran-British pharmacologist Salvador Moncada in the discoveries that earned this prize. His paper «Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor» [37], co-authored by R.M. Palmer and A.G. Ferrige, was published earlier than the similar work of L.J. Ignarro and his colleagues [38]. Salvador Moncada was surprised and disappointed at the decision of the Nobel Committee. His disappointment was shared by John Robert Vane — an English pharmacologist and co-winner of the 1982 Nobel Prize in Physiology or Medicine. An Argentinian biochemist and co-winner of the 1984 Nobel Prize in Physiology or Medicine Cesar Milstein argued that it was Moncada who first seriously approached Furchgott's hypotheses and proved them in his «key experiments». Certainly, not all researchers are as critical [39]. Considering Moncada's contribution to the research, the prize should have been awarded to four scientists, but the maximum number of award participants in one field of science traditionally does not exceed three people. In this regard Robert Furchgott said, «*I'm just so sorry that they never decided in Nobel prize committees to give it to more than three people*» [40].

The discoveries concerning nitric oxide as a signaling molecule in the cardiovascular system made by Robert Furchgott, Louis Ignarro and Ferid Murad triggered an international boom in research on this gas: «For instance, the principle behind the successful anti-impotence drug sildenafil citrate (Viagra) was based upon

this research. Researchers suggested that nitric oxide could be a key to improved treatments for heart disease, shock, and cancer» [41]. In 1992, nitric oxide was named «The Molecule of the Year» [42].

РОЗГАДКА ТАЄМНИЦІ ОКСИДУ АЗОТУ: ЛАУРЕАТИ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ РОБЕРТ ФЕРЧГОТТ, ЛУЇС ІГНАРРО І ФЕРІД МЮРАД

Нобелівська премія з фізіології або медицини, 1998

Т.В. Данилова, С.В. Комісаренко

У XXI ст. жоден із вчених не заперечує визначальної ролі серцево-судинної системи та її центрального органу — серця. Постійні спроби розробити нові ліки, ефективні тренінгові програми, програми трансплантації серця свідчать про те, що людство не відмовляється від спроб поліпшити та подовжити життя людини, особливо враховуючи той факт, що найбільшою вбивцею у світі є ішемічна хвороба серця. Найзначніші досягнення в цій галузі отримують найвищу оцінку в науковому середовищі — Нобелівську премію. У 1998 р. Нобелівську премію з фізіології та(або) медицини присудили Роберту Ферчготту, Луїсу Ігнарро та Феріду Мюраду «за відкриття ролі оксиду азоту як сигнальної молекули в регуляції серцево-судинної системи». Це відкриття викликало міжнародний бум у дослідженні оксиду азоту. У цій статті наведено короткий огляд основних етапів наукової діяльності Р. Ферчготта, Л. Ігнарро та Ф. Мюрада.

Ключові слова: *оксид азоту, нітрогліцерин, Роберт Ферчготт, Луїс Ігнарро, Ферід Мюрад, Нобелівська премія з фізіології та(або) медицини.*

REFERENCES

1. The top 10 causes of death. World Health Organization. 2020. Regime of access: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death. (Accessed February 2, 2022).

2. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Double Nobel Prize Winner: Frederick Sanger — The Father of Genomics. *Ukr. Biochem. J.* 2021. Vol. 93, N 2. P. 116—122. doi: https://doi.org/10.15407/ubj93.02.116.

3. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1998. *The Nobel Prize.* Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1998/summary/. (Accessed February 2, 2022).

4. Gregersen E. (Ed.). Nitric oxide. Britannica. Regime of access: https://www.britannica.com/science/nitric-oxide. (Accessed February 4, 2022).

5. McEvoy J.G. Joseph Priestley: English clergyman and scientist. Britannica. 2022. Regime of access: https://www.britannica.com/biography/Joseph-Priestley. (Accessed February 3, 2022).

6. Abeyakirthi S. Nitric oxide. DermNet NZ. 2009. Revised 2020. Regime of access: https://dermnetnz.org/topics/nitric-oxide. (Accessed February 3, 2022).

7. The Top 300 of 2019. ClinCalc. 2019. Regime of access: https://clincalc.com/DrugStats/Top300Drugs.aspx. (Accessed February 5, 2022).

8. Steinhorn B.S., Loscalzo J., Michel T. Nitroglycerin and Nitric Oxide — A Rondo of Themes in Cardiovascular Therapeutics. *The New England Journal of Medicine.* 2015. Vol. 373. P. 277—280.

9. Ravina E., Kubinyi H. (Foreword). *T*he Evolution of Drug Discovery: From Traditional Medicines to Modern Drugs. Wiley-VCH, 2011. 528 p.

10. Danilova V.M., Vinogradova R.P., Komisarenko S.V. Alfred Bernhard Nobel and the Nobel prize. *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90, N 4. P. 121—134. doi: http://doi.org./10.15407/ubj90.04121.

11. Nickols M. Nitric oxide discovery Nobel Prize winners: Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro, and Ferid Murad shared the Nobel Prize in 1998 for their discoveries concerning nitric oxide as a signaling molecule in the cardiovascular system. *European Heart Journal*. 2019. Vol. 40, N 22. P. 1747—1749. https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz361.

12. Robert F. Furchgott. Facts. The Nobel Prize. 1998. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1998/furchgott/facts/. (Accessed February 2, 2022).

13. Robert F. Furchgott. Biographical. The Nobel Prize. 1998. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1998/furchgott/biographical/. (Accessed February 2, 2022).

14. Snyder S.N. Robert Furchgott (1916-2009). Obituary. *Nature*. 2009. Vol. 460, N 47. https://doi.org/10.1038/460047a.

15. Furchgott R.F., Shorr E. Phosphate exchange in resting cardiac muscle as indicated by radioactive studies. IV. *Journal of Biological Chemistry*. 1943. Vol. 151. P. 65—86.

16. Furchgott R.F. The Classification of Adrenoceptors (Adrenergic Receptors). An Evaluation from the Standpoint of Receptor Theory. In: Blaschko H., Muscholl E. (eds) Catecholamines. *Handbuch der experimentellen Pharmakologie / Handbook of Experimental Pharmacology (Heffter Heubner New Series)*. Vol 33. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-65249-3_9.

17. Robert F. Furchgott. Wikipedia. Regime of access: https://en.wikipedia.org/wiki/Robert_F._Furchgott. (Accessed February 5, 2022).

18. Prof. Dr. Robert F. Furchgott. Lindau Nobel Laureate Meetings. Regime of access: https://www.mediatheque.lindau-nobel.org/laureates/furchgott. (Accessed February 4, 2022).

19. Robert F. Furchgott. Society. Downstate Health Sciences University. Regime of access: https://www.downstate.edu/about/societies-funds/robert-furchgott-society/index.html. (Accessed February 2, 2022).

20. Louis J. Ignarro. Facts. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1998/ignarro/facts/. (Accessed February 7, 2022).

21. Louis J. Ignarro. Biographical. 1998. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1998/ignarro/biographical/. (Accessed February 7, 2022).

22. Paul D. Boyer. Facts. 1997. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1997/boyer/facts/. (Accessed February 7, 2022).

23. Louis Ignarro. Wikipedia. Regime of access: https://en.wikipedia.org/wiki/Louis_Ignarro. (Accessed February 8, 2022).

24. Gruetter C.A., Barry B.K., McNamara D.B. et. al. Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and a carcinogenic nitrosoamine. *Journal of Cyclic Nucleotide Research*. 1979. Vol. 5. P. 211—224.

25. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Standing on the Shoulders of Giants: James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin and the Birth of Molecular Biology. *Ukr. Biochem. J*. 2020. Vol. 92, N 4. P. 154—164. doi: https://doi.org/10.15407/ubj92.04.154.

26. Danylova T.V., Komisarenko S.V. A Legend in His Own Lifetime: Double Nobel Prize Winner Linus Pauling. *Ukr. Biochem. J*. 2021. Vol. 93, N 3. P. 123—132. doi: https://doi.org/10.15407/ubj93.03.123.

27. Louis J. Ignarro. Photo gallery. 1998. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1998/ignarro/photo-gallery/. (Accessed February 10, 2022).

28. Lou Ignarro. *Herbalife Nutrition*. Regime of access: https://hnadvisoryboards.com/lou-ignarro. (Accessed February 10, 2022).

29. Schneider L. Fake data and real pomegranate juice in Nobelist Louis Ignarro's papers. 2018. For Better Science. Regime of access: https://forbetterscience.com/2018/08/27/fake-data-and-real-pomegranate-juice-in-nobelist-lois-ignarros-papers/. (Accessed February 10, 2022).

30. Ferid Murad. Biographical. The Nobel Prize. 1998. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1998/murad/biographical/. (Accessed February 12, 2022).

31. Ferid Murad. University Honors & Awards. Indiana University. Regime of access: https://honorsandawards.iu.edu/awards/honoree/1757.html. (Accessed February 12, 2022).

32. Prof. Dr. Ferid Murad. Lindau Nobel Laureate Meetings. Regime of access: https://www.mediatheque.lindau-nobel.org/laureates/murad. (Accessed February 12, 2022).

33. Ferid Murad. Britannica. Regime of access: https://www.britannica.com/biography/Ferid-Murad. (Accessed February 12, 2022).

34. Ferid Murad. Photo Gallery. The Nobel Prize. 1998. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1998/murad/photo-gallery/. (Accessed February 14, 2022).

35. Ferid Murad, M.D., Ph.D. CV. Regime of access: https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/murad-cv.pdf. (Accessed February 14, 2022).

36. Shechtman — Leadership. FLOGEN. Regime of access: https://www.flogen.org/?p=19#:~:text=Shechtman%20International%20Leadership%20Award%20has%20been%20established%20in%20honor%20of%20Dr.&text=The%20purpose%20of%20this%20Award,thinking%20that%20shape%20the%20future. (Accessed February 14, 2022).

37. Palmer R.M., Ferrige A.G. & S. Moncada. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987. Vol. 327. P. 524—526.

38. Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S. et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide (endothelium-dependent relaxation/vascular smooth muscle/cyclic GMP. *PNAS*. 1987. Vol. 84. P. 9265—9269.

39. Howlett R. Nobel award stirs up debate on nitric oxide breakthrough. *Nature*. 1998. Vol. 395. P. 625—626.

40. Coghlan A., Boyce N. The whiff of fame. New Scientist. 1998. Regime of access: https://www.newscientist.com/article/mg16021562-100-the-whiff-of-fame/. (Accessed February 14, 2022).

41. Louis Ignarro. Britannica. Regime of access: https://www.britannica.com/biography/Louis-Ignarro. (Accessed February 12, 2022).

42. Koshland D.E. The Molecule of the Year. *Science*. 1992. Vol. 258, N 5090. P. 1861.

ISSN 2409-4943 Ukr. Biochem. J. 2022. Vol. 94, N 2. P. 85—93.

ВІДКРИТТЯ ГЕНІВ РЕГУЛЯЦІЇ АПОПТОЗУ КЛІТИН
Нобелівська премія з фізіології або медицини, 2002

М.В. Григор'єва, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

Нескінченні пошуки знань триватимуть доти, доки існують люди.

С. Бреннер

У 2002 р. Нобелівську премію з фізіології або 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.*

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, яку також називають контрольованим «клітинним самогубством». Відомо, що організм дорослої людини щодня створює понад трильйон клітин. Водночас приблизно стільки само клітин гине в процесі апоптозу.

Головний прорив для нашого розуміння запрограмованої загибелі клітин здійснили нобелівські лауреати 2002 р. — **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 дослідження на *C. elegans*. Він вважав, що «вибір відповідного організму для власних досліджень так само важливий, як і пошук правильних проблем, над якими можна працювати» [1], тому, на його думку, *C. elegans* можна, без сумніву, вважати четвертим лауреатом Нобелівської премії 2002 р.

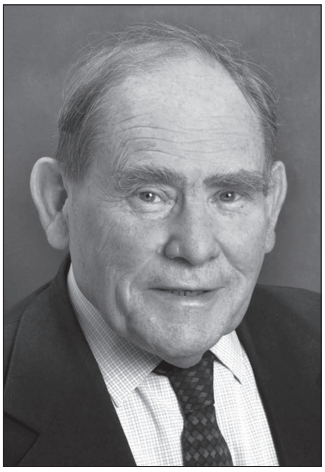
Завдяки картографуванню лінії клітин *C. elegans* Джон Салстон дослідив запрограмовану загибель певних клітин як невід'ємної частини нормального процесу диференціації і виявив першу мутацію гена, що бере участь у процесі загибелі клітини.

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 біографій цих видатних учених.

СІДНІ БРЕННЕР

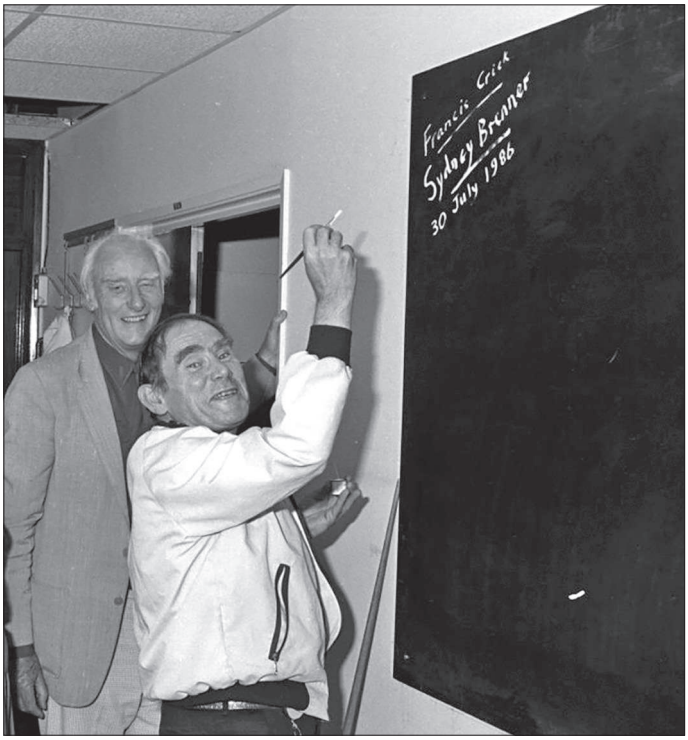
Сідні Бреннер (англ. *Sydney Brenner*) народився 13 січня 1927 р. у невеликому південно-африканському містечку Джермістон у сім'ї єврейських іммігрантів. Його батько іммігрував з Литви в 1910 р., а мати — з Латвії в 1922 р. Сідні дуже рано навчився читати. Коли йому було 5 років, одна з клієнток його батька, який був чоботарем, допомогла влаштувати малюка до безкоштовного дитячого садочка. За рік він пройшов три курси початкової школи і в 6 років пішов до місцевої школи одразу в 4-й клас, а ще за чотири роки був зарахований до Джермістонської середньої школи, яку закінчив у 1941 р.



Сідні Бреннер [6]

Батьки Бреннера мріяли, аби син став лікарем. Талановитому юнаку вдалося отримати стипендію міської ради, завдяки цьому 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 захистивши дисертацію, 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 самого 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 невирішеними. Розмова з Вотсоном додала Бреннеру впевненості в його роботі з бактеріофагами: «*Завіса піднялась, і стало зрозуміло, що робити. І мене це надзвичайно схвилювало*» [4].



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

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 Ватсоном, проводив дослідження у вірусологічній лабораторії Каліфорнійського університету (Берклі), де працював разом з молекулярним біологом Гюнтером Стентом, а також ненадовго відвідав Вашингтон (округ Колумбія).

Це був дуже важливий візит. Завдяки поїздці 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 відіграти 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 йому 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 Кемб-

риджського університету 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 засади центральної догми молекулярної біології.

Але вже в 1962 р. у 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-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 давало можливість 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'явилось 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.

Закінчивши цю роботу, Бреннер ще більші зусилля спрямував на пошук «мутантів у всіх генах, щоб спробувати виявити, як вони беруть участь у розвитку та функціонуванні простого багатоклітинного організму». Протягом багатьох років до цих зусиль долучилися тисячі дослідників, відкриття яких вплинули на розвиток біології та біомедичної науки.

Із часом інтереси Кріка і Бреннера почали розходитися. Хоча обох цікавила нервова система й «багато нових і захоплюючих ідей (правильних і неправильних) зародились під час наших розмов» за роботи в ЛМБ [1], Бреннер більше схилявся до пошуку простої системи, яка б дала змогу 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 вирішувати, як застосувати свої відкриття заради майбутнього людства.)

У 1977 р., після виходу на пенсію Макса Перуца, Бреннер став директором ЛМБ. На цій посаді він відпрацював майже 20 років. У цей період науковець досліджував вплив нових методів клонування та секвенування ДНК на вивчення генетики і став активним прихильником проєкту «Геном людини» [11]. З часом адміністративне навантаження директора набридло йому, і 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. Університетська Рада з медичних досліджень закрила підрозділ у 1992 р., коли Бреннеру вже було 65 років, але він ще кілька років продовжував працювати за іншої підтримки.

У 1995 р. 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 в 2000 р., а в 2001 р. обійняв 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 присудили Нобелівську премію з фізіології або медицини «за відкриття генетичної регуляції розвитку органів і запрограмованого вмирання клітин».

У 2008 р. на його честь 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 академії, Американського філософського товариства тощо.

За життя С. Бреннера було нагороджено чотирма орденами й шістьма медалями, він отримав 12 престижних премій.

Останні роки життя — до 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.

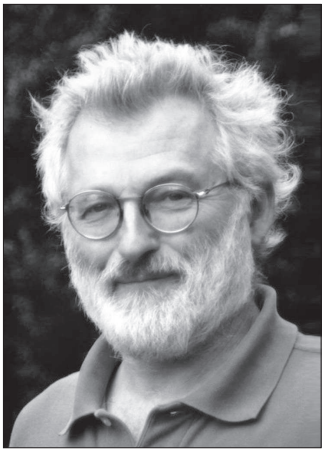
Цими та іншим новаторськими досягненнями доктор Бреннер заклав фундамент для революції в науках про життя, яка триває й сьогодні.

У нобелівській лекції Бреннер зазначив: «*Протягом мого наукового життя та всіх моїх проєктів до мене приєднувалося 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

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



Джон Салстон [6]

Із раннього дитинства Джона надзвичайно цікавило, як працюють природні й механічні речі. Він бачив себе «творцем і виконавцем» [14], коли збирав зі 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 Салстон 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 викладачів. Тривога виявилася безпідставною, бо невдовзі він отримав стипендію на вивчення природничих наук у коледжі «Пембрук» Кембриджського університету, куди прибув восени 1960 р. Спочатку біологія його не надто захопила, насамперед, оскільки він надавав 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 вихователька про те, що відвідувачі театру, здебільшого, відстають у навчанні, Салстон проігнорував. Тоді йому все це здавалося безглуздим, і зрештою, після п'яної гулянки він провів ніч у поліцейському відділку. Як і попереджала 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, закінчивши університет у 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, Александера Тодда, щодо можливого працевлаштування як студента-дослідника. Так Джон потрапив до Коліна Різу, який взяв його на проєкт зі 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 усі доступні в лабораторії технології, включно з мас-спектрометрією та ядерно-магнітним резонансом, намагаючись з ентузіазмом і винахідливістю атакувати практичні проблеми. За три роки він підготував дисертацію на тему «Аспекти синтезу олігорибонуклеотидів» і написав у співавторстві дев'ять наукових статей.

У Кембриджі під час роботи над дисертацією він винаймав квартиру разом зі студентом геофізиком, 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 р. 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 самого року народилася їхня дочка, Інґрід.

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 новоприбулими 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 Фресісом 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 сіднеївського 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.

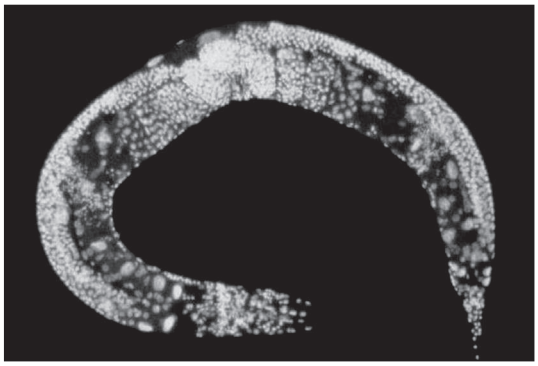
У 1969 р. Салстон із сім'єю повернувся до Кембриджа. Неподалік від лабораторії у Степлфорді Джон купив будинок, де незабаром народився його син, Адріан. Сім'я зробила ще один переїзд у 1975 р. до більшого будинку, де залишалася до кінця життя Джона.

Початковий рік роботи в групі Бреннера, який Джон розглядав як шанс повернутися до нейробіології, що вже віддавна його цікавила, закінчився пе-

реходом на постійну роботу з отриманням штатної посади у відділі клітинної біології ЛМБ. У цій «великій лабораторії», де відпрацьовувалися основні механізми молекулярної біології у співпраці з Х'ю Робертсоном, Сідні Олтманом та Мері Осборн, Джон фактично розпочав наукову кар'єру.

Головна мета проєкту Сіднея Бреннера полягала у детальному розумінні нервової системи *C. elegans*. Як зазначалося 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 нематоди. 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].

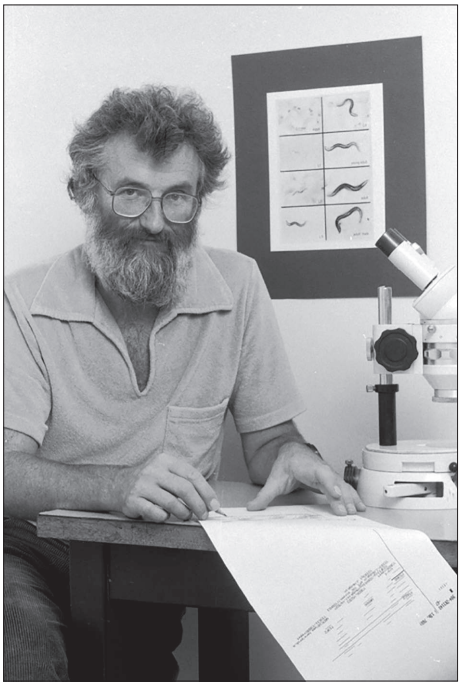
Період роботи в ЛМБ у 1977—1983 рр. був дуже плідним для Салстона. Внаслідок досліджень нематоди разом із Робертом Горвіцем, який прийшов до лабораторії як докторант у 1974 р., були визначені повні постембріональні негонадні лінії як гермафродита, так і самця [17], генетично охарактеризовані мутанти та показано, що більшість ліній є результатом складної взаємодії декількох генів [18, 19]. У співпраці з Джоном Вайтом з використанням лазерної абляції вивчалася 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 р., 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 та поділу клітин в ембріоні, яке забезпечило його обрання до Королівського товариства і відкрило «шлях до Стокгольма».



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

Джон Салстон розширив роботу Сіднея Бреннера з *C. elegans*, використавши розроблені ним методи для дослідження нематоди від запліднeної яйцеклітини до дорослого організму. У публікації 1976 р. Салстон описав лінію клітин частини нервової системи, що розвивається [23]. Він виявив, що ця лінія є незмінною, тобто кожна не-

матода зазнає точно тієї самої 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 *пис*-1. Салстон також показав, що протеїн, кодований геном *пис*-1, необхідний для деградації ДНК клітини.



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

Невідомо, коли Джон почав думати про секвенування всього геному *C. elegans*. Оголошуючи проєкт 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.

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

Після оголошення «чернетки» геному людини Джон відчув, що виконав всі 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 р. 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 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 р. вони спільно заснували при цьому університеті Інститут науки, етики та інновацій (iSEI). Найважливішим результатом цієї співпраці стало написання Манчестерського маніфесту (2012) 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 підготовленого групою звіту були ліквідація абсолютної бідності та подолання нерівності, зменшення споживання матеріалів, глобальне фінансове зобов'язання щодо планування сім'ї та включення населення як чинника в будь-які дебати щодо змін навколишнього середовища. Після виходу на пенсію з iSEI у 2013 р. Салстон присвячував час садівництву та прогулянкам у горах разом із родиною. Помер Джон Салстон 6 березня 2018 р.

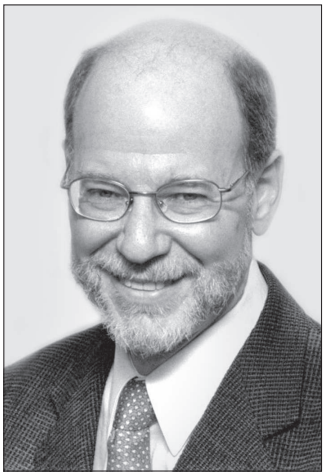
У 2017 р. сер Джон був удостоєний почесної нагороди від королеви Великої Британії за вклад в науку та суспільство. Свого часу його також нагородили орденом, трьома медалями і 10 преміями.

Результати досліджень Джона Салстона лінії клітин *C. elegans*, його внесок у секвенування геномів нематоди 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 загальновизнаного сьогодні принципу, згідно з яким геномні дані мають бути загальнодоступними.

РОБЕРТ ГОРВІЦ

Роберт Горвіц (англ. *H. Robert Horvitz*) народився 8 травня 1947 р. у Чикаго. Його батьки були американцями першого покоління, дітьми євреїв, які покинули Східну Європу приблизно на рубежі століть. Його мати, *Мері Савіт Горвіц*, була родом із Чикаго, а батько, *Оскар Горвіц* — із сусіднього міста Джолієт.

Батько Р. Горвіца був дипломованим бухгалтером, любив цифри і цю любов передав сину. Бухгалтерська кар'єра батька була успішною, він був віцепрезидентом 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 р. батько помер від аміотрофічного латерального склерозу (АЛС). Ця подія вплинула на сина і стала особистою причиною, яка зумовила Роберта зацікавитись нейродегенеративними розладами.



Роберт Горвіц [6]

Роберт навчався в початковій школі Девіта Клінтона (Чикаго). Після того, як він її закінчив у 1960 р., сім'я переїхала до селища Скокі, передмістя Чикаго, де Роберт продовжив навчання в середній школі Іст-Прері. Якось 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». У своїй Нобелівській промові Роберт Горвіц зазначив, що пам'ятає цю книгу донині: «...особливо, коли намагаюся навчити членів 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 проєктом «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 жахливо пахла, і до того ж терпіла ще й запах ефіру, який Роберт використовував під час експерименту. За цей проєкт Роберт отримав призову поїздку на науковий ярмарок штату Іллінойс в Урбана-Шампейні. Мати Роберта зберегла постер цього проєкту 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 Массачусетського 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 захистив дипломну роботу під керівництвом Боба Солоу і серйозно розмірковував про те, щоб стати економістом. Одержимий бажанням займатися чимось «актуальним» (це був кінець 1960-х), Роберт замість аспірантури з математики чи економіки несподівано виявляє бажання вивчати медицину. Його сусіду по кімнаті Елу Сінгеру, у майбутньому лікарю-науковцю Національного інституту раку, вдалося переконати Роберта зайнятися біологією. Після наполегливої

підготовки, яка включала в себе вивчання вступного курсу з біології, курс 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 в 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, якщо його розуміння біохімії не поліпшиться 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 заохотила 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 Т4, 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 нейробіологічні дослідження на нематоді *C. elegans* і спроби 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 і генетичних методів для аналізу пам'яті та навчання *C. elegans.*

Хоча бажання займатися нейробіологією 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 нейробіології, експериментальні методи в електрофізіології та нейробіологію дрозофіли.

5 листопада 1974 р. 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 й 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 їх розміри збільшуються. Проте після розмови з Джоном Салстоном Роберт знайшов цікавішу тему. На той час, як зазначалося вище, Джон досліджував розвиток частини нервової системи та міг безпосередньо бачити 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 р. 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 або медицини «за виявлення та характеристику генів, що контролюють загибель клітин у *C. elegan*s».

Відкриття запрограмованої загибелі клітин уможливило подальші важливі досягнення не тільки в біології розвитку, а 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 започаткував 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 дослідженями *C. elegans*, Горвіц із колегами в 1993 р. визначили перший ген, що спричинює АЛС. У співпраці з Массачусетським універ-

ситетом 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 — професор біології Масачусетського технологічного інституту (МІТ), співробітник Інституту досліджень мозку Макговерна (McGovern Institute for BrainResearch) у рамках MIT, дослідник Інституту інтегративних досліджень раку Девіда Коха та Медичного інституту Говарда Хьюза.

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

У нобелівській лекції Горвіц зазначив: «*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

The Nobel prize in physiology or medicine, 2002

M.V. Grigorieva, V.M. Danilova, S.V. Komisarenko

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.

Keywords: *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 T.V., Komisarenko S.V. Standing on the shoulders of giants: James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin and the birth of molecular biology. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 154—164.

3. Matyshevska O.P., Danilova V.M., Komisarenko S.V. 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. Vol. 92, N 6. P. 183—198.

4. Brenner S. A Life in Science. Publisher : BioMed Central Ltd (June 1, 2001), London, 2001. 191 p.

5. Watson J.D. 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. Vol. 190, N 4776. P. 576—581.

8. Crick F.H., Barnett L., Brenner S., Watts-Tobin R.J. General nature of the genetic code for proteins. *Nature*. 1961. Vol. 192, N 4809. P. 1227—1232.

9. Brenner S., Stretton A.O., Kaplan S. Genetic code: the 'nonsense' triplets for chain termination and their suppression. *Nature*. 1965. Vol. 206, N 4988. P. 994—998.

10. Brenner S. The genetics of Caenorhabditis elegans. *Genetics*. 1974. Vol. 77, N 1. P. 71—94.

11. Grigorieva M.V., Komisarenko S.V. The human genome sequencing race ended 20 years ago. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 3. P. 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 R.H., Ferry G. Sir John Edward Sulston CH. 27 March 1942 — 6 March 2018. *Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society*. 2019. Vol. 67. P. 421—447.

17. Sulston J.E., Horvitz H.R. Post-embryonic cell lineages of the nematode, Caenorhabditis elegans. *Developmental Biology*. 1977. Vol. 56, N 1. P. 110—156.

18. Horvitz H.R., Sulston J.E. Isolation and genetic characterization of cell-lineage mutants of the nematode Caenorhabditis elegans. *Genetic*s. 1980. Vol. 96, N 2. P. 435—454.

19. Sulston J.E., Horvitz H.R. Abnormal cell lineages in mutants of the nematode Caenorhabditis elegans. *Developmental Biology*. 1981. Vol. 82, N 1. P. 41—55.

20. Sulston J.E., White J.G. Regulation and cell autonomy during postembryonic development of Caenorhabditis elegans. *Developmental Biology*. 1980. Vol. 78, N 2. P. 577—597.

21. Chalfie M., Sulston J. Developmental genetics of the mechanosensory neurons of Caenorhabditis elegans. *Developmental Biology*. 1981. Vol. 82, N 2. P. 358—370.

22. Hedgecock E.M., Sulston J.E., Thomson J.N. Mutations affecting programmed cell deaths in the nematode Caenorhabditis elegans. *Science*. 1983. Vol. 220, N 4603. P. 1277—1279.

23. Sulston J.E. Post-embryonic development in the ventral cord of Caenorhabditis elegans. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biology Science*. 1976. Vol. 275, N 938. P. 287—297.

24. Coulson A., Sulston J., Greenwald I. et al. Physical Mapping of the C. elegans Genome. *Worm Breeder's Gazette*. 1984. Vol. 8, N 2. P. 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. Vol. 282, N 5396. P. 2012—2018.

26. Hillier L.W., Coulson A., Murray J.I. et al. Genomics in C. elegans: so many genes, such a little worm. *Genome Research*. 2005. Vol. 15, N 12. P. 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 H.M., Horvitz H.R. Genetic control of programmed cell death in the nematode C. elegans. *Cell*. 1986. Vol. 44, N 6. P. 817—829.

30. Ellis R.E., Yuan J.Y., Horvitz H.R. Mechanisms and functions of cell death. *Annual Review of Cell Biology*. 1991. Vol. 7. P. 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/

УБІКВІТИН ТА ЙОГО РОЛЬ У ПРОТЕОЛІЗІ
Нобелівська премія з хімії, 2004

О.П. Матишевська, М.В. Григор'єва, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

Історія нашого дослідження показує, що система убіквітину не була б відкрита без біохімічних підходів. Тож моя порада молодим дослідникам з біомедичних наук: якщо у вас є проблема, яку неможливо вирішити лише молекулярною генетикою, не вагайтеся застосувати біохімію, увійти до холодної кімнати та наблизитись до обладнання зі швидкої рідинної хроматографії протеїнів (FPLC).

А. Гершко

Досягнення — це не Нобелівська премія, досягнення — це наука. Призи та визнання не є ціллю, до якої слід прагнути. Проривні досягнення, що розширюють наші знання про світ і приносять користь людству — ось ціль.

А. Чехановер

Аарон Чехановер, Аврам Гершко та Ірвін Роуз на початку 1980-х років відкрили один з найважливіших циклічних процесів у клітині — регульовану АТР-залежну деградацію протеїнів, за що були нагороджені Нобелівською премією з хімії у 2004 р. Ці вчені довели існування нелізосомного шляху протеолізу і повністю змінили уявлення про механізми деградації протеїнів всередині клітини. Вони продемонстрували, що обираючи протеїн, що підлягає знищенню, клітина попередньо позначає його біохімічним маркером, який називають ***убіквітин****. Поліубквітування протеїну як сигнал для його протеолізу було новим механізмом, розкриття якого стало можливим завдяки спільній роботі трьох вчених з виділення ензимів-учасників цього послідовного процесу, з'ясування його біохімічних етапів та причин енергозалежності. Тут наведено біографічні дані нобелівських лауреатів, описано застосовані методи та історію дослідження, яке завершилося відкриттям феномену опосередкованої убіквітином протеасомної деградації протеїнів та присудженням Нобелівської премії.*

Ключові слова: *А. Чехановер, А. Гершко, І. Роуз, убіквітин, регульована деградація протеїнів.*

Період наукових досліджень з 1950-х до 1980-х років знаменувався інтенсивним розвитком молекулярної біології і революційним проривом у з'ясуванні структури ДНК, механізмів передачі генетичної інформації від ДНК до РНК та синтезу протеїнів. Однак питання про те, як протеїни деградують, залишалось поза увагою дослідників. На початку переважала думка, що розщеплюються лише харчові протеїни для постачання енергії, тоді як структурні протеїни організму є відносно стійкими і піддаються лише незначному «зношуванню». Після відкриття лізосом у 1950-х стало зрозумілим, що ці органели, оснащені протеолітичними ензимами, активними за кислого значення pH, здійснюють розщеплення протеїнів. Проте низка накопичених з часом даних протирічила уявленням щодо ролі лізосомної активності у деградації протеїнів. Так, час напівіснування різних протеїнів розрізнявся на декілька порядків (від хвилин до багатьох діб), а інгібітори лізосомних протеїназ пригнічували розщеплення позаклітинних протеїнів, що надходили внаслідок рецепторного ендоцитозу, однак ніяк не впливали на розщеплення протеїнів із коротким періодом на-

півіснування, а також аномальних (мутованих) протеїнів. Окрім того, на відміну від екзергонічного процесу розщеплення протеїнів лізосомними протеазами, внутрішньоклітинний протеоліз потребував метаболічної енергії, що було парадоксальним з точки зору термодинаміки.

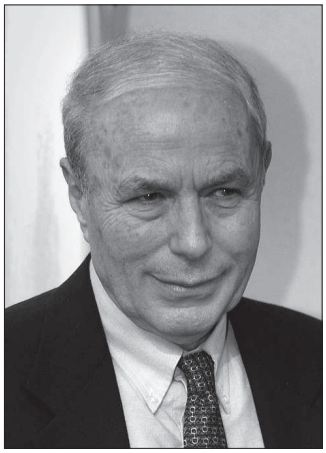
Ці дані свідчили про існування нелізосомного механізму деградації протеїнів, проте для підтвердження його існування бракувало безклітинної системи, яка б копіювала деградацію протеїнів через специфічний енергозалежний механізм за нейтрального значення pH. Таку безклітинну протеолітичну систему було вперше отримано з ретикулоцитів у 1977 р. Ретикулоцити є термінально диференційованими клітинами крові, які на кінцевих стадіях дозрівання в кістковому мозку перед виходом у кровотік втрачають лізосоми та інші структурні елементи, проте зберігають здатність розщеплювати внутрішньоклітинні протеїни. Саме таку безклітинну систему для досліджень з деградації протеїнів використали **Аарон Чехановер** (Technion — Ізраїльський технологічний інститут, Хайфа, Ізраїль), **Аврам Гершко** (Technion — Ізраїльський технологічний інститут, Хайфа, Ізраїль) та **Ірвін Роуз** (Каліфорнійський університет, Ірвайн, США). Ці вчені повністю змінили уявлення про механізми деградації протеїнів. Вони показали, що клітина, обираючи протеїн, який підлягає знищенню, попередньо позначає його біохімічним маркером, що називають **убіквітин**. У 2004 р. трьох вчених було нагороджено Нобелівською премію з хімії «*за відкриття опосередкованого убіквітином розщеплення протеїнів* (*for the discovery of ubiquitin-mediated protein degradation*)». Зазвичай Нобелівський комітет у своїх повідомленнях дотримується суворої наукової термінології, але цього разу, викладаючи суть удостоєного премією відкриття, він вдався до образного виразу «поцілунок смерті», у такий спосіб позначивши роль убіквітину у деградації протеїнів. Нобелівську премію було розподілено порівну між лауреатами.

КОРОТКО ПРО ЛАУРЕАТІВ

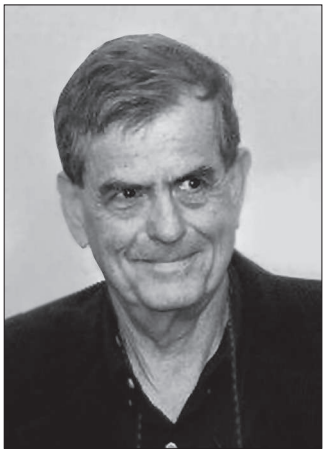
Аврам Гершко (англ. *Avram Hershko*) народився 31 грудня 1937 р. у невеликому угорському містечку Каркаг, розташованому неподалік від Будапешта. Його батько, Моше Гершко, був шкільним учителем у єврейській початковій школі, а мати — Маргіт (Шошана) Гершко, давала дітям уроки гри на фортепіано. Довоєнний період дитинства Аврам вважає дуже щасливим, він жив у оточеному садом будинку разом з люблячими батьками і старшим братом Хаймом. Цей рай було втрачено з початком Другої світової війни. У 1942 р., після приєднання Угорщини до нацистської Німеччини, батька Аврама призвали на службу і згодом відправили на російський фронт, де він потрапив у полон.

У 1944 р. Аврама з матір'ю, старшим братом та іншими єврейськими сім'ями відправили до концтабору Аусшвіц, де загинули, як з'ясувалось пізніше, багато рідних Гершко. За щасливою випадковістю поїзд, в якому знаходився Аврам, прибув до Австрії, де євреї направлялись на примусові роботи. У 1946 р. після повернення з полону батька сім'я переїхала до Будапешта, а через три роки емігрувала до Ізраїлю.

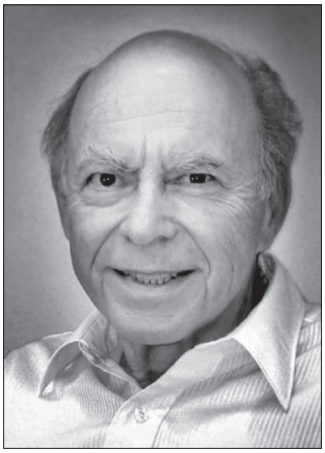
В Єрусалимі батько працював вчителем, завдяки цьому Аврам і його брат змогли навчатись у дорогій приватній школі. Аврам був хорошим учнем, з легкістю засвоював математику, фізику, літературу, історію і навіть Талмуд.



Аврам Гершко (1937)



Аарон Чехановер (1947)



Ірвін Роуз (1926—2015)

Закінчивши школу, він вирішив вивчати медицину (можливо тому, що його брат Хайм вже був студентом-медиком і усі його книги можна було успадкувати безкоштовно). У 1956 р. Аврам вступив до Медичної школи Хадасса Єврейського університету в Єрусалимі. Частину курсу органічної хімії тут викладав Якоб Магер — видатний біохімік і людина енциклопедичних знань. Аврам був настільки вражений глибиною і широтою знань Магера з біохімії, що напросився присвятити рік до початку клінічного медичного навчання дослідженням у його лабораторії, де і почав працювати у 1960 р. У своїй відносно невеликій лабораторії Магер одночасно працював над декількома науковими проєктами з біомедицини і вмів зацікавити учнів різними галузями біохімії. Наприкінці того року Аврам вже знав, що буде займатися науковою роботою, а не клінічною практикою.

Аврам закінчив медичне навчання, отримавши ступінь магістра наук у 1965 р., а потім як лікар проходив військову службу (1965—1967). Щоб отримати ступінь PhD, він повернувся до лабораторії Я. Магера ще на два роки (1967—1969). Здобутий досвід роботи з цим вченим не лише поглибив знання Аврама з ензимології, а й значно вплинув на його становлення як науковця. Якоб Магер був дуже суворим експериментатором, кожен дослід необхідно було проводити з усіма можливими позитивними та негативними контролями, а кожен значущий новий результат повторювати кілька разів, щоб довести його достовірність.

У 1968 р. А. Гершко познайомився з Гордоном Томкінсом з Каліфорнійського університету в Сан-Франциско, який давав кілька лекцій в Ізраїлі. У 1969—1971 рр. на запрошення цього вченого та під його керівництвом Аврам працював як постдок у лабораторії кафедри біохімії та біофізики Каліфорнійського університету. Г. Томкінс дуже відрізнявся від Я. Магера, був комунікабельним, жвавим, не дуже піклувався про експериментальні деталі, але постійно вивергався великими ідеями та був чудовим стимулятором роботи багатьох дослідників. Г. Томкінс займався проблемою активації гормонами синтезу тирозинамінотрансферази (ТАТ) у клітинах гепатоми. Гершко згадував:

«Коли я прибув до лабораторії та побачив багатьох докторантів, які працювали над різними аспектами синтезу ТАТ, то мені здалося, що тут занадто людно і я попросив Гордона про інший проєкт. Він запропонував мені вивчити деградацію ТАТ як процес, від якого також залежить рівень цього ензиму. Ось так я дізнався про розпад протеїнів і захопився цією проблемою, над якою працюю з тих пір» [1]. Вчений виявив, що деградація ТАТ повністю зупинялась за дії інгібіторів синтезу АТР. Цей факт свідчив, що енергія була потрібна для високоселективної деградації специфічного ензиму, яку навряд чи можуть здійснювати лізосоми, і що всередині клітин існує нова, доки невідома протеолітична система [2].

Наприкінці 1971 р. А. Гершко повернувся із Сан-Франциско до Ізраїлю і посів запропоновану йому посаду декана медичного факультету та завідувача відділення біохімії щойно відкритого у Хайфі університету Техніон. Хоча на той час медичний факультет був дуже маленьким і, як сподівалися, тимчасово (а насправді до побудови нового корпусу в 1987 р.) розташовувся в двоповерховому приміщенні старого монастиря, саме тут було здійснено значну частину досліджень, пов'язаних з відкриттям ролі убіквітину в деградації протеїнів. Протягом кількох років Аврам разом зі своєю відданою дослідницькою групою намагалися створити безклітинну систему, яка б відтворювала енергозалежну деградацію протеїнів у пробірці, використовуючи різні джерела, такі як гомогенат печінки, екстракти культивованих клітин і навіть бактерій. Незважаючи на те, що ці спроби були безуспішними, а колеги з інших лабораторій навіть радили вченому покинути цю безнадійну тему, Аврам Гершко був дуже впертим і переконаним у тому, що дізнатися, як розкладаються протеїни, можна лише за допомогою безклітинної системи, яка піддається біохімічному аналізу. Зрештою дослідники використали для біохімічного фракціонування АТР-залежну протеолітичну безклітинну систему з ретикулоцитів (про що йшлося вище), вперше отриману і охарактеризовану у 1977 р. А. Гольдбергом з Гарвардської медичної школи [3].

Використана групою А. Гершко експериментальна методика була досить простою — спочатку протеїни у ретикулоцитах мітили радіоактивною міткою, потім отримували лізат, проводили інкубацію за присутності АТР і після осадження трихлороцтовою кислотою визначали розпад протеїнів за кількістю радіоактивної мітки у надосадовій рідині відносно тієї, що спочатку була виявлена в осаджених протеїнах. Ця модель доводила, що за деградацію протеїнів у ретикуолцитах відповідає розчинна енергозалежна протеолітична система, проте механізм її функціонування залишався повністю невідомим. А. Гершко був упевненим, що з'ясувати це можна лише з використанням методів класичної біохімії, а саме фракціонування та розділення активних компонентів, очищення кожного з них та відновлення цілісної системи з ізольованих компонентів.

Розпочавши фракціонування лізату ретикулоцитів, Гершко скоритався добутим під час роботи з Магером досвідом з очищення еритроцитів від гемоглобіну методом аніонобмінної хроматографії. Вміст гемоглобіну в ретикулоцитах, як і в еритроцитах, становить приблизно 80 % загального вмісту протеїнів, тому першим завданням було позбутися його значної кількості. Для цього лізат було розділено на DEAE целюлозі, яка зв'язує більшість протеїнів, окрім ге-

моглобіну, на дві фракції, перша містила не адсорбовані протеїни (фракція I), а друга — елюйовані з колонки зв'язані протеїни (фракція II). І тут дослідники натрапили на перше несподіване відкриття. Протеолітичної активності не було виявлено в жодній з двох фракцій, однак у разі їх поєднання активність відновлювалась. З цього було зроблено висновок, що шукана протеаза не була класичним єдиним ензимом, а складалася щонайменше з двох компонентів. Для очищення та характеристики активного компонента було вирішено використати фракцію I, що не містила занадто великої кількості додаткових протеїнів, окрім гемоглобіну.

У 1977 р. на зустрічі науковців у центрі Фогарті Національних інститутів охорони здоров'я (NIH) у США вчений познайомився з відомим спеціалістом з питань ензимології — Ірвіном Роузом. Під час розмови Роуз повідомив, що цікавиться деградацією протеїнів, що вразило Аврама, адже він не зустрічав його статей на цю тему. Виявилось, що свого часу Роуз намагався зрозуміти енергетичну залежність деградації протеїнів, проте не досяг істотного прогресу експериментально, тому не мав відповідних публікацій. А. Гершко вважав, що це була щаслива зустріч, адже після шести років роботи у Техніоні він пересвідчився, що коло науковців, які цікавились питанням протеолізу, було дуже вузьким, тому запропоноване Роузом запрошення на стажування до його лабораторії в Центрі раку Фокс-Чейзі (Філадельфія, США) було дуже доречним. Співробітництво з Е. Роузом відіграло важливу роль у подальших дослідженнях.

У 1978 р. до групи Гершко у Хайфі приєднався Аарон Чехановер. У 1972—1973 рр. він виконував магістерську роботу під керівництвом Аврама Гершко, а після закінчення медичної освіти і служби в армії в 1976 р. повернувся до лабораторії, щоб продовжити наукову роботу та отримати PhD-ступінь. Йому й було доручено виділити активний компонент з фракції I лізату ретикулоцитів.

Високо цінуючи внесок А. Чехановера у з'ясування механізмів протеолізу, А. Гершко окремо відзначав його менеджерські здібності: «*Якось я пожалівся Ерні Роузу, наскільки малі ізраїльські дослідницькі гранти, і він запропонував мені подати заявку на іноземний дослідницький грант від NIH. Я був швидше схильний провести ще кілька експериментів замість того, щоб писати заявку на грант, але Аарон підвів мене до стола і наполіг: "Тепер напишіть заявку на грант NIH!" Я написав і отримав грант, перший із п'яти послідовних грантів NIH. Це врятувало ситуацію в лабораторії у Хайфі в дуже критичний час і я вдячний NIH за підтримку моєї роботи, а Аарону за те, що змусив мене написати початкову заявку*» [1].

У тісному співробітництві з Е. Роузом та А. Чехановером вчений продовжив дослідження, які привели до відкриття трьох ензимів, відповідальних за приєднання убіквітинової мітки до протеїну-субстрату та до розробки поетапної схеми цього процесу.

У 90-ті роки XX ст. А. Гершко працював у Морській біологічній лабораторії (MBL) у Вудс-Холі (США), де досліджував механізми деградації цикліну в безклітинній системі, створеній із запліднених яйцеклітин молюска *Spisula solidissim* [4].

Вчений не покидав наукової та викладацької діяльності на медичному факультеті Ізраїльского технологічного університету Техніон і наразі є заслуженим професором цього закладу.

Ірвін Роуз (англ. *Irwin Rose*) — американський біолог і біохімік, народився 1926 р. у районі Брукліна у Нью-Йорку. Його мати, Елла Грінвальд, народилася в Америці в сім'ї емігрантів з Угорщини. Батько, Гаррі Роуз, родом з Одещини, був власником магазину покриттів для підлоги. Через те, що брат Роуза хворів на ревматизм, сім'я переїхала до міста Спокен (штат Вашингтон) із сухішим кліматом. Коли Ірвіну було 13 років, йому довелося влітку працювати у місцевій лікарні, здебільшого допомагаючи у психіатричному відділенні. Набутий досвід вплинув на юнака і змусив задуматись над діяльністю, пов'язаною з вирішенням медичних проблем. Проте ніхто в сім'ї не займався дослідженнями, і юнакові не було з ким порадитись, тому він обрав майбутню професію самостійно та вступив до медичного факультету Вашингтонського державного коледжу. Тут він навчався лише рік, бо навчання було перервано службою на флоті під час Другої світової війни. Після закінчення служби він вступив до Чиказького університету, де у 1948 р. отримав ступінь бакалавра, а у 1952 р. захистив кандидатську (PhD) дисертацію. Метою його дослідження було визначити, чи збільшується вміст ДНК у тканинах щура, якщо дієта містила вітамін B_{12}. Цей проєкт був приречений на провал, оскільки на той час було виявлено генетичну роль ДНК. У праці [5] Роуз показав, що вміст ДНК у клітинах печінки не залежить від дієти.

Слід було розпочати новий проєкт і молодий вчений присвятив його дослідженню реакцій біосинтезу компонентів ДНК. Для цього він використав радіоізотоп C^{-14}, що став доступним лише нещодавно, і показав, що ^{14}C у складі дезоксицитидину надходить від його рибонуклеозидного попередника — цитидину [6].

У 1955 р. Е. Роуз отримав запрошення стати викладачем біохімії в медичній школі Єльського університету. Тут він познайомився з Мелом Сімпсоном, який раніше у своїх експериментах на зрізах печінки щура показав, що зниження вмісту АТР призводить до падіння швидкості вивільнення амінокислот із протеїнів. Це спостереження свідчило про потребу в АТР для розщеплення протеїнів і потребувало подальших досліджень, однак задачею Сімпсона було віднайти систему для дослідження *in vitro* не деградації протеїнів, що вважалось неактуальним, а їх синтезу. Проте Роуз з того часу планував експерименти, щоб зрозуміти енергетичну залежність розпаду протеїнів, і слідкував за науковими повідомленнями щодо прогресу в дослідженні цього процесу.

У 1963 р. Роуз зі своєю дослідницькою групою перемістились до Центру раку у Фокс-Чейзі (Філадельфія). Тут вчений, використовуючи клітини асциту Ерліха та інші клітинні препарати, почав пошуки безклітинної системи, яка б показала залежність деградації протеїнів від АТР, проте спроби були невдалими. Як було показано пізніше, неспроможність клітинних екстрактів забезпечити АТР-залежне розщеплення протеїнів пояснювалася присутністю лізосомної трипсиноподібної протеази, яка руйнувала убіквітин [7].

Головною задачею Роуза на той час було дослідження механізмів ензиматичних реакцій і пошук відповіді на питання, як ензими «перезавантажу-

ються» після кожного каталітичного акту, як можна виявити та охарактеризувати загадкові проміжні продукти під час роботи ензиму. Внесок Ерні Роуза у вирішення цих проблем є одним з його найбільших досягнень. Зокрема, для виявлення проміжних продуктів реакції він розробив метод позиційного ізотопного обміну (*positional isotope exchange, PIX*), який зазвичай застосовується для вивчення складних АТР-залежних реакцій і полягає у міченні АТР за допомогою O^{18} та в моніторингу руху міченого кисню до певного положення всередині вихідного продукту. У 1972 р. Роуз зі співробітниками розробили метод імпульсної мітки (*Pulse/Chase method*), який полягає у короткочасному міченні протеїну з подальшою фіксацією швидкості зникнення мітки у його складі упродовж певного часу, що дає змогу визначати константи зв'язування та швидкості дисоціації комплексу ензим—субстрат. Ці методи допомогли розплутати доволі складний клубок ензиматичних реакцій у циклі убіквітин-залежного протеолізу [8].

Улітку 1978 р. до лабораторії Роуза у Центрі раку у Фокс-Чейз прибули Аврам Гершко та його учень, Аарон Чехановер, які до того часу вже фракціонували екстракт ретикулоцитів і виявили двокомпонентність системи протеолізу. Відколи Аврам Гершко попросив поділитися можливостями лабораторії Роуза для спільної роботи, його та його групу вітали у Фокс-Чейзі під час творчих відпусток та в літні періоди упродовж 22 років досліджень механізму внутрішньоклітинного протеолізу.

Ірвін Роуз вирізнявся винятковою скромністю; для колег завжди було великою проблемою отримати його згоду стати співавтором публікації, незважаючи на його значний внесок у сумісну роботу. Він завжди применшував свою роль у розробці убіквітинового механізму, за яку був нагороджений Нобелівською премією, а у написаній ним у 2004 р. автобіографії слово «убіквітін» не згадано.

Ірвін Роуз працював у Центрі раку у Фокс-Чейзі до виходу на пенсію в 1995 р. Вчений помер у 88 років, 2 червня 2015 р. у Дерфілді (штат Массачусетс).

Аарон Чехановер (англ. *Aaron Ciechanover*) народився 1 жовтня 1947 р. у Хайфі, Ізраїль (за місяць до того, як ООН визнала Ізраїль незалежною державою) у сім'ї вихідців із Польщі, які ще до Другої світової війни переїхали з Польщі до Палестини і дотримувались єврейських релігійних традицій. Його батько був адвокатом, а мати — домогосподаркою та вчителькою англійської мови. З дитинства Аарон захоплювався біологією, вчився екстрагувати етанолом хлорофіл з листя і проводив перші експерименти з осмосу клітин, спостерігаючи за процесом через мікроскоп, подарований старшим братом. Навчаючись у середній школі (1953—1965), він зосередився на вивченні біології, проте на той час біологія була не експериментальною, а переважно описовою наукою, а структура ДНК як носія генетичної інформації увійшла до шкільних підручників лише під кінець його навчання. Водночас юнак зацікавився фізикою, хімією та математикою, які видавались йому більш обґрунтованими. У роздумах над майбутньою спеціальністю медицина видавалась йому збалансованою сумішшю фізики, хімії, фундаментальної біології, фізіології та патології.

Після закінчення школи Аарону, як і кожному випускникові в Ізраїлі, слід було пройти службу в армії. Проте армія заохочувала деяких випускників середньої школи відкласти службу, щоб спочатку отримати університетську освіту, особливо в наближених до військових сферах, таких як медицина. Рано втративши батьків і не маючи фінансової підтримки, юнак вирішив оволодіти професією, якою можна заробляти на життя і у 1965 р. вступив до медичної школи Єврейського університету в Єрусалимі. Наприкінці навчання, коли розпочалось обстеження пацієнтів, у нього виникли сумніви, чи правильний вибір він зробив і чи хоче стати лікарем, що практикує. Причиною була невдоволеність через те, що медицина виявилася не менш описовою, ніж біологія, а наукові уявлення про механізми багатьох захворювань були відсутні. У 1969 р. Аарон вирішив поглибити досвід у фундаментальних дослідженнях і присвятив свою першу експериментальну роботу вивченню на тваринній моделі активності фосфатази фосфатидної кислоти як ключового ензиму в синтезі тригліцеридів за патологічних станів печінки. Коли у 1972 р. він закінчив медичну школу, то вже твердо знав, що його покликання — біохімія.

Щоб отримати медичну ліцензію, Аарону потрібно було пройти навчання протягом року в інтернатурі. Коллеги порекомендували йому молодого талановитого біохіміка — доктора Аврама Гершко, який щойно закінчив докторантуру під керівництвом Г. Томкінса в Університеті Каліфорнії у Сан-Франциско і був призначений деканом медичного факультету нещодавно створеного у Хайфі університету Техніон. Чехановер написав Авраму про готовність переїхати до Хайфи, щоб використати цей рік, аби під його керівництвом закінчити магістерську роботу. А. Гершко погодився прийняти його як студента-магістра і в жовтні 1972 р. розпочалася їх спільна робота. У період 1972—1973 рр. Чехановер працював у лабораторії переважно вечорами, ночами та у вихідні, адже йому доводилось суміщати роботу з дослідження обміну фосфоліпідів із роботою в клініці. Отримана медична освіта не скасовувала подальшої служби в армії і впродовж 1973—1976 рр. Чехановер служив лікарем на військовому кораблі, періодично поєднуючи службу з читанням лекцій з біохімії студентам медичного університету.

Після закінчення військової служби Чехановер остаточно вирішив пов'язати кар'єру з науковими дослідженнями. У 1977 р. він повернувся як докторант до Техніону в лабораторію А. Гершко, група якого саме тоді зосередилася на дослідженні АТР-залежного внутрішньоклітинного протеолізу. Перше завдання для нього від Аврама Гершко, який на той час відбув на стажування до лабораторії Е. Роуза, — очистити активний компонент з фракції I, отриманої в процесі фракціонування лізату ретикулоцитів. Але всі спроби Аарона були безуспішними, доки в лабораторії не задалися «божевільною» ідеєю нагріти фракцію I, щоб перевірити, чи не є цей компонент термостабільним. І тут вчених чекала друга несподіванка — виявилось, що це справді так, після 5—10 хв нагрівання при 90 °С гемоглобін у фракції випадав у осад, а активність залишалася у розчинній надосадовій рідині. Спеціалісти з хімії протеїнів університету Техніон стверджували, що компонент не може бути протеїном, проте він був чутливим до дії трипсину та осаджувався сульфатом амонію, а подальша характеристика підтвердила, що це дійсно протеїн із молекулярною

Директор Інституту біохімії ім. О. В.Палладіна, академік Сергій Комісаренко ознайомив лауреата Нобелівської премії з хімії **Аарона Чехановера** *з експозицією Меморіального музею О.В.Палладіна, 11 серпня 2008 р.**

(*У книзі відгуків вчений залишив свої враження і високо оцінив діяльність Інституту та музею ім. О. В Палладіна та відзначив, наскільки важливим є збереження історії науки та її творців.)

масою 8500 Да. Так відкрили перший АТР-залежний фактор протеолізу, який назвали APF-1 (*ATP-dependent Proteolysis Factor 1*). Ці інтригуючі результати Чехановер і Гершко опублікували у *BBRC* у статті, що стала першою в історії відкриття багатокомпонентної убіквітин-залежної протеолітичної системи [9].

Попереду в Аарона Чехановера були п'ять років захопливого перебування у докторантурі в співробітництві з А. Гершко та Е. Роузом, яке завершилося розшифровкою системи убіквітину. У 1982 р. Чехановер отримав ступінь доктора біології, а у 1982—1984 рр. проходив стажування як постдок на біологічному факультеті Массачусетського технологічного інституту (Кембридж, США).

З 1986 р. Чехановер працював на кафедрі біохімії університету Техніон. Наразі він — заслужений професор Центру ракової судинної біології Медичного факультету і науково-дослідного інституту Раппапорта в Техніоні (Хайфа, Ізраїль) [10].

Зазначимо, що Аарон Чехановер є надзвичайно доброзичливою й привабливою особистістю. На запрошення науковців із різних країн світу він читає лекції, із задоволенням ділиться як своїми особистими науковими досягненнями, так і досягненнями медико-біологічних наук у цілому. На запрошення різних наукових товариств вчений декілька разів побував в Україні. У 2008 р. на запрошення Українського біохімічного товариства він виступив з лекцію у Києві в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Зупинимось детальніше на дослідженнях цих видатних вчених.

У 1970-х роках А. Гершко та А. Чехановер відкрили два невідомих раніше факти. Перший свідчив, що система АТР-залежного внутрішньоклітинного протеолізу складається з двох компонентів, що містяться окремо у фракціях I та II лізату ретикулоцитів, а другий полягав у ідентифікації активного компонента фракції I, яким виявився невеликий термостабільний протеїн APF-1. Наступного прогресу було досягнуто у лабораторії А. Гершко у Хайфі взимку 1978—1979 рр., коли APF-1 було очищено до гомогенності та помічено радіоактивним йодом. Коли мічений протеїн інкубували з фракцією II та АТР

і піддавали суміш гель-фільтраційній хроматографії, то спостерігали значне АТР-залежне зв'язування APF-1 з матеріалом високої молекулярної маси [11].

Спочатку вчені припустили, що APF-1 може бути активатором або субодиницею протеїнази. Проте результати подальшого аналізу продуктів реакції за допомогою електрофорезу в SDS-поліакриламідному гелі свідчили, що APF-1 зв'язується з дуже великою кількістю ендогенних протеїнів. Оскільки фракція II містила не тільки ензими, а й ендогенні субстрати протеолітичної системи, вчені почали підозрювати, що APF-1 зв'язується зовсім не з ензимом, а з протеїновими субстратами. Дійсно, було продемонстровано, що окремі протеїни-субстрати АТР-залежної протеолітичної системи, такі як лізоцим, можуть зв'язуватись з APF-1.

Важливого прориву було досягнуто, коли А. Гершко та А. Чехановер, перебуваючи у Fox Chase лабораторії Е. Роуза, зосередились на з'ясуванні послідовності роботи протеолітичної системи. Серія експериментів, у плануванні яких глибокі знання Роуза з хімії та ензимології протеїнів відіграли вирішальну роль, показала, що APF-1 ковалентно зв'язується з субстратом через зв'язок, який мав усі характеристики пептидного зв'язку. Найнесподіванішим й унікальним виявився той факт, що окремі одиниці APF-1 утворювали ланцюг, приєднаний до призначеного для розщеплення протеїну. Було показано також, що реакція є зворотною, APF-1 може від'єднуватись від субстрату і використовуватися повторно, проте не шляхом обернення реакції кон'югації, а, очевидно, за участі певної протеїнази [12]. Саме тоді вчені припустили, що ковалентне приєднання численних одиниць APF-1 до субстрату необхідне для його розпізнавання та деградації ще не ідентифікованою на той час протеазою (пізніше з'ясувалось, що це 26S протеасомний комплекс), яка діє лише на мічені у такий спосіб протеїни. Запропонована модель, опублікована у 1980 р. у *PNAS*, вперше описувала загальний механізм АТР-залежного протеолізу [12]. Ця модель витримала випробування часом, хоча і потребувала уточнення та з'ясування деталей. Так, напочатку виникали сумніви щодо того, чи може один протеїн ковалентно модифікуватись іншим.

Увагу дослідників привернув охарактеризований I. Goldknopf у 1977 р. кон'югат двох протеїнів — невеликого 8,6 КДа протеїну, відомого як *убіквітин*, та *гістону H2A*, поєднаних ізопептидним зв'язком між С-кінцевим залишком Gly^{76} у складі убіквітинового та ε-NH_2 групою Lys^{119} у складі гістонового компонентів [13].

Той факт, що *APF-1 і є убіквітином*, було доведено співробітниками лабораторії Роуза — постдокторантами *К. Вілкінсом* та *А. Хаасом*. Вчені виявили, що як ^{125}I-убіквітин, так і ^{125}I-APF-1 за взаємодії з ендогенними протеїнами ретикулоцитів утворюють кон'югати, які є електрофоретично ідентичними. Порівняння результатів ізоелектричного фокусування та аналізу амінокислотної послідовності убіквітину з такими самими показниками, отриманими А.Чехановером при дослідженні APF-1 у лабораторії А. Гершко, також показало їх повний збіг. Результати двох досліджень були одночасно опубліковано в 1980 р. у «*Journal of Biological Chemistry*» [14, 15].

Таким чином, через зближення двох напрямів, дослідження гістонів та протеолізу, вдалося довести ізопептидну природу зв'язку між APF-1/убіквi-

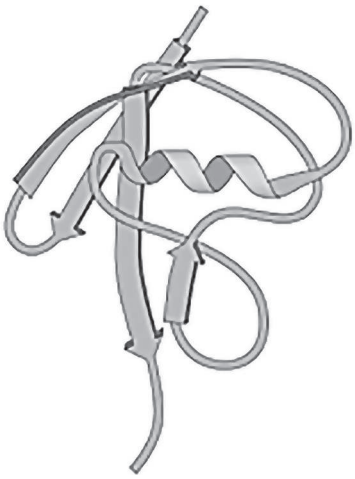


Рис. 1. Схематичне зображення молекули убіквітину [17]

тином і таргетним субстратом. Зазначимо, що якщо модифікація призначеного для протеолізу протеїну полягає у приєднанні поліубіквітинового ланцюга (поліубіквітування), то молекула гістону приєднує убіквітин лише один раз (моноубіквітування), що не призводить до її дестабілізації. Роль такої модифікації гістонів залишалась нез'ясованою, лише натепер загальновідоме її значення як одного з механізмів епігенетичного контролю транскрипції.

Що стосується убіквітину (рис. 1), то це консервативний, термостабільний невеликий протеїн із 76 амінокислотних залишків, відкритий Г. Голдштейном у 1974 р. під час дослідження гормонів тимуса. Функція його була невідома, але універсальна поширеність у всіх організмах дала підставу для його назви (лат. *ubique* означає «всюди») [16].

А. Чехановер писав у біографії: «*Хоча в ретроспективі назва убіквітин є неправильною, оскільки протеїн не є всюдисущим, як вважалося раніше, а властивий лише еукаріотам, з історичних причин вона все ще залишалася назвою протеїну. Аби уникнути плутанини ми запропонували, щоб назви нових компонентів системи убіквітину залишалися такими, які були вперше придумані їх першовідкривачами. Таким чином, за відносно короткий проміжок часу убіквітин перетворився з повсюдно поширеного тимопоетичного гормона на еукаріотичний протеолітичний маркер*».

Продемонстрована дослідниками кон'югація убіквітину з протеїном як сигнал для протеолізу була новим механізмом, розкриття якого потребувало виділення ензимів-учасників та розуміння причин енергозалежності процесу, який згідно з тогочасними уявленнями мав би бути екзергонічним. З'ясування майбутніми нобелівськими лауреатами цих питань загалом тривало 10 років (1980—1990) і здійснювалось цілком виправданими біохімічними методами фракціонування компонентів і відтворення системи. Було виявлено, що убіквітин приєднується до протеїну не одним ензимом, а через послідовну дію трьох ензимів. З неочищеного екстракту ретикулоцитів за допомогою афінної хроматографії на сефарозі з ковалентно приєднаним убіквітом як «приманкою» було виділено і охарактеризовано усі три ензими [18, 19]. Послідовність їх дії та завершальний етап убіквітин-залежного протеолізу наведено на схемі А. Чехановера (рис. 2) [20].

З'ясування першої реакції дало відповідь на запитання, чому процес є енергозалежним. Ензим, що каталізував цю реакцію, ковалентно зв'язувався з убіквітином на колонці за присутності АТР, а елюювати його можна було АМР і пірофосфатом або високою концентрацією тіолової сполуки. Звідси зробили висновок, що перший ензим (Е1) здійснює АТР-залежну активацію карбоксикінцевого залишку гліцину в складі убіквітину через утворення аденілату убіквітину та переносить активований убіквітин на сульфгідрильну групу за-

лишку цистеїну у своєму активному центрі з утворенням тіоефірного зв'язку (рис. 2, етап 1):

$$E1 + ATP + Ub \leftrightarrow E1.AMP\text{-}Ub + PPi$$

$$E1.AMP\text{-}Ub \leftrightarrow E1\text{-}S\text{-}Ub + AMP$$

Ензим 1 назвали *убіквітин-активувальним*, його систематична назва — *убіквітин: [E1] лігаза* (що утворює AMP). З усіх трьох ензимів безпосередньо з убіквітином як субстратом взаємодіяв лише E1. Встановлено також, що ATP випереджає убіквітин у приєднанні до E1. Спорідненість E1 до ATP (~40μM) є вищою, ніж рівень ATP у клітині, як наслідок, ензим легко набуває форму E1-ATP, здатну «підхопити» вільний убіквітин навіть за його низької концентрації (Km = 0,58 μM) [21].

Два наступні ензими забезпечують послідовне перенесення активованих одиниць убіквітину на субстрат із утворенням поліубіквітинового ланцюга. На етапі 2 ензим E2 переносить активований убіквітин у реакції трансацилювання на сульфгідрильну групу залишку цистеїну в активному центрі з утворенням тіоефірного зв'язку. E2 назвали *ензим-переносник убіквітину,* або убіквітин-кон'югувальний ензим, систематична назва — *S-убіквітиніл-[E1]-L-цистеїн:[E2] убіквітинілтрансфераза.*

Відкриття ензиму E3 дало відповідь на питання про те, як забезпечується селективність опосередкованої убіквітином деградації протеїнів та різний час їхнього напівіснування [22].

Прийнята назва ензиму E3 — *убіквітинлігаза,* хоча така назва не є цілком коректною. Систематична назва цього ензиму — *[E2]-S-убіквітиніл-L-цистеїн:[протеїн-акцептор]-L-лізин убіквітинтрансфераза* (що утворює ізопептидний зв'язок, тип RING). E3 містить як домен, що взаємодіє з ензимом E2, так і домен, що специфічно впізнає

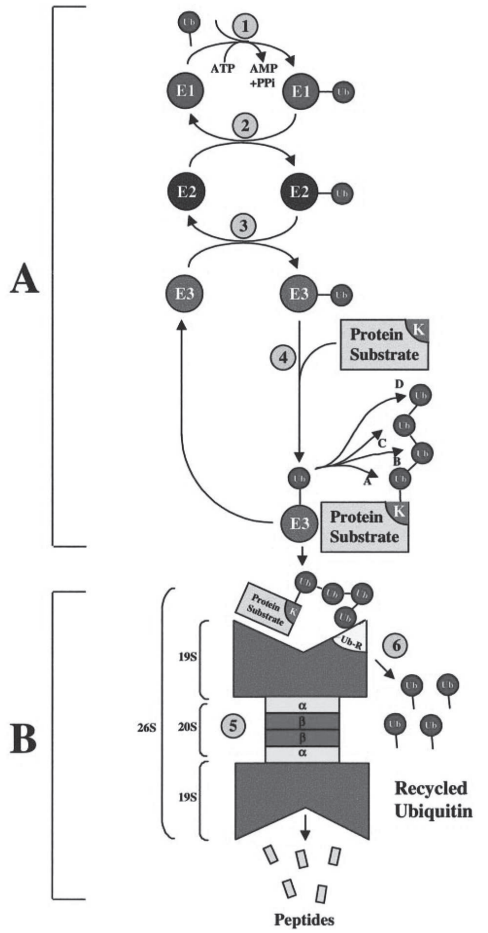


Рис. 2. Убіквітин-залежний протеасомний протеоліз:

А — кон'югація убіквітину з молекулою-мішенню; В — деградація міченого убіквітином субстрату 26S протеасомою; 1 — активація убіквітину ензимом E1; 2 — перенесення активованого убіквітину від E1 до ензиму з E2 родини; 3 — перенесення активованого убіквітину від E2 до субстрат-специфічного ензиму E3; 4 — утворення комплексу субстрат-E3 та біосинтез субстрат-зв'язаного поліубіквітінового ланцюга; 5 — зв'язування поліубіквітинового субстрату з субодиницею убіквітинового рецептора у складі 19S комплексу 26S протеасоми та деградація субстрату до коротких пептидів комплексом 20S; 6 — повторення циклу убіквітину за участі ізопептідаз [20]

протеїн-мішень. Є низка унікальних ензимів Е3, що розрізняються за субстратною специфічністю й існують у формі мономера або мультимерного комплексу. *Їх субстратом можуть бути специфічні протеїни, залучені до контролювання різноманітних клітинних процесів, таких як трансдукція сигналу, транскрипція, реплікація ДНК, регуляція активності протеїнкіназ.*

Після того, як специфічна убіквітинлігаза Е3 зв'язала протеїн-мішень та ензим Е2 (етап 3), відбувається перенесення активованого убіквітину від Е2 на субстрат з утворенням ізопептидного зв'язку між С-кінцевим залишком гліцину в складі убіквітину та ε-аміногрупою залишку лізину в складі субстрату (етап 4). Повторення циклу та послідовна кон'югація залишку лізину в складі приєднаного до субстрату убіквітину з С-кінцевим залишком гліцину нової молекули убіквітину призводить до утворення поліубіквітинового ланцюга, який направляє протеїн для деградації 26S протеасомою [4, 5]. Убіквітин містить сім залишків лізину (K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63), які можуть утворювати зв'язки, необхідні для його полімеризації в ланцюг, проте лише утворений за участі Lys^{48} поліубіквітиновий ланцюг слугує протеолітичним сигналом і розпізнається протеасомою.

Протягом короткого періоду гіпотеза про мічення протеїнів убіквітином отримала істотну всебічну підтримку. Єдина відсутня ланка — ідентифікація протеази (downstream protease), яка згідно зі запропонованою моделлю мала б специфічно розпізнавати убіквітиновані субстрати. Певною підказкою були результати спостережень А. Гершко про те, що енергія АТР потрібна не лише для активації убіквітину, а й для деградації убіквітин-протеїнового кон'югату [23], але ензимний комплекс, відповідальний за розщеплення міченого убіквітином субстрату, виявили і охарактеризували інші дослідники. Спочатку було очищено протеазу з незвично великою молекулярною масою (~2,5 мДа), що не діяла на немодифікований лізоцим, але в АТР-залежний спосіб розщеплювала убіквітинований лізоцим. Ця протеаза, пізніше названа *протеасомою 26S,* відповідала усім критеріям для того, щоб бути специфічним протеолітичним «пристроєм» системи убіквітину [24]. Лише на початку 1990-х років отримали переконливі докази того, що активний 26S протеасомний комплекс утворюється шляхом АТР-залежної збірки двох окремих частинок — 20S корової каталітичної та 19S регуляторної (однієї або двох) [25].

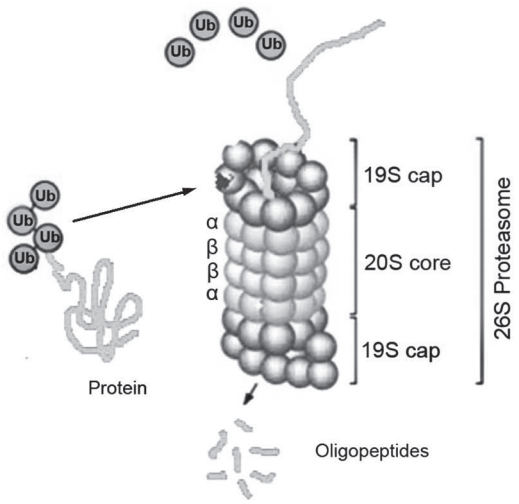


Рис. 3. Схематичне зображення структури та функції 26S протеасоми [26]

Корова 20S частинка є бочкоподібною структурою із чотирьох укладених у стопку кілець, з них два центральні утворені β-, а два крайні — α-субодиницями (рис. 3). На β-субодницях розміщені ката-

літичні центри протеосоми, α-субодиниці відповідають за приєднання до 20S комплексу регуляторної 19S частинки, що складається із 17 різних субодиниць. Окрім того, N-кінцеві ділянки α-субодиниці прикривають вхід до порожнини протеасоми, запобігаючи неконтрольованому протеолізу. Регуляторна 19S частинка виконує декілька важливих функцій. Вона розпізнає убіквітиновані протеїни, оскільки специфічні субодиниці в її складі здатні з високою спорідненістю зв'язувати поліубіквітинові ланцюги. Також регуляторна частинка забезпечує розгортання поліпептидного ланцюга, що потребує енергії гідролізу АТР. Тому в основі 19S частинки містяться шість різних субодиниць АТРази. Зв'язування АТР з цими субодиницям необхідне не тільки для гідролізу АТР, а й для відкриття входу до каталітичної камери, транслокації поліпептидного ланцюга та протеолізу. Внаслідок дії 26S протеосоми субстрат розщеплюється на короткі пептиди з вивільненням під дією убіквітин-С-кінцевих гідролаз або ізопептидаз убіквітину, який убіквітинова система може використати повторно.

З огляду на наявність у клітині численних субстратних протеїнів, які можуть бути потенційними мішенями для маркування убіквітином та протеолізу, та на безліч клітинних процесів, до яких такі протеїни залучено, *недивно, що порушення в системі убіквітину можуть зумовлювати патогенез багатьох спадкових і набутих патологій людини*. Патологічні стани, спричинені відхиленнями в опосередкованому убіквітином протеолізі, можна розділити на дві групи: 1) ті, що є результатом аномальної або прискореної деградації протеїну-мішені, 2) ті, що виникають унаслідок втрати функції чи мутації певного ензиму убіквітинової системи або субстрату-мішені, що призводить до стабілізації та накопичення певних білків [27, 28].

Наведемо декілька прикладів:

Муковісцидоз (CF,cystic fibrosis) — мультисистемний розлад, що характеризується хронічною обструкцією дихальних шляхів і порушенням травлення внаслідок дисфункції підшлункової залози. Ця патологія спричиняється мутацією в гені, що кодує трансмембранний протеїн (CFTR), який є хлоридним каналом, локалізованим на плазматичній мембрані епітеліальних клітин. Мутація зумовлює неправильне згортання протеїну, як наслідок протеїн не потрапляє до поверхні клітини, а натомість утримується в ендоплазматичному ретикулумі, а потім поліубіквітинується та розщеплюється протеасомою, що призводить до дефіциту іонного каналу в мембрані.

Зміни в протіканні реакцій убіквітування можуть також безпосередньо пов'язуватися з етіологією багатьох **злоякісних новоутворень**. Специфічні види раку можуть бути результатом стабілізації онкобілків або дестабілізації генів-супресорів пухлин. *Зв'язок між канцерогенезом та убіквітиновою системою переконливо доведено у разі раку шийки матки, спричиненого вірусом папіломи людини*. Встановлено, що рівень протеїну-супресора пухлин p53 у пухлинах шийки матки є надзвичайно низьким. Результати детальних досліджень як *in vitro*, так і *in vivo* свідчать, що причиною цього є здатність одного з онкопротеїнів вірусу одночасно зв'язуватися в клітинах шийки матки як з убіквітинлігазою, так і з протеїном p53 з утворенням потрійного комплексу. Просторове зближення

убіквітинлігази та p53 як таргетного субстрату запускає механізм його протеолітичного розщеплення. Видалення онкобілком вірусу пухлинного супресора p53 є важливим механізмом, що використовується вірусом для злоякісної трансформації клітин.

Накопичення кон'югованих з убіквітином протеїнів у тільцях включення клітин мозку реєстрували за багатьох **нейродегенеративних патологій**, таких як *хвороби Альцгеймера та Паркінсона*. Якщо раніше припускалося, що тільця включення утворюються через властиву аномальним білкам тенденцію зв'язуватися один з одним і агрегувати, то нині *виявлено порушення убіквітин-залежного протеолізу нейронних білків за цих станів*. Зокрема, такі порушення можуть спричинюватися *зниженням активності убіквітинлігази через мутацію цього ензиму* або *неспроможністю убіквітинових і протеасомних механізмів маркувати та видаляти такі субстрати як пошкоджені окисним стресом або іншими чинниками протеїни*.

З'ясування причин порушень функціонування системи убіквітин-опосередкованого протеолізу за різних патологічних процесів може мати **терапевтичні наслідки** і є необхідним для розроблення ліків, здатних модифікувати активність системи. Хоча пригнічення активності ензимів на убіквітин-протеосомному шляху може вплинути на протікання інших процесів, пошук таких інгібіторів та оптимальний вибір між корисними ефектами і небажаними наслідками відкриває перспективи розроблення та використання ефективних ліків. На сьогодні не лише підтверджено перспективність такого підходу, а й досягнуто прогресу в практичній розробці методу направленої деструкції загрозливих для нормального функціонування клітини протеїнів через їх цілеспрямоване убіквітування. Так, біотехнологічною компанією «LifeSensors, Inc.» для оцінювання ефективності убіквітинування протеїнів-мішеней та пошуку їх потужних деструкторів налагоджено виробництво наборів з використанням так званих PROTAC (PROteolysis TArgeting Chimeras) — гетерофункціональних молекул з лігандом, націленим на специфічну лігазу E3, що зв'язана з іншим лігандом, специфічним для цільового протеїну [29].

На завершення доречно процитувати Аарона Чехановера, відомого прихильника українських біохіміків, який у вітальному слові до учасників XII Українського біохімічного конгресу (Тернопіль, 2019) відзначив: *«....можна стверджувати, що всі сучасні розробки базуються на дослідженнях фундаментальної науки. І як приклад я хочу навести наші власні дослідження. Нас зацікавило, як протеїни деградують в організмі. Але ми не думали тоді про хвороби і ліки. Ми тільки визначили нішу в біології, яка залишалась без відповіді: як протеїни деградують; як клітина може ідентифікувати протеїн, що більше не потрібен, бо він виконав свою функцію, або через те, що він денатурований чи мутований, та видалити його, зберігаючи при цьому всі інші протеїни в клітині. Тобто нас цікавила саме специфічна деградація, і ми відкрили* ***систему убіквітину****. І тільки 28 років потому люди виявили, що відхилення в цій системі призводять до хвороб. Завдяки цьому фармацевтичні компанії можуть розробляти фармацевтичні препарати. Отже, знову повторюю,* ***спочатку була фундаментальна наука, яка зрештою*** [29] ***приводить до створення ліків...****»*.

І не випадково одну із своїх оглядових статей вчений назвав дуже влучно: «The Ubiquitin-Proteasome Proteolytic Pathway: Destruction for the Sake of Construction», що означає «Убіквітин-протеосомний протеолітичний шлях: руйнування заради створення» [28].

REFERENCES

1. Avram Hershko — Biographical — NobelPrize.org
2. Hershko A., Tomkins G.M. Studies on the degradation of tyrosine aminotransferase in hepatoma cells in culture. Influence of the composition of the medium and adenosine triphosphate dependence. *Journal of Biological Chemostry*. 1971. Vol. 246, N 3. P. 710—714.
3. Etlinger J.D., Goldberg A.L. A soluble ATP-dependent proteolytic system responsible for the degradation of abnormal proteins in reticulocytes. *PNAS*. 1977. Vol. 74, N 1. P. 54—58.
4. Sudakin V., Ganoth D., Dahan A. et al. The cyclosome, a large complex containing cyclin-selective ubiquitin ligase activity, targets cyclins for destruction at the end of mitosis. *Molecular Biology of Cell*. 1995. Vol. 6, N 2. P. 185—197.
5. Rose I.A., Schweigert B.S. Effect of vitamin B12 on nucleic acid metabolism of the rat. *Proceedings of the Societry for Experimental Biology and Medicine*. 1952. Vol. 79, N 3. P. 541—544.
6. Rose I.A., Schweigert B.S. Incorporation of C14 totally labeled nucleosides into nucleic acids. *Journal of Biological Chemistry*. 1953. Vol. 202, N 2. P. 635—645.
7. Haas A.L., Murphy K.E., Bright P.M. The inactivation of ubiquitin accounts for the inability to demonstrate ATP, ubiquitin-dependent proteolysis in liver extracts. *Journal of Biological Chemistry*. 1985. Vol. 260, N 8. P. 4694—4703.
8. Rose I.A., O'Connell E.L., Litwin S. Determination of the rate of hexokinase-glucose dissociation by the isotope-trapping method. *Journal of Biological Chemistry*. 1974. Vol. 249, N 16. P. 5163—5168.
9. Ciehanover A., Hod Y., Hershko A. A heat-stable polypeptide component of an ATP-dependent proteolytic system from reticulocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1978. Vol. 81, N 4. P. 1100—1105.
10. https://uk.wikipedia.org/wiki/Агарон_Чехановер.
11. Ciechanover A., Heller H., Elias S. et al. ATP-dependent conjugation of reticulocyte proteins with the polypeptide required for protein degradation. *PNAS*. 1980. Vol. 77, N 3. P. 1365—1368.
12. Hershko A., Ciechanover A., Heller H. et al. Proposed role of ATP in protein breakdown: conjugation of protein with multiple chains of the polypeptide of ATP-dependent proteolysis. *PNAS*. 1980. Vol. 77, N 4. P. 1783—1786.
13. Goldknopf I.L., Busch H. Isopeptide linkage between nonhistone and histone 2A polypeptides of chromosomal conjugate-protein A24. *PNAS*. 1977. Vol. 74, N 3. P. 864—868.
14. Ciechanover A., Elias S., Heller H. et al. Characterization of the heat-stable polypeptide of the ATP-dependent proteolytic system from reticulocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 1980. Vol. 255, N 16. P. 7525—7528.
15. Wilkinson K.D., Urban M.K., Haas A.L. Ubiquitin is the ATP-dependent proteolysis factor I of rabbit reticulocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 1980. Vol. 255, N 16. P. 7529—7532.
16. Goldstein G. Isolation of bovine thymin: a polypeptide hormone of the thymus. *Nature*. 1974. Vol. 247, N 5435. P. 11—14.
17. https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2004/popular-information/
18. Ciechanover A., Elias S., Heller H., Hershko A. "Covalent affinity" purification of ubiquitin-activating enzyme. *Journal of Biological Chemistry*. 1982. Vol. 257, N 5. P. 2537—2542.
19. Hershko A., Heller H., Elias S., Ciechanover A. Components of ubiquitin-protein ligase system. Resolution, affinity purification, and role in protein breakdown. *Journal of Biological Chemistry*. 1983. Vol. 258, N 13. P. 8206—8214.
20. Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome pathway: on protein death and cell life. *EMBO Journal*. 1998. Vol. 17, N 24. P. 7151—7160.

21. Haas A.L., Rose I.A. The mechanism of ubiquitin activating enzyme. A kinetic and equilibrium analysis. *Journal of Biological Chemistry*. 1982. Vol. 257, N 17. P. 10329—10237.

22. Hershko A., Heller H., Eytan E. and Reiss Y. *Journal of Biological Chemistry*. 1986. Vol. 261. P. 11992—11999.

23. Hershko A., Leshinsky E., Ganoth D., Heller H. ATP-dependent degradation of ubiquitin-protein conjugates. *PNAS*. 1984. Vol. 81, N 6. P. 1619—1623.

24. Waxman L., Fagan J.M., Goldberg A.L. Demonstration of two distinct high molecular weight proteases in rabbit reticulocytes, one of which degrades ubiquitin conjugates. *Journal of Biological Chemistry*. 1987. Vol. 262, N 6. P. 2451—2457.

25. Hoffman L., Pratt G., Rechsteiner M. Multiple forms of the 20 S multicatalytic and the 26 S ubiquitin/ATP-dependent proteases from rabbit reticulocyte lysate. *Journal of Biological Chemistry*. 1992. Vol. 267, N 31. P. 22362—22368.

26. https://www.caltagmedsystems.co.uk/

27. Glickman M.H., Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiological Reviews*. 2002. Vol. 82, N 2. P. 373—428.

28. Sakamoto K.M. Ubiquitin-dependent proteolysis: its role in human diseases and the design of therapeutic strategies. *Molecular Genetical and Metabolism*. 2002. Vol. 77, N 1-2. P. 44—56.

29. https://lifesensors.com/protac-ubiquitination-assays.

ISSN 2409-4943 Ukr. Biochem. J. 2022. Vol. 94, N 5. P. 84—96.

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ ОСНОВ ТРАНСКРИПЦІЇ В ЕВКАРІОТ
Нобелівська премія з хімії, 2006

О.П. Матишевська, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко

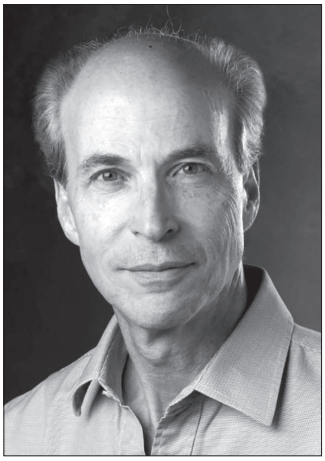
Сказано: якщо хочеш зрозуміти функцію, вивчай структуру

З Нобелівської лекції Р. Корнберга [1]

У 2006 р. Нобелівської премії в галузі хімії «за фундаментальні дослідження механізмів копіювання клітинами генетичної інформації в евкаріот (for his studies of the molecular basis of eukaryotic transcription)» був удостоєний американський біохімік, професор структурної біології Стенфордського університету ***Роджер Корнберг****. Що це за молекулярні механізми? Як формується транскрипційний комплекс і яка його структура? Пошуку відповідей на ці питання Р. Корнберг присвятив свою роботу, яка тривала без упину 20 років, про що йдеться у цьому нарисі.*

Ключові слова: *Роджер Корнберг, транскрипція, РНК-полімераза II, транскрипційний комплекс, протеїнові кристали, ДНК, РНК.*

Роджер Корнберг (англ. *Roger David Kornberg*) — американський біохімік, народився 24 квітня 1947 р. у місті Сент-Луїс (штат Міссурі, США) у родині біохіміків Артура Корнберга та Сільвії Рут Леві. Старший з трьох синів, він народився саме у той час, коли його батько, майбутній лауреат присудженої за відкриття механізму біологічного синтезу РНК та ДНК Нобелівської премії з фізіології або медицини 1959 р. [3], навчався в аспірантурі Вашингтонського університету. У 12-річному віці Роджеру вдалося побувати у Стокгольмі на церемонії вручення батькові цієї вищої наукової нагороди. То ж не дивно, що Роджер змалечку цікавився науковими дослідженнями. Його батько згадував: «*Коли Роджер був ще зовсім маленьким, я брав його іноді у вихідні з собою у лабораторію. Коли ми запитали, що він хотів би отримати у подарунок на Різдво, то він, не замислюючись, відповів: "Провести у лабораторії цілий тиждень*!"».



Роджер Корнберг (1947) [2]

Як зазначав сам Роджер, старший Корнберг ділився безмірним ентузіазмом щодо своїх досліджень з усіма, хто хотів його слухати. «*Бесіди про науку в нашій родині велись увесь день, тривали за обідом і навіть упродовж уікендів. Обоє моїх батьків мали гострий науковий розум і своїм прикладом вчили, як логічно і неупереджено вирішувати питання та проблеми. Наукове мислення стало моєю другою натурою*» [4].

У 1959 р. сім'я Корнбергів переїхала до Пало-Альто (штат Каліфорнія), де професор Корнберг-старший очолив кафедру біохімії Стенфордського університету. Проте Роджер зацікавився хімією не завдяки домашньому оточенню, а під час навчання в середній школі.

Для вивчення хімії та біохімії юнак вступив до Гарвардського університету в Кембриджі (США) і закінчив його в 1967 р. зі ступенем бакалавра. У своїй дипломній роботі з фізичної хімії молодий вчений з використанням методу ядерного магнітного резонансу дослідив переміщення молекул фосфоліпідів у мембранах клітин за механізмами повільного фліп-флоп переходу та швидкої латеральної дифузії [5, 6].

Досвід цієї роботи став у нагоді, коли через декілька років Р. Корнберг розпочав дослідження структури РНК-полімерази II і використав механізм латеральної дифузії ліпідів для отримання цього ензиму в кристалічній формі, про що йтиметься нижче.

Доросла наукова кар'єра Роджера розпочалася після вступу до аспірантури Стенфордського університету, яку він закінчив у 1972 р., здобувши ступінь доктора філософії з хімії.

З метою досконалого оволодіння ще одним методом фізико-хімічного аналізу макромолекул, а саме рентгенівською дифракцією, Р. Корнберг на кілька років відбув до Великобританії для стажування у лабораторії молекулярної біології в Кембриджі, де вчені інтенсивно застосовували метод кристалографії протеїнів. Тут він зацікавився нещодавно опублікованою Френсісом Кріком статтею «*Загальна модель хромосом вищих організмів*», на рисунку до якої було зображено петлю ДНК, перетнуту пунктирною лінією, що позначала місцезнаходження гістонів [7].

На той час методами екстрагування хроматину, седиментаційного аналізу, електронної мікроскопії, ендогенного розщеплення ДНК, електрофорезу було отримано низку даних, які свідчили про існування хроматинової структури, що нагадувала намистини на нитці, де комплекси гістонів впорядковано розподілені вздовж нитки ДНК, у проміжках чутливою до дії нуклеаз, а утворювані фрагменти за розміром були кратними 200 парам основ і розміщувалися під час електрофорезу на зразок драбини (ladder pattern). Так формувались уявлення про нуклеосому як структурну одиницю пакування ДНК у хроматині, проте деталі її молекулярної організації залишались невідомими. З'ясування ролі гістонів видавалось проблемою дуже привабливою для розуміння генетичної хімії, однак на перешкоді були труднощі з дослідження цих протеїнів.

П'ять типів гістонів, позначених H1, H2A, H2B, H3 і H4, були, з одного боку, напрочуд простими, а з іншого — безнадійно складними. Окремі гістони після виділення ставали липкими, вони інтенсивно зв'язувалися з ДНК та один з одним в усіх можливих комбінаціях. Біохімічна поведінка гістонів ніяк не пояснювала унікального повторюваного порядку на рентгенівській дифрактограмі хроматину. Екстрагування хроматину за жорстких умов давало можливість з'ясувати молекулярний склад гістонів, проте водночас призводило до їх денатурації та ускладнювало розуміння структури.

У Кембриджі (Великобританія) Р. Корнберг звернув увагу на статтю van der Westhuyzen and von Holt [8], в якій повідомлялось про результати екстрагування хроматину більш м'якими методами. Оскільки за таких умов повного розділення пістонів не відбувалося, статтю проігнорували. Але Корнберг зацікавився тим, що в разі м'якого екстрагування хроматину спостерігалось чітке розділення гістонів на дві групи: H2A-H2B та H3-H4, що суперечило постульо-

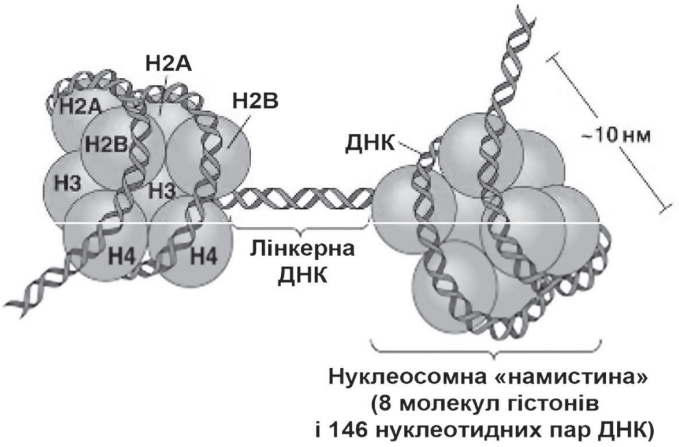


Рис. 1. Схема структурної організації нуклеосоми як основного елемента хромосоми еукаріот [9]

ваним раніше безладним взаємодіям гістонів. Роджер Корнберг почав із виділення окремих гістонів, змішування їх у різних комбінаціях з ДНК та аналізу картини рентгенівської дифракції. Вчений показав, що структуру «намистини на нитці» можна отримати, проінкубувавши ДНК із очищеними препаратами димерів гістонів H2A-H2B і H3-H4. Щоб визначити, яка кількість таких димерів входить до складу однієї нуклеосоми, він виміряв молекулярну масу очищеного препарату H3/H4 за допомогою рівноважного ультрацентрифугування і виявив існування подвійного димеру, тобто тетрамеру $(H3)_2(H4)_2$. Окрім того, Корнебрг разом із колегою, Джином Томасом, обробили хроматин так, щоб між усіма розташованими поруч гістоновими молекулами утворювалися поперечні зшивки; зшиті комплекси виділили і визначили молекулярну масу за допомогою гель-електрофорезу. Виявилось, що розміри отриманих комплексів відповідали вісьмом гістоновим протеїнам. Таким чином було встановлено, що нуклеосома складається з двох димерів H2A-H2B та двох димерів H3-H4, тобто є октамером (рис. 1).

Було зроблено ще один важливий висновок, який дав змогу сформувати повне уявлення про *молекулярну організацію нуклеосом*. Оскільки тетраметр $(H3)_2(H4)_2$ виявився структурно подібним до $\alpha_2\beta_2$ тетрамеру гемоглобіну, а доступні на той час рентгенівські знімки гемоглобіну, як і інших олігомерних протеїнів, свідчили про компактну структуру, позбавлену отворів, через які могла б пройти молекула розміром з ДНК. Саме це означало, що *ДНК має обвивати зовнішню поверхню гістонового октамеру в складі нуклеосоми.*

Розкриття структури нуклеосоми суттєво позначилося на уявленні про функціонування всього апарату реалізації та передачі спадкової інформації. Той факт, що ДНК виявилася намотаною зовні на гістоновий кор, вказувало на її відкритість до взаємодії із різноманітними регуляторними факторами. З таким багажем отриманих знань Роджер Корнберг мав повернутися до США у 1976 р.

Після повернення до США він спочатку працював у військово-медичній школі при Гарвардському університеті як доцент з біохімії, а згодом викладав,

Р. Корнберг у лабораторії [10]

проводив наукові дослідження хроматину та отримав посаду професора на медичному факультеті Гарвардського університету.

У 1978 р. Корнберг повернувся до Стенфордського університету як професор кафедри структурної біології та продовжив наукову роботу, керуючи групою дослідників, до якої входили вчені не лише зі США, а й з інших країн. Вчений завжди підкреслював значення участі колег, залучених до спільних досліджень.

Саме тут, у Стенфорді і було виконано ту значущу наукову роботу, результати якої удостоєно Нобелівською премією.

Насамперед Р. Корнберг вирішив зосередитись *не так на структурі нуклеосом, як на їхній функції та молекулярних основах транскрипції*. На той час переважала думка, що гістони пригнічують транскрипцію і є універсальними репресорами генів.

До досліджень Р. Корнберга доєдналась ізраїльська дослідниця Яхлі Лорх (Yahli Lorch), яка працювала в Стенфордському університеті і спеціалізувалась на молекулярних механізмах експресії генів. Яхлі Лорх стала не лише пожиттєвим науковим партнером Роджера Корнберга з дослідження хроматину, а й найближчою людиною, дружиною і, за його словами, постійним джерелом натхнення у роботі. Хоча на той час першочерговим завданням Яхлі було виховання їхніх дітей — Гая, Майї та Гіла, їй вдалося в співпраці з Корнбергом показати, що у разі накручування промоторної ділянки ДНК на гістоновий кор РНК-полімераза II (Pol II) втрачає здатність ініціювати транскрипцію. У разі зміщення нуклеосоми, коли промоторна ділянка стає доступною для цього ензиму, подовження ланцюга РНК відновлюється [11].

Ці дані свідчили, що *нуклеосома дійсно слугує загальним репресором у евкаріотичних клітинах, блокуючи активність багатьох тисяч генів, за винятком тих, транскрипція яких активується специфічними позитивними регуляторними механізмами*.

І тут виникають питання, що це за механізми регулювання, а, головне, як формується транскрипційний комплекс і яка його структура. Пошуку відповідей Р. Корнберг і присвятив подальшу роботу, яка тривала без упину 20 років.

Для дослідження регуляції транскрипції необхідно було ідентифікувати *транскрипційний апарат*. Той факт, що під час транскрипції нуклеосоми видаляються з промоторної ДНК, давав можливість фракціонувати окремі компоненти транскрипційного апарату. Це було складним завданням, оскільки, як показали дослідження на клітинах ссавців, на кожній промоторній ділянці ДНК до початку транскрипції збирається гігантський комплекс із майже 60 протеїнів загальною масою понад три мільйони дальтон.

Плануючи дослідження, Корнберг насамперед поставив два основних завдання: по-перше, *скористатися дріжджовою системою транскрипції,* оскільки дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* були визнаним переважним об'єктом для генетичного аналізу еукаріотів. Виникали сумніви щодо такого вибору, адже попередні спроби розробити біохімічні дріжджові системи транскрипції зазнали невдачі, що призвело до поширеної думки, що дріжджі не придатні для біохімічних досліджень. Дійсно, як з'ясувалося, початковий сигнал транскрипції був у тисячу разів меншим, ніж у системах ссавців, проте група Корнберга досягла прориву, розробивши успішну процедуру фракціонування, за якої вдалося зберегти основні компоненти транскрипційного апарату, уникнути накопичення інгібіторів та отримати протеїни, залучені до транскрипції. По-друге, слід було насамперед *зосередитись на з'ясуванні структурної організації РНК полімерази II (Pol II), яка є центральною (коровою) частиною транскрипційного комплексу.*

Подальші дослідження повністю підтвердили правильність обох обраних Корнбергом підходів. Відмінності у структурі промотора дріжджів і ссавців виявились незначними, а результати фракціонування транскрипційних протеїнів обох систем були однаковими. Обидві системи містили шість протеїнів: Pol II та п'ять загальних факторів транскрипції TFIIB, -D, -E, -F і -H . І хоча розпочати з дослідження менших за розмірами факторів транскрипції видавалося простішим вибором, з'ясувалося, що деякі з факторів набувають повністю згорнутої структури лише за взаємодії з Pol II і саме цей ензим є платформою, на якій збираються всі транскрипційні фактори. *Отже, з'ясування структури Pol II було ключовим для розуміння регуляції транскрипції генів еукаріотів* [12].

Після напрацювання з використанням розробленої *in vitro* дріжджової системи транскрипції *великої кількості активної Pol II* потрібно було зробити найскладніше — виростити *протеїнові кристали*, а потім *отримати електронні та рентгенівські дифракційні зображення кристалічних структур.* Проблема була у тому, що Pol II — *це комплекс з 12 субодиниць*, розмір якого у декілька разів перевищував розмір будь-якої асиметричної структури, охарактеризованої *методом рентгенівської дифракції* на початку 1980-х років, коли Р. Корнберг розпочав дослідження.

Для кристалізації полімерази II Корнберг розробив унікальний метод, скориставшись досвідом, отриманим під час виконання дипломної роботи з фізичної хімії. *Ідея полягала у тому, щоб закріпити протеїн у ліпідному шарі через взаємодію з полярними групами фосфоліпідів.* Це обмежувало рух зв'язаного протеїну в двомірному просторі, проте не перешкоджало його вільній дифузії

в площині та кристалізації. Зрештою, через п'ять років, не зважаючи на неодноразові невдачі, цю *ідею вдалося реалізувати завдяки використанню моноклональних антитіл проти ліпідного гаптену* [13].

Отримані спочатку кристали Pol II були дрібними та погано впорядкованими. Невдовзі з'ясувалось, що це спричинено гетерогенністю препарату через наявність двох малих субодиниць полімерази у варіабельних кількостях. Тоді дослідники використали *дилеційний мутант дріжджів*, позбавлений обох малих субодиниць, і отримали однорідний препарат Pol II та його великі надзвичайно добре впорядковані *2-D кристали* [14].

Отримана методом електронної мікроскопії карта електронної щільності двовимірних кристалів дала змогу оцінити структуру Pol II з роздільною здатністю 16 Å. Утворені кристали були здатні до *епітаксійного росту* і їх успішно використали *як затравку для вирощування тривимірних кристалів*, необхідних для рентгенівського аналізу. «*Ми були схвильовані, коли отримали перші 3-D кристали. Я також пригадую холодок тривоги. Адже найбільша рентгенівська структура асиметричної частинки на той час була в п'яту частину розміру Pol II, а інтенсивність рентгенівських променів, детектори та обчислювальні можливості були обмеженими*», — пригадував Р. Корнберг [1].

І це були ще не всі труднощі. Для *побудови точної молекулярної карти* протеїну на основі рентгенівської дифракційної картини потрібно було враховувати не лише інтенсивність дифрагованих рентгенівських променів, а й їхню фазу, тобто місцезнаходження у структурі піків і впадин рентгенівської хвилі. Традиційний спосіб вирішення цієї проблеми полягав у тому, щоб ввести до складу кристала *важкий атом*, який дифрагує рентгенівське випромінювання у певний спосіб з відомою фазою, а потім порівняти дифракційні картини кристалів з інкорпорованим важким атомом та без нього. Саме таку техніку ізоморфної заміни використали Макс Перутц та Джон Кендрю, щоб розгадати структуру гемоглобіну та міоглобіну, за що отримали Нобелівську премію з хімії за 1962 р. [15].

Але на фоні розсіювання рентгенівських променів від такого великого за розміром протеїну, як Pol II, виявити дифракцію від окремого важкого атома було неможливим, а всі сполуки важких атомів, які зазвичай використовувалися для отримання похідних кристалів, або не давали потрібних похідних, або навіть руйнували дифракційну картину. *Ці труднощі подолали завдяки використанню нестандартних сполук важких атомів*. Як зазначав Р. Корнберг, придатні для розгадки структури РНК-полімерази кластери важких атомів йому рекомендувала **Ада Йонат**, лауреатка Нобелівської премії з хімії за 2009 р. «за дослідження структури і функцій рибосом» [16].

У такий спосіб групі Р. Корнберга вдалося отримати похідні кристалів Pol II з надійними фазами 5 Å, що дало можливість методом рентгенівської кристалографії визначати місце розташування окремих легких атомів і розв'язати структуру РНК-полімерази з роздільною здатністю майже до атомної. На рис. 2 наведено отриману з роздільню здатністю 2,8 Å структуру РНК-полімерази II, що містить 12 субодиниць, близько 3500 амінокислотних залишків та 28000 неводневих атомів. Менші субодиниці РНК-полімерази розташовані зовні структури, а дві найбільші знаходяться у центрі по обидва

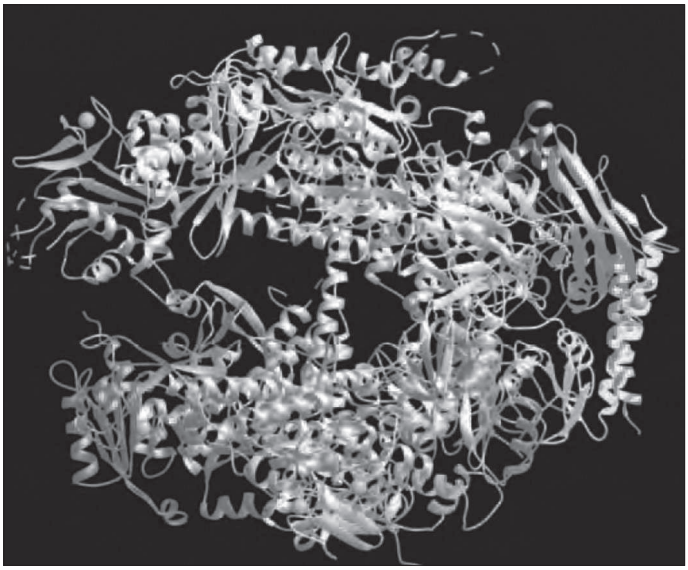


Рис. 2. Структура РНК-полімерази II з роздільною здатністю 2,8 Å, подана як стрічкова діаграма з кольоровим кодом для різних субодиниць та зі схемою їх взаємодії у верхньому правому куті. Іон Mg в активному центрі зображений у вигляді рожевої сфери [1]

боки від щілини, де зв'язується нуклеїнова кислота та знаходиться сайт активного центру.

Успіх Роджера Корнберга у створенні новаторських зображень РНК-полімерази підтвердив ефективність застосування в молекулярно-біологічних дослідженнях кристалографії — тієї самої техніки, яку Френсіс Крік і Джеймс Вотсон використали для відкриття подвійної спіралі ДНК [17, 18].

Але *для Р. Корнберга з'ясування структури Pol II стало не лише кульмінацією досліджень, а й початком їх продовження*. Тепер постало нове питання, *як саме ДНК і РНК зв'язуються з Pol II*. Щоб відповісти на нього, Корнберг поставив за мету ініціювати процес транскрипції вирощеним кристалічним транскрибувальним комплексом.

Для цього із середовища інкубації спочатку видаляли один з чотирьох нуклеозидтрифосфатів, зупиняючи транскрипційну активність, а потім просочували ним кристали, внаслідок цього транскрипція відновлювалася без втрати кристалічної морфології. Проаналізувавши дифракційну картину, з'ясували, що ДНК надходить до транскрипційного комплексу як дуплекс, а перед активним центром розкручується на три основи. Після цього матричний ланцюг робить різкий вигин, наступна основа перевертається, спрямовується до активного центру і приєднується до основи рибонуклеотида у складі ланцюга РНК, що синтезується (рис. 3).

Аби повністю відпрацювати техніку експерименту, Корнбергу знадобилося понад десять років. Протягом усього часу наполегливої роботи він не мав навіть проміжних результатів, які можна було б опублікувати. Прорив стався 2001 р., коли в журналі «**Science**» було опубліковано повну просторову структуру РНК-полімерази з дріжджів, а також структуру її комплексу з ДНК і продуктом реакції — інформаційною РНК [19, 20].

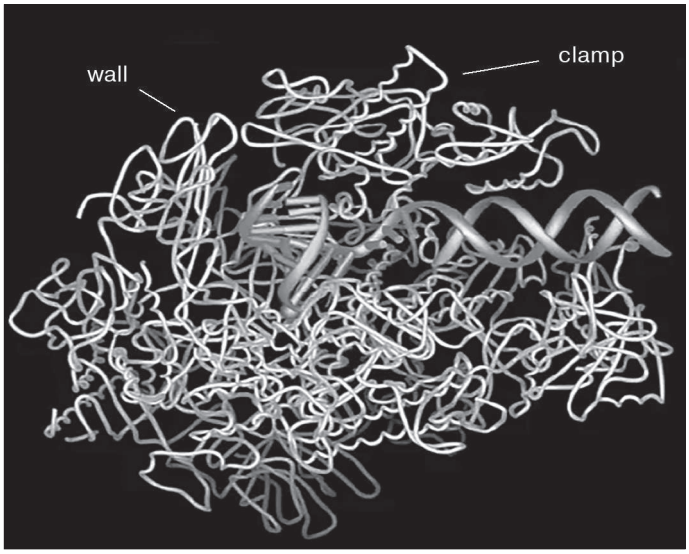


Рис. 3. Структура РНК-полімерази II в акті генної транскрипції. Поліпептидний ланцюг ензиму позначено білим, рухомий «затискач» — оранжевим, місткова спіраль, що з'єднує дві найбільші субодиниці — зеленим. Макетні моделі нуклеїнових кислот виділено синім (матричний ланцюг ДНК), зеленим (ланцюг ДНК, що відстає) та червоним (РНК) [1]

Розкриття електронної кристалічної структури комплексу полімераза-ДНК-РНК у ході транскрипції дало змогу надалі віднайти відповіді на принципові питання, *як саме Pol II відбирає правильний нуклеотид для приєднання до ланцюга РНК* (адже у точному зчитуванні генетичного коду і полягає суть транскрипції), *як забезпечується переміщення матричного ланцюга ДНК і, зрештою, як регулюється складний процес транскрипції.*

Величезна заслуга Роджера Корнберга полягає в тому, що він зумів здійснити буквально «покадрову зйомку» цього процесу, але не у формі фотознімків, а у вигляді розшифрованих результатів рентгеноструктурного аналізу, доповненого електронною мікроскопією та комп'ютерним моделюванням. Як наслідок, цілісну динамічну картину копіювання генетичної інформації вдалося зробити видимою.

У початковій структурі транскрибувального комплексу нуклеотид, щойно доданий до РНК, все ще перебував у активному центрі. Дослідники змогли зафіксувати структуру комплексу після транслокації ДНК і РНК на поверхні ензиму та ідентифікували доступний для зв'язування наступного нуклеотиду порожній сайт входу до активного центру. Намочування кристалів цього «посттранслокаційного» комплексу з нуклеотидом призводило до появи додаткової електронної густини на двох сайтах. Усі чотири нуклеозидтрифосфати (NTP) зв'язувалися зі сайтом входу, тоді як у сайті активного центру безпосередньо зв'язувався лише NTP, правильно підібраний для спарювання із кодувальною основою ДНК. Детальний аналіз результатів дав змогу ідентифікувати важливі для транскрипції мобільні структурні елементи РНК-полімерази, названі, зокрема, *тригерною петлею (trigger loop), містковою спіраллю (bridge helix), затискачем (clamp).*

Розміщена під сайтом активного центру *тригерна петля* контактує з усіма частинами *нуклеозидтрифосфату* — основою, фосфатними та цукровими залишками і, на думку дослідників, розгойдується на зразок навісної панелі задля відбору правильного NTP. *Тригерна петля* не лише поєднує розпізнаван-

ня NTP з утворенням фосфодіефірного зв'язку, а й формує мережу контактів (trigger loop network) з іншими структурними елементами [21].

Місткова спіраль (bridge helix) довжиною 35 амінокислотних залишків перетинає щілину між двома великими субодиницями ензиму, контактує з кодувальною основою у складі матричного ланцюга ДНК та здатна шарнірно змінювати свою α-спіральну конформацію з випрямленої на вигнуту. Дійшли висновку, що саме такі періодичні зміни конформації місткової спіралі під час кожного додавання рибонуклеотиду є механічною основою для його транслокації через активний центр і що місткова спіраль виконує роль *нанокомутатора*, забезпечуючи переривчастий поступальний рух лише в одному напрямку.

Ще один структуриний модуль, *затискач*, утворює одну зі стінок щілини і, як показали подальші дослідження, залучений до контролю не лише плавлення промотору, а й закриття щілини для конформаційної зміни ензиму під час транслокації та вивільнення РНК.

Pol II здатна розмотувати ДНК та синтезувати РНК, проте нездатна розпізнавати промотор та ініціювати транскрипцію. Для виконання цих функцій необхідна участь загальних факторів транскрипції та інших регуляторних протеїнів.

З 2001 р. лабораторія Р. Корнберга розгадує кристалічні структури РНК-полімерази у різних функціональних комплексах. З використанням рентгенівської та електронної кристалографії вченому вдалося не лише з'ясувати структуру п'яти основних транскрипційних факторів TBP і TFIIB TFIIE, TFIIF і TFIIH, а й встановити їх місцезнаходження у структурі комплексу ДНК-РНК-Pol II.

Раніше вважалось, що система з РНК-полімерази та п'яти факторів транскрипції може не лише ініціювати, а й регулювати транскрипцію через прямий зв'язок з промоторною ділянкою. Однак досліджуваний Корнбергом транскрибувальний комплекс з шести протеїнів не реагував на додавання регуляторів експресії генів. Виявилося, що системі бракує ще одного додаткового важливого елемента — комплексу з 25 субодиниць, успішно виділеного та охарактеризованого у лабораторії Корнберга і названого *Медіатором* (Mediator) [22, 23].

За розміром дріжджовий *медіаторний комплекс* цілком зіставний з *малою субодиницею еукаріотичної рибосоми;* він має форму півмісяця, значною мірою охоплює Pol II та має багато точок контакту як з самим ензимом, так і зі загальними факторами транскрипції *на промоторі,* протеїнами-активаторами *на енхансері*, а також *протеїнами-репресорами*, через які передаються регуляторні сигнали. «*Ми були вражені складністю комплексу, елегантністю архітектури та тим, як ця надзвичайна машина еволюціонувала для досягнення таких важливих цілей*», — казав Корнберг про зображення, створені ним та його колегами. «*РНК-полімераза озвучує генетичну інформацію, яка сама по собі мовчазна*» [1].

У 2006 р. Роджера Корнберга удостоїли Нобелівської премії з хімії «***за фундаментальні дослідження молекулярних основ транскрипції в еукаріот***» [1].

Багато вчених бралися за цю тему, але налаштувати необхідну техніку та отримати якісні зображення РНК-полімерази, що працює, змогла лише команда терплячого Роджера Корнберга. «*Це була технічна демонстрація результатів, на отримання яких пішло близько 20 років роботи. Як і інші великі вчені,*

Роджер не здається. Він упертий. Багато хто з вчених відступилися б через п'ять років», — відзначив профессор Джозеф Паглиси *(Joseph Puglisi),* завідувач кафедри структурної біології Стенфордської школи медицини [24]. А Сет А. Дарст (*S.A. Darst*), структурний біолог Рокфеллерівського університету (США), зазначив: *«Роботі Роджера Корнберга властиві одночасно як широкість, так і глибина, адже вона розпочалася з дослідження структури хроматину та його впливу на регуляцію транскрипції, а завершилася з'ясуванням не лише складного механізму активації транскрипції в евкаріотичних клітинах, а ще й детальної хімії та структурної біології самого транскрипційного ензиму»* [14].

Одним з перших Роджера Корнберга привітав з нагородою інший Нобелівський лауреат — його батько, Артур Корнберг. Присудження Нобелівської премії синові стало примітним ще з декількох причин. Це був вже восьмий випадок в історії Нобелівської премії, коли звання лауреата переходить «у спадок» від батьків до дітей. Серед таких кланів можна назвати, зокрема, лауреатів премії з фізики Нільса Бора та його сина Оге Нільса, подружжя П'єра та Марії Кюрі та їх доньку Ірен Жоліо-Кюрі, яка розділила премію з хімії зі своїм чоловіком Фредеріком Жоліо, та шведських фізиків Карла Манне Сігбана та його сина Кая. У 2006 р. таких сімей стало на одну більше.

Окрім того, **вперше в XX ст. премію в галузі природничих наук отримала одна людина**. Батько і син Корнберги досліджували одну й ту саму проблему — механізми синтезу нуклеїнових кислот як носіїв генетичної інформації, проте Артур Корнберг розділив Нобелівську премію з Северо Очоа [3], а Роджер, озброєний набагато досконалішим інструментарієм, вперше спромігся зробити процес синтезу інформаційної РНК видимим, не мав у цій сфері конкурентів і отримав Нобелівську премію **одноосібно**.

Зацікавленість генетичними дослідженнями у великій та дружній родині Корнбергів, схоже, закладено в генах: середній син Артура Корнберга — Томас також зробив низку відкриттів у цій галузі, зокрема довів існування різних форм ДНК-полімераз у *Escherichia coli* і є сьогодні професором генетики Каліфорнійського університету у Сан-Франциско. Молодший із трьох братів, Кеннет, став архітектором і спеціалізується в галузі дизайну.

Роджер Корнберг дотепер працює професором на кафедрі структурної біології Стенфордського університету. Поряд з роботою у Стенфорді професор Корнберг щороку проводить 4 місяці в Ізраїлі, читаючи лекції та керуючи науковими дослідженнями в Єврейському університеті в Єрусалімі.

Результати наукового відкриття Р. Корнберга важко переоцінити, адже з'ясування структури РНК-полімерази II та каталітичного механізму функціонування цього ензиму є ключовим елементом для розуміння всього процесу транскрипції і водночас великою знаковою подією для сучасної біології. Оскільки РНК-полімерази II дріжджів і людини на 53 % ідентичні за амінокислотною послідовністю, можлива побудова адекватної моделі функціонування цього ензиму в організмі людини. Окрім того, ця робота продемонструвала вирішальне значення великих протеїнових комплексів для регуляції транскрипції генів, тому є стандартом для майбутніх досліджень регуляторних протеїнових комплексів.

На сьогодні накопичено достатню кількість біохімічних і генетичних даних, що повністю підтверджують ідеї та гіпотези Р. Корнберга щодо молекулярних механізмів роботи РНК-полімерази II. Дослідження процесу транскрипції є актуальними дотепер і тривають на атомарному рівні із застосуванням нових сучасних підходів, зокрема таких, як кріогенна мікроскопія, моделювання, симуляція методом молекулярної динаміки [25—29].

STUDIES OF THE MOLECULAR BASIS OF EUKARYOTIC TRANSCRIPTION. ROGER KORNBERG

The Nobel prize in chemistry, 2006

O.P. Matyshevska, V.M. Danylova, S.V. Komisarenko

The Nobel Prize in Chemistry 2006 was awarded to an American biochemist and professor of structural biology at Stanford University Roger Kornberg for his fundamental research on the molecular mechanisms of copying genetic information in eukaryotic cells. What are these molecular mechanisms? How is transcription complex formed and what is its structure? R. Kornberg devoted tirelessly 20 years of his work to answer these questions. The article is focused on his research and also describes Roger Kornberg's life and scientific career.

Keywords: *Roger Kornberg, transcription, RNA polymerase II, transcription complex, protein crystals, DNA, RNA.*

REFERENCES

1. Roger D. Kornberg. The molecular basis of eukaryotic transcription. Nobel Lecture. 2006. *Stanford University, School of Medicine, Stanford,* USA. DOI: 10.1002/anie.200701832

2. Roger D. Kornberg — Facts — NobelPrize.org.

3. Матишевська О.П., Данилова В.М., Комісаренко С.В. Відкриття механізмів біологічного синтезу нуклеїнових кислот: нобелівські лауреати 1959 р. С. Очоа і А. Корнберг. *Ukr. Biochem. J.* 2021, Vol. 93, N 1. P. 129—138.

4. Roger D. Kornberg — Interview — Nobelprize.org.

5. Kornberg R.D. Mcconnell H.M. Inside-outside transitions of phospholipids in vesicle membranes. *Biochemistry.* 1971. Vol. 10. P. 1111—1120.

6. Kornberg R.D. Mcconnell H.M. Lateral diffusion of phospholipids in a vesicle membrane. *PNAS.* 1971. Vol. 68. P. 2564—2568.

7. Crick F. General model for the chromosomes of higher organisms. *Nature.* 1971. Vol. 234. P. 25—27.

8. Van der Westhuyzen D.R., von Holt C. A new procedure for the isolation and fractionation of histones. *FEBS Letters.* 1971. Vol. 14. P. 333—337.

9. Kornberg R.D., Thomas J.O. Chromatin structure; oligomers of the histones. *Science.* 1974. Vol. 184. P. 865—868.

10. На стыке химии, генетики и биологии (peoples.ru). Режим доступу: https://www.peoples.ru › science.

11. Lorch Y., Lapointe J.W., Kornberg R.D. Nucleosomes inhibit the initiation of transcription but allow chain elongation with the displacement of histones. *Cell.* 1987. Vol. 49. P. 203—210.

12. Conaway R., Conaway J. General transcription factors for rna polymerase II. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology.* 1997. Vol. 56. P. 327—346.

13. Uzgiris E.E., Kornberg R.D. Two-dimensional crystallization technique for imaging macromolecules, with an application to antigen-antibody-complement complexes. *Nature.* 1983. Vol. 301. P. 125—129.

14. Darst S.A. et al. Two-dimensional and epitaxial crystallization of a mutant formof yeast rna polymerase II. *Journal of Molecular Biology*. 1991. Vol. 221. P. 347—357.

15. Данилова В.М., Виноградова Р.П., Комісаренко С.В.. Внесок лауреатів Нобелівської премії в дослідження структури протеїнів: Дж. Самнер, Дж. Нортроп, У. Стенлі, Л. Полінг, Ф. Сенгер, М. Перуц, Дж. Кендрю. *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 4. P. 127—153.

16. Комісаренко С. В. Шляхи реалізації генетичної інформації (Нобелівські премії з хімії та фізіології або медицини 2009 р.). *Вісник НАН України*. 2009. № 12. С. 40—45.

17. Матишевська О.П., Данилова В.М., Комісаренко С.В. Відкриття подвійної спіралі ДНК або революція, що започаткувала еру молекулярної біології (Нобелівська премія 1962 р.). *Ukr. Biochem. J.* 2020. Vol. 92, N 6. P. 183—198.

18. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Double Nobel Prize Winner: Frederick Sanger — The Father of Genomics. *Ukr. Biochem. J.* 2021. Vol. 93, is. 2. P. 116—122. doi: doi.org/10.15407/ubj93.02.116.

19. Cramer P. et al. Structural basis of transcription: RNA polymerase II at 2.8 ångström resolution. *Science*. 2001. Vol. 292. P. 1863—1876.

20. Gnatt A.L. et al. Structural basis of transcription: an rna polymerase II elongation complex at 3.3 A Resolution. *Science*. 2001. Vol. 292. P. 1876—1882.

21. Wang D. et al. Structural basis of transcription: role of the trigger loop in substrate specificity and catalysis. *Cell*. 2006. Vol. 127. P. 941—954.

22. Kelleher I.R.J. et al. A Novel mediator between activator proteins and the rna polymerase II transcription apparatus. *Cell*. 1990. Vol. 61. P. 1209—1215.

23. Kornberg R.D. Mediator and the mechanism of transcriptional activation.*Trends in Biochemical Sciences*. 2005. Vol. 30. P. 235—239.

24. Roger kornberg wins the 2006 Nobel prize in chemistry. *Stanford report*. October, 2006. Vol. 4. https://news.stanford.edu/news/

25. Diego Duchi, Abhishek Mazumder, Anssi M. Malinen, Richard H. Ebright, Achillefs N. Kapanidis. The RNA polymerase clamp interconverts dynamically among three states and is stabilized in a partly closed state by ppGpp. *Nucleic Acids Research*. 2018. Vol. 46, is. 14. P. 7284—7295. https://doi.org/10.1093/nar/gky482.

26. Yuri A. Nedialkov Kristopher Opron Hailey L. Caudill Fadi Assaf, Amanda J. Anderson Robert I. Cukier. Hinge action versus grip in translocation by RNA polymerase. *Transcription*. 2018. Vol. 9, is. 1. P. 1—16. https://doi.org/10.1080/21541264.2017.1330179.

27. Allison C. Schier and Dylan J. Taatjes. Structure and mechanism of the RNA polymerase II transcription machinery. *Genes & Developmetn*. 2020. Vol. 34. P. 465—488 doi:10.1101/gad.335679.119

28. Abhishek Mazumder, Miaoxin Lin, Achillefs N. Kapanidis and Richard H. Ebright. Closing and opening of the RNA polymerase trigger loop. *PNAS*. 2020. Vol. 117, N 27. P. 15642—15649. doi: 10.1073/pnas.1920427117.

29. Richter W.F., Nayak S., Iwasa J., Taatjes D.J. The Mediator complex as a master regulator of transcription by RNA polymerase II. Nature reviews. *Molecular Cell Biology*. 2022. doi: 10.1038/s41580-022-00498-3.

ISSN 2409-4943 Ukr. Biochem. J. Vol. 2022. 94, N 4. P. 93—102.

ШЛЯХИ РЕАЛІЗАЦІЇ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ (PATHWAYS OF GENETIC INFORMATION REALIZATION)

Нобелівські премії з хімії та фізіології або медицини, 2009

С.В. Комісаренко

Генеральний секретар Королівської академії наук Швеції Гуннар Окіст, оголошуючи лауреатів Нобелівської премії, зауважив, що дослідження, які відзначені премією з фізики, «започаткували сучасне інформаційне суспільство». Водночас, хоча я часто користуюся фото- і відеоапаратурою, зокрема тією, що у моєму мобільному телефоні, мені значно ближчі дві інші премії — з хімії та фізіології або медицини. Охарактеризуємо їх детальніше.

Почну з того, що читачеві, очевидно, добре відомо, — розподіл премій і, зрозуміло, лауреатів за досягнення з «хімії» та «фізіології або медицини» є традиційним (за заповітом Альфреда Нобеля) і досить умовним. Зараз премії здебільшого присуджують за роботи в суміжних наукових галузях або за досягнення в науках, яких ще не було за часів А. Нобеля. Так і дві премії, про які йдеться нижче, присуджено за роботи, які більше можна віднести до молекулярної біології, молекулярної генетики чи сучасної біохімії. Обидві вони пов'язані з тим, як зберігається спадкова генетична інформація, як вона реалізується під час створення молекул протеїнів у живих клітинах або в модельних системах.

Якщо коротко, то Нобелівською премією з фізіології або медицини відзначено **Елізабет Блекберн** (*Elizabeth Blackburn*), **Керол Грейдер** (*Carol Greider*) і **Джека Шостака** (*Jack Szostack*) за відкриття механізмів, що захищають теломери хромосом від недореплікації завдяки діяльності ензиму теломерази, а премію з хімії — **Венкатрамана Рамакришнана** (*Venkatraman Ramakrishnan*), **Томаса Стейтца** (*Thomas A. Steitz*) та **Аду Йонат** (*Ada E. Yonath*) за встановлення тонких механізмів функціонування рибосом під час синтезу на них протеїнів. Майже всі нагороджені вчені, крім ізраїльтянки Ади Йонат, є громадянами США і найкращі дослідження підготували в США. Проте лише Т. Стейтц і К. Грейдер народилися в США. Д-р Рамакришнан народився в Індії, Е. Блекберн — в Австралії, а Дж. Шостак — у Британії.

Премія відзначає дві групи досліджень, що проведені протягом багатьох років, тож кандидатам на премію довелося довго чекати того щасливого дня, коли вони дізналися, що стали нобелівськими лауреатами, як чекають на такий день ще сотні, а то й тисячі достойних претендентів. Так, у 2004 р. мене запросили на наукову конференцію до Реховота (Ізраїль), присвячену 80-річчю видатного біохіміка й імунолога, колишнього президента Вайцманівського інституту, професора Майкла Села. Я головував на одній із секцій цієї конференції, на якій із блискучою доповіддю виступила Ада Йонат. Під час доповіді вона продемонструвала фільм, зроблений на основі результатів молекулярної графіки, де було детально відображено всі етапи синтезу протеїнів на рибосомі. Ще тоді М. Села зауважив: «Ада вже декілька років є ймовірним кандидатом на Нобелівську премію». Відтоді минуло п'ять років...

ІЗ МРІЄЮ ПРО ВІЧНУ МОЛОДІСТЬ

Нобелівську премію в галузі медицини або фізіології у 2009 р. вручено за відкриття ферменту теломерази, що захищає теломери хромосом під час розмноження клітин. Вивчення властивостей теломерази дає змогу зрозуміти, яким чином відбувається старіння клітин, як ракові клітини забезпечують собі «вічну молодість», а також визначити шляхи пошуку нових протипухлинних ліків чи ліків для гальмування старіння.

Із шкільної лави нам відомо, що генетичну інформацію організму закодовано в ядрі клітини в послідовності дезоксирибонуклеотидів ДНК. Цей код потім дешифрується і визначає здебільшого структуру протеїнів, які синтезуються поза ядром у цитоплазмі клітини на рибосомах. При поділі «материнської» клітини на дві «дочірні» для збереження генетичної інформації ДНК має подвоїтися. Це подвоєння ДНК як на матриці відбувається завдяки її дуплікації, яку каталізує ензим—ДНК-залежна ДНК-полімераза. Але ДНК у ядрі перебуває не у вільному стані, а в складі так званих хромосом — комплексів ДНК із протеїнами. Наприклад, добре відомо, що соматичні клітини людини мають 23 пари лінійних хромосом, і в кожній хромосомі є одна молекула двоспіральної ДНК, скрученої й упакованої відповідним чином разом із протеїнами. А на кінцях хромосом (не лише клітин людини, а й у більшості евкаріотів і навіть деяких прокаріотів) є структури, що називають теломерами, які складаються з повторюваних послідовностей ДНК. Навіщо потрібні теломери, коли вони не містять генів, що кодують білки? Чи мають теломери стосунок до магічної кількості можливих поділів звичайних клітин (що дорівнює приблизно 50 і запропонованої Леонардом Хайфліком), після чого клітини припиняють ділення?

Цікаво, що першим, хто здогадався про функцію теломер ще наприкінці 60-х років XX ст., був зовсім молодий радянський учений-імунолог Олексій Оловников, який працював у Інституті мікробіології та епідеміології ім. М.Ф. Гамалеї в Москві. Саме він першим висунув гіпотезу, що з кожним поділом клітини ДНК теломери зменшуються до певної межі, після якої реплікація ДНК припиняється, і поділ клітини стає неможливим. Я добре пам'ятаю наші, тоді молодих кандидатів наук, зустрічі з Олексієм і в Москві, і в Києві, дискусії про можливу функцію теломер і про те, що, на жаль, його гіпотезу в нас немає можливості експериментально перевірити. Разом із іншими молодими колегами ми жартома казали: «Олексію, ти маєш стати лауреатом Нобелівської премії». Як бачимо нині, тодішні жарти були дуже близькими до істини. Авторитет Олексія Матвійовича Оловникова визнано в усьому світі. Його гіпотезу, опубліковану в провідних часописах, було експериментально доведено й розвинуто саме під керівництвом Е. Блекберн.

Справді, під час поділу клітини дуплікація ДНК не може відбуватися до самого кінця кожної хромосоми, і кожен поділ супроводжується скороченням теломер до певної межі, коли припиняється проліферація клітин. Іншими словами, механізм скорочення теломер відповідає за строк життя клітини, а на порушенні цього процесу може базуватися безкінечне розмноження клітин. Теломери оберігають також хромосоми від гомологічних рекомбінацій та негомологічних з'єднань кінців хромосом.

Елізабет Блекберн (1948)

Керол Грейдер (1961)

Джек Шостак (1952)

Ензим, що регулює довжину теломер, називають теломеразою. Це рибонуклеопротеїновий комплекс, що складається з протеїнової і РНК-частин. Як ензим теломераза є зворотною транскриптазою, що як матриця використовує зв'язану з нею особливу молекулу РНК, на якій проводить синтез ДНК для подовження теломер (чи для відтворення теломерами втраченої при поділі клітини частини теломерної ДНК). «Зворотною транскриптазою» цей ензим називають, бо він є РНК-залежною ДНК-полімеразою (колись догматично вважали, що напрямок інформації йде завжди від ДНК до РНК і ніколи у зворотному напрямку). Теломераза додає до 3′-кінця ДНК хромосом повторювану послідовність із здебільшого шести дезоксирибонуклеотидів — 5′-TTAGGG. Такі повтори разом із відповідними протеїнами і є теломерами. Довжина теломер, тобто кількість повторів із шести (інколи і восьми) нуклеотидів, суттєво розрізняється в різних видів істот і може коливатися від сотень до багатьох тисяч пар основ — нуклеотидів. Теломераза активна в певних клітинах, які мають розмножуватися (проліферувати), наприклад у клітинах зародків, клітинах епітелію кишок, дихальних шляхів, крові, у стовбурових і статевих клітинах тощо. Вона також активна в більшості (80—90 %) злоякісних клітин. Звичайним соматичним клітинам зазвичай не властива теломеразна активність.

Якщо теломераза може відновлювати структуру теломер, а їхня структура і довжина визначає проліферативну активність клітин, то виникає слушне питання, чи можна штучно регулювати процеси старіння клітин і організмів (як прискорені, так і вповільнені) або впливати на ті захворювання, що супроводжуються неконтрольованим розмноженням клітин, передусім — на злоякісний ріст. Правда, треба відразу зауважити очевидний компроміс — активація клітин під час боротьби з їх старінням підвищує ризик злоякісної трансформації клітин, а пригнічення проліферативного потенціалу клітин під час боротьби зі злоякісним ростом прискорюватиме їх старіння та загибель. Тому зрозуміла важливість подальшого вивчення механізмів, що регулюють активність теломераз і функціонування теломер, для лікування злоякісних пухлин, великої кількості захворювань і станів організму, пов'язаних із порушенням процесів

старіння клітин та органів, наприклад атаксії-телангіектазії, прогерії, апластичної анемії людей похилого віку тощо.

Під час вивчення можливості активації теломерази виявлено, що її РНК складник постійно експресується майже в усіх клітинах, тому для відтворення активності теломерази досить викликати експресію протеїнової частини цього ензиму, наприклад індукцією відповідного гена чи його штучним перенесенням у клітини. Таким способом можна зробити культуру клітин практично безсмертною.

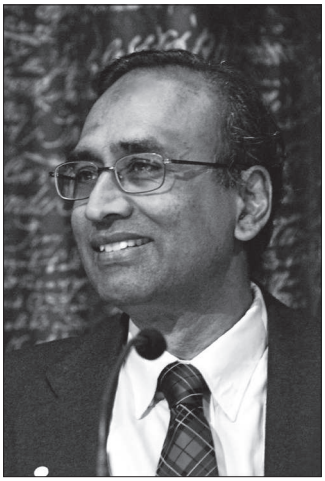
Відомі дані, щоправда, поки нечисленні, що «здоровий спосіб життя і харчування» зумовлює активацію теломерази та збільшення довжини теломер у певних тканинах (найчастіше цю довжину вимірюють у лейкоцитах крові). І, навпаки, у людей із надмірною вагою або з інсулін-незалежним діабетом II типу спостережено кореляцію зі швидкістю скорочення теломер. До скорочення теломер може призводити стрес, зокрема оксидативний. Чи не є це свідченням того, що ми самі часто скорочуємо власне життя, ведучи «нездоровий спосіб життя»? Цікаві також дані про позитивну кореляцію між рівнем вітаміну D в організмі людей і довжиною теломер лейкоцитів крові, що підтверджує думку про позитивний ефект впливу вітаміну D на процеси старіння тканин і на захворювання, пов'язанні зі старінням. Цілком реально, що в майбутньому можна буде через регуляцію активності теломерази цілеспрямовано відновлювати клітини й органи, що зазнають старіння, чи, навпаки, припиняти ріст і розмноження клітин, що активно розмножуються.

Учені небезпідставно стверджують, що відкриття, подібні до цьогорічного нобелівського, можуть стати одними з перших на шляху до розгадки таємниці «вічно молодого» життя, про що є багато міфів і легенд.

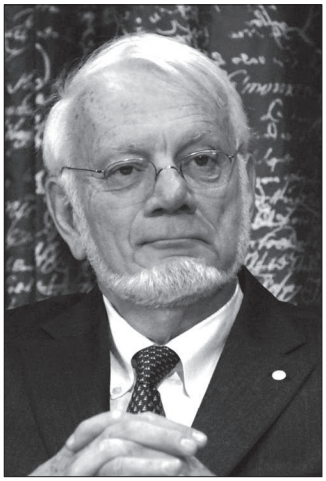
МЕХАНІЗМИ ТВОРЕННЯ ПРОТЕЇНІВ

Цьогоріч премію з хімії вручено за вивчення тонких механізмів функціонування рибосом. Вище спрощено викладено один із механізмів зберігання генетичної інформації в хромосомах ядра клітини. Але для реалізації цієї інформації код ДНК має перетворитися на код матричної РНК, яка на рибосомах має транслюватися в амінокислотну послідовність відповідних протеїнів. Іншими словами, рибосоми є своєрідною фабрикою синтезу протеїнів клітини. Для цього вони повинні реалізувати щонайменше такі етапи синтезу протеїнів: розпізнавання та зв'язування з ініціюювальним кодоном мРНК на початку синтезу протеїну, зчитування з мРНК запрограмованої послідовності протеїну; вибір правильної амінокислоти та її активація; каталітичний акт із формуванням пептидного зв'язку між амінокислотами; механічний акт пересування рибосоми по мРНК (чи «протягування» мРНК рибосомою крізь себе) і термінацію синтезу протеїнів. Усі етапи синтезу детально регулюються внаслідок точної взаємодії відповідних атомів чи груп атомів молекул, що взаємодіють. Інакше білки синтезувалися б із помилками в первинній структурі (у послідовності амінокислот), що, звісно, неприйнятно для виконання протеїнами їхніх функцій.

Біохімічні механізми, на яких ґрунтується синтез протеїнів на рибосомах, вивчають протягом 50 років. За цей час накопичено багато важливих даних щодо всіх етапів синтезу протеїнів, а також стосовно структури рибосом евкаріотів і прокаріотів, мітохондрій і протопластів; великих і малих субодиниць



Венкатраман Рамакришнан (1952)



Тóмас Стейц (1940)

Ада Е. Йонат (1939)

рибосом та їхніх протеїнових і рибонуклеїнових складників. Зокрема, показано, що за загальною структурою рибосоми евкаріотів (80S) дуже подібні до рибосом прокаріотів (70S), що рибосоми сформовані з комплексів РНК і протеїнів (тобто вони є рибонуклеопротеїнами), мають приблизно 20 нм у діаметрі й складаються з двох субодиниць — великої та малої. Мала субодиниця рибосоми зв'язується з мРНК, а велика — з тРНК та амінокислотою. Велика субодиниця рибосоми евкаріотів (60S) включає в себе три молекули рибосомальної РНК (5S, 28S і 5,8S) та близько 50 малих молекул протеїнів, мала субодиниця (40S) — одну молекулу рРНК (18S) і біля 33 протеїнів. Відповідно велика субодиниця бактеріальної рибосоми (50S) має дві молекули рРНК (5S і 23S) і 34 протеїни, а мала субодиниця (30S) — одну рРНК (16S), яка зв'язана з 21 молекулою протеїнів. Можливо, ці деталі не є такими важливими для читача, але вони певною мірою віддзеркалюють великий розмір рибосом і складність їхньої надмолекулярної структури, необхідної для виконання чи не найважливішої функції клітини — синтезу протеїнів. Така складність структури рибосом довго не давала змоги вченим установити тонкі деталі їх функціонування, аж поки не було розроблено методики отримання кристалів рибосом для рентгеноструктурного аналізу та не з'явилися методи молекулярної чи атомної топографії для великих надмолекулярних комплексів.

Прорив намітився у 2000 р., коли були опубліковані перші роботи з рентгеноструктурного аналізу рибосом бактерій і археа. Цим успішним публікаціям передувало багато років тривалої й наполегливої роботи. Так, Ада Йонат протягом 20 років провела декілька десятків тисяч (!) експериментів, щоб отримати кристали рибосом бактерій, які були б придатними для рентгеноструктурного аналізу. Відомо, що головною частиною аналізу є розшифрування відбитків від сотень тисяч атомів рибосоми, отриманих у процесі опромінення її кристалів рентгенівськими променями. Тут на допомогу потужній обчислювальній апаратурі, яку використовували для рентгеноструктурного аналізу, прийшли дані електронної мікроскопії цих самих кристалів. Електронна мікроскопія не мала

високої роздільної здатності, але допомогла встановити загальну структуру рибосоми і, таким чином, зіставити й локалізувати рентгенівські відбитки.

Доктори Рамакришнан і Стейтц проводили дослідження на синхротроні Брукхейвінської національної лабораторії і опублікували результати роботи майже одночасно з Адою Йонат у 2000 р. Якщо перші результати аналізів були з роздільною здатністю 5—7 Å, то потім якість підвищилася до 2,8—3,5 Å. Особливо важливим було дослідження молекулярної структури комплексів рибосом із мРНК (сайт «Р») та тРНК (сайт «А» для аміноацил-тРНК і сайт «Е» для вільної тРНК перед її виходом із рибосоми) та виявлення просторової структури каналу, у якому міститься щойно синтезований протеїн.

Одним із найцікавіших результатів опублікованих праць був той, що в активному центрі рибосоми, відповідальному за каталітичне формування пептидного зв'язку, не було знайдено рибосомальних протеїнів. Протеїни рибосом здебільшого містяться на їхній поверхні та виконують роль стабілізатора просторової структури, тобто в ролі ензиму пептидил-трансферази виступає рибосомальна РНК! Так було спростовано ще одну догму біохімії: «Не всі протеїни є ензимами, але всі ензими є протеїнами» — і доведено, що ензиматична активність властива також рибонуклеїновим кислотам. Такі РНК назвали «рибозимами». Щобільше одна із сучасних гіпотез, пов'язаних із зародженням життя на землі, стверджує, що саме РНК, а не протеїни чи ДНК були першими і найважливішими макромолекулами в еволюції, які водночас були і носіями генетичної інформації, і ензимами, активність яких була вирішальною під час створення й розмноження первинних організмів на нашій планеті.

Знання тонкої структури і механізмів функціонування рибосом безпосередньо пов'язане з можливістю регуляції біосинтезу протеїнів у клітині й вирішенням багатьох медичних проблем. Більшість антибіотиків створено так, щоб вони гальмували синтез бактеріальних протеїнів на бактеріальних рибосомах і *не перешкоджали синтезу протеїнів у клітинах організмів, де ці бактерії містяться. Таким чином, зрозуміло, чому протибактерійні антибіотики не активні проти* вірусів: віруси не мають власних рибосом і власної протеїн-синтезувальної системи, але використовують рибосоми клітин господаря, де й розвиваються. Дані просторової структури (конформації) сайтів рибосом, важливі для різних етапів синтезу протеїнів, дають можливість проводити сайт-специфічний синтез сполук, що стають інгібіторами процесів трансляції, а отже, потенційними ліками.

Відзначення Нобелівськими преміями описаних вище наукових відкриттів — ще одне свідчення важливості таких робіт для пізнання механізмів живого, використання досягнень науки на благо людства, а також того, яку велику увагу приділяють у світі сучасним медико-біологічним дослідженням. До цього можна додати, що нещодавно було відкрито «RNA interference» — процес «сайленсингу» (чи інтерференції) синтезу протеїнів на рибосомах на основі двоспіральних «малих інтерферуючих» РНК, або мікроРНК. Це відкриття було відзначене Нобелівською премією за 2006 р. Воно також створює можливості для цілеспрямованої регуляції, зокрема гальмування, синтезу окремих протеїнів і лікування багатьох захворювань людини, тварин і рослин.

ISSN 0372-6436. Вісник НАН України. 2009. № 12. С. 40—45.

ІМУНІТЕТ: ЩО ЗМУШУЄ ЙОГО ПРАЦЮВАТИ? (IMMUNITY: WHAT MAKES IT WORK?)

Нобелівська премія з фізіології або медицини, 2011

С.І. Романюк, С.В. Комісаренко

Нобелівська асамблея при Каролінському медичному інституті вирішила присудити найпрестижнішу в науковому світі премію з фізіології або медицини за 2011 р. трьом ученим-імунологам. Однієї половини премії удостоїлися Брюс Бойтлер і Жюль Хоффман за відкриття, що стосуються активації вродженого імунітету, а друга половина дісталася Ральфу Стейнману за відкриття дендритних клітин та їхньої ролі в набутому імунітеті. На жаль, професор Стейнман не дожив до цієї радісної події: він помер за три дні до оголошення лауреатів.

Що нового змогли знайти ці вчені в імунітеті, про який кожен з нас чув з самого дитинства і вивченням якого займаються тисячі провідних лабораторій світу? Якщо спрощено, то імунітет — це властивість імунної системи організму людини або тварин розпізнавати різницю між власними і чужими складовими (макромолекулами, клітинами, тканинами і органами, а також вірусами, бактеріями тощо), які штучно чи природно потрапляють в організм або з'являються за рахунок перетворення свого в організмі, та протидіяти розповсюдженню «чужого», бо останнє часто пов'язане із захворюваннями. Найчастіше (але не виключно) імунітет спрямований проти чинників — патогенів, які викликають інфекційні захворювання, до яких відносять віруси, бактерії, патогенні грибкові мікроорганізми та паразити.

У біології майже 100 років панувало традиційне уявлення, сформоване ще під впливом праць П. Ерліха та І. Мечникова про існування двох ланок імунітету: клітинної та гуморальної, які взаємодіють між собою. У 1883 р. І.І. Мечников дійшов висновку, що несприйнятливість організму до деяких інфекційних захворювань (імунітет) забезпечується фагоцитарною активністю лейкоцитів. Майже в той самий час П. Ерліх встановив, що захисні властивості крові зумовлені здатністю деяких видів лейкоцитів у відповідь на проникнення в організм збудників захворювання утворювати протеїни (імуноглобуліни або антитіла), що спрямовані проти цих збудників і знешкоджують їх. Отже, за своєю природою імунітет може бути клітинним (фагоцитоз) і гуморальним (антитіла). У 1908 р. П. Ерліх та І. Мечников одержали Нобелівську премію з фізіології або медицини «за створення клітинно-гуморальної теорії імунітету».

Зауважимо, що цю найпрестижнішу наукову нагороду не раз отримували вчені, що працювали в галузі імунології: в 1901 р. першу Нобелівську премію отримав Еміль Адольф фон Берінг «за роботу із сироваткової терапії, переважно за її вживання під час лікування дифтерії, що відкрило нові дороги в медичній науці і дало в руки лікарів звитяжну зброю проти хвороби і смерті»; в 1913 р. — Шарль Ріше «на знак визнання його робіт з анафілаксії»; в 1919 р. —

Жюль Борде «за відкриття, пов'язані з імунітетом» (роль комплемента, механізми преципітації, аглютинації та ін.); у 1960 р. — Макфарлейн Бернет, Пітер Медавар «за відкриття штучної імунної толерантності (переносності)»; в 1972 р. — Джеральд Едельман, Родні Портер «за відкриття, що стосуються хімічної структури антитіл»; у 1980 р. — Барух Бенасерраф, Жан Доссе, Джордж Снелл «за відкриття, що стосуються генетично визначених структур (антигенів гістосумісності) на клітинній поверхні, що регулюють імунні реакції»; в 1984 р. — Нільс Єрне, Георг Кьолер, Сезар Мільштейн «за відкриття і розробку принципів одержання моноклональних антитіл за допомогою гібрида»; у 1987 р — Судзумі Тонегава «за відкриття генетичного принципу для генерації різновиду антитіл»; у 1996 р. — Пітер Доерті, Рольф Цинкернагель «за відкриття в області імунної системи людини, зокрема її здібності виявляти клітини, уражені вірусом». Як бачимо, досягнення вчених-імунологів часто визнавалися найвагомішими в галузі медицини та фізіології, оскільки імунна система є дуже важливою для організму, а вивчення принципів її функціонування має фундаментальне значення для профілактики (вакцинація), діагностики і терапії багатьох захворювань. При цьому існують захворювання самої імунної системи, захворювання інших органів і тканин, спричинені порушеннями в імунній системі, та захворюваннями інших органів і тканин, які зумовлюють зміни в імунній системі. Практично немає захворювань, які б тим чи іншим способом, прямо чи опосередковано не були пов'язані з імунною системою.

Дослідження імунної системи та її компонентів украй важливе для експериментальної біології різних рівнів (молекулярної, клітинної, органної тощо), оскільки вже багато років імунна система — її організація та функціонування, її компоненти — використовуються як унікальні моделі для вивчення структури протеїнів; організації генів, що кодують компоненти імунітету; внутрішньоклітинного та міжклітинного «сигналінгу», структури і ролі рецепторів на поверхні імунокомпетентних клітин тощо. Часто відкриття в галузі імунології змінювали напрям розвитку інших галузей науки. Так, у 1945 р. Дж. Бідл і Е. Татум сформулювали гіпотезу, яку можна виразити формулою «один ген — один фермент». Згідно з цією гіпотезою, кожна стадія метаболічного процесу, що приводить до утворення в організмі (клітині) якогось продукту, каталізується протеїном-ферментом, за синтез якого відповідає один ген. Пізніше, коли було показано, що багато білків мають четвертинну структуру, в утворенні якої беруть участь різні пептидні ланцюги, формулу, що відображає зв'язок між геном і ознакою, було дещо перетворено: «один ген — один поліпептид», а ще пізніше — для кожного з ланцюгів імуноглобулінів — «два гени — один поліпептид». Проте відкриття Судзумі Тонегавою організації структурних генів імуноглобулінів, відзначене Нобелівською премією у 1987 р., остаточно змінило класичне уявлення про те, що кожний поліпептид кодується одним геном.

Виявилося, що для кодування поліпептидних ланцюгів імуноглобулінів існують досить складні генетичні механізми, що призводять до створення величезного різноманіття активних центрів антитіл. Гени, що кодують поліпептидні ланцюги імуноглобулінів, розташовані на різних хромосомах. У людини, наприклад, локус генів для всіх класів важких ланцюгів імуноглобулінів розташований на хромосомі 14, для легкого ланцюга κ — на хромосомі 2, для

ланцюга λ — на хромосомі 22. Кожна група генів для важких ланцюгів імуноглобулінів містить інформацію про різні VH-домени для утворення величезного різноманіття антитіл, а також про структури константних ділянок імуноглобулінів — для різних класів імуноглобулінів. У свою чергу, група генів для легких ланцюгів імуноглобулінів має інформацію для різних VL-доменів і одного з CL. Різноманіття VH-доменів важких ланцюгів імуноглобулінів формується здебільшого за рахунок імовірнісної соматичної рекомбінації V (варіабельних), D (різноманітних) та J (об'єднувальних) сегментів генів, які тандемно розташовані на хромосомі, та їхнього об'єднання у VH-ген. Цей VH-ген кодує однакові VH-домени усіх антитіл, що синтезуються однією В-клітиною або її нащадками, зокрема плазматичною клітиною, незалежно від класу синтезованого важкого ланцюга імуноглобулінів. При переключенні синтезу одного класу імуноглобулінів на інший за рахунок об'єднання VH-гена з іншим Сн-геном (наприклад, при переключенні з IgM на IgG клас) відбуваються зміни у VH-гені внаслідок соматичних гіпермутацій. Комбінація обох: і VH, і VL доменів робить внесок у походження величезної різноманітності специфічностей антитіл, але на відміну від VH-гена VL-ген формується тільки за рахунок соматичної рекомбінації V- і J-сегментів. Протягом XX ст. імунологія переживала стрімкий розвиток, унаслідок якого нібито встановилося розуміння того, як функціонує адаптивний імунітет (викликаний «чужими» антигенами, які розпізнаються антиген-специфічними рецепторами В- чи Т-лімфоцитів імунної системи), що В-лімфоцити відповідають за синтез антитіл, а Т-лімфоцити — за клітинний (цитотоксичний) імунітет, що потрібна кооперація імунокомпетентних клітин для реалізації обох типів імунітету. Та залишалося незрозумілим, як функціонує система природного імунітету, який «не використовує» систему антиген-розпізнавальних рецепторів тонкої специфічності В- і Т-лімфоцитів, а також чому адаптивний імунітет може суттєво відрізнятися за силою імунної відповіді на однакові антигени. Відзначені Нобелівською премією дослідження були присвячені вивченню саме цих «незрозумілих» проблем.

Природний імунітет — еволюційно значно старший і притаманний багатьом живим організмам, зокрема рослинам, комахам і навіть бактеріям, які мають захисні механізми проти вірусів-бактеріофагів. Специфічний (адаптивний) імунітет притаманний лише вищим тваринам — хордовим і досягає найскладнішої організації у теплокровних тварин (птахів і ссавців). У людини і тварин природний імунітет, який діє в першу чергу проти патогенів, забезпечується декількома рівнями захисту.

Перший — це шкіра і слизові оболонки. Останні не тільки виконують бар'єрну функцію на шляху проникнення багатьох патогенів, а й здатні до активного знищення більшості з них, наприклад, під дією низьких pH або завдяки існуванню нормальної мікрофлори, яка асоційована зі всіма покривами організму.

Другий рівень природного захисту — це існування в біологічних рідинах організму макромолекул (насамперед — ензимів або їх інгібіторів), що руйнують «чужі» макромолекули, віруси або бактерії (наприклад, лізоцим шкіри, слини чи сліз, який розщеплює оболонки бактерій, трансферин, що позбавляє

бактерії необхідного для росту заліза, інтерферони, які гальмують розмноження вірусів, фосфоліпаза А2, протимікробні пептиди, комплемент тощо).

Патогени, що уникли перших двох рівнів захисту і починають розмножуватися, можуть знешкоджуватися клітинами природного імунітету, до яких належать клітини-фагоцити (макрофаги, нейтрофіли, еозинофіли), дендритні клітини, базофіли, тучні клітини та природні клітини-кілери, які входять до третього рівня захисту.

Реакція системи природного імунітету на потрапляння «чужого» до внутрішнього середовища організму проявляється як реакція запалення. Головною функцією запалення є обмеження поширення організмом чужорідних антигенів, що необхідно, в деяких випадках, для первинної локалізації інфекційного процесу. Основним механізмом знешкодження антигенів (патогенів) у вогнищі запалення є фагоцитоз, зумовлений переважно нейтрофілами (у гострій стадії запалення) або макрофагами (у хронічній стадії запалення). Фагоцити здатні впізнавати, поглинати та руйнувати патогени навіть без участі системи адаптивного імунітету. Вони розпізнають на поверхні патогенів притаманні останнім повторювальні мотиви («regular patterns»), наприклад пептидоглікани, хітин, тейхоєві кислоти, ліпополіцукриди тощо, за допомогою рецепторів, які називають рецепторами, що розпізнають за зразком («pattern recognition receptors»). Природний імунітет діє швидко, бо не залежить від клонального розмноження антиген-специфічних клітин, притаманних адаптивному імунітету, і здебільшого ефективно. Тому інфекційні захворювання трапляються порівняно рідко, враховуючи постійне оточення організмів різними патогенами з навколишнього середовища.

Клітини природного імунітету відіграють також важливу роль у адаптивному імунітеті — деякі з них (дендритні клітини) є антиген-презентувальними клітинами, здатними до стимуляції антиген-специфічних клітин адаптивного імунітету (Т- і В-лімфоцитів). Наявні на поверхні антиген-презентувальних клітин костимуляторні молекули необхідні для ефективної ініціації специфічної імунної відповіді. Водночас фактори специфічної імунної відповіді — антитіла підсилюють фагоцитоз та інші прояви неспецифічного імунітету. На жаль, природний імунітет не завжди може знешкодити патогени або клітини організму, що стали злоякісними. На відміну від адаптивного імунітету, він не має структур (рецепторів) з множинною і тонкою специфічністю та позбавлений імунологічної пам'яті. Специфічний (адаптивний або набутий) імунітет називається так, бо розвивається специфічно у відповідь на потрапляння до організму чужорідних структур і довго зберігається як «пам'ять» про попередній контакт організму з антигеном. Специфічність імунітету полягає в унікальній властивості імунної системи — однієї з найскладніших і найважливіших систем організму: в можливості специфічного молекулярного розпізнавання чужорідних структур специфічними рецепторами клітин імунної системи (В- і Т-лімфоцитів), а також розчинними факторами імунітету — антитілами, які являють собою розчинну форму В-клітинного рецептора. Антитіла і рецептори В- і Т-лімфоцитів мають унікальну будову активних центрів, які забезпечують їм вибіркову специфічність відносно епітопів — певних хімічних угруповань у структурі чужорідних антигенів. Теорія специфічного

імунітету ґрунтується на клонально-селекційній теорії Ф. Бернета, за якою антиген є селективним чинником, що приводить до проліферації клонів специфічних до нього лімфоцитів. Специфічний імунітет може бути набутий активно, після контакту з антигеном (унаслідок контакту зі збудником або штучної імунізації), або пасивно (після перенесення клітин пам'яті або антитіл від одного організму до іншого). Здебільшого активний імунітет зберігається протягом багатьох років, а пасивний — декілька тижнів. Отже, специфічний і неспецифічний імунітети — це взаємопов'язані ланки імунного захисту організму, які можуть активувати одна одну та взаємодіяти під час звільнення організму від патогена.

Жюль Хоффман (1941)

У прес-релізі Нобелівської асамблеї при Каролінському медичному інституті вказано, що лауреати 2011 р. кардинально змінили уявлення про імунну систему, виявивши ключові принципи її активації. Впродовж XX ст. ученим вдалося крок за кроком прояснити багато деталей імунних механізмів. Але до робіт, виконаних теперішніми лауреатами, було незрозуміло, як активується вроджений імунітет і як він взаємодіє з набутим імунітетом.

Найперше з відмічених премією відкриттів зробив у 1996 р. **Жюль Хоффман** (франц. *Jules Alphonse Hoffmann*), вивчаючи, як бореться з інфекцією фруктова муха дрозофіла. Дослідник ставив експерименти на мухах-мутантах і виявив, зокрема, що особини з мутацією гена, що кодує особливий білок, так званий толл-подібний рецептор (TLR), не здатні опиратися інфекції. TLR незадовго до цього відкрила німецька дослідниця Кристіані Нюсслайн-Фольхард, вона виявила його роль в ембріональному розвитку комахи. А Хоффман показав, що цей білок виконує важливу функцію і в процесі ідентифікації та знешкодження патогенних мікроорганізмів.

Француз Ж. Хоффман — найстарший з лауреатів. Він народився 2 серпня 1941 р. у Люксембурзі. Там закінчив школу і університет, а в 1963 р. перебрався до Франції та продовжив освіту в Страсбурзькому університеті. Тоді він розпочав роботу в Національному центрі наукових досліджень Франції — провідній установі країни у сфері науки. У 1969 р. Хоффман захистив дисертацію, а потім два роки пропрацював у Німеччині в Марбурзькому університеті. У 1978 р. став професором зоології та загальної біології й очолив наукову робочу групу «Імунна відповідь і розвиток у комах». Учений керував цими дослідженнями до 2005 р. Паралельно, з 1993 до 2005 рр. він очолював Інститут молекулярної та клітинної біології Національного центру наукових досліджень Франції в Страсбурзі. У 2005—2006 і 2007—2008 рр. Хоффман був президентом Французької академії наук.

Другий лауреат — американець **Брюс Бойтлер** — наймолодший з трійки лауреатів. Він народився 29 грудня 1957 р. у Чикаго (штат Іллінойс), але незабаром сім'я переїхала на південь Каліфорнії. Брюс закінчив школу в Пасадіні

Брюс Бойтлер (1957)

і коледж Каліфорнійського університету в Сан-Дієго, потім повернувся в рідне місто і в 1981 р. у віці 23 років захистив дисертацію на медичному факультеті університету Чикаго. Після цього він два роки працював в Південно-західному медичному центрі Техаського університету в Далласі, а потім на три роки виїхав до Нью-Йорка, в Рокфеллерівський університет, де став професором. У 1986 р. він повернувся на попереднє місце роботи, де пропрацював 14 років і провів ті дослідження, за які удостоївся Нобелівської премії. З 2000 р. і до сьогодні Бойтлер працює в Інституті біомедичних досліджень у Ла-Хойя (штат Каліфорнія) — спочатку у відділі імунології, а згодом очолив відділ генетики. Брюс Бойтлер шукав рецептор, здатний зв'язувати ліпополісахариди (LPS).

Ці сполуки синтезуються бактеріями та можуть викликати вкрай гостру реакцію імунної системи аж до септичного шоку. У 1998 р. учений виявив, що у мишей, резистентних до LPS, є мутація в гені, дуже схожому на той, що кодує толл-подібний рецептор у мухи дрозофіли. Виявилося, що саме TLR і є рецепторами, що реагують на LPS. Зв'язуючись з ними, TLR активують імунну відповідь, що виявляється в запаленні або — в особливо важких випадках — у септичному шокові. Так було відкрито сенсори активації вродженого імунітету.

Як часто буває після присудження Нобелівської премії, відразу з'явилися критичні статті щодо нагородження Бойтлера. Він справді показав першим, що толл-подібні рецептори (TLR4) зв'язуються з ліпополісахаридами, але ще до нього участь TLR4 в активації природного імунітету з'ясували Чарлз Джейнвей та його учень Руслан Меджитов. Чарлз Джейнвей у 1989 р. висловив ідею про існування рецепторів для розпізнавання паттернів (пізніше названих толл-подібними рецепторами або TLR). Руслан Меджитов, який закінчив Ташкентський держуніверситет і аспірантуру Московського держуніверситету, відкрив у людини молекулярний каскад, спрямований на захист від патогенів, тоді як Хоффман відкрив подібний каскад у плодової мушки дрозофіли, а Бойтлер — у миші. До речі, вагомий внесок у роботи лабораторії Бойтлера зробив російський вчений Олександр Полторак. Зазначимо, що за тиждень до оголошення рішення Нобелівського комітету Меджитов, Хоффман і Бойтлер були нагороджені за внесок у пояснення механізмів роботи імунної системи премією Шоу в Гонконгу (Shaw prize), яку називають азіатською Нобелівською премією.

Третім лауреатом став **Ральф Стейнман, або Ральф Ма́рвін Ста́йнман** (англ. *Ralph Marvin Steinman*). У 1973 р. він відкрив так звані дендритні клітини. Учений висловив гіпотезу, що ці клітини здатні активувати Т-лімфоцити, що відіграють ключову роль у формуванні набутого (адаптивного) імунітету та імунологічної пам'яті. Цю гіпотезу дослідник підтвердив у дослідах на культу-

рах клітин. Спочатку наукова спільнота не сприйняла цих результатів, але вчений продемонстрував скептикам, що саме дендритні клітини володіють унікальною здатністю активувати Т-лімфоцити. Крім того, згодом він показав, що дендритні клітини отримують сигнали від вродженої імунної системи і на їхній основі здійснюють регуляцію набутої імунної системи, визначаючи інтенсивність імунної відповіді.

Ральф Ста́йнман (1943—2011)

Р. Стейнман народився 14 січня 1943 р. у Канаді, в Монреалі. Там закінчив школу й Університет МакГілла, а в 1963 р. переїхав до США і продовжив освіту на медичному факультеті Гарвардського університету в Бостоні. Через два роки після захисту в 1968 р. дисертації молодий учений пішов працювати в Рокфеллерівський університет в Нью-Йорку. З цією всесвітньо відомою науковою установою, що спеціалізується на фундаментальних дослідженнях з біології та медицини, пов'язана вся подальша діяльність Стейнмана — тут він виконав роботи, удостоєні Нобелівської премії, тут у 1988 р. став професором, а в 1998 р. очолив Центр імунології й імунних хвороб.

На жаль, вчений помер 30 вересня 2011 р. від раку підшлункової залози за три дні до оголошення про присудження премії.

Відкриття, що зробили відзначені Нобелівською премією вчені, є важливими не лише для подальшого розвитку науки, а й для розроблення нових підходів до лікування та профілактики різних захворювань. Оскільки вроджений імунітет відіграє важливу роль у патогенезі атеросклерозу та інших судинних захворювань, то не стало несподіванкою, що толл-подібні рецептори здатні впливати на процеси, які відбуваються при атеросклерозі. Результати попередніх досліджень свідчили, що рецептори TLR1, TLR2, TLR4 експресуються в атеросклеротичних бляшках мишей і людини, а також беруть участь у патогенезі атеросклерозу в мишей. Подальше дослідження ролі TLR у розвитку атеросклерозу дало змогу розробити нові препарати для протистояння цьому захворюванню.

Сьогодні активно розвивається напрям створення вакцин для внутрішньошкірної або епікутанеозної (поверхневої шкірної) імунізацій, спрямованих на активацію певних субпопуляцій дендритних клітин. Відомості про те, що клітини Лангерганса здатні ініціювати Т-клітинну імунну відповідь, відкривають можливості для підсилення цієї відповіді у випадку спрямування антигенів до рецепторів ендоцитозу на поверхні цих клітин. Такий підхід може дати неабиякі результати в лікуванні онкологічних та інфекційних захворювань різної

етіології. Антигени пухлин чи інфекційних агентів можуть бути спрямовані до рецепторів-мішеней на дендритних клітинах, наприклад, CD14 або CD36, здатних підсилювати імунну відповідь.

Сьогодні більшість досліджень ефективності застосування цих підходів виконують на мишачих експериментальних моделях, але поступово починають залучати і людські. Першим важливим кроком подібних досліджень є детальна характеристика субпопуляцій дендритних клітин шкіри, які активуються антитілами проти DEC-205, лангерину або інших антигенів, а кінцевою метою є впровадження отриманих результатів у клінічну практику та проведення клінічних випробувань нового покоління вакцин. В Україні подібні дослідження також виконують, наприклад, в Інституті онкології НАМН України. Вони спрямовані на розроблення вакцин на основі антиген-презентуючих дендритних клітин в імунотерапії хворих зі злоякісними пухлинами.

Наостанок хочеться зазначити, що світ чекає від науки нових досягнень, а здобуті на сьогодні знання невдовзі стануть основою майбутніх відкриттів. Імовірно, що саме дослідження в галузі імунології відіграють вирішальну роль у перемозі людства над інфекційними, алергічними, автоімунними та онкологічними захворюваннями.

ISSN 0372-6436 Вісник НАН України. 2012. № 1. С.49—54.

ЩО НОВОГО В ДОСЛІДЖЕННІ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН, АБО ЧИ МОЖНА З КЛІТИНИ ШКІРИ ОТРИМАТИ НОВИЙ ОРГАНІЗМ?

Нобелівська премія з фізіології або медицини, 2012

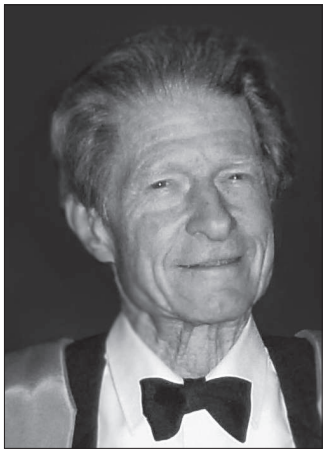
С.І. Романюк, С.В. Комісаренко

Щорічна церемонія вручення Нобелівських премій, яка традиційно проходить 10 грудня — у день смерті шведського підприємця, винахідника і філантропа — Альфреда Нобеля (1833—1896), засновника Нобелівського фонду, привертає неабияку увагу не лише науковців, а й широкого загалу, адже ця нагорода є беззаперечним свідченням визнання значущості роботи вченого світовою науковою спільнотою. Нобелівську премію з фізіології або медицини в 2012 р. було присуджено за «відкриття можливості перепрограмування зрілих (диференційованих) клітин у плюрипотентні».

Ключові слова: *стовбурові клітини, плюрипотентність, iPS-клітини, Нобелівська премія.*

8 жовтня 2012 р. у Стокгольмі розпочався 111-й Нобелівський тиждень, і традиційно першими було оголошено лауреатів премії з фізіології або медицини — однієї з найпрестижніших нагород у галузі біології. За правилами Нобелівського фонду, імена провідних світових учених, що претендували на цю премію, оприлюднять лише через 50 років. Утім серед претендентів експерти називали Чарльза Девіда Елліса та Майкла Грюнштейна (США), які займаються вивченням гістонів — протеїнів, що відповідають за тривимірну упаковку молекул ДНК у хромосомах; Річарда О. Хайнса і Ерккі Руослахті (США) та Масатоші Такейчі (Японія), які відкрили молекули клітинної адгезії, а також Франца-Ульріха Хартля (Німеччина) й Артура Горвіча (США), які дослідили механізм укладання молекул протеїнів у певну тривимірну структуру, необхідну для їх функціонування. Проте цьогорічними лауреатами Нобелівської премії з фізіології або медицини (200-м і 201-м за підрахунком) стали британець Джон Гердон (*John Bertrand Gurdon*) із Гердонівського інституту (Gurdon Institute) в Кембриджі та японець Шінья Яманака (*Shinya Yamanaka*), співробітник Інституту серцево-судинних захворювань Ґледстоуна (Gladstone Institute of Car diovas cular Di sease), професор Університету Кіото (Kyoto University). Як зазначено в офіційному формулюванні Нобелівського комітету, премію присуджено «за відкриття можливості перепрограмування диференційованих клітин у плюрипотентні».

Сэр Джон Ге́рдон (*англ. Sir John Gurdon*) народився 2 жовтня 1933 р. у м. Діппенхол (Велика Британія). Після навчання в Ітонському коледжі він вступив до Крайст-Черч коледжу Оксфордського університету, де спочатку вивчав антикознавство, але згодом зацікавився зоологією. Після здобуття PhD-ступеня Дж. Гердон продовжив наукову діяльність у Каліфорнійському технологічному інституті. Протягом 1962—1971 рр. він працював на кафедрі зоології



Джон Гердон (1933)

Оксфордського університету, а в 1971—1983 рр. — у Лабораторії молекулярної біології Кембриджського університету. З 1983 р. і донині він є співробітником кафедри зоології Кембриджського університету. У 1989 р. Дж. Гердон заснував у Кембриджі Інститут клітинної біології та онкології та до 2001 р. обіймав посаду його керівника. Упродовж 1991—1995 рр. був членом Наффілдської ради з біоетики, а в 1994—2002 рр. — магістром Коледжу Магдалени Кембриджського університету.

Шінья (Сін'я) Яманака народився 4 вересня 1962 р. у м. Осака (Японія). У 1987 р. він здобув вищу медичну освіту в Університеті Кобе за спеціальністю «ортопедія». В 1993 р. одержав ступінь доктора в галузі фармакології у Вищій школі Університету Осаки. Упродовж 1993—1996 рр. Ш. Яманака був співробітником Інституту серцево-судинних захворювань Ґледстоуна (Сан-Франциско, США), в 1996—1999 рр. — Медичної школи Університету Осаки, а в 1999—2005 рр. — Інституту науки і технологій Нари (Японія). З 2005 р. працює в Інституті передових медичних наук в Університеті Кіото (Японія). Сьогодні Шінья Яманака — директор Центру дослідження і застосування iPS-клітин Університету Кіото та провідний дослідник Інституту серцево-судинних захворювань Ґледстоуна.

У 2009 р. Джон Гердон і Шінья Яманака удостоїлися почесної премії Альберта Ласкера (її ще називають «другою, американською, Нобелівською премією з медицини») у номінації Basic. Престижну ізраїльську премію Вольфа з медицини Дж. Гердон отримав у 1989 р., а Ш. Яманака — в 2011 р. Крім безлічі інших премій, одержаних обома вченими, Ш. Яманака також є лауреатом престижної «технологічної» премії Millenium. У 1995 р. Джон Бертран Гердон здобув титул лицаря-бакалавра, а в 2004 р. Кембриджський Інститут клітинної біології та раку при благодійних фондах Wellcome Trust і Cancer Research UK було перейменовано в Гердонівський інститут. Що ж за прорив у науці зробили ці вчені, які належать до різних поколінь, і що означає «перепрограмування дифференційованих клітин у плюрипотентні»?

Кожний організм складається з великої кількості соматичних (нестатевих) клітин, які можуть істотно різнитися за морфологією та функціями, наприклад клітини нервової та імунної систем, печінки, м'язів, кісток, крові, нирок, волосся та інших тканин чи органів, — усі ці клітини різні, але містять абсолютно однакову генетичну інформацію (мають однакову послідовність основ у ДНК). Як це можливо? Виявляється, що відмінності між соматичними клітинами різних типів зумовлені тим, що в різних типах клітин експресуються різні гени. Як виникають ці відмінності в експресії генів?

Під час ембріонального розвитку з кожним поділом зиготи — єдиної клітини, з якої розвивається багатоклітинний організм, ці відмінності стають усе помітнішими. Причиною їх виникнення є те, що клітини зародка опиняються в різних умовах: щільність різних речовин у різних ділянках зиготи неоднако-

Сі́н'я Яма́на́ка (1962)

ва, на клітини в різних ділянках зародка по-різному впливають певні фізичні параметри, з часом самі клітини починають впливати одна на одну, виділяючи ті чи інші біологічно активні речовини. Поступово клітини утворюють три шари — зовнішній (ектодерму), серединний (мезодерму) і внутрішній (ентодерму). Потім і в цих трьох шарах клітини починають усе сильніше відрізнятися одна від одної і врешті решт утворюють органи і тканини організму. Отже, абсолютно недиференційована зигота дає початок термінально диференційованим (тобто цілковито спеціалізованим) клітинам, які вже не можуть ділитися і з часом старіють та відмирають.

Джерелом нових диференційованих клітин є так звані стовбурові клітини — незрілі клітини, здатні до самовідновлення та розвитку в спеціалізовані клітини організму. Цей термін у 1909 р. запропонував видатний російський учений Олександр Олександрович Максимов. Він передбачив існування таких клітин крові, що здатні дати початок кільком іншим типам клітин. У 1960-х роках канадці Джеймс Тілл і Ернст МакКаллох, досліджуючи процес гемопоезу, вперше виявили стовбурові клітини. В 1981 р. американський біолог Мартін Еванс уперше виділив недиференційовані плюрипотентні стовбурові клітини із зародка миші, за що в 2007 р. був удостоєний Нобелівської премії. В 1998 р. американцям Джону Герхарту і Джеймсу Томпсону вдалося одержати і розмножити культури ембріональних стовбурових клітин, здатних розвиватися в різні зрілі клітини й органи. Між іншим, перша в СРСР наукова конференція, присвячена стовбуровим клітинам, відбулася у Києві у 1977 р. на базі Інституту проблем онкології АН УРСР за ініціативою академіків АН УРСР Р.Є. Кавецького та З.А. Бутенко, а одні з перших публікацій у світі з морфології стовбурової клітини також належали українським ученим [1, 2].

Залежно від джерела одержання стовбурові клітини можна розподілити на три групи: ембріональні, які отримують із внутрішньої клітинної маси бластоцисти на ранній стадії розвитку зародка; фетальні — з плодового матеріалу після аборту; постнатальні, що є стовбуровими клітинами дорослого організму. Використання ембріонів для одержання ембріональних і фетальних стовбурових клітин пов'язане зі значними етичними проблемами. Етичний аспект застосування постнатальних стовбурових клітини не викликає серйозної полеміки, але вони мають меншу потентність.

Найбільше стовбурових клітин у новонароджених немовлят; з віком їх кількість поступово зменшується, однак вони продовжують функціонувати навіть у глибокій старості. Для кожної тканини існує депо стовбурових клітин, їхня кількість пропорційна швидкості оновлення клітин цієї тканини, тобто стовбурових клітин шкіри набагато більше, ніж стовбурових клітин нервової системи.

Найуніверсальніші стовбурові клітини, наприклад зигота і бластомери, — клітини, що утворилися під час кількох перших поділів зиготи, можуть дати

початок цілому організму. Такі клітини називають тотипотентними стовбуровими клітинами. Менш універсальними є плюрипотентні стовбурові клітини, що утворюються в декількох наступних зародкових поділах (до початку поділу на зародкові листки), — з них можуть виникнути всі клітини організму, крім плаценти. Спеціалізовані мультипотентні стовбурові клітини можуть започаткувати клітини різних типів, проте не всіх. Поступове диференціювання нащадків мультипотентних клітин приводить до появи олігопотентних (тих, з яких розвивається лише невелика кількість типів клітин) і уніпотентних (що дають початок тільки одному типу) клітин.

У кожному організмі під час розвитку відбувається процес поступового диференціювання клітин і втрати їхньої поліпотентності, тому, як вважали раніше, шляху назад немає. Однак Джон Гердон і Шінья Яманака завдяки своїй наполегливій праці довели, що це не так, за що вони власне й отримали Нобелівську премію.

Експерименти в галузі клонування ще в 1914 р. проводив німецький учений Ганс Шпеман, який уперше пересадив ядро з однієї клітини до іншої. У 1940-х роках російський ембріолог Георгій Вікторович Лопашов розробив метод пересадження клітинних ядер у яйцеклітину жаби, однак у числі інших радянських дослідників він зазнав переслідувань з боку влади і не зміг продовжити цю роботу. Джон Гердон удосконалив методику Г.В. Лопашова та розвинув дослідження трансплантації ядер у клітинах бластул, проведені Р. Бріггсом і Т. Кінгом у 1952 р. Робота, виконана Дж. Гердоном в Оксфордському університеті в 1958 р. і опублікована в 1962 р., давно вже стала класичною і наведена в будь-якому серйозному підручнику з ембріології [3].

Метою експерименту Гердона було з'ясувати, чи несе ядро диференційованої клітини достатньо інформації, щоб дати початок новому організму. Для цього він зруйнував опроміненням ядро яйцеклітини шпоркової жаби (Xenopus laevis) і пересадив у таку яйцеклітину ядро диференційованої клітини (з епітелію кишечника пуголовка). Подібні експерименти проводили раніше й інші дослідники, проте саме Дж. Гердону вдалося одержати з такої «химерної» яйцеклітини здорового пуголовка. Більше того, у двох відсотках випадків пуголовки перетворювалися на дорослих жаб.

Цим експериментом було доведено, що геном соматичної клітини містить усю інформацію, яка є в яйцеклітині, а отже, диференціювання клітин не пов'язане з деградацією частини генів. Результати роботи Дж. Гердона спочатку були сприйняті зі скептицизмом, але після підтвердження вони докорінно змінили тогочасні уявлення про диференціювання клітин: виявилося, що диференційована клітина може відновити плюрипотентність, тобто процес диференціювання може бути зворотним. Відкриття Дж. Гердона спричинило лавину досліджень. З цього експерименту, зокрема, беруть початок усі роботи з клонування тварин. До речі, термін «клон» уперше використав відносно тварин британський учений Джон Холдейн у 1963 р., описуючи результати Дж. Гердона.

Подальші роботи Джона Гердона були присвячені дослідженню міжклітинних сигнальних чинників, задіяних у диференціюванні клітин, а також вивченню механізмів відновлення плюрипотентності в експериментах із трансплантації ядер, зокрема ролі метилування ДНК у цьому процесі.

Цікавим збігом є той факт, що в 1962 р., коли Дж. Гердон опублікував свою «нобелівську» статтю, народився Шінья Яманака, який через 40 років зробив наступний революційний крок у дослідженнях, розпочатих Дж. Гердоном.

Експерименти Джона Гердона з клонування жаб і народження в 1996 р. вівці Доллі — першого ссавця, клонованого зі зрілої соматичної клітини [4], довели, що соматичні клітини можуть перетворитися на ембріональні стовбурові в разі перенесення генетичного матеріалу соматичної клітини в незапліднене яйце, що якимось загадковим чином повертає хромосоми до вихідного стану, в якому вони перебували у щойно запліднений яйцеклітині. Проте залишалося невідомим, які чинники в яйці зумовлюють цей процес і чи можливо перепрограмувати диференційовані соматичні клітини в плюрипотентні без використання яйця.

У 2006 р. Ш. Яманака зумів перетворити клітину шкіри (диференційований мишачий фібробласт) на плюрипотентну стовбурову клітину без пересадження ядра [5]. Одержані ним клітини назвали індукованими плюрипотентними стовбуровими клітинами (iPSC). Як же вдалося це зробити?

З часів експериментів Гердона було розроблено методи генної інженерії, що дали змогу вставляти в клітину ген, який успішно в ній експресувався, і таким чином відбувався синтез протеїну, кодованого цим геном. Одним зі способів доставки гена в клітину є використання вірусів (наприклад, ретровірусів), в яких частина генетичного матеріалу замінена на гени необхідних протеїнів. Після зараження клітини цим вірусом відбувається вбудовування вірусної ДНК у геном клітини і синтез відповідних протеїнів, які, в свою чергу, можуть впливати на фізіологічні процеси в клітині й експресію інших генів. Завдяки створенню таких методик і стало можливим одержання iPSC.

Шінья Яманака займався вивченням механізмів підтримання плюрипотентності в ембріональних стовбурових клітинах (ЕСК) миші. Він виявив понад 1000 генів, що характеризувалися підвищеною активністю в ЕСК, і для дослідження їхньої ролі вирішив вставити їх у різних комбінаціях в диференційовані клітини. Звичайно, перевірити всі комбінації було неможливо, тим більше, що спрацювати могла будь-яка з них. Тому пошук обмежили кількома десятками генів, найімовірніших теоретично. Після тривалих експериментів Ш. Яманака довів, що для перепрограмування диференційованої клітини в плюрипотентну стовбурову достатньо підвищення експресії всього чотирьох генів: Oct3/4, Sox2, Klf4 і c-Myc. Крім того, він показав, що одержані плюрипотентні стовбурові клітини можна змусити знову диференціюватися в клітини різних тканин. У 2007 р. Ш. Яманака отримав повністю епігенетично перепрограмовані iPS-клітини миші, з яких вдалося виростити дорослих особин [6]. У 2009 р. інші дослідники одержали тетраплоїдні iPS-клітини, що за своїми властивостями більше нагадували ЕСК і також були здатні розвинутись у дорослих мишей [7].

Після того, як Ш. Яманака отримав позитивні результати в експериментах із клітинами мишей, він випробував цю методику для одержання iPSC із клітин шкіри людини. Паралельно над цією проблемою працювала група Джеймса Томсона з Вісконсіну (Медісон, США). Лабораторії Яманаки і Томсона були першими, які одержали iPS-клітини людини [8, 9]. Для цього Ш. Яманака

скористався комбінацією з 4 генів, яку він раніше застосовував для отримання iPS-клітин миші (Myc, Oct4, Sox2 та Klf4), тоді як Дж. Томсон використав дещо іншу комбінацію (Lin28, Nanog, Oct4 та Sox2). Певний внесок у виконання цієї роботи зробив український учений Максим Водяник, який працював у лабораторії Дж. Томсона. Він починав дослідження з моноканальних антитіл проти фактора некрозу пухлин людини в Інституті педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України.

Відкриття Дж. Гердона і Ш. Яманаки було справжнім проривом у розумінні механізму диференціювання клітин. Воно надало дослідникам фантастичні можливості та відкрило значні перспективи застосування iPS-клітин у багатьох галузях медицини. Звичайно, перше, що спадає на думку, — можливість використовувати iPSC для відновлення старих та ушкоджених органів і тканин. Якщо буде розроблено методику штучного «вирощування» тканин людського тіла, відбудеться революція у трансплантології, адже клітини, одержані з iPSC, генетично ідентичні клітинам певного організму і не спричиняють імунне відторгнення трансплантатів. Такі клітини можна застосовувати для боротьби з дегенеративними захворюваннями, наприклад із хворобою Паркінсона й діабетом I типу, для підвищення ефективності операцій на серці та з видалення пухлин (зокрема, підшлункової залози чи печінки) і, звісно, для лікування опіків, коли успішна трансплантація шкіри є чи не єдиним шансом на порятунок. Крім того, раніше робота зі стовбуровими клітинами людини викликала етичні проблеми і в багатьох країнах була або заборонена, або пов'язана з серйозними юридичними труднощами через те, що єдиним джерелом цих клітин були людські ембріони, які знищували для виділення ЕСК. Ш. Яманака відкрив спосіб одержання у будь-якої кількості плюрипотентних стовбурових клітин і зняв ці обмеження. Проте поки що рано говорити про припинення використання ЕСК, оскільки існує багато перешкод, які необхідно подолати на шляху до повного розуміння явища плюрипотентності й отримання iPS-клітин, придатних для лікування людей.

Річ у тім, що процедури, які використовують для перепрограмування клітин, можуть спричинювати мутації або інші геномні порушення, що робить їх непридатними для клітинної терапії. З метою введення генів у геном клітин при одержанні iPSC застосовують ретровіруси, які вставляють ці гени навмання, іноді зумовлюючи мутації, що перетворюють нормальні клітини на злоякісні. Один із генів (c-Myc), який використав Ш. Яманака, насправді є геном раку. В його експериментах 20 % мишей, що розвинулися з iPS-клітин, захворіли на рак. Тому впродовж останніх років було розпочато дослідження, завдяки результатам яких в майбутньому використання клітин, одержаних з iPSC, буде безпечним для лікування пацієнтів. У 2008 р. у лабораторії Ш. Яманаки отримали iPS-клітини без використання вірусних векторів, що інтегруються в ДНК [10]. Нині триває розроблення нових методик одержання iPS-клітин за допомогою не ретровірусів, а хімічних реактивів або безпечніших вірусів.

На сьогодні клітини, отримані з iPSC, ще не придатні для заміни ушкоджених клітин чи тканин у пацієнтів, однак вони є ідеальними як модельна система для вивчення причин виникнення захворювань, розроблення методів їх лікування та нових медичних препаратів. Наприклад, дослідники можуть

одержати iPSC із клітин людини з хворобою Альцгеймера і перетворити їх на нейрони в чашці Петрі (такий підхід також називають «захворювання в чашці Петрі»). Це дає змогу досліджувати патогенез і розробляти методи профілактики та лікування цього захворювання. iPSC можна також використати для токсикологічного тестування та підвищення ефективності ліків. Крім того, можна проводити скринінг лікарських препаратів і обирати найефективніше й економічно обґрунтоване лікування для кожного конкретного пацієнта.

Нині вже одержано клітинні моделі різних захворювань: аміотрофічного латерального склерозу (ALS), спінальної м'язової атрофії (SMA), сімейної гіперхолестеринемії, деяких серцево-судинних захворювань (наприклад, синдрому Тімоті) [11]. Використання моделей, базованих на iPS-клітинах, дає можливість з'ясувати природу хвороби на молекулярному рівні. Наприклад, вивчення сімейної дисаутономії на такій моделі дало змогу відкрити новий фактор — кінетин, який відіграє важливу роль у виникненні цього захворювання [12]. Дослідження останніх років спрямовано на з'ясування механізму перепрограмування соматичних клітин у iPSC. Показано, що під час такого перепрограмування відбувається стирання соматичних епігенетичних підписів, які представлені метилуванням ДНК або модифікацією гістонів, у локусі плюрипотентності й створення альтернативних епігенетичних міток ембріональних стовбурових клітин. Зокрема, встановлено, що для одержання iPSC два фактори, Parp1 і Tet2, мають реалізувати такі епігенетичні модифікації в локусах Nanog та Esrrb [13].

Звичайно, розроблення ефективних і безпечних методик перетворення соматичних клітин на плюрипотентні потребує значних зусиль і подальших тривалих досліджень, проте результати експериментів останніх років дають надію, що досягнення успіху в цьому напрямі є можливим і навіть досить швидким.

WHAT'S NEW IN STEM CELL RESEARCH OR IS IT POSSIBLE TO GET A NEW ORGANISM FROM SKIN CELLS?

The Nobel prize in physiology or medicine, 2012

The annual ceremony of the Nobel Prizes awarding,which traditionally takes place on December 10 — the day when Swedish entrepreneur, inventor and philanthropist,the founder of Nobel Foundation Alfred Bernhard Nobel (1833–1896) passed away, usually attracts a lot of attention — of scientific community but also of general publics.

This happens because the Nobel Prize is by all means the doubtless recognition of the Prize winner's contribution into the world science. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012 was awarded «for the discovery that mature cells can be reprogrammed to become pluripotetnt».

REFERENCES

1. Butenko Z.A., Komissarenko S.V., Gruzov M.A. et al. Immunoelectronmicroscopy of the bone marrow mononuclears labeling with rabbit anti-mouse brain serum using peroxidase-antiperoxidase method. *Blut.* 1983. Vol. 47, N 6. P. 343—349.

2. Зак К.П., Бутенко З.А., Комиссаренко С.В. и др. Ультраструктура мононуклеаров костного мозга, маркированных антистволовоклеточной сывороткой с помощью РАР-метода. *Гематология и трансфузиология*. 1983. Т. 28, № 2. С. 38—42.

3. Gurdon J.B. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*. 1962. N 10. P. 622—640.

4. Wilmut I., Schnieke A.E., McWhir J. et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*. 1997. Vol. 385, N 6619. P. 810—813.

5. Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006. N 126. P. 663—676.

6. Okita K., Ichisaka T., Yamanaka S. Generation of germ line-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2007. Vol. 448. P. 313—317.

7. Zhao X.Y., Li W., Lv Z. et al. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation. *Nature*. 2009. Vol. 461, N 7260. P. 86—90.

8. Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M. et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007. Vol. 131, N 5. P. 861—872.

9. Yu J., Vodyanik M.A., Smuga-Otto K. et al. Induced plu ripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*. 2007. Vol. 318, N 5858. P. 1917—1920.

10. Okita K., Nakagawa M., Hyenjong H. et al. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science*. 2008. Vol. 322, N 5903. P. 949—953.

11. Onder T.T., Daley G.Q. New lessons learned from di sease modeling with induced pluripotent stem cells. *Current Opinion in Genetics and Development*. 2012. Vol. 22, N 5. P. 500—508.

12. Lee G., Papapetrou E.P., Kim H. et al. Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs. *Nature*. 2009. Vol. 461, N 7262. P. 402—406.

13. Doege C.A., Inoue K., Yamashita T. et al. Early-stage epigenetic modification during somatic cell reprogramming by Parp1 and Tet2. *Nature*. 2012. Vol. 488, N 7413. P. 652—655.

ISSN 0372-6436 Вісник НАН України. 2013. № 1. С. 52—58.

НАВІЩО ПОТРІБНІ РЕЦЕПТОРНІ ПРОТЕЇНИ НА МЕМБРАНАХ КЛІТИН, АБО ЯК РІЗНІ КЛІТИНИ ОРГАНІЗМУ СПРИЙМАЮТЬ НАВКОЛИШНЄ СЕРЕДОВИЩЕ?

Нобелівська премія з хімії, 2012

С.І. Романюк, С.В. Комісаренко.

Лауреатами Нобелівської премії з хімії за 2012 р. стали американські вчені Роберт Лефковіц і Брайан Кобилка «за дослідження рецепторів, зв'язаних з G-протеїнами» (GPCR). GPC-рецептори на поверхні спеціалізованих клітин виконують роль структур розпізнавання специфічних сигналів із середовища, що оточує клітину. Взаємодією з різноманітними позаклітинними ефекторами: гормонами, нейромедіаторами, біоактивними пептидами, іонами, ліками тощо ці рецептори контролюють велику кількість надзвичайно важливих для функціонування організму процесів. GPCR — це родина подібних за структурною організацією та функцією рецепторів мембран евкаріотичних клітин, які мають сім трансмембранних доменів і передають усередину клітини сигнал завдяки активації GTP-зв'язаних протеїнів (G-протеїнів). Останні активують каскад внутрішньоклітинних реакцій, наслідком яких є відповідь клітини на подразник (чи певний фізіологічний ефект). Дослідження Р. Лефковіца і Б. Кобилки стали фундаментальним внеском у визначення просторової структури GPC-рецепторів та вивчення механізмів їхнього функціонування.

Ключові слова: *G-протеїни, рецептори GPCR, Нобелівська премія, Лефковіц, Кобилка.*

Сьогодні найцікавіші та найперспективнішіші наукові роботи виконуються, здебільшого, на стику або, правильніше, «на перекриттях» традиційних дисциплін, однак Нобелівські премії досі присуджують у чітко розмежованих галузях медицини чи фізіології, фізики та хімії. Намагаючись утримуватися в цих жорстких рамках, Нобелівський комітет усе частіше призначає премію з хімії за досягнення в галузі біохімії, що безпосередньо стосуються фізіології та медицини. Так, 10 жовтня 2012 р. було оголошено, що цьогорічну Нобелівську премію з хімії отримали два американські професори — Роберт Лефковіц з Університету Д'юка в Північній Кароліні та Брайан Кобилка зі Стенфордського університету в Каліфорнії — за дослідження рецепторів, зв'язаних з G-протеїнами (GPCR — G-protein-coupled receptors). Обидва вчені мають медичну освіту. За відкриття та вивчення самих G-білків у 1994 р. Альфреду Гілману та Мартіну Родбеллу було присуджено Нобелівську премію з фізіології або медицини.

Роберт Лефковіц (англ. *Robert Lefkowitz*) народився в 1943 р. у Нью-Йорку в родині єврейських емігрантів з Польщі. У 1962 р. він здобув ступінь бакалавра мистецтв у Колумбійському коледжі при Колумбійському університеті Нью-Йорка, а в 1966 р. у Коледжі загальної терапії та хірургії при тому самому університеті — ступінь доктора медицини (MD). З 1968 до 1970 р. Р. Лефковіц пра-

Роберт Лефковіц (1943)

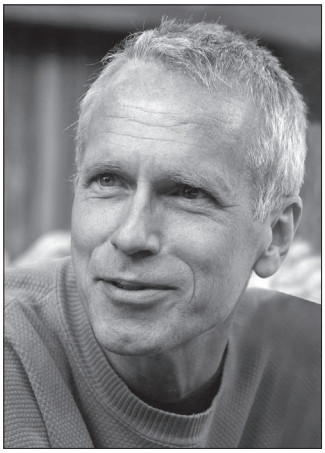
цював у системі Національних інститутів здоров'я та в Головному госпіталі Массачусетсу в Бостоні (MGH), у 1973—1976 рр. — в Американській кардіологічній асоціації (American Heart Association). З 1973 р. він співробітник Університету Д'юка, а з 1976 р. — Медичного інституту Говарда Х'юза. У 2007 р. Р. Лефковіца удостоїли Національної медалі науки (National Medal of Science), яку вручають за указом президента США, й отримав азіатський аналог Нобелівської премії — премію Шоу (Shaw Prize).

Брайан Кобилка (англ. *Brian Kobilka*) народився в 1955 р. у штаті Міннесота в родині з німецько-польським корінням. Він здобув ступінь бакалавра з біології та хімії в Міннесотському університеті, потім ступінь доктора медицини (MD) на медичному факультеті Єльського університету. Після закінчення інтернатури у Вашингтонському університеті працював у лабораторії Р. Лефковіца, а в 1987—2003 рр. — у Медичному інституті Говарда Х'юза. Нині Б. Кобилка керує лабораторією в Стенфордському університеті. У 2007 р. журнал «Science» назвав його дослідження структури GPCR одним із проривів року.

GPC-рецептори — це ціла родина подібних за структурною організацією та функцією рецепторів мембран евкаріотичних клітин, які мають сім трансмембранних α-спіралізованих доменів і які передають усередину відповідної клітини сигнал завдяки активації GTP-зв'язаних протеїнів (G-протеїнів), що запускають каскад внутрішньоклітинних реакцій, наслідком яких є відповідь клітини на певний подразник (чи певний фізіологічний ефект). GPCR називають також серпентиновими рецепторами, оскільки на схемі перетинання плазматичної мембрани клітини GPCR протеїнами розміщення доменів GPCR має «змієподібний» характер. N-кінцевий сегмент рецептора знаходиться на зовнішній стороні плазматичної мембрани клітини, а C-кінцевий — зорієнтований усередину клітини. У геномі людини знайдено близько 800 генів, що кодують різні GPCR. Функція 150 з них залишається невідомою, решта — розпізнають, тобто специфічно взаємодіють з різноманітними лігандами: гормонами, нейромедіаторами, біоактивними пептидами, іонами тощо. Зокрема, ці рецептори реагують на такі біологічно активні речовини, як хемокіни, гістамін, серотонін, адреналін, дофамін, опіоїди, канабіноїди, кофеїн і багато інших. Тисячі одорантних рецепторів допомагають ссавцям розпізнавати запахи. Отже, GPCR на поверхні спеціалізованих клітин виконують роль структур розпізнавання специфічних сигналів із середовища, що оточує клітину.

Велика кількість надзвичайно важливих для функціонування організму процесів контролюються GPCR, наприклад регулювання кров'яного тиску та серцебиття, реагування на небезпеку, відчуття болю чи ейфорії, сприйняття зорових образів або запахів, ембріональний розвиток, навчання та пам'ять тощо. Порушення у функціонуванні GPCR спостерігаються під час багатьох

тяжких захворювань, таких як діабет, сліпота, алергія, депресія, серцево-судинні дефекти, деякі форми злоякісного росту. На фармацевтичному ринку від третини до половини всіх ліків — це препарати, дія яких спрямована на GPCR. Тому дослідження структури цих рецепторів і механізмів передавання ними сигналів у клітинах-мішенях важливі для глибшого розуміння причин багатьох захворювань і створення ефективних ліків з мінімальною побічною дією.



Брайан Кобилка (1955)

Вивчення GPC-рецепторів розпочалося ще в XIX ст., точніше в 1870 р., коли німецький учений Вільгельм Кюне виявив і виділив родопсин — рецептор, що реагує на світло. Подальше дослідження механізму регулювання скорочення м'язових клітин під впливом певних речовин дало змогу на початку 70-х років XX ст. дійти висновку, що існує деяка рецепторна субстанція, яка реагує на позаклітинні молекули і передає сигнали всередину клітини.

Метою роботи Роберта Лефковіца став пошук цієї рецепторної субстанції, для цього він використав радіоактивно мічений адреналін. На той момент про клітинні рецептори було відомо вже досить багато. У 1960-х роках було виявлено, що дія адреналіну на клітини опосередковується особливим типом протеїнів — G-протеїнами, які здатні гідролізувати гуанозинтрифосфат (GTP), чим зумовлюють у клітині певні каскади реакцій. Однак як саме це відбувається, залишалося невідомим. На початку 70-х років XX ст. кілька GPC-рецепторів було ідентифіковано, проте виділити й дослідити їхню структуру (за винятком родопсину) було неможливо через украй малу їх кількість на клітинах.

Після 10 років рутинних експериментів із радіоактивно міченим адреналіном у 1980 р. Р. Лефковіц і його команда запропонували найімовірніший механізм дії адреналінових рецепторів — «теорію трійчастого комплексу». За цією теорією з внутрішнього боку мембрани до адренорецептора, що міститься в мембрані клітини, прилягає G-протеїн, який складається з трьох субодиниць — α, β, γ — і зв'язаний з молекулою гуанозиндифосфату (GDP). У разі зв'язування адреналіну з рецептором в останньому відбуваються складні конформаційні перебудови, що зумовлюють спочатку міцне приєднання G-протеїну, а потім його активацію та відокремлення. Під час активації молекула гуанозиндифосфату (GDP) фосфорилюється, утворюючи молекулу гуанозинтрифосфату (GTP), і G-протеїн розпадається на дві частини: α-субодиниця—GTP і β-субодиниця—γ-субодиниця, які активують вторинні посередники і викликають каскади реакцій, що змінюють метаболізм клітини. Потім α-субодиниця гідролізує GTP до GDP, деактивується, об'єднується з β—γ-димером, і цілий G-протеїн знову приєднується до адреналінового рецептора.

Для того щоб з'ясувати, як адреналіновий рецептор зв'язується з лігандом, як саме відбувається активація G-білка, потрібно одержати рецептор у значній

кількості, знайшовши його ген і клонувавши його. Це дуже складне на той час завдання Р. Лефковіц поставив перед Брайаном Кобилкою — молодим співробітником своєї лабораторії. В 1986 р. Б. Кобилка разом з колегами частинами розшифрував амінокислотну послідовність β-адренорецептора, зібравши зі шматочків цілий ген, зміг його клонувати і навчився виділяти рецептор у великих кількостях.

Виявилося, що адренорецептор складається із семи трансмембранних α-спіралей і дуже подібний до родопсину, структуру якого дослідили завдяки роботам кількох лабораторій, зокрема радянських учених під керівництвом академіка Ю.А. Овчиннікова. Це дало змогу зробити припущення, що за принципом трійчастого комплексу працюють не лише β-адренорецептор і родопсин, а й більшість інших, відомих на той час, рецепторів. Така гіпотеза згодом підтвердилася, і стало зрозуміло, що передавання сигналів за допомогою GPCR є універсальним механізмом «спілкування» клітин з іншими клітинами та навколишнім середовищем. Надзвичайна гнучкість реагування клітин на зміни навколишнього середовища (зв'язування рецептора з лігандом може зумовити абсолютно різні реакції) пояснювалася різним субодиничним складом G-протеїнів і різним набором вторинних посередників.

Для вивчення механізму роботи GPCR необхідно добути інформацію про їхню просторову структуру за допомогою рентгеноструктурного аналізу. Однак тривалий час це не вдавалося зробити, незважаючи на наполегливу працю багатьох лабораторій світу, оскільки GPC-рецептори є жиророзчинними і за звичайних умов не піддаються кристалізації. У 2000 р. Кржиштоф Пальчевський та його співробітник Тетсуі Окада з Університету Кейс Вестерн Резерв (Case Western Reserve University) у Клівленді (США) успішно здійснили рентгеноструктурний аналіз родопсину [1], проте структуру адренергічного рецептора людини Брайану Кобилці та Рею Стівенсу вдалося одержати лише в 2007 р. [2—4]. Вагомий внесок у цю роботу зробив Вадим Черезов із лабораторії Рея Стівенса. Він оптимізував умови для кристалізації рецептора в ліпідній кубічній фазі з використанням холестерину. В 2007—2012 рр. у лабораторіях Б. Кобилки і Р. Стівенса визначили структури 15 різних GPCR, зокрема опіоїдних рецепторів, що відкривало можливості для розроблення нових лікарських препаратів: знеболювальних засобів, антидепресантів, ліків для боротьби з наркозалежністю та відчуттям тривоги. Однак мрією Брайана Кобилки було з'ясувати структуру комплексу активованого β-адренорецептора з G-протеїном у момент його активації, щоб мати повне уявлення про механізм дії цього рецептора. І ось у 2011 р., завдяки застосуванню методів молекулярної інженерії та стабілізації протеїну антитілами, Б. Кобилці вдалося кристалізувати сигнальний комплекс між активованим β-адренорецептором і G-протеїном, а також у співпраці з Роджером Сунахара з Мічиганського університету в Анн Арбор визначити структуру комплексу, що дало можливість докладніше розглянути процес передавання сигналу від рецептора до G-протеїну [5].

Таким чином, завдяки багаторічним зусиллям Р. Лефковіца, Б. Кобилки та інших учених людство дізналося про існування унікального сімейства рецепторів, зв'язаних з G-протеїнами, які контролюють більшість життєво важливих процесів у організмі людини і тварин. Структурні дослідження останніх п'яти

років розкрили особливості розпізнавання лігандів цими рецепторами та передавання сигналів до G-протеїнів. Проте, як завжди буває в науці, визначне відкриття, даючи відповідь на одне питання, порушує низку інших. Ученим ще належить з'ясувати, внаслідок яких відмінностей у будові цих рецепторів вони здатні розпізнавати різні ліганди, якими є особливості сигнальних каскадів від різних типів лігандів, яке значення має димеризація цих рецепторів тощо. Тому до досліджень GPCR нині прикута увага багатьох експериментаторів усього світу.

Лабораторія Брайана Кобилки вивчає фізіологічну роль і механізм дії різних типів адренергічних рецепторів з використанням ліній нокаутних мишей, позбавлених певного рецептора внаслідок штучного видалення відповідного гена, що кодує той чи інший тип рецептора. Одержані дані можуть бути корисними, зокрема, для розроблення нових підходів у лікуванні серцевої недостатності в людини. Лабораторія Роберта Лефковіца вивчає механізми зміни функціонування рецепторів під впливом лігандів, з якими вони взаємодіють (гормонів, ліків тощо), тобто природу явища десенсибілізації рецепторів, яке зумовлює стійкість до дії медичних препаратів або зниження їхньої ефективності з часом. Р. Лефковіц зі співробітниками відкрили низку протеїнів, що спричинюють десенсибілізацію рецепторів: по-перше, це кінази рецепторів, зв'язаних з G-протеїнами (GRKs) [6], які фосфорилюють активовані рецептори, змінюючи тим самим їхню структуру; по-друге — арестини, що зв'язують фосфорильовані рецептори, перешкоджаючи їх нормальному функціонуванню [7]. Виявилося, що ці протеїни не лише зумовлюють десенсибілізацію рецепторів (GPCR), а й виконують функції сигнальних протеїнів, запускаючи каскад реакцій під час блокування активації G-протеїну рецептором. Значення цього каскаду ще маловідоме й потребує подальших досліджень.

Розуміння механізму дії арестинів і GRKs може сприяти розробленню нових ліків і нових методів лікування захворювань людини. Сьогодні для терапії серцево-судинних захворювань найчастіше використовують блокатори двох типів GPCR: β-адренергічних та ангіотензинових рецепторів, які запобігають небезпечній гіперстимуляції цих рецепторів і виникненню внаслідок цього гіпертонії, стенокардії або серцевої недостатності. Однак такі блокатори повністю гальмують активність рецепторів, що спричинює небажані побічні ефекти. Натомість запуск каскаду арестинів дає змогу досягти більш гнучкої регуляції їхньої активності.

Відкриття, відзначені в 2012 р. Нобелівськими преміями з хімії, а також з фізіології або медицини, можливо, вже в недалекому майбутньому сприятимуть появі медицини нового покоління, коли безпечні ліки добиратимуть для кожного конкретного пацієнта після тестувань на клітинних моделях, одержаних з індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (iPSC), та згідно з генетичною інформацією про його GPCR. Результати досліджень нобелівських лауреатів дають надію на те, що багато невиліковних на сьогодні захворювань буде переможено, і, хто знає, можливо, давня мрія людства про вічну молодість і безсмертя виявиться не такою вже й нездійсненною.

RECEPTOR PROTEINS ON CELL MEMBRANE — WHAT ARE THEY FOR, OR HOW DIFFERENT CELLS OF THE ORGANISM PERCEIVE THE ENVIRONMENT?

The Nobel prizes in chemistry, 2012

Nobel Prizes 2012 in Chemistry were awarded to two American scientists — Brian K. Kobilka and Robert J. Lefkowitz for their work on «understanding how G-pro tein-coupled receptors (GPCR) function». GPC-receptors on the cell surface play crucial role in specific signals recognition from the cell surrounding environment. Interacting with various extracellular effecter molecules, as for example: hormones, neurotransmitters, bioactive peptides, ions, drugs etc, they control extremely large quantity of the most vital processes in the organism. GPCR is a family of eukaryotic cell plasma membrane protein receptors, which share common structure (have seven transmembrane domains) and which transmit a specific signal into the cell, due to the activation of GTP-binding proteins (G-proteins). The latter activate a cascade of intracellular signals resulting in cell response to ligand binding to GPCR (or to the specific physiological effect). B. Kobilka and R. Lefkowitz made fundamental contribution into the research of GPCR function and conformational structure.

REFERENS

1. Palczewski K., Kumasaka T., Hori T. et al. Crystal structure of rhodopsin: a G protein-coupled receptor. *Science*. 2000. Vol. 289, N 5480. P. 739–745.

2. Rasmussen S.G., Choi H.J., Rosenbaum D.M. et al. Crystal structure of the human β2-adrenergic G-protein-coupled receptor. *Nature*. 2007. Vol. 450, N 7168. P. 383—387.

3. Rosenbaum D.M., Cherezov V., Hanson M.A. et al. GPCR engineering yields high-resolution structural insights into β2-adrenergic receptor function. *Science*. 2007. Vol. 318, N 5854. P. 1266—1273.

4. Cherezov V., Rosenbaum D.M., Hanson M.A. et al. High-resolution crystal structure of an engineered human β2-adrenergic G protein-coupled receptor. *Science*. 2007. Vol. 318, N 5854. P. 1258—1265.

5. Rasmussen S.G.F., DeVree B.T., Zou Y. et al. Crystal structure of the β2-adrenergic receptor — Gs protein complex. *Nature*. 2011. Vol. 477, N 7366. P. 549—555.

6. Premont R.T., Koch W.J., Inglese J., Lefkowitz R.J. Identification, purification, and characterization of GRK5, a member of the family of G protein-coupled receptor kinases. *Journal of Biological Chemisty*. 1994. Vol. 269, N 9. P. 6832—6841.

7. Benovic J.L., Kühn H., Weyand I. et al. Functional desensitization of the isolated beta-adrenergic receptor by the beta-adrenergic receptor kinase: potential role of an analog of the retinal protein arrestin (48-kDa protein). *PNAS*. 1987. Vol. 84, N 24. P. 8879—8882.

ISSN 0372-6436 Вісник НАН України. 2013. № 2. С. 28—32.

ЯК КЛІТИНА ТРАНСПОРТУЄ СИНТЕЗОВАНІ РЕЧОВИНИ, АБО ЧИ СПРАВДІ НЕ МОЖНА ЗМІНИТИ МІСЦЕ І ЧАС ЗУСТРІЧІ «ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО ВАНТАЖУ»?

Нобелівська премія з фізіології або медицини, 2013

С.І. Романюк, С.В. Комісаренко

Лауреатами Нобелівської премії в галузі фізіології або медицини за 2013 р. стали американці Дж. Ротман і Р. Шекман та німець Т. Зюдгоф з формулюванням Нобелівського комітету «за фундаментальні відкриття механізму регулювання везикулярного трафіку — основної транспортної системи клітин».

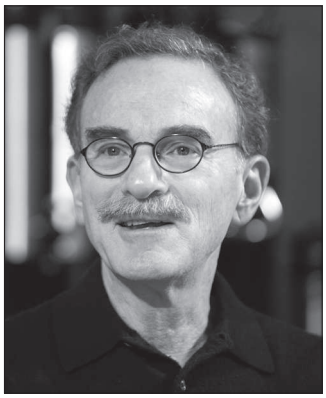
Ключові слова: *везикулярний трафік, Нобелівська премія, Дж. Ротман, Р. Шекман, Т. Зюдгоф.*

112-й нобелівський тиждень у Стокгольмі розпочався 7 жовтня 2013 р. з оголошення Нобелівським комітетом при Каролінському медичному інституті імен лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини — найпрестижнішої нагороди в галузі біології. Напередодні цієї події компанія «Thompson Reuters», проаналізувавши власну базу даних Web of Science, виокремила три групи дослідників — імовірних кандидатів на звання нобелівських лауреатів.

По-перше, на премію претендували Ховард Седар (*Howard Cedar*), Аарон Разін (*Aharon Razin*) та Адріан Берд (*Adrian P. Bird*) за роботу з вивчення ролі метилування ДНК у регуляції експресії генів, що відкриває нові можливості для подолання різних захворювань, зокрема злоякісного росту, хвороб Альцгеймера та Паркінсона.

По-друге, кандидатами на премію називали Деніела Кліонскі (*Daniel Klionsky*), Нобору Мізусіма (*Noboru Mizushima*) і Йосінорі Осумі (*Yoshinori Ohsumi*) за їхні дослідження в галузі деградації клітин і аутофагії («самопоїдання» клітин). По-третє, Нобелівську премію міг би отримати хтось із видатних учених-онкологів — Денніс Слемон (*Dennis J. Slamon*), Роберт Вайнберг (*Robert A. Weinberg*), Девід Лейн (*David C. Lane*), Пітер Холл (*Peter Hall*), Берт Фогельштейн (*Bert Vogelstein*) або Наполеон Феррара (*Napoleone Ferrara*) за дослідження молекулярних механізмів виникнення раку, а також Джозеф Шлессінджер (*Joseph Schlessinger*) і Чарльз Сойєрс (*Charles L. Sawyers*) за створення високоефективних і специфічних протиракових препаратів «Сунітиніб» та «Іматиніб» (Glivec). Крім того, на думку експертів, на премію заслуговували автори досліджень з вивчення гістонів — протеїнів, необхідних для правильного просторового укладання молекул ДНК; коротких молекул рибонуклеїнової кислоти (мікроРНК), які відіграють важливу роль у регуляції роботи генів; механізмів контролю правильного укладання білкових молекул.

Проте, усупереч прогнозам, Нобелівський комітет вирішив удостоїти нагороди вчених, які досліджували механізми міжклітинних і внутрішньоклітинних взаємодій. Лауреатами Нобелівської премії з фізіології або медицини стали троє вчених (202—204 за підрахунком): двоє американців — Ренді Шек-



Ренді Вейн Шекман (1948)

ман (*Randy W. Schekman*) і Джеймс Ротман (*James E. Rothman*) та німець Томас Зюдгоф (*Thomas C. Südhof*). За традицією, секретар Нобелівської асамблеї при Каролінському інституті в Стокгольмі Гьоран Ханссон (*Göran K. Hansson*) п'ятьма мовами оголосив мотивацію цього рішення. Вчені були удостоєні цієї престижної нагороди «за фундаментальні відкриття механізму регулювання везикулярного трафіка — основної транспортної системи клітин» [1]. Розмір Нобелівської премії на той час становив 8 млн шведських крон (приблизно 1,1 млн дол. США). Церемонія нагородження лауреатів відбулася у Стокгольмі 10 грудня, в день смерті засновника премії, шведського підприємця й винахідника Альфреда Нобеля (1833—1896).

Журналісти, присутні на церемонії оголошення лауреатів, були щиро здивовані рішенням Нобелівського комітету, оскільки практичне значення цих відкриттів не здавалося достатньо вагомим широкому загалу. Представники Нобелівського комітету звернулися до журналістів, не приховуючи розчарування з цього приводу: «Ви нагадуєте шведських студентів-першокурскників. Дивно, що ще не запитали, чи буде ця тема на іспиті». Насправді Нобелівською премією відзначили низку фундаментальних відкриттів, які допомогли з'ясувати, як саме у клітині досягається неймовірна точність транспортування молекул у певне місце й у визначений час. Хто ж ці люди — лауреати Нобелівської премії за 2013 р. — та які їх основні наукові досягнення?

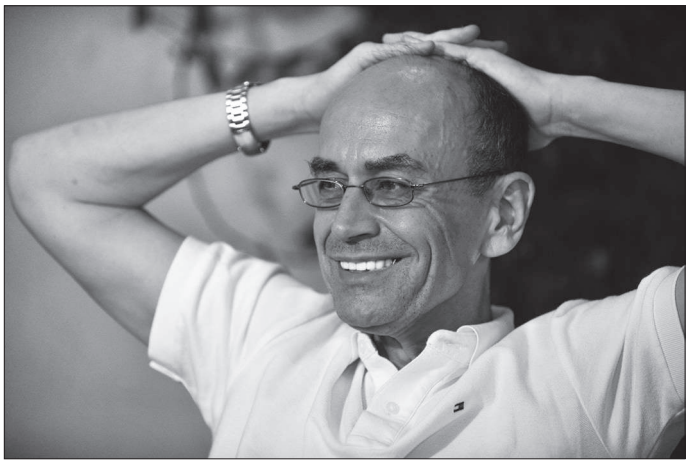
65-річний професор біохімії Каліфорнійського університету в Берклі **Ренді Вейн Шекман** (англ. *Randy Wayne Schekman*) народився 30 грудня 1948 р. у столиці штату Міннесота — місті Сент-Пол у родині інженера-електрика. Цікаво, що бабуся Р. Шекмана (з боку батька) емігрувала в США з Житомирської області України, а батьки матері — з Румунії. У 1960 р. Ренді закінчив Західну середню школу в Анахаймі (штат Каліфорнія). Ще в дитинстві він зацікавився біологією, після того, як його сестра Уенді померла від лейкозу. У 1971 р. Р. Шекман здобув ступінь бакалавра за спеціальністю «молекулярна біологія» у Каліфорнійському університеті в Лос-Анджелесі, продовжив навчання у Стенфордському університеті в Каліфорнії, де в 1974 р. захистив дисертацію за спеціальністю «біохімія». Після вельми нетривалої роботи в Каліфорнійському університеті в Сан-Дієго Р. Шекман перейшов на посаду професора молекулярної та клітинної біології кафедри біохімії Каліфорнійського університету в Берклі, де працює донині. З 1991 р. він є дослідником Медичного інституту Говарда Хьюза (Howard Hughes Medical Institute) — однієї з найбільших у світі організацій, що фінансують біомедичні дослідження, з 2006 р. — редактором американського наукового журналу «Proceedings of the National Academy of Sciences» (PNAS), а з 2011 р. — редактором наукового журналу відкритого доступу «eLife». Ренді Шекман одружений з Ненсі Уолс, має сина Джоела, викладача музики, кларнетиста, і дочку Лорен, фінансиста за фахом.

Джеймс Едвард Ротман (1950)

63-річний професор біомедицини, завідувач кафедри клітинної біології Медичної школи Єльського університету в Нью-Хейвені (штат Коннектикут) Джеймс Едвард Ротман (англ. *James Edward Rothman*) народився 3 листопада 1950 р. у Хейвенхіллі (штат Массачусетс) у родині відомого педіатра. Предки його батьків емігрували в США з Росії, Польщі, Австрії. У 1967 р. Дж. Ротман закінчив приватну школу в містечку Помфрет (штат Коннектикут); у 1971 р. — Єльський коледж, здобувши ступінь бакалавра з фізики. У 1971—1973 рр. він був студентом Гарвардської медичної школи в Кембриджі (штат Массачусетс), а в 1976 р. захистив дисертацію з біохімії в Гарвардському університеті й отримав ступінь доктора. У 1976—1978 рр. Дж. Ротман працював у Массачусетському технологічному інституті в Кембриджі, в 1978—1988 рр. був професором кафедри біохімії у Стенфордському університеті в Каліфорнії, а в 1988—1991 рр. працював на кафедрі молекулярної біології Принстонського університету в Нью-Джерсі. Переїхавши до Нью-Йорка, Дж. Ротман у 1991 р. заснував кафедру клітинної біохімії та біофізики й обійняв посаду заступника директора Меморіального онкологічного центру ім. Слоуна-Кеттеринга, а з 2004 до 2008 р. працював професором хімічної біології кафедри фізіології та клітинної біофізики Колумбійського університету, а також директором Центру дослідження геному ім. Сулцбергера.

З 1995 р. Дж. Ротман входив до складу науково-консультативної ради компанії «Amersham», а в 2003 р. після злиття з компанією «GE Healthcare» став Головним радником з питань науки цієї компанії. Дж. Ротман є членом Національної академії наук США (з 1993 р.), Американської академії мистецтв і наук (з 1994), Інституту медицини Національної академії наук (з 1995). Джеймс Ротман одружений з Джой Хірш, професором психіатрії та нейробіології Медичної школи Єльського університету, має сина Метью, фінансиста за фахом.

58-річний професор клітинної та молекулярної фізіології Стенфордського університету в Каліфорнії **Томас Крістіан Зюдгоф** (англ. *Thomas Christian Südhof*) народився 22 грудня 1955 р. у місті Геттінген у центральній Німеччині в сім'ї лікарів. Після закінчення Вальфдорської школи в Ганновері вивчав медицину в Рейнсько-Вестфальському технічному університеті міста Аахена, Гарвардському університеті (Кембридж, штат Массачусетс) та на медичному факультеті Геттінгенського університету. В 1982 р. захистив дисертацію в Інституті біофізичної хімії Макса Планка в Геттінгені і, пропрацювавши там рік, переїхав на роботу до США у відділення молекулярної генетики Південно-західного медичного центру Техаського університету в Далласі. Там він працював у 1983—1986 рр. під керівництвом Майкла Брауна (*Michael S. Brown*) та Джозефа Голдштейна (*Joseph L. Goldstein*), які в 1985 р. отримали Нобелівську премію з фізіології або медицини за вивчення обміну холестерину. В 1986—1991 рр. Т. Зюдгоф працював у Медичному інституті Говарда Хьюза, а в 1991—2008 рр.



Томас Крістіан Зюдгоф (1950)

був професором кафедри молекулярної генетики Південно-західного медичного центру Техаського університету. З 2008 р. він обіймає посаду професора молекулярної й клітинної фізіології, психіатрії та неврології Стенфордського університету в Каліфорнії. Т. Зюдгоф одружений з Чень Лу, професором молекулярної та клітинної фізіології Стенфордського університету, має двох маленьких дітей, а також трьох дорослих від першого шлюбу — Моріца, Сорена і Леанну.

Наукові досягнення цих учених відзначено безліччю почесних премій, наприклад премією Альберта Ласкера (в 2002 нагороджені Дж. Ротман і Р. Шекман, у 2013 — Т. Зюдгоф разом із Р. Шеллером), а також премією Кавлі, яку присуджує Норвезька академія наук у галузі неврології (в 2010 Дж. Ротман і Т. Зюдгоф розділили її з Р. Шеллером). Крім того, Р. Шекман у 2008 р. одержав премію Діксона з медицини Піттсбурзького університету в Пенсильванії, в 2010 р. — премію Мессрі Університету Південної Каліфорнії, а Дж. Ротман у 1996 р. удостоєний міжнародної премії Короля Фейсала в галузі науки, в 1997 р. став лауреатом премії Національної академії наук США, а в 2002 р. отримав приз ім. Луїзи Гросс-Хорвіц Колумбійського університету.

Над чим же працювали ці нобелівські лауреати впродовж 30 років і що таке взагалі «везикулярний трафік»?

Відомо, що всі живі організми складаються з клітин. У ході еволюції на зміну одноклітинним організмам прийшли багатоклітинні, які виникли внаслідок того, що клітини навчилися взаємодіяти одна з одною, отримавши можливість для вузької спеціалізації. Ця взаємодія полягала у передаванні від однієї клітини до іншої сигналів у вигляді певних біологічно активних речовин. У складних багатоклітинних організмах, таких як організм людини, щосекунди відбувається безліч процесів: еритроцити в легенях насичуються киснем, органи травлення виділяють ферменти для перетравлювання їжі, ендокринні залози виробляють гормони, що регулюють обмін речовин, клітини імунної системи атакують збудників інфекційних захворювань тощо. І все це відбувається ніби автоматично, без нашої участі, завдяки тому, що клітини можуть

«спілкуватися» між собою і вирішувати більшість завдань самостійно, не чекаючи наказу від мозку для синтезу потрібного протеїну.

Значною подією в еволюції живих організмів було виникнення еукаріотичних клітин, які відрізнялися від прокаріотичних наявністю в цитоплазмі органел, оточених мембранами, що виконують певні функції. Наприклад, ядро зберігає генетичну інформацію, мітохондрії забезпечують клітину енергією, в ендоплазматичному ретикулумі на рибосомах синтезуються протеїни, в апараті Гольджі вони сортуються, модифікуються, набувають активної форми й готуються до виділення з клітини тощо. Такий функціональний поділ еукаріотичних клітин надав їм низку переваг, проте з'явилася необхідність обміну сигналами не тільки між різними клітинами, а й між окремими органелами в межах однієї клітини.

Фактично жива клітина є мікроскопічним, але складним біохімічним заводом, що виробляє неймовірну кількість молекул, частина яких залишається в клітині й переміщується між різними органелами, а інша частина виділяється назовні. Якби всі синтезовані речовини знаходилися всередині клітини у вільному стані, то її функціонування було б неможливим через хаотичні біохімічні реакції між ними. Для того щоб речовини проникали крізь мембрани органел і не взаємодіяли між собою, в клітині існує спеціальна транспортна система, що здійснює їх переміщення всередині невеликих мембранних бульбашок, так званих везикул (від лат. *vesicula* — бульбашка). Везикулярний транспорт, або трафік, є одним із основних процесів, який уможливлює існування живих клітин. За допомогою системи везикулярного транспорту клітини спілкуються ніби за допомогою «пляшкової пошти», обмінюючись везикулами з біологічно активними речовинами, наприклад з малими інформаційними молекулами РНК, здатними впливати на активність генів і регулювати процеси в клітині.

Ученим довго не давало спокою питання, як за величезної кількості молекул, які щомиті синтезуються в клітині, всі вони розподіляються певним чином і виконують свої функції. Мав існувати механізм, який регулював би везикулярний транспорт і визначав би для кожного вантажу адресу, час і спосіб доставки, тобто механізм, який специфічно спрямовує молекули туди, де вони повинні працювати. Час і місце доставки змінити не можна, адже від цього залежать життєво важливі процеси в організмі.

Який же біохімічний механізм гарантує безпомилкове транспортування кожної синтезованої молекули? Саме за відповідь на це питання й було присуджено в 2013 р. Нобелівську премію з фізіології або медицини.

Підґрунтям для відкриттів нобелівських лауреатів за 2013 р. стали попередні роботи таких блискучих учених, як Камілло Гольджі (*Camillo Golgi*), який відкрив органелу, від мембрани якої відбруньковуються готові до виходу з клітини транспортні везикули і яку потім назвали «апаратом Гольджі» (Нобелівська премія, 1906); Альберт Клод (*Albert Claude*), Джордж Паладе (*George Palade*) та Крістіан де Дюв (*Christian de Duve*), які за допомогою електронної мікроскопії дослідили структуру органел і встановили шлях транспортування секреторних протеїнів усередині везикул, що відбруньковуються від мембрани однієї органели і зливаються з мембраною іншої (Нобелівська премія, 1974), а також Гюнтер Блобел (*Günter Blobel*), який відкрив сигнальні амінокислотні

послідовності, що контролюють транспортування протеїнів (Нобелівська премія, 1999). Проте після всіх цих відкриттів залишалося незрозумілим, як речовини непротеїнової природи, наприклад гормони та нейротрансмітери, що не мають сигнальних амінокислотних послідовностей, вчасно потрапляють туди, де вони необхідні. Відповідь на це складне фундаментальне питання дали саме Ренді Шекман, Джеймс Ротман і Томас Зюдгоф.

Ренді Шекман вирішив дослідити, які гени відповідають за транспортування протеїнів у клітині. Об'єктом досліджень, досить незвичним на той час, стали пекарські дріжджі (Saccharomyces cerevisiae), оскільки з ними було легко працювати в лабораторії, а в ЕПР їхніх клітин відбувалося глікозилування протеїнів, що давало змогу контролювати процес транспортування. Р. Шекман виділив штами дріжджів з дефектами транспортної системи і за допомогою генетичного аналізу виявив у цих штамів мутації в певних генах. При цьому штучне відтворення цих мутацій у відповідних генах нормальних дріжджів спричинювало порушення внутрішньоклітинного транспорту протеїнів. Відкриті Р. Шекманом гени, що регулювали транспорт протеїнів у дріжджів, назвали Sec1-23 (від англ. *secretory* — секреторний) [2]. Цікаво, що завдяки цим дослідженням Р. Шекмана дріжджі стали активно використовувати в біотехнологічному виробництві, і сьогодні з них одержують до 25 % усього інсуліну і 100 % вакцини від гепатиту В.

Джеймс Ротман обрав для дослідження клітинного транспорту іншу модель: він інфікував клітини ссавців (а саме — гризунів) вірусом везикулярного стоматиту, специфічний протеїн якого VSV-G зазнавав глікозилювання в апараті Гольджі. Дж. Ротман створив особливу модель відтворення транспортної системи *in vitro* (у пробірці), яка дала можливість розмежувати етапи внутрішньоклітинного транспортування та виділити в чистому вигляді протеїни, що беруть участь у процесі злиття везикул. За допомогою цього підходу Дж. Ротман виділив протеїн NSF (від англ. *N-ethylmaleimide-sensitive factor* — N-етилмалеімід-чутливий фактор) [3]. Досліджуючи, які протеїни можуть зв'язуватися з виділеним протеїном NSF, учений виділив протеїн SNAP (від англ. *soluble NSF-attachment protein* — розчинний NSF-зв'язуючий протеїн) [4], а також протеїни SNARE (від англ. *soluble NSF-attachment protein receptors* — рецептори розчинного NSF-зв'язуючого протеїну). Протеїнами SNARE виявилися вже відомі на той час протеїни SNAP-25 [5], синтаксин [6] і синаптобревін [7]. Проте саме Дж. Ротман з'ясував їхню функцію, продемонструвавши вирішальну роль цих протеїнів у злитті транспортних везикул з плазматичною мембраною. Він довів, що злиття везикули з мембраною відбувається лише за умови утворення потрійного комплексу між синаптобревіном, що знаходиться в мембрані везикули, а також синтаксином і SNAP-25, які знаходяться в плазматичній мембрані. Геніальною здогадкою Дж. Ротмана було припущення, що специфічність везикулярного транспорту забезпечується великою кількістю різновидів протеїнів SNARE, які взаємодіють між собою лише в певних комбінаціях [8]. За теорією Дж. Ротмана, протеїни SNARE везикули та плазматичної мембрани взаємодіють як дві половинки застібки-блискавки, що забезпечує злиття везикули з мембраною в чітко визначеному місці внаслідок послідовного перебігу трьох етапів: синаптичної фіксації, активації та власне злиття [9].

Ця теорія нарешті пояснила, що саме забезпечує в клітині доставку вантажу за певною адресою.

Проте залишалося незрозумілим, як, наприклад, регулюється вивільнення нейромедіаторів нейронами під час передавання сигналу через синапс — місце з'єднання нейронів. Адже в цьому випадку злиття везикул має відбуватися з високою швидкістю. То завдяки якому саме механізму нейромедіатори вивільняються в певний момент часу?

На це питання відповів Томас Зюдгоф, вивчаючи екзоцитоз синаптичних везикул у нейронах головного мозку нокаутних мишей, в організмі яких не синтезувався той чи інший протеїн, ген якого було штучно «вимкнено». Метою досліджень Т. Зюдгофа був пошук важливих для вивільнення нейромедіаторів протеїнів, які були б чутливими до іонів кальцію, оскільки вже було відомо, що сигналом для зв'язування везикули з мембраною є підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію. У результаті цих досліджень Т. Зюдгоф відкрив протеїн—синаптотагмін, що специфічно зв'язує іони кальцію та запускає процес злиття везикули з плазматичною мембраною [10]. Також учений показав, що крім протеїнів SNARE до складу комплексу, необхідного для злиття везикули, входить ще один виявлений ним протеїн — Munc18-1 (названий згодом протеїном SM), який зв'язується з синтаксином [11]. Крім того, Т. Зюдгоф виявив низку інших важливих для злиття протеїнів, зокрема комплексин [12], що утримує везикулу біля плазматичної мембрани, запобігаючи їх спонтанному злиттю [13], та протеїни RIM, які формують ГТФ-залежний комплекс між синаптичною мембраною та везикулою, що утримується біля мембрани [14].

Тривалий час вважали, що з наближенням везикули до закінчення нейрона протеїни SNARE, розташовані на їх мембранах, з'єднуються разом і утворюють пору, через яку нейромедіатор виходить у синаптичну щілину. Т. Зюдгоф показав, що протеїни SNARE не формують пору, а підтягують везикулу і мембрану аксона за рахунок наближення своїх трансмембранних ділянок, після цього везикула спонтанно зливається з мембраною [15]. Учений детально описав молекулярні механізми, які миттєво реагують на підвищення концентрації іонів кальцію появою біля пресинаптичної мембрани нейрона певних протеїнів SNARE, що викликають злиття везикул з мембраною та вивільнення нейромедіатора як за командою [16].

Коли з'ясувалося, що протеїни ссавців, виділені Дж. Ротманом, є аналогами протеїнів дріжджів, гени яких досліджував Р. Шекман, стало зрозуміло, що везикулярний транспорт є універсальним і дуже давнім в еволюційному відношенні механізмом, спільним для генетично віддалених видів. Протягом кількох десятиліть Джеймс Ротман, Ренді Шекман і Томас Зюдгоф досліджували різні аспекти везикулярного транспорту за допомогою різних експериментальних моделей, але одержані ними результати склалися як мозаїка, утворивши загальну картину розуміння універсального механізму, що забезпечує транспортування речовин у клітинах усіх живих організмів. Напевне, цю картину можуть доповнити результати досліджень імовірних кандидатів на Нобелівську премію 2014 р. та лауреатів премії Ласкера 2012 р. Майкла Шітца (*Michael Sheetz*), Джеймса Спадіча (*James Spudich*) та Рональда Вейла (*Ronald*

Vale), що стосуються руху везикул уздовж мікротрубочок цитоскелета за допомогою моторних протеїнів динеїну та кінезину.

Система везикулярного транспорту є дуже важливою для нормального функціонування багатьох систем органів, передусім для ендокринної, нервової та імунної систем, робота яких ґрунтується на секреції клітинами гормонів, нейромедіаторів і цитокінів. Тому дефекти везикулярного транспорту спостерігаються при діабеті, багатьох нервових і аутоімунних порушеннях, ревматизмі, а також гемофілії та деяких спадкових захворюваннях. Наприклад, важливу роль у виникненні цукрового діабету типу II відіграють порушення секреції інсуліну клітинами підшлункової залози або порушення доставки інсулінозалежного транспортера глюкози на поверхню клітин периферичних тканин [17]. При багатьох нейродегенеративних захворюваннях спостерігається накопичення в нейронах агрегатів специфічних протеїнів, що згубно діють на клітини. При хворобі Паркінсона в допамінових нейронах накопичуються агрегати альфасинуклеїну через порушення внутрішньоклітинного транспорту протеїнів з ЕПР до апарату Гольджі [18], а також порушується везикулярний транспорт нейромедіатора допаміну [19]. Цікаво, що протеїни, які утворюють агрегати в разі таких захворювань, у нормі виконують у клітині важливі функції саме в системі везикулярного транспорту. Прикладом цього можуть бути попередник амілоїдного бета-протеїну та пресинілін, що спричиняють виникнення хвороби Альцгеймера [20], а також хантінгтин, мутантні варіанти якого викликають хворобу Хантінгтона [21]. Дефекти у транспортуванні цитокінів та інших ефекторних молекул імунної системи призводять до порушень реалізації імунної відповіді. Ці дефекти можуть бути пов'язані, наприклад, з мутаціями в генах протеїнів SNARE або ГТФ-аз Rab, що контролюють везикулярний транспорт. Так, мутація в гені RAB27A спричиняє синдром Грісцеллі другого типу, за якого розвивається важкий імунодефіцит через порушення внутрішньоклітинного транспорту цитотоксичних гранул у клітинах — натуральних кілерах і в цитотоксичних Т-лімфоцитах, а також зникає пігментація шкіри та волосся через порушення транспорту меланосом до меланоцитів [22].

На роботу транспортної системи можуть впливати збудники інфекційних захворювань, які використовують їх для проникнення в клітини та захисту від знешкодження імунною системою або викликають у такий спосіб серйозні порушення функцій організму. Наприклад, внутрішньоклітинні паразити (лістерії, хламідії, мікобактерії, легіонели) затримують дозрівання ендосом, в яких знаходяться, уникаючи перетравлення лізосомальними ферментами клітини, а після розмноження використовують транспортну систему для виходу з клітини, замаскувавши свою ендосому під секреторну везикулу [23]. Збудники правця (Clostridium tetani) та ботулізму (Clostridium botulinum) виділяють нейротоксини, які розщеплюють ключові протеїни системи везикулярного транспорту, блокуючи вивільнення нейромедіаторів нейронами спинного мозку. Правцевий токсин розщеплює синаптобревін, блокуючи вивільнення гліцину та гамма-аміномасляної кислоти гальмівними нейронами, що викликає спазм мускулатури. Різні типи ботулінічного токсину розщеплюють синаптобревін, SNAP-25 або SNAP-25 і синтаксин, блокуючи вивільнення ацетилхоліну збуджувальними нейронами, що спричиняє розслаблення мускулатури та параліч.

В обох випадках ці токсини призводять до смерті внаслідок зупинки дихання [24]. Зазначимо, що Т. Зюдгоф зробив вагомий внесок у з'ясування молекулярного механізму дії нейротоксинів, наприклад за його участі було показано, що ботулінічний токсин розщеплює протеїн SNAP-25 [25].

Відкриття Джеймса Ротмана, Ренді Шекмана і Томаса Зюдгофа в галузі везикулярного транспорту допомогли краще зрозуміти природу багатьох захворювань, надавши тим самим нові можливості для вдосконалення їх діагностики та лікування. Знання молекулярного механізму роботи транспортної системи клітин можна використати для створення нових ліків проти низки захворювань, зокрема для розроблення нових протипухлинних препаратів. Значення досліджень цих нобелівських лауреатів неможливо переоцінити: вони відкрили шлях до свідомого втручання в роботу дуже давнього механізму, універсального для всіх живих істот на Землі. З'явилася реальна перспектива контролювати обмін речовин у клітині, виправляючи його порушення у випадку метаболічних та ендокринних захворювань, а особливо захворювань нервової системи, таких як хвороба Альцгеймера, шизофренія, аутизм. Імовірно, місце і час зустрічі вантажу все таки можна змінити за бажанням людини. Сподіваємося, що ці блискучі фундаментальні відкриття невдовзі втіляться в життя: людство отримає нові засоби для боротьби з тяжкими захворюваннями і навіть, можливо, навчиться за потреби цілеспрямовано змінювати ефективність взаємодії своїх нейронів, що сприятиме новим науковим звершенням.

HOW THE CELL IS TRANSPORTING THE SYNTHESIZED SUBSTANCES OR IS IT TRUE THAT TIME AND DESTINATION OF «INTRACELLULAR LOAD» CANNOT BE CHANGED?

The Nobel prize in physiology or medicine, 2013

S.I. Romanyuk, S.V. Komisarenko

The Nobel Prize in Physiology and Medicine 2013 was awarded to James E. Rothman, Randy W. Schekman, and Thomas C. Südhof with Nobel Committee motivation: «for their discoveries of machinery regulating vesicle traffic, a major transport system in our cells».

REFERENCES

1. Прес-реліз Нобелівського комітету при Каролінському медичному інституті. http://www.nobelprize.org.

2. Novick P., Field C., Schekman R. Identification of 23 complementation groups required for post-translational events in the yeast secretory pathway. *Cell*. 1980. Vol. 21, N 1. P. 205—215.

3. Block M.R., Glick B.S., Wilcox C.A. et al. Purification of an N-ethylmaleimide-sensitive protein catalyzing vesicular transport. *PNAS*. 1988. Vol. 85, N 21. P. 7852—7856.

4. Weidman P.J., Melançon P., Block M.R., Rothman J.E. Binding of an N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein to Golgi membranes requires both a soluble protein(s) and an integral membrane receptor. *Journal of Biological Chemistry*. 1989. Vol. 108, N 5. P. 1589—1596.

5. Oyler G.A., Higgins G.A., Hart R.A. et al. The identification of a novel synaptosomal-associated protein, SNAP-25, differentially expressed by neuronal subpopulations. *Journal of Biological Chemistry*. 1989. Vol. 109, N 6 (Pt. 1). P. 3039—3052.

6. Inoue A., Obata K., Akagawa K. Cloning and sequence analysis of cDNA for a neuronal cell membrane antigen, HPC-1 (syntaxin 1). *Journal of Biological Chemistry*. 1992. Vol. 267, N 15. P. 10613—10619.

7. Trimble W.S., Cowan D.M., Scheller R.H. VAMP-1: a synaptic vesicle-associated integral membrane protein. *PNAS*. 1988. Vol. 85, N 12. P. 4538—4542.

8. Söllner T., Whiteheart S.W., Brunner M. et al. SNAP receptors implicated in vesicle targeting and fusion. *Nature*. 1993. Vol. 362, N 6418. P. 318—324.

9. Gao Y., Zorman S., Gundersen G. et al. Single reconstituted neuronal SNARE complexes zipper in three distinct stages. *Science*. 2012. Vol. 337, N 6100. P. 1340—1343.

10. Brose N., Petrenko A.G., Südhof T.C., Jahn R. Synaptotagmin: a calcium sensor on the synaptic vesicle surface. *Science*. 1992. Vol. 256, N 5059. P. 1021—1025.

11. Hata Y., Slaughter C.A., Südhof T.C. Synaptic vesicle fusion complex contains unc-18 homologue bound to syntaxin. *Nature*. 1993. Vol. 366, N 6453. P. 347—351.

12. McMahon H.T., Missler M., Li C., Südhof T.C. Complexins: cytosolic proteins that regulate SNAP receptor function. *Cell*. 1995. Vol. 83, N 1. P. 111—119.

13. Maximov A., Tang J., Yang X. et al. Complexin controls the force transfer from SNARE complexes to membranes in fusion. *Science*. 2009. Vol. 323, N 5913. P. 516—521.

14. Wang Y., Okamoto M., Schmitz F. et al. Rim is a putative Rab3 effector in regulating synaptic-vesicle fusion. *Nature*. 1997. Vol. 388, N 6642. P. 593—598.

15. Zhou P., Bacaj T., Yang X. et al. Lipid-Anchored SNAREs Lacking Transmembrane Regions Fully Support Membrane Fusion during Neurotransmitter Release. *Neuron*. 2013. Vol. 80, N 2. P. 470—483.

16. Südhof T.C. Neurotransmitter release: the last millisecond in the life of a synaptic vesicle. *Neuron*. 2013. Vol. 80, N 3. P. 675—690.

17. Zierath J.R., Lendahl U. Machinery regulating vesicle traffic, a major transport system in our cells. http://www. nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2013/advanced-medicineprize2013.pdf.

18. Lashuel H.A., Hirling H. Rescuing defective vesicular trafficking protects against alpha-synuclein toxicity in cellular and animal models of Parkinson's disease. *ACS Chemical Biology*. 2006. Vol. 1, N 7. P. 420—424.

19. Alter S.P., Lenzi G.M., Bernstein A.I., Miller G.W. Vesicular integrity in Parkinson's disease. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 2013. Vol. 13, N 7. P. 362.

20. Suzuki T., Araki Y., Yamamoto T., Nakaya T. Trafficking of Alzheimer's disease-related membrane proteins and its participation in disease pathogenesis. *Journal of Biochemistry*. 2006. Vol. 139, N 6. P. 949—955.

21. Caviston J.P., Holzbaur E.L. Huntingtin as an essential integrator of intracellular vesicular trafficking. *Trends Cell Biology*. 2009. Vol. 19, N 4. P. 147—155.

22. Krzewski K., Cullinane A.R. Evidence for defective Rab GTPase-dependent cargo traffic in immune disorders. *Experimental Cell Research*. 2013. Vol. 319, N 15. P. 2360—2367.

23. Ge J., Shao F. Manipulation of host vesicular trafficking and innate immune defence by Legionella Dot/Icm effectors. *Cell Microbiol*. 2011. Vol. 13, N 12. P. 1870—1880.

24. Rossetto O., de Bernard M., Pellizzari R. et al. Bacterial toxins with intracellular protease activity. *Clinica Chimica Acta*. 2000. Vol. 291, N 2. P. 189—199.

25. Blasi J., Chapman E.R., Link E. et al. Botulinum neurotoxin A selectively cleaves the synaptic protein SNAP-25. *Nature*. 1993. Vol. 365, N 6442. P. 160—163.

ЯК КЛІТИНАМ ВДАЄТЬСЯ ЗБЕРЕГТИ МОЛЕКУЛИ ДНК НЕУШКОДЖЕНИМИ, АБО ЗАВДЯКИ ЧОМУ ІСНУЄ ЖИТТЯ НА ЗЕМЛІ?

Нобелівська премія з хімії, 2015

С.В. Комісаренко, С.І. Романюк

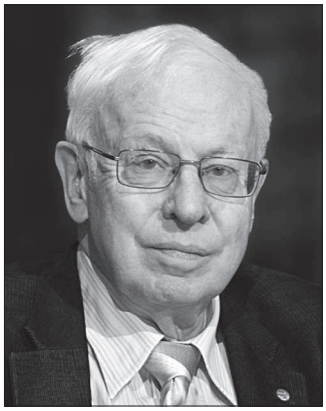
7 жовтня 2015 р. у столиці Швеції, Стокгольмі, в рамках проведення 114-го Нобелівського тижня Нобелівським комітетом при Королівській академії наук Швеції в 107-й раз було оголошено імена лауреатів Нобелівської премії з хімії: Томаса Ліндаля (Tomas Lindahl), Пола Модрича (Paul Modric) і Азіза Санджара (Aziz Sancar). Ця нагорода є особливо престижною, оскільки засновник Нобелівських премій — шведський підприємець та винахідник — Альфред Нобель (1833—1896) сам був хіміком і заробив свої статки завдяки винаходу динаміту. Хімія стала другою наукою після фізики, згаданою ним у заповіті.

Ключові слова: *ушкодження ДНК, системи репарації ДНК, Нобелівська премія.*

Напередодні оголошення рішення Нобелівського комітету компанія «Thomson Reuters» назвала імена дослідників, які, на їхню думку, можуть отримати цю нагороду. Найімовірнішими кандидатами вважалися Еммануель Шарпантьє (*Emmanuelle Charpentier*) і Дженніфер Дудна (*Jennifer A. Doudna*) за розроблення методу CRISPR/cas9 для «редагування» геному живого організму, який може використовуватися для лікування генетичних захворювань людини. Премію могла отримати також Каролін Бертоцці (*Carolyn R. Bertozzi*) за вивчення біоортогональних реакцій — хімічних реакцій, що відбуваються безпосередньо в живій клітині та дають можливість модифікувати лише один її певний компонент, не порушуючи при цьому функціонування живої системи. Крім того, за версією «Thomson Reuters», шанси стати нобелівськими лауреатами були у Джона Гуденофа (*John B. Goodenough*) і Стенлі Уіттінхема (*M. Stanley Whittingham*), які заклали наукове підґрунтя для розроблення літій-іонних акумуляторів, які зараз використовують практично в усіх сучасних гаджетах [1]. А 2014 р. Нобелівську премію з хімії присудили Еріку Бетцигу (*Eric Betzig*), Вільяму Мернеру (*William E. Moerner*) і Штефану Хеллю (*Stefan W. Hell*) за розроблення флуоресцентної мікроскопії надвисокої роздільної здатності, яка дає змогу візуалізувати шляхи окремих молекул усередині живих клітин.

Відкриття сучасної науки дедалі частіше мають міждисциплінарний характер. Саме тому три Нобелівські комітети (з фізики, хімії та фізіології й медицини) проводять спільні засідання для обрання кандидатів. Найчастіше Нобелівську премію з хімії присуджували за дослідження в галузі біохімії (50 разів), органічної хімії (43 рази), фізичної хімії (38 разів), структурної хімії (20 разів) та ядерної хімії (13 разів).

Ось і в 2015 р. нобелівськими лауреатами з хімії (170—172 за підрахунком) стали троє біохіміків — британець шведського походження Томас Ліндаль



Томас Ліндаль (1938)

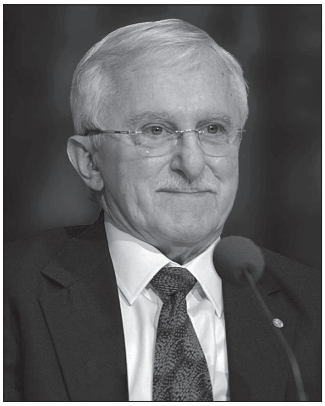
(Tomas Lindahl), американець Пол Модрич *(Paul Modrich*) і американець турецького походження Азіз Санджар *(Aziz Sancar)*.

За традицією, секретар Нобелівської асамблеї при Каролінському інституті в Стокгольмі професор Йоран Ханссон оголосив п'ятьма мовами мотивування рішення про нагородження. Лауреатів було удостоєно цієї престижної нагороди «*за дослідження процесів відновлення (репарації) пошкодженої ДНК*». У формулюванні Нобелівського комітету зазначено, що лауреати розробили «*інструментарій, який дає змогу на молекулярному рівні показати, як клітини ремонтують ушкоджену ДНК і зберігають генетичну інформацію*» [2]. Оскільки Томас Ліндаль є членом Нобелівського комітету, було оприлюднено спеціальне повідомлення про те, що Ліндаль не брав участі в присудженні собі Нобелівської премії.

Церемонія нагородження лауреатів відбулася у Стокгольмі 10 грудня, в день смерті Альфреда Нобеля. Король Швеції Карл XVI Густав вручив лауреатам дипломи і золоті медалі, створені шведським скульптором Еріком Ліндбергом, а наступного дня Нобелівський фонд перерахував на їхні банківські рахунки грошовий еквівалент премії — 8 млн шведських крон (приблизно 950 тис. дол. США). Цікаво, що Нобелівські медалі з хімії та фізики мають однаковий дизайн. З одного боку на них викарбувано портрет Альфреда Нобеля, а з іншого — зображення Природи у вигляді богині, що підіймається з хмар з рогом достатку в руках, а алегорія Науки піднімає вуаль, що закриває обличчя богині. Напис латиною «*Inventas vitam juvat excoluisse per artes*» з поеми Вергілія «Енеїда» приблизно означає: «І ті, хто поліпшили життя на Землі своєю новознайденою майстерністю».

Хто ж ці щасливчики — лауреати Нобелівської премії з хімії?

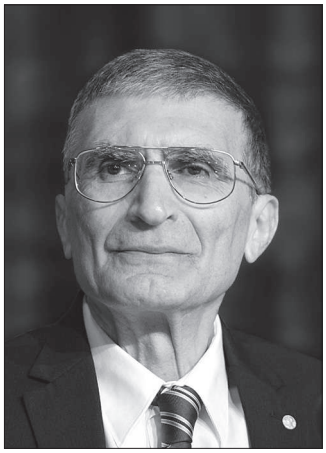
77-річний професор біохімії **Томас Ліндаль** (швед. *Tomas Robert Lindahl*) працює у Великій Британії в Інституті Френсіса Кріка в Лондоні та в Лабораторії Клер-Холл у містечку Поттерс-Бар (графство Хартфордшир). З квітня 2015 р. Лабораторія Клер-Холл є структурним підрозділом Інституту Френсіса Кріка, який після завершення реконструкції в 2016 р. є найбільшим біомедичним дослідницьким центром в Європі. Томас Ліндаль народився 28 січня 1938 р. на Кунгсхольмені (Kungsholmen) — одному з островів Стокгольма (Швеція). Він навчався в Каролінському інституті в Стокгольмі, де в 1967 р. здобув PhD-ступінь, а в 1970 р. — ступінь доктора медичних наук (MD). Після одержання ступеня PhD Томас Ліндаль переїхав до США, де працював у Принстонському університеті (штат Нью-Джерсі) та Університеті Рокфеллера в Нью-Йорку. З 1978 до 1982 р. він обіймав посаду професора медичної та фізіологічної хімії в Університеті Гетеборга (Швеція). Потім учений переїхав до Великої Британії, де почав працювати у Фонді дослідження раку в Лондоні (нині — Британський інститут дослідження раку), а з 1986 до 2005 р. був першим директором створеної при цій організації Лабораторії Клер-Холл,


Пол Лоуренс Модрич (1946)

яка стала провідним центром досліджень репарації ДНК. У 2009 р. Ліндаль закрив свою лабораторію мутагенезу в Лабораторії Клер-Холл. Зараз він є керівником лабораторії в Інституті Френсіса Кріка, почесним директором Лабораторії Клер-Холл, з 1988 р. — членом Лондонського королівського товариства, з 1998 р. — дійсним членом Академії медичних наук Великої Британії, а також членом Шведської і Норвезької академій наук. У 2007 р. Ліндаль одержав від Лондонського королівського товариства Королівську медаль, у 2010 р. — найвищу нагороду Королівського товариства — медаль Коплі, а у 2008 р. — нагороду Французького інституту здоров'я та медичних досліджень (INSERM Prix Etranger).

69-річний професор біохімії та медицини **Пол Лоуренс Модрич** (англ. *Paul L. Modrich*) працює у США в Медичному інституті Говарда Х'юза у Чеві Чейзі (штат Меріленд) та Медичній школі при Університеті Дюка в Даремі (штат Північна Кароліна). Пол Модрич народився в США 13 червня 1946 р. у невеличкому робітничому містечку Ратон (штат Нью-Мексико) у сім'ї вчителя біології та домогосподарки. Його предки по батьківській лінії емігрували до США з Хорватії. Пол з дитинства захоплювався наукою, ще у школі він постійно брав участь у наукових проєктах. Саме батько після відкриття Френсісом Кріком і Джеймсом Уотсоном у 1953 р. структури ДНК подав Полу ідею про необхідність докладного вивчення цієї молекули. У 1964 р. Пол Модрич вступив до Массачусетського технологічного інституту, де захопився молекулярною генетикою. У 1968 р. він закінчив інститут, отримав ступінь бакалавра. В 1973 р. Модрич здобув докторський ступінь у Стенфордському університеті (штат Каліфорнія). З 1976 р. працює в Інституті Дюка з вивчення раку, що є частиною Медичної школи Університету Дюка, а з 1994 р. — дослідник у Медичному інституті Говарда Х'юза. З 1984 р. він є професором біохімії, з 1988 р. — заслуженим професором медицини, з 1993 р. — членом Національної академії наук США, з 2003 р. — членом Інституту медицини Національної академії наук США, а з 2004 р. — членом Американської академії мистецтв і наук. Дружина Пола Модрича, Вікерс Бердет, також біохімік і працює разом з чоловіком у Медичній школі Університету Дюка.

69-річний професор біохімії та біофізики **Азіз Санджар** (тур. *Aziz Sancar*) працює у США в Медичній школі при Університеті Північної Кароліни в місті Чапел Хілл (штат Північна Кароліна). Він народився 8 вересня 1946 р. у Туреччині в містечку Савур у провінції Мардін, шо межує із Сирією. Азіз був сьомою дитиною у бідній арабомовній сім'ї фермера. Він зростав у злиденних умовах, вчитися доводилося при свічках. Батьки Азіза не мали освіти, однак усі їх вісім дітей закінчили університети. Азіз Санджар планував стати лікарем і в 1963 р. вступив на медичний факультет Стамбульського університету, під час навчання зацікавився біохімією. Після закінчення університету він два роки працював сільським лікарем. У 1971 р. Санджар переїхав до США і вступив на відділен-



Азіз Санджар (1946)

ня молекулярної біології Техаського університету в Далласі. Після закінчення університету в 1975 р. і отримання докторського ступеня в 1977 р. Санджар перейшов до Єльського університету (штат Коннектикут). З 1982 р. він працював у Університеті Північної Кароліни, де в 1988 р. здобув звання професора біохімії. З 2005 р. Азіз Санджар є членом Національної академії наук США, з 2006 р. — членом Академії наук Туреччини, з 2014 р. — почесним запрошеним професором Китайської академії наук. У 1984 р. він отримав премію Президента США для молодих дослідників від Національного наукового фонду США, в 1995 р. — премію Національного інституту здоров'я, в 2009 р. — премію Техаського університету в Далласі. У 1994 р. Азіза Санджара обрали членом Світової академії наук (The World Academy of Sciences, TWAS), заснованої нобелівським лауреатом з фізики Абдусом Саламом із Пакистану з метою підтримки науки в країнах південного регіону. Санджар став другим в історії нобелівським лауреатом турецького походження після Орхана Памука, який у 2006 р. одержав Нобелівську премію з літератури. Дружина Азіза Санджара, Гвен, також є випускницею Техаського університету та професором біохімії та біофізики Університету Північної Кароліни. У 2007 р. подружжя Санджарів заснувало фонд Carolina Turk Evi з метою сприяння турецькій культурі, а також для підтримки турецьких студентів і вчених у США.

Що саме відкрили лауреати Нобелівської премії з хімії за 2015 р.? І що взагалі таке репарація ДНК?

Дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК) є носієм генетичної інформації та найважливішою молекулою в організмі, оскільки вона контролює нормальне функціонування та поділ клітин, ріст і розмноження організму. Генетична інформація зашифрована в послідовності 4 типів нуклеотидів — складових частин цієї полімерної молекули, що відрізняються за типом азотистих основ: пуринових (аденіну, гуаніну) і піримідинових (тиміну, цитозину). Два ланцюги в подвійній спіралі молекули ДНК утримуються разом завдяки взаємодії між комплементарними нуклеотидами різних ланцюгів: аденін взаємодіє з тиміном, гуанін — з цитозином [3].

Молекула ДНК не є стійкою, вона легко руйнується і вступає в хімічні реакції з багатьма іншими речовинами. Пошкодження ДНК виникають досить часто як під дією фізичних чинників (радіації, ультрафіолету), так і внаслідок взаємодії з хімічними агентами (активними речовинами зовнішнього середовища чи метаболітами організму). Наприклад, пошкоджувати ДНК можуть активні форми кисню, що утворюються на проміжних етапах синтезу енергетичного запасу клітини — аденозинтрифосфату (АТФ) і частково проникають за межі мітохондрій. Навіть звичайна вода, яка є головним компонентом живих організмів, спричинює гідроліз ДНК. Сонячні промені та куріння тютюну також руйнують ДНК. Крім того, під час поділу клітини ферменти ДНК-полі-

мерази в процесі копіювання генетичної інформації часто припускаються помилок [4].

Які саме пошкодження виникають у молекулі ДНК унаслідок впливу всіх цих чинників? ДНК може втрачати нуклеотиди з утворенням апуринових і апіримідинових сайтів (АП-сайтів). Дезамінування азотистих основ призводить до перетворення цитозину на урацил, який у нормі міститься в рибонуклеїновій кислоті (РНК) і, на відміну від цитозину, комплементарний аденіну. Крім того, аденін може перетворюватися на гіпоксантин, а гуанін — на ксантин. Приєднання метильної CH_3-групи до вуглецю у 5-му положенні цитозину перетворює його на тимін. У разі взаємодії з активними формами кисню та гідроперекисами утворюється тимін гліколь. Також можуть виникати розриви ДНК, міжмолекулярні ковалентні зшивки ДНКДНК, ДНК-протеїн та багато інших типів пошкоджень. Упродовж години в кожній клітині організму людини відбувається від кількох сотень до тисячі пошкоджень ДНК [5].

Будь-які пошкодження чи модифікації ДНК змінюють генетичну інформацію, унеможливлюють її зчитування (транскрипцію) або передачу дочірнім клітинам (реплікацію). З огляду на все зазначене вище може здатися, що виконання молекулою ДНК своєї головної функції — передачі генетичної інформації, як і взагалі існування життя на Землі, є неможливим. Чому ж клітини за постійного пошкодження ДНК не гинуть і продовжують синтезувати нормальні в структурному і функціональному відношенні протеїни? Як біологічні види можуть передавати генетичну інформацію з покоління в покоління практично в незмінному вигляді, зберігаючи індивідуальність? Наприклад, абсолютно неймовірним видається той факт, що маленькі ракоподібні — щитні практично не змінилися за 220 млн років свого існування.

Життя на Землі дійсно було б неможливим у тому вигляді, як воно є, якби в клітинах не було потужної ферментної системи репарації (відновлення, або «ремонтування») ДНК. Безперервний процес пошкодження ДНК супроводжується таким самим постійним процесом відновлення її вихідної структури, що дає змогу зберігати генетичну інформацію. Здатність ДНК до репарації є унікальною і чи не найважливішою функцією клітини. Нобелівські лауреати (2015) не були першовідкривачами репарації ДНК, однак вони зробили дуже важливі кроки до розуміння механізмів її реалізації.

Історія дослідження репарації ДНК налічує близько 70 років. Протягом цього часу велика кількість видатних учених робила внесок у розкриття однієї з найбільших загадок живої клітини [6]. Присудження в 1945 р. Нобелівської премії з фізіології або медицини Олександру Флемінгу, Говарду Флорі та Ернсту Борису Чейну за відкриття й очищення пеніциліну надихнуло вчених усіх країн на пошуки нових антибіотиків. Одним із тих, хто взявся за цю багатообіцяючу тему, був мікробіолог німецького походження Альберт Кельнер, який працював у Лабораторії Колд Спрінг Харбор (штат НьюЙорк, США). Він використовував ультрафіолетове опромінення для одержання мутантних штамів стрептоміцетів. У експериментах було отримано дивні результати. В одних випадках опромінення пригнічувало ріст культур, а в інших — майже не впливало. Лише завдяки педантичності й наполегливості Кельнеру вдалося виявити закономірність: ультрафіолет майже не впливав на культури, що

росли біля вікна. Він припустив, що денне світло якимось чином допомагає клітинам виправити пошкодження, завдані ультрафіолетом. Так, у 1949 р. було відкрито перший різновид репарації ДНК — фотореактивацію [7]. Через кілька тижнів після Кельнера і повністю незалежно від нього фотореактивацію відкрив американський вірусолог італійського походження Ренатто Дульбекко [8], більш відомий дослідженнями онковірусів, що й було відзначено в 1975 р. Нобелівською премією з фізіології або медицини. Цікаво, що Кельнер написав Дульбекко про своє відкриття, але лист прийшов, коли той уже завершував власні експерименти з опроміненими бактеріофагами.

За іронією долі це видатне відкриття залишилося недооціненим, а сам Кельнер не став широко відомим. На сьогодні першовідкривачів репарації ДНК уже немає в живих: Альберт Кельнер помер у 1994 р., Ренатто Дульбекко — у 2012 р. Започаткований ними новий напрям досліджень надалі активно розвивали інші вчені. Оскільки обрати лауреатів з величезної кількості претендентів було проблематично, вручення Нобелівської премії за дослідження репарації ДНК виглядало малоймовірним. Проте Нобелівський комітет усе ж вирішив відзначити максимально можливу за заповітом Нобеля кількість лауреатів — трьох учених, причому саме «за дослідження механізмів репарації ДНК», а не за відкриття репарації ДНК.

Чому серед багатьох кандидатів обрали саме Томаса Ліндаля, Пола Модрича та Азіза Санджара? Ці вчені відкрили і детально описали механізми реалізації основних способів відновлення структури ДНК: фотореактивації, ексцизійної репарації нуклеотидів, репарації помилково спарених нуклеотидів (місметчрепарації) та ексцизійної репарації азотистих основ. Одержані ними знання дали можливість відтворити складні процеси репарації ДНК у лабораторних умовах.

Кар'єра Азіза Санджара почалася саме з вивчення фотореактивації. Вступивши у 1971 р. до Техаського університету, він потрапив до лабораторії Стена Руперта, який досліджував механізми фотореактивації та виділив ключовий фермент цього процесу [9], пізніше названий фотоліазою. Виявляється, що під впливом ультрафіолетового світла в ДНК утворюються зшивки між сусідніми основами тиміну. Такі циклобутанові піримідинові димери не дають змоги ДНК-полімеразі копіювати пошкоджену ділянку ДНК. Проте фермент фотоліаза розпізнає ці пошкодження і, використовуючи енергію видимого світла, а саме — синьої ділянки спектра, розщеплює зв'язок між тиміновими основами в димері. Тривалий час дослідити механізм фотореактивації не вдавалося переважно через те, що в бактеріях дуже мала кількість фотоліази. Азіз Санджар уперше клонував ген фотоліази [10] і одержав потрібну кількість рекомбінантного ферменту. Багато років учений досліджував механізм дії фотоліази і з'ясував його до найменших подробиць. Виявилося, що під час фотореактивації енергія фотона поглинається хромофором (5,10-метенілтетрагідроптероїлполіглутаматом) у складі фотоліази і через інший хромофор (флавінаденіндинуклеотид) передається до циклобутанового піримідинового димеру [11].

Покинувши Техаський університет через припинення фінансування досліджень фотоліази, Санджар перейшов на посаду простого лаборанта в медичну лабораторію Єльського університету і почав досліджувати механізм так

званої темнової репарації, коли бактерії, опромінені ультрафіолетом, виправляють пошкодження ДНК у темряві, але набагато повільніше. Це явище вперше було описано в 1964 р. Річардом Сетлоу та Уільямом Керієром [12] і майже одночасно Річардом Бойсом і Паулем Говард-Фландерсом [13]. Завдяки їхнім роботам стало зрозуміло, що під час «темнової» репарації тимінові димери, які утворюються під дією ультрафіолету, вирізаються з ДНК. Філіп Ханавальд та Девід Петиджон продемонстрували, що вирізані ділянки активно відновлюються за рахунок синтезу нової ДНК [14]. Ці видатні вчені, без сумніву, також могли б претендувати на Нобелівську премію, проте саме Азіз Санджар встановив, які ферменти і в який спосіб здійснюють хімічні реакції, забезпечуючи реалізацію такого типу репарації ДНК.

На той час було відомо три гени стійкості до ультрафіолету — uvrA, uvrB і uvrC, що відповідають за «темнову» репарацію [15]. Одержати їх білкові продукти у достатній для вивчення кількості довго не вдавалося, аж поки Санджар не винайшов оригінальний метод бактеріальних «максі-клітин», який дав змогу це зробити [16]. Учений вводив плазміду з геном потрібного протеїну в клітини бактерій з дефектами репарації, опромінені ультрафіолетом. У таких клітинах власна ДНК була пошкоджена, тому синтезувався лише потрібний плазмідний протеїн, причому у великих кількостях. За допомогою цього методу Санджар швидко отримав і охарактеризував білкові продукти генів uvrA, uvrB і uvrC. Він також показав, що ці білки утворюють ферментативний комплекс, який вирізає фрагмент ДНК розміром 13 пар нуклеотидів навколо тимінового димеру. Потім ДНК-полімераза синтезує нормальний фрагмент ДНК, а ДНК-лігаза зшиває фрагменти в єдиний ланцюг ДНК. Такий вид репарації назвали ексцизійною репарацією нуклеотидів, а її фермент — ексцинуклеазою (від англ. *excise* — вирізати) [17].

Пізніше Санджар виявив, що окремі субодиниці ексцинуклеази працюють поетапно, і детально дослідив механізм ексцизійної репарації нуклеотидів у людини, в якому задіяно не 3, а понад 15 протеїнів [18]. Згодом з'ясувалося, що ексцизійна репарація нуклеотидів відновлює не лише тимінові димери, а й інші пошкодження в ДНК. Вона є дуже важливою для людини, оскільки в людини і переважної більшості ссавців (крім сумчастих) фотоліази немає, і механізм фотореактивації не працює [19]. Цікаво, що Азіз Санджар відкрив також криптохроми — білки, що є гомологами фотоліази і відповідають за добові біоритми в людини [20].

Згодом виявилося, що переважна більшість пошкоджень у ДНК виправляється іншими системами репарації. Однією з таких систем є місметчрепарація (репарація гетеродуплексів, або репарація помилково спарених нуклеотидів), яка під час синтезу ДНК виправляє помилкове утворення пар некомплементарних (невідповідних) нуклеотидів, наприклад замість гуанін-цитозин або аденін-тимін з'являється пара цитозин-аденін. Цей тип репарації ДНК відкрили в 1976 р. Роберт Вагнер і Метью Мезельсон [21].

Проте залишалося незрозумілим, як саме можна виявити помилково спарені нуклеотиди, адже їхня структура не змінилася. Який з нуклеотидів у парі є правильним, а який включено помилково? Для того щоб система місметчрепарації спрацювала, материнський ланцюг ДНК повинен мати якісь мітки,

на відміну від щойно синтезованого дочірнього ланцюга. Пол Модрич разом із Метью Мезельсоном у 1983 р. довели, що такими мітками на ДНК є метильні групи, що приєднуються лише до комплементарно спарених азотистих основ. Відсутність метильних груп сприймається як сигнал для виправлення помилок ферментами репарації [22]. У бактерій материнський ланцюг маркується ДНК-метилазою Dam, яка метилює аденін у послідовностях —GATC—. У людини механізм розпізнавання є складнішим і пов'язаний з асиметричним зв'язуванням деяких білків у ході реплікації. Пол Модрич з'ясував, як саме розпізнається у бактерій метильований материнський ланцюг ДНК і яку роль у цьому відіграють продукти генів mutH, mutL і mutS і деяких інших генів, необхідних для репарації. Він застосував експериментальну систему, базовану на утворенні дуплексів між ланцюгами ДНК бактеріофагів, які відрізнялися на один нуклеотид, і простежив, що відбувається з неправильними парами нуклеотидів та білками репарації в пробірці та в клітинах бактерій. Учений показав, що відразу після реплікації з метильними групами послідовностей —GATC— материнського ланцюга зв'язується білок MutH. Одночасно з неправильною парою нуклеотидів зв'язуються дві молекули білка MutS. Потім білок MutL допомагає білку MutH зблизитися з димером MutS для взаємодії, внаслідок якої білок MutH перетворюється на ендонуклеазу, яка розщеплює неметильований дочірній ланцюг у послідовності —GATC— і вирізає його фрагмент, поки не досягне неправильної пари основ. Після цього видалений фрагмент ДНК синтезується знову [23].

Найважливішою виявилася ексцизійна репарація азотистих основ (Base Excision Repair — BER), яка виправляє переважну кількість пошкоджень ДНК, зокрема й ті, що виникають під дією води і кисню. Цей вид репарації відкрив третій нобелівський лауреат — Томас Ліндаль. Спостереження за деградацією РНК під час нагрівання викликало в нього сумніви щодо хімічної стійкості ДНК і наштовхнуло на ідею про ймовірне існування якоїсь системи відновлення ДНК. Пізніше він підтвердив свою геніальну здогадку експериментально, показавши, що в молекулі ДНК відбуваються реакції відщеплення аденіну або гуаніну, а також дезамінування цитозину з перетворенням його на урацил [24]. У 1974 р. Ліндаль відкрив фермент урацил-ДНК-глікозилазу (UNG), який виправляв пошкодження, видаляючи урацил [25]. Виявилося, що спочатку ДНК-глікозилаза розпізнає пошкоджену азотисту основу та вирізає її з ДНК, потім фермент апуринова/апіримідинова ендонуклеаза розриває ДНК поряд із пошкодженням, ДНК-полімераза вбудовує один або кілька нуклеотидів, а ДНК-лігаза відновлює цілісність ланцюга ДНК. Пізніше Томас Ліндаль описав інші різновиди ДНК-глікозилаз, кожний з яких спеціалізується на репарації певного типу пошкоджень ДНК [26].

Згодом результати досліджень вчених показали, що репарація ДНК не обмежується лише описаними вище механізмами, а є й інші способи виправлення пошкоджень ДНК. Наприклад, у процесі постреплікативної репарації вихідна послідовність ДНК може відновлюватися внаслідок гомологічної рекомбінації з непошкодженою ДНК іншої хромосоми [27]. Для усунення двониткових розривів ДНК можуть використовуватися репарація ДНК шляхом негомологічного злиття кінців (Non-Homologous End Joining — NHEJ) [28] або репа-

рація ДНК шляхом злиття кінців за рахунок мікрогомології (Microhomology-Mediated End Joining — MMEJ) [29]. В останньому випадку частина ДНК може втрачатися, однак це не має великого значення, оскільки втрачені ділянки часто припадають на некодувальні фрагменти ДНК. Є також системи толерантності до пошкодження, коли клітина може функціонувати і навіть ділитися, незважаючи на пошкодження геному. SOS-репарацію ДНК назвали так від назви міжнародного сигналу лиха SOS, оскільки вона вмикається, коли накопичення великої кількості пошкоджень ДНК загрожує життю клітини. Цей тип репарації відкрили у 1975 р. *Мирослав Радман* [30] і *Евелін Віткін* [31]. Пошкодження ДНК спричинює активацію білка Rec A (у еукаріотів Rad51), а той, у свою чергу, стимулює розщеплення репресорних білків Lex A, які перешкоджають транскрипції різноманітних генів, пов'язаних із репарацією ДНК. Різна спорідненість білка Lex A до операторних ділянок різних генів дає змогу підібрати адекватну відповідь залежно від ступеня пошкоджень ДНК [32]. Є й інші клітинні системи відповіді на ушкодження, що визначають, як клітина відреагує на пошкодження ДНК: буде ділитися, перестане ділитися, відновить пошкодження чи помре. До речі, в 2015 р. американці *Стефан Елледж* і *Евелін Віткін* за дослідження системи відповіді на пошкодження отримали другу за престижністю після Нобелівської — Ласкерівську премію.

Порушення в роботі системи репарації ДНК супроводжуються катастрофічними наслідками для організму. Вони спричиняють тяжкі захворювання, що характеризуються різноманітними симптомами: неврологічними розладами, імунодефіцитними та аутоімунними станами, передчасним старінням, затримкою росту, патологічними змінами шкіри (сухість, розширення капілярів, пігментація, ускладнене загоювання ран), а також підвищеним ризиком розвитку раку. Прикладами таких захворювань є хвороби Альцгеймера, Паркінсона, Гантінгтона, Дауна, трихотіодистрофія, прогерія дорослих і дітей, атаксія-телеангіектазія, системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит, склеродермія та багато інших [33].

Переважна більшість випадків захворювання на рак пов'язані з порушеннями репарації ДНК. Порушення ексцизійної репарації нуклеотидів спричинюють пігментну ксеродерму, за якої перебування на сонці призводить до опіків, а за кілька років життя розвивається рак шкіри. Для таких хворих є характерним навіть рак кінчика язика, який виникає через незначне опромінення під час облизування пересохлих губ на сонці [34]. Генетичні порушення місметчрепарації зумовлюють розвиток спадкового раку кишечника та є найпоширенішою причиною цього захворювання [35]. Діти з дуже серйозними генетичними порушеннями ексцизійної репарації азотистих основ, здебільшого, просто не народжуються. Вони гинуть ще на ембріональній стадії розвитку. Відомо, що глікозилази, задіяні в процесі цієї репарації, можуть мати багато ізоформ, які утворюються внаслідок заміни одного з нуклеотидів у послідовності їх гена. Деякі з цих ізоформ також пов'язані з підвищеним ризиком виникнення онкологічних захворювань [36]. Останнім часом видається перспективним локальне використання інгібіторів ферментів репарації ДНК для лікування онкологічних захворювань, адже саме репарація ДНК у ракових клітинах протидіє хіміо- та радіотерапії, які широко застосовують у лікуванні

раку. В 2014 р. було затверджено застосування в разі серозного раку яєчників препарату «Лінпарза» (виробник — «AstraZeneca», Велика Британія), діючою речовиною якого є олапаріб — інгібітор полі(АДФ-рибоза)-полімерази (PARP), що задіяна в репарації ДНК і виконує полі-АДФ-рибозилювання гістонів [37].

Імовірно, що подальше детальне вивчення механізмів репарації дасть змогу створити підходи для цілеспрямованого виправлення певних мутацій, які стануть основою нових методів лікування багатьох тяжких і невиліковних захворювань. Особливо перспективними для такої прицільної генної терапії видаються найсучасніші методи генетичних виправлень (Gene-Editing Techniques), як, наприклад, метод CRISPR/Cas9 або CRISPR/CPF1, чи їхні модифікації. Ці методи дають можливість прецизійно вносити зміни в структуру ДНК [38]. Цікаво, що коли ця стаття була готова до друку, журнал «Science» визнав метод CRISPR/Cas9 як найвизначніше наукове досягнення 2015 р. Хто знає, можливо, його буде відзначено і Нобелівською премією.

Можливі напрями подальшого розвитку досліджень репарації ДНК обговорювали на конференції Томаса Ліндаля, що відбулася в червні 2015 р. в Осло. Більшість запрошених фахівців у цій галузі науки свого часу працювали в Лабораторії Клер-Холл і є учнями Ліндаля. Цікаво, що сам Томас Ліндаль, підбиваючи підсумки конференції, закликав колег надмірно не захоплюватися прикладними аспектами вивчення репарації ДНК, «припинити труїти щурів» у пошуках нових ліків і повернутися до вивчення фундаментальних питань, які залишаються нез'ясованими [39]. А таких питань, вочевидь, чимало. Особливо, якщо взяти до уваги, що ферменти репарації ДНК можуть бути задіяні й в інших важливих процесах. Наприклад, відомо, що система ексцизійної репарації азотистих основ бере участь у епігенетичних процесах: вона забезпечує спрямовану модифікацію ДНК з метою регулювання активності генів [40]. Крім того, ферменти репарації допомагають організму боротися з вірусами. Наприклад, спеціальний фермент APOBEC заміняє у ДНК вірусу імунодефіциту людини цитозин на урацил, а урацил-ДНК-глікозилаза потім розщеплює вірусну ДНК [41]. До речі, урацил-ДНК-глікозилаза задіяна також у процесі утворення різноманітності антитіл, що є дуже важливим для формування повноцінної імунної відповіді [42]. Швидше за все, людство ще багато чого не знає про призначення ферментів репарації ДНК і попереду на нього чекає безліч відкриттів.

Відкриття та вивчення механізмів репарації ДНК стало одним із найважливіших досягнень біохімії та молекулярної генетики. Очевидно, що репарація відіграла ключову роль у процесі виникнення та еволюції життя на Землі. На користь цього свідчать експерименти Артура Корнберга, який тривалий час після відкриття ним ДНК-полімераз не міг відтворити в пробірці синтез нормальної спіралі ДНК (утворювалися розгалужені полімери), поки не додав ферменти репарації [43]. Завдяки системі репарації з тисячі пошкоджень ДНК лише одне призводить до мутації. Протягом життя ці мутації накопичуються і спричинюють онкологічні та генетичні захворювання, старіння організму.

Чому система репарації залишає невиправленими деякі пошкодження? Чому ферменти біосинтезу ДНК роблять помилки в процесі копіювання генетичної інформації? По-перше, неможливо створити ферменти, які б працюва-

ли зі 100 %-вою ефективністю. По-друге, це і не потрібно робити, адже мутації є рушійною силою еволюції. Саме вони забезпечують можливість виникнення абсолютно нових рис і властивостей організмів, які можуть стати корисними в пристосуванні до змінених умов існування. Рак і спадкові захворювання, що виникають через генетичну нестабільність, є своєрідною платою за генетичне різноманіття, необхідне для виживання виду.

HOW CELLS MANAGE TO KEEP DNA MOLECULES UNDAMAGED OR WHY DOES LIFE EXIST ON EARTH?

The Nobel prize in chemistry, 2015

S.I. Romanyuk, S.V. Komisarenko

On October 7, 2015 in Stockholm, the capital of Sweden in the frame of the 114th Nobel Week the Nobel Committee of the Royal Swedish Academy has awarded the Nobel Prize in Chemistry 2015 to Tomas Lindahl, Paul Modric and Aziz Sancar. This award is especially prestigious because the Nobel Prize founder was Swedish entrepreneur and inventor Alfred Nobel (1833—1896) who himself was a chemist and who got his fortune due to the dynamite invention. Chemistry was second after physics, which was mentioned in his testament.

REFERENCES

1. Forecasting the 2015 Nobel Prize winner. http://thomsonreuters.com/en/press-releases/2015/september/thomsonreuters-forecasts-nobel-prize-winners.html.

2. The 2015 Nobel Prize in Chemistry. Press Release. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/ laureates/2015/press.html.

3. Watson J.D., Crick F.H. The structure of DNA. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 1953. Vol. 18. P. 123.

4. De Bont R., van Larebeke N. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis*. 2004. Vol. 19, N 3. P. 169.

5. DNA damage (naturally occurring). https://en.wikipedia.org/wiki/DNA_damage_(naturally_occurring)#cite_note-31.

6. Gustafsson C.M. Mechanistic studies of DNA repair. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/ laureates/2015/advanced-chemistryprize2015.pdf.

7. Kelner A. Effect of visible light on the recovery of Streptomyces griseus conidia from ultraviolet irradiation injury. *PNAS*. 1949. Vol. 35. P. 73.

8. Dulbecco R. Experiments on photoreactivation of bacteriophages inactivated with ultraviolet radiation. *Journal of Bacteriology*. 1950. Vol. 59, N 3. P. 329.

9. Rupert C.S. Photoreactivation of transforming DNA by an enzyme from bakers' yeast. *Journal of General Physiology*. 1960. Vol. 43, N 3. P. 573.

10. Sancar A., Rupert C.S. Cloning of the phr gene and amplification of photolyase in Escherichia coli. *Genetics*. 1978. Vol. 4, N 4. P. 295.

11. Park H.W., Kim S.T., Sancar A., Deisenhofer J. Crystal structure of DNA photolyase from Escherichia coli. *Science*. 1995. Vol. 268, N 5219. P. 1866.

12. Setlow R.B., Carrier W.L. The disappearance of thymine dimers from DNA: an error-correcting mechanism. *PNAS*. 1964. Vol. 51. P. 226.

13. Boyce R.P., Howard-Flanders P. Release of ultraviolet light-induced thymine dimers from DNA in E. coli K-12. *PNAS*. 1964. Vol. 51. P. 293.

14. Pettijohn D., Hanawalt P. Evidence for repair-replication of ultraviolet damaged DNA in bacteria. *Journal of Molecular Biology*. 1964. Vol. 9. P. 395.

15. Howard-Flanders P., Boyce R.P., Theriot L. Three loci in Escherichia coli K-12 that control the excision of pyrimidine dimers and certain other mutagen products from DNA. *Genetics*. 1966. Vol. 53, N 6. P. 1119.

16. Sancar A., Hack A.M., Rupp W.D. Simple method for identification of plasmid-coded proteins. *Journal of Bacteriology*. 1979. Vol. 137, N 1. P. 692.

17. Sancar A., Rupp W.D. A novel repair enzyme: UVRABC excision nuclease of Escherichia coli cuts a DNA strand on both sides of the damaged region. *Cell*. 1983. Vol. 33, N 1. P. 249.

18. Petit C., Sancar A. Nucleotide excision repair: from E. coli to man. *Biochimie*. 1999. Vol. 81, N 1—2. P. 15.

19. Kato T.Jr., Todo T., Ayaki H. et al. Cloning of a marsupial DNA photolyase gene and the lack of related nucleotide sequences in placental mammals. *Nucleic Acids Research*. 1994. Vol. 22, N 20. P. 4119.

20. Sancar A. Regulation of the mammalian circadian clock by cryptochrome. *Journal of Biological Chemistry*. 2004. Vol. 279, N 33. P. 34079.

21. Wagner R.Jr., Meselson M. Repair tracts in mismatched DNA heteroduplexes. *PNAS*. 1976. Vol. 73, N 11. P. 4135.

22. Pukkila P.J., Peterson J., Herman G., Modrich P., Meselson M. Effects of high levels of DNA adenine methylation on methyl-directed mismatch repair in Escherichia coli. *Genetics*. 1983. Vol. 104, N 4. P. 571.

23. Lahue R.S., Au K.G., Modrich P. DNA mismatch correction in a defined system. *Science*. 1989. Vol. 245, N 4914. P. 160.

24. Lindahl T., Nyberg B. Heat-induced deamination of cytosine residues in deoxyribonucleic acid. *Biochemistry*. 1974. Vol. 13, N 16. P. 3405.

25. Lindahl T. An N-glycosidase from Escherichia coli that releases free uracil from DNA containing deaminated cystosine residues. *PNAS*. 1974. Vol. 71, N 9. P. 3649.

26. Lindahl T. DNA glycosylases in DNA repair. *Basic Life Sciences*. 1986. Vol. 38. P. 335.

27. Schiller C.B., Seifert F.U., Linke-Winnebeck C., Hopfner K.P. Structural studies of DNA end detection and resection in homologous recombination. *Cold Spring Harbor Perspect in Biology*. 2014. Vol. 6, N 10. a017962.

28. Waters C.A., Strande N.T., Wyatt D.W. et al. Nonhomologous end joining: a good solution for bad ends. *DNA Repair*. 2014. Vol. 17. P. 39.

29. Sfeir A., Symington L.S. Microhomology-mediated end joining: a back-up surviva mechanism or dedicated pathway? *Trends in Biochemical Sciences*. 2015. Vol. 40, N 11. P. 701.

30. Radman M. SOS repair hypothesis: phenomenology of an inducible DNA repair which is accompanied by mutagenesis. *Basic Life Sciences*. 1975. Vol. 5A. P. 355.

ISSN 1027-3239 Вісник НАН України. 2016. № 1. С. 30—40.

ДЛЯ ЧОГО ПОТРІБНІ ЦИРКАДНІ РИТМИ, АБО ЯК ЗМІНИТИ ХІД «БІОЛОГІЧНОГО ГОДИННИКА»?

Нобелівська премія з фізіології або медицини, 2017 р.

С.І. Романюк, С.В. Комісаренко

2 жовтня Нобелівський комітет при Каролінському медичному інституті оголосив імена лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини за 2017 р. Ними стали троє американських учених: Джеффрі Холл (Jeffrey C. Hall), Майкл Росбаш (Michael Rosbash) і Майкл Янг (Michael W. Young). Нагороду їм присуджено «за відкриття молекулярних механізмів, що контролюють циркадний ритм».

Щорічне оголошення лауреатів Нобелівських премій без перебільшення є найочікуванішою подією в науковому світі, яка завжди привертає до себе пильну увагу всього суспільства. В 2017 р. 116-й нобелівський тиждень у Стокгольмі розпочався 2 жовтня з оголошення Нобелівським комітетом при Каролінському медичному інституті імен лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини. Список номінантів на премію містив 361 ім'я вчених, які зробили найвагоміші відкриття в цій галузі. За умовами заповіту засновника Нобелівської премії шведського підприємця і винахідника — Альфреда Нобеля (1833—1896) цей список тримається в секреті і його можна оприлюднити тільки через 50 років. Напередодні оголошення рішення Нобелівського комітету відома своїми прогнозами компанія «Clarivate Analytics», яка нещодавно відокремилася від «Thomson Reuters», назвала найімовірніших претендентів на Нобелівську премію з фізіології або медицини 2017 р. По-перше, це Льюїс Кентлі (*Lewis C. Cantley*), директор Центру раку Сандри і Едуарда Мейєр при Медичній школі Корнельського університету (Weill Cornell Medicine) у Нью-Йорку (США), який відкрив сигнальний шлях фосфоінозитид-3-кінази (PI3K) і з'ясував його роль у рості пухлин. По-друге, ймовірним кандидатом на премію назвали Карла Фрістона (*Karl J. Friston*), професора Центру нейровізуалізації Wellcome Trust при Університетському коледжі Лондона (Велика Британія), за його значний внесок у методи аналізування зображень мозку, зокрема зображень, одержаних за допомогою магнітно-резонансної томографії. По-третє, Нобелівську премію могли б отримати Юань Чан (*Yuan Chang*) та її чоловік, Патрік Мур (*Patrick S. Moore*), зі школи медицини Пітсбурзького університету (Пенсильванія, США), за відкриття вірусу герпесу людини 8 (HHV8 або KSHV), що викликає саркому Капоші — злоякісне новоутворення шкіри, яке трапляється в 40—60 % людей зі СНІДом [1].

Крім того, багато хто, зокрема й автори статті, очікував, що Нобелівську премію дадуть за відкриття технології редагування геному методом CRISPR/Cas. Цей метод надав унікальні можливості для точного, швидкого та дешевого внесення змін у геном (gene editing) практично будь-яких організмів і, зрозуміло, його можна використовувати у молекулярній медицині (генній те-

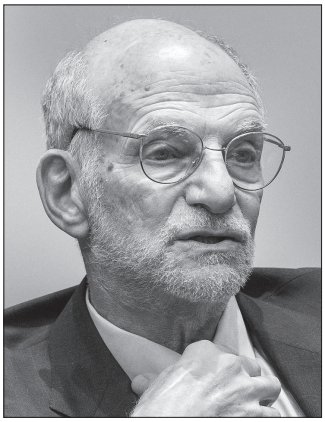
Джеффрі Холл (1945)

рапії) та в сучасних біотехнологіях. Цими вченими могли бути насамперед Дженніфер Дудна (*Jennifer Doudna*) з Каліфорнійського університету в Берклі (США) та французька дослідниця Еммануель Шарпентьє (*Emmanuelle Charpentier*), яка працює в Інституті інфекційної біології Товариства Макса Планка (Берлін, Німеччина) та в Університеті Умео (Швеція).

Проте і цього року прогнози експертів не справдилися. Лауреатами 108-ї Нобелівської премії з фізіології та медицини (212—214 за підрахунком) стали троє американських учених: **Джеффрі Холл** (*Jeffrey C. Hall*), **Майкл Росбаш** (*Michael Rosbash*) та **Майкл Янг** (*Michael W. Young*). Секретар Нобелівського комітету з фізіології та медицини Томас Перлманн (*Thomas Perlmann*) оголосив мотивування рішення про нагородження: вчені удостоєні цієї престижної нагороди «*за відкриття молекулярних механізмів, що контролюють циркадний ритм*». Згідно з офіційним прес-релізом, лауреати «*...змогли проникнути всередину "біологічного годинника" та визначити внутрішні механізми його роботи. Їх відкриття розкривають, як рослини, тварини та люди синхронізують свої біологічні ритми зі змінами, що відбуваються на Землі*» [2]. Церемонія нагородження лауреатів відбувається традиційно 10 грудня в Стокгольмі в день смерті Альфреда Нобеля. Король Швеції Карл XVI Густав вручає лауреатам дипломи та золоті медалі, створені шведським скульптором Еріком Ліндбергом, а наступного дня Нобелівський фонд переказує гроші на їхні банківські рахунки. Через падіння курсу шведської крони було прийнято рішення про збільшення в 2017 р. розміру Нобелівської премії з 8 до 9 млн шведських крон (1,12 млн дол. США).

Хто ці люди, яким у 2017 р. поталанило отримати Нобелівську премію з фізіології або медицини?

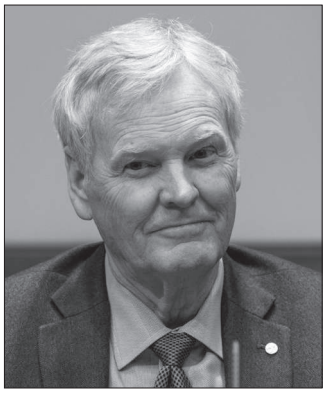
72-річний заслужений професор біології у відставці **Джеффрі Коннор Холл** (англ. *Jeffrey Connor Hall*) працював у США в Брандейському університеті в Уолтемі (штат Массачусетс) та Університеті Мена в Ороно (штат Мен). Джеффрі Холл народився 3 травня 1945 р. у Нью-Йорку в сім'ї репортера агентства «Associated Press» з Брукліна, дитинство провів у передмісті Вашингтона (округ Колумбія). У 18 років вступив до Амхерстського коледжу в Массачусетсі, де здобув ступінь бакалавра. Джеффрі планував присвятити себе медицині, проте під час навчання в коледжі зацікавився генетикою. Першим його вчителем був Філіп Івз (*Philip Ives*), учень генетика Альфреда Стертеванта (*Alfred Sturtevant*). Івз передав Холлу секрети роботи з дрозофілами — найпопулярнішим модельним об'єктом генетики. Пізніше Джеффрі Холл одержав ступінь магістра у Вашингтонському університеті в Сіетлі (штат Вашингтон) і його рекомендували до вступу в аспірантуру при відділі генетики цього університету, де працював під керівництвом Лоренса Сендлера (*Laurence Sandler*). У 1971 р. Джеффрі Холл захистив дисертацію і став співробітником лабораторії Сеймура Бензера (*Seymour Benzer*) у Каліфорнійському технологічному інституті (Пасадена,



Майкл Росбаш (1944)

штат Каліфорнія). З 1974 р. і до виходу на пенсію в 2008 р. він працював у Брандейському університеті (Уолтем, штат Массачусетс), у 2004—2012 рр. за сумісництвом — в Університеті Мена (Ороно, штат Мен). Джеффрі Холл нагороджений медаллю Американського генетичного товариства, є членом Національної академії наук США (2003), його відзначено премією Грубера в галузі нейрології (2009), премією Луїзи Гросс Хорвіц Колумбійського університету (2011), премією Мессрі Університету Південної Каліфорнії, міжнародною премією канадського фонду Gairdner (2012), а також премією Шао в галузі науки про життя та медицини (2013). Нині Джеффрі Холл проживає у сільській місцевості штату Мен. Він залишив науку «...через брак фінансування та збільшення інституційної корупції». Кошти від Нобелівської премії планує передати благодійній організації, яка рятує домашніх тварин від повеней, спричинених ураганами.

73-річний професор **Майкл Морріс Росбаш** (англ. *Michael Morris Rosbash*) працює в США в Брандейському університеті в Уолтемі (штат Массачусетс), а також є дослідником Медичного інституту Говарда Х'юза в Чеві Чейзі (штат Меріленд). Майкл Росбаш народився 7 березня 1944 р. у Канзас-Сіті (штат Міссурі) в сім'ї єврейських біженців, які залишили нацистську Німеччину в 1938 р. Батько Майкла був синагогальним кантором, а мати — цитопатологом. Коли хлопчику виповнилося 2 роки, родина переїхала до Бостона (штат Массачусетс), у 10 років він втратив батька, який помер від серцевого нападу. Майкл Росбаш планував стати математиком, але після курсу біології в Каліфорнійському технологічному інституті (Пасадена, штат Каліфорнія) та літньої практики в лабораторії Нормана Девідсона (*Norman Davidson*) змінив наміри. Росбаш закінчив Каліфорнійський технологічний інститут у 1965 р. зі ступенем з хімії. За рахунок стипендії Фулбрайта він упродовж року стажувався у Фізико-хімічному інституті біології в Парижі і в 1970 р. здобув ступінь PhD з біофізики в Массачусетському технологічному інституті. Після трьох років докторантури в галузі генетики в Единбурзькому університеті (Велика Британія) Росбаш у 1974 р. почав працювати на факультеті Брандейського університету, де познайомився з Джеффрі Холлом, який став не лише співавтором його наукових досліджень, а й другом. У 1980-х роках Росбаш одружився зі своєю аспіранткою, Надею Абович (*Nadja Abovich*), нині має двох дорослих дітей: доньку Таню та пасербицю Паулу. Майкл Росбаш є директором Національного центру поведінкової геноміки Брандейського університету, а з 1989 р. — ще й дослідником Медичного інституту Говарда Х'юза в Чеві Чейзі (штат Меріленд). Крім того, він співзасновник і член науково-консультативної ради компанії «Hypnion Inc.» — дочірньої компанії «Eli Lilly», що займається розробленням ліків проти розладів центральної нервової системи, а також доклінічною перевіркою ліків щодо їх здатності впливати на процеси сну, порушувати циркадні ритми та викликати звикання. Майкл Росбаш нагороджений



Майкл Янг (1949)

премією для розвитку наукової кар'єри Національного інституту здоров'я (1976—1980), премією для видатних випускників Каліфорнійського технологічного інституту (2001), премією в галузі хронобіології «Правило Ашоффа» (2008), премією Грубера в галузі нейрології (2009), премією Луїзи Гросс Хорвіц Колумбійського університету (2011), міжнародною премією канадського фонду Gairdner (2012), премією Мессрі Університету Південної Каліфорнії (2012), XII щорічною премією фонду Wiley в галузі біомедичних наук (2013) та премією Шао в галузі науки про життя та медицини (2013).

68-річний професор **Майкл Уоррен Янг** (англ. *Michael Warren Young*) працює в Рокфеллерівському університеті у Нью-Йорку (США). Він народився 28 березня 1949 р. у Майямі (штат Флорида). Його батьки були далекі від науки: батько працював у компанії з продажу алюмінію, мати — секретарем в юридичній фірмі. Проте вони підтримували інтерес хлопчика до науки. Саме з книги Дарвіна, подарованої батьками, Майкл дізнався про існування загадкового «біологічного годинника» і зацікавився цією темою. Згодом сім'я переїхала в Даллас (штат Техас). У Техаському університеті в Остіні в 1971 р. Майкл Янг здобув ступінь бакалавра з біології, а в 1975 р. — докторський ступінь з генетики. Згодом він перейшов до Медичної школи Стенфордського університету (штат Каліфорнія), а через два роки (у 1978) — до Рокфеллерівського університету в Нью-Йорку. Деякий час працював також у Медичному коледжі Ейнштейна в Нью-Йорку. В 1984 р. отримав звання доцента, в 1988 р. — професора, у 2004 р. його призначили віце-президентом з питань академічних справ Рокфеллерівського університету. У 2007 р. він став членом Національної академії наук США і Американської академії мікробіології. Майкл Янг нагороджений стипендією Фонду Андре та Белли Мейєр (1978), премією Пітендріга/Ашоффа від Товариства досліджень біологічних ритмів (2006), премією Грубера з нейрології (2009), премією Луїзи Гросс Хорвіц Колумбійського університету (2011), премією Мессрі Університету Південної Каліфорнії (2012), міжнародною премією канадського фонду Gairdner (2012), премією Шао у галузі науки про життя та медицини (2013), XII щорічною премією фонду Wiley в галузі біомедичних наук (2013). Ще в Техаському університеті Майкл зустрів свою майбутню дружину — Лорел Екхардт (Laurel Eckhardt), яка нині є професором біології в Хантерському коледжі Університету Нью-Йорка. Вони мають двох доньок — Наталі та Аріссу.

Що саме відкрили лауреати Нобелівської премії з фізіології та медицини (2017)? І що взагалі таке циркадний ритм та «біологічний годинник»?

Циркадні ритми (від лат. *circa* і *diem* — навколо дня або протягом дня) — це циклічні коливання інтенсивності біологічних процесів із періодичністю близько 24 год, яка відповідає часу обертання нашої планети навколо своєї осі та пов'язана з процесом зміни дня і ночі. Циркадні ритми притаманні всім

організмам, що живуть на планеті Земля: бактеріям, грибам, рослинам, тваринам і людині. Якщо організм позбавити можливості відчувати зміну дня і ночі (в умовах експериментальної лабораторії або полярної ночі та полярного дня), він все одно буде відтворювати циркадний ритм з тією самою періодичністю, зберігаючи чіткий режим сну та неспання. Біоритми можуть бути пов'язані не лише з добовими, а й з місячними та сезонними змінами. У різні пори року тривалість світлового дня різна, що спонукає біоритми змінюватися, підлаштовуючись під певну пору року. Наприклад, деякі тварини і рослини взимку впадають у сплячку чи анабіоз.

Сформувалося уявлення про складний молекулярний механізм — «біологічний годинник», який керує змінами розумової активності, поведінки, температури, серцевого ритму, кров'яного тиску, складу крові, концентрації гормонів (зокрема, кортизолу, інсуліну та мелатоніну), обміну речовин тощо. При цьому в різних органах і системах максимальна активність спостерігається в різний час. Наприклад, пік фізичної активності людини припадає на ранній вечір, а різкий стрибок кров'яного тиску — на ранній ранок (саме тому вранці серцеві напади та інсульти трапляються в 2—3 рази частіше), а гормон росту виробляється лише раз на добу, у фазі нічного сну. На роботу цього «годинника» можуть впливати зовнішні чинники, головним з яких є світло. Зазначимо, що завдяки «біологічному годиннику» живі організми не просто реагують на схід Сонця, а здатні передбачати його [3].

Людство знало про існування біоритмів з давніх-давен. Згадки про періодичність явищ живої природи трапляються ще в працях Гіппократа і Аристотеля, а вперше про циркадні ритми у живих організмів згадується в роботі Андростена (325 р. до н. е.) — вченого, який супроводжував Олександра Македонського в походах і спостерігав зміну положення листя у тамаринда, або індійського фініка (*Tamarindus indicus*), протягом дня. Перший експериментальний доказ існування «відчуття часу» у живих істот отримав у 1729 р. французький астроном Жан-Жаком де Мераном, який спостерігав за ритмічним згортанням і розкриттям листя мімози (*Mimosa pudica*) в умовах цілодобової відсутності світла, а в 1834 р. відомий швейцарський ботанік Огюстен Декандоль визначив, що період рухів листя мімози коротший за добу і становить 22—23 год. У 1880 р. Чарльз Дарвін і його син Френсіс зробили припущення про спадкову природу циркадних ритмів і експериментально довели його, схрещуючи рослини квасолі з різними періодами циркадних ритмів (у гібридів довжина періоду відрізнялася від довжини періоду в обох батьків) [4]. Ендогенну природу циркадних ритмів остаточно підтвердили вчені з Університету Нью-Йорка в 1984 р. у дослідах з грибами *Neurospora crassa*, проведеними в космосі [5].

Проте, як саме влаштований цей точний «годинниковий механізм», залишалося загадкою протягом багатьох століть.

Лише в 1960-х роках розпочалося активне вивчення молекулярного механізму «біологічного годинника». У 1969 р. вчений румунського походження Франц Халберг (*Franz Halberg*) з Міннесотського університету в Міннеаполісі (США) запропонував назву «хронобіологія» для науки, що вивчає циркадні ритми [6], і став одним з її фундаторів. Невдовзі, в 1971 р., у цій галузі було

зроблено значний прорив, і здійснили його Сеймур Бензер (*Seymour Benzer*) з Каліфорнійського технологічного університету в Пасадені (США) та його студент словацького походження Рональд Конопка (*Ron Konopka*). Спостерігаючи за життєвим циклом плодових мушок — дрозофіл, Конопка виявив мутантних мух із порушеним циклом (вкороченим, подовженим або аперіодичним). Дослідники припустили, що ці порушення спричинені мутацією в певному гені period (або скорочено per), і виявили цей ген у Х-хромосомі [7]. Цікаво, що Сеймур Бензер був фізиком за освітою й успішно працював у галузі напівпровідників, але, зацікавившись генетикою, в 1950 р. відкрив новий метод рекомбінації бактеріофагів, а в 1961 р. разом з Френсісом Кріком довів триплетність генетичного коду. На жаль, він помер у 2007 р., так і не дочекавшись нобелівської нагороди за жодне зі своїх великих відкриттів. Рональд Конопка помер у 2015 р. і також не міг претендувати на Нобелівську премію. Тому в 2017 р. премією нагородили вчених, які зробили другий, проте не менш важливий крок на шляху до розкриття таємниці «біологічного годинника».

У 1984 р. Джеффрі Холл і Майкл Росбаш, які працювали в Брандейському університеті в Уолтемі, клонували ген period і визначили його нуклеотидну послідовність [8]. Разом з Рональдом Конопкою і колегами з Массачусетського та Нью-Йоркського університетів вони виділили функціональну частину гена per, клонували її в бактеріях, а потім вставили за допомогою плазмідних векторів мухам із мутаціями в гені per. Як наслідок, отримали мух з нормальним циркадним ритмом [9]. Незалежно від них у тому самому 1984 р. це зробив і Майкл Янг з Рокфеллерівського університету Нью-Йорка [10]. У 1990 р. учень Росбаша—Пол Хардін (*Paul E. Hardin*) помітив циклічні коливання протягом доби мРНК гена per, які відбувалися з певним зсувом у часі відносно коливань рівня протеїну PER, що зростав протягом ночі (протеїн синтезувався) та знижувався впродовж дня (протеїн руйнувався під впливом певних чинників, у тому числі світла). Це спостереження дало змогу Холлу і Росбашу припустити існування петлі зворотного зв'язку, завдяки якій система регулює сама себе: коли протеїну PER накопичується надто багато, він блокує активність власного гена і припиняє синтез мРНК та протеїну PER [11]. Це було дуже важливе відкриття, оскільки, як виявилося пізніше, на принципі петлі зворотного зв'язку транскрипції/трансляції побудовано регуляцію роботи інших, тоді ще невідомих компонентів «біологічного годинника» у більшості видів живих організмів. У 1992 р. Холл і Росбаш отримали підтвердження своєї гіпотези, виявивши за допомогою імуноцитохімічних методів накопичення протеїну PER протягом ночі всередині клітинного ядра [12].

Проте було абсолютно незрозуміло, як цей протеїн потрапляє в ядро, адже він синтезується в цитоплазмі. Відповідь на це питання в 1994 р. знайшов Майкл Янг, який відкрив новий ген timeless, мутації в якому впливали на добові ритми активності дрозофіл [13]. Виявилося, що продукт цього гена TIM утворює комплекс з протеїном PER, захищає його від руйнування та забезпечує доставку в ядро [14]. Крім того, протеїн TIM сам здатен руйнуватися під впливом світла, що сприяє пристосуванню життєвого циклу до зміни дня і ночі [15]. Яким же чином протеїни PER і TIM блокують гени в ядрі?

Це стало зрозумілим після того, як у 1998 р. Холл і Росбаш відкрили у дрозофіли гени транскрипційних факторів clock [16] і cycle [17]. Зауважимо, що на рік раніше Джозеф Такахаші (*Joseph Takahashi*) виявив у миші ген clock [18]. Продукти цих генів CLK і CYC утворюють комплекс, який зв'язується з певною послідовністю E-Box (Enhancer Box — CACGTG) у промоторах генів period, timeless (і, як виявилося пізніше, багатьох інших циркадних генів) та стимулює їх транскрипцію. Коли комплекс протеїнів PER і TIM потрапляє в ядро, він блокує транскрипційні фактори CLK і CYC, що зумовлює інгібування транскрипції генів period і timeless. До речі, роль послідовностей E-Box в активації гена period у 1997 р. з'ясував Пол Хардін [19], який тоді вже не працював з Росбашем, а вперше послідовність E-Box виявили в 1985 р. Сусуму Тонегава (*Susumu Tonegawa*), лауреат Нобелівської премії з фізіології або медицини (1987), який відкрив генетичний принцип походження різноманітності антитіл, і Волтер Гілберт (*Walter Gilbert*), лауреат Нобелівської премії з хімії (1980) за відкриття методу секвенування ДНК [20].

У 1998 р. Холл і Росбаш також виявили у дрозофіли ген cryptochrome, що кодує протеїн фоторецептора CRY, який реагує на синє та ультрафіолетове світло, забезпечуючи тим самим надходження в мозок інформації про освітленість і час доби [21]. CRY у присутності світла зв'язується з протеїном TIM і сприяє його швидкій деградації, доки TIM не почне знову накопичуватися в темряві [22]. Цікаво, що в 2016 р. китайські вчені заявили про відкриття у дрозофіли протеїну MagR, який взаємодіє з молекулами CRY, утворюючи магніточутливий стрижнеподібний мультимерний комплекс, що орієнтується в магнітному полі Землі певним чином і є внутрішньоклітинним магнітним рецептором [23].

У тому самому 1998 р. Майкл Янг відкрив ген dbt (double-time), що кодує протеїн DBT (казеїнкіназу 1), який, як виявилося, фосфорилює протеїн PER, що сприяє його деградації та запобігає утворенню надлишку цього протеїну в цитоплазмі, а також забезпечує стабільність добових ритмів у разі порушення зміни дня і ночі, коли порушується циклічність надходження протеїну TIM у цитоплазму. Крім того, протеїн DBT уповільнює накопичення протеїну PER для того, щоб «розтягнути» коливальний цикл до 24 год [24].

Після цього всі зрозуміли, що механізм «біологічного годинника» складніший, ніж здавалося спочатку. Один за одним почали відкривати нові гени, пов'язані з циркадними ритмами: shaggy (протеїнкіназа SGG, що фосфорилює TIM і регулює його транспорт у ядро) [25], casein kinase 2 (протеїнкіназа CK2, що разом з DBT фосфорилює PER) [26], vrille та PAR domain protein 1 (фактори транскрипції VRI та Pdp1, що регулюють транскрипцію CLK) [27, 28], jetlag (протеїн JET, що забезпечує деградацію TIM і CRY у протеасомі) [29] та ін. До речі, гени shaggy, vrille і PAR domain protein 1 було відкрито за участю лабораторії Майкла Янга.

Виявилося, що в кожній клітині організму є власний, досить складний «біологічний годинник», який відраховує добовий цикл. Але як багатоклітинному організму вдається працювати злагоджено? Як усі ці «годинники» синхронізуються і де знаходиться головний з них — той, що задає ритм?

Нескладно здогадатися, що головний «біологічний годинник» знаходиться в мозку. Ще в 1970-х роках було відомо, що супрахіазмальне ядро гіпоталамуса має стосунок до регуляції сну, і висловлювалося припущення, що існування в тварин двох піків активності (зранку та ввечері) пояснюється роботою двох пов'язаних генераторів коливань: ранковий генератор M (від англ. *morning* — ранок) відповідає за активність уранці та прискорюється світлом; вечірній генератор E (від англ. *evening* — вечір) зумовлює активність увечері і сповільнюється світлом [30]. Лише через 30 років встановили, де саме знаходиться центральний «біологічний годинник» і як він працює. Як виявилося, генератор E — це дорсальні бічні нейрони LN(d)s супрахіазмального ядра гіпоталамуса, а генератор M — це відповідні вентральні бічні нейрони LN(v)s, які є головними завдяки здатності підтримувати цілодобовий цикл у постійній темряві та синтезувати нейропептид PDF (фактор дисперсії пігменту) [31], що відіграє важливу роль у передаванні сигналу між різними групами нейронів. До речі, PDF було відкрито в дрозофіли в 1998 р. у лабораторії Джеффрі Холла [32]. Один з учнів Янга — Джастін Блау (*Justin Blau*) з Університету Нью-Йорка дослідив супрахіазмальне ядро гіпоталамуса личинок дрозофіли, яке складається всього з 6 нейронів, і показав, що M-клітини вранці активуються за участю протеїну TIM і передають цей сигнал одна одній, а потім — E-клітинам. Увечері активуються E-клітини, і все відбувається навпаки [33].

За такого обміну сигналами «годинники» в нейронах синхронізуються і сигнал передається шишкоподібній залозі або епіфізу, який іноді називають «третім оком», оскільки в деяких риб, амфібій і рептилій він розташований на маківці і може отримувати інформацію про освітленість. У ссавців епіфіз знаходиться всередині мозку, але все одно отримує сигнали про освітленість через зорові нерви від гангліозних клітин сітківки, що містять фоточутливі криптохромні та меланопсинові рецептори. Цікаво, що меланопсин хребетних тварин і людини, який бере участь у регулюванні добових циклів, дуже подібний до родопсину безхребетних, який має відношення до зору [34].

Одержавши сигнал, епіфіз виділяє гормони мелатонін і серотонін, які синхронізують циркадні ритми в усіх клітинах організму. Мелатонін є гормоном сну і синтезується в темряві, а серотонін — гормоном радості, бадьорості та працездатності й виробляється вдень, особливо на яскравому світлі. Дія багатьох антидепресантів ґрунтується на блокуванні зворотного захоплення серотоніну нейронами, які його виділяють. Крім регуляції циркадних ритмів ці гормони виконують в організмі багато інших функцій, наприклад мелатонін є імуностимулятором і найпотужнішим антиоксидантом, що захищає від ушкоджень ДНК, запобігаючи виникненню раку, а серотонін регулює чутливість больових рецепторів і стимулює зсідання крові. Цікаво, що мелатонін синтезується з серотоніну, а саме — є його індольною похідною. Тому порушення сну, які намагаються лікувати мелатоніном, часто спричинені нестачею серотоніну. Зазначимо, що дослідження ролі серотоніну у функціонуванні головного мозку проводилося в Інституті біохімії АН УРСР ще за життя академіка О.В. Палладіна, зокрема було темою докторської дисертації М.Д. Курського [35]. У регулюванні синтезу мелатоніну беруть участь гормони кортизол, естроген і тестостерон, а для їх синтезу необхідний холестерин, що міститься

в продуктах тваринного походження. Тому неповноцінне харчування також є однією з причин безсоння. Такий механізм синхронізації циркадних ритмів є універсальним і працює як у людини, так і у дрозофіли [36].

Більшість генів, які забезпечують роботу «біологічного годинника» у дрозофіли, мають гомологи в геномах усіх тварин, хоча деталі механізму «годинника» у різних класів тварин можуть різнитися (наприклад, у ссавців є 3 гени period і 2 гени cryptochrome, а гомолог CYC називають BMAL1) [37]. У рослин за роботу «біологічного годинника» відповідають переважно інші протеїни: важливу роль відіграє система протеїнів фітохромів, які реагують на зміну спектрального складу світла і сигналізують про час доби та пору року. Проте «біологічний годинник» рослин працює на тих самих принципах регуляції, які були відкриті нобелівськими лауреатами за 2017 р. [38]. Завдяки цим відкриттям біологія циркадних ритмів, або хронобіологія, перетворилася на наукову дисципліну, яка зараз активно вивчає механізми регулювання «біологічного годинника» у різних видів живих організмів і намагається одержати відповіді на безліч нових запитань.

З'являється все більше фактів на користь того, що в регуляції роботи «біологічного годинника» важливу роль відіграють поліморфізм циркадних генів [39], мікроРНК [40], а також епігенетичні процеси (метилування та ацетилування ДНК і гістонів) [41]. Наявність циркадних коливань у еритроцитах ссавців, що в процесі дозрівання втрачають ядро, рибосоми та мітохондрії, дала змогу припустити існування іншого механізму регуляції «біологічного годинника» крім петель зворотного зв'язку транскрипції/трансляції [42]. Таким механізмом можуть бути метаболічні та окисно-відновні цикли, наприклад, за участю антиоксидантних протеїнів пероксиредоксинів, які тісно пов'язані з циркадними ритмами і можуть виявитися невід'ємним елементом для їх генерації [43]. Крім того, нині активно вивчають, як саме організми пристосовують свої «біологічні годинники» до змін не тільки освітленості, а й інших чинників. Встановлено, що циркадний датчик температури знаходиться не в мозку, а на периферії. Важливу роль у передачі інформації про температуру в дрозофіли можуть відігравати фосфоліпаза С, що кодується геном norpA, великий глутамінбагатий протеїн з невідомими поки що функціями, який кодується геном nocte, і рецептор IR25a [44, 45]. Припускають, що зворотний зв'язок від механосенсорних і, зокрема, пропріоцептивних органів може адаптувати «біологічний годинник» до власних рухів і дій комахи [46].

Уже не вперше Нобелівська премія з фізіології або медицини фактично виявляється премією з біології. Проте від премії з медицини завжди чекають певних перспектив упровадження в лікувальну практику. Відкриття лауреатів (2017) є зразком фундаментальної науки.

Як саме результати цих досліджень можна використати на практиці, хоча б у віддаленій перспективі?

Уже зараз намагаються підвищити ефективність ліків і зменшити їхню побічну дію, застосовуючи медичні препарати в певний період доби, розрахований згідно з циркадними ритмами пацієнта. Наприклад, препарати ловастатину, що знижують рівень холестерину, приймають уночі, оскільки саме в

цей час рівень його ферменту-«мішені» є найвищим. Також хронотерапевтичні підходи успішно використовують під час лікування різних видів раку [47].

Відомо, що люди поділяються на «сов» і «жайворонків» залежно від здатності ефективно працювати відповідно ввечері чи зранку. Тих, хто активно працює вдень, вчасно засинає ввечері і легко прокидається вранці, називають «голубами». Чим зумовлений такий поділ? Можливо, це звичка або сови — просто ледарі. Здебільшого саме так і є, тому порушення сну в таких людей легко лікувати дотриманням чіткого режиму. Проте в деяких людей проблеми зі сном дійсно спричинені генетичними порушеннями в роботі «біологічного годинника». Наприклад, мутація в гені людини per2 зумовлює синдром передчасної фази сну (advanced sleep phase syndrome — ASPS), коли людина лягає спати засвітла і прокидається вночі, тобто є «гіпержайворонком» [48]. А мутація в гені людини per3 викликає протилежний ефект — синдром затримки фази сну (delayed sleep-phase syndrome — DSPS), коли людина засинає пізно вночі і фізіологічно не здатна прокинутися о сьомій ранку. В 1 із 75 осіб «совиний» режим спричинений генетичною мутацією протеїну CRY1 [49]. Іноді жартома виділяють ще одну категорію людей — «дятлів», які активні та бадьорі в будь-який час доби. Виявляється, що в цьому жарті є лише частка жарту: люди, які мало сплять, але при цьому висипаються, дійсно існують. З'ясувалося, що фенотип короткого сну викликаний мутаціями в гені людини dec2 [50], а транскрипційний фактор DEC2, який кодується цим геном, зв'язується з BMAL1 (гомологом CLK) і зумовлює пригнічення активності гена per1 [51].

Іноді ушкодження ділянок мозку, важливих для роботи «біологічного годинника», зумовлюють дуже серйозні захворювання. Наприклад, мутація в гені пріонового протеїну PRNP призводить до утворення амілоїдних бляшок у таламусі та розвитку невиліковного захворювання, яке називають фатальним сімейним безсонням, що проявляється безсонням, галюцинаціями, слабоумством і смертю через півтора року від перевтоми та абсолютної нездатності спати. Цікаво, що мутація в цьому самому гені спричинює синдром Крейтцфельдта—Якоба — дистрофічне захворювання ЦНС, яке є проявом пріонової хвороби, або губчатої енцефалопатії [52].

Люди здавна помітили, що неузгодженість між способом життя та «біологічним годинником» може мати негативні наслідки для здоров'я. Нині цей факт підтверджено епідеміологічними дослідженнями і лабораторними дослідами на мишах [53]. Відомо, що в разі швидкої зміни часового поясу (наприклад, при перельотах літаком) людина тривалий час (приблизно протягом тижня) не може пристосуватися до нового ритму життя і перебуває у стані «джетлагу» (від англ. *jet* — реактивний літак; *lag* — відставання, зміщення фаз). Ті, кому доводиться багато подорожувати, змінюючи часові пояси, постійно вживають гормони сну та неспання, що шкодить здоров'ю через пригнічення синтезу цих гормонів власним організмом. Іноді людина змушена порушувати природний ритм «біологічного годинника» під впливом певних соціальних чинників: ненормований робочий день або робота в нічну зміну, догляд за маленькими дітьми, які часто не сплять уночі. В такому разі виникає подібний стан «соціального джетлагу», який людина переносить дуже тяжко. Всі, хто

працює вночі, знають, як це складно. Не кожна людина може витримати такий ритм, хоча за роботу в нічні зміни й платять більше.

Зараз активно вивчають взаємозв'язок циркадних ритмів і метаболізму, а також причини виникнення метаболічних порушень у разі збою «біологічного годинника» [54]. Хронічне перебування в стані «джетлагу» незалежно від причин, що його викликали, може призвести до фатальних наслідків для здоров'я: пришвидшення старіння, порушення репродуктивної функції в жінок, збільшення ризику розвитку ожиріння, цукрового діабету, інфаркту міокарда, інсульту і навіть раку [55, 56]. Дуже небезпечним є вплив на нервову систему: починаючи від зниження продуктивності праці та депресії до порушення когнітивних функцій і серйозних психічних розладів, що нерідко стають причиною трагічних подій [57]. Так, післяпологова депресія в жінок, зумовлена гормональною перебудовою та «соціальним джетлагом», іноді призводить до вбивства матір'ю дитини. Навіть природні сезонні зміни в роботі «біологічного годинника» здатні спричинити сезонні депресії, неврози або психози. Щоб зменшити розбіжності між робочим графіком та світловим днем, які можуть викликати у населення втрату працездатності, в багатьох країнах (переважно Європи та Північної Америки) два рази на рік змінюють час на 1 год — переходять з літнього часу на зимовий і навпаки.

Хронобіологічні дослідження нині є актуальними як ніколи, оскільки суспільства розвинених країн охопила криза сну. Пріоритетом для сучасної людини є робота, кар'єра, гроші, а не власне здоров'я. Більше того, відмова від сну вже сприймається як необхідний елемент успіху. З появою електронних гаджетів люди цілодобово можуть працювати, спілкуватися, перебувають у постійній готовності відповісти, прореагувати, а їхній робочий день фактично не закінчується ніколи. Дуже шкідливим є використання яскравого штучного світла вночі, що порушує роботу всіх систем організму. Особливо шкідливим є синє світло світлодіодів (з довжиною хвилі 480 нм), яке часто використовують у сучасних приладах [58]. Не дивно, що безсоння та захворювання, зумовлені порушенням циркадних ритмів, невпинно поширюються. У китайській, японській та корейській мовах навіть з'явилося спеціальне слово, яким позначають смерть на роботі від перевтоми. В англійській чи українській мовах, на щастя, такого слова поки що немає, але невдовзі воно може знадобитися [57]. Виникає питання: якщо неможливо змінити режим роботи чи спосіб життя, чому б не «підкрутити» «біологічний годинник». Це дуже спокуслива можливість, зважаючи на те, що багатьом людям не вистачає дня для вирішення всіх своїх справ, не кажучи вже про необхідність у майбутньому адаптуватися до іншої тривалості доби в разі колонізації людством інших планет і майбутніх космічних подорожей.

Завдяки відкриттю механізму регулювання циркадних ритмів можна говорити про теоретичну можливість створення препаратів, які могли б відкоригувати цикл. Уже розпочався пошук речовин, які б специфічно взаємодіяли з продуктами циркадних генів. Так, під час скринінгу бібліотеки з 60 тис. малих молекул знайдено речовину, яка взаємодіє з CRY [59]. Якби вдалося розробити подібні препарати, проблеми з недосипанням залишилися б у минулому. Головне, щоб ціна, яку людство має заплатити природі за таку можливість, не

виявилася занадто високою. Проте пророчими чомусь видаються слова провідного німецького хронобіолога Тілля Реннеберга: «Сумніваюся, що хтось захоче скорочувати тривалість сну, коли ми по-справжньому зрозуміємо, для чого він потрібен» [57].

Насамкінець автори статті мають зізнатися, що, на жаль, самі з різних причин дуже часто не дотримуються правил тривалості повноцінного сну.

WHY CIRCADIAN RHYTHMS ARE NEEDED, OR HOW TO CHANGE THE RATE OF THE «BIOLOGICAL CLOCK»?

The Nobel prize in physiology or medicin, 2017

S.I. Romanyuk, S.V. Komisarenko

On October 2, the Nobel Committee at Karolinska Institutet announced the names of the winners of the Nobel Prize in Physiology or Medicine for 2017. They are three American scientists Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash, and Michael W. Young. The Prize was awarded to them «for their discoveries of molecular mechanisms controlling the circadian rhythm».

REFERENCES

1. The 2017 Clarivate Citation Laureates. https://clarivate.com/2017-citation-laureates/

2. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2017. Press Release. https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2017/press.html.

3. Circadian rhythm. From Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Circadian_rhythm.

4. Circadian rhythm [Циркадный ритм]. https://wikivisually.com/lang-ru/wiki/Циркадный_ритм.

5. Sulzman F.M., Ellman D., Fuller C.A. et al. Neurospora circadian rhythms in space: a reexamination of the endogenous-exogenous question. *Science*. 1984. Vol. 225. P. 232. http://www.jstor.org/stable/1693133.

6. Halberg F. Chronobiology. *Annual Review Physiology*. 1969. Vol. 31. P. 675. https://doi.org/10.1146/annurev.ph.31.030169.003331.

7. Konopka R.J., Benzer S. Clock mutants of Drosophila melanogaster. *PNAS*. 1971. Vol. 68, N 9. P. 2112. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.68.9.2112.

8. Reddy P., Zehring W.A., Wheeler D.A. et al. Molecular analysis of the period locus in Drosophila melanogaster and identification of a transcript involved in biological rhythms. *Cell*. 1984. Vol. 38, N 3. P. 701. http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(84)90265-4.

9. Bargiello T.A., Jackson F.R., Young M.W. Restoration of circadian behavioral rhythms by gene transfer in Drosophila. *Nature*. 1984. Vol. 312, N 5996. P. 752.

10. Zehring W.A., Wheeler D.A., Reddy P. et al. P-element transformation with period locus DNA restores rhythmicity to mutant, arrhythmic Drosophila melanogaster. *Cell*. 1984. Vol. 39, N 2. P. 369. http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(84)90015-1.

11. Hardin P.E., Hall J.C., Rosbash M. Feedback of the Drosophila period gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature*. 1990. Vol. 343, N 6258). P.536. http://dx.doi.org/10.1038/343536a0.

12. Liu X., Zwiebel L.J., Hinton D. et al. The period gene encodes a predominantly nuclear protein in adult Drosophila. *Neuroscience*. 1992. Vol. 12, N 7. P. 2735.

13. Sehgal A., Price J.L., Man B., Young M.W. Loss of circadian behavioral rhythms and per RNA oscillations in the Drosophila mutant timeless. *Science*. 1994. Vol. 263, N 5153. P. 1603. http://dx.doi.org/10.1126/science.8128246.

14. Gekakis N., Saez L., Delahaye-Brown A.M. et al. Isolation of timeless by PER protein interaction: defective interaction between timeless protein and long-period mutant PERL. *Science*. 1995. Vol. 270, N 5237. P. 811. http://dx.doi.org/10.1126/science.270.5237.811.

15. Myers M.P., Wager-Smith K., Rothenfluh-Hilfiker A., Young M.W. Light-induced degradation of TIMELESS and entrainment of the Drosophila circadian clock. *Science*. 1996. Vol. 271, N 5256. P. 1736. http://dx.doi.org/10.1126/ science.271.5256.1736.

16. Allada R., White N.E., So W.V. et al. A mutant Drosophila homolog of mammalian Clock disrupts circadian rhythms and transcription of period and timeless. *Cell*. 1998. Vol. 93, N 5. P. 791. http://dx.doi.org/10.1016/S0092- 8674(00)81440-3n.

17. Rutila J.E., Suri V., Le M. et al. CYCLE is a second bHLH-PAS clock protein essential for circadian rhythmicity and transcription of Drosophila period and timeless. *Cell*. 1998. Vol. 93, N 5. P. 805. http://dx.doi. org/10.1016/S0092-8674(00)81441-5.

18. King D.P., Zhao Y., Sangoram A.M. et al. Positional cloning of the mouse circadian clock gene. *Cell*. 1997. Vol. 89, N 4. P. 641. http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80245-7.

19. Hao H., Allen D.L., Hardin P.E. A circadian enhancer mediates PER-dependent mRNA cycling in Drosophila melanogaster. *Molecular Cell Biology*. 1997. Vol. 17, N 7. P. 3687. http:// dx.doi.org/10.1128/MCB.17.7.3687.

20. Ephrussi A., Church G.M., Tonegawa S., Gilbert W. B lineage-specific interactions of an immunoglobulin enhancer with cellular factors in vivo. *Science*. 1985. Vol. 227, N 4683. P. 134. http://dx.doi.org/10.1126/science.3917574.

21. Emery P., So W.V., Kaneko M. et al. CRY, a Drosophila clock and light-regulated cryptochrome, is a major contributor to circadian rhythm resetting and photosensitivity. *Cell*. 1998. Vol. 95, N 5. P. 669. http://dx.doi. org/10.1016/S0092-8674(00)81637-2.

22. Ceriani M.F., Darlington T.K., Staknis D. et al. Light-dependent sequestration of TIMELESS by CRYPTOCHROME. *Science*. 1999. Vol. 285, N 5427. P. 553. http://dx.doi. org/10.1126/ science.285.5427.553.

23. Qin S., Yin H., Yang C. et al. A magnetic protein biocompass. *Nature Materials*. 2016. Vol. 15, N 2. P. 217. http:// dx.doi.org/10.1038/nmat4484.

24. Price J.L., Blau J., Rothenfluh A. et al. Double-time is a novel Drosophila clock gene that regulates PERIOD protein accumulation. *Cell*. 1998. Vol. 94, N 1. P. 83. http://dx.doi.org/10.1016/ S0092-8674-(00)81224-6.

25. Martinek S., Inonog S., Manoukian A.S., Young M.W. A role for the segment polarity gene shaggy/GSK-3 in the Drosophila circadian clock. *Cell*. 2001. Vol. 105, N 6. P. 769. http://dx.doi. org/10.1016/S0092-8674(01)00383-X.

26. Lin J.M., Kilman V.L., Keegan K. et al. A role for casein kinase 2alpha in the Drosophila circadian clock. *Nature*. 2002. Vol. 420, N 6917. P. 816. http://dx.doi.org/10.1038/nature01235.

27. Blau J., Young M.W. Cycling vrille expression is required for a functional Drosophila clock. *Cell*. 1999. Vol. 99, N 6. P. 661. http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81554-8.

28. Cyran S.A., Buchsbaum A.M., Reddy K.L. et al. Vrille, Pdp1, and dClock form a second feedback loop in the Drosophila circadian clock. *Cell*. 2003. Vol. 112, N 3. P. 329. http:// dx.doi. org/10.1016/S0092-8674(03)00074-6.

29. Koh K., Zheng X., Sehgal A. JETLAG resets the Drosophila circadian clock by promoting light-induced degradation of TIMELESS. *Science*. 2006. Vol. 312, N 5781. P. 1809. http://dx.doi. org/10.1126/science.1124951.

30. Pittendrigh C.S., Daan S. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V. Pacemaker structure: a clock for all seasons. *Journal of Comparative Physiology*. 1976. Vol. 106, N 2. P. 333. http://dx.doi.org/10.1007/BF01417860.

31. Grima B., Chelot E., Xia R., Rouyer F. Morning and evening peaks of activity rely on different clock neurons of the Drosophila brain. *Nature*. 2004. Vol. 431, N 7010. P. 869. http:// dx.doi.org/10.1038/nature02935.

32. Park J.H., Hall J.C. Isolation and chronobiological analysis of a neuropeptide pigment-dispersing factor gene in Drosophila melanogaster. *Journal of Biological Rhythms*. 1998. Vol. 13, N 3. P. 219. http://dx.doi.org/10.1177/074873098129000066.

33. Collins B., Kane E.A., Reeves D.C. et al. Balance of activity between LN(v)s and glutamatergic dorsal clock neurons promotes robust circadian rhythms in Drosophila. *Neuron*. 2012. Vol. 74, N 4. P. 706. http://dx.doi. org/10.1016/j.neuron.2012.02.034.

34. Hankins M.W., Peirson S.N., Foster R.G. Melanopsin: an exciting photopigment. *Trends Neurosci*. 2008. Vol. 31, N 1. P. 27. http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2007.11.002.

35. Kursky M.D. The role of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in bioenergetic processes: Ph.D (Biol.) thesis. Kyiv, 1971. [Курский М.Д. Роль 5-окситриптамина (серотонина) в биоэнергетических процессах: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Киев, 1971].

36. Serotonin vs melatonin or balance of nature [Серотонин vs мелатонин или баланс природы]. https://kactaheda. livejournal.com/168608.html.

37. Lowrey P.L., Takahashi J.S. Genetics of the mammalian circadian system: Photic entrainment, circadian pacemaker mechanisms, and posttranslational regulation. *Annual Review of Genetics*. 2000. Vol. 34. P. 533. http://dx.doi.org/10.1146/annurev. genet.34.1.533.

38. Nohales M.A., Kay S.A. Molecular mechanisms at the core of the plant circadian oscillator. *Nature Structural and Molecular Biology*. 2016. Vol. 23, N 12. P. 1061. http://dx.doi.org/10.1038/nsmb.3327.

39. Tauber E., Zordan M., Sandrelli F. et al. Natural selection favors a newly derived timeless allele in Drosophila melanogaster. *Science*. 2007. Vol. 316, N 5833. P. 1895. http://dx.doi.org/10.1126/science.1138412.

40. Chacolla-Huaringa R., Moreno-Cuevas J., Trevino V., Scott S.P. Entrainment of Breast Cell Lines Results in Rhythmic Fluctuations of MicroRNAs. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017. Vol. 18, N 7. P. E1499. http://dx.doi.org/10.3390/ijms18071499.

41. Feng D., Liu T., Sun Z. et al. A circadian rhythm orchestrated by histone deacetylase 3 controls hepatic lipid metabolism. *Science*. 2011. Vol. 331, N 6022. P. 1315. http://dx.doi.org/10.1126/ science.1198125.

42. O'Neill J.S., Reddy A.B. Circadian clocks in human red blood cells. *Nature*. 2011. Vol. 469, N 7331. P. 498. http://dx.doi. org/10.1038/nature09702.

43. Edgar R.S., Green E.W., Zhao Y. et al. Peroxiredoxins are conserved markers of circadian rhythms. *Nature*. 2012. Vol. 485, N 7399. P. 459. http://dx.doi. org/10.1038/nature11088.

44. Sehadova H., Glaser F.T., Gentile C. et al. Temperature entrainment of Drosophila's circadian clock involves the gene nocte and signaling from peripheral sensory tissues to the brain. *Neuron*. 2009. Vol. 64, N 2. P. 251. http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2009.08.026.

45. Chen C., Buhl E., Xu M. et al. Drosophila Ionotropic Receptor 25a mediates circadian clock resetting by temperature. *Nature*. 2015. Vol. 527, N 7579. P. 516. http://dx.doi. org/10.1038/nature16148.

46. Simoni A., Wolfgang W., Topping M.P. et al. A mechanosensory pathway to the Drosophila circadian clock. *Science*. 2014. Vol. 343, N 6170. P. 525. http://dx.doi.org/10.1126/science.1245710.

47. Ozturk N., Ozturk D., Kavakli I.H., Okyar A. Molecular Aspects of Circadian Pharmacology and Relevance for Cancer Chronotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017. Vol. 18, N 10. P. E2168. http://dx.doi.org/10.3390/ijms18102168.

48. Toh K.L., Jones C.R., He Y. et al. An hPer2 phosphorylation site mutation in familial advanced sleep phase syndrome. *Science*. 2001. Vol. 291, N 5506. P. 1040. http://dx.doi.org/10.1126/science.1057499.

49. Patke A., Murphy P.J., Onat O.E. et al. Mutation of the Human Circadian Clock Gene CRY1 in Familial Delayed Sleep Phase Disorder. *Cell*. 2017. Vol. 169, N 2. P. 203. http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.03.027.

50. He Y., Jones C.R., Fujiki N. et al. The transcriptional repressor DEC2 regulates sleep length in mammals. *Science*. 2009. Vol. 325, N 5942. P. 866. http://dx.doi.org/10.1126/science.1174443.

51. Honma S., Kawamoto T., Takagi Y. et al. Dec1 and Dec2 are regulators of the mammalian molecular clock. *Nature*. 2002. Vol. 419, N 6909. P. 841. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-405943-6.00010-5.

52. Goldfarb L.G., Petersen R.B., Tabaton M. et al. Fatal familial insomnia and familial Creutzfeldt-Jakob disease: disease phenotype determined by a DNA polymorphism. *Science*. 1992. Vol. 258, N 5083. P. 806. http://dx.doi.org/10.1126/science.1439789.

53. Roenneberg T., Merrow M. The Circadian Clock and Human Health. *Current Biology*. 2016. Vol. 26, N 10. P. R432. http://dx.doi. org/10.1016/j.cub.2016.04.011.

54. Panda S. Circadian physiology of metabolism. *Science*. 2016. Vol. 354, N 6315. P. 1008. http://dx.doi.org/10.1126/science. aah4967.

55. Nedeltcheva A.V., Scheer F.A. Metabolic effects of sleep disruption, links to obesity and diabetes. *Current Opinion Endocrinology, Diabetes and Obesity*. 2014. Vol. 21, N 4. P. 293. http://dx.doi.org/10.1097/MED.0000000000000082.

56. James P., Bertrand K.A., Hart J.E. et al. Outdoor Light at Night and Breast Cancer Incidence in the Nurses' Health Study II. *Environmental Health Perspectives*. 2017. Vol. 125, N 8. P. 087010. http://dx.doi. org/10.1289/EHP935.

57. Huffington A. The Sleep Revolution. Transforming Your Life, One Night at a Time. Harmony, 2016. [Хаффингтон А. Революция сна. Как менять свою жизнь ночь за ночью. М.: Альпина Паблишер, 2017].

58. Hatori M., Gronfier C., Van Gelder R.N. et al. Global rise of potential health hazards caused by blue light-induced circadian disruption in modern aging societies. *NPJ Aging and Mechanisms of Disease*. 2017. N 3. P. 9. http://dx.doi.org/10.1038/s41514-017-0010-2.

59. Hirota T., Kay S.A. Identification of small-molecule modulators of the circadian clock. *Methods Enzymol*. 2015. Vol. 551. P. 267. http://dx.doi.org/10.1016/bs.mie.2014.10.015.

ISSN 1027-3239 Вісник НАН України. 2017. № 12. С. 1—63

НОВА СТРАТЕГІЯ БОРОТЬБИ З РАКОМ, АБО ЯК ПРАЦЮЮТЬ «ГАЛЬМА» СИСТЕМИ ІМУНІТЕТУ?
Нобелівська премія з фізіології або медицини, 2018

С.В. Комісаренко, С.І. Романюк

Нобелівську премію з фізіології або медицини у 2018 р. присуджено двом ученим-імунологам — Джеймсу Патрику Еллісону (James Patrick Allison) з Онкологічного центру ім. М.Д. Андерсона при Техаському університеті (США) та Тасуку Хондзьо (Tasuku Honjo) з Кіотського університету (Японія) «за відкриття терапії онкологічних захворювань шляхом пригнічення негативної імунної регуляції». Найпрестижнішою науковою нагородою 2018 р. відзначено втілення в медичну практику результатів сучасних імунологічних досліджень, які останніми роками вже допомагають онкологам успішно боротися зі злоякісними пухлинами.

На початку жовтня 2018 р. науковий світ у черговий раз завмер в очікуванні щорічного оголошення Нобелівським комітетом при Каролінському медичному інституті імен лауреатів Нобелівських премій: 117-й Нобелівський тиждень у Стокгольмі розпочався 1 жовтня з оголошення лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини.

Напередодні компанія «Clarivate Analytics», яка до 2016 р. була відділенням інтелектуальної власності та науки відомої корпорації «Thomson Reuters», за аналізом кількості цитувань традиційно оприлюднила список імовірних претендентів на Нобелівську премію з фізіології або медицини 2018 р. [1]. Насамперед було названо ім'я Мінору Канехіса (*Minoru Kanehisa*), професора Інституту хімічних досліджень Університету Кіото (Японія), який зробив значний внесок у розвиток біоінформатики та створення Кіотської енциклопедії генів і геномів. Іншим потенційним претендентом визначили Соломона Х. Снайдера (*Solomon H. Snyder*), професора кафедри неврології, фармакології та психіатрії Медичної школи Університету Джона Хопкінса у Балтиморі (США) за відкриття рецепторів для багатьох нейромедіаторів та психотропних агентів, зокрема рецепторів мозку, пов'язаних з опіатами, що сприяло розробленню низки ефективних лікарських препаратів, наприклад знеболювальних. Крім того, Нобелівську премію пророкували Наполеону Феррарі (*Napoleone Ferrara*), професору кафедри патології Університету штату Каліфорнія в Сан-Дієго (США), який відкрив фактор росту ендотелію судин (VEGF), що дало змогу створити лікарські препарати для гальмування росту судин у злоякісних пухлинах, а також для запобігання розвитку сліпоти внаслідок вікової макулодистрофії. Цікаво, що прогнози «Clarivate Analytics» у певному сенсі справдилися: імена лауреатів було передбачено компанією ще у 2016 р.

Отже, лауреатами 109-ї Нобелівської премії з фізіології або медицини стали двоє імунологів: американець **Джеймс Патрик Еллісон** (*James Patrick Allison*) та японець **Тасуку Хондзьо** (*Tasuku Honjo*). Секретар Нобелівського комітету з

фізіології та медицини Томас Перлманн (*Thomas Perlmann*) оголосив мотивувальну частину рішення про нагородження: вчених було удостоєно цієї престижної нагороди «*за відкриття терапії онкологічних захворювань шляхом пригнічення негативної імунної регуляції*». Згідно з офіційним прес-релізом лауреати «*...показали, як різні стратегії гальмування імунітету можуть використовуватися для лікування раку. Протиракова терапія, розроблена завдяки їхнім відкриттям, виявилася вражаюче ефективною в боротьбі з цим захворюванням*» [2].

10 грудня, в день смерті Альфреда Нобеля, на офіційній церемонії у Стокгольмі Король Швеції Карл XVI Густав вручив лауреатам Нобелівської премії дипломи та золоті медалі, на реверсі яких зображено жінку з розкритою книгою на колінах, яка уособлює Геній медицини. Жінка збирає воду, що ллється з каменя, щоб втамувати спрагу хворої дівчинки, яка стоїть поруч з нею. Розмір грошової винагороди в 2018 р. становив 9 млн крон (1,02 млн дол. США).

Нам, імунологам, приємно, що Нобелівською премією з фізіології або медицини часто відзначають роботи з імунології. Зокрема, варто згадати, що перша Нобелівська премія з фізіології або медицини була присуджена Емілю фон Берингу в 1901 р. за боротьбу з дифтерією за допомогою антидифтерійної (імунної) сироватки. У 2018 р. Нобелівською премією відзначено не стільки самі відкриття в імунології, скільки втілення в медичну практику результатів сучасних імунологічних досліджень, які вже протягом 7 років допомагають онкологам успішно боротися зі злоякісними пухлинами, рятуючи життя пацієнтів.

Боротьба зі злоякісним ростом, який часто (і не зовсім коректно) загалом називають «рак», є одним з найважливіших і найглобальніших завдань як медицини, так і всього людства, оскільки рівень захворюваності постійно зростає. Вважають, що кожна третя людина хворіє на рак, і кожна шоста — помирає від нього [3]. Тому не дивно, що Нобелівську премію з фізіології або медицини вже не вперше присуджують за методи боротьби з цим захворюванням. Зокрема, у 1966 р. було відзначено американського винахідника гормональної терапії раку передміхурової залози Чарльза Хаггінса (*Charles B. Huggins*); у 1988 р. — винахідників хіміотерапії британця Джеймса Блека (*James W. Black*) і американців Гертруду Елайон (*Gertrude B. Elion*) та Джорджа Хітчингса (*George Hitchings*); а в 1990 р. — американських учених, які запропонували проводити трансплантації кісткового мозку в разі лейкемії, Джозефа Мюррея (*Joseph Murray*) та Едварда Томаса (*Edward D. Thomas*).

Познайомимося ближче з ученими, яких удостоєно честі стати нобелівськими лауреатами з фізіології та медицини 2018 р.

70-річний заслужений професор **Джеймс Патрик Еллісон** (англ. *James Patrick Allison*) працює в США в Онкологічному центрі ім. М.Д. Андерсона (M.D. Anderson Cancer Center) при Техаському університеті. Народився він 7 серпня 1948 р. у м. Еліс (штат Техас), був наймолодшим з трьох синів у сім'ї Альберта Мерфі Еллісона і Констанції Калулі (Лінн). Коли Джеймсу було 11 років, його мати померла від лімфоми (згодом, у 2005 р., його брат також помер від раку передміхурової залози). Стати вченим Джеймса надихнув його шкільний учитель математики. У 1969 р. Джеймс Еллісон здобув бакалаврський ступінь з мікробіології в Техаському університеті в Остіні, а в 1973 р.

Джеймс Еллісон (1948)

у тому самому університеті під керівництвом Дж. Баррі Кітто (*G. Barrie Kitto*) — ступінь доктора філософії з біології.

У 1974—1977 рр. Джеймс Еллісон проходив стажування в Клінічному та дослідницькому фонді Скриппс (Scripps Clinic and Research Foundation) у Сан-Дієго (штат Каліфорнія), потім, до 1984 р., працював в Онкологічному центрі ім. М.Д. Андерсона при Техаському університеті. У 1985 р. він став професором імунології та директором Науково-дослідної лабораторії раку Каліфорнійського університету в Берклі (Cancer Research Laboratory at the University of California, Berkeley). У 2004 р. перейшов до Меморіального онкологічного центру ім. Слоуна-Кеттерінга (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center) у Нью-Йорку, де очолював Людвіг-центр з онкологічної імунотерапії (Ludwig Center for Cancer Immunotherapy), кафедру імунології, а також кафедру Коха з імунологічних досліджень. У 2004—2012 рр. Джеймс Еллісон працював у Медичній школі Вейла (Weill Cornell Medicine) та Вищій школі медичних наук Вейла (Weill Cornell Graduate School of Medical Sciences) при Корнелльському університеті у Нью-Йорку, а також у Медичному інституті ім. Говарда Х'юза у Чеві Чейзі (штат Меріленд). У 2012 р. вчений повернувся до Онкологічного центру ім. М.Д. Андерсона, де створив імунотерапевтичну платформу для дослідження імунної відповіді у хворих на рак.

Джеймс Еллісон є членом Національної академії наук США, Національної медичної академії США, Американської академії мікробіології, Американської асоціації сприяння науці, а також директором Наукової консультативної ради Інституту онкологічних досліджень (Cancer Research Institute). У минулому очолював Американську асоціацію імунологів.

Внесок Джеймса Еллісона в науку відзначено понад 60 нагородами, серед яких премія Якоба Хеселя Габбая з біотехнології та медицини (2011), премія Американської асоціації імунологів за життєві досягнення (2011), премія Novartis з клінічної імунології (2013), премія Тан з біофармацевтичної науки (2014), премія Сент-Дьйорді за прогрес у дослідженні раку Національної фундації досліджень онкологічних захворювань (2014), премія Канадського фонду Гарднера в галузі наук про життя (2014), премія Луїзи Гросс Хорвіц (2014), премія Гарві Ізраїльського технологічного інституту (2014), премія Ласкера—Дебейкі з клінічних медичних досліджень (2015), премія Вольфа з медицини (2017), премія Бальзана з імунологічних підходів у терапії раку (2017), Міжнародна премія Короля Фейсала з медицини (2018), медаль ім. Джессі Стівенсона Коваленка (2018), премія Медичного центру Олбані з медицини та медико-біологічних досліджень (2018) та ін.

Джеймс Еллісон одружений з Падмані Шарма (*Padmanee Sharma*), професором Онкологічного центру ім. М.Д. Андерсона індійсько-гаянського походження, яка має трьох доньок від першого шлюбу. Він захоплюється музи-

кою: грає на гармоніці у блюзовій групі імунологів та онкологів «Checkpoints» та у місцевій групі «Checkmates» [4].

Тасуку Хондзьо (1942)

76-річний професор **Тасуку Хондзьо** (англ. *Tasuku Honjo*) працює в Кіотському університеті (Kyoto University). Народився нобелівський лауреат 27 січня 1942 р. у Кіото. У 1966 р. закінчив медичний факультет Кіотського університету та здобув ступінь магістра, а в 1975 р. під керівництвом Ясутомі Нісідзука (Yasutomi Nishizuka) і Осаму Хаяісі (Osamu Hayaishi) — ступінь доктора філософії в галузі медичної хімії.

Присвятити себе дослідженням злоякісному росту Тасуку Хондзьо вирішив після того, як його однокласник з Медичної школи помер від раку шлунка. Тасуку Хондзьо працював у США: в 1971—1973 рр. — у Департаменті ембріології Інституту Карнегі у Вашингтоні (Carnegie Institution of Washington), а в 1973—1977 рр. — у Національному інституті здоров'я США (U.S. National Institutes of Health) в Бетесді (штат Меріленд). Вивчав генетичні основи імунної відповіді у Національному інституті здоров'я дітей та розвитку людини (National Institute of Child Health and Human Development). З 1992 р. Тасуку Хондзьо є постійним науковим співробітником Національного інституту здоров'я США. У 1974—1979 рр. вчений періодично працював доцентом на медичному факультеті Токійського університету, в 1979—1984 рр. — професором кафедри генетики на медичному факультеті Університету Осаки, в 1984—2005 рр. — професором кафедри медичної хімії на медичному факультеті Кіотського університету, а з 2005 р. — професором кафедри імунології та геномної медицини на тому самому факультеті.

У 2012—2017 рр. Тасуку Хондзьо був президентом Державного університету префектури Сідзуока. Він іноземний член Національної академії наук США (з 2001), член Японської академії (з 2005), Німецької академії дослідників природи «Леопольдина» (з 2003), почесний член Американської асоціації імунологів, член японського імунологічного товариства (яке він очолював у 1999—2000 рр.). Тасуку Хондзьо має цілу низку нагород: премія Роберта Коха (2012), Орден культури від імператора Акіхіто (2013), премія Тан у галузі біофармацевтичної науки (2014), премія Вільяма Б. Коулі (2014), Кіотська премія в галузі фундаментальних наук (2016), премія фонду Воррена Альперта (2017) та ін.

Найбільшим захопленням Тасуку Хондзьо є гра в гольф [5].

Що саме відкрили лауреати Нобелівської премії з фізіології або медицини? І що взагалі таке «негативна імунна регуляція»?

Система імунітету виконує в організмі багато різних функцій, які є надважливими, починаючи ще до народження організму і до самої його смерті. Зокрема, ця система регулює взаємозв'язок між плодом та матір'ю, впливає на розвиток органів і тканин в онтогенезі, захищає організм від вторгнення чужорідних у генетичному (отже, і в антигенному) плані об'єктів, наприклад па-

тогенних бактерій, грибів, гельмінтів, «чужих» трансплантантів, знешкоджує власні клітини, які містять чужорідні протеїни (вірусного походження) або власні мутантні протеїни, що є ознакою трансформованих (пухлинних) клітин. Для виконання цих функцій імунна система має потужну «зброю»: по-перше, специфічні імуноглобуліни (антитіла), що зв'язуються з чужорідними об'єктами та сприяють їх виведенню з організму або перетравленню макрофагами, а по-друге, цитотоксичні Т-лімфоцити (Т-кілери) та природні клітини-кілери (NK-клітини), здатні знешкоджувати як чужорідні, так і власні клітини, якщо вони становлять загрозу організму (наприклад, пухлинні клітини). Ця «зброя» є настільки потужною, що може вбити свого «господаря» (іноді так і відбувається в разі автоімунних порушень). Тому імунні клітини використовують спеціальні молекулярні механізми для розпізнавання «свого» і «чужого» та мають складну систему регуляції функцій з великою кількістю «запобіжників», що забезпечує баланс між позитивними реакціями (атакування) і негативними реакціями (гальмування) знешкодження відповідних клітин-«мішеней». Чому тоді бактеріальну інфекцію організм може подолати протягом двох тижнів чи навіть менше, а знешкодити злоякісну пухлину здебільшого виявляється не в змозі?

Насамперед вкрай схематично розглянемо, як імунна система взаємодіє з пухлиною і чому боротьба з раком є надскладним завданням для організму. Внаслідок мутацій, що можуть мати різне походження, здорові клітини трансформуються в пухлинні, які здатні до нестримного розмноження і часто містять змінені протеїни, чужорідні для цього організму. Імунна система «зобов'язана» розпізнати трансформовані клітини та знищити їх. Виконати цю функцію Т-лімфоцитам допомагають дендритні клітини, описані німецьким анатомом Паулем Лангергансом ще наприкінці XIX ст. А от роль дендритних клітин у формуванні специфічного імунітету було відкрито у 1973 р. канадським ученим Ральфом Стайнманом (*Ralph M. Steinman*), за це йому в 2011 р. присудили Нобелівську премію з фізіології або медицини (незважаючи на смерть ученого за три дні до оголошення імен лауреатів). Більшість дендритних клітин (вони також — антигенпрезентувальні клітини) мігрують тканинами організму, поглинаючи всі протеїни, що трапляються їм на шляху, і після розщеплення на фрагменти презентують їх на своїй поверхні у складі з протеїнами головного комплексу гістосумісності (MHC II). У лімфатичному вузлі дендритні клітини можуть активувати протипухлинну імунну відповідь щонайменше двох типів. Перший — коли дендритні клітини демонструють експоновані фрагменти чужорідних протеїнів цитотоксичним Т-лімфоцитам, які після розпізнавання «чужого» активуються, розмножуються та вирушають на пошуки клітин-«мішеней». Ці Т-лімфоцити «перевіряють» на поверхні всіх клітин фрагменти внутрішньоклітинних протеїнів, що представлені в комплексі з протеїнами MHC I. І якщо фрагменти внутрішньоклітинних протеїнів розпізнаються як чужорідні, то цитотоксичний Т-лімфоцит вбиває клітину-«мішень», утворюючи дірки в її мембрані і запускаючи в ній спеціальну програму загибелі — апоптоз. Другий тип — активування синтезу специфічних антитіл проти антигенів, що експресовані на поверхні пухлинних клітин. Такі антитіла потім зв'язуються з пухлинними клітинами і активують цитотоксич-

ні NK-клітини, які вбивають відповідні пухлинні клітини (так звана антитілозалежна цитотоксичність).

Дендритні клітини є потужними активаторами цитотоксичних лімфоцитів, тому вважалося, що вони є чи не головними компонентами у протипухлинному імунітеті. Проте нині відомо, що існують різні популяції дендритних клітин, серед яких є такі, що малоефективні в боротьбі з раком або навіть викликають імунологічну толерантність.

В ідеалі жодна мутантна клітина, що стала пухлинною, не повинна залишитися живою. Однак пухлинні клітини використовують багато «хитрощів», щоб уникнути знешкодження імунними клітинами. Вони здатні прибирати комплекси МНС зі своєї поверхні, виділяти речовини, що пригнічують активність імунних клітин, знищувати мутантні протеїни та навіть зливатися з клітинами імунної системи, наприклад з макрофагами [6]. З'являються все нові й нові механізми «обману» імунного захисту організму, оскільки пухлинні клітини постійно «намагаються» змінюватися, підвищувати своє різноманіття, конкурувати між собою за виживання та вдосконалюватися в результаті еволюції. Така стратегія призводить до загибелі багатьох пухлинних клітин, але забезпечує виживання пухлини в цілому та швидку колонізацію організму.

Найпоширеніші до останнього часу традиційні способи лікування онкологічних захворювань (променева терапія та хіміотерапія) ґрунтуються на впливі зовнішніх чинників на клітини, які мають дві головні ознаки пухлинних клітин: вони активно проліферують (розмножуються поділом, але опромінення пошкоджує ДНК і перешкоджає цьому) та є стійкими до апоптозу (токсичні хімічні препарати здатні це успішно долати). Проте ці методи лікування є недостатньо ефективними, оскільки шкодять в організмі здоровим клітинам, що активно діляться, та слабо впливають на «сплячі» пухлинні клітини, які є малоактивними. Наслідки такого лікування — занадто тяжкі побічні ефекти, пов'язані з порушенням роботи багатьох систем внутрішніх органів.

Тому ідея імунотерапії, тобто боротьби з онкологічними захворюваннями за допомогою мобілізації внутрішніх сил організму (системи імунітету), виглядає дуже привабливо, адже лише імунна система з її високоспецифічними механізмами розпізнавання потенційно здатна відрізнити пухлинну клітину від здорової.

Уперше імунотерапевтичні ідеї з'явилися в Німеччині наприкінці XIX ст., коли хворих на рак інфікували бактеріями, намагаючись активізувати їхній імунітет, але безуспішно [7]. Батьком імунотерапії вважають американського хірурга Вільяма Колі (*William B. Coley*), який у 1890 р. зіткнувся з випадком, коли близька подруга Джона Рокфеллера, 17-річна дівчина з саркомою, померла від метастазів через 10 тижнів після операції, а німецький емігрант з таким самим діагнозом позбувся пухлини, перехворівши на інфекційне захворювання бешиху (рожу) [8]. Вільям Колі зібрав свідчення про велику кількість подібних випадків і почав вводити пацієнтам у пухлину збудник бешихи, перейшовши згодом до використання неживих бактерій. Він створив вакцину, відому як «токсини Колі» або «флюїди Колі», що містила вбиті бактерії збудника бешихи Streptococcus pyogenes групи А та збудника госпітальних інфекцій Serratia marcescens. Цю вакцину продовжували використовувати і після смер-

ті Вільяма Колі (1936) і продавали її до 1962 р. Потім про вакцину забули не стільки через розвиток хіміо- та радіотерапії, скільки через незрозумілість на той час механізму її дії. До речі, у 2005 р. вакцину Колі було відтворено Канадською фармацевтичною фірмою MBVax, яка нині проводить її клінічні випробування. Крім того, в Японії в 1975 р. після 30 років випробувань було схвалено для використання аналог вакцини Колі — препарат піцибаніл, що містить бактерії непатогенного штаму Streptococcus pyogenes групи А, спеціально оброблені для знешкодження токсинів і позбавлення бактерій здатності до розмноження [9]. Задокументовані результати досліджень Вільяма Колі збереглися завдяки його доньці Хелені Колі Наутс (*Helen Coley Nauts*), яка на гроші Нельсона Рокфеллера в 1953 р. заснувала Інститут дослідження раку в Нью-Йорку. Імунотерапевтичні методи лікування онкологічних захворювань, розроблені іншими вченими, не були надто ефективними, і до цього способу лікування перестали ставитися серйозно. Проте відкриття, яке зробили нобелівські лауреати з фізіології та медицини за 2018 р., змусило повірити в перспективність нового імунотерапевтичного підходу до лікування раку. Історія цього відкриття почалася з детального дослідження взаємодії дендритних клітин і Т-клітин. Виявилося, що крім Т-клітинного рецептора та комплексу імуногенний пептид-MHC II (pMHC II) у взаємодію вступають багато інших молекул на поверхні цих клітин, утворюючи так званий імунний синапс. Першими було відкрито костимуляторні молекули: рецептор CD28 на поверхні Т-клітин [10] і його ліганд B7 (CD80) на поверхні дендритних клітин [11]. Взаємодія цих молекул активувала Т-клітини, стимулювала їхній поділ, приводячи імунну систему у стан бойової готовності. Джеймс Еллісон і Тасуку Хондзьо незалежно один від одного відкрили дві інгібувальні молекули, які також входять до складу імунного синапсу і є «гальмами» імунних клітин, — CTLA-4 і PD-1.

Інгібувальну молекулу CTLA-4 (від англ. *cytotoxic T-lymphocyte antigen*-4 — антиген 4 цитотоксичних Т-лімфоцитів), або CD152, Джеймс Еллісон відкрив у 1987 р [12]. Вона виявлялася лише на активованих Т-лімфоцитах. Тому спочатку вважали, що це ще одна костимуляторна молекула, необхідна для активації Т-лімфоцитів. Дж. Еллісон зробив неймовірне припущення, що молекула CTLA-4 потрібна на Т-лімфоцитах не для того, щоб їх активувати, а для того, щоб мати можливість їх зупинити [13]. Потім з'ясували, що молекула CTLA-4 за структурою дуже подібна до CD28 [14], і обидві ці молекули на поверхні Т-клітини конкурують за зв'язування з молекулою B7 на поверхні дендритної клітини, спричинюючи протилежні ефекти (активації чи гальмування Т-лімфоцита) [13].

У який саме спосіб Т-лімфоцит робить вибір між атакою та бездіяльністю? Виявляється, що до складу імунного синапсу входить багато молекул CD28 і CTLA-4, які намагаються зв'язатися з B7, а кінцевий результат залежить від того, яких молекул більше зв'язалося з B7 [15]. Цікаво, що CTLA-4 зв'язується з B7 сильніше, ніж CD28, що, ймовірно, має значення для запобігання розвитку надмірних імунних реакцій і виникненню автоімунних захворювань [16].

Другу інгібувальну молекулу PD-1 (від англ. *programmed death* — програмована смерть), або CD279, на поверхні Т-лімфоцитів відкрив Тасуку Хондзьо в 1992 р. [17]. Ця молекула зв'язувалася з рецептором на поверхні дендрит-

ної клітини і запускала механізм загибелі Т-лімфоцита. У мишей, позбавлених гена PD-1, розвивалися різноманітні автоімунні ушкодження органів, наприклад автоімунна кардіоміопатія [18]. Тому Тасуку Хондзьо висунув припущення, що PD-1 стримує Т-лімфоцити від ушкодження здорових клітин і перешкоджає автоімунній агресії. Об'єднаними зусиллями кількох наукових груп (зокрема й групи Т. Хондзьо) було знайдено рецептори PD-L1 [19] і PD-L2 [20] на поверхні дендритної клітини, які взаємодіють з PD-1. Цікаво, що за структурою молекула PD-1 виявилася подібною до CD28 і CTLA-4, а молекула PD-L1 — до B7, хоча ці молекули є головними компонентами двох абсолютно незалежних механізмів інгібування імунної активності [21]. У 2002 р. одночасно група Тасуку Хондзьо [22] і група Ліпінга Чена [23] зробили припущення про наявність рецепторів PD-L на пухлинних клітинах для пригнічення активності Т-лімфоцитів і про можливість блокування рецептора PD-L з метою лікування раку.

Згодом інгібувальні молекули CTLA-4 і PD-1 назвали імунними чекпоїнтами (від англ. *checkpoint* — контрольна точка, або точка перевірки). Тобто це — точка прийняття рішення, в якій визначається подальша доля імунної клітини. Цю назву дали за аналогією з клітинними чекпоїнтами — контрольними точками клітинного циклу, в яких вирішується, чи відбудеться поділ клітини. До речі, відкриття та дослідження клітинних чекпоїнтів американцем Леландом Хартвеллом (*Leland Hartwell*) і британцями Тімоті Хантом (*Timothy Hunt*) та Полом Нерсом (*Paul M. Nurse*) також було відзначено Нобелівською премією з фізіології або медицини в 2001 р. Після відкриття імунних чекпоїнтів розпочалися пошуки способу їх стимулювання для боротьби з автоімунними захворюваннями [24]. Заслугою Джеймса Еллісона та Тасуку Хондзьо є те, що вони подивилися на імунні чекпоїнти під іншим кутом зору та запропонували (спочатку Дж. Еллісон [25], а потім і Т. Хондзьо [22]), навпаки, активувати Т-клітини для боротьби з раком за допомогою специфічних інгібіторів імунних чекпоїнтів (наприклад, антитіл проти CTLA-4 і PD-1). Такі антитіла заважали б імунним чекпоїнтам взаємодіяти з молекулами B7 і PD-L1 дендритних клітин, як наслідок, Т-лімфоцит, не отримавши інгібувальних сигналів, розпочав би активно атакувати пухлинні клітини (хоча неминуче пошкодив би і здорові клітини, спричинивши автоімунні ускладнення).

Перший експеримент на мишах, поставлений Джеймсом Еллісоном наприкінці 1994 р., дав фантастичні результати: антитіла проти CTLA-4 стимулювали імунну відповідь і позбавили експериментальних тварин від пухлин [25]. Протягом трьох наступних років було перевірено дію інгібітора CTLA-4 на різні типи пухлин: рак передміхурової залози, рак молочної залози, меланому. У 2005 р. група Тасуку Хондзьо [26] одночасно з групою Ліпінга Чена [27] опублікували аналогічні результати експериментів із застосуванням антитіл проти PD-1 як протипухлинних засобів.

Проте ці відкриття не зацікавили виробників фармацевтичних препаратів, передусім через високий ризик важких побічних ефектів у вигляді автоімунних захворювань. Лише завдяки наполегливості Джеймса Еллісона в 1999 р. маленька біотехнологічна компанія «Medarex» з Принстона (Нью-Джерсі, США), яка пізніше була придбана фірмою «Bristol-Myers Squibb», за допомогою технології

трансгенних мишей створила людське моноклональне антитіло проти CTLA-4, яке назвали іпілімумаб (ipilimumab) [28]. Перше антитіло проти PD-1 — ніволумаб (nivolumab) було розроблено компанією «Ono Pharmaceuticals» (на ранній стадії — у співпраці з «Bristol-Myers Squibb)». Результати випробувань препарату Opdivo (ніволумаб), розпочатих у 2006 р., продемонстрували обнадійливі дані: успішність лікування становила 20—25 % у хворих з раком легень, нирок і меланомою, причому ефект був тривалим, а в деяких випадках спостерігався повний регрес пухлини [29].

Лише через 15 років після відкриття імунних чекпоїнтів Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів США (FDA) дозволило використовувати ліки на основі їх інгібіторів. Нині на ринку є шість таких препаратів. Першим лікарським засобом на основі інгібіторів імунних чекпоїнтів (антитіл проти CTLA-4), схваленим у 2011 р. для лікування меланоми, став іпілімумаб або Єрвой (Yervoy). У 2014 р. було схвалено два препарати на основі моноклональних антитіл проти PD-1: ніволумаб (Opdivo) та пембролізумаб (Keytruda); у 2016 р. — препарат атезолізумаб (Tecentriq) на основі антитіл проти PD-L1, а у 2017 р. — ще два препарати на основі антитіл проти PD-L1 — авелумаб (Bavencio) і дурвалумаб (Imfinzi).

Інгібітори імунних чекпоїнтів продемонстрували ефективність під час лікування меланоми, розвиненого недрібноклітинного раку легень, раку нирок, рідкісної форми раку шкіри — карциноми Меркеля (антитіло — авелумаб), карциноми сечового міхура, лімфоми. При цьому інгібітори взаємодії PD-1 з PD-L1 виявилися ефективнішими та викликали менше ускладнень, ніж інгібітори CTLA-4 [30], мабуть, через те що вони здатні блокувати інгібувальні сигнали не тільки від дендритних клітин, а й від пухлинних клітин, діяти локально та більш вибірково. Ще ефективнішою виявилася комбінована терапія, за якої блокуються механізми дії обох імунних чекпоїнтів [31].

Протягом кількох останніх років імунотерапія стала одним із чотирьох головних підходів до лікування онкологічних захворювань (разом із хірургічним втручанням, променевою терапією та хіміотерапією). Нові імунотерапевтичні препарати врятували життя багатьом онкохворим. Серед них найвідоміший пацієнт — лауреат Нобелівської премії миру за 2002 р., 39-й президент США (1977—1981) Джиммі Картер, якому у віці 91 рік вдалося подолати меланому з метастазами у мозку та печінці за допомогою променевої терапії й препарату Кітруда (Keytruda), або пембролізумаб, — першого схваленого в США моноклонального антитіла проти PD-1 [32]. Виживання без рецидивів після 1,5 року лікування пембролізумабом у разі меланоми з метастазами зараз становить 71 % [33], хоча зовсім недавно для більшості пацієнтів такий діагноз означав смерть протягом 2 років. Завдяки імунотерапії успішність лікування лімфоми Ходжкіна сьогодні становить 50—90 % [34]. Ці результати не можуть не вражати.

На жаль, застосування інгібіторів імунних чекпоїнтів не гарантує виживання всіх хворих на рак, і до повної перемоги над цим захворюванням ще далеко. Справа в тому, що інгібітори імунних чекпоїнтів діють не на всі типи пухлин однаково ефективно. Хоча останнім часом з'являється все більше інформації про те, що ефективність лікування інгібіторами імунних чекпоїнтів більшою

мірою пов'язана не з типом пухлинної тканини, а з генетичною характеристикою раку [35]. Для того щоб імунотерапія спрацювала, пухлина має бути імуногенною та доступною для розпізнавання: вона повинна представляти на своїй поверхні змінені власні антигени, які можуть розпізнаватися Т-лімфоцитами як «чужі». Недарма чутливою до інгібіторів імунних чекпоїнтів виявилася меланома, яка накопичує дуже багато мутацій і є сильно імуногенною. Відомо, що ефективність лікування безпосередньо пов'язана зі здатністю Т-лімфоцитів проникати всередину пухлини (інфільтрувальні Т-лімфоцити) і там активуватися, причому дуже важливим є нормальний перебіг процесу розпізнавання цитотоксичними Т-лімфоцитами пухлинних антигенів. Мабуть, тому ефективність дії інгібіторів чекпоїнтів залежить від генотипу пацієнта (чим різноманітніші його молекули MHC I, тим вищі шанси на успіх) [36]. Очевидно, що на кінцевий результат імунотерапії можуть впливати не тільки набір мутацій у пухлинних клітинах [35] та їх відображення в представлених Т-лімфоцитам антигенах, а й інші різноманітні чинники: перенесені людиною інфекції, вакцинація, вплив нормофлори [37] та цитокінів (наприклад, TGFβ пригнічує проникнення Т-клітин у пухлину [38]).

Незалежно від результату імунотерапевтичне лікування зумовлює серйозні побічні ефекти автоімунного характеру, які можуть бути небезпечними для життя: запалення гіпофіза, руйнування кори надниркових залоз, пневмонія тощо [39]. Тому пацієнти, які проходять лікування інгібіторами імунних чекпоїнтів, часто потребують підтримувальної терапії гормональними та протизапальними препаратами. Нині активно досліджуються можливості поєднання інгібіторів імунних чекпоїнтів з іншими засобами лікування раку та різними підтримувальними препаратами. Важливим напрямом досліджень для поліпшення лікування пацієнтів і зниження витрат є пошук маркерів, за якими можна передбачити, чи буде ефективним імунотерапевтичне лікування конкретного пацієнта. Також дуже важливими є вивчення механізму дії інгібіторів імунних чекпоїнтів, який і досі до кінця незрозумілий. Наприклад, невідомо, на що діють інгібітори CTLA-4: на цитотоксичні Т-лімфоцити, дендритні клітини чи регуляторні Т-клітини, здатні пригнічувати інші типи Т-лімфоцитів. І як інгібітори PD-1 успішно діють проти пухлин, які не мають молекул PD-L1?

В Україні лікування онкохворих інгібіторами імунних чекпоїнтів проводять протягом останніх п'яти років. Проте, оскільки в нашій країні не працює загальноприйнята в міжнародній практиці система реімбурсації (виплати державою компенсацій), дозволити собі таке лікування можуть далеко не всі пацієнти (вартість лікування становить приблизно 150 тис. грн на місяць, тривалість — від 2—3 тижнів до кількох років). Окрім того, в Україні офіційно зареєстровано лише два препарати: пембролізумаб (Кітруда) і атезолізумаб (Тецентрик) [40]. Вони є в продажу тільки в кількох аптеках Києва, а ціна на них вища, ніж за кордоном (100—120 тис. грн за 4 мл (100 мг) пембролізумабу та 180—220 тис. грн за 20 мл (1,2 г) атезолізумабу). Імовірно, можливості для широкого використання в медичній практиці найсучасніших досягнень світової науки зростуть із введенням обов'язкового медичного страхування. Нині для більшості пацієнтів шанс отримати імунотерапевтичне лікування, про яке тут ідеться, є лише в разі участі в клінічних випробуваннях закордонних інгібіто-

рів чекпоїнтів, що проводяться в Київському міському клінічному онкологічному центрі, Національному інституті раку (Київ), а також у Центрі міжнародних клінічних досліджень при 4-й міській лікарні Дніпра.

Одночасно з розвитком терапії на основі інгібіторів імунних чекпоїнтів розвиваються й інші імунотерапевтичні напрями: терапія антигенпрезентувальними дендритними клітинами, протипухлинна вакцинація та перша генна терапія раку на основі химерного антигенного рецептора Т-клітин (CAR-T, від англ. *chimeric antigen receptor T-cell therapy*). Розробляються також аналогічні імунотерапевтичні підходи із залученням природних кілерів (NK-клітин) [41].

Під час терапії антигенпрезентувальними дендритними клітинами у хворого вилучають з крові моноцити, примушують їх диференціюватися в дендритні клітини, які «знайомлять» з антигенами, виділеними з пухлини саме цього хворого, а потім повертають до організму. Дендритні клітини презентують антиген цитотоксичним Т-лімфоцитам і активують їх для боротьби з пухлиною. Цей метод став першим імунотерапевтичним методом, який схвалено FDA у 2010 р. для лікування раку простати [42].

Простішим у технічному сенсі та дешевшим варіантом такого лікування є протипухлинна вакцинація, коли антигени пухлини вводять у організм як звичайну вакцину, де вони захоплюються дендритними клітинами, які, в свою чергу, активують Т-лімфоцити для боротьби з пухлиною. Такі індивідуальні вакцини (автовакцини) розробляють і в Україні, в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України [43] за ідеєю, яку запропонували ще у 1960—1970-х роках член-кореспондент АН УРСР Д.Г. Затула і професор М.П. Мазуренко. Є багато методичних підходів до виготовлення протипухлинних вакцин, зокрема випробовують ДНК- і РНК-вакцини. Наприклад, отримано позитивні результати під час лікування хворих на меланому РНК-ліпоплексами — наночастинками з негативним зарядом, що містять ліпідний носій, який забезпечує проникнення в тканини, та РНК, що кодує пухлинні антигени [44]. Такі комплекси стимулювали не тільки Т-клітинну імунну відповідь, а й виділення дендритними клітинами та макрофагами значної кількості інтерферону α, що сприяло знешкодженню пухлини. З метою поліпшення протипухлинної терапії (зменшення токсичності протипухлинних препаратів та їх цільової доставки до пухлинних клітин) у відділі молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України створено наноконструкцію імуноліпосом, що складалися з ліпосом, на поверхні яких знаходилися рекомбінантні scFv-антитіла (від англ. *single chain fragment variable* — одноланцюговий варіабельний фрагмент), специфічні до онкомаркера proHB-EGF (від англ. *heparin binding epidermal growth factor* — like growth factor — гепарин-зв'язуючий фактор росту, подібний до епідермального фактора росту), що в значній кількості експресується на поверхні пухлинних клітин [45].

У ході терапії CAR-T у хворого вилучають Т-лімфоцити і модифікують їх на генетичному рівні, як наслідок, Т-лімфоцити починають експресувати на поверхні химерний антигенний рецептор, до складу якого входить специфічне до певного пухлинного антигена scFv-антитіло, що за будовою нагадує активний центр природного антитіла. В серпні 2017 р. у США вперше було схвалено

терапію CAR-T для лікування В-клітинної гострої лімфобластної лейкемії — Tisagenlecleucel (Kymriah), за якої генетична модифікація частини Т-лімфоцитів хворого зумовлює експресію на них химерного антиген-розпізнавального рецептора, частиною якого є scFv-антитіло проти маркера В-клітин CD19. Одноразове введення таких Т-лімфоцитів коштує близько 500 тис. дол. США. Нині досліджуються та проходять клінічні випробування понад 300 різних варіантів терапії CAR-T, зокрема терапія TanCAR з біспецифічними химерними антигенними рецепторами, які запобігають так званій втечі пухлинного антигена внаслідок мутацій; системи універсальних антигенних рецепторів (наприклад, SUPRA CAR), в яких можна легко змінити специфічність scFv-антитіла, а також терапія nanoCAR на основі однодоменних наноантитіл, які завдяки малому розміру вирішують проблеми агрегації та імуногенності scFv [46].

Час покаже, який метод лікування (або комбінація методів) виявиться найефективнішим. А на сьогодні результати використання інгібіторів імунних чекпоїнтів свідчать, що розроблення цього методу недарма вважають найбільшим проривом у терапії пухлин за останні 20 років. Очевидно, що вчені перебувають лише на початку вивчення описаних механізмів імунорегуляції та імунотерапії і що, ймовірно, є інші імунні чекпоїнти або допоміжні молекули, які беруть участь у механізмах інгібування протипухлинного імунітету. Зрозуміло одне, що рано чи пізно розвиток фундаментальної науки приведе до появи надзвичайно ефективних препаратів і методів лікування раку — одного з найжахливіших захворювань людини.

A NEW STRATEGY FOR FIGHTING CANCER, OR HOW THE «BRAKE» OF THE IMMUNE SYSTEM WORKS?

The Nobel prize in physiology or medicine, 2018

S.I. Romanyuk, S.V. Komisarenko

The Nobel Prize in Physiology and Medicine in 2018 was awarded to two immunologists — James Patrick Allison from the M.D. Anderson Cancer Center at the University of Texas (USA) and Tasuku Honjo from Kyoto University (Japan) for «the discovery of cancer therapy through inhibition of negative immune regulation». The most prestigious scientific award in 2018 celebrated the implementation of the results of modern immunological research in medical practice, which in recent years has already helped the oncologists successfully fight malignant tumors.

REFERENCES

1. The 2018 Clarivate Citation Laureates. https://web.ornl.gov/sci/first/ClarivateAnalyticsCitationLaureates.pdf.

2. Press release: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2018. https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2018/ press-release/

3. Global Cancer Observatory, 2018. http://gco.iarc.fr/

4. From Wikipedia, the free encyclopedia. James P. Allison. https://en.wikipedia.org/wiki/James_P._Allison.

5. From Wikipedia, the free encyclopedia. Tasuku Honjo. https://en.wikipedia.org/wiki/Tasuku_Honjo.

6. Gast C.E., Silk A.D., Zarour L. et al. Cell fusion potentiates tumor heterogeneity and reveals circulating hybrid cells that correlate with stage and survival. *Science Advances*. 2018. Vol. 4. N. 9. eaat7828. https://doi.org/10.1126/sciadv.aat7828.

7. Busch W. Aus der Sitzung der medizinischen Section vom 18 November 1867. *Berliner klinische Wochenschr*. 1868. Vol. 5. P. 137.

8. Coley W.B. Contribution to the knowledge of sarcoma. *Annals Surgery*. 1891. Vol. 14, N 3. P. 199.

9. From Wikipedia. Coley's toxins. https://en.wikipedia.org/wiki/Coley %27s_toxins [Материал из Википедии. Противораковая вакцина Вильяма Коли. https://ru.wikipedia.org/wiki/Противораковая_вакцина_Вильяма_Коли].

10. Lesslauer W., Koning F., Ottenhoff T. et al. T90/44 (9.3 antigen). A cell surface molecule with a function in human T cell activation. *European Journal of Immunol*. 1986. Vol. 16, N 10. P.1289. https://doi.org/10.1002/ eji.1830161017.

11. López de Castro J.A., Orr H.T., Robb R.J. et al. Complete amino acid sequence of a papain-solubilized human histocompatibility antigen HLA-B7. 1. Isolation and amino acid composition of fragments and of tryptic and chymotryptic peptides. *Biochemistry*. 1979. Vol. 18, N 25. P. 5704. https://doi.org/10.1021/bi00592a029.

12. Brunet J.F., Denizot F., Luciani M.F. et al. A new member of the immunoglobulin superfamily — CTLA-4. *Nature*. 1987. Vol. 328, N 6127. P. 267. https://doi.org/10.1038/328267a0.

13. Krummel M.F., Allison J.P. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *Journal of Experimental Medicine*. 1995. Vol. 182, N 2. P. 459.

14. Harper K., Balzano C., Rouvier E. et al. CTLA-4 and CD28 activated lymphocyte molecules are closely related in both mouse and human as to sequence, message expression, gene structure, and chromosomal location. *The Journal of Immunology*. 1991. Vol. 147, N 3. P. 1037.

15. Egen J.G., Allison J.P. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 accumulation in the immunological synapse is regulated by TCR signal strength. *Immunity*. 2002. Vol. 16, N 1. P. 23. https://doi.org/10.1016/S1074-7613(01)00259-X.

16. Ganesan A., Moon T.C., Barakat K.H. Revealing the atomistic details behind the binding of B7-1 to CD28 and CTLA-4: A comprehensive protein-protein modelling study. *Biochimica et Biophysica Acta General Subjects*. 2018. Vol. 1862, N 12. P. 2764. https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.08.010.

17. Ishida Y., Agata Y., Shibahara K., Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *The EMBO Journal*. 1992. Vol. 11, N 11. P. 3887. https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1992. tb05481.x

18. Nishimura H., Okazaki T., Tanaka Y. et al. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice. *Science*. 2001. Vol. 291, N 5502. P. 319. https://doi.org/10.1126/science.291.5502.319.

19. Freeman G.J., Long A.J., Iwai Y. et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *Journal of Experimental Medicine*. 2000. Vol. 192, N 7. P. 1027. https://doi.org/10.1084/jem.192.7.1027.

20. Latchman Y., Wood C.R., Chernova T. et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nature Immunology*. 2001. Vol. 2, N 3. P. 261. https://doi.org/10.1038/85330.

21. Zhang X., Schwartz J.C., Guo X. et al. Structural and functional analysis of the costimulatory receptor programmed death-1. *Immunity*. 2004. Vol. 20, N 3. P. 337. https://doi.org/10.1016/S1074-7613(04)00051-2.

22. Iwai Y., Ishida M., Tanaka Y. et al. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *PNAS*. 2002. Vol. 99, N 19. P. 12293. https://doi.org/10.1073/pnas.192461099.

23. Dong H., Strome S.E., Salomao D.R. et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat. Med*. 2002. Vol. 8, N 8. P. 793. https://doi.org/10.1038/nm730.

24. Lenschow D.J., Zeng Y., Thistlethwaite J.R. et al. Long-term survival of xenogeneic pancreatic islet grafts induced by CTLA4lg. *Science*. 1992. Vol. 257, N 5071. P. 789. https://doi.org/10.1126/science.1323143.

25. Leach D.R., Krummel M.F., Allison J.P. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science*. 1996. Vol. 271, N 5256. P. 1734. https://doi.org/10.1126/science.271.5256.1734.

26. Iwai Y., Terawaki S., Honjo T. PD-1 blockade inhibits hematogenous spread of poorly immunogenic tumor cells by enhanced recruitment of effector T cells. *International Immunology*. 2005. Vol. 17, N 2. P. 133. https://doi.org/10.1093/intimm/dxh194.

27. Hirano F., Kaneko K., Tamura H. et al. Blockade of B7-H1 and PD-1 by monoclonal antibodies potentiates cancer therapeutic immunity. *Cancer Research*. 2005. Vol. 65, N 3. P. 1089.

28. Wolchok J.D., Hodi F.S., Weber J.S. et al. Development of ipilimumab: a novel immunotherapeutic approach for the treatment of advanced melanoma. *Annals of the New York Academy of Sciences journal*. 2013. Vol. 1291. P. 1. https://doi.org/10.1111/nyas.12180.

29. Topalian S.L., Hodi F.S., Brahmer J.R. et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *New England Journal of Medicine*. 2012. Vol. 366, N 26. P. 2443. https://doi.org/2443. 10.1056/NEJMoa1200690.

30. Weber J., Mandala M., Del Vecchio M. et al. CheckMate 238 Collaborators. Adjuvant Nivolumab versus Ipilimumab in Resected Stage III or IV Melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2017. Vol. 377, N 19. P. 1824. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1709030.

31. Wolchok J.D., Chiarion-Sileni V., Gonzalez R. et al. Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2017. Vol. 377, N 14. P. 1345. https://doi.org/10.1056/ NEJMoa1709684.

32. USA former president Carter recovered from brain cancer. https://korrespondent.net/world/3599395-eks-prezydent-ssha-karter-yzlechylsia-ot-raka-mozgha [Экс-президент США Картер излечился от рака мозга. https://korrespondent.net/world/3599395-eks-prezydent-ssha-karter-yzlechylsia-ot-raka-mozgha].

33. Eggermont A.M.M., Robert C., Ribas A. The new era of adjuvant therapies for melanoma. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2018. Vol. 15, N 9. P. 535. https://doi.org/10.1038/s41571-018-0048-5.

34. Ansell S.M., Lesokhin A.M., Borrello I. et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2015. Vol. 372, N 4. P. 311. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1411087.

35. Rizvi N.A., Hellmann M.D., Snyder A. et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science*. 2015. Vol. 348, N 6230. P. 124. https://doi. org/10.1126/science.aaa1348.

36. Chowell D., Morris L.G.T., Grigg C.M. et al. Patient HLA class I genotype influences cancer response to checkpoint blockade immunotherapy. *Science*. 2018. Vol. 359, N 6375. P. 582. https://doi.org/10.1126/science.aao4572.

37. Routy B., Le Chatelier E., Derosa L. et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. 2018. Vol. 359, N 6371. P. 91. https://doi.org/10.1126/science.aan3706.

38. Mariathasan S., Turley S.J., Nickles D. et al. TGFβ attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. *Nature*. 2018. Vol. 554, N 7693. P. 544. https://doi.org/10.1038/ nature25501.

39. Postow M.A., Sidlow R., Hellmann M.D. Immune-Related Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade. *New England Journal of Medicine*. 2018. Vol. 378, N 2. P. 158. https://doi.org/10.1056/NEJMra1703481.

40. Liskovych M. Nobel Prize in Medicine is a forward step in immunotherapy of cancer. Rather costly yet... https:// www.ukrinform.ua/rubric-society/2551020-nobel-z-medicini-ce-krok-vpered-v-imunoterapii-raku-nedesevij-pokiso.html [Ліскович М. Нобель з медицини — це крок вперед в імунотерапії раку. Недешевий поки що... https://www. ukrinform.ua/rubric-society/2551020-nobel-z-medicini-ce-krok-vpered-v-imunoterapii-raku-nedesevij-poki-so. html].

41. Fang F., Xiao W., Tian Z. NK cell-based immunotherapy for cancer. *Seminars in Immunology*. 2017. Vol. 31. P. 37. https://doi. org/10.1016/j.smim.2017.07.009.

42. Mulcahy N. FDA Approves provenge, the first immunotherapy for metastatic prostate cancer. https://www.medscape.com/viewarticle/721014.

43. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine. Anticancer autovaccinum. http://iepor.org.ua/innovations/

anticancer-autovaccinum.html [Сайт Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Протипухлинна аутовакцина. http://iepor.org.ua/innovations/anticancer-autovaccinum.html].

44. Kranz L.M., Diken M., Haas H. et al. Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy. *Nature*. 2016. Vol. 534, N 7607. P. 396. https://doi.org/10.1038/nature18300.

45. Oleinik E.S., Labyntsev A.Yu., Manoylov K.Yu. et al. Immunoliposomes for the targeted delivery of biologically active compounds into the cells of tumor tissues. In: Nano-Sized Systems and Nanomaterials: Research in Ukraine. Kyiv: Akademperiodyka, 2014. P. 510—514. [Олейник Е.С., Лабынцев А.Ю., Манойлов К.Ю. и др. Иммунолипосомы для направленной доставки биологически активных соединений в клетки опухолевых тканей. В кн.: Наноразмерные системы и наноматериалы: исследования в Украине. Киев: Академпериодика, 2014. С. 510—514].

46. Zaroff S. CAR T-Cell Therapies with a Bispecific Twist. *Tutorials*. 2018. Vol. 38, N 13. https://www.genengnews.com/ magazine/car-t-cell-therapies-with-a-bispecific-twist/

ISSN 1027-3239 Вісник НАН України. 2019. № 2. С. 44—57

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ РЕВОЛЮЦІОНУЮТЬ ХІМІЮ, АБО ЯК СКЕРУВАТИ ЕВОЛЮЦІЮ ПРОТЕЇНІВ НА БЛАГО ЛЮДСТВА?

Нобелівська премія з хімії, 2018

С.І. Романюк, С.В. Комісаренко

Нобелівську премію з хімії у 2018 р. розділили між собою троє вчених. Половина премії дісталася американській дослідниці Френсіс Арнольд (Frances H. Arnold) «за спрямовану еволюцію ензимів», другу половину поділили між собою американець Джордж Сміт (George P. Smith) і британець Грег Вінтер (Sir Gregory P. Winter) «за фаговий дисплей пептидів і антитіл». Методи, розроблені нобелівськими лауреатами, сприятимуть розвитку екологічно чистішого виробництва хімічної продукції, нових матеріалів, фармацевтичних засобів, біопалива тощо.

3 жовтня 2018 р. у Стокгольмі в рамках 117-го нобелівського тижня Нобелівський комітет при Каролінському медичному інституті оголосив імена лауреатів Нобелівської премії з хімії. Щороку на цю подію з нетерпінням очікує все світове наукове співтовариство, а напередодні зазвичай точаться гарячі дискусії, хто і за що може здобути цю найпрестижнішу наукову нагороду. За прогнозами компанії «Clarivate Analytics» [1], що її співробітники роблять за результатами аналізу кількості цитувань, найімовірнішими претендентами на Нобелівську премію з хімії 2018 р. вважали трьох учених. По-перше, це Ерік Н. Якобсен (*Eric N. Jacobsen*), професор кафедри хімії та хімічної біології Гарвардського університету (США), який зробив значний внесок у розроблення каталітичних реакцій для органічного синтезу, особливо реакції епоксидації Якобсена. По-друге, можливим претендентом на Нобелівську премію називали Джорджа М. Шелдріка (*George M. Sheldrick*), професора Університету Георга-Августа в Геттингені (Німеччина), за його величезний внесок у розвиток структурної кристалографії, а саме, за впровадження системи комп'ютерних програм SHELX. По-третє, Нобелівську премію могла отримати Джоанн Стаббе (*JoAnn Stubbe*), професор кафедри хімії Массачусетського технологічного інституту (США), яка відкрила вільнорадикальний механізм роботи рибонуклеотидредуктаз, що здійснюють перетворення рибонуклеотидів на дезоксирибонуклеотиди — структурні компоненти, необхідні для синтезу та «ремонту» ДНК.

Проте рішення Нобелівського комітету стало несподіванкою: 110-ту Нобелівську премію з хімії присудили трьом дослідникам — **Френсіс Гамільтон Арнольд** (*Frances Hamilton Arnold*) з Каліфорнійського технологічного інституту (м. Пасадена, США), **Джорджу Пірсону Сміту** (*George Pearson Smith*) з Міссурійського університету (м. Колумбія, США) та серу **Грегорі Полу Вінтеру** (*Sir Gregory Paul Winter*) з Кембриджського університету (Велика Британія), які працюють у тій царині експериментальної біології, що охоплює такі науки як біохімія, імунологія, молекулярна біологія, генетика і вірусологія. Ге-

неральний секретар Шведської королівської академії наук Йоран Ханссон (*Göran K. Hansson*) оголосив, що половину премії отримує американська дослідниця Френсіс Арнольд «*за проведену вперше спрямовану еволюцію ензимів*», іншу половину рівними частинами поділять Джордж Сміт і Грег Вінтер «*за відкриття та розвиток фагового дисплею пептидів і антитіл*». Згідно з офіційним прес-релізом лауреати «*...надихнулися силою еволюції та використали ті самі принципи — генетичні зміни і добір — для створення протеїнів, які вирішують хімічні проблеми людства*» [2]. Церемонія нагородження лауреатів дипломами та золотими медалями за традицією відбулася в Стокгольмі 10 грудня, в день смерті засновника премії Альфреда Нобеля. Розмір грошової винагороди становив 9 млн крон (1,02 млн дол. США).

Хіміки відреагували на новину майже одностайно: «Авжеж, за традицією Нобелівську премію з хімії вирішили знову не вручати!». Дійсно, останнім часом Нобелівську премію з хімії все частіше присуджують за дослідження на стику традиційних дисциплін ученим, які працюють у галузі біохімії та молекулярної біології. Рішення Нобелівського комітету нерідко зазнають критики, багато хто вважає їх несправедливими або необґрунтованими. Проте, чи є подібне рішення випадковим, чи воно стало виявом долі, — філософське питання, особливо якщо взяти до уваги, що й сама нобелівська премія з'явилася завдяки випадковому збігу обставин. Ідея про створення Нобелівського фонду прийшла Альфреду Нобелю, коли він за чашкою ранкової кави прочитав у газеті власний некролог під заголовком «Помер торгівець смертю» (Нобель отримав значні статки і був широко відомий завдяки винаходу динаміту). Це була випадкова помилка журналістів, пов'язана зі смертю брата Альфреда, однак ця подія змусила Нобеля замислитися, який слід він лишить по собі в пам'яті людства.

Взагалі робота нобелівських комітетів з різних дисциплін часто була пов'язана з гучними скандалами. Так, у 2018 р. Нобелівську премію з літератури (у 2019 р. заплановано вручити їх дві) не вручали, бо багато членів Нобелівського комітету з літератури склали повноваження через скандал: 72-річного фотографа Жан-Клода Арно, чоловіка члена Шведської академії поетеси Катарини Фростенсон, звинуватили в сексуальних домаганнях до 18 жінок, а кількох інших членів академії — у порушенні правила про нерозголошення імен номінантів. Крім того, саму К. Фростенсон підозрювали в незаконному фінансуванні культурного фонду, що належить її родині, за рахунок коштів Нобелівського комітету [3].

Проте повернімося до Нобелівської премії з хімії та познайомимося ближче з ученими, які стали лауреатами в цій номінації 2018 р.

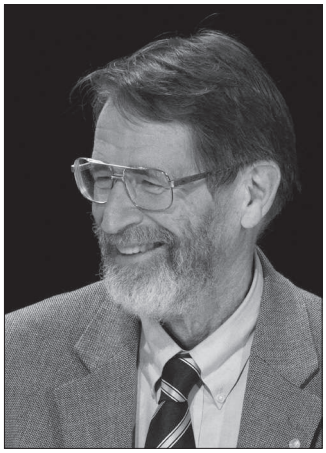
62-річна професор хімічної інженерії, біоінженерії та біохімії **Френсіс Арнольд** працює в Каліфорнійському технологічному інституті. Народилася вона 25 липня 1956 р. у передмісті Пітсбурга — Еджвуді (штат Пенсильванія) у сім'ї Жозефіни Інман і фізика-ядерника Вільяма Говарда Арнольда, її дідусем був відомий генерал-лейтенант Вільям Говард Арнольд, командир 5-ї армії США. Навчаючись у старших класах школи, Френсіс втекла до Вашингтона, де брала участь у протестах проти війни у В'єтнамі, з 17 років жила окремо від батьків, працюючи офіціанткою у джаз-клубі та водієм таксі. У 1979 р. здобула ба-

Френсіс Арнольд (1956)

калаврський ступінь з механічної та аерокосмічної інженерії у Принстонському університеті, де займалася дослідженням сонячної енергії. Додатково вона вивчала економіку, російську та італійську мови, планувала стати дипломатом чи генеральним директором міжнародної компанії. На один рік вона переривала навчання в університеті заради роботи на італійському заводі з виробництва компонентів ядерних реакторів. Закінчивши університет, Френсіс як інженер з проєктування сонячних електростанцій працювала у Південній Кореї, Бразилії, потім в Інституті досліджень сонячної енергії в штаті Колорадо (нині — Національна лабораторія відновлюваної енергії). В аспірантурі Каліфорнійського університету в Берклі Ф. Арнольд зацікавилася біохімією і в 1985 р. під керівництвом професора Харві Бланча (*Harvey W. Blanch*) захистила дисертацію, присвячену дослідженню методу афінної хроматографії, здобувши ступінь доктора філософії з хімічної інженерії. У 1986 р. Френсіс Арнольд перейшла на роботу до Каліфорнійського технологічного інституту — знаменитого Калтеху, де в 1996 р. стала професором. У 2013 р. її призначили директором Центру біотехнологій (Caltech's Donna and Benjamin M. Rosen Bioengineering Center).

Френсіс Арнольд є членом консультативних рад Об'єднаного інституту біоенергетики, Королівського університету науки та техніки ім. короля Абдалли, Стипендії Паккарда в галузі науки та техніки, Премії королеви Єлизавети в галузі техніки й навіть Комітету Національної академії наук США з консультування голлівудських сценаристів для точнішого відтворення наукових тем у кінематографі. Вона є співавтором понад 40 патентів США. У 2005 р. заснувала компанію «Gevo Inc.» з виробництва біопалива, в 2013 р. — компанію «Provivi», яка займається пошуком альтернативи пестицидам для захисту рослин. З 2016 р. входить до правління геномної компанії «Illumina».

Наукові досягнення Френсіс Арнольд відзначено багатьма нагородами, серед яких медаль Гарвена—Оліна Американського хімічного товариства (2005), премія Федерації американських товариств з експериментальної біології за видатні досягнення в науці (2007), премія Дрейпера Національної інженерної академії США (2011), Національна медаль за технологію та інновації (2011) — найвища державна відзнака США за внесок у технологічний прогрес, Премія Саклера з міждисциплінарних досліджень Національної академії наук США (2017) та ін. Френсіс Арнольд — єдина жінка, яка є членом усіх трьох національних академій США: Національної академії наук (з 2008), Національної інженерної академії (з 2000) та Національної медичної академії (з 2004). Крім того, вона є членом Американської академії мистецтв та наук (з 2011), Американської асоціації сприяння розвитку науки (з 2010), Американської академії мікробіології (з 2009), Американського хімічного товариства (з 2005), Американського інституту медичної та біологічної інженерії (з 2001), іноземним членом Королівської інженерної академії Великої Британії (з 2018), її також включено до Національної зали слави винахідників (2014).



Джордж Сміт (1941)

Френсіс Арнольд мешкає в м. Ла-Каньяда-Флінтридж (штат Каліфорнія). Двічі була одружена. Її перший чоловік помер від раку в 2001 р., а другий, астрофізик за фахом, вкоротив собі віку в 2010 р. Має трьох синів, один з яких у 2016 р. загинув через нещасний випадок. У неї самої в 2005 р. діагностували рак молочної залози, але після тривалого лікування хворобу вдалося подолати. Френсіс Арнольд багато подорожує, захоплюється підводним плаванням, катанням на лижах, а також мотокросом і пішими походами [4].

77-річний професор біології **Джордж Сміт** працював у Міссурійському університеті (нині — почесний професор). Народився 10 березня 1941 р. у м. Норволк (штат Коннектикут). З дитинства захоплювався природою, особливо його цікавили тварини. У 1963 р. здобув ступінь бакалавра з біології в Коледжі Хаверфорда (штат Пенсильванія), захистивши роботу в галузі молекулярної імунології. Протягом року працював шкільним учителем і лаборантом у дослідницькій лабораторії. В 1971 р. у Гарвардському університеті Джордж Сміт здобув ступінь доктора філософії з бактеріології та імунології, виконавши дисертаційну роботу під керівництвом Едгара Хейбера (*Edgar Haber*) з дослідження варіативності та адаптивної експресії антитіл. Потім Дж. Сміт працював в Університеті Вісконсин-Медісон (штат Вісконсин) разом з Оливером Смітисом (*Oliver Smithies*), який у 2007 р. отримав Нобелівську премію з фізіології або медицини «за відкриття принципів уведення специфічних генних модифікацій у мишей з використанням ембріональних стовбурових клітин». У 1975 р. Джордж Сміт перейшов до Міссурійського університету, де у 2000 р. став професором. У 1983—1984 рр. він працював у Університеті Дьюка у Даремі (штат Північна Кароліна). Саме там з Робертом Вебстером (*Robert Webster*) Сміт розпочав роботу з бактеріофагами, за яку й отримав Нобелівську премію. Наукові досягнення Джорджа Сміта відзначено премією з біотехнологічних досліджень Promega (2007). З 2001 р. він є членом Американської асоціації сприяння розвитку науки. Студенти і викладачі університету називають Джорджа Сміта «добрим і скромним генієм», який не женеться за кількістю публікацій і нагород. Одружений з Марджорі Сабель (*Marjorie R. Sable*), професором і директором Школи соціальної роботи Міссурійського університету, має двох синів [5].

67-річний професор сер **Грегорі Пол Вінтер** працює в Лабораторії молекулярної біології Ради медичних досліджень у Кембриджі (Велика Британія). Народився 14 квітня 1951 р. у англійському містечку Лестер (графство Лестершир). Грег був хворобливою дитиною. В післявоєнні роки життя у Британії було тяжким, норми вугілля, яку видавали на домогосподарство, не вистачало для обігрівання будинку, тому батько Грега знайшов роботу викладача французької мови в британській колонії Золотий Берег (яка в 1957 р. стала незалежною державою Гана) і перевіз родину до теплого клімату Західної Аф-

Грегорі Вінтер (1951)

рики. Згодом сім'я повернулася до Англії заради навчання Грега в Королівській гімназії в Ньюкасл-апон-Тайні.

Грег продовжив вивчати природничі науки в Трініті-коледжі (Коледжі Святої Трійці) Кембриджського університету, який закінчив у 1973 р. У 1977 р. він здобув ступінь доктора філософії в Лабораторії молекулярної біології Ради медичних досліджень у Кембриджі. Його дисертаційна робота, виконана під керівництвом Браяна Хартлі (*Brian S. Hartley*) і Джорджа Браунлі (*George Brownlee*), стосувалася досліджень амінокислотної послідовності триптофаніл-тРНК-синтетази бактерії Bacillus stearothermophilus. Пізніше Грег Вінтер стажувався в Імперському коледжі Лондона та в Інституті генетики Кембриджського університету. Потім повернувся до Лабораторії молекулярної біології Ради медичних досліджень у Кембриджі, де в 1981 р. очолив групу дослідників.

Вінтер був членом Науково-консультативної ради компанії «Covagen» (нині — частина компанії «Cilag»), головою Науково-консультативної ради компанії «Biosceptre International Ltd.» Також він член консультативної групи «Cambridge Innovation Capital» та попечитель низки трастових фондів. Грег Вінтер є старшим редактором наукового журналу «Protein Engineering Design and Selection», членом редколегії журналу «European Journal of Immunology». Заснував три біотехнологічні компанії: «Cambridge Antibody Technology» (1989), «Domantis» (2000) і «Bicycle Therapeutics» (2009). У 1994—2006 рр. він був керівником відділу хімії та біотехнології протеїнів і нуклеїнових кислот Лабораторії молекулярної біології Ради медичних досліджень, у 2006—2011 рр. працював заступником директора, у 2007—2008 рр. — виконувачем обов'язків директора. Крім того, був заступником директора Центру білкової інженерії Ради медичних досліджень з 1990 р. до його злиття в 2010 р. з Лабораторією молекулярної біології.

Наукові досягнення Грега Вінтера відзначено медаллю Колворта Біохімічного товариства Великої Британії (1986), премією Луї Жанте в галузі медицини однойменного фонду європейських біомедичних досліджень (1989), премією Шеєле Шведського фармацевтичного товариства (1994), міжнародною премією короля Фейсала з медицини (в галузі молекулярної імунології) (1995), премією Вільяма Б. Коулі Інституту досліджень онкологічних захворювань (1999), Королівською медаллю Лондонського королівського товариства (2011), медаллю «Міленіум» Ради медичних досліджень (2013), премією принца Таїланду Махідола (2016) та багатьма іншими нагородами. Сер Грег Вінтер є членом Європейського товариства молекулярних біологів (з 1987), Лондонського королівського товариства (з 1990), Австралійської академії технологічних наук та інженерії (з 2002), Академії медичних наук Великої Британії (з 2006) та Консультативної ради Кампанії з науки та техніки (Campaign for Science and Engineering; з 2010). Має титул командора Ордена Британської імперії (1997) і

титул лицаря-бакалавра (2004). З 2012 р. Г. Вінтер очолює престижний Трініті-коледж Кембриджського університету, в якому навчався не лише він сам, а й багато видатних особистостей — шість британських прем'єр-міністрів, відомі вчені Ісаак Ньютон, Джеймс Максвелл, Ернест Резерфорд, Нільс Бор, поет лорд Байрон, деякі члени британської королівської родини, наприклад принц Чарльз [6].

Що саме відкрили лауреати Нобелівської премії з хімії 2018 р.? І що таке спрямована еволюція ензимів (ферментів) і фаговий дисплей пептидів та антитіл?

Головна ідея, що об'єднує дослідження, відзначені Нобелівською премією, полягає у використанні еволюції, яка ґрунтується на принципах мінливості та добору, в галузі хімії для вирішення важливого завдання біоінженерії протеїнів: одержання в лабораторних умовах біомолекул з цінними для людини властивостями, які ніколи не існували в природі. Блискуча реалізація цієї ідеї спричинила справжню революцію в хімічній і фармацевтичній промисловостях. Але почнемо спочатку. Протеїни — унікальні сполуки, які є основою всього живого. Це великі полімерні молекули, що складаються з 20 різновидів амінокислот, однак залежно від послідовності цих амінокислот полімерний ланцюг може згортатися, формуючи безліч варіантів просторової структури, що й забезпечує можливість виконання молекулою певних функцій. Протеїни виникли внаслідок еволюції, яка тривала мільйони років. Вони здатні каталізувати біохімічні реакції, специфічно взаємодіяти з іншими молекулами (рецепторами, антигенами тощо), демонструючи при цьому фантастичну ефективність, швидкість, специфічність і можливість тонкої регуляції функцій. Тому не дивно, що люди давно намагалися їх використати для власних потреб. Для того щоб розширити діапазон можливостей того чи іншого протеїну та надати йому нових корисних для людини властивостей, учені почали генно-інженерними методами замінювати певні амінокислоти в послідовності протеїну, моделюючи за допомогою комп'ютерних програм наслідки таких дій. Проте цей підхід виявився досить складним і не завжди успішним, оскільки одна й та сама амінокислотна послідовність може мати кілька варіантів стійких конфігурацій, а також під час взаємодії з іншими молекулами вторинна структура може змінюватися внаслідок перерозподілу зарядів. Френсіс Арнольд запропонувала елегантне й напрочуд просте вирішення цієї проблеми: імітувати еволюцію протеїнів у пробірці, але значно швидшими темпами, ніж у природі (те, на що природній еволюції знадобилося мільйони років, у лабораторії можна зробити всього за тиждень). Адже природа за допомогою еволюції постійно створює нові неймовірні протеїни, наприклад ферменти, які дають бактеріям «харчуватися» пластмасою.

Отже, в ген протеїну вносили випадкові точкові мутації, які спричинювали одиничні амінокислотні заміни в структурі відповідних рекомбінантних протеїнів, синтезованих у клітинах бактерій *E. coli*. Потім проводили тестування та відбір протеїнів із потрібними властивостями (навіть, якщо вони проявлялися незначно). У гени відібраних протеїнів знову вносили чергову порцію мутацій і так повторювали кілька разів. Такий підхід назвали методом спрямованої

еволюції й результати його застосування виявилися дуже важливими для прикладної хімії.

Термін «спрямована еволюція» з'явився ще в 1960-х роках після експериментів з «монстром» Шпігельмана — довгим ланцюгом РНК бактеріофага Qβ, який у пробірці самовідтворювався внаслідок РНК-репліказі та піддавався штучному добору (відбирали першу синтезовану копію), що сприяло вкороченню ланцюга його еволюції: через 74 покоління оригінальна РНК довжиною у 4500 нуклеотидних основ перетворилася на карликовий геном, що складався лише з 218 основ [7].

Зазначимо, що теоретичним підґрунтям для появи методу спрямованої еволюції ферментів стала праця [8], опублікована в 1984 р. німецьким хіміком Манфредом Ейгеном (*Manfred Eigen*), якому, до речі, також присудили Нобелівську премію з хімії (1967) за дослідження екстремально швидких хімічних реакцій, що стимулюються порушенням рівноваги за допомогою дуже коротких імпульсів енергії.

Першим протеїном, який Френсіс Арнольд отримала в 1993 р. завдяки цьому методу, був новий варіант субтилізину Е — ензиму, який каталізує розщеплення пептидних зв'язків у протеїнах [9]. Термостабільність цього нового варіанта субтилізину була вища на 18 °С і він був здатний розщеплювати казеїн в органічному розчиннику (60 %-му розчині диметилформаміду) у 256 разів ефективніше, ніж вихідний ензим. Кінцевий варіант ензиму містив 10 критичних амінокислотних замін, 4 з яких були передбачені методами комп'ютерного моделювання і внесені цілеспрямовано, а ще 6 — з'явилися після трьох раундів випадкового мутагенезу та відбору.

Ще один крок у розвитку методу спрямованої еволюції зробив голландський дослідник Віллем П.К. Стеммер (*Willem P.C. Stemmer*). У 1994 р. він запропонував не тільки вносити випадкові мутації в гени ензимів, а й «перемішувати» фрагменти ДНК шляхом випадкового «розрізання» ДНК різних варіантів гена та їх «зшивання», що значно підвищило різноманіття можливих варіантів гена. Ефективність цього підходу підтвердив В. Стеммер на прикладі ензиму β-лактамази (відповідає за стійкість до антибіотиків), активність якого значно зросла після трьох циклів «перемішування» ДНК і відбору з використанням зростаючої концентрації антибіотика цефотаксиму [10].

Використання методу «перемішування» ДНК дало змогу отримати низку протеїнів з корисними властивостями, наприклад ензим, що каталізує детоксикацію арсенату [11], фермент фукозидазу, одержаний на основі галактозидази [12], зелений флуоресцентний протеїн з підсиленою здатністю до світіння, який часто використовують у дослідженнях як мітку [13].

Зазначимо, що В. Стеммер був засновником багатьох біотехнологічних компаній і також зробив значний внесок у розвиток методу фагового дисплея, отримання рекомбінантних фрагментів антитіл, розроблення фармацевтичних препаратів на їх основі, працював над проблемою збільшення часу їх виведення з організму. Він, безперечно, міг би стати лауреатом нинішньої Нобелівської премії з хімії, якби не помер від раку в 2013 р. у віці 56 років.

До кінця 1990-х років у лабораторіях В. Стеммера і Ф. Арнольд було розроблено низку нових підходів, які вдосконалили метод спрямованої ево-

люції ензимів, наприклад StEP (від англ. *staggered extension process* — покроковий процес розширення) [14]. З'ясувалося, що успішність застосування методу спрямованої еволюції ензимів істотно залежить від того, чи є у вихідного ензиму бодай якась схильність до тієї ознаки, яку планується підсилити. Згодом Френсіс Арнольд отримала велику кількість корисних ензимів з незвичайними властивостями для застосування в хімічній та фармацевтичній промисловостях. Наприклад, на основі родини генів цитохрому P450 одержано низку ензимів, здатних каталізувати хімічні реакції циклопропанування, азидування, сульфімідування, амінування бензильних C–H-зв'язків, вставки N–H-зв'язку [15]. Ці реакції використовують для синтезу штучних матеріалів і фармацевтичних препаратів. Нещодавно в лабораторії Ф. Арнольд було отримано цінний фермент для виробництва високонапружених карбоциклів [16]. Метод спрямованої еволюції було застосовано одночасно до кількох ензимів певного метаболічного шляху, що дало змогу налагодити виробництво в *E. coli* каротиноїдів [17] і L-метіоніну [18]. Арнольд довела, що за допомогою методу спрямованої еволюції можна отримати такий ензим, який однаково ефективно працюватиме як за високих, так і за низьких температур [19]. Також вона успішно провела роботу зі зміни кофакторної залежності ферментів, що беруть участь у перетворенні простих цукрів на ізобутанол, отримавши можливість виробляти в необмеженій кількості екологічно чисте біопаливо для автомобілів майбутнього [20]. За допомогою методу спрямованої еволюції стало можливим одержувати ензими, які каталізують реакції, що ніколи не відбувалися в природі, наприклад енантіоселективне внутрішньомолекулярне амінування C–H [21], утворення вуглецево-боранового зв'язку [22] або утворення зв'язку між атомом вуглецю та атомом кремнію [23]. Стало також реальним проводити відомі реакції в змінених умовах: за присутності органічних розчинників, в агресивних середовищах, за високих або низьких температур та ін. Крім того, хімічне виробництво стало більш екологічним завдяки утворенню набагато меншої кількості побічних продуктів, можливості відмовитися від використання великих об'ємів органічних розчинників і важких металів як каталізаторів реакцій.

Приблизно одночасно з появою методу спрямованої еволюції ензимів було розроблено ще один метод, який ґрунтувався на еволюційних принципах мінливості та добору — метод фагового дисплея, розроблений Джорджем Смітом у 1985 р. [24] для вирішення актуального на той час завдання: встановлення місцезнаходження в геномі генів, що кодують відомі протеїни. Вчений запропонував використати для цього бактеріофаги (або просто фаги) — віруси, що проникають у бактерії й використовують їх для копіювання вірусного геному та синтезу власних протеїнів. Фрагменти невідомої ДНК вставляли в ДНК фагів M13 (достатньо великих за розміром) в районі гена протеїну III — одного з п'яти протеїнів вірусної оболонки (капсиду). Після інфікування цими фагами бактерій *E. coli* у клітинах синтезувалися капсидні протеїни, злиті з невідомими протеїнами, які після збирання фагових частинок стирчали назовні. Утворювалася ціла фагова бібліотека невідомих протеїнів, з якої необхідно було відібрати вірусні частинки, що несли на своїй поверхні певний відомий протеїн. Це можна було зробити за допомогою специфічних до нього антитіл,

іммобілізованих на твердому носії. Після відбору залишалося лише прочитати геном фага і дізнатися нуклеотидну послідовність гена, що кодує досліджуваний протеїн.

Згодом виявилося, що метод фагового дисплея може бути дуже корисним для вирішення інших завдань, наприклад для пошуку пептидів, здатних взаємодіяти з певними протеїнами (зокрема з антитілами). Для цього у фаги вставляли довільні нуклеотидні послідовності й інфікували фагами бактерії. У процесі розмноження фагів їх ДНК зазнавала природних мутацій, і в результаті відбору отримували фаги, які виявляли хоча б слабку взаємодію з досліджуваним протеїном чи антитілом. Одержаними фагами знову інфікували бактерії й знову все повторювали. З'ясувалося, що всього за 5 раундів відбору можна отримати фагові частинки з пептидами, що досить сильно взаємодіють з іммобілізованим протеїном, дізнатися нуклеотидну послідовність, яка кодує ці пептиди, і отримувати їх у практично необмежених кількостях у клітинах бактерій. У 1988 р. Джордж Сміт запропонував [25] (практично одночасно з іншими дослідниками [26]) використовувати фагові бібліотеки пептидів з випадковими послідовностями для епітопного картування антитіл — визначення амінокислотної послідовності, з якою зв'язується активний центр антитіла. І в 1990 р. у журналі «Science» вийшло водночас дві статті з повідомленнями про створення таких бібліотек: бібліотека Девліна містила 20 млн 15-мерних пептидів [27], а бібліотека Сміта — 40 млн 6-мерних пептидів [28].

У тому самому 1990 р. стався ще один прорив: Грег Вінтер повідомив про успішне застосування методу фагового дисплея для одержання рекомбінантних фрагментів антитіл, які на поверхні фага зберігають здатність взаємодіяти з певним антигеном [29]. Антитіла є протеїнами класу імуноглобулінів, молекули яких досить великі (мінімум близько 150 кДа). Вони складаються з 4 поліпептидних ланцюгів (двох однакових легких і двох однакових важких), з'єднаних дисульфідними зв'язками. В кожному пептидному ланцюзі є внутрішні дисульфідні зв'язки, що формують відповідну конформацію, яка зветься доменом (їх чотири у важкому ланцюзі і, як правило, два — у легкому). Антитіла мають на NH2-кінцях відповідно 4 варіабельних домени (по одному в кожному ланцюзі), які попарно (варіабельний домен легкого ланцюга разом з варіабельним доменом важкого) утворюють 2 активні центри молекули антитіла, що здатні специфічно зв'язуватися з певним антигеном. Різноманіття можливих конформацій активних центрів антитіл є практично безмежним, особливо якщо врахувати існування механізму соматичних гіпермутацій. Саме тому організм може виробити імунітет до будь-якого раніше невідомого антигена.

Зрозуміло, що молекула антитіла не могла бути експонована на поверхні фагової частинки через свої великі розміри, тому Грег Вінтер використав ДНК, яка кодувала лише два варіабельні домени антитіла, з'єднані коротким пептидним «містком» (лінкером). Отримані рекомбінантні антитіла фактично були активними центрами нативних антитіл, тому їх назвали scFv-антитілами (від англ. *single chain fragment variable* — одноланцюгові варіабельні фрагменти). Перше scFv-антитіло, одержане методом фагового дисплея, специфічно розпізнавало лізоцим курячого яйця і не давало перехресних реакцій з іншими антигенами. У 1991 р. Г. Вінтер одночасно з іншими дослідниками [30] отри-

мав за допомогою фагового дисплея рекомбінантні Fab-фрагменти антитіл, що збиралися на поверхні фага і мали 4 варіабельних домени і відповідно два активних центри [31].

Заслугою Грега Вінтера є також те, що саме він запропонував створити великі комбінаторні фагові бібліотеки, що містять усі можливі комбінації генів варіабельних доменів антитіл, з яких відбором можна отримати scFv-антитіло до будь-якого антигена. Крім того, специфічність і силу зв'язування з антигеном (афінність) цих scFv-антитіл можна підвищити проведенням кількох раундів відбору та внесенням у ДНК фага природних мутацій на кожному етапі. Це було підтверджено експериментально в ході одержання антитіл проти 2-фенілоксазол-5-ону (phOx) з імунної фагової бібліотеки миші [32]. Одночасно Річард Лернер (*Richard A. Lerner*) зі співробітниками отримали з нативної фагової бібліотеки людини високоафінні Fab-фрагменти людини проти глікопротеїну gp120 вірусу імунодефіциту людини [33].

Фантастична ідея, запропонована Грегом Вінтером, спричинила справжню революцію у фармацевтичній промисловості, відкривши захмарні перспективи для виробництва препаратів на основі терапевтичних антитіл. Звичайно, антитіла здавна широко використовували в медицині для діагностики та лікування різних захворювань (специфічні поліклональні та моноклональні антитіла тваринного походження або неспецифічні імуноглобуліни людини, отримані з крові донорів). Проте використання антитіл обмежувалося ймовірністю появи у пацієнтів важких побічних реакцій на введення чужорідних протеїнів, а також складністю одержання антитіл до деяких антигенів (наприклад, до токсинів). Спочатку для вирішення цієї проблеми було запропоновано (до речі, також Грегом Вінтером) проводити «гуманізацію» моноклональних антитіл миші, при цьому найбільш антигенні ділянки мишачих антитіл з використанням генної інженерії замінювали на відповідні ділянки антитіл людини. Завдяки роботам Грега Вінтера з розроблення «гуманізованих» антитіл у подальшому стала можливою поява таких відомих препаратів, як трастузумаб (Herceptin) для лікування раку молочної залози і бевацизумаб (Avastin) для лікування деяких типів раку та вікової макулярної дегенерації. Однак безперечними перевагами фагового дисплея були швидкість, дешевизна, відсутність необхідності використання імунізованих лабораторних тварин для отримання антитіл і гібридів (гібридів лімфоцитів і ракових клітин, що продукують моноклональні антитіла), можливість отримання саме антитіл людини, що не викликають сторонніх реакцій у разі введення, одержання рекомбінантних антитіл у практично необмеженій кількості в клітинах бактерій-продуцентів, а також можливість отримання антитіл до будь-якого антигена (навіть до токсичного для ссавців або до власного протеїну людського організму).

Крім мишачих і людських, було отримано фагові бібліотеки генів імуноглобулінів інших видів тварин. Виявилося, що в деяких тварин (верблюдів, лам, акул) антитіла мають лише 2 варіабельних домени, кожний з яких здатен самостійно зв'язуватися з антигеном [34]. Однодоменні рекомбінантні антитіла на їх основі (нанободі) використовують для діагностики та лікування багатьох захворювань, зокрема онкологічних і аутоімунних [35]. Також знайдено подібні однодоменні антитіла людини та миші (dAb — від англ. *domain antibody*), здатні

взаємодіяти з антигеном, хоча й менш ефективно [36]. Рекомбінантні антитіла можуть бути біспецифічними, мультимерними, являти собою комбінації варіабельного домену з різною кількістю константних доменів тощо. Можна отримувати конструкції різної мультимерності, що складаються з декількох (від 1 до 4) scFv, змінюючи довжину лінкера відповідно від 12 до 3 амінокислотних залишків [37]. Згодом було розроблено рибосомний [38], бактеріальний [39] та еукаріотичний (у клітинах ссавців чи дріжджів) [40] дисплей, але фаговий дисплей залишається найпоширенішим.

Засновані Грегом Вінтером компанії «Cambridge Antibody Technology», «Domantis» і «Bicycle Therapeutics» розвивають різні біотехнологічні напрями, пов'язані з використанням фагового дисплея. Робота «Bicycle Therapeutics» зосереджена на синтезі терапевтичних біциклічних пептидів (цей напрям Грег Вінтер вважає одним із найперспективніших). Завдяки невеликим розмірам такі пептиди здатні проникати глибоко в тканини, а їх жорстка структура запобігає швидкому виведенню з організму. Компанія «Domantis» займається розробленням однодоменних антитіл людини (dAbs) проти цитокінів, пухлинних антигенів і факторів росту, клітинних рецепторів тощо. «Cambridge Antibody Technology» працює над одержанням терапевтичних антитіл за допомогою фагового і рибосомного дисплея. Цю компанію часто називають «коштовністю в короні» британської біотехнологічної промисловості. Вона прославилася у 1990-х роках розробленням за участю Грега Вінтера препарату адалімумаб — першого генно-інженерного моноклонального антитіла людини, одержаного з використаннями фагового дисплея, проти фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, що відіграє важливу роль у виникненні запалення при багатьох аутоімунних захворюваннях [41]. У 2002 р. адалімумаб затвердили для лікування ревматоїдного артриту, і нині його використовують для лікування псоріазу та запальних захворювань кишечника. Підрозділ компанії «Abbott Laboratories», яка отримала права на препарат, випускає адалімумаб під торговою назвою «Хуміра». У 2017 р. обсяги продажу цього найпопулярнішого у світі препарату перевищили 18 млрд дол. США, незважаючи на появу на ринку кількох його аналогів. Ще однією відомою розробкою «Cambridge Antibody Technology» є белімумаб («Бенліста») — генно-інженерне моноклональне антитіло людини проти BAFF (фактора активації В-клітин) або BLyS (стимулятора В-лімфоцитів) для лікування аутоімунного захворювання — системного червоного вовчака. Незважаючи на скромніші успіхи белімумабу, він став першим терапевтичним препаратом для лікування цього захворювання за останні 50 років, і в 2011 р. його затвердили до використання в США. Успішними виявилися також генно-інженерні препарати на основі антитіл людини для лікування сибірки [42] та деяких форм раку.

У 2006 р. «Cambridge Antibody Technology» і «Domantis» були придбані фармацевтичними гігантами, відповідно, «AstraZeneca» (за 702 млн фунтів) і «GlaxoSmithKline» (за 230 млн фунтів).

На сьогодні в медичній практиці використовують понад 50 нових препаратів на основі генно-інженерних антитіл, і щороку до них додається 3—5 нових. Очікується, що до 2020 р. продажі терапевтичних антитіл сягнуть 106 млрд євро. Крім фагового дисплея, розвиваються й інші підходи для одер-

жання терапевтичних антитіл людини. У 1991 р. вперше отримали трансгенних мишей, здатних синтезувати антитіла людини [43]. З того часу ця альтернативна технологія значно розвинулася. Перші покоління таких трансгенних мишей мали низку недоліків: вони могли синтезувати лише якесь певне антитіло людини, були імунодефіцитними. Зараз є миші, які можуть продукувати весь спектр можливих антитіл людини і водночас розвивають повноцінну імунну відповідь миші [44]. Трансгенних мишей використали для розроблення другого комерційного, після адалімумабу, повністю людського моноклонального антитіла — панітумумабу, яке є специфічним до рецептора епідермального фактора росту (EGFR). У 2006 р. його затвердили для лікування колоректального раку. Останнім часом одержано не тільки трансгенних мишей, а й трансгенних щурів, а також велику рогату худобу [45].

Одним з останніх досягнень цього підходу є розроблення препарату Yervoy (іпілімумаб) — моноклонального антитіла людини проти CTLA-4/CD152, яке затвердили в 2011 р. для лікування меланоми [46]. До речі, 2018 р. за відкриття механізмів, завдяки яким це антитіло успішно працює, присуджено Нобелівську премію з фізіології або медицини. Незважаючи на успіхи трансгенних технологій, фаговий дисплей набув ширшого використання в галузі одержання антитіл, що входять до складу фармацевтичних препаратів, діагностикумів, вакцин, систем доставки лікарських засобів (наприклад, на основі ліпосом), імунотоксинів (для лікування онкологічних і аутоімунних захворювань), інтрабоді (молекулярних зондів для дослідження внутрішньоклітинних процесів у динаміці). Рекомбінантні антитіла можуть бути об'єднані на рівні ДНК з різноманітними маркерними молекулами, такими як флуоресцентні протеїни, ензими [47] або специфічні теги (наприклад, полістеринзв'язувальний пептид або PS-тег, що використовується для орієнтованої іммобілізації антитіл на поверхні полістиролу в діагностичних тест-системах [48]). На сьогодні інформація про амінокислотну послідовність пептидів, що взаємодіють з різними антигенами, накопичується в базі даних загального доступу BDB, а метод фагового дисплея використовується в дослідницьких лабораторіях по всьому світу, і Україна не є винятком. Так, в Інституті молекулярної біології та генетики НАН України у відділі регуляторних механізмів клітини під керівництвом члена-кореспондента НАН України, академіка НАМН України В.А. Кордюма з імунної комбінаторної бібліотеки кДНК V-генів імуноглобулінів миші отримано scFv-антитіла проти різних типів інтерферону, на основі яких можна створювати високочутливі тест-системи для виявлення інтерферону [49].

Уже понад 15 років технологію фагового дисплея застосовують у відділі молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України. Співробітники відділу одержали низку scFv-антитіл, які можна використовувати для діагностики та лікування небезпечних інфекційних захворювань, а також як інструмент фундаментальних досліджень. Зі створених у відділі бібліотек генів імуноглобулінів миші та людини за допомогою методу фагового дисплея отримано високоафінні scFv-антитіла миші та людини проти дифтерійного токсину (ДТ) [50–52]. Ці scFv-антитіла можуть використовуватися під час розроблення тест-систем для діагностики дифтерії, а їх злиття з протеїном А золотистого стафілокока дає змогу застосовувати їх в імуноензимних

тест-системах з комерційними кон'югатами будь-якої видової належності [53]. Крім того, scFv-антитіла людини проти B-субодиниці токсину можуть входити до складу імунотерапевтичних препаратів для лікування дифтерії, оскільки вони мають токсиннейтралізуючі властивості та завдяки малим розмірам і людському походженню не спричинюють алергічних реакцій у хворих [54].

Одержані scFv-антитіла до гепаринзв'язувального фактора росту, подібного до епідермального фактора росту (HB-EGF — від англ. *heparin binding epidermal growth factor — like growth factor*) [55], було застосовано в ході розроблення імуноліпосом для спрямованої доставки лікарських речовин у пухлини, що експресують у значній кількості онкомаркер proHB-EGF [56]. Також такі антитіла самі можуть мати протипухлинні властивості, пригнічуючи розмноження клітин унаслідок блокування мітогенної дії proHB-EGF. А оскільки proHB-EGF є рецептором для ДТ, то таке блокування, ймовірно, може запобігати токсичному враженню тканин при дифтерії. Крім того, одержано scFv-антитіла до антигенів MPT63 та MPT83 (збудника туберкульозу), що можуть використовуватися в тест-системах для діагностики цього захворювання [57]. І хоча традиційно вважають, що головну роль у захисті від туберкульозу відіграє клітинний імунітет, останнім часом з'являється все більше відомостей, що антитіла проти антигенів збудника можуть обмежувати його поширення і, ймовірно, запобігати інфікуванню через слизові оболонки [58].

Одержані scFv-антитіла до послідовності Pro144-Leu155 протеїну C людини (фактора згортання крові XIV — ключового компонента антикоагуляційної системи крові) можуть застосовуватися для кількісного визначення протеїну C в імуноензимному аналізі, що має важливе діагностичне значення, адже зниження кількості протеїну C корелює з ризиком тромбогенезу [59]. Поза тим, отримано scFv-антитіла до нікотинового ацетилхолінового рецептора α7-субтипу (α7-нАХР), зміни експресії якого спостерігаються в мозку в разі хвороб Альцгеймера, Паркінсона та шизофренії. Цікаво, що антитіла проти цього рецептора можуть з'являтися у хворих на нейродегенеративні захворювання, а їх виявлення в здорових людей може свідчити про ризик виникнення хвороби Альцгеймера [60]. scFv-антитіла проти α7-нАХР, які генно-інженерними методами були об'єднані з червоним флуоресцентним білком mCherry, можуть використовуватися для визначення рівня експресії α7-нАХР на клітинах.

У 2003 р. на базі Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України Федерацією європейських біохімічних товариств (FEBS) було проведено поглиблені курси з молекулярної імунології та використання методів фагового дисплея, в яких взяли участь молоді науковці з багатьох європейських країн та деякі всесвітньо відомі імунологи. У 2015 р. колекцію рекомбінантних антитіл людини та гібридів-продуцентів моноклональних антитіл Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України внесли до Державного реєстру наукових об'єктів, що становлять національне надбання. Ця колекція має винятково важливе значення для подальшого розвитку фундаментальних і прикладних напрямів біології та медицини, а також відкриває широкі можливості для розвитку біотехнології антитіл не лише в Інституті біохімії, а й в інших наукових установах України. У 2016 р. п'ятьох співробітників Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН Ук-

раїни було відзначено Державною премією України в галузі науки і техніки за впровадження методів отримання одноланцюгових і моноклональних антитіл.

Антитіла, створені за допомогою фагового дисплея та генно-інженерних технологій за бажанням людини, дійсно є універсальним інструментом для лікування найрізноманітніших захворювань. Наступним проривом у цій галузі могло б стати винайдення способу створення антитіл з дуже тривалим періодом напіввиведення з організму людини. Нині дослідники намагаються рухатися в цьому напрямі, приєднуючи до антитіл поліетиленгліколь [61] або створюючи мультимерні конструкції. Такі ліки з пролонгованою дією можна було б приймати раз чи два на рік, значно знизивши вартість курсу лікування (хоча фармацевтичні компанії навряд чи зраділи би таким відкриттям).

Сьогодні метод спрямованої еволюції ензимів широко використовують для масового виробництва багатьох продуктів: підсилювачів смаку, ліків проти діабету та атеросклерозу, ліпідознижувальних фармакологічних препаратів. У неймовірно великих масштабах виробляють промислові хімікати та ліпази, що входять до складу миючих засобів. Відкриття цього методу має не тільки велике прикладне значення. Зокрема, воно дає безцінний фактичний матеріал для розвитку фундаментальної науки, кращого розуміння хімії та фізики біополімерів, вдосконалення комп'ютерних програм для моделювання протеїнів з певними властивостями, передбачення властивостей невивчених природних протеїнів тощо.

Перспективними напрямами розвитку методу спрямованої еволюції ферментів вважають такі підходи, як розроблення гібридних металоорганічних каталізаторів, створення великих бібліотек кДНК-мутантних ферментів і використання еукаріотичного дисплея [62], нових методів швидкого скринінгу [63], а також розширення діапазону реактивності через включення до складу ензимів нових функціоналізованих неприродних амінокислот (так зване розширення генетичного коду) [64]. На очах людства відбувається революція в хімії: перехід від синтетичної хімії, яка використовує продукти нафтопереробки і важкі метали, до ДНК-програмованого хімічного синтезу, який є більш ефективним, селективним і екологічно чистим [65].

Імовірно, що в майбутньому дослідники з легкістю зможуть отримати ензими для проведення будь-якої реакції або антитіла для лікування будь-якого захворювання лише на підставі точних розрахунків будови молекули. Нині вчені лише починають підіймати завісу над молекулярними таємницями природи, і запозичення еволюційної методології, запропоноване нобелівськими лауреатами з хімії 2018 р., значно сприяє пришвидшенню цього процесу та отриманню фантастичних практичних розробок, корисних для людства.

MOLECULAR BIOLOGY AND IMMUNOLOGY REVOLUTIONIZE CHEMISTRY, OR HOW TO GUIDE THE EVOLUTION OF PROTEINS FOR THE BENEFIT OF HUMANITY?

The Nobel prize in chemistry, 2018

S.I. Romanyuk, S.V. Komisarenko

The Nobel Prize in Chemistry for 2018 was shared by three scientists. Half the prize went to the American researcher Frances H. Arnold «for the guided evolution of enzymes», the other half was shared between the American George P. Smith and Briton Sir Gregory P. Winter «for the

phage display of peptides and antibodies». The methods developed by Nobel laureates will promote the development of more environmentally friendly production of chemical products, new materials, pharmaceuticals, biofuels, etc.

REFERENCES

1. The 2018 Clarivate Citation Laureates. https://web.ornl.gov/sci/first/ClarivateAnalyticsCitationLaureates.pdf.

2. The Nobel Prize in Chemistry 2018. Press Release. https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2018/press-re lea.

3. Nobel prize in literature 2018 cancelled after sexual assault scandal. https://www.theguardian.com/books/2018/ may/04/nobel-prize-for-literature-2018-cancelled-after-sexual-assault-scandal/.

4. Frances Arnold. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Frances_Arnold.

5. George Smith. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/George_Smith_(chemist).

6. Greg Winter. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Greg_Winter.

7. Spiegelman S., Haruna I., Holland I.B., Beaudreau G., Mills D. The Synthesis of a Self-propagating and Infectious Nucleic Acid with a Purified Enzyme. *PNAS*. 1965. Vol. 54, N 3. P. 919. http://dx.doi.org/10.1073/ pnas.54.3.919.

8. Eigen M., Gardiner W. Evolutionary molecular engineering based on RNA replication. Pure Appl. *Chem*. 1984. Vol. 56, N 8. P. 967. http://dx.doi.org/10.1351/pac198456080967.

9. Chen K., Arnold F.H. Tuning the activity of an enzyme for unusual environments: sequential random mutagenesis of subtilisin E for catalysis in dimethylformamide. *PNAS*. 1993. Vol. 90, N 12. P. 5618. http://dx.doi. org/10.1073/pnas.90.12.5618.

10. Stemmer W.P. Rapid evolution of a protein in vitro by DNA shuffling. *Nature*. 1994. Vol. 370, N 6488. P. 389. http://dx.doi. org/10.1038/370389a0.

11. Crameri A., Dawes G., Rodriguez E.Jr. et al. Molecular evolution of an arsenate detoxification pathway by DNA shuffling. *Nature Biotechnology*. 1997. Vol. 15, N 5. P. 436. http://dx.doi.org/10.1038/nbt0597-436.

12. Zhang J.H., Dawes G., Stemmer W.P. Directed evolution of a fucosidase from a galactosidase by DNA shuffling and screening. *PNAS*. 1997. Vol. 94, N 9. P. 4504. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.94.9.4504.

13. Crameri A., Whitehorn E.A., Tate E., Stemmer W.P. Improved green fluorescent protein by molecular evolution using DNA shuffling. *Nature Biotechnology*. 1996. Vol. 14, N 3. P. 315. http://dx.doi.org/10.1038/nbt0396-315.

14. Zhao H., Giver L., Shao Z. et al. Molecular evolution by staggered extension process (StEP) in vitro recombination. *Nature Biotechnolpgy*. 1998. Vol. 16, N 3. P. 258. http://dx.doi.org/10.1038/nbt0398-258.

15. Arnold F. The nature of chemical innovation: new enzymes by evolution. *Quarterly Reviews of Biophysics*. 2015. Vol. 48, N 4. P. 404. http:// dx.doi.org/10.1017/S003358351500013X.

16. Chen K., Huang X., Kan S.B.J., Zhang R.K., Arnold F.H. Enzymatic construction of highly strained carbocycles. *Science*. 2018. Vol. 360, N 6384. P. 71. http://dx.doi.org/10.1126/science.aar4239.

17. Schmidt-Dannert C., Umeno D., Arnold F.H. Molecular breeding of carotenoid biosynthetic pathways. *Nature Biotechnology*. 2000. Vol. 18, N 7. P. 750. http://dx.d.

18. May O., Nguyen P.T., Arnold F.H. Inverting enantioselectivity by directed evolution of hydantoinase for improved production of L-methionine. *Nature Biotechnology*. 2000. Vol. 18, N 3. P. 317. https://doi.org/10.1038/73773.

19. Wintrode P.L., Miyasaki K., Arnold F.H. Patterns of adaptation in a laboratory evolved thermophilic enzyme. *BBA Protein Structural and Molecular Evolution*. 2001. Vol. 1549, N 1. P. 1. http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4838(01)00226-6.

20. Bastian S., Liu X., Meyerowitz J.T. et al. Engineered ketol-acid reductoisomerase and alcohol dehydrogenase enable anaerobic 2-methylpropan-1-ol production at theoretical yield in

Escherichia coli. *Metabolic Engineering*. 2011. Vol. 13, N 3. P. 345. https://doi.org/10.1016/j.ymben.2011.02.004.

21. McIntos J.A., Coelho P.S., Farwell C.C. et al. Enantioselective intramolecular C-H amination catalyzed by engineered cytochrome P450 enzymes in vitro and in vivo. *Angewandte Chemie International edition in English*. 2013. Vol. 52, N 35. P. 9309. http://dx.doi.org/10.1002/anie.201304401.

22. Kan S.B.J., Huang X., Gumulya Y. et al. Genetically programmed chiral organoborane synthesis. *Nature*. 2017. Vol. 552, N 7683. P. 132. http://dx.doi.org/10.1038/nature24996.

23. Kan S.B., Lewis R.D., Chen K., Arnold F.H. Directed evolution of cytochrome c for carbon-silicon bond formation: Bringing silicon to life. *Science*. 2016. Vol. 354, N 6315. P. 1048. http://dx.doi.org/10.1126/science.aah6219.

24. Smith G.P. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science*. 1985. Vol. 228, N 4705. P. 1315. http://dx.doi.org/10.1126/science.4001944.

25. Parmley S.F., Smith G.P. Antibody-selectable filamentous fd phage vectors: affinity purification of target genes. *Gene*. 1988. Vol. 73, N 2. P. 305. http://dx.doi.org/10.1016/0378-1119(88)90495-7.

26. de la Cruz V.F., Lal A.A., McCutchan T.F. Immunogenicity and epitope mapping of foreign sequences via genetically engineered filamentous phage. *Journal of Biological Chemistry*. 1988. Vol. 263, N 9. P. 4318.

27. Devlin J.J., Panganiban L.C., Devlin P.E. Random peptide libraries: a source of specific protein-binding molecules. *Science*. 1990. 249, N 4967. P. 404. http://dx.doi.org/10.1126/science.2143033

28. Scott J.K., Smith G.P. Searching for peptide ligands with an epitope library. *Science*. 1990. Vol. 249, N 4967. P. 386. http:// dx.doi.org/10.1126/science.1696028.

29. McCafferty J., Griffiths A.D., Winter G., Chiswell D.J. Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains. *Nature*. 1990. Vol. 348, N 6301. P. 552. http://dx.doi.org/10.1038/348552a0.

30. Kang A.S., Barbas C.F., Janda K.D. et al. Linkage of recognition and replication functions by assembling combinatorial antibody Fab libraries along phage surfaces. *PNAS*. 1991. Vol. 88, N 10. P. 4363. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.88.10.43.

31. Hoogenboom H.R., Griffiths A.D., Johnson K.S. et al. Multi-subunit proteins on the surface of filamentous phage: methodologies for displaying antibody (Fab) heavy and light chains. *Nucleic Acids Research*. 1991. Vol. 19, N 15. P. 4133. http://dx.doi.org/10.1093/nar/19.15.4133.

32. Clackson T., Hoogenboom H.R., Bonnert T.P. et al. Making antibody fragments using phage display libraries. *Nature*. 1991. Vol. 352, N 6336. P. 624. http://dx.doi.org/10.1038/352624a0.

33. Burton D.R., Barbas C.F. 3rd, Persson M.A., Koenig S., Chanock R.M., Lerner R.A. A large array of human monoclonal antibodies to type 1 human immunodeficiency virus from combinatorial libraries of asymptomatic seropositive individuals. *PNAS*. 1991. Vol. 88, N 22. P. 10134. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.88.22.10134.

34. Kovalenko O.V., Olland A., Piché-Nicholas N.J. Atypical antigen recognition mode of a shark immunoglobulin new antigen receptor (IgNAR) variable domain characterized by humanization and structural analysis. *Biological Chemistry*. 2013. Vol. 288, N 24. P. 17408. http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M112.435289.

35. Siontorou C.G. Nanobodies as novel agents for disease diagnosis and therapy. *International Journal of Nanomedicine*. 2013. N 8. P. 4215. http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S39428.

36. Holt L.J., Herring Ch., Jespers L.S. et al. Domain antibodies: proteins for therapy. *Trends Biotechnol*. 2003. Vol. 21, N 11. P. 484. http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2003.08.007.

37. Guo J., Cai M. New type recombinant antibody fragment scFv multimer and cancer targeting. Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi. = Journal of biomedical engineering= 2003. 20, N 2. P. 361.

38. Hanes J., Plückthun A. In vitro selection and evolution of functional proteins by using ribosome display. *PNAS*. 1997. Vol. 94, N 10. P. 4937.

39. Georgiou G., Staphopolous C., Daugherty P., Nayak A.R., Iverson B.L., Curtiss R. 3rd. Display of heterologous proteins on the surface of microorganisms: from the screening of

combinatorial libraries to live recombinant vaccines. *Nature Bioctechnology*. 1997. Vol. 15, N 1. P. 29. http://dx.doi.org/10.1038/nbt0197-29.

40. Boder E.T., Wittrup K.D. Yeast surface display for screening combinatorial polypeptide libraries. *Nature Biotechnology*. 1997. Vol. 15, N 6. P. 553. http://dx.doi.org/10.1038/nbt0697-553.

41. Jespers L.S., Roberts A., Mahler S.M. et al. Guiding the selection of human antibodies from phage display repertoires to a single epitope of an antigen. *Biotechnology (NY)*. 1994. Vol. 12, N 9. P. 899. http://dx.doi. org/10.1038/nbt0994-899.

42. Cirino N.M., Sblattero D., Allen D. et al. Disruption of anthrax toxin binding with the use of human antibodies and competitive inhibitors. *Infection and Immunity*. 1999. Vol. 67, N 6. P. 2957.

43. Brüggemann M., Spicer C., Buluwela L. et al. Human antibody production in transgenic mice: expression from 100 kb of the human IgH locus. *European Journal of Immunology*. 1991. Vol. 21, N 5. P. 1323. http:// dx.doi.org/10.1002/eji.1830210535.

44. Moran N. Mouse platforms jostle for slice of humanized antibody market. *Natire Biotechnology*. 2013. Vol. 31, N 4. P. 267. http:// dx.doi.org/10.1038/nbt0413-267.

45. Brüggemann M., Osborn M.J., Ma B. et al. Human antibody production in transgenic animals. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2015. Vol. 63, N 2. P. 101. http:// dx.doi.org/10.1007/s00005-014- 0322-x.

46. Wolchok J.D., Hodi F.S., Weber J.S. et al. Development of ipilimumab: a novel immunotherapeutic approach for the treatment of advanced melanoma. *Academy of Sciences*. 2013. N 1291. P. 1. http://dx.doi.org/10.1111/nyas.12180.

47. Oyama H., Tanaka E., Kawanaka T. et al. Anti-idiotype scFv-enzyme fusion proteins: a clonable analyte-mimicking probe for standardized immunoassays targeting small biomarker. *Analytical Chemistry*. 2013. Vol. 85, N 23. P. 11553. http://dx.doi. org/10.1021/ac402868f.

48. Kumada Y., Hamasaki K., Shiritani Y. et al. Direct immobilization of functional single-chain variable fragment antibodies (scFvs) onto a polystyrene plate by genetic fusion of a polystyrene-binding peptide (PS-tag). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2009. Vol. 395, N 3. P. 759. http:// dx.doi.org/10.1007/s00216-009-2999-y.

49. Pavlova M.V., Nikolaev Iu.S., Irodov D.M. et al. Characterization of a panel of mouse single-chain antibodies against recombinant human interferon beta1b. *Tsitology and Genetics*. 2008. Vol. 42, N 4. P. 3.

50. Oliinyk O.S., Kaberniuk A.A., Redchuk T.A. et al. Construction of immune library of murine immunoglobulin genes and screening of single-chain Fv-antibodies to diphtheria toxin b subunit. *Ukr. Biochem. J*. 2009. Vol. 81, N 2. P. 68. [Олійник О.С., Кабернюк А.А., Редчук Т.А. та ін. Створення імунної бібліотеки імуноглобулінових генів миші та відбір одноланцюгових Fv антитіл, специфічних до В-субодиниці дифтерійного токсину. *Український біохімічний журнал*. 2009. Т. 81, № 2. С. 68—79].

51. Oliinyk O.S., Kaberniuk A.A., Burkaleva D.O. et al. Obtaining of recombinant scFv-antibodies against diphtheria toxin using phage display system. *Ukr. Biochem. J*. 2007. Vol. 79, N 5. P. 91. [Олейник Е.С., Кабернюк А.А., Буркалева Д.А. и др. Получение рекомбинантных scFv-антител против дифтерийного токсина методом фагового дисплея. *Український біохімічний журнал*. 2007. Т. 79, № 5. С. 91—97].

52. Oliinyk O.S., Kaberniuk A.A., Kolibo D.V., Komisarenko S.V. Single chain variable fragments of antibodies against diphtheria toxin b-subunit isolated from phage display human antibody library. *Biotechnologia Acta*. 2014. Vol. 7, N 1. P. 54. http://dx.doi.org/10.15407/biotech7.01.054.

53. Oliinyk O.S., Kaberniuk A.A., Redchuk T.A. et al. Construction of bifunctional molecules specific to antigen and antibody's Fc-fragment by fusion of scFv-antibodies with staphylococcal protein A. *Biopolymers and Cell*. 2009. Vol. 25, N 3. P. 245. http://dx.doi.org/10.7124/bc.0007E3.

54. Oliinyk O.S., Labyntsev A.J., Korotkevich N.V. et al. Study on toxin-neutralization properties of recombinant single-chain variable antibody's fragments against diphtheria toxin B subunit. *Biopolymers and Cell*. 2009. Vol. 25, N 4. P. 315. http://dx.doi.org/10.7124/bc.0007EB.

55. Oliinyk O.S., Kaberniuk A.A., Kolibo D.V., Komisarenko S.V. Isolation and characterisation of recombinant single chain variable fragment antibodies (scFv) against human heparinbinding EGF-like growth factor. *Biotechnologia*. 2012. Vol. 5, N 6. P. 61. [Олійник О.С., Кабернюк А.А., Колибо Д.В., Комісаренко С.В. Одержання та характеристика рекомбінантних одноланцю-

гових варіабельних фрагментів антитіл (ScFv) проти гепаринзв'язувального EGF-подібного фактора росту людини. *Біотехнологія*. 2012. Т. 5, № 6. С. 61—70].

56. Oliinyk O.S., Labyntsev A.J., Manoylov K.Yu. et al. Immunoliposomes for the targeted delivery of biologically active compounds into tumor tissue cells. In: Nano-size systems and nanomaterials: research in Ukraine. Kyiv: Akademperiodyka, 2014. [Олейник Е.С., Лабынцев А.Ю., Манойлов К.Ю. и др. Иммунолипосомы для направленной доставки биологически активных соединений в клетки опухолевых тканей. В кн.: Наноразмерные системы и наноматериалы: исследования в Украине. Киев: Академпериодика, 2014. С. 510—514.]

57. Palyvoda K.O., Oliinyk O.S., Kolibo D.V., Komisarenko S.V. Obtaining and characterization of recombinant singlechain variable antibody fragments (scFv) against MRT63. *Ukr. Biochem. J.* 2014. Vol. 86, N 5. P. 121. [Паливода К.О., Олійник О.С., Колибо Д.В., Комісаренко С.В. Отримання та характеристика рекомбінантних одноланцюгових варіабельних фрагментів антитіл (scFv) проти MPT63. Тези XI Укр. біохім. конгр. (6—10 жовтня 2014, Київ). *Український біохімічний журнал*. 2014. Т. 86, № 5 (II). С. 121].

58. Jacobs A.J., Mongkolsapaya J., Screaton G.R. et al. Antibodies and tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*. 2016. N 101. P. 102. http://dx.doi.org/10.1016/j.tube.2016.08.001.

59. Oliinyk O.S., Palyvoda K.O., Lugovskaya N.E. et al. Recombinant single chain variable fragment antibodies (scFv) against Pro144–Leu155 fragment of human protein C. *Ukr. Biochem. J.* 2015. Vol. 87, N 2. P. 88. http://dx.doi.org/10.15407/ubj87.02.088.

60. Koval L., Lykhmus O., Kalashnyk O. et al. The presence and origin of autoantibodies against α4 and α7 nicotinic acetylcholine receptors in the human blood: possible relevance to Alzheimer's pathology. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2011. 25, N 4. P. 747. http://dx.doi.org/10.3233/JAD-2011-101845.

61. Chen C., Constantinou A., Deonarain M. Modulating antibody pharmacokinetics using hydrophilic polymers. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2011. Vol. 8, N 9. P. 1221. http://dx.doi.org/10.1517/17425247.2011.602399.

62. Könning D., Kolmar H. Beyond antibody engineering: directed evolution of alternative binding scaffolds and enzymes using yeast surface display. *Microbial Cell Factories*. 2018. Vol. 17, N 1. P. 32. http://dx.doi.org/10.1186/s12934-018-0881-3.

63. Ye L., Yang C., Yu H. From molecular engineering to process engineering: development of high-throughput screening methods in enzyme directed evolution. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018. Vol. 102, N 2. P. 559. http://dx.doi.org/10.1007/ s00253-017-8568-y.

64. Liu C.C., Mack A.V., Tsao M.L. et al. Protein evolution with an expanded genetic code. *PNAS*. 2008. Vol. 105, N 46. P. 17688. http://dx.doi.org/10.1073/ pnas.0809543105.

65. Arnold F.H. Directed Evolution: Bringing New Chemistry to Life. *Angewandte. Chemie Interbational Edition Engl.* 2018. Vol. 57, N 16. P. 4143. http://dx.doi.org/10.1002/anie.201708408.

МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ КЛІТИН ДО ГІПОКСІЇ, АБО ЯК «ПЕРЕКРИТИ КИСЕНЬ» ЗЛОЯКІСНІЙ ПУХЛИНІ?

Нобелівська премія з фізіології або медицини, 2019

С.І. Романюк, С.В. Комісаренко

Нобелівську премію з фізіології або медицини у 2019 р. присуджено двом американським ученим — Вільяму Дж. Келіну-молодшому (William G. Kaelin, Jr.) з Гарвардського університету та Грегу Л. Семензі (Gregg L. Semenza) з Університету Джонса Хопкінса, а також британському досліднику Пітеру Дж. Ретклiффу (Sir Peter J. Ratcliffe) з Оксфордського університету за «відкриття того, як клітини відчувають і пристосовуються до наявності кисню». Роботи цьогорічних нобелівських лауреатів є засадничими для розуміння того, як рівень кисню впливає на клітинний метаболізм та фізіологічні функції. Їх дослідження відкривають шлях до розроблення нових стратегій у боротьбі з анемією, раком та багатьма іншими хворобами.

118-й Нобелівський тиждень у Стокгольмі розпочався 7 жовтня 2019 р. з оголошення Нобелівським комітетом при Каролінському медичному інституті імен лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини. Напередодні компанія «Clarivate Analytics» вже традиційно оприлюднила список учених, які за аналізом кількості цитувань є найімовірнішими претендентами на цю найпрестижнішу наукову нагороду [1]. По-перше, це Ганс Клеверс (*Hans Clevers*), професор Утрехтського університету (Нідерланди), який дослідив роль сигнального шляху Wnt у стовбурових і ракових клітинах, а також розробив метод вирощування зі стовбурових клітин органів людини (кишечника, печінки, підшлункової залози), що використовуються для тестування ліків. По-друге, ймовірними кандидатами на премію назвали Джона У. Кепплера (*John W. Kappler*) і Філіппу Маррак (*Philippa Marrack*), професорів Національного єврейського центру здоров'я у Денвері (США), зважаючи на їхнє відкриття механізмів формування Т-клітинної толерантності до клітин власного організму, що сприяло глибшому розумінню причин виникнення автоімунних захворювань, таких як ревматоїдний артрит, вовчак і синдром Гієна–Барре. По-третє, претендувати на Нобелівську премію могли б Ернст Бамберг (*Ernst Bamberg*), почесний директор Інституту біофізики імені Макса Планка у Франкфурті-на-Майні (Німеччина), Карл Дейссерот (*Karl Deisseroth*), професор Стенфордського університету (Каліфорнія, США), та Геро Мізенбек (*Gero Miesenböck*), професор Оксфордського університету (Велика Британія), за винахід та розвиток оптогенетики, а саме: за розроблення методу використання світла для спостереження та контролю за нервовою активністю, який розширив знання про хворобу Паркінсона, механізми відновлення зору, формування залежності та порушення настрою.

Вільям Джордж Келін (1957)

Проте лауреатами 110-ї Нобелівської премії з фізіології або медицини (217—219-ми за підрахунком) стали троє дослідників: американець **Вільям Дж. Келін** (*William G. Kaelin Jr.*), британець **Пітер Дж. Реткліфф** (*Sir Peter J. Ratcliffe*) та американець **Грег Л. Семенза** (*Gregg L. Semenza*).

Секретар Нобелівського комітету з фізіології та медицини Томас Перлманн (*Thomas Perlmann*) оголосив мотивування рішення про нагородження: вчених було удостоєно цієї престижної нагороди за «*відкриття того, як клітини відчувають і пристосовуються до наявності кисню*». Згідно з офіційним прес-релізом, лауреати «*...визначили молекулярний механізм, який регулює активність генів у відповідь на різний рівень кисню. Відкриття нобелівських лауреатів розкрили механізм одного з найважливіших адаптаційних процесів у житті, створили засади для розуміння того, як рівень кисню впливає на клітинний обмін і фізіологічні функції. Їх відкриття також проклали шлях для перспективних нових стратегій боротьби з анемією, раком та багатьма іншими захворюваннями*» [2].

За традицією церемонія нагородження лауреатів відбулася 10 грудня у Стокгольмі, в день смерті Альфреда Нобеля. Розмір грошової винагороди в 2019 р. становив 9 млн крон (935 000 дол. США).

Познайомимося ближче з нобелівськими лауреатами з фізіології та медицини 2019 р.

61-річний професор медицини **Вільям Джордж Келін** (англ. *William George Kaelin Jr.*) працює в США у Гарвардському університеті (Harvard University) в Кембриджі, а також в Інституті раку Дана-Фарбер (Dana-Farber Cancer Institute) у Бостоні (штат Массачусетс).

Вільям Келін народився 23 листопада 1957 р. у центральному густонаселеному районі Джамейка найбільшого боро Нью-Йорка — Квінз на острові Лонг-Айленд у сім'ї податкового адвоката Вільяма Келіна-старшого та Ненсі Келін (Хорн). У сім'ї було п'ятеро дітей: чотири хлопчики та одна дівчинка. Батько свого часу навчався в Університеті Дюка, чого бажав і всім своїм дітям. Тому відправив їх на навчання до Вищої школи Роджера Людлова у Ферфілді при Університеті Дюка, а потім до інших шкіл (юридичної, медичної) у структурі цього університету. Вільям вступив до Медичної школи Університету Дюка, де здобув ступінь бакалавра з математики та хімії, а в 1982 р закінчив докторантуру, отримавши ступінь доктора медицини. Він пройшов стажування з внутрішньої медицини в Університеті Джона Хопкінса (Johns Hopkins University) в Балтиморі (штат Меріленд) та отримав стипендію в Інституті раку Дана-Фарбер (ІРДФ).

У студентські роки Вільям був впевнений, що в нього немає здібностей до наукової роботи, однак він досяг значних успіхів у дослідженні ретинобластоми в лабораторії Девіда Лівінгстона в ІРДФ, де почав працювати з 1987 р. У 1992 р. В. Келін створив в ІРДФ власну лабораторію (поверхом нижче ніж ла-

бораторія Лівінгстона), в якій досліджував спадкові форми раку, такі як хвороба фон Гіппеля—Ліндау. В 2002 р. Вільям Келін став професором Гарвардської медичної школи, в 2008 р. — заступником директора з фундаментальних наук у Раковому центрі Дана-Фарбер/Гарвард (DanaFarber/Harvard Cancer Center) при ІРДФ.

Науково-дослідні роботи Вільяма Келіна фінансувалися Національним інститутом здоров'я, Американським протираковим товариством, Благодійним фондом Дорис Дюк тощо. Він є членом ради директорів фармацевтичної компанії «Eli Lilly» та науково-дорадчого комітету благодійної протиракової програми Фонду індустрії розваг «Stand Up To Cancer», а також членом редколегії наукового журналу «Molecular and Cellular Biology», дослідником Медичного інституту ім. Говарда Х'юза (1998), членом Національної академії медицини США (2007), Національної академії наук США (2010), Американського товариства клінічних досліджень (2014) і Академії американської асоціації ракових досліджень (2014).

Вільяма Келіна відзначено численними науковими нагородами: премією лікаря-вченого (Physician-Scientist Award) Національного інституту здоров'я США (1990); премією Пауля Маркса (Paul Marks Prize) за дослідження раку (2001); премією Фонду Річарда та Хінди Розенталь (Richard and Hinda Rosenthal Foundation Award) (2006); премією Доріс Дюк визначному клінічному досліднику (Doris Duke Distinguished Clinical Investigator Award) (2006); премією Медичної школи Університету Дюка визначному випускнику (Duke University School of Medicine Distinguished Alumni Award) (2007); міжнародною премією Канадського фонду Гарднера (Canada Gairdner International Award) в галузі наук про життя (2010); премією Альфреда Кнудсона (Alfred Knudson Award) з генетики раку Національного інституту раку (2011); премією Стенлі Дж. Корсмеєра (Stanley J. Korsmeyer Award) Американського товариства клінічних досліджень (2012); гран-прі Наукового фонду Лефулон-Делаланде (The Scientific Grand Prize of the Lefoulon-Delalande Foundation) Інституту Франції (2012); премією Стівена К. Біринга (Steven C. Beering Award) Медичної школи Індіанського університету (2014); премією Вайлі (Wiley Prize) у галузі біомедичних наук (2014); премією Science of Oncology Американського товариства клінічної онкології (2016); премією принцеси Такамацу (Princess Takamatsu Award) Американської асоціації ракових досліджень (2016); премією Альберта Ласкера (Albert Lasker Award) за фундаментальні медичні дослідження (2016); премією Мессрі (Massry Prize) (2018) [3].

У 1988 р. Вільям Келін одружився з Керолін Келін (Scerbo) — відомим хірургом з раку молочної залози, яка працювала в ІРДФ, заснувала Центр здоров'я грудей у Брігхемі та жіночу лікарню в Бостоні. У 2001 р. вона увійшла до списку 15 жінок нового століття за версією журналу «Newsweek». Діагностувавши у себе рак молочної залози у 2003 р., Керолін перенесла багато операцій, внаслідок яких втратила чутливість пальців і була змушена припинити хірургічну кар'єру. У 2010 р. у неї виявили рак головного мозку, від якого вона після 5 років боротьби із захворюванням померла у віці 54 років, залишивши Вільяму двох дітей: старшу дочку, Кетрін Грейс, і сина, Вільяма (Тріппа), які на той момент були студентами Єльського університету. Зараз Кетрін працює

Пітер Реткліфф (1954)

на юридичному факультеті Оксфордського університету у Великій Британії (її робота пов'язана зі сприйняттям мистецтва у кримінальному середовищі), Тріпп є аспірантом Гарвардського університету і займається комп'ютерним дизайном [4].

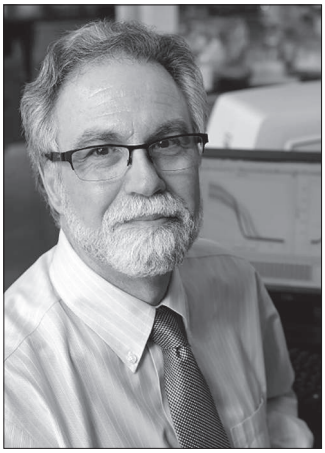
65-річний професор **Пітер Джон Реткліфф** (англ. *Peter John Ratcliffe*) є директором Інституту відкриття «мішеней» (Target Discovery Institute) при Наффілдській кафедрі медицини Оксфордського університету (Велика Британія), практикуючим клініцистом у Лікарні Джона Реткліффа в Оксфорді та директором з клінічних досліджень Інституту Френсіса Кріка (Francis Crick Institute) у Лондоні.

Пітер Реткліфф народився 14 травня 1954 р. у Моркамі (графство Ланкашир, Велика Британія) в родині Фредеріка Вільяма та Еліс Маргарет Реткліффів. Батько Пітера був бібліотекарем у Кембриджському університеті, мав титул командора ордена Британської імперії та науковий ступінь доктора філософії. Дитинство Пітер провів у північному Ланкаширі, де він з 1965 р. навчався у Королівській гімназії Ланкастера. Вивчати медицину він почав у 1972 р. в одному з найстаріших і найзаможніших коледжів Кембриджського університету — Коледжі Гонвіля і Кеюса (Gonville and Caius College). Клінічну підготовку пройшов у найстарішій лікарні Лондона — Госпіталі Святого Варфоломія.

У 1978 р. Пітер Реткліфф здобув ступінь бакалавра з медицини за спеціальністю «хірургія», працював у Лондонських аспірантських лікарнях (London postgraduate hospitals), потім переїхав до Оксфорда, де вивчав нефрологію і молекулярну біологію, а в 1990 р., отримавши стипендію від фонду Wellcome Trust, заснував при Інституті молекулярної медицини Везеролла (MRC Weatherall Institute of Molecular Medicine) в Оксфорді лабораторію біології гіпоксії, яку очолював понад 20 років. У 1987 р. Пітер Реткліфф здобув ступінь доктора медицини в Кембриджському університеті, у 1996 р. став професором, а з 2004 до 2016 р. очолював Наффілдську кафедру медицини в Оксфордському університеті. З 2016 р. він є директором Інституту відкриття «мішеней» в Оксфорді, а також директором з клінічних досліджень Інституту Френсиса Кріка.

Пітер Реткліфф є членом Лондонського наукового товариства (2002), Академії медичних наук Великої Британії (2002), Європейської організації молекулярної біології — EMBO (2006), іноземним почесним членом Американської академії мистецтв і наук (2007), Інституту Людвіга з досліджень раку (Ludwig Institute for Cancer Research) (2013), нагороджений титулом лицаря-бакалавра за послуги клінічній медицині (2014).

Наукову діяльність Пітера Реткліффа відзначено багатьма нагородами: премією фонду Мільне-Муерке (Milne-Muerke Foundation Award; 1991); премією Греяма Булла (Graham Bull Prize; 1998); премією Міжнародного товариства з очищення крові (International Society for Blood Purification Award; 2002); Круніанською медаллю та лекцією Лондонського королівського товариства (2006); премією Луїса Жентета (Louis-Jeantet Prize) з медицини (2009);



Грег Семенза (1956)

міжнародною премією Канадського фонду Гарднера (Canada Gairdner International Award) в галузі наук про життя (2010); медаллю Бейлі (Baly Medal) Королівської колегії лікарів Лондона (2011); премією фонду Роберта і Клер Пасаров (Pasarow Award) за визначний внесок у дослідження серцево-судинної системи (2012); гран-прі Наукового фонду Лефулон-Делаланде (Scientific Grand Prize of the Lefoulon-Delalande Foundation) Інституту Франції (2012); премією Якоба Херза (Jakob-Herz-Preis) німецького Університету Ерлангена–Нюрнберга (2013); премією Вайлі (Wiley Prize) (2014); премією Альберта Ласкера (Albert Lasker Award) за фундаментальні медичні дослідження (2016); медаллю Баченен (Buchanan Medal) Лондонського королівського товариства (2017); премією Мессрі (Massry Prize) (2018) та ін.

Пітер Реткліфф з 1983 р. одружений з Фіоною Мері Макдугал (Fiona Mary MacDougall), має двох синів [5].

63-річний професор педіатрії, променевої онкології, біологічної хімії, медицини та онкології **Грег Леонард Семенза** (англ. *Gregg Leonard Semenza*) працює в Медичній школі університету Джона Хопкінса (Johns Hopkins University School of Medicine) у Балтиморі (штат Меріленд, США). Грег Семенза народився 1 липня 1956 р. у мікрорайоні Флашинг боро Квінз у Нью-Йорку. Він був першою дитиною в родині, згодом з'явилися на світ його троє братів і сестра. Дитинство Грег провів у окрузі Вестчестер штату Нью-Йорк. У 1974 р. Грег Семенза закінчив Вищу школу селища Сонна Лощина біля містечка Маунт-Плезант та вступив до Гарвардського університету.

Поштовхом до його захоплення педіатричною генетикою стало народження у друга сім'ї дитини з синдромом Дауна. Дисертаційну роботу, яку Г. Семенза виконував у Пенсильванському університеті у Філадельфії, було присвячено секвенуванню генів, пов'язаних з рецесивним генетичним розладом — бета-талассемією. Здобувши докторський ступінь, Грег Семенза пройшов педіатричне стажування в Медичному центрі Університету Дюка (Duke University Medical Center) в Дюремі (штат Північна Кароліна). У 1990 р. перейшов до Університету Джона Хопкінса задля докторантури з медичної генетики, де став засновником судинної програми Інституту клітинної інженерії (Institute for Cell Engineering). Тут він познайомився зі своєю майбутньою дружиною — Лаурою Каш-Семензою (Laura Kasch-Semenza), яка працює в Інституті генетичної медицини МакКусіка–Натанса при Медичній школі Університету Джона Хопкінса і займається генотипуванням. Подружжя має трьох дітей.

Грег Семенза є автором понад 400 дослідницьких праць і розділів у книгах, які було процитовано понад 130 000 разів. Він член редакційних колегій кількох наукових видань, зокрема журналів «Molecular and Cellular Biology» та «Cancer Research», а також заступник головного редактора «Journal of Clinical Investigation» та головний редактор «Journal of Molecular Medicine». Грег Се-

менза є членом Американського товариства клінічних досліджень (1995), Американського товариства педіатричних досліджень, Національної академії наук США, Асоціації американських лікарів (2008), Національної академії медицини США (2012), професором-дослідником Американського онкологічного товариства (2012—2016). Його дослідження неодноразово підтримувалися грантами Американської кардіологічної асоціації.

Наукові здобутки Грега Семензи відзначено численними нагородами: премією Люсіль П. Маркі науковому співробітнику в галузі біомедицини фонду Markey Trust (1989); премією Жана і Ніколаса Леоне (Jean and Nicholas Leone Award) Фонду дитячих пухлин головного мозку (1999); премією Е. Міда Джонсона (E. Mead Johnson Award) за дослідження в педіатрії Товариства педіатричних досліджень (2000); Міжнародною премією Фонду Гарднера (Gairdner Foundation International Award (Канада); 2010); гран-прі Наукового фонду Лефулон-Делаланде (Scientific Grand Prize of the Lefoulon-Delalande Foundation) Інституту Франції; премією Стенлі Дж. Корсмеєра (Stanley J. Korsmeyer Award) Американського товариства клінічних досліджень (2012); премією Вайлі (Wiley Prize) в галузі біомедичних наук (2014); премією Альберта Ласкера (Albert Lasker Award) за фундаментальні медичні дослідження (2016); премією Мессрі (Massry Prize) (2018) [6].

Що саме відкрили лауреати Нобелівської премії з фізіології та медицини за 2019 р.?

Їхнє відкриття стосується одного з ключових процесів, що робить життя можливим, — процесу дихання. В основі дихання лежить процес окиснення (за допомогою кисню повітря) органічних речовин (їжі) з вивільненням енергії, яка запасається у формі аденозинтрифосфату (АТФ) і використовується в інших процесах життєдіяльності організму. На клітинному рівні процес дихання відбувається у мітохондріях і є складним багатоетапним процесом, в якому бере участь значна кількість ферментів. Унаслідок окиснення однієї молекули глюкози утворюється 38 молекул АТФ. Під час гідролізу АТФ перетворюється на аденозиндифосфат (АДФ) і ортофосфат або на аденозинмонофосфат (АМФ) і пірофосфат з виділенням великої кількості енергії. Ця енергія може бути використана в інших біохімічних реакціях, які забезпечують процеси росту, руху, відтворення тощо.

Люди здавна знали, що без повітря життя неможливе. І лише наприкінці XVIII ст. (у 1774—1777 рр.) завдяки експериментам шведа Карла Вільгельма Шеєле, англійців Генрі Кавендиша та Джозефа Прістлі, француза Антуана Лорана Лавуазьє було встановлено, що підтримувати життя та горіння здатен газ («вогневе, знезаражене чи безфлогістонне повітря»), який займає приблизно чверть у складі повітря. Цей газ, який нині називають киснем, виявив у 1774 р. під час нагрівання оксиду ртуті Джозеф Прістлі, який також відкрив вуглекислий газ і фотосинтез. У чистому вигляді кисень (оксиген) у 1777 р. виділив Антуан Лавуазьє, який завдяки побудованій ним конструкції з величезними лінзами (до 1,3 м) дослідив окиснення за високих температур багатьох речовин, зокрема перетворення алмазів на графіт. На жаль, Лавуазьє було гільйотиновано в 1794 р. під час Французької революції за звинуваченням у «змові з

ворогами Франції з метою викрадення в нації величезних коштів», хоча через два роки й реабілітовано посмертно.

Майже 100 років потому, в 1858 р., видатний французький учений Луї Пастер встановив, що кисень негативно впливає на процес бродіння (так званий ефект Пастера). Згодом він довів, що бактерії, які спричиняють бродіння (наприклад, маслянокислі бактерії), можуть розвиватися тільки в безкиснево-му середовищі, тобто вони є анаеробними організмами, спроможними до життя без дихання. Досліджуючи бактерії, здатні як до бродіння, так і до дихання, Пастер уперше показав, що клітини можуть пристосовуватися до різного вмісту кисню в середовищі та використовувати різні метаболічні способи для одержання енергії. Крім того, він довів, що анаеробне життя є менш ефективним порівняно з аеробним.

У наступному столітті (1920—1940) дослідження, пов'язані з вивченням процесу дихання та різних метаболічних шляхів отримання енергії, було відзначено кількома Нобелівськими преміями з фізіології або медицини. Так, у 1922 р. премією нагороджено британського дослідника Арчибальда Гілла (*Archibald Vivian Hill*) за відкриття в галузі теплоутворення в м'язі та німецького вченого Отто Меєргофа (*Otto Fritz Meyerhof*) за відкриття тісного взаємозв'язку між процесом поглинання кисню та метаболізмом молочної кислоти в м'язі; в 1931 р. нобелівським лауреатом став німецький біохімік Отто Варбург (*Otto Heinrich Warburg*) за відкриття природи та механізму дії дихального ферменту (цитохром с-оксидази), який міститься у внутрішній мембрані мітохондрій, а в 1938 р. нагороду присуджено бельгійському фізіологу Корнею Геймансу (*Corneille Jean François Heymans*) за відкриття ролі синусного й аортального механізмів у регуляції дихання [7].

Значною подією в історії біохімії стало відкриття АТФ у 1929 р. німецькими вченими Отто Меєргофом і Карлом Ломаном (*Karl Lohmann*). Спочатку вважали, що АТФ синтезується в процесі гліколізу та необхідна лише для м'язового скорочення. Значним кроком до з'ясування молекулярного механізму дихання було встановлення (1939—1941) визначальності АТФ у обміні енергії в біологічних системах, а також зв'язку фосфорилювання АДФ із диханням і аеробним добування енергії з поживних речовин. Важливу роль у встановленні цих фактів відіграли роботи американських дослідників: німця за походженням Фріца Ліпмана (*Fritz Albert Lipmann*; 1941) і данця Германа Калькара (*Herman Moritz Kalckar*; 1939), а також радянського біохіміка Володимира Беліцера (1939), який першим у світі визначив, що під час окиснювального фосфорилювання синтезуються три молекули АТФ у перерахунку на одну молекулу поглиненого кисню [8].

До речі, Володимир Олександрович Беліцер упродовж 44 років працював в Інституті біохімії в Києві (у 1944 р. на запрошення академіка О.В. Палладіна він переїхав до Києва з Москви, де проводив дослідження у Всесоюзному інституті експериментальної медицини ім. О.М. Горького). В Інституті біохімії АН УРСР (нині — Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України) він створив лабораторію з вивчення властивостей протеїнів, яка на початку 1960-х років перетворилася на відділ структури та функції білка. У 1957 р. його обрали академіком АН УРСР, а з 1969 до 1972 р. він очолював Інститут біохімії

ім. О.В. Палладіна. Цікаво, що Герман Калькар, якось приїхавши до СРСР, зауважив, що в Києві його цікавлять два об'єкти: Києво-Печерська лавра та Володимир Беліцер, з яким йому й організували зустріч.

У 1945 р. стало зрозуміло, як АТФ вивільняє клітинну енергію: Ф. Ліпман виділив з печінки голуба кофермент А — посередник, здатний переносити та приєднувати кислотні залишки за допомогою енергії АТФ. У 1953 р. Фріца Ліпмана за відкриття коферменту А та його значення для проміжних стадій метаболізму та Ганса Кребса (*Hans Adolf Krebs*), який відкрив цикл лимонної кислоти (цикл трикарбонових кислот, або цикл Кребса), відзначили Нобелівською премією з фізіології або медицини.

Після з'ясування механізму клітинного дихання вчені зосередили увагу на дослідженні механізмів адаптації організму до низького рівня кисню в середовищі (в разі перебування на значній висоті, фізичних навантажень тощо). Цьому сприяло одержання американцями Євгеном Голдвассером (*Eugene Goldwasser*) і Чарльзом Кунгом (*Charles K.-H. Kung*) у 1977 р. гормону еритропоетину [9] — глікопротеїну, який виділяється переважно клітинами нирок (у меншій кількості — клітинами печінки і мозку) та стимулює формування еритроцитів. У 1986—1987 рр. було показано, що продукція еритропоетину різко зростає у відповідь на дефіцит кисню [10], а факт збільшення кількості еритроцитів під час перебування на значній висоті ще в 1882 р. описав французький фізіолог Пауль Берт (*Paul Bert*).

Проте тривалий час залишалося незрозумілим, як саме клітини визначають кількість кисню та на яких механізмах ґрунтується клітинна реакція на гіпоксію. Відповідь на це питання отримали завдяки відкриттям лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини 2019 р.

До початку 1990-х років Вільям Келін, Пітер Реткліфф і Грег Семенза працювали кожний у своїй галузі, але з різних причин всі вони зацікавилися дослідженням молекулярних і клітинних механізмів адаптації організму до гіпоксії. В. Келін займався дослідженням синдрому Гіппеля—Ліндау з аутосомнодомінантним типом спадкування, що виражається в підвищеному ризику виникнення раку (найчастіше утворюються пухлини головного або спинного мозку, сітківки, нирок). У 1988 р. було встановлено, що причиною захворювання є мутації в гені VHL (від англ. *von Hippel—Lindau disease*). Згодом з'ясувалося, що протеїн VHL має безпосередній стосунок до відповіді клітин на зміни концентрації кисню в середовищі. П. Реткліфф вивчав хвороби нирок, зокрема їх ішемічну патологію. Оскільки нирки виробляють еритропоетин у відповідь на гіпоксію, П. Реткліфф вирішив з'ясувати механізми регуляції експресії гена еритропоетину в лабораторії біології гіпоксії, яку заснував у Оксфорді в 1990 р. Г. Семенза тоді досліджував захворювання, зумовлені порушеннями еритропоезу, зокрема таласемію. Тематика його досліджень змінилася після відкриття ним ключового фактора, що регулює експресію еритропоетину.

Цьому відкриттю передувала кропітка робота з пошуку регуляторних ділянок гена еритропоетину. В 1989—1991 рр. Грег Семенза опублікував кілька праць з результатами експериментів на трансгенних мишах, що експресували еритропоетин людини, в яких показав, що експресія гена еритропоетину регулюється кількома тканино-специфічними регуляторними факторами, та

виявив ділянку на 3′-кінці гена еритропоетину, яка відповідала за підвищення експресії еритропоетину в умовах гіпоксії [11]. Одночасно Пітер Реткліфф та Джейм Каро (*Jaime Caro*) в експериментах на клітинах гепатоми, що містили ген еритропоетину людини з певними делеціями, визначили розташування енхансеру (підсилювача) в цій ділянці [12].

Зрештою Г. Семенза виявив декілька транскрипційних факторів, що зв'язуються з енхансером гена еритропоетину, та в 1992 р. відкрив головний фактор, який активує експресію гена еритропоетину в умовах гіпоксії, — HIF (від англ. *hypoxia inducible factor* — фактор, індукований гіпоксією) [13]. Пітер Редкліфф і Грег Семенза встановили, що HIF функціонує не лише в клітинах, що продукують еритропоетин, а й в інших клітинах організму і, ймовірно, є частиною універсальної клітинної системи реагування на зміни рівня кисню [14, 15]. Згодом Г. Семенза виділив HIF, встановив його амінокислотну послідовність і показав, що фактор складається з двох субодиниць: HIF-1α і HIF-1β [16]. Виявилося, що компонент HIF-1β синтезувався в клітинах постійно, незалежно від рівня кисню, міг утворювати гетеродимери з іншими факторами і раніше вже був описаний як ARNT (Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator). Компонент HIF-1α експресувався лише за умов гіпоксії і саме він відповідав за транскрипційну відповідь клітини на зниження рівня кисню [17].

У 1997 р. чотири різні групи вчених одночасно відкрили споріднений з HIF-1α протеїн з аналогічними властивостями — HIF-2a, або EPAS1 (Endothelial PAS domain protein 1) [18—21]. Виявилося, що різні ізоформи HIF відповідають за різні гіпоксичні реакції, наприклад, за еритропоез відповідає переважно EPAS1 [22]. Пітер Реткліфф та інші дослідники встановили, що в разі гіпоксії кількість HIF-1α зростає через зменшення його деградації, а не збільшення експресії. Крім того, було відкрито спільний для HIF-1α і EPAS1 домен ODD, що відповідає за убіквітин-протеасомну деградацію, залежну від рівня кисню [23—25].

На наступному етапі, значною мірою завдяки зусиллям Вільяма Келіна, було виявлено зв'язок між деградацією HIF-1α і супресором пухлин VHL. У 1995 р. В. Келін опублікував послідовність гена VHL [26], згодом у співпраці з Марком Голдбергом (*Mark Goldberg*) він показав, що низка генів-«мішеней» HIF експресувалися на високому рівні в клітинах з мутантним VHL [27]. Крім того, групи Вільяма Келіна і Річарда Клауснера (*Richard Klausner*) одночасно ідентифікували елонгіни B і C — транскрипційні фактори елонгації, які взаємодіють з VHL [28, 29], а через два роки Клауснер виявив, а Келін підтвердив, що VHL зв'язується ще й з куліном-2 (Cul-2), який бере участь в убіквітинуванні [30, 31].

Проте залишалося незрозумілим, як інгібується деградація HIF-1α і EPAS1 у разі гіпоксії. У 1999 р. П. Редкліфф зробив важливе відкриття: він показав, що комплекс VHL з елонгінами B і C та Cul-2 виконує функцію розпізнавання убіквітин-лігази E3 і так спричиняє деградацію HIF-1α [32].

Яким саме чином процес залежить від наявності кисню? У 2001 р. лабораторії Реткліффа і Келіна одночасно довели, що залежне від кисню 4-гідроксилювання двох залишків проліну в домені ODD протеїну HIF-1α збільшує

афінність зв'язування комплексу VHL з транскрипційним фактором HIF [33, 34]. За відсутності кисню гідроксилювання HIF-1α не відбувається, тому VHL не розпізнає HIF-1α, у свою чергу HIF-1α не убіквітинується, що запобігає його деградації в протеасомі та запускає програму експресії генів, які індукуються гіпоксією.

Групи Пітера Ретклiффа, Стівена Маккнайта (*Steven L. McKnight*) у 2001 р. і Вільяма Келіна в 2002 р. незалежно одна від одної ідентифікували гени пролілгідроксилаз (PHD) [35—37], що здійснюють гідроксилювання HIF-1α та EPAS1 за безпосередньої участі кисню в присутності іонів заліза й аскорбінової кислоти. Ця подія відкрила перспективу створення специфічних інгібіторів пролілгідроксилаз для підвищення активності HIF і підвищення рівня еритропоетину в пацієнтів з анемією. У 2001 р. було відкрито інший залежний від кисню механізм, пов'язаний не з деградацією HIF-1α, а з інгібуванням його активності як транскрипційного фактора. Грег Семенза та його група були першими, хто виявив протеїн FIH-1 (від англ. *factor inhibiting HIF* — фактор, що інгібує HIF-1α) [38]. З'ясувалося, що цей фактор також є залежною від кисню гідроксилазою, яка гідроксилює залишок аспарагіну на N-кінцевому активаційному домені (NTAD) протеїнів HIF-1α і EPAS1, що перешкоджає взаємодії цих протеїнів з транскрипційними коактиваторами (CBP або p300) та знижує рівень активації транскрипції генів-«мішеней» [39].

Є багато способів стримування надмірного розвитку клітинної відповіді на тривалу гіпоксію. Наприклад, серед генів, що активуються HIF, є гени гідроксилаз, які сприяють деградації самого протеїну HIF. Супресор пухлин p53 може конкурувати з HIFα за зв'язування з коактиваторними протеїнами CBP і p300, а також зв'язуватися з HIFα і в комплексі з протеїном Mdm2 призводити до його убіквітинування та протеасомної деградації [40]. VHL також здатний блокувати функціонування HIFα, залучаючи до нього протеїни-репресори, що перешкоджають активації транскрипції генів-«мішеней» [41]. Існування подібних запобіжників і тонка регуляція активності HIF-1α свідчать про великі можливості системи адаптації клітин до зміни рівня кисню в навколишньому середовищі та її надзвичайну важливість для організму.

HIF впливає на експресію великої кількості генів (понад трьох сотень) і регулює різні процеси, спрямовані на підтримання регулярного забезпечення клітин киснем, захист клітин від шкідливого впливу гіпоксії та стимулювання процесів відновлення у разі, якщо пошкодження все-таки сталося [42]. Тому в разі гіпоксії відбувається стимулювання еритропоезу (підвищенням синтезу еритропоетину), ангіогенезу (збільшенням синтезу фактора росту ендотелію судин — VEGF), аутофагії (перетравлення клітиною старих або пошкоджених компонентів), міграції клітин, що відновлюють пошкодження, наприклад міграції нейробластів у місце ішемічного пошкодження мозку під впливом еритропоетину, який виділяється астроцитами [43], а також відбувається оптимізація системи енергозабезпечення клітини: перехід на альтернативний спосіб продукування АТФ за рахунок стимулювання реакцій гліколізу (розщеплення глюкози до молочної кислоти), пригнічення надмірно енерговитратних процесів тощо.

Оскільки кисень є критично важливим для підтримання всіх життєвих процесів у організмі, не дивно, що низка захворювань і патологічних станів пов'язані з порушеннями постачання тканин киснем і відповіддю організму на гіпоксію. Пов'язані з гіпоксією патологічні стани можуть виникати не тільки за тривалого перебування високо в горах чи занурення на значну глибину. Гіпоксія тканин і органів (ішемія) виникає в разі порушень дихання, атеросклерозі судин, гіпертонії та анемії. Гіпоксичні умови з'являються також в осередку запалення, що розвивається при загоєнні ран, відторгненні трансплантатів, боротьбі з проникненням інфекційних агентів. За таких станів доцільно стимулювати відповідь організму на гіпоксію та активувати HIF. З цією метою розробляються препарати, що є інгібіторами гідроксилаз PHD і VHL. Усіх їх внесено до списку заборонених для спортсменів допінг-препаратів. Roxadustat (розроблений «FibroGen» у співпраці з «Astellas» та «AstraZeneca») схвалено в Китаї наприкінці 2018 р. і в Японії у 2019 р. для лікування анемії у пацієнтів на діалізі з хронічними захворюваннями нирок. А в 2019 р. у Китаї цей препарат одержав схвалення і для лікування незалежних від діалізу пацієнтів, незважаючи на те, що він може викликати легеневу гіпертензію та збільшення кількості протеїну VEGF, який активує ріст пухлин. Інші інгібітори гідроксилаз (Desidustat, Daprodustat, Molidustat, Vadadustat) перебувають на III стадії клінічних випробувань [44]. Перспективним видається розроблений у 2016 р. інгібітор VHL, який запобігає взаємодії VHL з HIF1α, — VH298, що активує відповідь на гіпоксію, але не має значних сторонніх ефектів [45].

Проте слід з обережністю застосовувати препарати, які стимулюють відповідь на гіпоксію, оскільки гіперекспресія HIF-1α може мати низку негативних наслідків. HIF-1α бере участь у процесах росту, диференціювання, контролю апоптозу. Тому він є критично важливим, наприклад, для розвитку ембріона або ж для утворення та росту пухлин. Підвищена активність HIF-1α у пухлинних клітинах може бути зумовлена мутаціями в генах протеїну HIFα або його регуляторів чи недостатнім доступом кисню внаслідок дуже швидкого росту пухлини. Тому розробляється й інший клас препаратів, що пригнічують клітинну відповідь на гіпоксію, перешкоджають інтенсивному росту судин у пухлині та уповільнюють її ріст. Пригнічення функції HIF може виявитися доцільним під час лікування не тільки онкологічних захворювань, а й інсультів, серцевих нападів і легеневої гіпертензії, коли рівень HIF є підвищеним. Здатність до пригнічення HIF виявлено у серцевого глікозиду дигоксину з наперстянки (Digitalis lanata) та його аналогів (дигитоксину, уабаїну) [46], але застосування цих сполук проти пухлин обмежене високою токсичністю терапевтичних доз [47]. Нині проходять доклінічні випробування синтетичні (менш токсичні) аналоги серцевих глікозидів, у тому числі в складі зовнішньоклітинних імунокон'югатів (EDC) виробництва «Centrose» (США), які не підлягають інтерналізації та деградації й убивають ракові клітини за механізмом, що нагадує некроз [48].

Відкриття протеїнів VHL та HIF-1α дало змогу використати їх для створення нового покоління PROTAC (від англ. *proteolysis targeting chimera*) — гетерофункціональних молекул, що спричинюють вибірковий внутрішньоклітинний протеоліз певного цільового протеїну. PROTAC складається з двох малих

молекул, з'єднаних лінкером, причому одна молекула специфічно зв'язується з убіквітин-лігазою E3, а інша — з протеїном-«мішенню». Це призводить до убіквітинування цільового протеїну та його деградації протеасомою. Низькомолекулярні ліганди VHL або пептиди HIF-1α — LAP(OH) YI або ALAP(OH) YIP, що здатні взаємодіяти з VHL, було введено до складу PROTAC як компоненти для зв'язування з убіквітин-лігазою E3. Більшість PROTAC спрямовані проти епігенетичних «мішеней», кіназ або рецепторів ядерних гормонів [49]. У 2019 р. розпочалися клінічні випробування препарату для лікування раку передміхурової залози PROTAC ARV110, що спричиняє деградацію андрогенних рецепторів (Arvinas, США) [50]. Розроблено навіть PROTAC, що являє собою гомодимер лігандів VHL і зумовлює руйнування убіквітин-лігазним комплексом VHL самого себе [51]. Останнім часом значний інтерес викликають PROTAC для знешкодження бромодомену Brd4, який розпізнає ацетильовані залишки лізину на хроматині та регулює експресію багатьох онкогенів [52]. Розробляються також бромодоменні та екстратермінальні інгібітори (BETi), що виявляють протипухлинний ефект за рахунок епігенетичного пригнічення регульованих гіпоксією генів, наприклад, генів вуглекислої ангідрази 9 (CA9) та фактора росту ендотелію судин A (VEGF-A) [53].

Перевагами ліків на основі малих молекул PROTAC порівняно з рекомбінантними протеїнами чи моноклональними антитілами є їх висока проникність, мала вартість (700 дол. США на пацієнта за рік проти 15000 дол. США) та збереження ефективності в разі появи мутацій чи підвищення експресії протеїну-«мішені» [54]. У 2019 р. компанія «Arvinas» (створена в 2013 р. при Єльському університеті, США) уклала контракт на 685 млн дол. США з компанією «Bayer» (Німеччина) щодо відкриття спільного підприємства «OerthBio» з розроблення PROTAC для лікування раку, серцево-судинних та гінекологічних захворювань, а також для боротьби зі шкідниками та бур'янами [55].

Результати досліджень останніх років свідчать, що механізми адаптації до гіпоксії тісно пов'язані з багатьма регуляторними системами організму, зокрема епігенетичними механізмами регулювання експресії генів, що реалізуються переважно метилюванням гістонів, ДНК та ацетилюванням гістонів. За гіпоксії відбувається ремоделювання структури хроматину та модифікація гістонів, що полегшує транскрипцію HIF-залежних генів. Так, в умовах гіпоксії індукуються кілька гістонових лізинових деметилаз (KDM), що залежать від 2-оксоглутарату, а отже, залежать від кисню і можуть діяти як датчики молекулярного кисню в клітині, які посилюють експресію генів відповіді на гіпоксію, взаємодіють з гіпоксичними протеїнами і спричинюють ріст пухлин [56].

Виявлено нові свідчення того, що гіпоксія регулює експресію різних класів некодувальних РНК (які становлять 98 % транскриптому людини), що, в свою чергу, впливають на експресію та стабільність HIF, модулюючи ріст клітин, метаболізм, ангіогенез тощо. У випадку гіпоксії HIF або інші фактори, такі як Oct-4, знижують рівень miRNA пригніченням шляху її біогенезу, що зумовлює збільшення рівня HIF унаслідок безпосереднього впливу на експресію HIF або опосередкованого впливу на експресію регуляторних протеїнів (VHL або PHD). Крім того, HIF за допомогою епігенетичної модуляції регулює експресію довгих некодувальних РНК (lncRNA), довжиною понад 200 нуклеотидів, які також

можуть прямо чи опосередковано регулювати рівень або стабілізувати HIF. Процеси за участю некодувальних РНК відіграють важливу роль у патогенезі онкологічних захворювань, оскільки вони здатні впливати на метаболізм, ріст пухлини та утворення метастазів за умов гіпоксії. Нещодавно виявлено нові класи гіпоксичних некодувальних РНК (snRNAs, piwiRNAs, tRNAs та циркулярні РНК), вплив яких на метаболізм клітини ще слід з'ясувати [57].

Механізми адаптації до гіпоксії тісно пов'язані також зі системою міжклітинної взаємодії за допомогою везикул (екзосом і мікровезикул). HIF регулює експресію багатьох мембранних рецепторів, зокрема транспортера глюкози (GLUT-1), рецептора трансферину та рецептора епідермального фактора росту (EGFR), і вважають, що посилена експресія рецепторів викликає їх активацію та інтерналізацію, а отже, індукує ендоцитоз і сприяє вивільненню екзосом. Вміст екзосом, що індукуються за гіпоксії, може бути різним залежно від походження клітин і включати сигнальні перетворювачі, фактори транскрипції, ферменти, ліпіди, мРНК та некодувальні РНК, які впливають на гомеостаз глюкози, мітохондріальне дихання, регуляцію генів глюконеогенезу та окисного стресу [58]. Клітинні везикули, що секретуються в разі гіпоксії в мікросередовищі пухлини, беруть участь в утворенні внутрішньопухлинної гетерогенності, пригніченні імунних реакцій, індукуванні пов'язаних з раком фібробластів, метаболічному перепрограмуванні та спричинюють ангіогенез і метастази [59]. Наприклад, гіпоксія індукує секрецію клітинами раку молочної залози екзосом, які експресують імуносупресивні цитокіни, такі як TGF-β та IL-10 [60]. Крім того, пухлинні клітини за гіпоксії виділяють мікровезикули, що пригнічують функцію природних кілерів (NK) і знижують протипухлинну імунну відповідь через зниження експресії NKG2D під впливом фактора росту пухлини TGF-β1 [61].

Виявилося, що механізми адаптації до гіпоксії також тісно пов'язані з циркадними ритмами, оскільки «біологічний годинник» здатний регулювати процеси адаптації до періодичного надходження в організм поживних речовин і кисню. Недарма помічено, що порушення в роботі «біологічного годинника» негативно впливають на здоров'я людини та призводять до розвитку онкологічних захворювань [62]. Вплив гіпоксії на циркадні ритми суттєво опосередкований HIF-1α, який взаємодіє з циркадними протеїнами PER1 [63], BMAL1/MOP3 і CLOCK [64], а також регулює експресію багатьох циркадних генів (як і HIF-2α) [65].

Відомо, що циркадні гени PER2 та CRY1 інгібують активність промотору VEGF, який активується гіпоксією. Тому експресія гена VEGF виявляє циркадні коливання за гіпоксії [66]. Результати досліджень свідчать, що у випадку інфаркту «біологічний годинник» захищає серце від гіпоксії, спричиненої загибеллю клітин [67]. Імовірно, що компоненти «біологічного годинника» можуть використовуватися для лікування захворювань, пов'язаних із гіпоксією.

З'ясування ролі епігенетики, некодувальних РНК, циркадних ритмів і позаклітинних везикул у разі гіпоксії сприятиме глибшому розумінню механізмів адаптації клітин до низького вмісту кисню та дасть змогу розробити низку нових терапевтичних засобів, націлених на конкретні молекулярні «мішені». Про перспективність цього наукового напряму свідчить хоча б той факт, що навесні

(2019) компанія «Peloton Therapeutics», в якій Вільям Келін працював науковим радником, придбала фармацевтичний гігант «Merck» за 1,05 млрд дол. США (з обіцянкою виплати ще 1,15 млрд дол. США в разі успішного впровадження). Цьому сприяла їхня розробка — малі молекули, націлені на HIF (зокрема PT2977 — інгібітору HIF-2α), що дають обнадійливі результати під час лікування певних онкологічних захворювань [68].

Тематика Нобелівської премії з фізіології або медицини 2019 р. не лише видається надзвичайно важливою широкому загалу, а й змінює погляди деяких провідних учених. Так, статтю Пітера Реткліффа про генетичну відповідь на гіпоксію свого часу було відхилено рецензентом відомого наукового журналу «Nature» як «...недостатньо просунуту в розумінні механізмів генетичної реакції на гіпоксію». Зараз журнал, звичайно, визнав помилку. Слід віддати належне вченим, які, незважаючи на подібні перепони, наполегливо продовжують роботу та відстоюють власні переконання. Завдяки результатам, отриманим цьогорічними нобелівськими лауреатами, вдалося відкрити не просто основи механізму пристосування клітин до низького рівня кисню, а й універсальну для всіх тварин, еволюційно консервативну, а отже, вкрай важливу для виживання, систему регулювання основних життєвих процесів на рівні клітин, тканин і організму в цілому, яка тісно пов'язана з іншими регуляторними системами. Детальне вивчення цих зв'язків відкриває широкі можливості для розроблення нових препаратів з метою лікування багатьох захворювань людини, зокрема раку, анемії, хвороб серця, макулярної дегенерації тощо.

Зазначимо, що не варто недооцінювати фундаментальні дослідження, які просуваються лише завдяки цікавості вчених. Їх результати часто отримують несподіване практичне застосування. Можливо, найяскравішим прикладом зв'язку між фундаментальними дослідженнями та їхніми практичними наслідками є відкриття мазерів (та лазерів) Ч. Таунсом, М.Г. Басовим і О.М. Прохоровим. Лазерів, які нині широко застосовуються в житті людей, — від указок, зчитувачів CD та штрих-кодів до медицини, ракет і астрономічних вимірювальних приладів. Цікаво, що навіть такі видатні фізики, як Нільс Бор і ще один нобелівський лауреат Ісидор Рабі, переконували Ч. Таунса в тому, що його дослідження мазерів не мають жодних перспектив і на них не варто витрачати час! Тому недарма Вільям Келін у лекції, яку він прочитав після оголошення Нобелівським комітетом імен лауреатів, влучно зауважив: «Вчені не завжди можуть передбачити, куди поведе їх дорога, і не завжди можуть передбачити, якими будуть плоди їхньої праці. Але ми абсолютно переконані, що саме так і відбувається справжній прогрес».

MECHANISMS OF CELL ADAPTATION TO HYPOXIA, OR HOW TO «BLOCK OXYGEN» TO A MALIGNANT TUMOR?

The Nobel prize in physiology or medicine, 2019

S.I. Romanyuk, S.V. Komisarenko

The 2019 Nobel Prize in Physiology or Medicine was awarded to two American scientists — William G. Kaelin, Jr. from Harvard University and Gregg L. Semenza from Johns Hopkins University — and British researcher Sir Peter J. Ratcliffe of Oxford University «for their discoveries

of how cells sense and adapt to oxygen availability». The work of this year's Nobel laureates laid the groundwork for understanding how oxygen levels affect cellular metabolism and physiological functions. Their research paves the way for new strategies to fight anemia, cancer and many other diseases.

REFERENCES

1. Citation Laureates 2019. https://clarivate.com/webofsciencegroup/wp-content/uploads/sites/2/dlm_uploads/ 2019/09/Citation_Laureates_2019.pdf.
2. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2019. Press release. https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2019/ press-release/
3. William Kaelin Jr. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/William_Kaelin_Jr.
4. Carolyn Kaelin. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Carolyn_Kaelin.
5. Peter J. Ratcliffe. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Peter_J._Ratcliffe.
6. Gregg L. Semenza. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Gregg_L._Semenza.
7. Johnson R.S. Scientific Background. How cells sense and adapt to oxygen availability. https://www.nobelprize.org/ prizes/medicine/2019/advanced-information/
8. Belitser V.A., Tsybakova E.T. On the mechanism of phosphorylation associated with respiration. *Biochemistry*. 1939. Vol. 4, N 5. P. 516. [Белицер В.А., Цыбакова Е.Т. О механизме фосфорилирования сопряжённого с дыханием. *Биохимия*. 1939. Т. 4, № 5. С. 516—535].
9. Miyake T., Kung C.K., Goldwasser E. Purification of human erythropoietin. *Journal of Biological Chemistry*. 1977. Vol. 252, N 15. P. 5558.
10. Bondurant M.C., Koury M.J. Anemia induces accumulation of erythropoietin mRNA in the kidney and liver. *Molecular Cell Biology*. 1986. Vol. 6, N 7. P. 2731. DOI: https://doi.org/10.1128/MCB.6.7.2731.
11. Semenza G.L., Nejfelt M.K., Chi S.M., Antonarakis S.E. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3′ to the human erythropoietin gene. *PNAS*. 1991. Vol. 88, N 13. P. 5680. DOI: https://doi. org/10.1073/pnas.88.13.5680.
12. Beck I., Ramirez S., Weinmann R., Caro J. Enhancer element at the 3′-flanking region controls transcriptional response to hypoxia in the human erythropoietin gene. *Journal of Biological Chemistry*. 1991. Vol. 266, N 24. P. 15563.
13. Semenza G.L., Wang G.L. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Molecular Cell Biology*. 1992. Vol. 12, N 12. P. 5447. DOI: https://doi.org/10.1128/mcb.12.12.5447.
14. Maxwell P.H., Pugh C.W., Ratcliffe P.J. Inducible operation of the erythropoietin 3′ enhancer in multiple cell lines: evidence for a widespread oxygen-sensing mechanism. *PNAS*. 1993. Vol. 90, N 6. P. 2423. DOI: https:// doi.org/10.1073/pnas.90.6.2423.
15. Wang G.L., Semenza G.L. General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia. *PNAS*. 1993. Vol. 90, N 9. P. 4304. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.90.9.4304.
16. Wang G.L., Semenza G.L. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *Journal of Biological Chemistry*. 1995. Vol. 270, N 3. P. 1230. DOI: https://doi.org/ 10.1074/jbc.270.3.1230.
17. Wang G.L., Jiang B.H., Rue E.A., Semenza G.L. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O2 tension. *PNAS*. 1995. Vol. 92, N 12. P. 5510. DOI: https://doi.org/10.1073/ pnas.92.12.5510.
18. Ema M., Taya S., Yokotani N. et al. A novel bHLH-PAS factor with close sequence similarity to hypoxia-inducible factor 1alpha regulates the VEGF expression and is potentially involved in lung and vascular development. *PNAS*. 1997. Vol. 94, N 9. P. 4273. DOI: https://doi.org/10.1073/ pnas.94.9.4273.
19. Flamme I., Frohlich T., von Reutern M. et al. HRF, a putative basic helixloop-helix-PASdomain transcription factor is closely related to hypoxia-inducible factor-1 alpha and

developmentally expressed in blood vessels. *Mechanisms of Development*. 1997. Vol. 63, N 1. P. 51. DOI: https://doi.org/10.1016/s0925-4773(97)00674-6.

20. Hogenesch J.B., Chan W.K., Jackiw V.H. et al. Characterization of a subset of the basic-helix-loop-helix-PAS superfamily that interacts with components of the dioxin signaling pathway. *Journal of Biological Chemistry*. 1997. Vol. 272, N 13. P. 8581. DOI: https://doi.org/10.1016/s0925-4773(97)00674-6.

21. Tian H., McKnight S.L., Russell D.W. Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells. *Genes and Development*. 1997. Vol. 11, N 1. P 72. DOI: https://doi.org/10.1101/gad.11.1.72.

22. Fandrey J. Oxygen-dependent and tissue-specific regulation of erythropoietin gene expression. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology*. 2004. Vol. 286, N 6, R977. DOI: https://doi.org/10.1152/ajpregu.00577.2003.

23. Pugh C.W., O'Rourke J.F., Nagao M. et al. Activation of hypoxia-inducible factor-1; definition of regulatory domains within the alpha subunit. *Journal of Biological Chemistry*. 1997. Vol. 272, N 17. P. 11205. DOI: https://doi.org/10.1074/ jbc.272.17.11205.

24. Salceda S., Caro J. Hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes. *Journal of Biological Chemistry*. 1997. Vol. 272, N 36. P. 22642. DOI: https://doi.org/10.1074/jbc.272.36.22642.

25. Huang L.E., Gu J., Schau M., Bunn H.F. Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha is mediated by an O_2-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway. *PNAS*. 1998. Vol. 95, N 14. P. 7987. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.95.14.7987.

26. Iliopoulos O., Kibel A., Gray S., Kaelin W.G. Jr. Tumour suppression by the human von Hippel-Lindau gene product. *Natyre Medicine*. 1995. Vol. 1, N 8. P. 822. DOI: https://doi.org/10.1038/nm0895-822.

27. Iliopoulos O., Levy A.P., Jiang C. et al. Negative regulation of hypoxia inducible genes by the von Hippel-Lindau protein. *PNAS*. 1996. Vol. 93, N 20. P. 10595. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.93.20.10595.

28. Duan D.R., Pause A., Burgess W.H. et al. Inhibition of transcription elongation by the VHL tumor suppressor protein. *Science*. 1995. Vol. 269, N 5229. P. 1402. DOI: https://doi.org/10.1126/science.7660122.

29. Kibel A., Iliopoulos O., DeCaprio J.A., Kaelin W.G. Jr. Binding of the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein to Elongin B and C. *Science*. 1995. Vol. 269, N 5229. P. 1444. DOI: https://doi.org/10.1126/science.7660130.

30. Pause A., Lee S., Worrell R.A. et al. The von Hippel-Lindau tumor-suppressor gene product forms a stable complex with human CUL-2, a member of the Cdc53 family of proteins. *PNAS*. 1997. Vol. 94, N 6. P. 2156. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.94.6.2156.

31. Lonergan K.M., Iliopoulos O., Ohh M. et al. Regulation of hypoxia-inducible mRNAs by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein requires binding to complexes containing elongins B/C and Cul2. *Molecular Cell Biology*. 1998. Vol. 18, N 2. P. 732. DOI: https://doi.org/10.1128/mcb.18.2.732.

32. Maxwell P.H., Wiesener M.S., Chang G.W. et al. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature*. 1999. Vol. 399, N 6733. P. 271. DOI: https://doi.org/10.1038/20459.

33. Ivan M., Kondo K., Yang H. et al. HIFalpha targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O_2 sensing. *Science*. 2001. Vol. 292, N 5516. P. 464. DOI: https://doi.org/10.1126/science.1059817.

34. Jaakkola P., Mole D.R., Tian Y.M. et al. Targeting of HIF-alpha to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O_2-regulated prolyl hydroxylation. *Science*. 2001. Vol. 292, N 5516. P. 468. DOI: https://doi.org/10.1126/ science.1059796.

35. Bruick R.K., McKnight S.L. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science*. 2001. Vol. 294, N 5545. P. 1337. DOI: https://doi.org/10.1126/science.1066373.

36. Epstein A.C., Gleadle J.M., McNeill L.A. et al. C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation. *Cell*. 2001. Vol. 107, N 1. P. 43. DOI: https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00507-4.

37. Ivan M., Haberberger T., Gervasi D.C. et al. Biochemical purification and pharmacological inhibition of a mammalian prolyl hydroxylase acting on hypoxia-inducible factor. *PNAS*. 2002. Vol. 99, N 21. P. 13459. DOI: https://doi. org/10.1073/pnas.192342099.

38. Mahon P.C., Hirota K., Semenza G.L. FIH-1: a novel protein that interacts with HIF-1alpha and VHL to mediate repression of HIF-1 transcriptional activity. *Genes and Development*. 2001. Vol. 15, N 20. P. 2675. DOI: https://doi.org/10.1101/ gad.924501.

39. Lando D., Peet D.J., Whelan D.A. et al. Asparagine hydroxylation of the HIF transactivation domain a hypoxic switch. *Science*. 2002. Vol. 295, N 5556. P. 858. DOI: https://doi.org/10.1126/ science.1068592.

40. Ruas J.L., Berchner-Pfannschmidt U., Malik S. et al. Complex regulation of the transactivation function of hypoxia-inducible factor-1 alpha by direct interaction with two distinct domains of the CREB-binding protein/p300. *Journal of Biological Chemistry*. 2010. Vol. 285, N 4. P. 2601. DOI: https://doi.org/10.1074/ jbc.M109.021824.

41. Li Z., Wang D., Na X. et al. The VHL protein recruits a novel KRAB-A domain protein to repress HIF-1alpha transcriptional activity. *The EMBO Journal*. 2003. Vol. 22, N 8. P. 1857. DOI: https://doi.org/10.1093/emboj/ cdg173.

42. Schödel J., Oikonomopoulos S., Ragoussis J. et al. High-resolution genome-wide mapping of HIF-binding sites by ChIP-seq. *Blood*. 2011. Vol. 117, N 23. e207. DOI: https://doi.org/10.1182/ blood-2010- 10-314427.

43. Chavez J.C., Baranova O., Lin J., Pichiule P. The transcriptional activator hypoxia inducible factor 2 (HIF-2/EPAS-1) regulates the oxygen-dependent expression of erythropoietin in cortical astrocytes. *Journal of Neuroscience*. 2006. Vol. 26, N 37. P. 9471. DOI: https://doi.org/10.1523/ JNEUROSCI.2838-06.2006.

44. Dhillon S. Roxadustat: First Global Approval. *Drugs*. 2019. Vol. 79, N 5. P. 563. DOI: https://doi.org/10.1007/s40265-019- 01077-1.

45. Frost J., Galdeano C., Soares P. et al. Potent and selective chemical probe of hypoxic signalling downstream of HIF-α hydroxylation via VHL inhibition. *Nature Communications*. 2016. Vol. 7. P. 13312. DOI: https://doi.org/10.1038/ ncomms13312.

46. Zhang H., Qian D.Z., Tan Y.S. et al. Digoxin and other cardiac glycosides inhibit HIF-1alpha synthesis and block tumor growth. *PNAS*. 2008. Vol. 105, N 50. P. 19579. DOI: https://doi. org/10.1073/pnas.0809763105.

47. Lopez-Lazaro M. Digoxin, HIF-1, and cancer. *PNAS*. 2009. Vol. 106, N 9. E26. DOI: https://doi. org/10.1073/pnas.0813047106.

48. Marshall D.J., Harried S.S., Murphy J.L. et al. Extracellular Antibody Drug Conjugates Exploiting the Proximity of Two Proteins. *Molecular Therapy*. 2016. Vol. 24, N 10. P. 1760. DOI: https://doi.org/10.1038/mt.2016.119.

49. Scheepstra M., Hekking K.F.W., van Hijfte L., Folmer R.H.A. Bivalent Ligands for Protein Degradation in Drug Discovery. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2019. Vol. 17: P. 160. DOI: https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.01.006.

50. Neklesa T., Snyder L.B., Willard R.R. et al. ARV-110: An oral androgen receptor PROTAC degrader for prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2019. Vol. 37, N 7. P. 259. DOI: https:// doi.org/10.1200/ JCO.2019.37.7_suppl.259.

51. Maniaci C., Hughes S.J., Testa A. et al. Homo-PROTACs: bivalent small-molecule dimerizers of the VHL E3 ubiquitin ligase to induce self-degradation. *Nature Communications*. 2017. Vol. 8, N 1. P. 830. DOI: https://doi.org/10.1038/s41467-017-00954-1.

52. Zengerle M., Chan K.-H., Ciulli A. Selective small molecule induced degradation of the BET bromodomain protein BRD4. *ACS Chemical Biology*. 2015. Vol. 10, N 8. P. 1770. DOI: https://doi.org/10.1021/acschembio.5b00216.

53. da Motta L.L., Ledaki I., Purshouse K. et al. The BET inhibitor JQ1 selectively impairs tumour response to hypoxia and downregulates CA9 and angiogenesis in triple negative breast cancer. *Oncogene*. 2017. Vol. 36, N 1. P. 122. DOI: https://doi.org/10.1038/onc.2016.184.

54. Pettersson M., Crews C.M. PROteolysis TArgeting Chimeras (PROTACs) — Past, present and future. Drug Discov. *Today Technology*. 2019. Vol. 31. P. 15. DOI: https://doi.org/10.1016/j. ddtec.2019.01.002.

55. Bayer, Arvinas Partner on PROTAC Joint Venture, Treatments for Cancer, CV, Gynecological Diseases. https:// www.genengnews.com/news/bayer-arvinas-partner-on-protac-therapies-for-cancer-cv-gynecological-diseases/

56. Dawson M.A. The cancer epigenome: concepts, challenges, and therapeutic opportunities. *Science*. 2017. Vol. 355, N 6330. P. 1147. DOI: https://doi.org/10.1126/science.aam7304.

57. Choudhry H., Harris A.L., McIntyre A. The tumour hypoxia induced non-coding transcriptome. *Molecular Aspects of Medicine*. 2016. Vol. 47-48. P. 35. DOI: https://doi.org/10.1016/j.mam.2016.01.003.

58. Choudhry H., Harris A.L. Advances in Hypoxia-Inducible Factor Biology. *Cell Metabolism*. 2018. Vol. 27, N 2. P. 281. DOI: https:// doi.org/10.1016/j.cmet.2017.10.005.

59. Zhao H., Yang L., Baddour J. et al. Tumor microenvironment derived exosomes pleiotropically modulate cancer cell metabolism. *eLife*. 2016. Vol. 5. E10250. DOI: https://doi.org/10.7554/eLife.10250.

60. Rong L., Li R., Li S., Luo R. Immunosuppression of breast cancer cells mediated by transforming growth factor-β in exosomes from cancer cells. *Oncology Letters*. 2016. Vol. 11, N 1. P. 500. DOI: https://doi.org/10.3892/ol.2015.3841.

61. Berchem G., Noman M.Z., Bosseler M. et al. Hypoxic tumor-derived microvesicles negatively regulate NK cell function by a mechanism involving TGF-β and miR23a transfer. *OncoImmunology*. 2015. Vol. 5, N 4. E1062968. DOI: https://doi.org/ 10.1080/2162402X.2015.1062968.

62. Fu L., Kettner N.M. The circadian clock in cancer development and therapy. *Prog. Molecular Biology and Translational and Science*. 2013. Vol. 119. P. 221. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396971-2.00009-9.

63. Chilov D., Hofer T., Bauer C. et al. Hypoxia affects expression of circadian genes PER1 and CLOCK in mouse brain. *FASEB Journal*. 2001. Vol. 15, N 14. P. 2613. DOI: https://doi.org/10.1096/fj.01-0092com.

64. Ghorbel M.T., Coulson J.M., Murphy D. Cross-talk between hypoxic and circadian pathways: cooperative roles for hypoxia-inducible factor 1alpha and CLOCK in transcriptional activation of the vasopressin gene. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2003. Vol. 22, N 3. P. 396. DOI: https://doi.org/10.1016/s1044-7431(02)00019-2.

65. Yu C., Yang S.L., Fang X. et al. Hypoxia disrupts the expression levels of circadian rhythm genes in hepatocellular carcinoma. *Molecular Medicine Reports*. 2015. Vol. 11, N 5. P. 4002. DOI: https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3199.

66. Koyanagi S., Kuramoto Y., Nakagawa H. et al. A molecular mechanism regulating circadian expression of vascular endothelial growth factor in tumor cells. *Cancer Res*. 2003. Vol. 63, N 21. P. 7277.

67. Wu Y., Tang D., Liu N. et al. Reciprocal regulation between the circadian clock and hypoxia signaling at the genome level in mammals. *Cell Metabolism*. 2017. Vol. 25, N 1. P. 73. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.09.009.

68. Merck to Acquire Peloton Therapeutics, Bolstering Oncology Pipeline. https://www.businesswire.com/news/home/20190521005432/en/Merck-Acquire-Peloton-Therapeutics-Bolstering-Oncology-Pipeline.

ЯК ВІДКРИЛИ ВІРУС ГЕПАТИТУ С, АБО ДЕТЕКТИВНІ ПОШУКИ ВІРУСОЛОГІВ «МОВЧАЗНОГО ВБИВЦІ»?

Нобелівська премія з фізіології або медицини, 2020

С.І. Романюк, С.В. Комісаренко

Нобелівську премію з фізіології або медицини у 2020 р. присуджено двом американським ученим — Гарві Джеймсу Альтеру (Harvey James Alter) з Національного інституту охорони здоров'я США та Чарльзу Райсу (Charles M. Rice) з Рокфеллерівського університету, а також британському досліднику Майклу Гоутену (Michael Houghton), який нині працює в Альбертському університеті в Канаді, «за відкриття вірусу гепатиту С». У прес-релізі Нобелівського комітету зазначено, що дослідження лауреатів, які й досі продовжують цю роботу, дали людству неоціненну користь, дозволивши розробити ефективні методи діагностики та заходи з профілактики та лікування цієї інфекції.

5 жовтня 2020 р. у Стокгольмі розпочався 119-й нобелівський тиждень. Нобелівський комітет при Каролінському медичному інституті першими традиційно оголосив імена лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини. Напередодні компанія «Clarivate Analytics» за аналізом кількості цитувань визначила імена найімовірніших претендентів на Нобелівську премію з фізіології або медицини 2020 р. [1]. По-перше, це двоє американських учених: професор біології та біологічної інженерії Памела Дж. Бйоркман (*Pamela J. Bjorkman*) з Каліфорнійського технологічного інституту і професор біохімії Джек Л. Стромінгер (*Jack L. Strominger*) з Гарвардського університету, які визначили структуру та функції протеїнів основного комплексу гістосумісності (МНС) людини, що використовуються лімфоцитами для розпізнавання чужорідних антигенів або пошкоджених клітин. Їхнє вагоме відкриття в галузі молекулярної імунології сприяло розробленню багатьох ліків та вакцин. Зазначимо, що роботи, пов'язані з МНС, уже двічі відзначали Нобелівською премією: в 1980 р. Баруха Бенасеррафа, Жана Доссе і Джорджа Снелла нагороджено за відкриття, які стосуються генетично детермінованих структур на клітинній поверхні, що регулюють імунні реакції; а в 1996 р. Пітера Догерті і Рольфа Цинкернагеля — за відкриття, пов'язані зі специфічністю клітинного імунітету. По-друге, ймовірним кандидатом на премію називали жінку-генетика ліванського походження, професора кафедри педіатрії, молекулярної генетики людини і неврології Худу Зогбі (*Huda Y. Zoghbi*) з Медичного коледжу в Бейлорі (штат Техас, США) за відкриття щодо патогенезу неврологічних розладів, зокрема за виявлення в Х-хромосомі мутації, що призводить до розвитку синдрому Ретта, симптомами якого є тяжка розумова відсталість і втрата моторних навичок. По-третє, Нобелівську премію міг би отримати заслужений професор Токійського та Чиказького університетів Юсуке Накамура (*Yusuke Nakamura*), директор Центру презійної медицини раку Японського фонду дослідження раку

в Токіо (Японія/США) за розроблення методу повногеномного пошуку асоціацій (GWAS), який дає змогу аналізувати велику вибірку генетичних даних і знаходити кореляцію конкретних варіантів гена з тими чи іншими ознаками, наприклад, зі схильністю до розвитку пухлин.

Проте лауреатами 111-ї Нобелівської премії з фізіології або медицини (220—222 за підрахунком) стали троє дослідників: американець **Гарві Дж. Альтер** (*Harvey J. Alter*), канадець британського походження **Майкл Гоутен** (*Michael Houghton*) та американець **Чарльз М. Райс** (*Charles M. Rice*). Секретар Нобелівського комітету з фізіології та медицини Томас Перлманн (*Thomas Perlmann*) оголосив мотивування рішення про нагородження: вчені були удостоєні цієї престижної нагороди «*за відкриття вірусу гепатиту С*». Згідно з офіційним прес-релізом, лауреати «*...зробили вирішальний внесок у боротьбу з причиною гепатиту, що передається через кров, — захворювання, яке викликає цироз і рак печінки у людей у всьому світі та є головною глобальною проблемою охорони здоров'я*» [2].

Через пандемію COVID-19 церемонія вручення Нобелівських премій має відбутися з низкою новацій. Так, Нобелівський комітет прийняв рішення про скасування церемонії вручення Нобелівських премій у концертному залі Стокгольмської філармонії та банкету в ратуші. Натомість 10 грудня, в день смерті Альфреда Нобеля, буде організовано пряму трансляцію з ратуші і онлайн-включення з лауреатами, під час яких у їхніх країнах представники посольств або університетів вручать їм дипломи та медалі. Нобелівський фонд скасував фізичну церемонію нагородження та банкет уперше з 1956 р., коли ці заходи відмінили через небажання організаторів запрошувати на них радянського посла у зв'язку з репресіями СРСР проти Угорської революції. Втім, від банкету не відмовилися, а перенесли його на 2021 р. Крім того, Нобелівський фонд вирішив збільшити розмір грошової винагороди на 1 млн шведських крон для кожної з категорій премії.

Отже, у 2020 р. розмір Нобелівської премії — 10 млн шведських крон, або 1,1 млн дол. США. До речі, надалі планується збільшувати розмір винагороди не лише задля заохочення вчених, а й для підтримання престижу самої премії, адже в грошовому еквіваленті Нобелівська премія вже не очолює рейтинг. Найбільшою грошовою винагородою — 3 млн дол. США — супроводжується премія за прорив у галузі медицини, започаткована в 2013 р. російським мільярдером Юрієм Мільнером разом із засновником Facebook — Марком Цукербергом та його дружиною, Прісциллою Чан, а також засновником Google — Сергієм Бріном та його дружиною, Анною Войжитскі.

Аналогічні премії Ю. Мільнер створив для нагородження вчених за видатні досягнення в галузі фізики (2012) та математики (2013). Ці премії є найбільш масштабними не лише за розміром грошової винагороди. Так, у 2015 р. премію Мільнера за прорив у галузі фундаментальної фізики присуджено рекордній кількості вчених — 1377 особам.

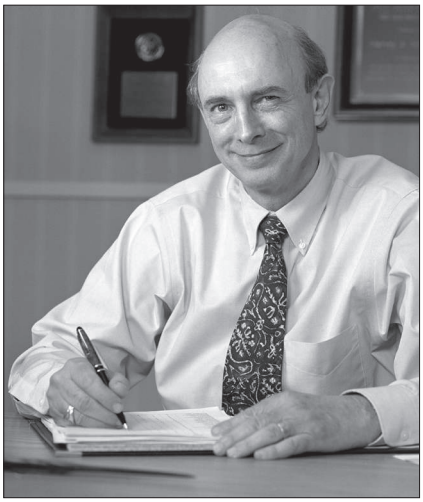
Є й інші наукові відзнаки, грошовий еквівалент яких зіставний з рівнем Нобелівської премії. Насамперед, це премія Шао, або так звана азійська Нобелівська (1 млн дол. США), заснована в 2002 р. Фондом Шао, яку вручають за досягнення в галузях астрономії, математики, а також медицини і наук про

життя. По-друге, це премія Кавлі (1 млн дол. США), започаткована в 2007 р. мультимільйонером, американцем норвезького походження Фредом Кавлі, яку присуджують раз на два роки за досягнення в галузях астрофізики, нанотехнологій та неврології. У пресі часто цитують знаменитий вислів Кавлі, в якому він пояснює вибір номінацій: «Астрофізика займається найбільшим, нанотехнології — найменшим, а неврологія — найскладнішим». По-третє, це премія Абеля (990 тис. дол. США), яку з 2002 р. уряд Норвегії вручає за досягнення в галузі математики і яку названо на честь норвезького математика Нільса Генріка Абеля.

Проте Нобелівська премія, яку вручають із 1901 р. згідно із заповітом шведського підприємця, винахідника та філантропа Альфреда Бернарда Нобеля, і донині залишається найвідомішою та найпрестижнішою науковою нагородою [3].

Познайомимося ближче з нобелівськими лауреатами з фізіології та медицини 2020 р.

Гарві Альтер



Гарві Альтер (1935)

85-річний професор медицини **Гарві Альтер** працює завідувачем відділу інфекційних хвороб та заступником директора з досліджень департаменту трансфузійної медицини Клінічного центру Воррена Гранта Магнусона Національного інституту охорони здоров'я у Бетесді (штат Меріленд, США). Г. Альтер народився 12 вересня 1935 р. у Нью-Йорку. Його батько був одним з дев'яти дітей у бідній родині євреїв-іммігрантів і завжди мріяв стати лікарем, але через фінансові труднощі змушений був зайнятися бізнесом. Тому єдиного сина Гарві після закінчення школи він віддав до Медичної школи Рочестерського університету (штат Нью-Йорк). У 1956 р. Гарві Альтер здобув ступінь бакалавра, а в 1960 р. — ступінь доктора медицини і почав працювати в університетській лікарні Стронг Меморіал.

У 1961—1964 рр. Г. Альтер працював у Національному інституті охорони здоров'я, потім протягом року (з 1964 до 1965) — в Університеті Вашингтону в Сієтлі (штат Вашингтон). Кілька років Г. Альтер провів у лікарні Джорджтаунського університету (Вашингтон), де у 1965—1966 рр. був гематологом, а в 1966—1969 рр. — директором з гематологічних досліджень. Після цього він повернувся до Національного інституту здоров'я в Нью-Йорку, де працює й дотепер.

Гарві Альтер є членом Національної академії наук США, Інституту медицини, Американського коледжу лікарів, а також клінічним доцентом і професором

медицини Університетської лікарні Джорджтауна, ад'юнкт-професором Південно-західного фонду біомедичних досліджень у Сан-Антоніо (штат Техас).

Наукові здобутки Г. Альтера відзначено такими нагородами: премія Альберта Ласкера за клінічні медичні дослідження (2000); премія президента Міжнародного товариства з переливання крові (2002); Міжнародна премія Inserm, французького аналога Національного інституту здоров'я США (2004); медаль Державної служби охорони здоров'я США «За визначну службу» (Distinguished Service Medal); премія Американського коледжу лікарів за видатну наукову роботу, пов'язану з медициною (2005); Золота медаль Канадської асоціації хвороб печінки (2006).

У Г. Альтера від першого шлюбу з Барбарою Бейлі, з якою він познайомився під час стажування в Національному інституті здоров'я, є син Марк, який також є доктором медичних наук, та донька Стейсі, яка вчителює в Колорадо. Нині він одружений з дослідницею Даян Даулінг. Від дітей і двох падчерок має дев'ять онуків. Гарві Альтер шкодує, що через роботу не може приділяти достатньо часу своїй великій родині, тому навіть написав для себе таку епітафію: «Як і в житті, в нього закінчився час» [4].

Майкл Гоутен

Майкл Гоутен (1949)

71-річний **Майкл Гоутен** працює завідувачем кафедри вірусології та професором вірусології в Альбертському університеті в Едмонтоні (Канада), а також директором Інституту прикладної вірусології імені Лі Ка-Шинга при цьому університеті. Він народився в 1949 р. у Лондоні в родині водія вантажівки та службовця профспілки. Після успішного складання іспитів його прийняли в приватну середню школу. У 17 років Майкл прочитав книгу про Луї Пастера, яка надихнула його стати мікробіологом. Незважаючи на походження з небагатої сім'ї, йому вдалося отримати стипендію для вивчення біологічних наук в Університеті Східної Англії у Нориджі (графство Норфолк), який він закінчив у 1972 р. М. Гоутен навчався в аспірантурі в Лондонському королівському коледжі, де в 1977 р. захистив дисертацію з біохімії, присвячену ідентифікації гена бета-інтерферону людини.

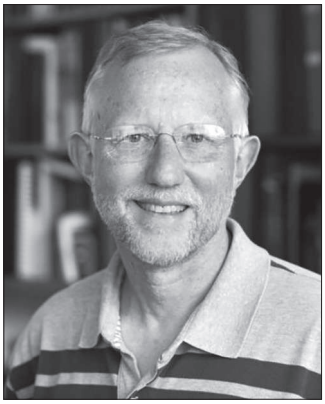
Здобувши вчений ступінь, він переїхав до США і деякий час працював у компанії «GD Searle & Company» (пізніше «G.D. Searle, LLC» — дочірня компанія «Pfizer»), а в 1982 р. перейшов до біотехнологічної компанії «Chiron Corporation» (штат Каліфорнія), яка зараз належить швейцарській фармацевтичній корпорації «Novartis». Саме в «Chiron» Майкл Гоутен зробив свої найважливіші відкриття.

В 2007 р. він перейшов на посаду головного наукового керівника в компанію «Epiphany Biosciences», а в 2010 р. переїхав до Канади, обійнявши посаду професора вірусології в Альбертському університеті.

Майкла Гоутена відзначено такими науковими нагородами: меморіальна премія Карла Ландштайнера (1992); премія Роберта Коха (1993); премія Вільяма Бомонта (1994); премія Альберта Ласкера за клінічні медичні дослідження (2000); меморіальна премія Дейла А. Сміта (2005); премія HEP DART за життєві досягнення (2009); Золота медаль Канадської асоціації хвороб печінки (2011) [5]. Цікаво, що Майкл Гоутен єдиний, хто відмовився від міжнародної премії канадського Фонду Гайрднера (2013) у розмірі 100 тис. канадських дол., що еквівалентно 75 тис. дол. США, оскільки вважав несправедливим прийняти цю нагороду одноосібно — без участі колег: доктора Кві-Лім Чу (*Qui-Lim Choo*) і доктора Джорджа Куо (*George Kuo*). Також він став першим за 97 років канадським вченим — нобелівським лауреатом з фізіології та медицини. Востаннє Нобелівську премію в цій номінації було присуджено в 1923 р. Фредеріку Бантінгу та Джону Маклеоду з Університету Торонто за відкриття інсуліну.

Про приватне життя М. Гоутена практично нічого не відомо, оскільки він не визнає соціальні мережі й не вважає за потрібне виносити на загал інформацію про родину.

Чарльз Майкл Райс



Чарльз Райс (1952)

68-річний професор вірусології **Чарльз Майкл Райс** працює в Рокфеллерівському університеті в Нью-Йорку (США). Він народився 25 серпня 1952 р. у Сакраменто (Каліфорнія, США). З раннього дитинства його цікавила ветеринарна медицина, тому він вступив до Університету Каліфорнії (Девіс), де в 1974 р. здобув ступінь бакалавра зоології.

В студентські роки Чарльз був членом найстарішого в Америці престижного студентського товариства Phi Beta Kappa, створеного ще в 1776 р. Після проходження практики в Морській біологічній лабораторії в Вудс-Гоулі (штат Массачусетс) Райс зацікавився фундаментальними біологічними дослідженнями, а тому вступив до аспірантури Каліфорнійського технологічного інституту в Пасадіні, де під керівництвом Джеймса Штрауса (*James Strauss*) вивчав РНК-вмісні віруси, зокрема вірус гарячки Сіндбіс, який переносять комарі, а в 1981 р. захистив дисертацію з біохімії та залишився працювати у цьому інституті.

У 1986 р. Райс зі своєю науковою групою перейшов на кафедру молекулярної мікробіології Медичної школи Університету Вашингтона в Сент-Луїсі (штат Міссурі), де в 1993—1997 рр. був тимчасовим завідувачем кафедри, а у 1995 р. здобув звання професора. Саме тут він розпочав дослідження, пов'язані з вірусом гепатиту С.

У 2001 р. Чарльз Райс перейшов на посаду професора в Рокфеллерівський університет у Нью-Йорку, де працює й дотепер.

У 2001—2018 рр. він був науковим та виконавчим директором Центру з вивчення гепатиту С, створеного трьома медичними закладами Нью-Йорка:

Рокфеллерівським університетом, Пресвітеріанською лікарнею та Медичним коледжем Вейла Корнелла при Корнельському університеті. Райс є також ад'юнкт-професором у Медичній школі Університету Вашингтона та в Корнельському університеті. Крім того, він працював у комітетах Управління з контролю за якістю харчових продуктів та лікарських засобів США (FDA), Національному інституті охорони здоров'я США (NIH) та Всесвітній організації охорони здоров'я. Чарльз Райс був редактором кількох наукових журналів: «Journal of Experimental Medicine» (2003—2007), «Journal of Virology» (2003—2008) і «PLoS Pathogens» (з 2005).

Чарльз Райс є членом Американської асоціації сприяння розвитку науки (2004), Національної академії наук США (2005), Американської академії мікробіології (2005), членом і президентом (2002—2003) Американського товариства вірусологів. Він має такі наукові нагороди: стипендія від Благодійного фонду П'ю (Pew Charitable Trust) (1986); премія М.В. Беєрінка в галузі вірусології (2007); премія Люсьєн Даутребанде Бельгійської королівської медичної академії (2012); премія Роберта Коха (2015); премія бельгійського фонду Ін-Бев-Бає Латура (InBev-Baillet Latour) в галузі охорони здоров'я (2016); премія Ласкера—ДеБейкі за клінічні медичні дослідження (2016).

Ч. Райс живе в Нью-Йорку з Маргарет Макдональд. Вони познайомилися під час його роботи в Університеті Вашингтона, де Маргарет була аспіранткою, а нині вони працюють у Рокфеллерівському університеті [6].

Гарві Альтера, Майкла Гоутена та Чарльза Райса удостоєно Нобелівської премії з фізіології або медицини 2020 р. за відкриття вірусу гепатиту С. Але чому це відкриття Нобелівський комітет визнав настільки важливим? І чим небезпечна ця хвороба?

Вірусний гепатит — це запальне захворювання печінки, відоме лікарям ще з часів Гіппократа (IV ст. до н. е.). Його спричиняють віруси і воно призводить до загибелі клітин печінки (гепатоцитів). Клінічними симптомами гепатиту є зниження апетиту, блювання, втома, м'язова слабкість. Захворювання може проходити як у гострій формі з явною симптоматикою та чітким завершенням, так і в особливо небезпечній хронічній формі з безсимптомним перебігом, може тривати все життя і часто супроводжуватися тяжким ураженням печінки, викликаючи цироз або гепатоцелюлярну карциному [7]. У 1947 р. британець Френк МакКаллум (*Frank O. MacCallum*) розділив випадки інфекційного гепатиту за клінічною картиною і шляхами зараження на два типи: гепатит А (гостре захворювання, що передається з їжею) і гепатит В (хронічне захворювання, що передається через кров) [8].

Відтоді вчені ідентифікували та дослідили кілька генетично неспоріднених збудників, які викликають ці два типи гепатиту: тип А спричиняють віруси гепатиту А і Е, а тип В — віруси гепатиту В, С і D. Що відомо про ці віруси на сьогодні? Вірус гепатиту А належить до родини пікорнавірусів (Picornaviridae), він містить лінійну одноланцюгову позитивну РНК, потрапляє в організм з їжею або водою, проникає через шлунково-кишковий тракт і після короткого інкубаційного періоду викликає гостре захворювання — «жовтуху», або хворобу Боткіна, названу на честь відомого російського лікаря — Сергія Петровича Боткіна, який у 1888 р. вперше висловив припущення про інфекційну природу

цього захворювання. Жовтуватий колір шкіри та слизових, що з'являється під час хвороби, зумовлений підвищеним вмістом білірубіну в крові через руйнування клітин печінки цитотоксичними Т-лімфоцитами, які борються з інфекцією. Після одужання в людини залишається довічний імунітет до цього захворювання [9]. Гепатит А може завершуватися летальним результатом, але він ніколи не буває хронічним, тому смертність від цієї хвороби становить лише 0,5 % усіх летальних випадків, спричинених вірусними гепатитами. Спеціального противірусного лікування немає, зазвичай проводять підтримувальну терапію, спрямовану на протидію запаленню, а основним напрямом боротьби з гепатитом А є поліпшення санітарних умов з метою запобігання зараженню. Крім того, є ефективні вакцини проти гепатиту А [10].

Дуже подібне до гепатиту А за клінічними проявами є захворювання, яке викликає вірус гепатиту Е, що належить до родини гепевірусів (Hepeviridae) [11]. Він містить лінійну одноланцюгову позитивну РНК і не має оболонки. Розрізняють щонайменше 4 різних типи вірусу: генотипи 1 і 2 виявлено лише в людини, а генотипи 3 і 4 — у деяких тварин, зокрема свиней і оленів, в яких вони не викликають захворювання, але іноді переходять від тварин до людей. Заразитися вірусами гепатиту А і Е найлегше під час подорожі, наприклад в окремих регіонах Азії та Африки, де складно дотримуватися санітарних норм. Зазвичай організм самостійно справляється з гепатитом Е через 2–6 тижнів, але в деяких випадках ця хвороба набуває форми фулмінантного (з блискавичним перебігом) гепатиту, який може завершитися гострою печінковою недостатністю та смертю (частка летальних випадків становить 3,3 % загальної кількості смертей від вірусних гепатитів). Особливо небезпечний гепатит Е для вагітних жінок на другому і третьому триместрах вагітності, летальність досягає 20—25 % [12].

Вірус гепатиту В належить до родини гепаднавірусів (Hepadnaviridae) і містить кільцеву частково дволанцюгову, частково одноланцюгову ДНК, кожний ланцюг якої не є замкнутим, а її реплікація відбувається через стадію РНК. Вірус потрапляє в організм через кров і внаслідок статевих контактів вбудовується в ДНК клітин печінки. Тому, здебільшого, виникає хронічне захворювання. Згідно з останніми даними, до 90 % людей, інфікованих вірусом гепатиту В, навіть не здогадуються про це, оскільки захворювання може мати неявний перебіг і проявлятися лише слабкістю й підвищеною стомлюваністю, які легко списати на брак сну [13]. Гепатит В не передається через побутові предмети, але важливою профілактичною вимогою є користування індивідуальними засобами гігієни та догляду, що пов'язані з ризиком травмування тканин (наприклад, зубною щіткою, бритвою, ножицями тощо). Побоювання щодо безпеки відвідування манікюрних салонів є цілком виправданими: обов'язково слід переконатися, що салон ретельно стерилізує інструменти, адже стерилізація ультрафіолетом не знищує віруси гепатиту. Препаратів, здатних повністю вилікувати від гепатиту В, поки що немає. Навіть якщо терапевтичні засоби знищать збудника в крові хворого, то після завершення терапії можуть активуватися нові віруси, геном яких вбудований у ДНК гепатоцитів, і знову спричинити запалення печінки. Щоправда, 70 % людей, інфікованих вірусом гепатиту В, є неактивними носіями, вони не мають гострого запален-

ня печінки, а в їхній крові міститься мало збудника. Такі люди не потребують особливого лікування, а лише повинні перебувати під наглядом лікарів. Зазначимо, що для профілактики гепатиту В також розроблено ефективні вакцини [14].

Вірус гепатиту D є єдиним представником родини дельтавірусів (Deltaviridae), містить кільцеву одноланцюгову негативну РНК, має низку спільних властивостей з віроїдами рослин, передається з кров'ю та статевим шляхом, розмножується в печінці, є вірусом-сателітом, який не може самостійно забезпечити синтез клітиною своєї оболонки, тому упаковує власну РНК в оболонку з глікопротеїнів вірусу гепатиту В [15]. Зрозуміло, що вірус гепатиту D може заразити лише людей, інфікованих вірусом гепатиту В (частота зараження становить 5 %). Таке подвійне інфікування зумовлює складніший перебіг захворювання з прискореним на 10 років розвитком цирозу та високою ймовірністю виникнення раку печінки (механізм цього явища досі нез'ясовано). Спеціального лікування вірусного гепатиту D немає, але здорові люди можуть запобігти виникненню цього захворювання вакцинацією проти гепатиту В. Регіонами з високим рівнем поширеності гепатиту D є Монголія, Молдова та країни Західної й Центральної Африки [16].

Останнім і найнебезпечнішим представником вірусів, що викликають гепатити, є вірус гепатиту С, який належить до родини флавівірусів (Flaviviridae). Він містить лінійну одноланцюгову позитивну РНК, передається з кров'ю і в 3—5 %-х випадків — статевим шляхом, після тривалого інкубаційного періоду викликає переважно хронічне захворювання, є слабоімуногенним, зв'язується з ліпопротеїнами низької щільності, утворюючи протеїново-ліпідну оболонку, яка захищає від дії антитіл і забезпечує проникнення в гепатоцити. Цей вірус може вражати клітини не лише печінки, а й деяких інших органів і тканин, зокрема клітини імунної системи [17]. Зараження може відбуватися при переливанні крові, контакті з медичним обладнанням (голки, інструменти, в тому числі стоматологічні) в разі, якщо його не було достатньо стерилізовано. Вірус гепатиту С є досить стійким до зовнішніх чинників: він може зберігатися понад тиждень у засохлій і непомітній плямі крові на лезі бритви, на кінці голки тощо. До груп ризику належать медичні працівники і наркомани, але отримати вірус гепатиту С можна і в звичайній перукарні або тату-салоні. Є також імовірність зараження дитини від матері (внутрішньоутробно або під час пологів). Організм не може самостійно впоратися з гепатитом С, як і з гепатитом В (хоча зрідка можливий спонтанний кліренс цього вірусу). Особлива небезпека інфікування вірусом гепатиту С полягає в тому, що у 55—85 % інфікованих розвивається хронічна форма гепатиту, яка практично не має ніяких симптомів, але впродовж 20 років може призвести до цирозу (в 15—30 % хворих), раку печінки та смерті [18]. Через цю особливість гепатит С називають «ласкавим (або мовчазним) вбивцею».

Згідно зі статистичними даними, гепатит С спричиняє більше смертей, ніж ВІЛ-інфекція (в тому числі в країнах Європи і в США). Найпоширенішим він є в країнах Центральної та Східної Азії, Близького Сходу, Північної й Центральної Африки, зокрема найвищий у світі рівень захворюваності зафіксовано в Єгипті, де в 2009 р. було інфіковано 14,7 %, а у 2015 р. — 10,0 % дорослого

населення. Така ситуація зумовлена тим, що в 1950—1980 рр. у країні було розгорнуто широку кампанію з лікування шистосомозу (тропічного паразитарного захворювання, спричиненого плоскими червами трематодами), під час якої застосовували нестерильні шприци [19]. Зазначимо, що до середини XX ст. люди і гадки не мали про збудника інфекційного гепатиту та навіть не підозрювали, що це захворювання можуть викликати кілька інфекційних агентів. Проте масове впровадження в медичну практику на початку минулого століття технологій переливання крові та її компонентів призвело до надзвичайного поширення інфекційного гепатиту (30 % пацієнтів після переливання крові захворювали на гепатит) та різкого зростання смертності від нього [20]. Ця проблема привернула увагу багатьох учених, але з'ясувати справжні причини виникнення інфекційного гепатиту довгий час не вдавалося: це був початок тривалої, майже детективної історії, в підсумку якої результати біомедичних досліджень були дійсно вражаючими.

Історія вивчення вірусних гепатитів розпочалася з досліджень Баруха Самуеля Бламберга (*Baruch Samuel Blumberg*), який у 1950-х роках працював у Національному інституті здоров'я США в Бетесді. Він багато подорожував, збираючи зразки крові людей для досліджень генетичних причин виникнення захворювань. У 1964 р. у крові австралійського аборигена він виявив антиген, що взаємодіяв із сироваткою крові хворого на гемофілію пацієнта з Нью-Йорка, якому кілька разів робили переливання [21]. Це був поверхневий антиген вірусу гепатиту В, який Б. Бламберг спочатку назвав австралійським антигеном.

У 1967 р. один зі співробітників лабораторії Бламберга перехворів на гепатит, і після цього його сироватка крові почала реагувати з антигеном. Цей випадок допоміг зрозуміти, що австралійський антиген має стосунок до збудника гепатиту [22]. На основі виявленого антигена вірусу гепатиту В Б. Бламберг і його команда розробили діагностичний тест на вірус для скринінгу донорської крові та вакцину проти гепатиту В, патент на яку давав фармацевтичним компаніям можливість вільно її виробляти [23].

У 1976 р. ці досягнення було відзначено Нобелівською премією з фізіології або медицини «*за відкриття, що стосуються нових механізмів походження і поширення інфекційних захворювань*». Барух Бламберг розділив цю нагороду з Деніелем Карлтоном Гайдушеком (*Daniel Carleton Gajdusek*), який розкрив інфекційну природу захворювання куру (спочатку Д. Гайдушек вважав, що куру передається «повільними» вірусами, але потім було показано, що це були *пріони*, за відкриття яких Стенлі Прузінер отримав Нобелівську премію, 1997). До речі, після смерті Б. Бламберга у 2011 р. **день його народження, 28 липня, став Всесвітнім днем боротьби з гепатитом В** (у 2008—2011 рр. — 19 травня). Цікаво, що символом цього дня є «три мудрі мавпи», а девізом відповідно — «нічого не бачу, нічого не чую, нічого не скажу», що відображає ігнорування сучасним суспільством проблеми гепатиту. Тому метою проведення Всесвітнього дня боротьби з гепатитом В є насамперед привернення уваги широкої громадськості та фахівців до цього захворювання та заохочення громадян різних країн світу до вжиття профілактичних заходів [24].

Після запровадження обов'язкового тестування донорської крові на наявність вірусу гепатиту В кількість людей, які захворіли після переливання крові, зменшилася з 30 до 10 %, але не до нуля [25]. Цей факт дуже дивний і логічно пояснити його тривалий час не вдавалося.

На той час було добре відомо, що вірус гепатиту А викликає гостре захворювання, але розглядали також гіпотезу про можливе існування особливої хронічної форми гепатиту А. У 1973 р. американські вчені Стефан Фейнстоун (*Stephen M. Feinstone*), Альберт Капікян (*Albert Z. Kapikian*) та Роберт Перселл (*Robert H. Purcell*) з лабораторії інфекційних хвороб Національного інституту алергії та інфекційних хвороб США за допомогою винайденого ними методу імунної електронної мікроскопії відкрили вірус гепатиту А та описали його в мавп і людей [26]. Згодом вони навчилися вирощувати вірус у культурі тканин, розробили імунологічні тести для виявлення специфічних противірусних антитіл і створили вакцину проти гепатиту А.

Одним зі співробітників Б. Бламберга, який зробив внесок у відкриття австралійського антигену [27], був Гарві Альтер. Працюючи в клінічному центрі Національного інституту охорони здоров'я США, він зацікавився пошуком збудника хронічного гепатиту, що передається з кров'ю під час переливання. У 1975 р. він разом з першовідкривачами вірусу гепатиту А дослідив кров хворих на хронічний гепатит донорів та реципієнтів і в більшості зразків не виявив вірусів гепатиту В чи гепатиту А або інших відомих вірусів, зокрема цитомегаловірусу або вірусу Епштейна—Барр [28]. У 1978 р. Г. Альтер припустив, що за випадки виникнення після переливання крові гепатиту «ні А, ні В» відповідає якийсь раніше невідомий вірус. До речі, на такій незвичній назві цього виду гепатиту і вірусу, який його викликає, наполіг колега Г. Альтера — Роберт Перселл. Підозри підтвердилися, коли ознаки гепатиту проявилися і в п'яти шимпанзе, яким з експериментальною метою перелили сироватку крові від раніше інфікованих під час переливання людей та їх донорів [29]. Виявилося, що шимпанзе є єдиним видом тварин, сприйнятливим до цієї інфекції. Працювати з такою тваринною моделлю було складно, повільно і дорого. Зараз у багатьох країнах подібні експерименти з вищими мавпами взагалі заборонено з етичних міркувань.

Проте наприкінці 1970-х років інших варіантів не було, і саме внаслідок експериментів на шимпанзе вчені змогли дослідити патологічні зміни в заражених клітинах печінки та охарактеризувати інфекційний агент, що їх зумовлює. Незважаючи на ці досягнення, тривалий час жодних істотних зрушень у пошуку збудника гепатиту «ні А, ні В» не відбувалося. За допомогою наявних на той час методів не вдавалося виявити вірус ані в печінці, ані в сироватці крові, де він точно містився та спричинював захворювання у шимпанзе після переливання. Дослідження зайшли в глухий кут. У 1988 р. Гарві Альтер навіть написав жартівливий вірш, в якому зізнавався в нездатності знайти цей невловимий вірус і благав Велику Печінку на небі дати натхнення для одержання бажаних результатів і швидкого їх опублікування, інакше всіх учених звільнять з роботи [25]. Мабуть, Небесна Печінка почула ці благання, адже через рік вірус гепатиту «ні А, ні В» нарешті вдалося ідентифікувати.

Сталося це завдяки зусиллям Майкла Гоутена, який тоді працював у каліфорнійській біотехнологічній компанії «Chiron Corporation». Разом із колегами Кві-Лім Чу (*Qui-Lim Choo*), Джорджем Куо (*George Kuo*) і Деніелем Бредлі (*Daniel W. Bradley*) він поставив за мету виділити РНК вірусу, що спричиняє гепатит «ні А, ні В». Для цього вчені використали абсолютно новий на той час підхід — створення так званої бібліотеки кДНК, або молекулярне клонування фрагментів геному в бактеріях з використанням бактеріофагів. Вони виділили РНК з плазми крові інфікованих шимпанзе, отримали комплементарні молекули ДНК, за допомогою бактеріофагів (вірусів бактерій) перенесли їх у бактерії та розмножили. Так було одержано мільйон клонів бактерій, кожний з яких синтезував певний фрагмент ДНК (шимпанзе чи вірусу). Потім серед усіх цих клонів бактерій дослідники намагалися знайти клон, ДНК якого в реакції гібридизації реагувала б з ДНК хворих, але не реагувала з ДНК здорових шимпанзе. Проте цей метод не дав бажаного результату: жодного клона, що відповідав би такій умові, не знайшли.

Тоді застосували інший підхід: колонії бактерій перевірили на експресію вірусних протеїнів за допомогою сироватки крові хворих на гепатит, яка містила антитіла проти вірусу. Знайшли одну колонію, протеїни з якої реагували з антитілами проти вірусу; виділили з неї ДНК і отримали вірусну РНК.

Майкл Гоутен згадує, що цей експериментальний зразок був не дуже вдалим, желеподібним і його ледь не викинули. Результати подальших досліджень засвідчили, що вірусні протеїни синтезуються безпосередньо з отриманої молекули РНК, а вірус, який у 1989 р. назвали «вірус гепатиту С», має спорідненість до родини флавівірусів [30].

Того самого року група вчених з «Chiron Corporation» за участю Гарві Альтера розробила серологічний тест для виявлення антитіл проти вірусу гепатиту С [31], а в подальшому було створено тести на основі полімеразної ланцюгової реакції для виявлення генетичного матеріалу вірусу.

Скринінг крові донорів щодо наявності гепатиту С започаткували у США з 1990 р., а в Японії — з 1989 р. Цікаво, що перша людина, яка наприкінці 1988 р. отримала кров, що пройшла скринінг, — імператор Японії Хірохіто. Запровадження скринінгу донорської крові на гепатит С сприяло тому, що до 1992 р. частота заражень цією інфекцією під час переливання крові різко знизилася до 1 %, а після вдосконалення методик проведення тестів у 1992—1995 рр. — до 1 випадку на 2 мільйони переливань (що відповідає ймовірності потрапляння блискавки) [25].

Слід згадати, що в процесі пошуку вірусу гепатиту С Майкл Гоутен та його команда зробили ще одне важливе відкриття: в 1986 р. вони розкрили геном вірусу гепатиту D (дельта), який є вірусом-сателітом вірусу гепатиту В [32]. Після ідентифікації вірусу гепатиту С залишалося довести, що саме цей вірус передається з кров'ю під час переливання та спричинює хронічний гепатит «ні А, ні В». Адже виявити фрагмент вірусу, що розпізнається антитілами з сироватки крові хворого, це не те саме, що виявити вірус, здатний викликати захворювання з характерними симптомами. Крім того, деякі віруси можуть спричиняти захворювання лише за умови «співпраці» з іншими вірусами або вірусоїдами. Однак, як виявилося, зробити це було не так просто, принаймні

Майкл Гоутен намагався, але не зміг провести завершальний етап ідентифікації вірусу. Вивести дослідження з чергового глухого кута вдалося лише після того, як групи Кунітади Шімотохно (*Kunitada Shimotohno*) з Національного центру досліджень раку в Токіо і Чарльза Райса з Вашингтонського університету в Сент Луїсі виявили некодувальну ділянку геному на 3'-кінці молекули РНК вірусу гепатиту С [33, 34]. Вони припустили, що ця ділянка відіграє важливу роль у реплікації вірусу. На основі цієї гіпотези Чарльз Райс сконструював вірусну РНК, яка містила некодувальну ділянку, ввів її в печінку шимпанзе і очікував на реплікацію вірусу. Проте в крові заражених шимпанзе вірус так і не з'явився. Тоді Ч. Райс припустив, що РНК вірусу містить інактивувальні мутації. Коли він у 1997 р. створив нову конструкцію вірусного геному, виправивши ці мутації, експеримент нарешті вдався: в крові заражених мавп було виявлено вірус і в тварин з'явилися клінічні ознаки гепатиту [35].

Отже, дослідження Гарві Альтера, Майкла Гоутена і Чарльза Райса, які тривали понад 20 років (1975—1997), сприяли успішній ідентифікації вірусу гепатиту С — головної причини виникнення хронічного гепатиту, що спричиняв смерть багатьох пацієнтів, яким переливали кров. Результати цих досліджень не лише дали змогу розробити методи перевірки донорської крові на наявність вірусу та значно знизити ризик зараження гепатитом, а й відкрили шлях до створення ефективних противірусних препаратів і вакцин. Суттєвою проблемою на цьому шляху стала відсутність достатньої кількості модельних тварин, необхідних для проведення досліджень біологічної дії вірусу та доклінічних випробувань ліків і вакцин, оскільки вірус гепатиту С вражав тільки людей та шимпанзе і погано розмножувався в клітинних культурах. Значний внесок у вирішення цієї проблеми зробив Ральф Бартеншлагер (*Ralph Bartenschlager*) і його колеги з найстарішого університету Німеччини — Гейдельберзького університету імені Рупрехта і Карла, які в 1999 р. отримали штам вірусу гепатиту С, здатний розмножуватися в клітинній культурі гепатоми людини [36]. У 2001 р. як модель для дослідження вірусу почали використовувати химерних гуманізованих мишей, яких отримували підсаджуванням людських гепатоцитів в ембріони генно-модифікованих мишей із сильним імунодефіцитом, в яких відключено також деякі гени, необхідні для нормального розвитку власних клітин печінки. Печінка в таких мишей складалася з людських гепатоцитів, сприйнятливих до вірусу гепатиту людини [37]. Крім того, в 2002 р. німецькі вчені з Фрайбурзького університету виявили, що гепатитом С можна заразити гепатоцити малайської тупаї (Tupaia belangeri) — невеликого ссавця, зовні схожого на білку, що мешкає у тропічних лісах Південно-Східної Азії [38]. Генетична схожість цієї тварини з приматами, підтверджена повним секвенуванням геному, зробила малайську тупаю перспективним модельним об'єктом для вивчення й інших захворювань людини [39].

Використання нових моделей, безсумнівно, відкрило широкі можливості для подальших досліджень, значно здешевивши і спростивши роботу, завдяки цьому було вивчено структурно-функціональні особливості вірусу гепатиту С. З'ясувалося, що цей вірус має геном у вигляді одноланцюгової РНК, сферичну форму і невеликі розміри (30—60 нм) вірусних частинок, вкритих зовні ліпідною мембраною з вбудованими в неї поверхневими вірусними протеїнами Е1

і Е2, що утворюють комплекси. Репродукція вірусу відбувається в цитоплазмі зараженої клітини, а не в ядрі. На матриці врусної РНК синтезується довга протеїнова молекула, яка потім за допомогою вірусної протеази (NS3) розрізається на 10 окремих протеїнів, які виконують різні функції [40].

Оскільки синтез вірусного протеїну відбувається безпосередньо при зчитуванні РНК, генетичний матеріал вірусу не може зберігатися всередині ядра клітини необмежено тривалий час (наприклад, як у випадку ВІЛ). Це значно спрощує підхід до лікування гепатиту С, адже якщо реплікація вірусу буде пригнічена протягом деякого часу, то є можливість зупинити інфекцію і повністю вилікувати хворого. Тому з терапевтичною метою почали використовувати інгібітори процесу реплікації.

Спочатку гепатит С намагалися лікувати рекомбінантними інтерферонами, зокрема інтерфероном альфа-2а, і рибавірином. Інтерферон альфа — це низькомолекулярний протеїн, який виробляється організмом для активізації в клітинах механізмів противірусного захисту. Для збільшення тривалості перебування інтерферону в організмі проводили його пегілювання (зв'язування з поліетиленгліколем). Інший компонент цієї терапії — рибавірин — є антиметаболітом нуклеозидів, здатним інгібувати реплікацію вірусу. За структурою він подібний до нуклеозидів аденозину та гуанозину, тому вірусна полімераза, намагаючись використовувати його замість потрібних нуклеозидів, стає неспроможною здійснити синтез вірусної РНК. Проте лікування гепатиту С інтерферонами і рибавірином не було достатньо ефективним (одужувало 40—50 % пацієнтів) [41], курс лікування тривав щонайменше рік, виникали значні побічні ефекти: аутоімунні захворювання, порушення в роботі серцево-судинної системи або функцій щитоподібної залози, що самі по собі могли призвести до летального результату [42].

У 2000-х роках з'явилися препарати, націлені на протеїни, критичні для життєвого циклу вірусу, які мають загальну назву «противірусні препарати прямої дії». Одними з перших таких препаратів були бецепревір, телепревір і сімепревір — інгібітори вірусної протеази NS3A (або її кофактора NS4A) — ферменту, потрібного для утворення десяти вірусних протеїнів унаслідок розрізання одного великого протеїну, що синтезується на основі вірусної РНК. Цікаво, що перші препарати «прямої дії» почали тестувати саме в лабораторії Чарльза Райса [43], звідки вони вийшли на стадію клінічних випробувань у 2003 р.

Наступним етапом на шляху до вдосконалення методів лікування гепатиту С стало розроблення аналога нуклеозиду уридину — софосбувіру (препарат Sovaldi), який є інгібітором вірусної РНК-полімерази NS5B, що забезпечує копіювання РНК вірусу [44], та ледіпасвіру — інгібітора протеїну NS5A, функція якого досі невідома, але без нього реплікація вірусу та збирання нових вірусних частинок неможливі [45]. Надзвичайно ефективними виявилися схеми комбінованого лікування софосбувіром з ледіпасвіром (препарат Harvoni) або з іншим інгібітором протеїну NS5A — даклатасвіром (препарат Sovodak) [46, 47]. Новіша комбінація софосбувіру та велпатасвіру — похідного даклатасвіру (препарат Epclusa) — виявилася однаково ефективною проти всіх генотипів вірусу гепатиту С [48]. У 2013 р. препарат Sovaldi (софосбувір) компанії

«Gilead Sciences» (США), права на який у 2011 р. було придбано нею разом з компанією-розробником «Pharmasset Inc.» за 11,2 млрд дол. США, отримав схвалення FDA для лікування гепатиту С і став найуспішнішим препаратом за стартовим обсягом продажів за всю історію фармгалузі. Продажі компанією «Gilead Sciences» лікарських засобів, що містять софосбувір (Sovaldi, Harvoni і Epclusa), у дебютному 2014 р. становили понад 10 млрд дол. США, а в 2015 р. — більш як 19 млрд дол. США, що відповідає 90 % ринку ліків від гепатиту С. Використання Sovaldi для лікування гепатиту С схвалено в 65 країнах світу, ним скористалися вже понад 1 млн пацієнтів, зокрема широко відомою стала історія одужання в 2015 р. американської актриси і фотомоделі Памели Андерсон, яка до того безуспішно намагалася вилікуватися від гепатиту С протягом 16 років [49]. До речі, «Gilead Sciences» ще місяць тому була дуже близька до нового успіху в боротьбі з коронавірусом SARS-CoV-2 з препаратом Ремдезивір, який, на превеликий жаль, виявився малоефективним проти COVID-19.

Кількість противірусних препаратів прямої дії для лікування гепатиту С постійно зростає. Інгібітори протеази традиційно мають назви, що закінчуються на -превір, інгібітори РНК-полімерази — на -бувір, а інгібітори протеїну NS5A — на -асвір. Вони є високоефективними (лікуванню піддаються 95—99 % хворих залежно від генотипу вірусу), курс лікування становить 2—3 місяці, дія препаратів поширюється на різні генетичні типи вірусу гепатиту С і має лише незначні побічні ефекти. Прикладом препарату останнього покоління для лікування гепатиту С є схвалений FDA в 2019 р. Mavyret (глекапревір/пібрентасвір) компанії «AbbVie» (США), курс лікування яким — всього 8 тижнів.

Головним недоліком сучасних противірусних препаратів є їх висока вартість. Так, курс лікування коштує десятки тисяч доларів, що зумовлює його недоступність для більшості пацієнтів. При цьому собівартість виробництва активної фармацевтичної субстанції для проведення курсу лікування становить близько 100 дол. США [49]. Така завищена ціна стала причиною численних протестів і звинувачень, але компанія-виробник так і не переглянула свою цінову політику. Нині термін дії патентів на деякі оригінальні препарати завершується, що уможливить виготовлення дешевших препаратів-дженериків. На сьогодні вже 11 індійських фармацевтичних компаній уклали угоду на виробництво точних копій американських ліків від гепатиту С, отримавши офіційний доступ до унікальних формул, розроблених у США [50]. Це дає надію хворим на гепатит С у країнах, що розвиваються. Альтернативним напрямом у терапії гепатиту С може стати створення препаратів на основі антагоністів мікроРНК-122 людини, яка здатна зв'язуватися з лідерною послідовністю на 5'-кінці геному вірусу гепатиту С і підсилювати його реплікацію [51]. Так, компанія «Santaris Pharma» (Данія), придбана в 2014 р. «HoffmannLa Roche» (Швейцарія) за 450 млн дол. США, розробила для лікування гепатиту С препарат Міравірсен (Miravirsen), який є модифікованим (фосфоротіоатним) олігонуклеотидом з 15 нуклеотидів, здатним інгібувати мікроРНК-122 у гепатоцитах людини. А компанія «Regulus Therapeutics» (США) створила препарат RG101, який є кон'югатом, подібним до олігонуклеотиду з N-ацетилгалактозаміном, що забезпечує доставку в гепатоцити, зв'язуючись з рецепторами асіалоглікопротеїнів на цих клітинах.

Попередні результати клінічних випробувань цих препаратів засвідчили їх безпечність і здатність зменшувати вірусне навантаження у пацієнтів [52, 53]. Надзвичайно важливим завданням, що стоїть перед сучасними дослідниками, є створення ефективної вакцини проти гепатиту С, яку можна було б застосовувати для захисту людей, що належать до груп ризику.

Зазначимо, що Г. Альтер, М. Гоутен і Ч. Райс, а також багато інших дослідників протягом кількох десятиліть намагаються вирішити цю проблему, але досі безуспішно. Справа в тому, що на відміну від вірусів гепатитів А, В і Е, вакцини проти яких уже розроблено, вірус гепатиту С швидко мутує і вирізняється великою генетичною різноманітністю: хоча виявлено всього 7 головних генотипів, число підтипів доходить до 67 [54]. Ця особливість, як і наявність протеїново-ліпідної оболонки, допомагає вірусу уникати розпізнавання антитілами. Крім того, вірус гепатиту С використовує багато інших механізмів для протидії імунному захисту організму. Зокрема, він має здатність інгібувати індукцію інтерферону I типу та інгібувати NK-клітини, які вбивають заражені вірусом гепатоцити. Водночас природний імунітет проти гепатиту С все-таки є, хоча його механізм поки не з'ясовано, адже 15—45 % хворих на гепатит С спонтанно одужують, у разі повторного інфікування вірусом лише в 20 % цих людей розвивається хронічна форма захворювання, а решта одужують ще швидше, ніж у перший раз [55].

Рекомбінантна вакцина проти гепатиту С, створена в лабораторії Майкла Гоутена в 1993 р., містила вектор, який кодував протеїни оболонки вірусу E1 і E2, що істотно знижувало рівень хронічного носійства вірусу гепатиту С у вакцинованих шимпанзе після експериментального випробування з вірусними штамами 1a [56]. Результати клінічних випробувань на людях показали, що вакцина добре переносилася, а також індукувала появу противірусних антитіл та імунних лімфоцитів [57]. Проте дані нещодавніх досліджень засвідчили, що хоча гетеродимер E1E2 й індукує високі титри антитіл, але їх недостатньо для нейтралізації різноманітних ізолятів вірусу гепатиту С [58]. Нині активно шукають епітопи антигену E1E2, які б зумовили синтез антитіл, здатних нейтралізувати різні генотипи вірусу гепатиту С [59]. Є дані, що такі антитіла можуть генерувати вакцини на основі рекомбінантних вірусоподібних частинок та кількох варіантів рекомбінантного протеїну E2 [60, 61].

Останнім часом вчені почали розробляти підходи, націлені на формування стійкого Т-клітинного імунітету проти найконсервативніших протеїнів вірусу гепатиту С. Вакцини вводять в організм за допомогою генетично-модифікованих вірусів, що містять гени вірусу гепатиту С. При цьому Т-клітини людини навчаються розпізнавати заражені вірусом клітини печінки і вбивати їх, щоб запобігти подальшому поширенню вірусу. Так, дослідники з Оксфордського університету (Велика Британія) за фінансової підтримки біотехнологічної компанії «ReiThera Srl» (Італія) розробили вакцину NSmut, яку отримали, ввівши неструктурні гени вірусу гепатиту С в аденовірус шимпанзе (ChAd) та модифікований вірус віспoвакцини Анкара (MVA). Результати доклінічних досліджень підтвердили здатність цієї вакцини генерувати дуже високі рівні як CD8+, так і CD4+ специфічних Т-клітин, націлених на кілька антигенів вірусу

гепатиту С [62]. Однак останні клінічні випробування демонструють, що ця вакцина поки що є недостатньо ефективною [63].

Створення вакцини проти гепатиту С є надзвичайно важливим завданням на шляху до перемоги над цим захворюванням. А поки що в масштабах планети вірусні гепатити залишаються серйозною проблемою. За даними ВООЗ, вірусами гепатиту в світі інфіковано майже 650 млн людей, зокрема вірусом гепатиту В — 343 млн (у тому числі 257 млн хронічно хворих), вірусом гепатиту С — 142 млн (у тому числі 71 млн хронічно хворих), вірусом гепатиту А — 114 млн, вірусом гепатиту Е — 20 млн, вірусом гепатиту D — 15 млн. Разом ці інфекції за рік спричинили 1,34 млн смертей, що приблизно дорівнює смертності від туберкульозу (1,37 млн) і перевищує смертність від СНІДу (близько 1 млн) або малярії (приблизно 0,5 млн), причому найбільший внесок у цей страшний показник зробили гепатит В (близько 900 тис.) і гепатит С (близько 400 тис.), тоді як від гепатиту Е померло 44 тис. хворих, а від гепатиту А — 11 тис. [64]

В Україні в 2001 р. до календаря щеплень було внесено триразову вакцинацію від гепатиту В, яку проводять протягом перших шести місяців життя немовляти. За останні три роки кількість вакцинованих від гепатиту В дітей зросла втричі і становить 67 %. Проте доросле населення залишається незахищеним, що негативно впливає на показники захворюваності. Так, за оцінками експертів, в Україні вірусним гепатитом В інфіковано понад 600 тис. людей, а гепатитом С — понад 2 млн, утім більшість з них навіть не підозрюють про свій статус. За офіційними даними Центру громадського здоров'я, на початку 2019 р. в Україні було зареєстровано понад 23 тис. людей з гепатитом В та понад 82 тис. з гепатитом С, тобто зі 100 хворих на вірусний гепатит С про свій діагноз знало лише четверо, а зі 100 хворих на гепатит В — тільки троє. Тому вкрай важливо стежити за своїм здоров'ям і вчасно проходити тестування на вірусні гепатити, що входять у гарантований державою пакет надання первинної медичної допомоги [65].

У травні 2016 р. Всесвітня асамблея охорони здоров'я прийняла першу Глобальну стратегію охорони здоров'я (GHSS) щодо вірусних гепатитів на 2016—2021 рр., яка має на меті зменшення кількості нових заражень вірусними гепатитами на 90 % та смертності від них на 65 % до 2030 р. [66]. За оцінками експертів, вартість стратегії ліквідації гепатиту С у 2018—2030 рр. становитиме 41,5 млрд дол. США, які планують витратити на тестування, лікування та охорону здоров'я. Однак підраховано, що економічні збитки від гепатиту С за аналогічний період перевищують ці витрати на 22,7 млрд дол. США [67].

Інвестиції в детальне вивчення вірусу гепатиту С, розроблення лікарських препаратів, діагностикумів і вакцин проти нього можуть також допомогти у боротьбі з іншими вірусами, зокрема з вірусами Денге, гарячки Західного Нілу та Зіка, що, як і вірус гепатиту С, належать до родини флавівірусів. Крім того, розглядається можливість використання препаратів проти гепатиту С для лікування COVID-19, оскільки виявилося, що вірус гепатиту С має низку спільних рис зі збудником цього захворювання — коронавірусом SARS-CoV-2, таких як особливості імунної відповіді та її ролі в патогенезі, порушення роботи іонних

каналів та ін. [68]. Цікаво, що перший препарат, схвалений FDA для лікування COVID-19, — ремдесивір розробляли як засіб для лікування гепатиту С.

На завершення зазначимо, що за останні 30 років завдяки успіхам фундаментальних медико-біологічних наук вдалося досягти значного прогресу в боротьбі з вірусними гепатитами людини: ідентифіковано їх збудників, розроблено діагностикуми та високоефективні терапевтичні препарати. Цими досягненнями людство багато в чому завдячує нобелівським лауреатам з фізіології та медицини за 2020 р. — Гарві Альтеру, Майклу Гоутену та Чарльзу Райсу, дослідження яких, спрямовані на вивчення збудника найбільш підступного з вірусних гепатитів — гепатиту С, зберегли мільйони життів і стали фундаментом для майже повної перемоги над цією небезпечною хворобою в розвинених країнах. Нині вірус гепатиту С втрачає статус «мовчазного вбивці», а вчені стоять на правильному, хоча, можливо, довгому шляху до його знищення.

HOW THE HEPATITIS C VIRUS WAS DISCOVERED, OR THE DETECTIVE SEARCHES OF VIROLOGISTS FOR THE «SILENT KILLER»?

The Nobel prize in physiology or medicine, 2020

S.I. Romanyuk, S.V. Komisarenko

The Nobel Prize in Physiology or Medicine in 2020 was awarded to two American scientists — Harvey James Alter from the National Institutes of Health (Bethesda, MD, USA) and Charles M. Rice from the Rockefeller University (New York, NY, USA), as well as British researcher Michael Houghton, who is currently working at the University of Alberta (Edmonton, Canada) «for the discovery of the Hepatitis C virus». A Nobel Committee press release has noted that the ongoing research of this year's laureates are of great benefit to mankind, allowing for effective methods of diagnosis and measures for the prevention and treatment of this infection.

Keywords: *Nobel Prize in Physiology or Medicine, Harvey James Alter, Michael Houghton, Charles M. Rice, Hepatitis C virus.*

REFERENCES

1. Physiology or Medicine. Citation Laureates 2020. https://clarivate.com/webofsciencegroup/citation-laureates/ physiology-or-medicine/

2. Press release: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2020. https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2020/ press-release/

3. 10 famous scientific awards. Dekatop.com. 23.02.2016. (in Russian). https://dekatop.com/archives/9911 [10 известных научных премий. Dekatop.com. 23.02.2016].

4. Harvey J. Alter. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Harvey_J._Alte.r

5. Michael Houghton (virologist). Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Michael_Houghton_(virologist).

6. Charles M. Rice. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Charles_M._Rice.

7. Hepatitis. World Health Organization. https://www.who.int/health-topics/hepatitis#tab=tab_1 [Вірусні гепатити. Центр громадського здоров'я МОЗ України. https://phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/virusni-gepatiti].

8. MacCallum F.O. Homologous serum hepatitis. *Lancet*. 1947. Vol. 250, N 6480. P. 691—692. DOI: https://doi.org/10.1016/ S0140-6736(47)90722-8.

9. Hepatitis A. https://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_A.

10. Hepatitis A. World Health Organization. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-a.

11. Hepatitis E. https://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_E.

12. Hepatitis E. World Health Organization. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e.

13. Hepatitis B. https://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_B.

14. Hepatitis B. World Health Organization. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b.

15. Hepatitis D. https://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_D.

16. Hepatitis D. World Health Organization. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-d.

17. Hepatitis C. https://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_C.

18. Hepatitis C. World Health Organization. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c.

19. Elgharably A., Gomaa A.I., Crossey M.M.E. et al. Hepatitis C in Egypt — past, present, and future. *Internationsl Journal of General Medicine*. 2017. Vol. 10. P. 1–6. DOI: https://doi.org/10.2147/IJGM.S119301.

20. Masucci M.G., Hedestam G.K. The discovery of Hepatitis C virus. https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2020/advanced-information/

21. Blumberg B.S. Polymorphisms of the serum proteins and the development of iso-preciptins in transfused patients. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*. 1964. Vol. 40, N 5. P. 377—386. DOI: https://doi.org/10.1142/9789812813688_0017.

22. Bayer M.E., Blumberg B.S., Werner B. Particles associated with Australia antigen in the sera of patients with leukaemia, Down's Syndrome and hepatitis. *Nature*. 1968. Vol. 218, N 5146. P. 1057—1059. DOI: https://doi.org/10.1038/2181057a0.

23. Barry Blumberg. Obituary. The Economist. April 28, 2011. https://www.economist.com/obituary/2011/04/28/barry-blumberg.

24. World Hepatitis Day. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/World_Hepatitis_Day.

25. Alter H.J. The road not taken or how I learned to love the liver: A personal perspective on hepatitis history. *Hepatology*. 2014. Vol. 59, N 1. P. 4—12. DOI: https://doi.org/10.1002/hep.26787.

26. Feinstone S.M., Kapikian A.Z., Purcell R.H. Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a virus like antigen associated with acute illness. *Science*. 1973. Vol. 182, N 4116. P. 1026—1028. DOI: https://doi.org/10.1126/science.182.4116.1026.

27. Blumberg B.S., Alter H.J., Visnich S. A «New» Antigen in Leukemia Sera. *JAMA*. 1965. Vol. 191, N 7. P. 541—546. DOI: https:// doi.org/10.1001/jama.1965.03080070025007.

28. Feinstone S.M., Kapikian A.Z., Purcell R.H. et al. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *NEJM*. 1975. Vol. 292, N 15. P. 767—770. DOI: https://doi.org/10.1056/nejm197504102921502.

29. Alter H.J., Holland P.V., Purcell R.H., Popper H. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. *Lancet*. 1978. Vol. 311, N 8062. P. 459—463. DOI: https://doi.org/10.1016/s0140-6736(78)90131-9.

30. Choo Q.L., Kuo G., Weiner A.J. et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989. Vol. 244, N 4902. P. 359—362. DOI: https://doi.org/10.1126/ science.2523562.

31. Kuo G., Choo Q.L., Alter H.J. et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science*. 1989. Vol. 244, N 4902. P. 362–364. DOI: https://doi.org/10.1126/science.2496467.

32. Wang K.S., Choo Q.L., Weiner A.J. et al. Structure, sequence and expression of the hepatitis delta (delta) viral genome. *Nature*. 1986. Vol. 323, N 6088. P. 508—514. DOI: https://doi.org/10.1038/323508a0.

33. Tanaka T., Kato N., Cho M.J., Shimotohno K. A novel sequence found at the 3' terminus of hepatitis C virus genome. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1995. Vol. 215, N 2. P. 744—749. DOI: https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2526.

34. Kolykhalov A.A., Feinstone S.M., Rice C.M. Identification of a highly conserved sequence element at the 3′ terminus of hepatitis C virus genome RNA. *Journal of Virology*. 1996. Vol. 70, N 6. P. 3363—3371. DOI: https://doi.org/10.1128/jvi.70.6.3363- 3371.1996.

35. Kolykhalov A.A., Agapov E.V., Blight K.J. et al. Transmission of hepatitis C by intrahepatic inoculation with transcribed RNA. *Science*. 1997. Vol. 277, N 5325. P. 570—574. DOI: https://doi.org/10.1126/ science.277.5325.570.

36. Lohmann V., Korner F., Koch J. et al. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science*. 1999. Vol. 285, N 5424. P. 110—113. DOI: https://doi.org/10.1126/ science.285.5424.110.

37. Mercer D.F., Schiller D.E., Elliott J.F. et al. Hepatitis C virus replication in mice with chimeric human livers. *Nature Medicine*. 2001. Vol. 7, N 8. P. 927—933. DOI: https://doi.org/10.1038/90968.

38. Zhao X., Tang Z.Y., Klumpp B. et al. Primary hepatocytes of Tupaia belangeri as a potential model for hepatitis C virus infection. *Journal of Clinical Investigation*. 2002. Vol. 109, N 2. P. 221—232. DOI: https://doi.org/10.1172/JCI13011.

39. Sanada T., Tsukiyama-Kohara K., Shin-I T. et al. Construction of complete Tupaia belangeri transcriptome database by whole-genome and comprehensive RNA sequencing. *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9, N 1. P. 12372. DOI: https://doi. org/10.1038/s41598-019-48867-x.

40. Hepatitis C virus. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_C_virus.

41. Palumbo E. Pegylated interferon and ribavirin treatment for hepatitis C virus infection. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*. 2011. Vol. 2, N 1. P. 39—45. DOI: https://doi.org/10.1177/2040622310384308.

42. Arase Y., Suzuki F., Suzuki Y. et al. Side effects of combination therapy of peginterferon and ribavirin for chronic hepatitis-C. *Internal Medicine*. 2007. Vol. 46, N 22. P. 1827—1832. DOI: https://doi.org/10.2169/internalmedicine.46.0289.

43. Lin C., Rice C.M. The hepatitis C virus NS3 serine proteinase and NS4A cofactor: establishment of a cell-free transprocessing assay. *PNAS*. 1995. Vol. 92, N 17. P. 7622—7626. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.92.17.7622.

44. Bhatia H.K., Singh H., Grewal N., Natt N.K. Sofosbuvir: A novel treatment option for chronic hepatitis C infection. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 2014. Vol. 5, N 4. P. 278—284. DOI: https://doi.org/10.4103/0976-500X.142464.

45. Link J.O., Taylor J.G., Xu L. et al. Discovery of ledipasvir (GS-5885): a potent, once-daily oral NS5A inhibitor for the treatment of hepatitis C virus infection. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2014. Vol. 57, N 5. P. 2033—2046. DOI: https://doi.org/10.1021/jm401499g.

46. Gane E.J., Stedman C.A., Hyland R.H. et al. Efficacy of nucleotide polymerase inhibitor sofosbuvir plus the NS5A inhibitor ledipasvir or the NS5B non-nucleoside inhibitor GS-9669 against HCV genotype 1 infection. *Gastroenterology*. 2014. Vol. 146, N 3. P. 736—743.e1. DOI: https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.11.007.

47. Pol S., Bourliere M., Lucier S. ANRS/ AFEF HEPATHER study group. Safety and efficacy of daclatasvir-sofosbuvir in HCV genotype 1-mono-infected patients. *Journal of Hepatology*. 2017. Vol. 66, N 1. P. 39—47. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.08.021.

48. Weisberg I.S., Jacobson I.M. A pangenotypic, single tablet regimen of sofosbuvir/velpatasvir for the treatment of chronic hepatitis C infection. *Expertion Opinon Pharmacotherapy*. 2017. Vol. 18, N 5. P. 535—543. DOI: https://doi.org/10.1080/146 56566.2017.1282459.

49. Petrenko A., Gopka A. Sovaldi: the history of the best-selling drug in the entire history of the pharmaceutical industry. Forbes.ru. 02.03.2017. (in Russian). https://www.forbes.ru/tehnologii/338761-sovaldi-istoriya-samogo-prodavaemogo-preparata-za-vsyu-istoriyu-farmotra [Петренко А., Гопка А. Sovaldi: история самого продаваемого препарата за всю историю фармотрасли. Forbes. ru. 02.03.2017].

50. Indian generics for hepatitis C. (in Russian). https://sofosbuvir.su/indiyskie-generiki [Индийские дженерики от гепатита С. https://sofosbuvir.su/indiyskie-generiki].

51. Lindow M., Kauppinen S. Discovering the first microRNA-targeted drug. *Journal of Cell Biology*. 2012. Vol. 199, N 3. P. 407—412. DOI: https://doi.org/10.1083/jcb.201208082.

52. Bonneau E., Neveu B., Kostantin E., Tsongalis G.J., De Guire V. How close are miRNAs from clinical practice? A perspective on the diagnostic and therapeutic market. *EJIFCC*. 2019. Vol. 30, N 2. P. 114—127. eCollection.

53. van der Ree M.H., de Vree J.M., Stelma F. et al. Safety, tolerability, and antiviral effect of RG-101 in patients with chronic hepatitis C: a phase 1B, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2017. Vol. 389, N 10070. P. 709—717. DOI: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31715-9.

54. Echeverria N., Moratorio G., Cristina J., Moreno P. Hepatitis C virus genetic variability and evolution. *World Journal Hepatology*. 2015. Vol. 7, N 6. P. 831—845. DOI: https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i6.831.

55. Lingala S., Ghany M.G. Natural history of hepatitis C. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2015. Vol. 44, N 4. P. 717—734. DOI: https://doi.org/10.1016/j.gtc.2015.07.003.

56. Choo Q.L., Kuo G., Ralston R. et al. Vaccination of chimpanzees against infection by the hepatitis C virus. *PNAS*. 1994. Vol. 91, N 4. P. 1294—1298. DOI: https:// doi.org/10.1073/pnas.91.4.1294.

57. Frey S.E., Houghton M., Coates S. et al. Safety and immunogenicity of HCV E1E2 vaccine adjuvanted with MF59 administered to healthy adults. *Vaccine*. 2010. Vol. 28, N 38. P. 6367—73. DOI: https://doi. org/10.1016/j.vaccine.2010.06.084.

58. Chen F., Nagy K., Chavez D. et al. Antibody responses to immunization with HCV envelope glycoproteins as a baseline for B cell-based vaccine development. *Gastroenterology*. 2020. Vol. 158, N 4. P. 1058—1071.e6. DOI: https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.11.282.

59. Castelli M., Clementi N., Pfaff J. et al. A biologically-validated HCV E1E2 heterodimer structural model. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7, N 1. P. 214. DOI: https:// doi.org/10.1038/s41598-017-00320-7.

60. Christiansen D., Earnest-Silveira L., Chua B. et al. Immunological responses following administration of a genotype 1a/1b/2/3a quadrivalent HCV VLP vaccine. *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8, N 1. P. 6483. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598- 018-24762-9.

61. Wang X., Yan Y., Gan T. et al. A trivalent HCV vaccine elicits broad and synergistic polyclonal antibody response in mice and rhesus monkey. *Gut*. 2019. Vol. 68, N 1. P. 140—149. DOI: https:// doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314870.

62. Swadling L., Capone S., Antrobus R.D. et al. A human vaccine strategy based on chimpanzee adenoviral and MVA vectors that primes, boosts, and sustains functional HCV-specific T cell memory. *Science Translational Medicine*. 2014. Vol. 6, N 261. P. 261ra153. DOI: https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009185.

63. From NIH: Trial Evaluating Experimental Hepatitis C Vaccine Concludes. https://www.hhs.gov/hepatitis/ blog/2019/06/05/experimental-hepatitis-c-vaccine-trial-concludes.html.

64. Global hepatitis report, 2017. https://www.who.int/publications/i/item/global-hepatitis-report-2017.

65. Ukrainians are encouraged to take a free test for viral hepatitis (in Ukrainian). https://moz.gov.ua/article/news/ ukrainciv-zaklikajut-projti-bezoplatnij-test-na-virusni-gepatiti [Українців закликають пройти безоплатний тест на вірусні гепатити. https://moz.gov.ua/article/news/ukrainciv-zaklikajut-projti-bezoplatnij-test-na-virusni-gepatiti].

66. Global health sector strategy on viral hepatitis 2016—2021. https://www.who.int/hepatitis/strategy2016-2021/ghsshep/en.

67. Scott N., Kuschel C., Pedrana A. et al. A model of the economic benefits of global hepatitis C elimination: an investment case. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020. Vol. 5, N 10. P. 940—947. DOI: https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30008-X.

68. Alothaid H., Aldughaim M.S.K., El Bakkouri K. et al. Similarities between the effect of SARS-CoV-2 and HCV on the cellular level, and the possible role of ion channels in COVID19 progression: a review of potential targets for diagnosis and treatment. *Channels (Austin)*. 2020. Vol. 14, N 1. P. 403—412. DOI: https://doi.org/10.1 080/19336950.2020.1837439.

ПЕРСПЕКТИВИ РЕДАГУВАННЯ ГЕНОМУ ЗА ДОПОМОГОЮ CRISPR/CAS, АБО ЯК ОПАНУВАТИ «ГЕНЕТИЧНІ НОЖИЦІ»?

Нобелівська премія з хімії, 2020

С.В. Комісаренко, С.І. Романюк

Нобелівську премію з хімії у 2020 р. присуджено двом дослідницям у галузі молекулярної біології — француженці Еммануель Шарпантьє (Emmanuelle Charpentier), яка нині очолює Відділення наук про патогени при Товаристві Макса Планка в Берліні, та американці Дженніфер Дудні (Jennifer Doudna) з Каліфорнійського університету в Берклі — «за розвиток методу редагування геному». У пресрелізі Нобелівського комітету зазначено, що лауреатки відкрили один з найпотужніших інструментів генної технології — CRISPR/Cas9, або «генетичні ножиці». Цей метод сприяв отриманню у фундаментальних дослідженнях багатьох важливих результатів. Зокрема, дослідники рослин змогли створити культури, стійкі до цвілі, шкідників і посухи. У медицині тривають клінічні випробування нових методів лікування раку, а мрія про те, щоб вилікувати спадкові захворювання, ось-ось стане реальністю. «Генетичні ножиці» вивели науки про життя на новий етап розвитку та дають величезну користь людству.

7 жовтня 2020 р. у Стокгольмі в рамках 119-го нобелівського тижня Нобелівський комітет при Каролінському медичному інституті оголосив імена лауреатів Нобелівської премії з хімії. За традицією напередодні нобелівського тижня компанія «Clarivate Analytics» опублікувала список найімовірніших претендентів на цю нагороду, який вона визначає за результатами аналізу кількості цитувань [1]. На найвищій сходинці рейтингу опинилися троє вчених, які зробили значний внесок у дослідження нанокристалів, зокрема синтезували нанокристали з певними властивостями для широкого спектра застосувань у фізичних, біологічних та медичних системах. Так, Техван Хен (*Taeghwan Hyeon*) з Національного університету Сеула (Корея) винайшов новий спосіб створення нанокристалів перехідних металів, які можна застосовувати, наприклад, як контрастну речовину для магнітно-резонансної томографії. Маунг Бавенді (*Moungi G. Bawendi*) з Массачусетського технологічного інституту (США) спеціалізується на квантових точках — мікроскопічних напівпровідниках з особливими спектроскопічними властивостями. Нарешті, Крістофер Мюррей (*Christopher B. Murray*) з Університету Пенсильванії (США) займається вдосконаленням властивостей нанокристалів, зокрема підвищенням їх провідності. Нагороду пророкували також двом американським вченим: Джону Хартвігу (*John F. Hartwig*) з Каліфорнійського університету в Берклі та Стівену Бухвальду (*Stephen L. Buchwald*) з Массачусетського технологічного інституту, які відкрили реакцію амінування Бухвальда–Хартвіга, в результаті якої утворюються вуглець-азотні зв'язки внаслідок реакцій сполучення амінів з арилгалогенідами, що каталізуються паладієм. Цей метод виявився дуже корисним

для синтезу в лабораторних умовах багатьох природних алкалоїдів. Третім за списком претендентом на Нобелівську премію з хімії у 2020 р. вважали Макото Фудзіта (*Makoto Fujita*) з Токійського університету (Японія) — фахівця з супрамолекулярної хімії комплексних сполук. Зокрема, він досліджує самозбирання тривимірних конструкцій з органічних молекул, скріплених атомами металу, які можуть слугувати «молекулярними контейнерами» для інших речовин.

Останнім часом «класичні» хіміки скаржаться на те, що Нобелівську премію з хімії все частіше присуджують за дослідження на стику традиційних біологічних дисциплін, зокрема вченим, які працюють у галузі біохімії, молекулярної біології та імунології. Так сталося і цього разу.

Лауреатами 112-ї Нобелівської премії з хімії стали дві дослідниці, що працюють у галузі молекулярної біології: француженка **Еммануель Шарпентьє** *(Emmanuelle M. Charpentier*) з Відділення наук про патогени при Товаристві Макса Планка в Берліні (Max Planck Unit for the Science of Pathogens) та американка **Дженніфер Дудна** (*Jennifer A. Doudna*) з Каліфорнійського університету в Берклі.

Генеральний секретар Шведської королівської академії наук **Йоран Ханссон** оголосив мотивування рішення про нагородження: вчені були удостоєні цієї престижної нагороди «*за розроблення методу редагування геному*». Згідно з офіційним прессрелізом, лауреати «*відкрили один з найпотужніших інструментів генної технології — "генетичні ножиці" CRISPR/Cas9. Використовуючи їх, дослідники можуть змінювати ДНК тварин, рослин, мікроорганізмів, інших живих істот досить просто та з надзвичайно високою точністю. Ця технологія здійснила революційний вплив на науки про життя, знайшла застосування у нових методах лікування раку і може здійснити мрію про лікування спадкових захворювань*» [2].

У 2020 р. розмір Нобелівської премії становив 10 млн шведських крон, або 1,1 млн дол. США. Дженніфер Дудна та Еммануель Шарпентьє у 2012 р. здійснили справжній прорив у науці і, безперечно, заслуговують на нагороду, яку чекали протягом останніх восьми років.

До речі, компанія «Clarivate Analytics» пророкувала їм Нобелівську премію з хімії ще в 2015 р. Однак Нобелівський комітет тривалий час не поспішав приймати це рішення, ймовірно, через багаторічні патентні війни та судову тяганину за авторство між різними групами вчених, які зробили внесок у розроблення технології CRISPR-Cas.

У березні 2020 р. у журналі «Вісник НАН України» вийшла стаття «Редагування геному, або CRISPR/Cas9 — панацея від багатьох невиліковних хвороб чи перший крок до генного апокаліпсису?» про основні напрями використання технології CRISPR-Cas та етичні проблеми, що виникли з появою цієї технології й спричинили бурхливі дискусії в суспільстві [3]. У цій публікації за півроку було передбачено схвальне рішення Нобелівського комітету (хто знає, можливо, вона і посприяла його прийняттю). Тому тут лише коротко розглядається значення відкриття CRISPR-Cas, підсумовується досягнення цієї технології в різних галузях та оцінюються перспективи її розвитку в майбутньому.

Отже, познайомимося ближче з нобелівськими лауреатами з хімії 2020 р.

Еммануель Шарпентьє (1968)

51-річна професор **Еммануель Шарпентьє** нині очолює Відділення наук про патогени при Товаристві Макса Планка в Берліні.

Еммануель Шарпентьє (*Emmanuelle Charpentier*) народилася 11 грудня 1968 р. у Франції, в м. Жувізі-сюр-Орж (передмістя Парижа). Її батько був відповідальним за міські зелені насадження і навчив доньку латинських назв багатьох рослин. Мати була директором психіатричної лікарні. Батьки підтримували інтерес дівчинки до науки, і після закінчення школи вона вступила до Університету П'єра та Марії Кюрі в Парижі для вивчення біохімії, мікробіології та генетики (сьогодні це факультет природничих наук Університету Сорбонни). У 1991 р. Е. Шарпентьє здобула ступінь бакалавра з біохімії та оголосила батькам про намір навчатися в аспірантурі Інституту Пастера, що їх анітрохи не здивувало. Виявляється, ще в 12 років Еммануель заявляла, що буде там працювати. Так і сталося: в 1995 р. в Інституті Пастера Е. Шарпентьє захистила дисертацію з мікробіології, присвячену дослідженню молекулярних механізмів стійкості до антибіотиків.

У 1996 р. Еммануель Шарпентьє переїхала до США, де наступні п'ять років була науковим співробітником у трьох нью-йоркських установах. Протягом року вона працювала у Рокфеллерівському університеті в лабораторії мікробіолога Елейн Туоманен (*Elaine Tuomanen*), де було відкрито механізм стійкості до антибіотика ванкоміцину у *Streptococcus pneumoniae*, який використовує мобільні генетичні елементи для зміни свого геному.

У 1997—1999 рр. Е. Шарпентьє працювала асистентом наукового співробітника в Медичному центрі Лангона при Нью-Йоркському університеті в лабораторії Памели Ковін (*Pamela Cowin*), де займалася дослідженням клітин шкіри у генетично-модифікованих ссавців, зокрема вивчала механізми регулювання росту волосся в мишей.

У 1999—2002 рр. Еммануель була науковим співробітником у Дитячій дослідницькій лікарні Сент-Джуд у Мемфісі (штат Теннессі) і в Інституті біомолекулярної медицини Скірболла в Нью-Йорку.

Потім Еммануель Шарпентьє повернулася до Європи, де у 2002—2004 рр. працювала завідувачем лабораторії та запрошеним професором Інституту мікробіології та генетики Віденського університету (Австрія). Тут у 2004 р. вона відкрила молекули РНК, які регулюють синтез фактора вірулентності у *Streptococcus pyogenes*. У 2004—2006 рр. була доцентом кафедри мікробіології та імунобіології, а в 2006 р. стала приват-доцентом мікробіології та здобула кваліфікаційне підтвердження в Центрі молекулярної біології.

У 2006—2009 рр. Еммануель Шарпентьє, продовжуючи керувати лабораторією, працювала також професором Лабораторій Макса Ф. Перуца.

Потім Е. Шарпентьє переїхала до Швеції на посаду професора і завідувача Лабораторії медицини молекулярних інфекцій Швеції (MIMS) в Університеті Умео. Саме тут у 2011—2012 рр. вона зробила головні відкриття, що стосувалися CRISPR/Cas9. Еммануель Шарпентьє була керівником групи в Університеті Умео в 2008—2013 рр. і запрошеним професором у 2014—2017 рр. А в 2013 р. вона переїхала до Німеччини, де до 2015 р. працювала професором і завідувачем відділу в Центрі досліджень інфекційних захворювань ім. Гельмгольца у Брауншвейзі та Ганноверській медичній школі.

У 2015 р. Еммануель Шарпентьє прийняла пропозицію німецького Товариства Макса Планка стати науковим членом товариства та директором Інституту інфекційної біології ім. Макса Планка у Берліні. З 2016 р. вона є почесним професором Університету Гумбольдта у Берліні, а з 2018 р. — директором Відділення наук про патогени Товариства Макса Планка (Max Planck Unit for the Science of Pathogens).

Еммануель Шарпентьє є членом Європейської організації молекулярної біології (з 2014), Німецької академії наук Леопольдіна (з 2015), Берлін-Бранденбурзької академії наук, Австрійської академії наук, Королівської шведської академії наук (з 2016), Національної академії наук США, Національної академії технологій Франції, Французької академії наук (з 2017), Європейської академії наук і мистецтв (з 2018). У 2013 р. Еммануель Шарпентьє стала співзасновником компаній «CRISPR Therapeutics» та «ERS Genomics» [5].

56-річна **Дженніфер Анна Дудна** (*Jennifer Anne Doudna*) нині є професором біохімії та молекулярної біології у Каліфорнійському університеті в Берклі (США). Дженніфер Дудна народилася 19 лютого 1964 р. у м. Вашингтон (округ Колумбія) у сім'ї Мартіна Кірка Дудни і Дороті Джейн (Вільямс). Її батько здобув ступінь доктора англійської літератури в Університеті Мічигану в Енн-Арборі, а мати була домогосподаркою, хоча й мала ступінь магістра в галузі освіти. Коли Дженніфер виповнилося сім років, сім'я переїхала на острів Гаваї, оскільки батько після захисту дисертації отримав посаду викладача американської літератури в Гавайському університеті у м. Хіло. Мати здобула в університеті другу освіту (ступінь магістра з історії Азії) і викладала історію в коледжі місцевих громад. Перебуваючи на Гаваях, Дженніфер Дудна була зачарована красою природи острова, його екзотичною флорою та фауною, що пробудило цікавість до вивчення біологічних механізмів життя. Батько наповнив будинок науково-популярною літературою і з задоволенням читав Дженніфер про науку. Коли вона навчалася у шостому класі, він подарував їй книгу Джеймса Уотсона 1968 р. про відкриття структури ДНК «Подвійна спіраль», яка її надихнула. До вибору професії науковця Дженніфер також підштовхнули розповіді вчителя хімії, робота під час літніх канікул у лабораторії відомого міколога Дона Хеммеса (*Don Hemmes*) у Гавайському університеті, а також лекції співробітниці онкологічного центру Гонолулу про дослідження ракових клітин.

У 1981 р. Дженніфер закінчила середню школу в Хіло і вступила до коледжу Помона в Клермонті (штат Каліфорнія). На другому курсі вона почала сумніватися у власних здібностях до науки і захотіла все покинути заради вивчення французької мови, проте вчителі відмовили її. Перші наукові дослід-

Дженніфер Дудна (1964)

ження Дженніфер Дудна виконувала в лабораторії професора Шарона Панасенка (*Sharon Panasenko*). У 1985 р. вона здобула ступінь бакалавра біохімії та вступила до аспірантури Гарвардської медичної школи, яку закінчила у 1989 р., захистивши під керівництвом Джека Шостака (*Jack W. Szostak*) дисертацію, присвячену розробленню системи, яка підвищує ефективність самовідтворювальної каталітичної РНК.

У 1989—1991 рр. Дж. Дудна працювала в Массачусетській лікарні загального профілю та Гарвардській медичній школі в Бостоні (штат Массачусетс), у 1991—1994 рр. — в Університеті Колорадо в Боулдері разом із Томасом Чехом (*Thomas Cech*), який отримав Нобелівську премію з хімії в 1989 р. за відкриття каталітичних властивостей РНК.

На початку наукової кар'єри Дженніфер Дудна досліджувала структуру та біологічні функції РНК-ензимів, або рибозимів. Під час роботи в Університеті Колорадо вона познайомилася з молодшим на чотири роки аспірантом Джеймі Кейтом (*Jamie Cate*), який згодом став її чоловіком. У 1994 р. Дж. Дудна перейшла до Єльського університету, де у 2000 р. отримала посаду професора молекулярної біофізики та біохімії. У 2000—2001 рр. вона була запрошеним професором хімії Гарвардського університету, а в 2002 р. перейшла на посаду професора біохімії та молекулярної біології Каліфорнійського університету в Берклі, де й зробила головні відкриття.

Цікаво, що Дженніфер Дудна стала 25-м нобелівським лауреатом із Каліфорнійського університету в Берклі, причому ім'я 24-го, Райнгарда Генцеля (*Reinhard Genzel*), стало відоме днем раніше, коли оголосили лауреатів Нобелівської премії з фізики.

Нині Дженніфер Дудна є президентом і головою правління Інноваційного інституту геноміки, який фінансується Фондом гонконгського мільярдера Лі Ка-Шина (*Li KaShing*) і створений спільно Каліфорнійським університетом у Берклі та Каліфорнійським університетом у Сан-Франциско. Вона обіймає посаду професора біомедицини та охорони здоров'я, є головою Дорадчого комітету з біології, співробітником Національної лабораторії імені Лоуренса в Берклі, дослідником Медичного інституту імені Говарда Х'юза, старшим науковим співробітником Інституту Гладстона у Сан-Франциско та ад'юнкт-професором клітинної та молекулярної фармакології Каліфорнійського університету в Сан-Франциско. Лабораторія Дж. Дудни працює над механістичним розумінням біологічних процесів за участю РНК.

Дженніфер Дудна є членом Національної академії наук США (з 2002), Американської академії мистецтв і наук (з 2003), Національної медичної академії (з 2010), Національної академії винахідників (з 2014) та іноземним членом престижного Лондонського королівського товариства (з 2016). Після відкриття в 2012 р. технології CRISPR Дж. Дудна стала співзасновником п'яти компаній, які займаються комерціалізацією технології: «Caribou Biosciences»

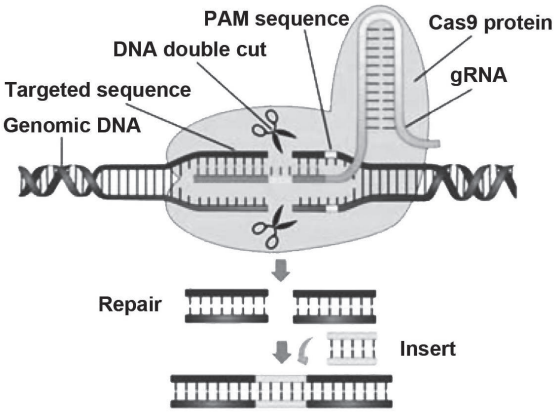
(2011), «Editas Medicinea» (2013), «Intellia Therapeutics» (2014), «Mammoth Biosciences» (2017) та «Scribe Therapeutics» (2019) [4].

Обидві дослідниці — Еммануель Шарпентьє та Дженніфер Дудна — мають неймовірну кількість наукових нагород (майже 40 кожна). Перелічимо тут лише спільні нагороди: премія доктора Поля Янссена з біомедичних досліджень (2014); премія Габбая (2014); премія за прорив у науках про життя (2015); премія принцеси Астурійської (2015); премія Грубера в галузі генетики (2015); премія Мессрі (2015); Міжнародна премія Канадського фонду Гайрднера (2016); премія Пауля Ерліха та Людвіга Дармстедтера (2016); премія Тан тайванської Академії Сініка (2016); премія програми Human Frontier Science Program (HFSP) (2016); премія Фонду BBVA «Рубежі знань» (2016); премія Л'Ореаль–ЮНЕСКО для жінок у науці (2016); премія Фонду Уоррена Альперта (2016); премія Японії (2017); премія медичного центру Олбані (2017); премія Харві (2018); премія Кавлі в галузі нанонауки (2018); почесна медаль Американського онкологічного товариства (2018); премія Вольфа з медицини (2020).

Дженніфер Дудна та Еммануель Шарпентьє за версією журналу «Foreign Policy» в 2014 р. увійшли до сотні провідних світових мислителів, за версією журналу «Time» у 2015 р. — до сотні найвпливовіших людей світу, в 2016 р. отримали звання «Людина року», а в 2018 р. увійшли до списку 50 найвидатніших жінок у галузі техніки, складеного журналом «Forbes» [4, 5].

Чому відкриття, яке зробили за 2020 р. лауреати Нобелівської премії з хімії, визнане всім світом як революційне і надзвичайно важливе? І що таке CRISPR/Cas9?

У 50–70-х роках XX ст. було вже відомо, що бактерії використовують для боротьби з вірусами спеціальні ензими — рестриктази (від лат. *restrictio* — обмеження), що розрізають вірусну ДНК і є специфічними до певної невеликої послідовності ДНК. Власну ДНК бактерії захищають від рестриктаз за допомогою метилювання нуклеотидних залишків аденіну та цитозину. З відкриттям «зшиваючих» ензимів — ДНК-лігаз стало можливим створення штучних конструкцій з ДНК живих організмів. Так виникла нова галузь науки — генна інженерія, яка дала змогу створювати генно-модифіковані організми (ГМО), рекомбінантні протеїни, індуковані стовбурові клітини тощо. Пізніше виявилося, що бактерії захищаються від вірусів не тільки за допомогою рестриктаз: у них є інший, більш специфічний механізм, який надає захист після зустрічі з певним вірусом. Цей механізм реалізує система з досить громіздкою назвою CRISPR/Cas9, або криспер. Коли ДНК вірусу проникає в бактерію, відбувається копіювання фрагменту цієї ДНК і перенесення його в спеціальне «сховище» інформації про віруси у власному геномі — CRISPR (акронім від англ. *clustered regularly interspaced short palindromic repeats* — короткі паліндромні повтори, регулярно розташовані групами). Тут зразки ДНК різних вірусів (спейсери) накопичуються між однаковими короткими повторами бактеріальної ДНК і використовуються для виготовлення CRISPR РНК — crРНК (їх також називають РНК-зондами або РНК-гідами), що специфічно розпізнають гени певних вірусів і зв'язуються з ними у разі повторного зараження. Завдяки crРНК вірусну ДНК знаходять спеціальні ензими — протеїни Cas (CRISPR-асоційовані протеїни), гени яких розміщені поруч з масивом CRISPR. Ці ен-



Механізм дії системи CRISPR/Cas9, який дає змогу використовувати її для редагування геномної ДНК (адаптовано за www.labiotech.eu)

зими, як і рестриктази, є ендонуклеазами, тобто вони здатні розрізати ДНК вірусу, знешкоджуючи її, тому їх називають «генетичними ножицями».

Розглянемо, як працює ця система, на прикладі CRISPR/Cas9. Після транскрипції масиву CRISPR утворюється довга молекула РНК, до якої приєднується невелика РНК, комплементарна повторам (tracrРНК). До tracrРНК приєднується та активується протеїн Cas9, до якого, в свою чергу, приєднується ензим РНКаза III, що розрізає довгу РНК на фрагменти — crРНК та від'єднується. Фактично в результаті розрізання довгої РНК утворюються комплекси crРНК, tracrРНК і активованого протеїну Cas9. Спейсерна частина crРНК розпізнає комплементарну ділянку вірусної ДНК, а протеїн Cas9 замикається на двох нитках ДНК і розрізає їх, спричиняючи подальшу деградацію чужорідної ДНК [6].

Для успішного розпізнавання ДНК-«мішені» та її пошкодження необхідно, щоб протеїн Cas9 розпізнав певну коротку (3–9 нуклеотидів) послідовність PAM (від англ. *protospacer adjacent motif* — мотив, що примикає до протоспейсеру), яка розрізняється в різних бактерій і розміщена поруч з розпізнаною crРНК ділянкою ДНК.

Імовірно, що розпізнавання PAM необхідне для захисту власних генів бактерії від розрізання системою CRISPR/Cas9, адже CRISPR містить 20 % спейсерів, націлених на власну ДНК [7]. Еммануель Шарпентьє та Дженніфер Дудна отримали Нобелівську премію за відкриття технології редагування геному за допомогою CRISPR/Cas9. Проте в сучасній науці вже неможливо відкрити щось одноосібно.

Історія відкриття, яке спричинило революцію в генній інженерії, тривала 25 років, і багато вчених зробили у неї свій внесок. У 1987 р. група японських дослідників на чолі з Йосідзумі Ісіно (*Yoshizumi Ishino*) разом з геном iap, який вони досліджували, випадково клонували досить великий фрагмент геному кишкової палички *Escherichia coli*, що не кодував жоден з протеїнів [8]. Це було дуже дивно, оскільки бактерії, здебільшого, не мають зайвих послідовностей. Ділянка складалася з послідовностей ДНК, що повторювалися, та варіабельних фрагментів ДНК між ними — спейсерів [9].

У 1993 р. науковці з Нідерландів під керівництвом Яна ван Ембдена (*Jan D.A. van Embden)* дослідили різноманітність перериваних прямих повторів серед різних штамів збудника туберкульозу (*Mycobacterium tuberculosis*) і розробили новий метод диференціювання штамів, який використовується й дотепер [10].

Іспанець Франсиско Хуан Мартінес Мохіка (*Francisco Juan Martнnez Myjica*) знайшов подібні ділянки в інших видів бактерій і архей та в 2000 р. запропонував об'єднати їх у родину під назвою SRSRs (від англ. *short regularly spaced repeats* — короткі регулярно розташовані повтори) [11], яку через два роки перейменували на CRISPR. Тоді саме, в 2002 р., група вчених з Нідерландів на чолі з Рууд Янсен (*Ruud Jansen*) відкрила гени протеїнів Cas, які були розташовані поруч з ділянкою CRISPR [12]. А в 2005 р. відразу три дослідницькі групи, незалежно одна від одної, з'ясували, що між повторами CRISPR часто є послідовності, ідентичні послідовностям ДНК вірусів-бактеріофагів і плазмід [13—15]. Ці результати та припущення про виконання CRISPR функції противірусного захисту не викликали тоді особливого інтересу.

Все змінила наукова стаття з журналу «Science» в 2007 р. [16]. Її авторами були вчені на чолі з Філіпом Хорватом (*Philippe Horvath*) з компанії «Danisco» (США), яка виробляє відомі йогурти «Danone» (у 2011 р. її придбала компанія «DuPont» за 6,3 млрд дол. США). Справа в тому, що під час виробництва кисломолочних продуктів є небезпека зараження молочнокислих бактерій вірусами-бактеріофагами, що може призвести до величезних збитків. Тому в компанії «Danisco» вирішили відібрати для виробництва клони молочнокислих бактерій, стійких до вірусу. А оскільки компанія використовувала CRISPR для класифікації своїх комерційних штамів, то вчені одразу помітили, що в ділянках CRISPR відібраних клонів з'являлися нові спейсери, які були тотожні ділянкам вірусного геному. Тоді дослідники штучно вставили спейсер з послідовністю ДНК вірусу в ділянку CRISPR бактерії, що одразу зробило її стійкою до вірусу.

У 2007—2008 рр. було відкрито важливі деталі механізму роботи CRISPR. Група під керівництвом Джона ван дер Ооста (*John van der Oost*), наприклад, показала, що захист CRISPR реалізується через малі РНК [17]. Лучіано Марраффіні (*Luciano A. Maraffinni*) та Ерік Сонтгеймер (*Erik J. Sontheimer*) з Північно-Західного університету в Еванстоні (США) довели, що система CRISPR спрямована на розрізання ДНК [18]. Вони першими висловили думку про можливість використання CRISPR для редагування геному в гетерологічних системах і навіть подали заявку на патент, але через недостатність експериментального підтвердження врешті-решт відмовилися від нього [19].

Згодом стало відомо, що для виконання захисної функції CRISPR необхідна взаємодія з багатьма протеїнами Cas, одні з яких зв'язуються з малими РНК, інші — розпізнають ДНК вірусу, а ще інші — розрізають її.

Проте Еммануель Шарпентьє, яка тоді працювала в Університеті Умео (Швеція), виявила різновид системи CRISPR, який для повноцінного захисту потребував лише одного дуже великого протеїну Cas — Cas9. У цей час Дженніфер Дудна з Каліфорнійського університету в Берклі досліджувала функціонування системи CRISPR зі структурної точки зору.

Е. Шарпентьє і Дж. Дудна познайомилися в 2011 р. на конференції в Пуерто-Рико. Вони зустрілися в кафе і під час прогулянки містом домовилися про співробітництво. Дж. Дудна, зацікавившись протеїном Cas9, намагалася відтворити роботу системи CRISPR/Cas9 у пробірці, але безуспішно. Того самого року Е. Шарпентьє відкрила tracrРНК, що відіграє вирішальну роль у CRISPR-опосередкованому захисті від вірусів [6]. Після додавання до пробірки tracrРНК Дж. Дудні нарешті вдалося домогтися розщеплення ДНК за допомогою системи CRISPR/Cas9.

У 2012 р. Мартін Джінек (*Martin Jinek*) з групи Дженніфер Дудни об'єднав tracrРНК і crРНК в одну єдину молекулу sgРНК (від англ. *single-guide RNA* — єдина РНК-гід) і створив вектор для клонування цієї РНК. Виявилося, що така синтетична sgРНК коректно працює в клітині в комплексі з протеїном Cas9. Тоді наукові групи Еммануель Шарпентьє та Дженніфер Дудни опублікували статтю в «Science» [20], в якій описали спосіб використання системи CRISPR/Cas9 для розрізання обраних дослідником ДНК-«мішеней» у клітині та в експериментах *in vitro* і продемонстрували можливість цього підходу.

Майже одночасно з ними подібну статтю опублікувала група литовського біохіміка Віргініюса Шикшніса (*Virginijus Siksnys*) з Інституту біотехнології Вільнюського університету [21]. Цікаво, що В. Шикшніс отримав результат раніше, але його опублікування було затримано на півроку через безпідставне відхилення статті журналом «Cell».

На початку 2013 р. групи Джорджа Черча (*George Church*) [22] і його колишнього аспіранта Фена Чжана (*Feng Zhang*) [23] з Інституту Броуд (Broad Institute of MIT and Harvard) у Кембриджі (штат Массачусетс) показали, що штучна crРНК і протеїн Cas9 повноцінно функціонують у клітинах вищих організмів. Практично водночас ефективність такого підходу було підтверджено вченими з Південної Кореї в експериментах із культурою клітин людини [24].

Після цього всі забули про проблеми бактерій в їх непростій боротьбі з вірусами. Здавалося, що наукові та громадські видання «вибухнули» публікаціями винятково на одну тему: про CRISPR/Cas9 як фантастичний інструмент для редагування геномів вищих організмів. Відкриття CRISPR/Cas9 зчинило справжній ажіотаж, адже ця технологія виявилася набагато кращою за попередні методи генної інженерії. Раніше, щоб створити ГМО, потрібно було провести дуже копітку і тривалу роботу, відкидаючи значну кількість невдалих варіантів. Технологія CRISPR/Cas9 запропонувала простий спосіб вбудовувати ген-вставку в певну послідовність ДНК і дала можливість працювати в клітинах усіх організмів від бактерій до ссавців. Систему CRISPR/Cas9 можна використовувати не лише в пробірці, як рестриктази, а й безпосередньо в живій клітині. Можна одночасно редагувати необмежену кількість генів у геномі, а також вводити компоненти системи і в окремі клітини, і в різні тканини або весь організм.

Звичайно, є інші інструменти для редагування геному, а саме: мегануклеази, генно-інженерні протеїни TALEN (на основі домену ефектору, подібного до активатора транскрипції — TALE) і нуклеази з «цинковими пальцями» ZFN (що містять домен еукаріотичного фактора транскрипції). Проте застосування цих систем для редагування геному потребує створення окремого штучного

протеїну для кожної нової ДНК-«мішені». На відміну від них, система CRISPR використовує універсальний протеїн Cas9, а змінювати необхідно лише sgРНК. Це набагато простіше і дешевше, оскільки будь-які РНК можна легко синтезувати. Ще однією перевагою системи CRISPR/Cas9 є можливість застосування її до РНК, що надає гнучкіші можливості для впливу на біохімічні процеси в клітині.

Усвідомивши беззаперечні переваги CRISPR/Cas9, вчені всього світу почали використовувати технологію для редагування геномів вірусів, бактерій, рослин і тварин. Відкрилися практично безмежні перспективи створення ГМО для боротьби з хворобами, поліпшення порід сільськогосподарських тварин і сортів рослин, створення моделей з метою вивчення генетичних захворювань людини та тварин, тестування нових методів лікування і навіть створення домашніх улюбленців. Технологія CRISPR/Cas9 здатна підвищити ефективність сільського господарства та допомогти прогодувати зростаюче населення планети, зменшивши при цьому негативний вплив людини на навколишнє середовище.

За останні чотири роки Міністерство сільського господарства США дало дозвіл на вирощування шести організмів, модифікованих за допомогою CRISPR, зокрема печериць садових (*Agaricus bisporus*), які позбавлені здатності темнішати в разі механічних ушкоджень і втрачати товарний вигляд; рижію посівного (*Camelina sativa)* — олійної культури, що містить більше омега-3 жирних кислот, а також стійкого до посухи сорту сої [25]. Дослідники планують вирощувати курей, м'ясо яких не викликає алергії в людини, відновити чисельність медоносних бджіл, які потерпають у всьому світі від хвороб та паразитів, а також застосувати CRISPR для контролю статі сільськогосподарських тварин. Проте оскільки в процесі редагування геному CRISPR може змінювати нецільові гени, висловлюється припущення, що це може вплинути на здоров'я тварин, на склад м'яса та молока. Тому поки що споживачі вимагають обережності в застосуванні нових технологій для тварин, які є джерелом продуктів харчування [26].

Можливість модифікації геномів екзотичних і маловивчених тварин спричинила хвилю масового створення нових модельних організмів. У березні 2019 р. за допомогою CRISPR створено першу генетично модифіковану рептилію — коричневого аноліса (*Anolis sagrei*) [27].

Технологія CRISPR стала цінним інструментом фундаментальних досліджень, який дає змогу «вимикати» певні гени та встановлювати їх біологічну функцію в організмі. Інактивувати ген без його пошкодження можна за допомогою CRISPR-інтерференції (CRISPRi). Під час застосування цього методу мутантний протеїн dCas9, в якого не функціонують обидва нуклеазних центри, зв'язується з ДНК-«мішенню» і заважає просуванню РНК-полімерази, що зумовлює припинення транскрипції [28]. Якщо до протеїну dCas9 «прив'язати» домен фактора транскрипції, який підвищує або знижує активність генів, можна безпосередньо впливати на функціонування генів і роботу всього організму. Регулювати активність експресії генів можна також, впливаючи на епігеномні процеси (наприклад, на метилювання ДНК чи ацетилювання гістонів). Для цього можна використати штучні протеїни, які складаються з dCas9іа каталі-

тичного домену відповідного ензиму (ДНК-метилтрансферази чи ацетилтрансферази гістонів) [29].

«Мішенню» системи CRISPR/Cas9 можуть бути також довгі некодувальні РНК (lncRNA) або енхансерні РНК (eRNA), які регулюють експресію генів і епігенетичні процеси [30]. Це дуже важливо для дослідження функцій регуляторних РНК і встановлення їхньої ролі в патогенезі захворювань, оскільки при понад 90 % захворювань, пов'язаних з одиничною нуклеотидною заміною, ця заміна відбувається в некодувальних ділянках ДНК [31].

А приєднавши до протеїну dCas9 флуоресцентний протеїн GFP, можна позначити певну ділянку в хромосомі живої клітини і спостерігати за нею під мікроскопом протягом клітинного циклу або візуально визначати довжину теломер [32].

У 2019 р. створено біосенсор CRISPRChip на основі ультрачутливого графену та системи CRISPR/Cas9, який дає можливість протягом 15 хв виявляти певні послідовності ДНК без її ампліфікації з чутливістю 1,7 fM ($1,7 \cdot 10^{-15}$ моль) [33]. Подібні біосенсори, що використовують різні типи ензиму Cas, можуть бути націлені на виявлення специфічних послідовностей в одно- або дволанцюговій ДНК і РНК збудників інфекційних захворювань. Така система, наприклад, здатна визначати кількість РНК коронавірусу, його тип (SARS-CoV або SARS-CoV-2) і навіть диференціювати окремі заміни у РНК [34].

Отже, як бачимо, можливості системи CRISPR/Cas9 не обмежуються лише розрізанням певних послідовностей ДНК. Ця система є універсальним механізмом доставки будь-яких молекул у будь-яку «точку» геному, що відкриває фантастичні можливості для медицини та фундаментальної науки.

У січні 2014 р. за допомогою системи CRISPR/Cas9 китайські вчені модифікували геном макак [35]. Після успіху з мавпами всі зрозуміли, що настала черга людини. Справді, дуже заманливо, виправивши всього одну нуклеотидну основу в ДНК, звільнити людину від важкої спадкової хвороби, наприклад гемофілії. Проте невідомо, як відреагує організм людини на втручання в геном. Тому можливість редагування генів людини порушила низку етичних проблем, особливо гострих у випадку редагування генів ембріона людини. Дженніфер Дудна та інші провідні вчені неодноразово заявляли про небезпеку бездумного використання технології CRISPR/ Cas9 і закликали до мораторію на клінічні експерименти з генетичної модифікації людини доти, доки не будуть зрозумілі наслідки і введені правила [36]. Адже простота технології та доступність у США реактивів для її реалізації дали можливість біохакерам здійснювати втручання в геном живих організмів у домашніх умовах, навіть без спеціальних навичок і обладнання.

Проте експертний консультативний комітет ВООЗ на засіданні в серпні 2019 р. оминув питання про мораторій, хоча і створив глобальний реєстр для відстеження всіх типів досліджень із редагування генів людини та запропонував консультації щодо керування такими технологіями [37].

Незважаючи на заклики до заборони експериментів з генетичної модифікації людини, 14 квітня 2015 р. у журналі «Protein&Cell» з'явилася стаття китайських генетиків під керівництвом Цзюньцзю Хуана (*Junjiu Huang*) з Університету Сунь Ятсена в Гуанчжоу, в якій описувався експеримент з вико-

ристання системи CRISPR/Cas9 для редагування геному людського ембріона [38]. Метою роботи було виправлення мутації в одному з генів гемоглобіну, яка спричинює хворобу крові — бетаталасемію. Це була перша в історії спроба генетично модифікувати людину. Проте з 86 запліднених яйцеклітин мутація була виправлена лише в 4 ембріонах (це приблизно 5 %). Крім того, в усіх клітинах ембріонів з'явилася значна кількість нових мутацій в інших генах унаслідок неспецифічної взаємодії crРНК з іншими подібними послідовностями ДНК, а також помилок ензимів репарації. Такі результати викликали небезпідставні побоювання, що систему CRISPR/Cas9 взагалі ніколи не можна буде використовувати для експериментів на людині.

Для підвищення точності CRISPR/Cas9 пропонували різні ідеї. Наприклад, було отримано Cas9-ніказу — модифікований протеїн Cas9, в якого працює лише один нуклеазний центр, тому він робить лише одноланцюгові розрізи ДНК. Використовуючи дві такі нікази з різними sgРНК, можна значно підвищити точність розрізання ДНК у потрібному місці [39].

У серпні 2017 р. опубліковано обнадійливі результати досліджень, проведених під керівництвом Шухрата Міталіпова (*Shoukhrat Mitalipov*), відомого успішними експериментами з клонування приматів і людини. Вдалося збільшити до 72,4 % вихід ембріонів з виправленою мутацією гена MYBPC3, що спричинює гіпертрофічну кардіоміопатію — спадкове захворювання серця, без появи інших мутацій [40].

У листопаді 2018 р. китайський дослідник Хе Цзянькуй (*He Jiankui*) з Південного університету науки і техніки у Шеньчжені несподівано заявив, що він створив перших у світі генетично відредагованих дітей — дівчат-близнюків Лулу та Нану, які не здатні заразитися вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ) через модифікацію гена CCR5. У 2019 р. у рамках цього проєкту народилася ще одна модифікована дитина. Ці заяви спровокували скандал і поліцейське розслідування в Китаї, а також обурення світової наукової громадськості [41]. На закритому суді Хе Цзянькуя засудили до трьох років ув'язнення та оштрафували на 3 млн юанів (430 тис. дол. США) за проведення «незаконної медичної практики». Його колеги Чжан Ренлі (*Zhang Renli*) та Цінь Цзіньчжоу (*Qin Jinzhou*) отримали відповідно 24 та 18 місяців умовно. Всі троє визнали свою провину, їм довічно заборонили брати участь у дослідженнях, пов'язаних з репродуктивною медициною [42]. До речі, Хе Цзянькуй зізнався, що спроба редагування виявилася не дуже вдалою: система редагування внесла мутацію, але не ту, на яку очікували. Що нині відбувається з модифікованими дітьми, невідомо — влада Китаю їх приховує.

У 2019 р. ще двоє вчених заявили про наміри створити немовлят з редагованими генами: Денис Ребриков з Російського національного дослідницького університету ім. М.І. Пирогова в Москві і Джанпієро Палермо (*Gianpiero D. Palermo*) з Нью-Йорка. Невідомо, наскільки ці плани близькі до втілення, але такі заяви є попередженням, що найближчим часом знайдуться й інші люди, які намагатимуться ввести в геном людини зміни, здатні успадковуватися майбутніми поколіннями [37, 43].

Вчені, які готові створювати дітей з редагованими генами, імовірно, мріють поліпшити світ, позбавити людство від небезпечних захворювань. Проте внесені мутації, позбавляючи від однієї небезпеки, можуть наражати організм на

інші через багатофункціональність більшості генів, яка в разі мутації гена призводить до зміни цілого комплексу ознак, не завжди бажаних і корисних. Тому вчені зосередилися на інших перспективних напрямах застосування технології CRISPR/Cas9, таких як редагування геному бактерій або дріжджів з метою синтезу абсолютно нових речовин, створення тваринних моделей захворювань людини, боротьба з антибіотикорезистентністю мікроорганізмів, знешкодження комах-шкідників і переносників інфекцій, вирішення проблеми нестачі донорських органів для трансплантації, захисту від небезпечних вірусів, лікування онкологічних захворювань тощо. Експериментально підтверджено, що систему CRISPR/Cas9 можна успішно застосовувати для руйнування генів ензимів, що забезпечують стійкість бактерій до дії антибіотиків [44]. Навіть отримано бактеріофаги, що вибірково знешкоджують бактерії, стійкі до антибіотиків [45]. Біотехнологічна компанія «Oxitec» (Велика Британія) використовує CRISPR/Cas9 для створення генно-модифікованих комах, які після спарювання зі своїми дикими родичами спричиняють загибель частини їхніх нащадків.

У жовтні 2019 р. у м. Індаятуба (Бразилія) успішно проведено випробування модифікованих комарів, створених для боротьби з лихоманкою денге та іншими захворюваннями, а також модифікованих діамантових молей, які є шкідниками різних видів капусти [46].

У серпні 2017 р. група вчених під керівництвом Джорджа Черча з Гарвардського університету оприлюднила приголомшливі результати досліджень з клонування генно-модифікованих за допомогою CRISPR/Cas9 свиней, в яких повністю інактивовано віруси PERV. Інактивація цих вірусів відкриває можливості використання для трансплантації людям органів свиней, які мають штучно створені ідентичні певній людині трансплантаційні антигени [47]. Дослідники з Університету Алабами (США) використали редагування генів та клонування для створення свиней без специфічних вуглеводів на поверхні їхніх органів. Бабуїни, яким було пересаджено серця та нирки від цих свиней, прожили більше року [48]. Поєднавши технологію CRISPR/Cas9 та антиретровірусну терапію тривалої дії, в липні 2019 р. було повністю видалено ВІЛ з Т-клітин 30 % трансгенних «гуманізованих» мишей, яких попередньо інфікували ВІЛ.

Після випробування цієї методики на мавпах у 2020 р. заплановано перші випробування за участю людей [49]. Система CRISPR/Cas9 є також цінним інструментом для створення вірусів з певними властивостями, наприклад ослаблених вірусів для вакцин або онколітичних вірусів [50]. За допомогою цієї системи можна вдосконалити імунотерапевтичні підходи до лікування раку, зокрема створити генно-модифіковані Т-клітини з химерними антигенними рецепторами (CAR-T), до складу яких входить scFv-антитіло проти певного антигена ракових клітин. Так, у 2017 р. FDA схвалило препарат Kymriah (Tisagenlecleucel) виробництва «Novartis» (Швейцарія), який успішно лікує В-клітинну лімфому за допомогою Т-клітин з химерними рецепторами проти антигена CD19 [51]. Нині досліджуються та проходять клінічні випробування понад 300 різних варіантів терапії CAR-T. Поза тим, технологія CRISPR/ Cas9 відкриває реальні можливості усунення мутацій, що спричинюють онкологічні захворювання [52].

Найпростішим варіантом для застосування CRISPR/Cas9 у практичній медицині для лікування спадкових захворювань, зумовлених одиничною мутацією в певному гені, є захворювання крові, для яких технології клітинної те-

рапії вже добре відпрацьовано. Наприкінці 2019 р. група вчених з Каліфорнійського університету в Берклі повідомила про успішне використання CRISPR/Cas9 для виправлення генетичної мутації в стовбурових клітинах пацієнтів із серпоподібноклітинною анемією [53].

Недивно, що біотехнологічні компанії вкладають все більше і більше коштів у розроблення технології CRISPR/Cas9 і реалізацію ідей щодо її медичного застосування. Вчені, які зробили найбільший внесок у винахід технології CRISPR/Cas9, стали співзасновниками перших семи компаній, що розвивають застосування цієї технології в медичній практиці. Еммануель Шарпентьє є співзасновником двох компаній: «CRISPR Therapeutics» та «ERS Genomics». Дженніфер Дудна є співзасновником п'яти компаній: «Caribou Biosciences» (розробляє терапевтичні модифіковані клітини та бактерії кишечника), «Editas Medicine» (препарати і модифіковані клітини для терапії), «Intellia Therapeutics» (підходи до терапії раку, генетичних і аутоімунних захворювань), «Mammoth Biosciences» (діагностичні тест-системи з використанням нових протеїнів Cas12-14), «Scribe Therapeutics» (підходи до терапії нейродегенеративних захворювань, зокрема з використанням протеїну CasX).

Дженніфер Дудна була змушена розірвати відносини з компанією «Editas Medicine», оскільки її партнер Фен Чжан несподівано оформив на себе та свій інститут патент на застосування технології CRISPR/Cas9 у клітинах еукаріотів (у тому числі людей). Кілька років тривала судова тяганина за пріоритет, яка коштувала десятки мільйонів доларів, врешті було прийнято рішення на користь команди Дудна–Шарпентьє [54].

Фармацевтичні фірми вже вклали у наведені стартап-компанії понад 300 млн дол. США. У разі отримання обнадійливих результатів інвестиції зростуть, а застосування в медичній практиці обіцяє мільярдні прибутки.

Тривалий час FDA не дозволяло проведення за федеральні кошти клінічних випробувань системи CRISPR/Cas9. Проте на початку 2019 р. нарешті було офіційно схвалено проведення першого клінічного випробування системи CRISPR/Cas9 на людях за межами Китаю, де подібні випробування проводять протягом двох останніх років. У 2020 р. фармацевтичні компанії «CRISPR Therapeutics» і «Vertex» розпочали випробування терапії CTX001, призначеної для лікування бета-таласемії та серпоподібної анемії, зумовлених мутацією в одному гені. Ця терапія передбачає модифікацію стовбурових клітин пацієнта внесенням єдиної генетичної зміни, що сприятиме підвищення рівня гемоглобіну в еритроцитах плоду [55].

У США зараз проводять понад 20 клінічних випробувань терапевтичних препаратів на основі CRISPR для низки захворювань, зокрема рідкісних моногенних гематологічних та очних, а також полігенних онкологічних захворювань [56]. Серед спадкових хвороб, зумовлених точковою мутацією, увагу вчених привертають передусім такі захворювання, як вроджений амавроз Лебера 10 (ураження сітківки ока), синдром Ушера (глухота з поступовою втратою зору), м'язова дистрофія Дюшена, муковісцидоз (кістозний фіброз, що вражає дихальну та травну системи), дефіцит транстиретину (враження периферичної нервової системи), амілоїдоз альфа-1 та первинна гіпероксалурія I типу (враження нирок).

Проте висока вартість препаратів на основі CRISPR може стати перешкодою для їх широкого використання: ні державні бюджети, ні страхові компанії не готові до таких витрат. Крім того, поки що CRISPR/Cas9 має низку недоліків, головними з яких є велика кількість помилок редагування, неефективність редагування ДНК поза межами клітини і значний розмір ензиму Cas9, що ускладнює його доставку в клітину та зумовлює сильні імуногенні властивості. Водночас немає жодних сумнівів, що технологія CRISPR/Cas9 є революційною і на неї чекає велике майбутнє.

З відкриттям CRISPR/ Cas9 з'явилося безліч можливостей для вирішення наболілих проблем людства, з якими наука досі не могла впоратися. Однак, щоб повністю реалізувати всі ці можливості, необхідно зробити технологію безпечною: виключити всі побічні ефекти, а також вдосконалити системи доставки компонентів CRISPR/Cas9 до клітин. Коли це буде зроблено, ідея застосування CRISPR/Cas9 до ембріонів людини для позбавлення від тяжких захворювань, імовірно, вже не буде видаватися такою сумнівною.

До речі, Дженніфер Дудна вважає, що редагування геному людського зародка не можна забороняти повністю. Цю технологію слід детально дослідити і вдосконалити, а її клінічне використання потрібно обмежити випадками серйозних генетичних захворювань, коли інших варіантів лікування немає. Втім такі випадки є рідкісними, адже значно простіше позбавитися генетичних дефектів не за допомогою редагування геному, а завдяки скринінгу та відбору ембріонів після запліднення у пробірці. На думку Дж. Дудни, перспективнішим напрямом розвитку технології CRISPR/Cas9 є її використання для регулювання експресії протеїнів і контролю функціонування клітин.

Також є багато інших можливостей для застосування CRISPR/Cas9. У найближчому майбутньому лабораторія Дж. Дудни планує досліджувати функціонування системи CRISPR у різних мікроорганізмів, а також можливості редагування геному в природних мікробних спільнотах і маніпулювання певними мікробами. Одна з її компаній — «Mammoth Biosciences», що займається розробленням діагностичних тестів на основі CRISPR/Cas9, у листопаді 2020 р. планує провести випробування тесту для діагностики COVID-19 [57].

Нині суспільство переживає сплеск захоплення технологією CRISPR/Cas9. Протягом останніх восьми років опубліковано близько 17 тис. наукових статей на цю тему, виділено мільйони доларів США на дослідження, а кількість стартап-компаній невпинно зростає. Не дивно, що авторитетний науковий журнал «Science» випустив огляд досягнень у цій галузі під назвою «The CRISPR Craze» *(«Криспер-божевілля»)* [58]. Очікується, що у світі до 2025 р. на розвиток технології CRISPR/Cas9 та редагування геномів за її допомогою буде витрачено понад 5,3 млрд дол. США [59].

Головною заслугою Дженніфер Дудни та Еммануель Шарпентьє є те, що відкрита ними технологія редагування геному CRISPR/Cas9 стала початком нової ери в історії генної інженерії та стимулювала її подальший розвиток. Адже прогрес не стоїть на місці: вчені намагаються вдосконалити технологію CRISPR/ Cas9, поєднати її з іншими методами та безперервно шукають нові способи редагування геному.

Одним з напрямів вдосконалення технології став пошук інших протеїнів Cas, які можуть виявитися ефективнішими. Так, відкрито протеїни ScCas9 [60], CasX і CasY [61], Cas12a (Cpf1) [62], Cas13 (a, b, c, d) [63–65], Cas14(a, b, c) [66], які мають унікальні властивості та здатні зробити редагування геному на основі CRISPR ефективнішим і безпечнішим. Ці зусилля привели до розроблення трьох нових методів редагування геному, в яких використовують такі інструменти, як транспозази/рекомбінази, редактори основ та праймредактори [67]. Транспозази — це ензими, здатні зв'язувати одноланцюгову ДНК і вбудовувати її в геномну ДНК. Рекомбінази — ензими, що беруть участь у процесах гомологічної рекомбінації — обміну генетичним матеріалом між двома молекулами ДНК, що мають гомологічні нуклеотидні послідовності та містять певні специфічні сайти. Завдяки відкриттю в деяких організмів транспозаз, асоційованих з CRISPR, а також внаслідок злиття транспозаз і рекомбіназ з протеїнами Cas та проведення їх штучної еволюції ці ензими можна використовувати для редагування геномів. Так, нещодавно група під керівництвом Фена Чжана відкрила нову техніку редагування генів, яка дає змогу вставляти гени в ДНК без її розрізання за допомогою CRISPR-асоційованої транспозази з ціанобактерій *Scytonema hofmanni* (ShCAST), що складається з Tn7-подібних субодиниць транспозази та ензиму Cas12k [68].

Дослідники з Гарвардського університету під керівництвом Девіда Лю (*David R. Liu*) запропонували новий метод редагування геному — редагування основ (*base editing*), що дає можливість змінювати нуклеотидну послідовність ДНК живих клітин хімічним перетворенням однієї основи на іншу, не здійснюючи дволанцюгових розрізів ДНК, які через некоректну репарацію призводять до помилок редагування. Метод ґрунтується на поєднанні системи CRISPR і злитих протеїнів, що складаються з Cas9-нікази (Cas9, що розрізає лише один ланцюг ДНК) та ензиму, який модифікує певну нуклеотидну основу. Використовують ензим цитидиндезаміназу, що забезпечує в 15—75 % ДНК клітини пряме перетворення цитозину на урацил у складі відповідних нуклеозидів, здійснюючи тим самим заміщення цитозину на тимін (або гуаніну на аденін) [69], а також так звані редактори основи аденіну (ABE) — ензими, отримані внаслідок штучної еволюції на основі аденозиндезамінази тРНК, що забезпечують у 50 % ДНК клітини зворотне перетворення тиміну на цитозин (або аденіну на гуанін) [70]. Аналогічний підхід можна використовувати і для редагування РНК.

У 2019 р. неабияку зацікавленість (понад 400 наукових публікацій) викликав метод, розроблений ще у 2012 р. німецькими вченими Торстеном Стаффорстом (*Thorsten Stafforst*) і Маріусом Шнайдером (*Marius F. Schneider*) із Тюбінгенського університету [71], який тоді залишився без уваги, оскільки був затьмарений сенсаційним відкриттям CRISPR/Cas9. Цей метод дає змогу змінювати протеїни редагуванням РНК, що вирішує проблему ризиків, пов'язаних із внесенням постійних змін у ДНК людини та ймовірністю обтяження її помилками редагування. Зміни у мРНК вносять за допомогою аденозинових дезаміназ ADAR (adenosine deaminases acting on RNA), які знаходяться в комплексі з РНК-гідами (adRNAs — ADAR guide RNAs) і здатні в утвореній дволанцюговій РНК замінювати аденозин на інозин, який під час синтезу протеїну зчитується як гуанозин. Важливою перевагою використання людських ензимів ADAR порівняно з протеїном Cas9, що має бактеріальне походжен-

ня, є відсутність небажаних реакцій з боку імунної системи. На сьогодні вже відомі інші засоби редагування РНК: цитидинові дезамінази APOBEC і певні ензими винограду змінюють у складі нуклеозидів цитозин на урацил, а деякі ензими пухлин можуть змінювати гуанін на аденін тощо.

Незважаючи на обмеженість способів зміни послідовності РНК та проблеми з доставкою РНК до клітин, кілька стартап-компаній вже почали використовувати системи редагування РНК для розроблення засобів лікування раку, м'язової дистрофії та інших захворювань (не лише генетичних), а також для корекції різних патологічних станів, таких як гострий біль або високий рівень холестерину [72]. Згадана вище група вчених під керівництвом Девіда Лю створила новий універсальний метод редагування геному — праймувальне редагування (*priming editing*), яке також не потребує дволанцюгових розрізів ДНК, але дає змогу здійснювати будь-які перетворення, зокрема вставки та делеції фрагментів ДНК, з високою точністю (частота помилок 10 %) і більшою ефективністю (20–50 %) порівняно з класичною системою CRISPR/Cas9 (3—20 %). Метод ґрунтується на поєднанні CRISPR, злитого протеїну, що складається з Cas9-нікази та ензиму зворотної транскриптази, здатної на основі РНК будувати ДНК. При цьому замість gРНК використовують pegРНК, яка не лише спрямовує злитий протеїн до потрібного сайта в геномі, а й містить праймер — послідовність, необхідну для самостійної добудови ензимом ланцюга ДНК (в системі CRISPR/Cas9 ДНК добудовують ензими репарації, часто роблячи помилки). На прикладі серпоподібноклітинної анемії, хвороби Тея–Сакса (рання дитяча амавротична ідіотія) та пріонової інфекції було продемонстровано можливості праймувального редагування: дослідники внесли в геном клітин людини мутації, що зумовлюють ці захворювання, а потім їх виправили. Проаналізувавши базу даних шкідливих мутацій людини, які спричинюють виникнення різних захворювань, вони дійшли висновку, що за допомогою праймувального редагування можна виправити 89 % цих мутацій [73]. Метод викликав шалений інтерес не тільки в наукових колах, а його першовідкривач Девід Лю став співзасновником кількох компаній — «Editas Medicine», «Beam Therapeutics» та «Prime Medicine», що займаються розробленням терапевтичних засобів на основі праймувального редагування.

Можливо, що мікроорганізми, які подарували CRISPR/Cas9, приховують ще багато маловивчених і зовсім невідомих молекулярних механізмів, які людство може використати у власних цілях, зокрема для редагування геномів. Так, нещодавно було з'ясовано біологічну функцію відкритих ще у 1980-х роках ретронів — природних елементів ДНК бактерій, що кодують зворотну транскриптазу, яка на основі РНК-шаблону синтезує багато копій одноланцюгового продукту ДНК з утворенням комплексів ДНК—РНК—ензим. Виявилося, що ретрони, як і CRISPR, виконують функцію противірусного захисту бактерій і в разі інактивації бактеріофагами інших систем захисту активують протеїн, що пошкоджує клітинну мембрану інфікованої бактерії та призводить до її загибелі до того, як фаги встигнуть розмножитися й поширитися [74]. Оскільки ретрони здатні перетворювати будь-яку бажану РНК-послідовність на ДНК, навіть у клітинах дріжджів і ссавців, вчені зі Стенфордського університету на чолі з Хантером Фрейзером (*Hunter Fraser*), поєднавши ретрони і CRISPR/Cas9, розробили новий метод редагування геному — CRISPEY (від англ. Cas9

Retron precISe Parallel Editing via homology — точне паралельне редагування Cas9 за допомогою гомології). Цей метод продемонстрував високу ефективність (92 %), пропускну здатність та точність (4,6 % помилок) і дав змогу отримати десятки тисяч клонів дріжджів-мутантів, кожен з яких відрізнявся лише однією основою в нуклеїновій послідовності гена [75].

Імовірно, що Нобелівська премія з хімії за 2020 р. — не остання в галузі редагування геному, темпи розвитку якої просто вражають. Незважаючи на те, що наявні сьогодні системи редагування мають певні недоліки та обмеження, а способи їх доставки в клітини потребують вдосконалення, зрозуміло, що в найближчому майбутньому технології редагування геномів досягнуть більшої ефективності та безпечності, а втручання в геном людини може стати буденною справою. Повірити в це змушує висловлювання Девіда Лю: «*Якщо CRISPR схожий на ножиці, редактори основ нагадують олівець, то прайм-редактори — це текстовий процесор, придатний для точного пошуку та заміни. Всі інструменти редагування геному відіграватимуть власні ролі... Це лише початок, а не кінець*» [76].

PROSPECTS OF GENOME EDITING USING CRISPR/CAS/ OR HOW TO MASTER GENETIC SCISSORS?

The Nobel prize in chemistry, 2020

S.V. Komisarenko, S.I. Romaniuk

The Nobel Prize in Chemistry 2020 was awarded to two researchers in the field of molecular biology — the French Emmanuelle Charpentier, who now heads the Max Planck Unit for the Science of Pathogens in Berlin, and the American Jennifer Doudna from the University of California, Berkeley — for the «development of genome editing method». A press release of the Nobel Committee states that the winners discovered one of the most powerful genetic technology tools — CRISPR/Cas9, or so-called «genetic scissors». This method has contributed to many important results of basic research. In particular, plant researchers have managed to create crops resistant to mold, pests and drought. As for medicine, clinical trials of new cancer treatment techniques are underway, and a dream of curing hereditary diseases is about to become a reality. Genetic scissors have brought the life sciences to a new stage of development and greatly contributed to the benefit of mankind.

Keywords: *Nobel Prize in Chemistry, Emmanuelle Charpentier, Jennifer Doudna, genome editing, CRISPR/Cas9.*

REFERENCES

1. Chemistry. Citation Laureates 2020. https://clarivate.com/webofsciencegroup/citation-laureates/chemistry/

2. Press release: The Nobel Prize in Chemistry 2020. https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2020/press-release/

3. Komisarenko S.V., Romanyuk S.I. Genome editing, or CRISPR/Cas9 — a panacea for many incurable diseases or the first step to a gene apocalypse? *Вісник НАН України*. 2020. Vol. 3. P. 50—77.

4. Jennifer Doudna. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Jennifer_Doudna.

5. Emmanuelle Charpentier. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Emmanuelle_Charpentier.

6. Deltcheva E., Chylinski K., Sharma C.M. et al. CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III. *Nature*. 2011. Vol. 471, N 7340. P. 602—607.

7. Westra E.R., Semenova E., Datsenko K.A. et al. Type I-E CRISPR-cas systems discriminate target from non-target DNA through base pairing-independent PAM recognition. *PLoS Genet*. 2013. Vol. 9, N 9. P. e1003742.

8. Ishino Y., Shinagawa H., Makino K. et al. Nucleotide sequence of the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *Journal of Bacteriology*. 1987. Vol. 169, N 12. P. 5429—5433.

9. Nakata A., Amemura M., Makino K. Unusual nucleotide arrangement with repeated sequences in the *Escherichia coli* K-12 chromosome. *Journal of Bacteriology*. 1989. Vol. 171, N 6. P. 3553—3556.

10. Groenen P.M., Bunschoten A.E., van Soolingen D., van Embden J.D. Nature of DNA polymorphism in the direct repeat cluster of Mycobacterium tuberculosis; application for strain differentiation by a novel typing method. *Molecular Microbiology*. 1993. Vol. 10, N 5. P. 1057—1065.

11. Mojica F.J., Díez-Villasecor C., Soria E., Juez G. Biological significance of a family of regularly spaced repeats in the genomes of archaea, bacteria and mitochondria. *Molecular Microbiology*. 2000. Vol. 36, N 1. P. 244—246.

12. Jansen R., Embden J.D., Gaastra W., Schouls L.M. Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. *Molecular Microbiology*. 2002 Vol. 43, N 6. P. 1565—1575.

13. Mojica F.J., Díez-Villasecor C., Garcнa-Martínez J., Soria E. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *Journal of Molecular Evolution*. 2005 Vol. 60, N 2. P. 174—182.

14. Pourcel C., Salvignol G., Vergnaud G. CRISPR elements in Yersinia pestis acquire new repeats by preferential uptake of bacteriophage DNA, and provide additional tools for evolutionary studies. *Microbiology*. 2005. Vol. 151, N 3. P. 653—663.

15. Bolotin A., Quinquis B., Sorokin A., Ehrlich S.D. Clustered regularly interspaced short palindrome repeats (CRISPRs) have spacers of extrachromosomal origin. *Microbiology*. 2005. Vol. 151, N 8. P. 2551—2561.

16. Barrangou R., Fremaux C., Deveau H. et al. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*. 2007. Vol. 315, N 5819. P. 1709—1712.

17. Brouns S.J., Jore M.M., Lundgren M. et al. Small CRISPR RNAs guide antiviral defense in prokaryotes. *Science*. 2008. Vol. 321, N 5891. P. 960—964.

18. Marraffini L.A., Sontheimer E.J. CRISPR interference limits horizontal gene transfer in staphylococci by targeting DNA. *Science*. 2008. Vol. 322, N 5909. P. 1843—1845.

19. Sontheimer E., Marraffini L. Target DNA interference with crRNA. U.S. Provisional Patent Application 61/009, 317, filed September 23, 2008; later published as US2010/0076057 (abandoned).

20. Jinek M., Chylinski K., Fonfara I. et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. 2012. Vol. 337, N 6096. P. 816—821.

21. Gasiunas G., Barrangou R., Horvath P., Siksnys V. Cas9-crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria. *PNAS*. 2012. Vol. 109, N 39. E2579—E2586.

22. Mali P., Yang L., Esvelt K.M. et al. RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science*. 2013. Vol. 339, N 6121. P. 823—826.

23. Cong L., Ran F.A., Cox D. et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*. 2013. Vol. 339, N 6121. P. 819—823.

24. Cho S.W., Kim S., Kim J.M., Kim J.S. Targeted genome engineering in human cells with the Cas9 RNA-guided endonuclease. *Nature Biotechnology*. 2013. Vol. 31, N 3. P. 230—232.

25. Brown K.V. Why CRISPR-edited food may be in supermarkets sooner than you think. https://gizmodo.com/whycrispr-edited-food-may-be-in-supermarkets-sooner-th-1822025033.

26. Lee J., Wang F. Gene-edited baby by Chinese scientist: the opener of the Pandora's box. *Science Insigts*. 2018. Vol. 2018. P. e000178.

27. Reardon S. CRISPR gene-editing creates wave of exotic model organisms. *Nature*. 2019. Vol. 568, N 7753. P. 441—442.

28. Qi L.S., Larson M.H., Gilbert L.A. et al. Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression. *Cell*. 2013. Vol. 152, N 5. P. 1173—1183.

29. Kungulovski G., Jeltsch A. Epigenome editing: state of the art, concepts, and perspectives. *Trends Genet.* 2016. Vol. 32, N 2. P. 101—113.

30. Pefanis E., Wang J.G., Rothschild G. et al. RNA exosome-regulated long non-coding RNA transcription controls super-enhancer activity. *Cell.* 2015. Vol. 161, N 4. P. 774—789.

31. Elling R., Chan J., Fitzgerald K.A. Emerging role of long noncoding RNAs as regulators of innate immune cell development and inflammatory gene expression. *European Journal of Immunology.* 2016. Vol. 46, N 3. P. 504—512.

32. Chen B., Gilbert L.A., Cimini B.A. et al. Dynamic imaging of genomic loci in living human cells by an optimized CRISPR/Cas system. *Cell.* 2013. Vol. 155, N 7. P. 1479—1491.

33. Hajian R., Balderston S., Tran T. et al. Detection of unamplified target genes via CRISPR-Cas9 immobilized on a graphene field-effect transistor. *Nature Biomedical Engineering.* 2019. Vol. 3, N 6. P. 427—437.

34. CRISPR's future for point-of-care diagnostics. https://www.diagnosticsworldnews.com/news/2020/02/18/crispr%27s-future-for-point-of-care-diagnostics.

35. Niu Y., Shen B., Cui Y. et al. Generation of gene-modified cynomolgus monkey via Cas9/RNA-mediated gene targeting in one-cell embryos. *Cell.* 2014. Vol. 156, N 4. P. 836—843.

36. Baltimore D., Berg P., Botchan M. et al. Biotechnology. A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. *Science.* 2015. Vol. 348, N 6230. P. 36—38.

37. Collins F.S. NIH Director on Human Gene Editing: «We Must Never Allow our Technology to Eclipse our Humanity». https://www.discovermagazine.com/health/nih-director-on-human-gene-editing-we-must-never-allow-ourtechnology-to.

38. Liang P., Xu Y., Zhang X. et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein Cell.* 2015. Vol. 6, N 5. P. 363—372.

39. Ran F.A., Hsu P.D., Lin C.Y. et al. Double nicking by RNA-guided CRISPR Cas9 for enhanced genome editing specificity. *Cell.* 2013. Vol. 154, N 6. P. 1380—1389.

40. Ma H., Marti-Gutierrez N., Park S.W. et al. Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. *Nature.* 2017. Vol. 548, N 7668. P. 413—419.

41. Second woman carrying gene-edited baby, Chinese authorities confirm. https://www.theguardian.com/science/2019/jan/22/second-woman-carrying-gene-edited-baby-chinese-authorities-confirm.

42. CRISPR scientist gets three years of jail time for creating gene-edited babies. https://gizmodo.com/crispr-scientistgets-three-years-of-jail-time-for-crea-1840724277.

43. Act now on CRISPR babies. *Nature.* 2019. Vol. 570, N 7760. P. 137.

44. Citorik R.J., Mimee M., Lu T. Sequence-specific antimicrobials using efficiently delivered RNA-guided nucleases. *Nature Biotechnology.* 2014. Vol. 32, N 11. P. 1141—1145.

45. Yosef I., Manor M., Kiro R., Qimron U. Temperate and lytic bacteriophages programmed to sensitize and kill antibiotic-resistant bacteria. *PNAS.* 2015. Vol. 112, N 23. P. 7267—7272.

46. Stokstad E. Genetically engineered moths can knock down crop pests, but will they take off? https://www.sciencemag.org/news/2020/01/genetically-engineered-moths-can-knock-down-crop-pests-will-they-take.

47. Niu D., Wei H.J., Lin L. et al. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. *Science.* 2017. Vol. 357, N 6357. P. 1303—1307.

48. Gene editing spurs hope for transplanting pig organs into humans. https://www.nytimes.com/2017/08/10/health/gene-editing-pigs-organ-transplants.html.

49. Dash P.K., Kaminski R., Bella R. et al. Sequential LASER ART and CRISPR treatments eliminate HIV-1 in a subset of infected humanized mice. *Nature Communications.* 2019. Vol. 10, N 1. P. 2753.

50. Yuan M., Webb E., Lemoine N.R., Wang Y. CRISPR-Cas9 as a powerful tool for efficient creation of oncolytic viruses. *Viruses.* 2016. Vol. 3. P. E72.

51. Miller J.F., Sadelain M. The journey from discoveries in fundamental immunology to cancer immunotherapy. *Cancer Cell.* 2015. Vol. 27, N 4. P. 439—449.

52. White M.K., Khalili K. CRISPR/Cas9 and cancer targets: future possibilities and present challenges. *Oncotarget.* 2016. Vol. 7, N 11. P. 12305—12317.

53. DeWitt M.A., Magis W., Bray N.L. et al. Selection-free genome editing of the sickle mutation in human adult hematopoietic stem/progenitor cells. *Sciences Translational Medicine.* 2016. Vol. 8, N 360. 360ra134.

54. Sanders R. UC rings out 2019 with its 20th CRISPR patent. https://news.berkeley.edu/2019/12/31/uc-rings-out-2019-with-its-20th-crispr-patent/

55. Haridy R. First CRISPR therapy administered in landmark human trial. https://newatlas.com/crispr-trial-underway-vertex-gene-therapy/58643/

56. The Future of CRISPR. http://www.fwreports.com/dossier/the-future-of-crispr/#.XmgLkFR2Uk.

57. Mullin E. Fresh off her Nobel Prize win, Jennifer Doudna predicts what's next for CRISPR. https://futurehuman.medium.com/fresh-off-her-nobel-prize-win-jennifer-doudna-predicts-whats-next-for-crispr-1fea0225c41d.

58. Pennisi E. The CRISPR craze. *Science*. 2013. Vol. 341, N 6148. P. 833—836.

59. Gene editing like CRISPR is too important to be left to scientists alone. https://www.theguardian.com/commentisfree/2019/oct/22/gene-editing-crispr-scientists.

60. Chatterjee P., Jakimo N., Jacobson J.M. Minimal PAM specificity of a highly similar SpCas9 ortholog. *Science Advances*. 2018. Vol. 4, N 10. P. eaau0766.

61. Burstein D., Harrington L.B., Strutt S.C. et al. New CRISPR-Cas systems from uncultivated microbes. *Nature*. 2017. Vol. 542, N 7640. P. 237—241.

62. Zetsche B., Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O. et al. Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a class 2 CRISPR-Cas system. *Cell*. 2015. Vol. 163, N 3. P. 759—771.

63. Abudayyeh O.O., Gootenberg J.S., Konermann S. et al. C2c2 is a single-component programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR effector. *Science*. 2016. Vol. 353, N 6299. P. aaf5573.

64. Smargon A.A., Cox D.B., Pyzocha N.K. et al. Cas13b is a type VI-B CRISPR-associated RNAguided RNase differentially regulated by accessory proteins Csx27 and Csx28. *Molecular Cell*. 2017. Vol. 65, N 4. P. 618—630.e7.

65. Yan W.X., Chong S., Zhang H. et al. Cas13d is a compact RNAtargeting type VI CRISPR effector positively modulated by a WYL-domain-containing accessory protein. *Molecular Cell*. 2018. Vol. 70, N 2. P. 327—339.

66. Harrington L.B., Burstein D., Chen J.S. et al. Programmed DNA Destruction by Miniature CRISPR-Cas14 Enzymes. *Science*. 2018. Vol. 362, N 6416. P. 839—842.

67. Anzalone A.V., Koblan L.W., Liu D.R. Genome editing with CRISPR-Cas nucleases, base editors, transposases and prime editors. *Nature Biotechnology*. 2020. Vol. 38, N 7. P. 824—844.

68. Strecker J., Ladha A., Gardner Z. et al. RNA-guided DNA insertion with CRISPR-associated transposases. *Science*. 2019. Vol. 365, N 6448. P. 48—53.

69. Komor A.C., Kim Y.B., Packer M.S. et al. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature*. 2016. Vol. 533, N 7603. P. 420—424.

70. Gaudelli N.M., Komor A.C., Rees H.A. et al. Programmable base editing of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature*. 2017. Vol. 551, N 7681. P. 464—471.

71. Stafforst T., Schneider M.F. An RNA-deaminase conjugate selectively repairs point mutations. *Angewandte Chemie International edition in English*. 2012. Vol. 51, N 44. P. 11166—11169.

72. Reardon S. Step aside CRISPR, RNA editing is taking off. *Nature*. 2020. Vol. 578, N 7793. P. 24—27.

73. Anzalone A.V., Randolph P.B., Davis J.R. et al. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature*. 2019. Vol. 576, N 7785. P. 149—157.

74. Pennis E. Microbes' mystery DNA helps defeat viruses — and has genome-editing potential. https://www.sciencemag.org/news/2020/11/microbes-mystery-dna-helps-defeat-viruses-and-has-genome-editing-potential.

75. Sharon E., Chen S.A., Khosla N.M. et al. Functional genetic variants revealed by massively parallel precise genome editing. *Cell*. 2018. Vol. 175, N 2. P. 544—557.e16.

76. Fan S. Everything You Need to Know About Superstar CRISPR Prime Editing. https://singularityhub.com/2019/11/05/everything-you-need-to-know-about-superstar-crispr-prime-editing/

ТАЄМНИЦІ ГЕНОМІВ ВИМЕРЛИХ ГОМІНІДІВ, АБО ЧИ МОЖЕ ПАЛЕОГЕНОМІКА ДАТИ ВІДПОВІДЬ НА ПИТАННЯ: ХТО МИ, ЛЮДИ, Є ТАКІ?

Нобелівська премія з фізіології або медицини, 2022

С.В. Комісаренко, С.І. Романюк

Нобелівську премію з фізіології або медицини в 2022 р. присуджено шведському досліднику-палеогенетику, фахівцю в галузі еволюційної генетики, директору відділу генетики Інституту еволюційної антропології імені Макса Планка в Лейпцигу (Німеччина) професору Сванте Пеебо (Svante Pääbo) «за відкриття, що стосуються геномів вимерлих гомінідів і еволюції людини». Пояснюючи значення робіт С. Пеебо, Нобелівський комітет зазначив, що «...він розробив методи аналізу та відновлення прадавньої ДНК. У давніх кістках ДНК розкладається, зазнає хімічного пошкодження, а також сильно забруднюється від контакту з бактеріями та людьми, які працюють зі зразками. Використовуючи наявні технології в міру їх розвитку, С. Пеебо створив власні методи для уточнення аналізу прадавньої ДНК».

Ключові слова: *Нобелівська премія з фізіології або медицини 2022 р., Сванте Пеебо, еволюція людини, геном, гомініди.*

3 жовтня 2022 р. у Стокгольмі розпочався 121-й нобелівський тиждень. Нобелівський комітет при Каролінському медичному інституті традиційно першими оголосив імена лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини. Напередодні компанія «Clarivate Analytics» — «спадкоємиця» заснованого в 1956 р. Інституту наукової інформації (Institute for Scientific Information), за аналізом кількості цитувань визначила імена вчених, які можуть бути найімовірнішими претендентами на Нобелівську премію з фізіології або медицини, 2022 р. [1]. Насамперед це Масато Хасегава (*Masato Hasegawa*) — керівник відділу мозку та нейронаук Токійського столичного інституту медичних наук (Японія) та Вірджинія Ман-Йі Лі (*Virginia Man-Yee Lee*) — директор Центру дослідження нейродегенеративних захворювань відділу патології та лабораторної медицини Університету Пенсильванії (США), які зробили значний внесок у вивчення нейродегенеративних захворювань, зокрема ідентифікували протеїн TDP-43, неправильно згорнутий варіант якого утворює агрегати в нейронах у процесі розвитку таких тяжких захворювань мозку, як боковий аміотрофічний склероз, лобно-скронева деменція і хвороба Альцгеймера. По-друге, ймовірним кандидатом на премію назвали американську дослідницю Мері-Клер Кінг (*Mary-Claire King*) — професора медицини та геномних наук Медичної школи Університету Вашингтона (США) за виявлення ролі мутацій гена BRCA1, який відповідає за репарацію ДНК у розвитку раку молочної залози і раку яєчників, та демонстрацію спадкової схильності до цих захворювань. По-третє, Нобелівську премію міг би отримати Стюарт Оркін (*Stuart H. Orkin*) — почесний професор педіатрії Гарвардської медичної школи і дослідник Медичного інс-

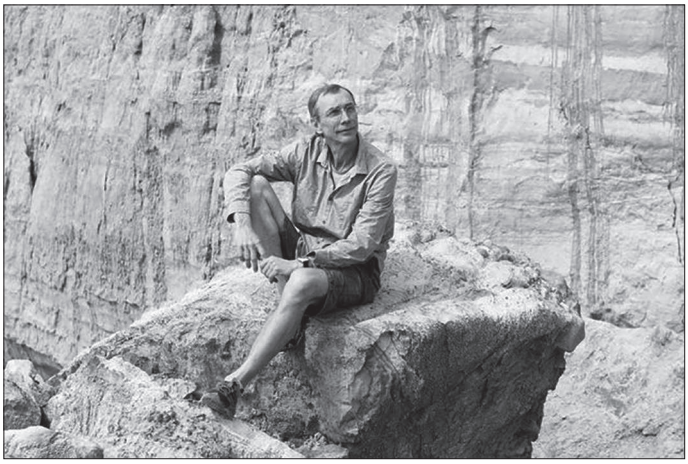


Фото © Essica Sample for the Wall Street Journal

титуту Говарда Х'юза (США) за дослідження генетичної основи захворювань крові з метою вдосконалення генної терапії серпоподібноклітинної анемії та бета-таласемії. Як відомо, прогнози «Clarivate Analytics» зазвичай справджуються в майбутньому, тому в цих вчених є великі шанси отримати Нобелівську премію в наступні роки. А в 2022 р. лауреатом 113-ї Нобелівської премії з фізіології або медицини став шведський дослідник **Сванте Пеебо** (*Svante Pääbo*). Секретар Нобелівського комітету з фізіології або медицини Томас Перлманн оголосив мотивування рішення про нагородження: вченого було удостоєно цієї престижної нагороди *«за його відкриття, що стосуються геномів вимерлих гомінідів і еволюції людини»*. Згідно з офіційним пресрелізом, фундаментальні дослідження лауреата *«...дали початок абсолютно новій науковій дисципліні — палеогеноміці, а також, виявляючи генетичні відмінності між живими людьми і вимерлими гомінідами, заклали засади для дослідження того, що робить нас як людей унікальними»* [2].

Через пандемію коронавірусу традиційні церемонії вручення Нобелівських премій у Стокгольмі в 2020—2021 рр. скасували. Проводили лише невеликі церемонії для місцевої публіки з онлайн-включеннями лауреатів, які одержували дипломи та медалі в своїх країнах. У 2022 р. — в день смерті Альфреда Нобеля (10 грудня) нарешті відбудеться традиційна офіційна церемонія в концертному залі Стокгольмської філармонії та банкет у міській ратуші. Нобелівський фонд прийняв рішення запросити до участі в цих заходах нобелівських лауреатів 2020—2022 рр., але не запрошувати послів РФ та Білорусі у Швеції у зв'язку з війною, яку Росія розв'язала проти України. Розмір Нобелівської премії у 2022 р. становитиме 10 млн шведських крон, або 910 тис. дол. США.

Що відомо про життєвий шлях і наукові здобутки нобелівського лауреата з фізіології або медицини за 2022 р.?

67-річний професор **Сванте Пеебо** (*Svante Pääbo*) працює директором відділу генетики Інституту еволюційної антропології імені Макса Планка в Лейпцигу (Німеччина). Він народився 20 квітня 1955 р. у Стокгольмі (Швеція). Його мати, Карін Пеебо, переїхала до Швеції з Естонії після її захоплення СРСР у 1940 р., працювала хіміком. Вона мала роман з керівником своєї лабораторії

і батьком Сванте — Суне Бергстремом, членом Ради директорів Нобелівського фонду та всесвітньо відомим біохіміком, який у 1982 р. разом зі шведом Бенгтом Самуельсоном і американцем Джоном Вейном отримав Нобелівську премію з фізіології або медицини за відкриття простагландинів і близьких до них біологічно активних речовин. Суне Бергстрем був одружений і мав сина, однолітка Сванте, який дізнався про існування зведеного брата лише незадовго до смерті батька в 2004 р.

У ранньому дитинстві Сванте Пеебо цікавився археологією, якою захопився ще сильніше в 14 років після поїздки з матір'ю до Єгипту. Він хотів бути схожим на Індіану Джонса, відкриваючи мумії та інші стародавні приховані скарби. Після повернення до Швеції Сванте обходив місця, де впали дерева після сильних штормів, і відшуковував черепки горщиків кам'яної доби.

З 1975 р. Сванте вивчав російську мову в школі для перекладачів шведських збройних сил, а також єгиптологію, коптську мову та історію науки — на гуманітарному факультеті Упсальського університету (Швеція). Через два роки навчання в університеті він дійшов висновку, що археологія не настільки романтична наука, як йому здавалося, і відтоді переключився на вивчення біохімії та медицини. Певну роль у виборі майбутньої спеціальності відіграв батько, хоча Сванте бачився з ним лише по суботах і не був у близьких стосунках.

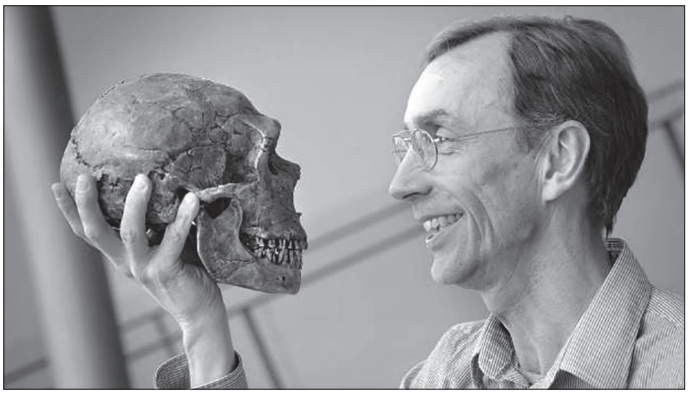
Закінчивши Медичну школу Упсальського університету в 1980 р., С. Пеебо деякий час працював лікарем, а в 1981 р. повернувся до університету, де вступив до аспірантури при відділі клітинних досліджень. У 1986 р. Сванте Пеебо захистив дисертацію з молекулярної імунології, в якій дослідив вплив аденовірусного протеїну Е19 на імунну систему. Після цього він недовго працював у Центрі молекулярної біології Цюріхського університету в Швейцарії та в Інституті вивчення раку в Лондоні.

У 1987 р. С. Пеебо перейшов до Каліфорнійського університету в Берклі (США), де зайнявся виділенням генетичного матеріалу скам'янілостей і вимерлих у новітній час тварин.

У 1990 р. Сванте Пеебо переїхав до Німеччини, де до 1997 р. працював професором загальної біології в Мюнхенському університеті, а потім став одним із п'яти директорів-засновників Інституту еволюційної антропології імені Макса Планка в Лейпцигу та очолив відділ генетики. Крім того, С. Пеебо викладає в Окінавському інституті науки і технологій (Японія). У 2015 р. йому присвоїли ступінь доктора наук.

Сванте Пеебо є членом багатьох наукових організацій: Королівської шведської академії наук (з 2000), Європейської академії (з 1998), Берлінсько-Бранденбурзької академії природничих і гуманітарних наук (з 1999), Німецької національної академії наук «Леопольдіна» (з 2001), Саксонської академії наук, Національної академії наук США (з 2004), Американської академії мистецтв і наук (з 2011), Французької академії наук і Лондонського королівського товариства (з 2016).

Вчений отримав величезну кількість наукових відзнак, зокрема премію Лейбніца (1992); медаль Макса Дельбрюка (1998); премію Каруса академії наук «Леопольдіна» (1999); премію Рудбека (2000); Лейпцизьку наукову пре-



Чи є в нас хоча б щось людське?

мію Саксонської академії наук, премію Ернста Шерінга (2003); медаль Вірхова, премію Луї Жанте в галузі медицини (2005); премію «Золота тарілка» Американської академії досягнень (2008); премію «Darwin-Plakette» («Пам'ятна дошка Дарвіна») академії наук «Леопольдіна», премію Кістлера «Фонду в ім'я майбутнього» (2009); медаль Теодора Бюхера за видатні досягнення в біохімії та молекулярній біології (2010); премію Ньюкомба Клівленда, премію Німецького товариства клінічної хімії та лабораторної медицини з біохімічного аналізу (2011); премію Грубера з генетики (2013); премію «Прорив» у галузі наук про життя (2015); премію Кейо з медичних наук (2016); премію Дена Давіда (2017); премію Накасоне, премію принцеси Астурійської, премію Кьорбера, премію Ніренберга (2018); премію Вайлі з біомедичних наук, медаль Дарвіна—Воллеса (2019); премію Японії (2020); міжнародну премію Фонду Фіссена, премію Мессрі Університету Південної Каліфорнії (2021) та багато інших. У 2007 р. С. Пеебо увійшов до переліку 100 найвпливовіших людей світу за версією журналу «Time».

Тривалий час Сванте Пеебо не одружувався і у своїй книзі «Неандерталець. У пошуках зниклих геномів» (2014) визнав себе бісексуалом, проте з 2008 р. він перебуває у шлюбі зі своєю колегою, американкою Ліндою Віджилант (*Linda Vigilant*), з якою вони мають спільних сина й доньку та виховують ще двох дітей від першого шлюбу Лінди [3].

Один з авторів цієї статті познайомився зі Сванте Пеебо на конгресі Федерації європейських біохімічних товариств і, щиро захоплюючись його «*генетичною археологією*» та дослідженнями з еволюції людини, запросив його виступити як почесного лектора в Києві на Парнасівській конференції з біохімії та молекулярної біології в 2018 р. та на Українському біохімічному конгресі в 2019 р. у Тернополі, але тоді Сванте ввічливо відмовився, пославшись на велику зайнятість, про яку йтиметься нижче.

Сванте Пеебо удостоєний Нобелівської премії з фізіології або медицини за відкриття, що стосуються геномів вимерлих гомінідів і еволюції людини. Хто ж такі гоміниди? І що саме зробив учений для глибшого розуміння еволюції людини?

Гоміниди (*Hominidae*) — це родина людиноподібних приматів, до якої відносять передусім людину та її вимерлих предків (а за сучасною класифікацією

ще й великих людиноподібних мавп: орангутана, горилу та шимпанзе). Вчених завжди цікавило питання, як унаслідок еволюції виникла сучасна людина з її високим інтелектом, складними емоціями, розгалуженими соціальними відносинами, здатністю до мовлення та пізнання навколишнього середовища, що зрештою дозволило їй заселити нашу планету, змінити її відповідно до своїх потреб та знайти шлях у космос.

Єдиним джерелом інформації про еволюцію людини є палеонтологічні знахідки решток вимерлих предків людини. Проте їх порівняльні дослідження ще донедавна давали змогу лише робити припущення про зовнішній вигляд і спосіб життя древніх гомінідів. Сванте Пеебо зробив прорив у цій галузі, заклавши засади нової науки — *палеогенетики*, яка використовує генетичні методи у палеонтологічних дослідженнях [4]. І хоча термін «палеогенетика» запропонували в 1965 . Еміль Цукеркандль і хімік Лайнус Полінг [5], Сванте Пеебо став «хрещеним батьком» нової дисципліни.

Чи можливо вивчати геноми вимерлих біологічних видів? Невже гени, що є органічними полімерами дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК), які легко руйнуються під дією чинників зовнішнього середовища, можуть зберегтися через тисячі або мільйони років? Звичайно, ні, не можуть. Однак Сванте Пеебо дійсно зробив неможливе — винайшов спосіб дослідження геномів прадавніх істот. Як саме це сталося?

Велику роль в історії цього відкриття відіграло захоплення С. Пеебо *єгиптологією*. Незважаючи на те, що він залишив намір стати археологом через надмірний філологічний ухил курсу навчання за цією спеціальністю та працював в Упсальському університеті під керівництвом Пера Петерсона (*Per A. Peterson*) над дисертаційною роботою з молекулярної імунології, ідея дослідити єгипетську мумію за допомогою сучасних методів генетики і молекулярної біології, які почали бурхливо розвиватися в 1980-х роках, не полишала його. Спочатку він переконався, що можна виділити ДНК зі шматочка телячої печінки, висушеної в духовці. Потім за сприяння свого професора єгиптології молодий вчений отримав із шведського музею в Упсалі зразок тканин єгипетської мумії, але її ДНК виявити не вдалося. Проте експеримент зі зразками мумій з німецького музею Боде у Східному Берліні виявився успішним. Сванте Пеебо працював у лабораторії вечорами і у вихідні потай від наукового керівника, оскільки небезпідставно вважав, що ця ініціатива тому не сподобається. С. Пеебо розповів усе лише після того, як виділив ДНК мумії. Керівник був щасливий, результати опублікували в 1984 р. у невеликому німецькому журналі, а вже через рік у журналі «Nature» вийшла стаття, присвячена розширеному дослідженню 23 єгипетських мумій [6].

Статтю в «Nature» прочитав (і був нею вражений) еволюційний молекулярний біолог з Каліфорнійського університету в Берклі Алан Вільсон (*Allan C. Wilson*), який досліджував ДНК вимерлих тварин і щойно виділив ДНК *квагги* — вимерлої в XIX ст. зеброподібної тварини. Вільсон попросив Пеебо залишити своїх підлеглих на час відпустки для проведення спільних досліджень і дуже здивувався, коли з'ясувалося, що Сванте Пеебо є лише аспірантом і не має власної лабораторії. У 1987 р. Пеебо все таки переїхав до США і почав працювати в лабораторії Вільсона, який тоді за допомогою рестриктаз дослід-

жував ДНК мітохондрій 147 людей з п'яти різних географічних локацій і показав, що всі вони походять від однієї жінки, яка жила, ймовірно, 200 тис. років тому в Африці [7]. Вчені зосередилися на вивченні ДНК мітохондрій, оскільки її розмір був невеликим (16,5 тис. пар нуклеотидів) і вона мала значну кількість копій, хоча й успадковувалася лише по материнській лінії. Лабораторія Вільсона була першою академічною лабораторією, яка мала *термоциклер,* необхідний для проведення *полімеразної ланцюгової реакції* (ПЛР) — новітньої на той час технології, за відкриття якої згодом, у 1993 р., американець Кері Малліс (*Kary B. Mullis*) отримав Нобелівську премію з хімії. Разом з Вільсоном Пеебо дослідив мітохондріальну ДНК, виділену з мозку людини віком 7 тис. років, уперше застосувавши для цього ПЛР [8].

Проаналізувавши результати цієї роботи, дійшли висновку, що в ході досліджень ДНК давніх людей великою проблемою є забруднення зразків генетичним матеріалом сучасної людини. Адже навіть маленька пилинка зі шкіри людини (наприклад, давно померлого директора музею) може спотворити результати досліджень. Це спонукало С. Пеебо зосередитися на вдосконаленні технології виділення та дослідження давньої ДНК. Для цього він перейшов до вивчення ДНК стародавніх тварин, таких як *гігантські лінивці*, *мамонти* та *сумчастий вовк*, і зробив низку цікавих відкриттів. Так, було доведено, що гігантські нелітаючі птахи *моа*, яких було винищено в Новій Зеландії 500 років тому, генетично є ближчими до австралійських страусів *ему*, ніж до нелітаючого птаха *ківі,* що живе сьогодні у Новій Зеландії. С. Пеебо запропонував також метод використання *консервативних праймерів* для дослідження мітохондріальної ДНК, виділеної із засушених або заспиртованих зразків тканин ссавців, птахів і риб. Цей метод відкрив нові перспективи для досліджень з еволюційної генетики, його також можна було застосувати для систематизації знань про генетичне різноманіття природних популяцій. Публікація з описом цього методу в журналі «PNAS» [9] має близько 6000 цитувань і на сьогодні є другою за популярністю працею Сванте Пеебо.

Протягом наступних десятиліть С. Пеебо вивчав зміни, які відбуваються в ДНК з плином часу (фрагментація, забруднення генетичним матеріалом мікроорганізмів, хімічні модифікації нуклеотидів, наприклад, дезамінування цитозину до урацилу) і перешкоджають отриманню коректних результатів. Зрештою він зі співробітниками лабораторії розробив досконаліші методики виділення та аналізу давньої ДНК. Для виділення ДНК С. Пеебо використовував спеціалізовані чисті приміщення, розробив методи очищення ДНК на основі кремнезему, відкрив зв'язок між наявністю ендогенної ДНК і ступенем рацемізації амінокислот [10], визначив швидкість розпаду ДНК за різних умов і встановив оптимальні умови для її зберігання (наприклад, за вічної мерзлоти), запропонував використовувати систему обов'язкового відтворення результатів дослідження іншими лабораторіями.

Ці дослідження тривали і після переїзду С. Пеебо до Європи в 1990 р. для роботи на посаді професора Мюнхенського університету (Німеччина), яку він отримав завдяки випадковому збігу обставин. За рік до цього Пеебо приїхав до своєї дівчини в Мюнхен і провів семінар в університеті, після якого йому запропонували залишити заявку на вакансію професора. Через рік, коли заявку

розглянули, з дівчиною він уже розірвав стосунки, проте на пропозицію університету все таки погодився. Так доля привела Сванте Пеебо в Мюнхенський університет, де йому судилося розпочати реалізацію одного з найамбітніших своїх проєктів — дослідження *геному неандертальця* — найближчого родича людини, який вимер 30—40 тис. років тому.

Останки неандертальця вперше знайшли в 1856 р. у печері Фельдхофер поблизу долини Неандерталь у Північній Вестфалії (Німеччина), що й зумовило назву цього гомініда. Саму долину назвали на честь теолога-кальвініста XVII ст. Йоахіма Неандера (*Joachim Neander*), який часто мандрував нею поблизу Дюссельдорфа, складаючи хвалебні гімни на честь божественної краси природи, і помер у віці 30 років від туберкульозу. На час виявлення дивних кісток люди були впевнені, що наші предки завжди були схожі на нас, аж до Адама. Видатна праця Чарльза Дарвіна «*Походження видів*», в якій уперше було викладено теорію еволюції людини від мавпи, вийшла тільки через 3 роки. Тому вчені вирішили, що знайдений аномальний скелет належить заблукалому кривоногому козаку, хворому на рахіт, а збільшені надбрівні дуги свідчать про те, що бідолашний козак постійно морщив лоба від болю через хворобу. Лише в 1864 р. британський геолог Вільям Кінг (*William King*) визнав, що знайдений скелет належить вимерлому виду людини, і назвав його «неандерталець» — *Homo neanderthalensis.* Кінг описував цю людину як морально «темного» і нерозумного звіра, схожого на представників «диких рас» Африки чи Океанії. Надалі образ неандертальців часто заломлювався крізь призму інших ідеологій, іноді расистських [11].

Сванте Пеебо багато зробив для того, щоб змінити ці уявлення, але про це пізніше. Отримавши зразок кістки плеча неандертальця з Рейнського музею у Бонні, С. Пеебо виділив і успішно секвенував його мітохондріальну ДНК. Публікацію результатів цієї роботи в журналі «Cell» у 1997 р. [12] вважають переломним моментом у розвитку *еволюційної генетики.* Порівняння послідовностей мітохондріальних ДНК неандертальця, людей з різних географічних регіонів і шимпанзе свідчило, що сучасна людина походить з Африки (як і стверджував Вільсон), де 120—150 тис. років тому жив спільний предок усіх людей. Крім того, завдяки цій роботі було показано не лише те, що ДНК можна успішно виділити з останків неандертальців і секвенувати, а й те, що неандертальці та сучасні люди є абсолютно різними групами, які не мають спільних мітохондріальних генів і відокремилися одна від одної приблизно 550—690 тис. років тому.

Після цього успіху в 1997 р. Сванте Пеебо запросили на посаду директора відділу генетики в новому Інституті еволюційної антропології імені Макса Планка в Лейпцигу. У проєкті надсучасної будівлі Інституту зі скла і бетону у формі півмісяця і з плазмовими екранами в холі, що демонструють приматів, було враховано й особисті побажання та шведську ментальність С. Пеебо: всередині будівлі від першого до останнього поверху облаштували *скеледром,* а на даху — *сауну.* Цю фантастичну пропозицію Пеебо отримав не лише завдяки своїм науковим досягненням, а й тому, що після об'єднання Німеччини влада виділяла величезні кошти на створення наукових установ у Східній Німеччині, де їх було набагато менше, ніж у Західній Німеччині. Особливу увагу приді-

ляли мало розвиненим у Східній Німеччині наукам, зокрема й антропології, занепад якої пов'язували з важким спадком часів нацизму. Так, в Інституті антропології, генетики людини і євгеніки імені кайзера Вільгельма у Берліні, заснованому в 1927 р. з метою пошуку наукових обґрунтувань ідеї «*расової гігієни*» німецького народу, працював асистентом і захистив дисертацію Йозеф Менгеле — сумновідомий лікар, який проводив жахливі медичні досліди над в'язнями концтабору Освенцим, що призвели до смерті десятків тисяч людей, за це його називали «ангелом смерті». Саме тому німецькі вчені впродовж багатьох років не бажали мати хоч якийсь стосунок до антропології.

Вражаючий науково-дослідний потенціал нового інституту уможливив реалізацію ще більш амбітного проєкту Пеебо — секвенування повного ядерного геному неандертальців, який успадковувався по обох батьківських лініях і мав розмір близько 3 млрд пар нуклеотидів, тобто перевищував мітохондріальний геном майже у 200 000 разів.

Зазначимо, що тоді ще не було секвеновано ядерний геном навіть сучасної людини. У 1990 р. було започатковано найбільш масштабний (з фінансуванням у 3 млрд дол. США) міжнародний біологічний науково-дослідний проєкт «Геном людини», який очолив Джеймс Вотсон і який у 1962 р. разом із Френсісом Кріком і Морісом Вілкінсом отримав Нобелівську премію за відкриття структури молекули ДНК. Перший робочий варіант геному опубліковано у 2001 р. [13], до 2003 р. було секвеновано 85 % геному людини і лише у квітні 2022 р. проєкт було завершено (секвеновано 99,99 % геному) [14]. У 1998 р. аналогічний комерційний проєкт з фінансуванням лише 300 млн дол. США розпочала приватна компанія «*Celera Corporation*» (США) на чолі з відомим генетиком і біотехнологом Крейгом Вентером, який планував запатентувати частину послідовностей ДНК (тим більше, що одним із п'яти донорів став сам Вентер, геном якого було опубліковано в 2001 р. [15]). Зрештою, під тиском президента США Білла Клінтона результати роботи «*Celera*» було передано до державного проєкту «*Геном людини*». Величезні фінансові вливання, розвиток електронного устаткування та комп'ютеризація досліджень, а також конкуренція стимулювали розвиток методів секвенування нового покоління, які ставали дедалі продуктивнішими і дешевшими. Складність завдання з секвенування ядерного геному неандертальця полягала не лише в його великому розмірі, а й у тому, що за тисячі років кістки неандертальців були настільки сильно колонізовані бактеріями та грибками, що майже вся ДНК, яка містилася в них, мала екзогенне походження. Крім того, залишки ДНК неандертальця являли собою короткі фрагменти, які потрібно було зібрати, як гігантський пазл. Багато вчених вважали, що цю проблему неможливо вирішити.

Проте завдяки наполегливій праці, великому досвіду і вдосконаленим методам роботи з давньою ДНК команді С. Пеебо вдалося подолати всі перешкоди. Для реконструкції геному неандертальця використали складні комп'ютерні програми, які порівнювали фрагменти ДНК зі стародавніх кісток з уже відомими геномами шимпанзе та людини. Виконанню цієї роботи сприяло також розроблення компанією «*454 Life Sciences Corp.*» у Бренфорді (штат Коннектикут, США) нової технології секвенування геному з високою пропускною здатністю, яка давала змогу секвенувати 25 млн нуклеотидів з точністю 99 % або

вище за один чотиригодинний цикл [16]. Врешті-решт, результатом усіх зусиль стала опублікована у 2010 р. чернетка геному неандертальця, який жив десятки тисяч років тому, і для порівняння — п'ять геномів сучасних людей з різних регіонів планети, а також приголомшливі висновки дослідження: неандертальці та сучасні люди, незважаючи на значні відмінності, мають 1—4 % спільного генетичного матеріалу завдяки схрещуванню невеликої кількості неандертальців і ранніх людей, яке, ймовірно, відбулося приблизно 60—70 тис. років тому, коли предки сучасних людей покинули Африку і поселилися в Євразії [17].

Того самого року С. Пеебо та його колеги повідомили про інше фундаментальне відкриття, зроблене завдяки аналізу мітохондріальної ДНК, виділеної з кістки пальця, яку знайшли в 2008 р. у Денисовій печері в горах Алтаю на півдні Сибіру. Кістка належала дівчинці з невідомої групи гомінідів, яку дослідники назвали за місцем знахідки — денисівцями [18]. Уперше в історії науки нового гомініда було ідентифіковано лише за допомогою генетичного аналізу. У 2012 р. було секвеновано ядерний геном денисівців [19]. Виявилося, що вони сильно відрізнялися і від неандертальців, і від сучасних людей, при цьому денисівці передали до 4—6 % свого геному людям, які сьогодні живуть в окремих частинах Південно-Східної Азії та у Меланезії — на острівних групах у Тихому океані на північний схід від Австралії.

Отже, завдяки відкриттям Сванте Пеебо значно змінилося розуміння нашої еволюційної історії. Виявилося, що предки сучасної людини (*Homo sapiens*), які з'явилися в Африці 150—200 тис. років тому та мігрували в Євразію 60—70 тис. років тому, протягом 20—30 тис. років співіснували і схрещувалися з іншими, нині вимерлими, видами предків людей: неандертальцями — переважно в Європі і денисівцями — в Азії, які генетично значно відрізнялися один від одного та передали невелику частку своїх генів сучасним людям. Провівши секвенування геномів предків сучасних людей з Румунії [20] і Західного Сибіру [21], які жили близько 40 тис. років тому, С. Пеебо виявив ознаки схрещень з неандертальцями і запозичення частини їхніх генів. Схрещування могло дати сучасній людині гени, корисні для пристосування до клімату, який був холоднішим за африканський. Проте вчені дійшли висновку, що предки сучасних людей та інші види гомінідів перебували на межі біологічної сумісності, а їхнє гібридне потомство чоловічої статі, ймовірно, страждало від високого рівня безпліддя [22]. У геномі неандертальця було ідентифіковано мутації в трьох генах, які у вагітних жінок *Homo sapiens* спричинювали імунне відторгнення плоду чоловічої статі, що успадкував ці мутації від батька-неандертальця [23].

Цікаво, що в Україні також було знайдено рештки неандертальців: у Львівській, Чернівецькій областях і в Криму. За оцінкою відомого археолога Торстена Утмаєра (*Thorsten Uthmeier*) з Інституту ранньої історії Університету Ерлангена—Нюрнберга (Німеччина), останки неандертальців, знайдені в Криму, мінімум на 10 тис. років молодші за будь-які інші відомі аналогічні знахідки. При цьому археологічні розкопки на місці стоянки неандертальців виявили докази їх співіснування з сучасними людьми [24].

Ще одна знахідка Сванте Пеебо в Денисовій печері на Алтаї — проксимальна фаланга пальця стопи, як виявилося, належала неандертальцю. Завдяки її вивченню в 2014 р. вдалося майже повністю розшифрувати геном неандер-

тальця та порівняти його з геномами інших людей [25]. Результати цього дослідження дали змогу уточнити часові віхи відгалуження різних видів гомінідів у процесі еволюції, дізнатися про малу чисельність та ізольованість неандертальців (за ознаками близькоспоріднених схрещень — інбридингу і низьким генетичним різноманіттям), а також про їхнє схрещування з денисівцями.

Сванте Пеебо дослідив багато зразків решток неандертальців і денисівців з усього світу й одержав ще повніші дані про їхні геноми та популяційні геномні варіації. Значними успіхами були отримання другого (у 2017) і третього (у 2020) повних геномів неандертальців, що характеризувалися високим ступенем охоплення послідовності секвенованої ДНК, яку було виділено з останків, знайдених відповідно в печері Віндія в Хорватії та в Чагирській печері на Алтаї.

Численні знахідки останків неандертальців від Іспанії до Сибіру сприяли археологічним і генетичним дослідженням, результати яких змінили уявлення про неандертальців як про сильних, страшних і тупих «людей-мавп», які не мають моралі і не здатні посміхатися. Виявилося, що здібності й поведінка неандертальців багато в чому були подібні до людських. Вони виготовляли спеціалізовані знаряддя праці, прикраси з мушель, темного пір'я та кігтів птахів, доглядали за пораненими, ховали мертвих, робили вохру та інші пігменти для фарбування облич і тіл, готували клей з березової кори нагріванням її до високих температур, використовували зубочистки та залишили нам абстрактні печерні малюнки з ліній і крапок [11]. У 2007 р. Сванте Пеебо показав, що неандертальці мають спільні з сучасними людьми дві еволюційні зміни в гені FOXP2, який залучений до розвитку мовлення та здатності говорити, що дало змогу припустити існування в неандертальців мови [26].

Крім того, стало можливим з'ясувати фізіологічні особливості сучасних людей, які отримали від вимерлих гомінідів певні алелі генів чи гаплотипи (групи генів, які успадковуються разом від одного з батьків). Наприклад, виявилося, що серед тибетців поширена денисівська версія гена, що кодує субодиницю транскрипційного фактора — EPAS1 (цей протеїн також відомий як HIF-2α — індукований гіпоксією фактор 2α). HIF-2α індукується за зниження концентрації кисню в разі підйому на велику висоту і сприяє адаптації до гіпоксичного високогірного середовища, зокрема до повітря Гімалаїв на висоті 4000 м, яке містить лише 40 % нормальної кількості кисню [27]. До речі, цей архаїчний алель гена HIF-2α також називають «*геном суперспортсмена*», оскільки він дає можливість досягти вищих спортивних результатів.

Неандертальці також зробили генетичний внесок у фенотипи сучасних європейців. Це стосується, наприклад, таких ознак, як колір шкіри та волосся, зріст, режим сну, настрій і статус щодо куріння. Цікаво, що неандертальські гаплотипи сприяють як світлішому, так і темнішому кольору шкіри та волосся. Це свідчить про те, що самі неандертальці, ймовірно, відрізнялися один від одного за цими рисами [28]. Крім того, серед сучасних людей (переважно у Східній Азії) поширений архаїчний гаплотип, що кодує протеїни HYAL, які беруть участь у метаболізмі гіалуронану та відповідають за реагування клітин на ультрафіолет. Цікаво, що *Homo sapiens* втратили цей гаплотип, коли мігрували з Африки в Євразію, а потім знову отримали його від неандертальців [29].

Іншими прикладами є гени вимерлих гомінідів, які впливають на імунну відповідь особин на різні типи інфекцій. Предки сучасних людей унаслідок міграції потрапили в Європу та Західну Азію, де змішалися з архаїчними людьми, що жили там понад 200 тис. років і були добре пристосовані до місцевих патогенів, та отримали значну імунну перевагу завдяки одержаним архаїчним алелям. Так, у сучасних людей часто трапляються стародавні гаплотипи, що кодують три Toll-подібні рецептори TLR6, TLR1 і TLR10, два з яких походять від неандертальців, а третій — від денисівців. Ці рецептори є ключовими компонентами системи вродженого імунітету, що забезпечує важливу першу лінію імунного захисту від бактерій, грибків і паразитів. Архаїчні алелі генів TLR індукують підвищену резистентність до збудників інфекційних хвороб, але спричинюють алергічні захворювання [30].

Люди, які успадкували давні варіанти певних генів від вимерлих гомінідів, можуть відрізнятися від решти людей за особливостями реагування організму на віруси завдяки архаїчному алелю гена Stat2, який кодує транскрипційний фактор, важливий для передачі сигналу від інтерферону — головного цитокіну противірусного захисту клітин [31], а також за рахунок архаїчних гаплотипів, що кодують 2′-5′-олігоаденілатсинтетази (OAS) — ферменти, які у відповідь на сигнал від інтерферону синтезують 2′-5′-олігоаденілати, що активують латентну рибонуклеазу, яка руйнує в клітині РНК (зокрема, й вірусну), перешкоджаючи тим самим розмноженню вірусу [32].

Архаїчні гаплотипи можуть впливати як позитивно, так і негативно на перебіг захворювання COVID-19. Так, гаплотип неандертальців, розташований у хромосомі 12, який кодує протеїни — активатори ферментів, важливі для процесу інфікування РНК-вірусами, захищає від важкого перебігу COVID-19 [33]. Водночас приблизно 50 % людей у Південній Азії та 16 % людей у Європі є носіями геномного сегмента розміром близько 50 тис. пар нуклеотидів у хромосомі 3, успадкованого від неандертальців, тому ці хворі більш схильні до важкого перебігу COVID-19, частіше потребують штучної вентиляції легень і частіше помирають від цієї інфекції [34].

Крім неандертальців і денисівців, Сванте Пеебо досліджував генетичний матеріал й інших гомінідів. Так, у 2012 р. він дослідив стегнову кістку, знайдену в 2008 р. на річці Іртиш біля селища Усть-Ішим у Сибіру колекціонером скам’янілостей Миколою Перистовим, який шукав бивні мамонта в мулистих берегах. За аналізом ДНК встановили, що кістка належала чоловіку (названому Усть-Ішимською людиною), який жив 45 тис. років тому і належав до групи, що започаткувала всіх неафриканських людей, але ще не розділилася на неандертальців і денисівців [35].

Сванте Пеебо визнає, що за весь час найскладнішим у технологічному плані завданням для його групи було встановлення ядерної послідовності ДНК невідомого виду людини, останки 28 особин якого віком приблизно 430 тис. років було знайдено в печерному комплексі Сіма-де-лос-Уесос (Яма кісток) у горах Сьєрра-де-Атапуерка на півночі Іспанії. Виявилося, що ці стародавні люди, названі гейдельберзькими людьми (*Homo heidelbergensis*), були більше споріднені з неандертальцями, ніж з денисівцями [36].

Створення високопродуктивних платформ для секвенування ДНК уможливило дослідження різноманіття людських геномів. У 2010 р. опубліковано результати пілотної фази проєкту Міжнародного дослідницького консорціуму «1000 геномів», мета якого — вивчення варіабельності людського геному серед найбільших популяцій та дослідження зв'язку між генотипом і фенотипом [37]. До речі, ця публікація в журналі «Nature» стала найпопулярнішою науковою працею за участю Сванте Пеебо (кількість цитувань близько 11 400). Крім того, у 2016 р. було завершено Проєкт різноманітності геномів, що виконувався під егідою фонду Джеймса Саймонса — відомого американського математика та мецената. В рамках цього проєкту досліджено геноми 300 осіб із 142 різних популяцій, що відображали якомога ширше антропологічне, мовне та культурне розмаїття людей [38]. Також реалізовано проєкт з картування регуляторних елементів геному та інших послідовностей, зокрема епігеномних, — ENCODE («Енциклопедія ДНК елементів»), започаткований у 2003 р. американським Національним інститутом дослідження геному людини. Цей проєкт засвідчив, що геном людини всебічно транскрибується, тобто значна частина небілкових кодувальних ділянок є функціональною, що сформувало більш складне уявлення про структуру хроматину [39]. Результати проєктів з вивчення людських геномних варіацій стали важливими джерелами для розуміння популяційної генетики людини та досліджень нашого еволюційного минулого, зокрема походження та міграцій предків різних народів світу.

Наприклад, стало відомо, що предки корінних мешканців Америки прибули з північно-східного Сибіру до нині затопленої місцевості під назвою Берінгія, яка в ті часи була сухопутним мостом між Євразією і Америкою. Вони прожили там 6—8 тис. років, а з початком танення американських льодовиків почали рух уздовж узбережжя Тихого океану (приблизно 13—15 тис. років тому) та поступово заселили Північну і Південну Америку. На жаль, велике різноманіття популяцій, яке виникло за сприятливих умов нових земель, значною мірою було знищене після відкриття Америки європейцями. Завдяки геномним дослідженням вдалося з'ясувати, чому сучасні мешканці Сибіру та Америки не є генетично спорідненими. Виявилося, що предки американців походили від групи, пов'язаної зі стародавніми північносибіряками, генетично відмінними від європейців і азіатів, яка приблизно 20 тис. років тому змішалася з вихідцями зі Східної Азії, що рухалися на північ. Натомість предки жителів Сибіру з'явилися внаслідок двох пізніших хвиль схрещень зі східноазіатами та витіснення попередніх популяцій [40, 41]. Цікаво, що за результатами секвенування ДНК найстарішим відомим близьким родичем корінних американців за межами Америки є чоловік, уламок зуба якого віком 14 тис. років пролежав у шухляді радянських археологів кілька десятиліть після того, як його знайшли у 1976 р. поблизу селища Усть-Кяхта, розташованого між південним берегом озера Байкал і монгольським кордоном, на відстані 4,5 тис. км від Берінгії [42].

Більшість європейців, як виявилося, походять від степових племен скотарів ямної культури, які проживали 6 тис. років тому на північ від Чорного моря, зокрема на території сучасної України, і приблизно 4,5 тис. років тому мігрували у Центральну Європу, поширивши ранню форму індоєвропейської мови і започаткувавши культуру шнурової кераміки [43]. Особливістю цих племен

було те, що вони ховали мертвих членів одного роду в позі ембріона в ямах під курганними насипами, причому посипали їх перед цим червоною вохрою, яка символізувала життя, світло й очищення. Біля померлих клали посуд з їжею, кам'яне (рідше мідне) знаряддя та зброю. Предки українців також відомі тим, що вони були найвищими жителями Європи і винайшли одні з перших колісних транспортних засобів — вози, запряжені волами [44].

Дослідження геномів британців виявило, що протягом останніх 2 тис. років у їхній популяції поширювалися алелі генів, які забезпечують: 1) світле волосся та блакитні очі, що часто передаються разом зі світлою шкірою; 2) здатність дорослих засвоювати лактозу та перетравлювати молоко; 3) функціональні особливості деяких рецепторів імунної системи. Крім того, незначні зміни в сотнях генів стосуються таких ознак, як зріст, окружність голови у немовлят і розмір стегон у жінок, що є вирішальним для народження [45]. Світла шкіра та здатність перетравлювати молоко, ймовірно, дають можливість отримувати більше вітаміну D в умовах дефіциту сонячного світла під похмурим небом Британії. Подібні тенденції є характерними для всієї Європи: серед темношкірих європейців, предки яких мігрували з Африки, гени світлої шкіри почали поширюватися 5,8 тис. років тому, а ген толерантності до лактози — 4,3 тис. років тому. Крім того, племена ямної культури принесли в Європу гени високого зросту [46].

Час від часу трапляються унікальні знахідки останків гомінідів, які відрізняються від відомих видів прадавніх людей. Так, у 2003 р. у віддаленій печері на індонезійському острові Флорес знайшли скелет дорослої жінки віком 66—87 тис. років, зростом лише близько метра, тому її назвали «хоббітом» або *Homo floresiensis* [47]. У 2013 р. у печері Висхідної зірки в Південній Африці знайшли останки понад 15 давніх представників нового виду гомінідів, який назвали *Homo naledi* («наледі» означає «зірка» місцевою мовою сото). Це високі, худі гоміниди з довгими ногами, які поєднували риси сучасних людей (округлий череп; ступня, пристосована до прямоходіння) і мавпячі риси (малий мозок; плечі та пальці, пристосовані до лазіння по деревах) [48].

Сванте Пеебо не виключає, що могли існувати й інші, поки що невідомі види вимерлих гомінідів. Великі сподівання він покладає на дослідження прадавніх людей Китаю та їхніх еволюційних зв'язків з неандертальцями та денисівцями. Крім того, потребують подальших досліджень шляхи міграції давніх людей, які, очевидно, були доволі складними. Так, є свідчення, що, ймовірно, відбувалася міграція не лише з Африки в Євразію, а й у зворотному напрямку. Дослідження першої виділеної ДНК стародавньої африканської людини, останки якої віком 4,5 тис. років було знайдено у високогірній печері Мота на південному заході Ефіопії, свідчить про міграцію в Африку фермерів з Близького Сходу та їх схрещування з африканцями [49]. Наслідком зворотної міграції євразійців в Африку є наявність у геномі північних африканців 0,3 % ДНК неандертальців [50].

Дослідження геномів стародавніх африканців є досить проблематичним через прискорену деградацію їхньої ДНК у тропічному кліматі. Винятком є муміфіковані останки людей, деякі з яких можуть містити збережені залишки ДНК. Дослідникам геномів єгипетських мумій вдалося виділити з них ДНК збудників малярії та токсоплазмозу, а також ДНК низки рослин: ялиці й сосни (які вва-

жають компонентами бальзамувальних смол), рицини, лляного насіння, оливок, мигдалю та лотоса [51].

Нині Сванте Пеебо і його команда працюють над новими методами, що давали б змогу реконструювати ДНК із фрагментів, які ще більш пошкоджені та наявні ще в меншій кількості. Можливо, завдяки цим методам вдасться вивчити більш давню ДНК, а також дослідити геноми стародавніх людей, які жили в жаркому та вологому кліматі. А поки що інші дослідники пропонують виділяти ДНК з різних шарів печерного ґрунту, що містить кров і епітелій архаїчних людей, які жили на одному місці протягом тисяч років [52], або ж виділяти з останків не ДНК, а протеїни, які є стійкішими та краще зберігаються (наприклад колаген) [53].

Через здешевлення методів секвенування реальним є визначення послідовності геному кожної людини і відкрито епоху персоналізованої медицини, що ґрунтується на виборі діагностичних, лікувальних і профілактичних засобів, які є оптимальними для цієї людини з урахуванням її генетичних, фізіологічних, біохімічних та інших індивідуальних особливостей. Прогрес у галузі геноміки вражає: у 1980-х роках визначення послідовності геному людини вважали практично недосяжним завданням біології на наступні 100 років, у вирішення якого вкладали мільярди доларів США, а сьогодні серед американців популярними є тести вартістю до 100 дол. США, за допомогою яких за послідовністю геному задля розваги можна дізнатися расове походження людини [54]. До речі, в судовій криміналістиці нині використовують невеликий і доступний пристрій для секвенування ДНК — MinION™, розроблений компанією «Oxford Nanopore Technologies» (Велика Британія), який дає змогу швидко ідентифікувати біологічний вид за його геномом [55].

Незважаючи на швидкий прогрес у галузі палеогенетики, досі остаточно не вирішено питання, чому вимерли всі інші архаїчні види людей, які за сотні тисяч років добре пристосувалися до умов життя в Євразії. Чи сучасні люди, маючи вищий інтелект, випередили стародавніх людей інших видів у боротьбі за ресурси, чи, можливо, вони їх усіх винищили? Імовірно, причина полягає в тому, що архаїчні люди жили невеликими ізольованими популяціями з високим рівнем інбридингу і не могли конкурувати з предками сучасних людей, які швидко розмножувалися та поширювалися. Тож, швидше за все, справжня конкуренція між давніми гомінідами та ранніми сучасними людьми проявлялася не в локальних суперечках за їжу чи територію, а мала вигляд тихого демографічного марафону, який тривав тисячоліттями, коли кожний вид намагався відтворювати себе, поки деякі не відстали настільки, що зникли. Яким би не був механізм цього витіснення, воно ніби свідчить про те, що наш рід у чомусь кращий за ті, що зникли. Зрештою, ми все ще живемо, а існування давніх гомінідів припинилося, щойно наші шляхи перетнулися [11].

Які саме риси сучасної людини зробили її особливим видом, який запанував над іншими біологічними видами на Землі?

Мозок сучасних людей відрізняється від мозку людиноподібних мавп розміром, формою та організацією кори головного мозку, особливо в ділянці лобової частки, яка задіяна в ході виконання складних когнітивних завдань, таких як соціальне пізнання, використання інструментів і мови (ці структурні від-

мінності з'явилися 1,7—1,5 млн років тому) [56]. Ще геніальний Чарльз Дарвін наголошував, що особливими, значно розвиненими рисами сучасної людини є схильність до співпраці, соціального навчання та кумулятивної культури. Виникнення унікальної особливості людського виду — використання мови, ймовірно, зумовлене необхідністю полегшити процес співпраці. Схильність до соціального навчання та конформізму зумовила появу нових чинників, що обмежують і спонукають людську поведінку, таких як мораль, соціальні норми та соціальні інститути. Постійна співпраця спричинила еволюцію сильної коаліційної психології, яка може об'єднати нас щоразу, коли ми відчуваємо, що наша група стикається із зовнішніми загрозами (можливо, що ця риса в українців є особливо розвиненою) [57].

Проте не зовсім зрозуміло, як пояснити значну різницю між шимпанзе та людиною, якщо відмінності між геномами цих двох видів становлять 1—2 %. Родиною генів людини, що дуже швидко розширювалася в ході еволюції, стала група генів мозку, розмір якої зріс більш ніж удвічі. Крім того, виявилося, що людина відрізняється від інших видів тварин швидкістю, з якою вона набуває нових генів і позбавляється непотрібних: у людей цей обмін генів відбувається в 1,6 раза швидше, ніж у мавп, і в 2,8 раза швидше, ніж у собак або гризунів [58]. Імовірно, існують гени, які можуть регулювати швидкість процесу еволюції, забезпечуючи його різноманітним генетичним матеріалом.

Дійсно, з'ясувалося, що цитидинові дезамінази APOBEC, які розпізнають у ДНК і РНК певні послідовності (характерні для вірусів) і зумовлюють точкові мутації (змінюють цитозин на урацил), здатні не лише боротися з вірусами, а й, можливо, прискорювати еволюцію нашого виду, якщо ці мутації відбуваються у ДНК клітин зародкової лінії. Підвищення кількості мутацій спричинює зростання ризику виникнення злоякісних пухлин, проте водночас може вплинути на геном майбутніх поколінь і, зрештою, змінити хід еволюції. Так, під час порівняння геномів сучасної людини, денисівця, неандертальця та шимпанзе в ключових місцях геному було виявлено близько 37 тис. мутацій, які може викликати протеїн APOBEC3G, тоді як геноми миші, макаки-резус та орангутана можуть не змінюватися в цих місцях [59]. Цікаво, що на основі APOBEC (та протеїнів, здатних здійснювати інші заміни нуклеотидів) і технології CRISPR/Cas сьогодні розробляють засоби для штучного редагування РНК у процесі лікування раку, м'язової дистрофії та інших захворювань [60].

Цими неймовірними відкриттями і бурхливим розвитком палеогенетики протягом останніх 20 років людство значною мірою завдячує генію та працелюбності одного вченого, але слід пам'ятати, що ці відкриття стали можливими завдяки найновішим досягненням сучасної біології та інформатики, в тому числі біоінформатики, і, зокрема, науковим здобуткам тисяч і тисяч учених. Водночас зрозуміло, що це лише початок — блискучий і вдалий — фантастичної і чудової історії пізнання походження ЛЮДИНИ і що невдовзі ми станемо свідками та/або учасниками нових відкриттів з історії нашого походження і становлення.

Захоплюючі враження від відкриття таємниць еволюції людини дають змогу ще раз поставити кардинальне питання: «Хто ми, люди, є і яке наше місце, наша роль і наше майбутнє на планеті Земля та за її межами?». І, зрештою, нагадують про головне — про **відповідальність людей** перед майбутнім нашої

планети. Війни, можливість застосування зброї масового знищення та матеріалів небезпечного «подвійного використання», руйнування навколишнього середовища, зникнення видів живих істот, лісів, потепління клімату тощо — ось неповний перелік загроз, які є наслідком діяльності людей на планеті й створюють небезпеку для нашого життя на Землі.

Сванте Пеебо з дитинства мріяв бути схожим на Індіану Джонса, стати археологом, шукачем історичних скарбів і наполегливо йшов до цієї мрії. Проте реальне життя перевершило його найсміливіші сподівання: він винайшов спосіб вивчати історію по-новому, причому в здійсненність цього способу абсолютно ніхто не вірив.

На пресконференції в Інституті еволюційної антропології імені Макса Планка з нагоди присудження Нобелівської премії Сванте Пеебо визнав: «*Мене дивує те, що тепер у вас є певна здатність повертатися в минуле і фактично стежити за генетичною історією та генетичними змінами у часі. Це можливість почати дивитися на еволюцію в реальному часі, якщо хочете*» [61]. Інакше кажучи, Сванте Пеебо відкрив для людства еволюційну машину часу — ще один крок на шляху прогресу до науки майбутнього. Як тут не згадати рядки з відомого роману «Машина часу» (1895) британського письменника Герберта Веллса: «У кожного з нас є своя машина часу: спогади, що забирають нас у минуле, та мрії, які переносять нас у майбутнє».

SECRETS OF THE GENOMES OF EXTINCT HOMININS, OR CAN PALEOGENOMICS ANSWER THE QUESTION: WHO ARE WE, HUMANS?

The Nobel prize in physiology or medicine, 2022

S.V. Komisarenko, S.I. Romaniuk

The Nobel Prize in Physiology or Medicine in 2022 was awarded to Swedish paleogeneticist, specialist in the field of evolutionary genetics, director of the Department of Genetics at the Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology in Leipzig (Germany) Professor Svante Pääbo for «for his discoveries concerning the genomes of extinct hominins and human evolution». Explaining the importance of S. Pääbo's works, the Nobel Committee noted that «he developed methods for analysis and recovering of ancient DNA. In ancient bones, DNA degrades, becomes chemically modified, and is massively contaminated by contact with bacteria and humans handling the specimens. Using available technologies as they develop, S. Pääbo created his own methods for refined analysis of ancient DNA».

Keywords: *Nobel Prize in Physiology or Medicine 2022, Svante Pääbo, human evolution, genome, hominins.*

REFERENCES

1. Physiology or Medicine. 2022 Citation Laureates. https://clarivate.com/citation-laureates/physiology-or-medicine-2022/

2. Press release: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2022. https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2022/press-release/

3. Svante Pääbo. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Svante_Pääbo.

4. Hedestam G.K. Discoveries concerning the genomes of extinct hominins and human evolution. https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2022/advanced-information/

5. Zukerkandl E., Pauling L. Molecules as documents of evolutionary history. *Journal of Theoretical Biology*. 1965. Vol. 8, N 2. P. 357—366. https://doi.org/10.1016/0022-5193(65)90083-4.

6. Pääbo S. Molecular cloning of Ancient Egyptian mummy DNA. *Nature*. 1985. Vol. 314, N 6012. P. 644—645. https://doi.org/10.1038/314644a0.

7. Cann R.L., Stoneking M., Wilson A.C. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*. 1987. Vol. 325, N 6099. P. 31—36. https://doi.org/10.1038/325031a0.

8. Pääbo S., Wilson A.C. Polymerase chain reaction reveals cloning artefacts. *Nature*. 1988. Vol. 334, N 6181. P. 387—388. https://doi.org/10.1038/334387b0.

9. Kocher T.D., Thomas W.K., Meyer A. et al. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *PNAS*. 1989. Vol. 86, N 16. P. 6196—6200. https://doi.org/10.1073/pnas.86.16.6196.

10. Poinar H.N., Höss M., Bada J.L., Pääbo S. Amino acid racemization and the preservation of ancient DNA. *Science*. 1996. Vol. 272, N 5263. P. 864—866. https://doi.org/10.1126/science.272.5263.864.

11. Mooallemjan J. Neanderthals were people, too. https://www.nytimes.com/2017/01/11/magazine/neanderthals-were-people-too.html.

12. Krings M., Stone A., Schmitz R.W. et al. Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell*. 1997. Vol. 90, N 1. P. 19—30. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80310-4.

13. Lander E.S., Linton L.M., Birren B., 253 co-authors; International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001. Vol. 409, N 6822. P. 860—921. https://doi.org/10.1038/35057062.

14. Nurk S., Koren S., Rhie A., 96 co-authors, Phillippy A.M. The complete sequence of a human genome. *Science*. 2022. Vol. 376, N 6588. P. 44—53. https://doi.org/10.1126/science.abj6987.

15. Venter J.C., Adams M.D., Myers E.W., 270 co-authors, Zhu X. The sequence of the human genome. *Science*. 2001. Vol. 291, N 5507. P. 1304—1351. https://doi.org/10.1126/science.1058040.

16. Margulies M., Egholm M., Altman W.E., 52 co-authors, Rothberg J.M. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*. 2005. Vol. 437, N 7057. P. 376—380. https://doi.org/10.1038/nature03959.

17. Green R.E., Krause J., Briggs A.W., 52 co-authors, Pääbo S. A draft sequence of the Neandertal genome. *Science*. 2010. Vol. 328, N 5979. P. 710—722. https://doi.org/10.1126/science.1188021.

18. Krause J., Fu Q., Good J.M. et al. The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominin from southern Siberia. *Nature*. 2010. Vol. 464, N 7290. P. 894—897. https://doi.org/10.1038/nature08976.

19. Meyer M., Kircher M., Gansauge M.T., 30 co-authors, Pääbo S. A high-coverage genome sequence from an archaic Denisovan individual. *Science*. 2012. Vol. 338, N 6104. P. 222—226. https://doi.org/10.1126/science.122434.

20. Fu Q., Hajdinjak M., Moldovan O.T., 12 co-authors, Pääbo S. An early modern human from Romania with a recent Neanderthal ancestor. *Nature*. 2015. Vol. 524, N 7564. P. 216—219. https://doi.org/10.1038/nature14558.

21. Fu Q., Li H., Moorjani P., 24 co-authors, Pääbo S. Genome sequence of a 45,000-year-old modern human from western Siberia. *Nature*. 2014. Vol. 514, N 7523. P. 445—449. https://doi.org/10.1038/nature13810.

22. Callaway E. Modern human genomes reveal our inner Neanderthal. https://www.nature.com/articles/nature.2014.14615.

23. Gibbons A. Modern human females and male Neandertals had trouble making babies. Here's why. https://www.science.org/content/article/modern-human-females-and-male-neandertals-had-trouble-making-babies-here-s-why.

24. Uthmeier T. On the trail of the last Neanderthals. https://www.fau.eu/2013/06/05/news/research/on-the-trail-of-the-last-neanderthals/

25. Prüfer K., Racimo F., Patterson N., 41 co-authors, Pääbo S. The complete genome sequence of a Neanderthal from the Altai Mountains. *Nature*. 2014. Vol. 505, N 7481. P. 43—49. https://doi.org/10.1038/nature12886.

26. Krause J., Lalueza-Fox C., Orlando L. et al. The derived FOXP2 variant of modern humans was shared with Neandertals. *Current Biology*. 2007. Vol. 17, N 21. P. 1908—1912. https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.10.008.

27. Huerta-Sánchez E., Jin X., Asan, 23 co-authors, Nielsen R. Altitude adaptation in Tibetans caused by introgression of Denisovan-like DNA. *Nature*. 2014. Vol. 512, N 7513. P. 194—197. https://doi.org/10.1038/nature13408.

28. Dannemann M., Kelso J. The contribution of Neanderthals to phenotypic variation in modern humans. *American Journal of Human Genetics*. 2017. Vol. 101, N 4. P. 578—589. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.010.

29. Ding Q., Hu Y., Xu S., Wang J., Jin L. Neanderthal introgression at chromosome 3p21.31 was under positive natural selection in East Asians. *Molecular Biology and Evolution*. 2014. Vol. 31, N 3. P. 683—695. https://doi.org/10.1093/molbev/mst260.

30. Dannemann M., Andrés A.M., Kelso J. Introgression of Neandertal- and Denisovan-like haplotypes contributes to adaptive variation in human Toll-like receptors. *American Journal of Human Genetics*. 2016. Vol. 98, N 1. P. 22—33. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.11.015.

31. Mendez F.L., Watkins J.C., Hammer M.F. A haplotype at STAT2 introgressed from neanderthals and serves as a candidate of positive selection in Papua New Guinea. *American Journal Human Genetics*. 2012. Vol. 91, N 2. P. 265—274. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.06.015.

32. Mendez F.L., Watkins J.C., Hammer M.F. Neandertal origin of genetic variation at the cluster of OAS immunity genes. *Molecular Biology Evolution*. 2013. Vol. 30, N 4. P. 798—801. https://doi.org/10.1093/molbev/mst004.

33. Zeberg H., Pääbo S. A genomic region associated with protection against severe COVID-19 is inherited from Neandertals. *PNAS*. 2021. Vol. 118, N 9. E2026309118. https://doi.org/10.1073/pnas.2026309118.

34. Zeberg H., Pääbo S. The major genetic risk factor for severe COVID-19 is inherited from Neanderthals. *Nature*. 2020. Q2587(7835). P. 610—612. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2818-3.

35. Zimmer C. Man's genome from 45,000 years ago is reconstructed. https://www.nytimes.com/2014/10/23/science/research-humans-interbred-with-neanderthals.html.

36. Meyer M., Arsuaga J.L., de Filippo C. et al. Nuclear DNA sequences from the Middle Pleistocene Sima de los Huesos hominins. *Nature*. 2016. Vol. 531, N 7595. P. 504—507. https://doi.org/10.1038/nature17405.

37. 1000 Genomes Project Consortium, Abecasis G.R., Altshuler D., Auton A., Brooks L.D., Durbin R.M., Gibbs R.A., Hurles M.E., McVean G.A. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature*. 2010. Vol. 467, N 7319. P. 1061—1073. https://doi.org/10.1038/nature09534.

38. Mallick S., Li H., Lipson M., 75 co-authors, Reich D. The Simons Genome Diversity Project: 300 genomes from 142 diverse populations. *Nature*. 2016. Vol. 538, N 7624. P. 201—206. https://doi.org/10.1038/nature18964.

39. Moraes F., Gyes A. A decade of human genome project conclusion: Scientific diffusion about our genome knowledge. *Biochemistry and Molecular Biology Education*. 2016. Vol. 44, N 3. P. 215—223. https://doi.org/10.1002/bmb.20952.

40. Davis N. Ancient Siberia was home to previously unknown humans, say scientists. https://www.theguardian.com/science/2019/jun/05/ancient-siberia-was-home-to-previously-unknown-humans-say-scientists.

41. Wade L. Mummy genomes reveal just how catastrophic European contact was for New World. https://www.science.org/content/article/mummy-genomes-reveal-just-how-catastrophic-european-contact-was-new-world.

42. Price M. Oldest cousin of Native Americans found in Russia. https://www.science.org/content/article/oldest-cousin-native-americans-found-russia.

43. Balter M. Mysterious Indo-European homeland may have been in the steppes of Ukraine and Russia. https://www.science.org/content/article/mysterious-indo-european-homeland-may-have-been-steppes-ukraine-and-russia.

44. Yamnaya culture. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Yamnaya_culture.

45. Pennisi E. Humans are still evolving — and we can watch it happen. https://www.science.org/content/article/humans-are-still-evolving-and-we-can-watch-it-happen.

46. Gibbons A. How Europeans evolved white skin. https://www.science.org/content/article/how-europeans-evolved-white-skin.

47. Gramling C. The «hobbit» was a separate species of human, new dating reveals. https://www.science.org/content/article/hobbit-was-separate-species-human-new-dating-reveals.

48. Gibbons A. New human species discovered. https://www.science.org/doi/10.1126/science.349.6253.1149.

49. Gibbons A. First DNA extracted from an ancient African skeleton shows widespread mixing with Eurasians. https://www.science.org/content/article/first-dna-extracted-ancient-african-skeleton-shows-widespread-mixing-eurasians.

50. Price M. Africans, too, carry Neanderthal genetic legacy. *Science*. 2020. Vol. 367, N 6477. P. 497. https://doi.org/10.1126/science.367.6477.497.

51. Marchant J. Egyptian mummies yield genetic secrets. https://www.nature.com/news/egyptian-mummies-yield-genetic-secrets-1.12793.

52. Gibbons A. DNA from cave dirt tells tale of how some Neanderthals disappeared. https://www.science.org/content/article/dna-cave-dirt-tells-tale-how-some-neanderthals-disappeared.

53. Warren M. Biggest Denisovan fossil yet spills ancient human's secrets. *Nature*. 2019. Vol. 569, N 7754. P. 16—17. https://doi.org/10.1038/d41586-019-01395-0.

54. Bahrampour T. They considered themselves white, but DNA tests told a more complex story. https://www.washingtonpost.com/local/social-issues/they-considered-themselves-white-but-dna-tests-told-a-more-complex-story/2018/02/06/16215d1a-e181-11e7-8679-a9728984779c_story.html.

55. Vasiljevic N., Lim M., Humble E. et al. Developmental validation of Oxford Nanopore Technology MinION sequence data and the NGSpeciesID bioinformatic pipeline for forensic genetic species identification. *Forensic Science International: Genetics*. 2021. Vol. 53. P. 102493. https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102493.

56. Ponce de Leyn M.S., Bienvenu T., Marom A. et al. The primitive brain of early Homo. *Science*. 2021. Vol. 372, N 6538. P. 165—171. https://doi.org/10.1126/science.aaz0032.

57. Richerson P.J., Gavrilets S., de Waal F.B.M. Modern theories of human evolution foreshadowed by Darwin's Descent of Man. *Science*. 2021. Vol. 372, N 6544. eaba3776. https://doi.org/10.1126/science.aba3776.

58. Dolgin E. Evolutionary sprint made us human. https://www.science.org/content/article/evolutionary-sprint-made-us-human.

59. Pennisi E. Virus fighter may have played a key role in human evolution. https://www.science.org/content/article/virus-fighter-may-have-played-key-role-human-evolution.

60. Reardon S. Step aside CRISPR, RNA editing is taking off. *Nature*. 2020. Vol. 578, N 7793. P. 24—27. https://doi.org/10.1038/d41586-020-00272-5.

61. Grover N. Swedish geneticist wins Nobel medicine prize for decoding ancient DNA. https://www.reuters.com/world/svante-paabo-wins-2022-nobel-prize-medicine-2022-10-03/

ISSN 1027-3239 Вісник НАН України. 2022. N 12. С. 3—18.

BORN IN UKRAINE: NOBEL PRIZE WINNERS ILYA MECHNIKOV, SELMAN WAKSMAN, ROALD HOFFMANN, AND GEORGES CHARPAK

T.V. Danylova, S.V. Komisarenko

Our country has not yet gained recognition from a Nobel Committee, however some Nobel Prize winners were born in the territory, which belongs to present-day Ukraine. Among them are the father of cellular innate immunity Ilya Mechnikov; the famous microbiologist and biochemist Selman Waksman, whose studies had led to the discovery of streptomycin; the outstanding chemist, poet and playwright Roald Hoffmann, and the prominent physicist Georges Charpak who invented and developed particle detectors, in particular the multiwire proportional chamber. This paper aims to outline briefly the main stages of their scientific activity.

Keywords: *The Nobel Prize, Ukraine, phagocytosis, immunity, streptomycin, the course of chemical reactions, multiwire chamber.*

Contemporary science is to be understood within a new perspective of the multidimensional vision of its history. History of science is a colorful spectrum of the options for the development of humanity. Each of them has its advantages and disadvantages, and none is perfect. The history of science is not just a ladder that let humanity go up, but shining peaks of a mountain chain that complement each other and form a magnificent panorama. The outstanding achievements in science win the most prestigious science award — The Nobel Prize in Physics, Chemistry, Physiology or Medicine, Literature, and for Peace [1, 2]. The Prize in Economic Sciences in memory of Alfred Nobel was established by Sweden's central bank in 1968. 908 Laureates and 27 organizations have been awarded the Nobel Prize between 1901 and 2018 [3], and none of them was a representative of Ukrainian science. However, the land of Ukraine gave the world a constellation of Nobel Prize winners who revealed their great potential in the other countries.

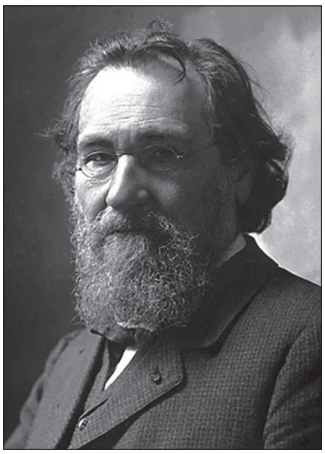
Ilya Mechnikov

Ilya Ilich Mechnikov, or **Élie Metchnikoff** (1845—1916) — an outstanding microbiologist, cytologist, embryologist, immunologist, physiologist, and pathologist. He was born in the village of Ivanovka, not far from Kharkov (present-day Ukraine), in the family of Ilya Ivanovich Mechnikov, the retired officer and land-owner, and Emilia Lvovna (née Nevahnovich), the daughter of the famous Jewish publicist and enlightener Leo Nikolaevich Nevahovich (Yehuda Leib ben Noach).

Ilya's mother encouraged him to pursue a scientific career in the field of life sciences. In 1856, Ilya Mechnikov enrolled at the Lycйe Kharkov. Here at the age of fifteen, he first encountered a microscope and started studying cells and structure of tissues. In 1863, Ilya became a student of the University of Kharkov. Completing

a four-year course in two years, he continued his education in Germany and Italy.

In Giessen (Germany) he made his first scientific discovery on the intracellular digestion of flatworms. Exploring the development of invertebrate model organisms, Ilya Mechnikov tried to shed light on the origin of multicellular organisms and the mechanisms of tissue differentiation. He established a new field of science known as comparative embryology. In 1867, Ilya earned his doctorate and both with his friend Alexander Kovalevsky shared the first Karl Ernst von Baer Prize [4]. Mechnikov was appointed Associate Professor at Odessa University. After a conflict with his colleagues, he had left to St. Petersburg, but in 1870 he returned back to Odessa as a Titular Professor of Zoology and Comparative Anatomy [5].



Ilya Mechnikov
(photo from the Nobel Foundation archive)

In 1882 due to political turmoil in the Russian Empire, Ilya Mechnikov left the university and went to Messina (Italy), where he made the most important discovery — phagocytosis. During his further work, he proved the role of phagocytosis in protecting the body from infections [6]. He was not the first to observe the process of phagocytosis, however, he was the first to state that phagocytosis served as a natural immune system.

In 1885, a scientist returned to Odessa where he stayed for one year. Then he left his homeland forever — he went to Paris where he headed the Department of Comparative Morphology of Microorganisms at the Pasteur Institute. Later he became a Deputy Director of this famous foundation. «During his years at the Pasteur Institute, Mechnikov authored treatises on the topics of senescence, disease, and death. In his 1903 Études sur la nature humaine: Essai de philosophie optimiste (The Nature of Man: Studies in Optimistic Philosophy), he argued that science, rather than religion or philosophy, can lead to meaningful optimism, despite the apparent disharmony between humans and their environment. According to Mechnikov, science could, and would continue to, suppress disease and regulate proper hygiene, thereby contributing to the progress of civilization» [5].

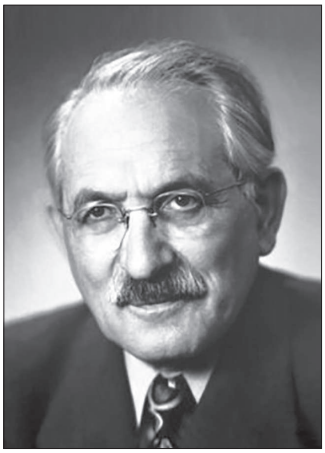
For Ilya Mechnikov, France became the second motherland. In 1908, he was awarded, together with Paul Ehrlich, the Nobel Prize in Physiology or Medicine «in recognition of their work on immunity» [7].

Ilya Mechnikov is considered the father of innate cellular immunity. The prominent scientist received an honorary degree from the University of Cambridge and the Copley Medal of the Royal

Society. He had honorary memberships in the Academy of Medicine in Paris and the Academy of Sciences and Medicine in St. Petersburg [5].

In 1986 on behalf of the Academy of Sciences of Ukrainian Soviet Socialist Republic, the monument to I. Mechnikov was installed in front of the Department of Immunology named after I. Mechnikov at the Pasteur Institute, Paris, France. This monument was inspired by Prof. S. Komisarenko and created by a famous Ukrainian sculptor V. Znoba.

Selman Waksman

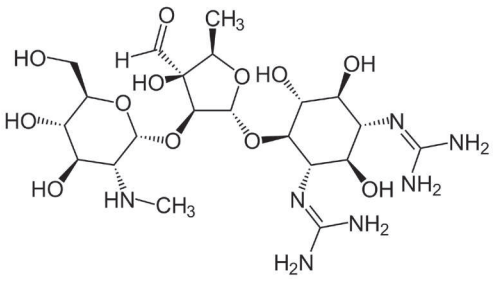


Selman Waksman (photo from the Nobel Foundation archive)

The other prominent scientist — microbiologist and biochemist **Selman Abraham Waksman** (1888—1972) — was born and raised in the rural town of Novaya Priluka (present-day Ukraine). The fertile soil of his region inspired his thought, and this curiosity had a great impact on his future field of research [8]. He was the only child of Fradia London, a textile merchant, and a former soldier and landlord Jacob Waksman. His family was Jewish, so his early education was of religious nature: Selman studied the Jewish texts and history. Growing older, he became less interested in religion. In 1910, he obtained his matriculation diploma from the Fifth Gymnasium in Odessa. However, he was faced with the problem of quotas on the number of Jewish students into universities. Following some of his relatives, he migrated to the United States where he enrolled at Rutgers College. In 1916 after performing research in soil bacteriology at the New Jersey Agricultural Experiment Station, he was awarded M.Sc. degree. This year he was appointed a Research Fellow at the University of California. The move to California was also his wedding trip: he married to Deborah Mitnik, a vocalist and artist from his hometown and the future mother of his son Byron Halsted Waksman — an American neuroimmunologist, experimental pathologist, educator, and medical association administrator who was born in 1919. In 1918, Selman Waksman earned his Doctor of Philosophy Degree in Biochemistry. He joined the faculty at Rutgers University (the Department of Biochemistry and Microbiology). In 1925, he was appointed Associate Professor and in 1930 — Professor.

In 1940, he headed the Department of Microbiology. He became Director of the Institute of Microbiology in 1949 [9, 10].

In 1923, Selman Waksman and his student Robert Starkey discovered that actinomycetes colonies growing in soil killed many common soil bacteria [11]. Inspired by the discovery of Rene Dubois and Oswald Avery who isolated a soil bacterium that could attack the capsular polysaccharide of Streptococcus pneumoniae, Waksman started searching for more antibacterial organisms in soil samples [8]. Waksman's team discovered four bacteria-killing chemicals: actinomycin, clavacin, fumigacin, and **streptothricin** [12]. Unfortunately, all appeared to be toxic to animals and thus of little therapeutic value. Later, he identified more than 20 new natural inhibitory



Streptomycin

substances, including streptomycin and neomycin. It was Selman Waksman who coined the word «antibiotic» to describe them.

In 1952, Selman Abraham Waksman was awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine «for his discovery of streptomycin, the first antibiotic effective against tuberculosis» [14].

An American biochemist R.D. Hotchkiss in his biographical memoir «Selman Abraham Waksman (1888—1973)» stated: «For Waksman the discovery of streptomycin in 1944 and its effect on the tubercle bacillus accomplished with the collaboration of A. Schatz and confirmation by E. Bugie was a rich and satisfying fulfillment of many of his personal and altruistic aims. Ever practical, he established effective and congenial relations with Merck and Company, which developed liquid culture methods for production of bulk quantities of the microbial products during World War II. Patenting and licensing the promising ones, notably streptomycin, provided funds, 80 percent of which was assigned to Rutgers University to support research and eventually an associated Institute of Microbiology. He also soon arranged to have animal tests and clinical trials carried out at the Mayo Clinic to expedite the possible use in treating tuberculosis. Of the 20 percent of license funds accruing in his own name, one half was later consigned to a foundation for research support» [13, p. 9]. For his tremendous work, Selman Waksman received the Albert Lasker Award for Basic Medical Research (1948), French Legion Honor (1950), Leeuwenhoek Medal (1950). Since 1968, every two years, the National Academy of Sciences has awarded the Selman A. Waksman Award in Microbiology for «excellence in the field of microbiology» [12].

Selman Waksman always remembered his hometown in Ukraine. Travelling with his wife in Europe in 1924, they were welcomed to visit their native Ukraine. They were shocked at a depressing decay in conditions there. In five years, they visited Novaya Priluka together with their son.

Selman Waksman — Father of Antibiotics — died in 1973 in Woods Hole, Massachusetts.

Selman Waksman was an extraordinary scholar — he was the author and coauthor of over 400 scientific papers and 28 books, among which is his autobiography «My Life with the Microbes».

Roald Hoffmann

The fate of **Roald Hoffmann** (born 1937) — the Nobel Prize winner in Chemistry — is amazing. Hoffmann (birth name — Roald Safran) was born in Złoczyw, Poland (now Zolochiv, Lviv region, present-day Ukraine) in the Jewish family. His mother Clara Safran (née Rosen) was a teacher and his father Hillel Safran was a civil engineer graduated from Lviv (Lemberg) Polytechnic.

During World War II, Hoffmann's family was placed in a labor camp. As many prisoners were transferred to extermination camps, Roald's father helped him and his

mother to escape from the camp. Together with three family members, they found a shelter in the Ukrainian village of Univ. Ukrainian teacher Mykola Dyuk and his wife Maria hid them in the school attic, where they remained for fifteen months. As Hoffman stated, the Dyuk family saved them at the incredible risks to their lives [15]. Contact with the Dyuk family was maintained over the years.

Roald Hoffmann (photo from the Nobel Foundation archive)

Many years later, Roald Hoffmann said, «I am very happy to have been born in the Ukraine. If I had remained, it could be that I would be a very good psychiatrist... It was not my fate. I am here. I am not unhappy... I have had a good career. I have a good family. I am happy. I am eternally grateful to the Dyuk family because I would not be here, because if it were not for the good deeds of Mykola and Maria Dyuk» [15].

In 2007, Roald Hoffman and his sister Elinor turned to Yad Vashem and asked to recognize Mykola and Maria Dyuk as Righteous Among the Nations and on September 23, 2007, «the commission for the Designation of the Righteous conferred upon Mykola and Maria Dyuk the title of the Righteous Among the Nations» [17].

In 1944, Red Army liberated the prisoners from the camps. Roald and his family moved to Krakow (Poland), where the boy started attending school. His mother married Paul Hoffmann who became a very good step-father to Roald.

In 1949, they relocated to the United States of America. In 1955, Roald graduated from Stuyvesant High School, became a U.S. citizen and took his stepfather's last name. He enrolled at Columbia University in New York City in 1955. In 1958, Roald Hoffmann received his Bachelor of Arts Degree in Chemistry at Columbia College, in 1960 — Master of Arts Degree in Physics, and his Doctor of Philosophy Degree in Chemical Physics in 1962, both from Harvard University [18].

In 1960, he married Eva Вцrjesson whom he met attending a summer program in quantum chemistry at the University of Uppsala in Sweden. They had two children — a son, Hillel Jan, and a daughter, Ingrid Helena. Hoffmann continued research in applied theoretical chemistry at Harvard. In 1964, he began to work with Robert Burns Woodward. Accepting a position as Associate Professor of Chemistry at Cornell University in Ithaca, New York, in 1965, he continued his work with Woodward. They discovered that many reactions involving the formation or breaking of rings of atoms take courses that depend on an identifiable symmetry in the mathematical descriptions of the molecular orbitals that undergo the most change [19, 20]. They formulated the WoodwardHoffmann rule describing the principle of preserving orbital symmetry in synchronic reactions. In 1968, Hoffmann was promoted to Full Professor at Cornell. From 1974 to 1996 he was John A. Newman Professor of Physical Sciences.

In 1981, Roald Hoffmann received the Nobel Prize in Chemistry, which he shared with Kenichi Fukui — a Japanese chemist — «for their theories, developed independently, concerning the course of chemical reactions». Independently of one another, Roald

Photos of Mykola and Maria Dyuk (personal archive of Prof. R. Hoffman) [16]

Hoffmann and Kenichi Fukui demonstrated how the symmetrical properties of electron orbitals explain the course of chemical reactions [21].

Roald Hoffmann summarized his contribution to science: «My first major contribution was the development of the extended Huckel method, a molecular orbital scheme which allowed the calculation of the approximate sigma- and pie-electronic structure of molecules, and which gave reasonable predictions of molecular conformations and simple potential surfaces... My second major contribution was a two-pronged exploration of the electronic structure of transition states and intermediates in organic reactions» [22].

Roald Hoffmann has received many awards and distinctions, including Priestley Medal; Arthur C. Cope Award in Organic Chemistry; Organic Chemistry Award (American Chemical Society), 1969; Inorganic Chemistry Award (American Chemical Society), 1982; Pimentel Award in Chemical Education (1996); Award in Pure Chemistry; Monsanto Award; National Medal of Science; National Academy of Sciences; American Academy of Arts and Sciences Fellow; American Philosophical Society Fellow; Foreign Member, Royal Society; Member of the Royal Swedish Academy of Sciences; Harvard Centennial Medalist; James T. Grady-James H. Stack Award for Interpreting Chemistry [23].

Hoffmann's interests are more than just pure science. As he emphasizes, the world of the arts and literature just opened up to him in his college days [24]. He is also a writer, «carving out for himself a land between poetry, philosophy and science» [18].

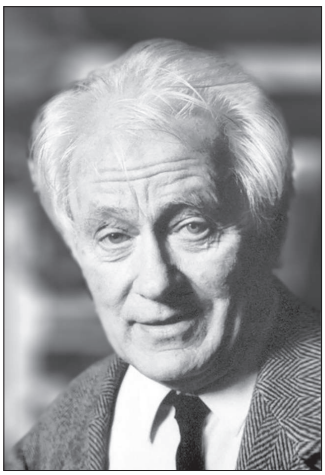
He has written about a wide variety of topics, such as chemistry's relationship to philosophy, literature, and the arts, including the nature of chemical reasoning, the role of symbolism and writing in science, and the relationship between art, craft, and science [25, 26]. Since 1996, Roald Hoffman is a Frank H.T. Rhodes Professor of Humane Letters, Emeritus at Cornell University. His interest in poetry was stimulated by Mark Van Doren at Columbia. He is the author of «The Metamict State» (1987);

«Gaps and Verges» (1990); «Memory Effects» (1999); «Soliton» (2002); «Catalista: Poemas Escogidos» (2002), «Roald Hoffmann. Izbrannie Stichotvorenia» (2010) [27]. He has also co-written a play entitled «Oxygen», and two by himself, «Should've» and «Something that Belongs to You», which is about the Jewish family saved by the Ukrainian family during World War II.

In his interview, Roald Hoffmann strongly advocates for art: «We need the arts, for they address the problems that are capable of no solution, only infinite paraphrasing, infinite resolutions. There is room for the million-third poem about the end of love, for there is no strict calculus of that loss. The humanities also temper the dictates of politics and reason, they make you understand that things are never black or white, but shades of gray in which fallible men and women strive to be good to others and to themselves. Something is not right about a major university (mine!) into which there come annually 400 million dollars in federal support, of which 385 go for science and engineering, and less than 1 million for the humanities. No reason to blame the government or the university — people need to change too» [28]. In 2017, Zolochiv, the hometown of Roald Hoffman, held an event to commemorate Hoffmann's 80th birthday. Zolochiv has named a street after him, and Ukraine issued a postage stamp on his birthday [24].

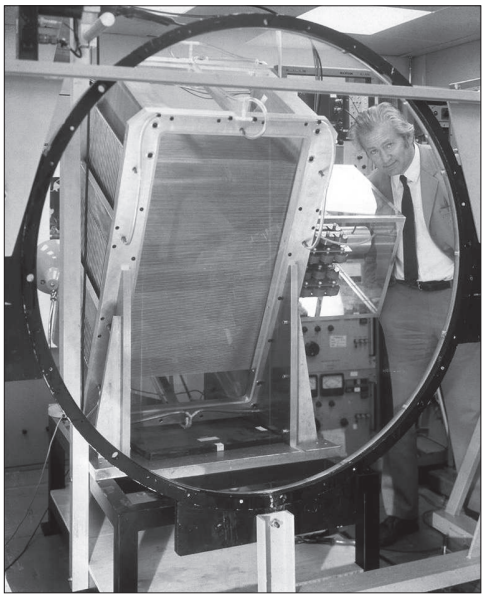
Georges Charpak

One of the most prominent scientists of our time — **Georges Charpak** (1924—2010) — is our fellow countryman too. He was born in Dąbrowica in Poland (now Dubrovytsia, Rivne region, present-day Ukraine) to the Jewish family of Anna (née Szapiro) and Maurice Charpak. When he was seven years old, their family moved to Paris, France. During World War II, Georges Charpak joined the French Resistance and helped French partisans. In 1943, he was imprisoned by Vichy authorities and later deported to the Nazi concentration camp in Dachau. In 1945, the camp was liberated, and the next year Georges Charpak became a French citizen.



Georges Charpak (photo from the Nobel Foundation archive)

In 1945, he enrolled at one of the most prestigious engineering schools in France — École des Mines, from which he graduated in 1948 earning the Degree of Civil Engineer of Mines. Georges realized that he was interested in physics more than in engineering and in 1949 he became a pupil of Frédéric Joliot Curie at the Collège de France and obtained a research position at the National Centre for Scientific Research (CNRS). He received his Doctor of Philosophy Degree in Nuclear Physics in 1954. His thesis was on the subject of very low radiation associated with the disintegration of nuclei [30]. In 1953, Georges Charpak married Dominique Vidal, and the couple had two sons, Yves and Serge, and a daughter, Nathalie.



Georges Charpak and a particle detector, 1973 [35]

In 1959, Georges Charpak joined the staff of CERN in Geneva, where he focused on the development of new techniques for particle physics detectors [31]. He worked first in the Synchro-cyclotron division, then in the Nuclear Physics division (1961), and the Experimental Physics division (1976). After his retirement from CERN, he continued to work in the Particle Physics Experiment division, the Accelerator Technology division, and the Large Hadron Collider division [32]. He worked mainly on the development of new techniques for particle detection. In 1968, he built his first multiwire proportional tracking chamber. Largely due to his work, particle physicists have been able to focus their interest on very rare particle interactions, which often reveal the secrets of the inner parts of matter. His invention revolutionized particle detection bringing it into the new level — the electronic age. In his chamber, Charpak used modern electronics and connected the detector directly to a computer. His fundamental idea has been developed, and for many years Georges Charpak has been at the forefront of this development [33]. The speed and precision of the multiwire chamber and its descendants, the drift chamber and the time projection chamber, revolutionized highenergy physics [34].

In 1985, Charpak was elected to the French Academy of Sciences and received many honors and awards.

In 1992, he won the Nobel Prize in Physics «for his invention and development of particle detectors, in particular the multiwire proportional chamber» [36]. Georges Charpak in his Nobel Lecture emphasized that multiwire chambers «gave rise to further developments in the art of detectors, of which some are highly innovative. Most high-energy physics experiments make use of these methods, but their application has extended to widely differing fields such as biology, medicine, and industrial radiology» [37]. Indeed, physicist's work led to a significant improvement in medical radiography making it possible to reduce patients' exposure to radiation.

At the time Georges Charpak received the Nobel Prize, John Peoples Jr., then-director of the Fermi National Accelerator Laboratory in Illinois, said: «If you were to remove everything Charpak invented from all the particle detectors at all the big accelerator laboratories, you would simply not have anything left» [38].

Georges Charpak is the founder of the SOS committee at CERN, which helps those imprisoned, as he was, by repressive governments. In 2001, he received the European Grand Prix for Innovation Award in medical and biological engineering [39]. He published numerous scientific papers and books. In 2001, Georges Charpak and his co-author, American Enrico Fermi Award-winner Richard L. Garwin, analyzed nuclear issues and their potential impacts on the environment, economy,

public health, and world peace in their book «Megawatts and Megatons: A Turning Point in the Nuclear Age?» [40].

Georges Charpak was also a devoted teacher. He set up La Main a la Pвte (Hands On) movement, which promotes experimental sciences in elementary schools and encourages pupils to investigate scientific problems on a practical level. He was deeply committed to the educational process [31, 41]. Our famous fellowman Georges Charpak went down in history as a prominent physicist of the 20th century.

Our country has not yet gained recognition from a Nobel Committee, however many Nobel Prize winners were born, began their scientific journey or worked for a while in the territory, which belongs to present-day Ukraine: Shmuel Yosef Agnon (in Literature, 1966), Svetlana Alexievich (in Literature, 2015), Simon Smith Kuznets (in Economic Sciences, 1971), Igor Tamm (in Physics, 1958), Lev Landau (in Physics, 1962). The roots of some Nobel Prize winners, who were born in the other countries, Georges Charpak and a particle detector, 1973 [35] are traced back to the Ukrainian lands, which have always been ethnically and culturally diverse: Cйsar Milstein (in Physiology or Medicine, 1984), Eric Kandel (in Physiology or Medicine, 2000), Ralph M. Steinman (in Physiology or Medicine, 2011), Herbert Charles Brown (in Chemistry, 1979), Dan Shechtman (in Chemistry, 2011), Murray Gell-Mann (in Physics, 1969), David Jonathan Gross (in Physics, 2004), Serge Haroche (in Physics, 2012), Boris Pasternak (in Literature, 1958). A bright constellation of thinkers received the highest international distinction as the citizens of the other countries.

Unfortunately, the lack of proper conditions for scientific research, poor science funding, beggarly salaries and pensions, the lack of interest in the new investigations and projects among Ukrainian authorities and Ukrainian society make Ukrainian scientists uncompetitive on the world «scientific market», inhibit the rise of modern science in Ukraine, cause brain drain to the highly developed countries with better living and working conditions. Today, the development of Ukrainian science, which is inextricably linked to the economic, political, social, and cultural spheres of society, should become a priority for both our state and society. It is not a private matter, but one of the most urgent problems, which can only be addressed at the state level. And then the future Ukrainian Nobel Prize winners will contribute to the world scientific and art treasury and multiply the spiritual and cultural heritage of humankind.

НАРОДЖЕНІ В УКРАЇНІ: ЛАУРЕАТИ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ ІЛЛЯ МЕЧНИКОВ, ЗЕЛЬМАН ВАКСМАН, РОАЛД ГОФФМАН І ЖОРЖ ШАРПАК

Т.В. Данилова, С.В. Комісаренко

Наша країна ще не отримала визнання від Нобелівського комітету, проте деякі лауреати Нобелівської премії народилися на території, яка належить сучасній Україні. Серед них батько клітинного вродженого імунітету Ілля Мечников; відомий мікробіолог і біохімік Зельман Ваксман, дослідження якого сприяли відкриттю стрептоміцину; видатний хімік, поет і драматург Роалд Гоффман і славетний фізик Жорж Шарпак, який розробив і вдосконалив детектори елементарних частинок, зокрема багатодротову пропорційну камеру. У цій статті наведено короткий огляд основних етапів їхньої наукової діяльності.

Ключові слова: *Нобелівська премія, Україна, фагоцитоз, імунітет, стрептоміцин, хід хімічних реакцій, багатодротова камера.*

REFERENCES

1. Danilova V.M., Vinogradova R.P., Komisarenko S.V. Alfred Bernhard Nobel and the Nobel Prize. *Ukr. Biochem J.* 2018. Vol. 90, N 4. P. 121—134.

2. Danylova T.V., Komisarenko S.V. Scientific Investigations of the Nobel Prize Winner Emil Fischer as a Launching Pad for the Development of Biochemistry: A Brief Overview. *Ukr. Biochem J.* 2018. Vol. 90, N 4. P. 135—142.

3. Nobel Prize facts. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/facts/nobel-prize-facts/#note.

4. Gilbert S.F. (Ed.). A Conceptual History of Modern Embryology. The John Hopkins University Press, 1994. 280 p.

5. Racine V. Ilya Ilyich Mechnikov (Йlie Metchnikoff) (1845—1916). The Embryo Project Encyclopaedia. Regime of access: https://embryo.asu.edu/pages/ilya-ilyich-mechnikov-elie-metchnikoff-1845-1916.

6. Ezepchuk Yu.V. & Kolybo D.V. Nobel Laureate Ilya Metchnikoff (1845—1916). Life Story and Scientific Heritage. *Ukr. Biochem. J.* 2016. Vol. 88, N 6. P. 98—109.

7. Ilya Mechnikov. Facts. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1908/mechnikov/facts/

8. Kresge N., Simoni R.D. & Hill R.L. Selman Waksman: the father of Antibiotics. *Journal of Biological Chemistry*. 2004. Regime of access: http://www.jbc.org/lens/jbc/279/48/e7.

9. Selman Waksman and Antibiotics. National Historic Chemical Landmark. American Chemical Society. Regime of access: https://www.acs.org/content/acs/en/education/whatischemistry/landmarks/selmanwaksman.html.

10. Selman Waksman (1888—1973). Jewish Virtual Library. Regime of access: https://www.jewishvirtuallibrary.org/selman-waksman.

11. Waksman S.A. & Starkey R.L. Partial Sterilization of Soil, Microbiological Activities and Soil Fertility. *Soil Science*. 1923. Vol. 16, N 4. P. 247—268.

12. Selman Waksman. Famous Scientists. The Art of Genius. Regime of access: https://www.famousscientists.org/selman-waksman/

13. Hotchkiss R.D. Biographical memoir of Selman Abraham Waksman. Biographical memoirs. Vol. 83, National Academy Press, Washington D.C., 2003. Regime of access: http://www.nasonline.org/publications/biographical-memoirs/memoir-pdfs/waksman-selman-a.pdf.

14. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1952. The Nobel Prize. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1952/summary/.

15. Saved by A Ukrainian Family, Jewish Boy Lived to Become a Nobel Laureate. YouTube. Regime of access: https://www.youtube.com/watch?v=yEhhNs1hyms.

16. Kresy P.L. Regime of access: https://kresy.pl/wydarzenia/zydowski-noblista-ukraina-powinna-przyznac-ze-upa-mordowala-polakow-i-zydow/

17. Dyuk Family. The Righteous Among the Nations. YAD VASHEM. Regime of access: http://db.yadvashem.org/righteous/family.html?language=en&itemId=6601540.

18. Roald Hoffmann. Long Biography. Roald Hoffmann. Regime of access: http://www.roaldhoffmann.com/long-biography.

19. Roald Hoffman. (1937——). Jewish Virtual Library. Regime of access: https://www.jewishvirtuallibrary.org/roald-hoffmann.

20. Roald Hoffmann. American Chemist. Encyclopaedia Britannica. Regime of access: https://www.britannica.com/biography/Roald-Hoffmann.

21. Roald Hoffmann. Facts. The Nobel Prize. 1981. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1981/hoffmann/facts/

22. Roald Hoffmann. Biographical. The Nobel Prize. 1981. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1981/hoffmann/biographical/

23. Roald Hoffmann (Safran), Nobel Prize in Chemistry, 1981. GENi. 2018. Regime of access: https://www.geni.com/people/Roald-Hoffmann-Safran-Nobel-Prize-in-Chemistry-1981/6000000014233209639.

24. Ndlovu Y.L. Ukrainian hometown celebrates Nobel prize-winning professor. The Department of Chemistry & Chemical Biology. Cornell University. 2017. Regime of access: https://chemistry.cornell.edu/news/ukrainian-hometown-celebrates-nobel-prize-winning-professor.

25. Hoffmann R., Whyte I.B. Beyond the Finite: The Sublime in Art and science. Oxford University Press, 2011. 208 p.

26. Kovac J., Weisberg M. Roald Hoffmann on the Philosophy, Art, and Science of Chemistry. Oxford University Press, 2012. 400 p.

27. Roald Hoffmann. Poetry Books. Roald Hoffmann. Regime of access: http://www.roaldhoffmann.com/poetry-books.

28. Romanska M. Between Art and Science: A Conversation with Roald Hoffmann. *Cosmopolitan Review*. 2014. Vol. 6, N 2. Regime of access: http://cosmopolitanreview.com/roald-hoffman/

29. Georges Charpak. Lycйe Joffre. Regime of access: http://www.lyceejoffre.net/cpge/blog/2010/10/15/georges-charpak-1924-2010/

30. Charpak G., Suzor F. Experimental Study of the Electrons of the Residual Atom Ejected From Their Orbits During the Dissintegration of P$sup 3$$sup 2$. *Journal de Physique et le Radium*. 1954. Web.

31. CNRS pays tribute to Nobel Prize Georges Charpak. Press Release. CNRS. 2010. Regime of access: http://www2.cnrs.fr/en/1789.htm?debut=360.

32. Archives of Georges Charpak. CERN Scientific Information Service. 2011. Regime of access: http://library.cern/archives/CERN_archive/guide/experimental_physics/division/isacharpak.

33. Georges Charpak (1924—2010). Jewish Virtual Library. Regime of access: https://www.jewishvirtuallibrary.org/georges-charpak.

34. Georges Charpak. French Physicist. Encyclopaedia Britannica. Regime of access: https://www.britannica.com/biography/Georges-Charpak.

35. CERN Library. Facebook. 2018. Regime of access: https://www.facebook.com/CERNLibrary/posts/1968-georges-charpak-invents-the-multi-wire-proportional-chamberthrowbackthursda/10156004563326970/

36. Georges Charpak. Facts. The Nobel Prize. 1992. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1992/charpak/facts/

37. George Charpak. Nobel Lecture. December 8, 1992. The Nobel Prize. 1992. Regime of access: https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1992/charpak/lecture/

38. Maugh II T.H. Georges Charpak dies at 86; French physicist won Nobel Prize. Los Angeles Times. October 8, 2010. Regime of access: http://articles.latimes.com/2010/oct/08/local/la-me-georges-charpak-20101008.

39. Oakes E.H. Encyclopaedia of World Scientists. Infobase Publishing, 2007. 852 p.

40. Garwin R.L., Charpak G. Megawatts and Megatons: A Turning Point in the Nuclear Age? Alfred A. Knopf, 2001. 412 p.

41. Close F. Georges Charpak Obituary. The Guardian. October 7, 2010. Regime of access: https://www.theguardian.com/science/2010/oct/07/georges-charpak-obituary.

ISSN 2409-4943 Ukr. Biochem. J. 2019. Vol. 91, N 3. P. 127—137.

ПЕРЕМОГА МРНК-ВАКЦИН НАД ПАНДЕМІЄЮ КОРОНАВІРУСУ SARS-COV-2, ЯКИЙ ВИКЛИКАЄ ЗАХВОРЮВАННЯ COVID-19, АБО ЯК СИНТЕТИЧНА МРНК ПРОСЛИЗНУЛА ПОВЗ УРОДЖЕНИЙ ІМУННИЙ ЗАХИСТ КЛІТИНИ

Нобелівська премія з фізіології або медицини 2023 року

С.В. Комісаренко, С.І. Романюк

Нобелівську премію з фізіології або медицини у 2023 р. присуджено двом вченим: угорсько-американському біохіміку Каталін Каріко (Katalin Kariky) та американському імунологу Дрю Вайсману (Drew Weissman) з Пенсільванського університету в Філадельфії (Каталін Каріко одночасно працює в Угорщині в Сегедському університеті) «за відкриття щодо модифікацій нуклеозидних основ, які дозволили розробити ефективні мРНК-вакцини проти COVID-19». Як зазначено у пресрелізі Нобелівського комітету, відкриття цьогорічних нобелівських лауреатів мали вирішальне значення для створення ефективних мРНК-вакцин проти COVID-19 під час пандемії, що трапилася на початку 2020 р. Їхні революційні відкриття, які фундаментально змінили наше розуміння того, як мРНК взаємодіє з імунною системою, сприяли тому, що безпрецедентно швидко вдалося розробити вакцини для боротьби з однією з найбільших за останній час загроз здоров'ю людини.

***Ключові слова**: Нобелівська премія з фізіології або медицини 2023 року, Каталін Каріко, Дрю Вайсман, пандемія SARS-CoV-2, COVID-19, мРНК-вакцина.*

2 жовтня 2023 р. Нобелівський комітет при Каролінському медичному інституті у Стокгольмі оголосив імена лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини, розпочавши 122-й нобелівський тиждень. Компанія Clarivate (яка раніше називалася Clarivate Analytics) за аналізом кількості цитувань заздалегідь визначила імена найбільш імовірних претендентів на Нобелівську премію з фізіології або медицини 2023 р.

Це насамперед американці Карл Джун (Carl June) — професор імунотерапії відділу патології та лабораторної медицини, директор Центру клітинної імунотерапії Медичної школи Перельман при Пенсільванському університеті у Філадельфії, Стівен Розенберг (Steven Rosenberg) — керівник хірургічного відділення Центру дослідження раку Національного інституту раку в Бетесді (штат Меріленд) та Мішель Саделайн (Michel Sadelain) — директор Центру клітинної інженерії Меморіального онкологічного центру Слоуна—Кеттерінга в Нью-Йорку, які здійснили прорив у лікуванні раку за допомогою інженерії Т-клітин з химерними антигенними рецепторами (CAR T cells).

По-друге, ймовірним кандидатом на премію назвали американця Роба Найта (Rob Knight) — директора Центру мікробіомних інновацій Каліфорнійського університету в Сан-Дієго за проведення обчислювальних та експериментальних досліджень, які розкрили складні мікробні екосистеми людського організму. По-третє, Нобелівську премію могли б отримати Еммануель Міньо (Emmanuel Mignot) — професор медицини сну відділу психіатрії та пове-

дінкових наук Стенфордського університету (штат Каліфорнія), Кліффорд Сапер (Clifford Saper) — професор нейрології Медичного центру Бет Ізраель Діаконісса і Гарвардської медичної школи в Бостоні (штат Массачусетс) та Масасі Янагісава (Masashi Yanagisawa) — директор Міжнародного інституту інтегративної медицини сну Цукубського університету (Японія), ад'юнкт-професор відділу молекулярної генетики Південно-західного медичного центру Техаського університету в Далласі (США) за генетичні та фізіологічні дослідження циклу сну/неспання, а також відкриття важливих регуляторів сну гіпокретинів (орексинів), що зумовлюють виникнення нарколепсії — порушення, яке характеризується денними нападами раптового засинання.

Прогнози співробітників компанії Clarivate справдилися лише частково: вони помилилися щодо імен лауреатів, але вгадали, що місцем їхньої роботи є Медична школа імені Реймонда та Рут Перельман при Пенсільванському університеті у Філадельфії (США). Слід зауважити, що дотепер із Пенсільванським університетом були пов'язані долі 27 нобелівських лауреатів, зокрема 9 лауреатів Нобелівської премії з фізіології або медицини, а Медична школа Перельман, яка була заснована в 1765 р. і стала першою медичною школою в США, зараз налічує 49 тис. співробітників, має річний оборот $11,1 млрд, а також відома своїми передовими досягненнями, такими як протиракова CAR-T-клітинна терапія.

Отже, в 2023 р. лауреатами 114-ї Нобелівської премії з фізіології або медицини стали угорська дослідниця Каталін Каріко (Katalin Kariky) та американський вчений Дрю Вайсман (Drew Weissman). Секретар Нобелівської асамблеї Томас Перльман оголосив мотивування нагородження: вчених було відзначено цією престижною премією «за відкриття щодо модифікацій нуклеозидних основ, які дозволили розробити ефективні мРНК-вакцини проти COVID-19». Згідно з офіційним пресрелізом, «завдяки своїм новаторським відкриттям, які докорінно змінили наше розуміння того, як мРНК взаємодіє з імунною системою, лауреати зробили внесок у безпрецедентні темпи розроблення вакцин під час однієї з найбільших загроз для здоров'я людини в наш час».

Церемонія нагородження лауреатів відбулася за традицією 10 грудня у Стокгольмі в день смерті Альфреда Нобеля. У 2023 р. суму Нобелівської премії збільшили на 1 млн шведських крон порівняно з минулим роком, тобто виплати становитимуть 11 млн шведських крон, або $984 тис.

Вручення Нобелівських премій рідко обходиться без скандалів. Так і цього року — 1 вересня світом почала ширитися хвиля міжнародного протесту проти рішення Нобелівського фонду запросити послів Росії та Білорусі на церемонію нагородження, хоча у 2022 р. їм було в цьому відмовлено через розв'язання їхніми країнами війни проти України. Вже наступного дня представники Нобелівського фонду заявили, що рішення запросити послів усіх акредитованих у Швеції та Норвегії країн на церемонію вручення Нобелівських премій викликало «бурхливу реакцію», через що запрошення представників Росії, Білорусі, Ірану та ультраправої партії Швеції було скасовано. Однак це обмеження стосувалося лише церемонії в Стокгольмі, але не в Осло, де вручатимуть Нобелівську премію миру.

Отже, що відомо про життєвий шлях і наукові здобутки нобелівських лауреатів з фізіології або медицини 2023 р.?

68-річна дослідниця Каталін Каріко, яка стала 61-ю жінкою-лауреатом Нобелівської премії, працює в Сегедському університеті (Угорщина) і в Пенсільванському університеті в Філадельфії (США). Каталін народилася 17 січня 1955 р. в м. Сульнок у центральній Угорщині. Її батько був м'ясником, а мати — бухгалтером, однак їхні здібності не обмежувалися професійними інтересами: мати захоплювалася музикою, а батько грав на скрипці та любив розв'язувати математичні головоломки. Дитинство Каталін пройшло в містечку Кішуйсаллаш у маленькому будинку без водопроводу, холодильника і телевізора. Вона зацікавилася біологією ще в ранньому віці, спостерігаючи за роботою батька. Під час навчання у Реформатській гімназії імені Моріца Жигмонда мала значні успіхи у природничих науках, зокрема ще під час навчання в початковій школі на конкурсі з біології посіла третє місце в Угорщині. Після закінчення школи Каріко вступила до Сегедського університету, де в 1978 р. здобула ступінь бакалавра з біології, а в 1982 р. — ступінь доктора філософії з біохімії. Після цього Каріко працювала під керівництвом Єньо Томаша в групі хімії нуклеотидів Інституту біофізики, а потім продовжила свої дослідження в Інституті біохімії Центру біологічних досліджень Угорщини.

Ще в студентські роки Каталін була завербована до розвідувальних служб комуністичної таємної поліції Угорщини, на які вона працювала з 1978 по 1985 р. під тиском постійних погроз руйнування її кар'єри та репресій проти батька. Хоча сама вона стверджує, що не надавала спецслужбам будь-якої інформації і не була агентом.

У 1985 р. фінансування лабораторії, в якій працювала Каріко, припинили, і вона почала шукати роботу за кордоном. Отримавши пропозицію від Роберта Сухадольника з Університету Темпл у Філадельфії (штат Пенсільванія), Каталін виїхала до США разом зі своїм чоловіком і дворічною донькою. Оскільки при виїзді дозволяли обміняти лише $100, вони контрабандою провезли у плюшевому ведмедику доньки £900, отриманих на чорному ринку в обмін на виторг від продажу автомобіля. Через три роки Каріко захотіла перейти з Університету Темпл в Університет Джона Гопкінса у Балтиморі (штат Меріленд), однак її керівник Роберт Сухадольник був категорично проти. Він повідомив імміграційній службі, що Каріко нібито перебуває в США «нелегально», і вимагав її депортації. І поки Каріко оскаржувала наказ про екстрадицію, пропозицію роботи вже відкликали. Крім того, Сухадольник поширював негативну інформацію про Каріко, що зробило неможливим пошук роботи в інших установах. Це тривало доти, доки Каталін Каріко не зустріла у Військово-морському шпиталі в Бетесді дослідника, який мав власний негативний досвід спілкування з Сухадольником. Завдяки його допомозі у 1988 р. Каталін Каріко перейшла до Військово-медичного університету (Uniformed Services University of the Health Sciences) в Бетесді. Ще через рік вона почала працювати з кардіологом Елліотом Барнатаном у Пенсільванському університеті в Філадельфії, а у 1990 р. отримала посаду ад'юнктпрофесора Медичної школи Перельман при Пенсільванському університеті.

Каталін Каріко. Фото: MTI/ Hegedьs Ryber

Каталін Каріко є членом Європейської академії (з 2020), Американської асоціації сприяння розвитку науки, Французької академії наук (з 2021), Німецької національної академії наук, Німецької академії наук «Леопольдина», Угорської академії наук, Національної академії винахідників США, Національної академії медицини США (з 2022) і Європейської організації молекулярної біології (з 2023). Вона стала 13-ю жінкою у світі та першою жінкою в Угорщині, яка отримала Нобелівську премію з медицини або фізіології. Загалом має понад 130 міжнародних нагород, серед яких: премія Сечені, медаль Вільгельма Екснера, премія «За людську гідність», премія Університету Кейо в галузі медицини, велика медаль Французької академії наук (2021), премія Пауля Ерліха та Людвіга Дармштедтера, премія L'Orйal ЮНЕСКО «Для жінок у науці», премія Луї Жанте в галузі медицини, медаль Гельмгольца, премія Перл Мейстер Грінгард (2022) та ін.

Зараз Каталін Каріко живе в Філадельфії разом зі своїм чоловіком на ім'я Бела Франція, з яким познайомилася під час навчання в Сегедському університеті в 1977 р. Він працює інженером, менеджером житлового комплексу. Їхня донька Сюзан Франція є спортсменкою, дворазовою олімпійською чемпіонкою з веслування (2008, 2012), заміжня за американським архітектором і має двох дітей. Драматична історія життя і наукових відкриттів Каріко лягла в основу сюжетів кількох книжок, виданих у 2023 р. Це книга Меган Хойт і Вів'єн Мілденбергер «Битва з COVID-19», дві дитячі книжки Деббі Дейді та Джуліани Оклі «Ніколи не здавайся: Доктор Каті Каріко та гонитва за майбутнім вакцин» і «Маленькі посланці Каті: Доктор Каталін Каріко», а також мемуари самої Каріко «Прорив: Моє життя в науці».

64-річний Дрю Вайсман є директором Пенсільванського інституту РНК-інновацій і професором медицини Медичної школи Перельман при Пенсільванському університеті у Філадельфії (США). Д. Вайсман народився 7 вересня 1959 р. в містечку Лексінгтон (штат Массачусетс) у сім'ї єврея та італійки. Хоча його мати не прийняла юдаїзм, Дрю ріс, відзначаючи всі єврейські свята. Освіту він здобув у приватних закладах рідного штату. Після закінчення в 1977 р. Лексінгтонської середньої школи Вайсман вступив до Брандей-

Дрю Вайсман. Фото: Stephen Boitano/LightRocke

ського університету, де спеціалізувався в галузі біохімії та ензимології, а також працював у лабораторії відомого біохіміка Джеральда Фасмана, який розробив методи прогнозування вторинної структури протеїнів за їх амінокислотною послідовністю. Після отримання ступенів бакалавра і магістра у 1981 р. Дрю Вайсман вступив до аспірантури Університету Бостона, де під керівництвом дослідниці аутоімунних захворювань Енн Маршак-Ротштейн виконував дисертаційну роботу з імунології, присвячену дослідженню можливості регуляції функцій В-лімфоцитів за допомогою антиідіотипічних антитіл. У 1987 р. Вайсман здобув ступені доктора медицини та доктора філософії, пройшов ординатуру в Медичному центрі Бет Ізраель Діаконісса в Бостоні та отримав стипендію Національного інституту охорони здоров'я США (NIH) на дослідження взаємодії вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ-1) з рецепторами імунних клітин, яке виконував під керівництвом Ентоні Фаучі — ще донедавна директора одного з найбільших інститутів NIH, Національного інституту алергії та інфекційних захворювань. У 1997 р. Вайсман перейшов до Пенсільванського університету, щоб відкрити свою лабораторію для вивчення РНК і вродженої імунної системи, де працює й дотепер.

Д. Вайсман є членом Європейської академії (з 1998), Берлінсько-Бранденбурзької академії природничих і гуманітарних наук (з 1999), Королівської шведської академії наук (з 2000), Німецької академії наук «Леопольдина» (з 2001), Французької академії наук, Лондонського королівського товариства (з 2016), Саксонської академії наук, Національної академії медицини США та Американської академії мистецтв і наук (з 2022).

Дрю Вайсман одружений з Мері Еллен Вайсман, вони мають двох дочок, яким прищепили свої культурні та релігійні цінності.

Протягом останніх трьох років (від початку масового застосування мРНК-вакцин проти COVID-19) на Каталін Каріко і Дрю Вайсмана буквально «посипалися» престижні наукові нагороди і відзнаки. Разом вони отримали такі нагороди, як премія Розенстіла (2020), премія Луїзи Гросс Горвіц, премія Медичного центру Олбані, премія принцеси Астурійської, премія Фонду BBVA «Межі знань», звання «Герої року» за версією журналу «Тайм» (2021), премія «За прорив» у науках про життя, медаль Бенджаміна Франкліна, медаль Джессі Стівенсон-Коваленко, премія Ласкера—ДеБейкі за клінічні медичні дослі-

дження, гран-прі премії VinFuture, премія Тан з біофармацевтичних наук від Тайванської академії Сініка, премія Фонду Воррена Альперта (2022). У 2022 р. імена Каталін Каріко і Дрю Вайсмана внесли до Національної зали слави винахідників.

Крім того, Дрю Вайсман окремо отримав премію принца Махідола, премію доктора Поля Янссена з біомедичних досліджень, премію Вільяма Колі, щорічну премію Нью-Йоркської медичної академії (2021), премію Японії, премію «Золота тарілка» Американської академії досягнень, премію Genome Valley Excellence, премію IVI-SK bioscience Park MahnHoon, премію фармацевтичної компанії «Ново Нордіск», премію Росса з молекулярної медицини від Інституту медичних досліджень Файнштейна, премію Роберта Коха, міжнародну премію канадського фонду Гайрднера (2022), премію Гарві (вручена у 2023 р. за 2021 р.).

Отже, Каталін Каріко та Дрю Вайсмана було відзначено Нобелівською премією з фізіології або медицини 2023 р. за відкриття, що стосуються модифікацій нуклеозидних основ, які дозволили розробити ефективні мРНК-вакцини проти COVID-19. Що ж особливого є в мРНК-вакцинах? До чого тут модифікації нуклеозидних основ? І чому цьогорічні лауреати ще донедавна були нікому не відомі й раптом отримали практично всі можливі нагороди та всесвітнє визнання?

мРНК-вакцина — це вакцина на основі матричної (або інформаційної) рибонуклеїнової кислоти, що кодує протеїн, характерний для патогена, проти якого створюється вакцина (наприклад, вірусу, бактерії чи пухлини). мРНК вакцини, як правило, знаходиться всередині ліпосоми — ліпідної «бульбашки» або всередині капсиду штучного вірусу (вектору), що захищає мРНК від руйнування і забезпечує її проникнення в клітину. Всередині клітини відбувається трансляція введеної мРНК, тобто клітинні механізми синтезу протеїнів (рибосоми) «зчитують», як з матриці, закодовану в мРНК інформацію про амінокислотну послідовність протеїну і синтезують його. Цей протеїн експонується на поверхні антиген-розпізнавальних клітин, розпізнається як чужорідний антиген імунною системою організму реципієнта та ініціює розвиток імунної відповіді проти патогену. Надалі, при потраплянні патогену в організм, імунна система впізнає його за вже відомим їй протеїном і знищує інфекцію (або пухлину), перешкоджаючи розвитку захворювання.

Як бачимо, механізм дії мРНК-вакцин по суті є подібним до традиційних вакцин, історія створення яких починається ще у VIII ст. у стародавній Індії, де винайшли так звану варіоляцію — втирання здоровій людині у шкіру гною від хворого на віспу. Це був смертельно небезпечний метод, проте він поширився по всьому світу. Цікаво, що в Києві за часів Катерини ІІ було відкрито віспяні будинки, в яких за проведення варіоляції держава платила вакцинованим третину річного заробітку (1 срібний рубль). Від цієї процедури відмовилися лише наприкінці XVIII ст., коли в Англії та Німеччині з'явилися більш безпечні способи профілактики — спроби щеплення коров'ячою віспою для захисту від натуральної віспи (зокрема, багатьом відомі публічні експерименти англійського лікаря Едварда Дженнера від 1796 р.).

Відтоді у складі вакцин почали використовувати вбитих (інактивованих) або ослаблених (атенуйованих) збудників, щоб сформувати імунітет проти певного захворювання. Спосіб одержання атенуйованих вакцин відкрив видатний французький вчений Луї Пастер. Саме він розробив вакцини проти сибірки (1881) і сказу (1885). Цікаво, що перше щеплення проти сказу було зроблено 6 липня 1885 р. на прохання матері 9-річного хлопчика Йозефа Мейстера, якого покусав скажений собака. На щастя, лікування закінчилося успішно, хлопчик видужав і потім усе життя працював швейцаром в Інституті Пастера (де на його честь встановили пам'ятник). До речі, асистентом Пастера при вакцинації (сам Пастер, як хімік за освітою, не мав права вакцинувати людей) був наш земляк Микола Гамалея, який потім став відомим академіком. Лише в середині XX ст. було розроблено переважну більшість традиційних вакцин проти інфекційних захворювань.

Оскільки перші вакцини викликали значні побічні реакції, наступним кроком у їх еволюції стало використання у складі вакцин окремих молекул патогенів (протеїнів, зокрема токсинів, олігосахаридів тощо). Французький ветеринар і біолог Гастон Рамон відкрив спосіб інактивації бактеріальних токсинів за допомогою формальдегіду з утворенням безпечних анатоксинів. Так, у 1923 р. він одержав дифтерійний і правцевий анатоксини, які виявилися надзвичайно ефективними компонентами відповідних вакцин. Згодом почали широко використовувати комбіновані вакцини (наприклад, вакцину АКДП, що містила адсорбовані на оксиді алюмінію анатоксини збудників кашлюка, дифтерії та правця), а також кон'юговані вакцини (наприклад, вакцину проти гемофільної інфекції, в якій олігосахариди було кон'юговано з протеїном-носієм).

Прорив у галузі молекулярної біології уможливив отримання будь-яких штучних (рекомбінантних) протеїнів патогенів без необхідності культивування небезпечних збудників. Вакцини на основі рекомбінантних протеїнів (субодиничні вакцини) виявилися більш безпечними, але менш ефективними порівняно з традиційними. Тому й досі їх намагаються вдосконалювати додаванням підсилювальних компонентів (ад'ювантів) або ж застосовують повторні щеплення (ревакцинація). Першою в 1986 р. було схвалено субодиничну вакцину проти гепатиту В, а в 2006 р. — вакцину проти вірусу папіломи людини, яку почали використовувати для профілактики раку шийки матки.

Крім того, рекомбінантні технології було використано для одержання вакцин на основі рекомбінантних вірусів-векторів, які могли ефективно доставляти в клітину протеїни патогену або РНК / ДНК, що їх кодувала. Першими вакцинами цього типу стали вакцини проти лихоманки Ебола, а також вакцина на основі живого ослабленого вірусу везикулярного стоматиту (схвалена в США у 2019 р.) та дводозова вакцина на основі нездатних до реплікації вірусів — аденовірусу Ad26 і модифікованого вірусу коров'ячої віспи Анкара (отримала винятковий дозвіл Європейської комісії у 2020 р.).

Ідея створення вакцин на основі ДНК або РНК виникла на початку 1990-х років і була дуже заманливою, оскільки виробництво таких вакцин є дешевшим, швидшим і безпечнішим порівняно з виробництвом традиційних вакцин, адже воно взагалі не потребує культивування будь-яких живих клітин і виділення патогенного протеїну. Обнадійливі результати перших випробувань

ДНК- і мРНК-вакцин на лабораторних тваринах опублікували, відповідно, американські [1] і французькі дослідники [2]. Однак введення в організм ДНК збудника підіймало питання біобезпеки щодо ймовірності включення чужорідного генетичного матеріалу в геном людини. До того ж випробування на людях показали недостатню ефективність ДНК-вакцин [3]. Однією з причин цього, ймовірно, була необхідність подолання складного шляху до ядра клітини, де відбувалася транскрипція (зчитування) ДНК з утворенням відповідної мРНК.

Вакцини на основі мРНК були безпечніші, але існувала низка нездоланних перешкод на шляху до їх практичного використання: мРНК-вакцини були нестабільними, викликали сильні імунні реакції до чужорідної вакцинної РНК і слабо стимулювали імунну відповідь проти патогенного протеїну, який ця РНК кодувала.

В результаті вакцини на основі РНК (або ДНК) у 1990-х роках стали вважати цікавою експериментальною розробкою, але абсолютно безперспективною. І саме відкриття, зроблені Каталін Каріко та Дрю Вайсманом, несподівано, ніби магічним чином, усунули всі недоліки мРНК-вакцин, підвищили їхню ефективність і відкрили грандіозні перспективи для практичного використання не лише вакцин, а й будь-яких терапевтичних препаратів на основі мРНК [7]. Як же це сталося?

Початок ери мРНК у біотехнології став можливим завдяки наполегливій роботі багатьох учених, які досліджували ДНК і РНК протягом 50 років до того, як Каталін Каріко та Дрю Вайсман зробили свої відкриття. Революція в розвитку молекулярної біології і генетики почалася з моменту з'ясування структури ДНК, а також відкриття РНК-полімерази та мРНК.

Відкриття двоспіральної структури ДНК у 1953 р. є, напевне, найвідомішим відкриттям у біології, яке здійснили Френсіс Крік, Джеймс Вотсон та Моріс Вілкінс (вони отримали за це Нобелівську премію з фізіології або медицини в 1962 р.) і Розалінда Франклін, яка зробила велику кількість рентгенівських знімків ДНК і допомогла відкриттю моделі ДНК, але померла від раку за чотири роки до нагородження.

РНК-полімеразу, що відповідає за синтез мРНК, було відкрито у 1960 р. незалежно американцями Семом Вайсом і Джерардом Гурвіцом. Цікаво, що за рік до цього американським ученим Артуру Корнбергу і Северо Очоа (іспанцю за походженням) вже було присуджено Нобелівську премію з фізіології або медицини 1959 р. за відкриття речовини, яку вважали РНК-полімеразою і яка згодом виявилася рибонуклеазою (ензимом, що розщеплює РНК). Пізніше за одержання точних зображень молекул РНК-полімерази в різні моменти процесу транскрипції Нобелівську премію з хімії 2006 р. було присуджено біохіміку Роджеру Корнбергу, сину Артура Корнберга. Через рік після відкриття РНК-полімерази дві групи вчених одночасно відкрили і саму мРНК [4, 5].

За відкриття, що стосувалися генетичного контролю синтезу ферментів і вірусів, французькі вчені Жак Моно, Франсуа Жакоб і Андре Львов, які працювали в Інституті Пастера в Парижі, отримали Нобелівську премію з фізіології або медицини 1965 р.

Перший доказ трансляції мРНК *in vitro* продемонстрували в 1969 р. Реймонд Локард і Джеррі Лінгрел. Вони показали, що у пробірці з безклітинною

системою ретикулоцитів кролика на основі мРНК миші успішно синтезується закодований протеїн — β-ланцюг гемоглобіну миші [6]. Водночас можливість керувати синтезом протеїнів у живій клітині in vitro за допомогою мРНК вперше показали в 1971 р. британські вчені з Оксфордського університету, які при введенні в яйцеклітини жаби мРНК, виділеної з ретикулоцитів (попередників еритроцитів) кролика, спостерігали синтез гемоглобіну в клітинах жаби внаслідок трансляції мРНК [7]. Лише майже через 20 років подібний експеримент було успішно проведено *in vivo* групою американського вченого Філіпа Фелгнера. Дослідники показали, що внутрішньом'язове введення мишам ДНК і мРНК призвело до стійкого синтезу трьох різних ензимів [8].

Для подолання основних проблем на шляху створення мРНК-вакцин було необхідно виконати кілька завдань: по-перше, для виробництва таких вакцин потрібно було знайти способи швидкого синтезу мРНК у великій кількості; по-друге, необхідно було розробити систему доставки мРНК в організм, яка б захищала її від згубної дії ензимів; по-третє, слід було усунути причину тяжких ускладнень, які викликала чужорідна мРНК через імунну реакцію організму проти неї. Незважаючи на те, що останнє завдання було практично нездійсненним, а його невиконання робило саму ідею мРНК-вакцин безперспективною, вчені зосередилися на реалізації перших двох завдань.

У середині 1980-х років було виявлено дві потужні РНК-полімерази, здатні забезпечити швидкий синтез мРНК *in vitro*. Пол Кріг і Дуглас Мелтон відкрили РНК-полімеразу бактеріофага SP6, який вражає збудника сальмонельозу Salmonella typhimurium [9], а в лабораторії Ф. Вільяма Стадієра клонували РНК-полімеразу бактеріофага T7 [10], на основі якої було розроблено і запатентовано ефективну систему транскрипції in vitro [11]. Після її оптимізації згодом було створено високоефективну систему для масштабного отримання мРНК.

У 1976 р. Роберт Лангер і Джуда Фолкман першими повідомили про використання нано-і мікрочастинок для упакування ДНК і РНК з метою їх використання як ліків [12]. Ця робота отримала багато критики, оскільки люди не розуміли, як велика молекула нуклеїнової кислоти може вийти з полімерної частинки. Вони казали: «Це як пройти крізь стіну!». Невдовзі було зроблено перші спроби використати для захисту мРНК і доставки її в клітини in vitro ліпосоми — штучні «бульбашки» з фосфоліпідів і холестерину, що нагадують природні мембранні везикули [13]. У 1987 р. стався прорив у цій галузі: Філіп Фелгнер уперше синтезував катіонний ліпід і одержав на його основі стабільні, позитивно заряджені ліпосоми (ліпофектин), які ефективно взаємодіяли з негативно зарядженими об'єктами (нуклеїновими кислотами та клітинною мембраною). У своїй праці він показав можливість доставки ДНК у клітини за допомогою ліпофектину [14]. Невдовзі Роберт Малоун зі співробітниками вперше продемонстрували доставку мРНК з використанням подібних катіонних ліпосом [15].

Однак введення ліпофектину в живий організм призводило до небажаних побічних ефектів через його позитивний заряд. Цю проблему вдалося вирішити Пітеру Каллісу з Університету Британської Колумбії у Ванкувері (Канада), який розробив менш токсичні іонізовані катіонні ліпіди, що могли змінювати

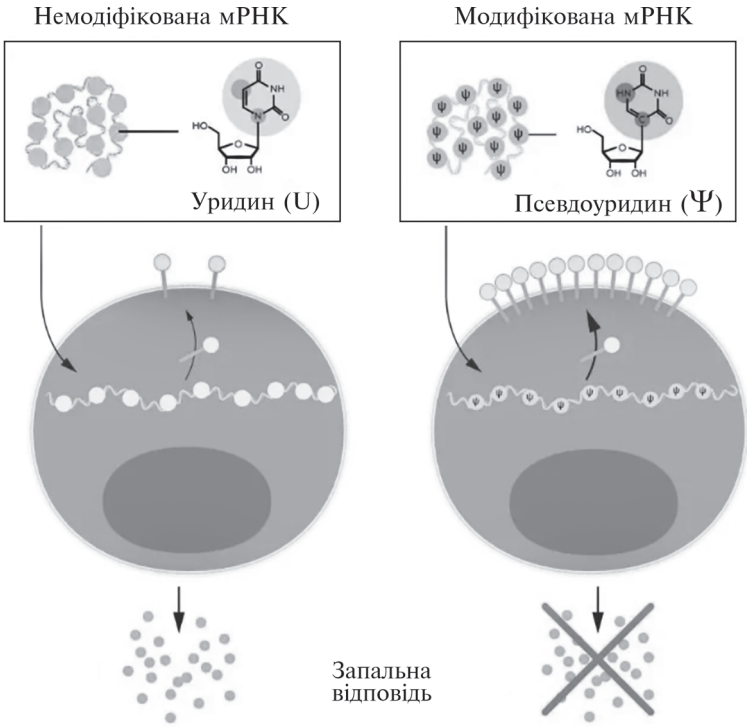
свій заряд з позитивного (в кислому середовищі) на нейтральний (у нейтральному середовищі організму). Згодом було виявлено ще більш ефективні іонізуючі катіонні ліпіди і на їх основі розроблено ліпосомні наночастинки, які складалися з кількох шарів: іонізованого катіонного ліпіда, допоміжного ліпіда, холестерину, а також поверхневого шару поліетиленгліколю, який запобігав агрегації наночастинок та неспецифічному поглинанню їх макрофагами і клітинами печінки [16].

Підвищити ефективність доставки ДНК- / РНК-вакцин намагалися також за допомогою рекомбінантних вірусних векторів, що використовували природний механізм проникнення вірусу в клітину. Зокрема, застосування як вектора РНК вірусу гарячки лісу Семлікі (Уганда), здатного до самореплікації, дозволило збільшити кількість копій мРНК і, відповідно, збільшити кількість протеїну, який синтезується [17]. Однак вірусні вектори також викликали імунну відповідь проти себе, що могло спричинити небажані реакції організму на вакцину.

На початку 1990-х років кілька груп учених працювали над вдосконаленням терапевтичних препаратів на основі мРНК і систем їх доставки. У 1992 р. було продемонстровано можливість лікування нецукрового діабету введенням мРНК, що кодувала вазопресин, щурам, які внаслідок мутації були нездатні синтезувати цей гормон [18]. У цей час Каталін Каріко в Пенсільванському університеті працювала над створенням мРНК-терапії для лікування ішемії та інсультів, зокрема досліджувала, як структурно-функціональні особливості мРНК впливають на рівень експресії терапевтичного протеїну. В результаті Каріко відкрила, що додавання до 3′-кінця мРНК довшої послідовності поліаденозину, так званого поліаденозинового «хвоста» або полі(А), поліпшувало експресію протеїну (люциферази) в клітинах мозку щурів [19].

Велику роль у розвитку цих досліджень відіграв Дрю Вайсман, який у Пенсільванському університеті займався дослідженням дендритних клітин та їх ролі у вакцинації. Це був дуже перспективний напрям досліджень, адже недарма у 2011 р. першовідкривач ролі дендритних клітин в імунітеті Ральф Штайнман отримав Нобелівську премію з фізіології або медицини. Каріко і Вайсман працювали в різних будівлях і департаментах Пенсільванського університету, а тому могли ніколи й не зустрітися, проте випадково познайомилися, коли зіткнулися і посварилися біля копіювального апарату, який був необхідний їм обом для копіювання наукових статей. Згодом вони швидко знайшли спільну мову і з'ясували, що обоє цікавляться використанням мРНК у медицині. Так почалося співробітництво, яке призвело до результатів, гідних Нобелівської премії, і яке вони планують продовжувати й надалі.

На той час Вайсман ставив перед собою амбітну мету — розробити вакцину проти вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ-1), який вражає клітини імунної системи. Він створив системи для культивування дендритних клітин і оцінки їх активації та здатності презентувати антиген. Каріко і Вайсман ввели в дендритні клітини синтетичну мРНК, що кодувала Gag — структурний протеїн ВІЛ-1, і виявили in vitro стимулювання імунних реакцій Т-клітин [20]. Крім того, введення мРНК зумовлювало активацію та дозрівання дендритних клітин [21]. Спочатку здавалося, що отримані результати свідчили про розвиток спе-



Цьогорічні нобелівські лауреати виявили, що включення нуклеозидів з модифікованими основами у транскрибовану in vitro мРНК можна використовувати для блокування активації запальних реакцій (секреції сигнальних молекул) та збільшення кількості синтезованого протеїну, що відповідає структурі введеної мРНК

цифічної Т-клітинної імунної відповіді проти ВІЛ-1, однак згодом з'ясувалося, що мРНК сама викликала неспецифічні імунні реакції, які є значною перешкодою для практичного використання препаратів (і вакцин) на її основі.

Механізм цього явища став зрозумілим після того, як інші вчені відкрили Toll-подібні рецептори (TLR), які розпізнавали молекулярні структури, асоційовані з патогеном (PAMP), і запускали механізми неспецифічного імунного захисту (наприклад, синтез противірусних цитокінів) [22]. Невдовзі було знайдено ліганди для багатьох TLR, в тому числі TLR3, який розпізнає проміжний продукт реплікації вірусу — дволанцюгову РНК [23], а також TLR7 і TLR8, які розпізнають одноланцюгову вірусну РНК і деякі форми синтетичної РНК [24]. Каріко зацікавилася TLR після публікації про те, що неметильовані CpG-мотиви, які часто трапляються в бактеріальній ДНК і яких мало у ДНК ссавців, активують TLR9 [25]. Водночас Каріко і Вайсман показали, що транскрибована *in vitro* мРНК забруднена дволанцюговою РНК, яка може активувати TLR3 і таким чином стимулювати цитокінову відповідь [26]. Очищення мРНК, а також збільшення довжини її полі-(А) «хвоста» приводило до значного зниження продукції цитокінів, однак остаточно не рятувало від імунної відповіді проти штучно одержаної in vitro мРНК.

Незважаючи на невдачі та критику інших учених, Каріко і Вайсман не здавалися, наполегливо продовжували досліджувати різні модифікації мРНК, і врешті-решт їм вдалося зробити відкриття, яке повністю змінило їхнє життя і подальший розвиток біотехнологічної галузі. У 2005 р. після отримання відмов від журналів Nature і Science вони опублікували в журналі Immunity результати дослідження щодо впливу різних модифікацій мРНК на цитокінову відповідь дендритних клітин [27]. Ці модифікації утворюються внаслідок дії певних ензимів на нуклеозидні основи (іноді й на рибозу) у складі мРНК і здатні змінювати електростатичний заряд, гідрофобність поверхні та інші властивості молекули, що впливають на її стабільність, просторову структуру, специфічність спарювання основ тощо. Каріко і Вайсман виявили, що прокаріотична, мітохондріальна і транскрибована in vitro мРНК стимулювала цитокінову відповідь, а загальна мРНК ссавців, яка містила багато модифікованих нуклеозидів, не стимулювала її у дендритних клітин. Крім того, включення нуклеозидів з певними модифікованими основами у транскрибовану in vitro мРНК скасовувало активацію запальних реакцій. Наприклад, майже повне скасування розпізнавання рецептором TLR3 спостерігали при включенні N6-метиладенозину (m6A) та 2-тіоуридину (s2U), тоді як активації TLR7 та TLR8 можна було уникнути за допомогою m6A, s2U, 5-метилцитидину (m5C), 5-метилуридину (m5U) та псевдоуридину (Ψ), а скасувати активацію дендритних клітин можна було лише за допомогою модифікації уридинів (m5U, s2U та Ψ). На сьогодні налічують понад сотню різних посттранскрипційних модифікацій РНК (в евкаріотів їх більше, ніж у прокаріотів), однак їхнє функціональне значення здебільшого залишається невідомим.

Надалі Каріко і Вайсман показали, що введення псевдоуридину в мРНК не лише зменшує її імуногенність, а й зумовлює більш ефективну трансляцію та збільшення продукування протеїну [28]. Також було з'ясовано механізм, що пояснював це явище. Виявилося, що транскрибована in vitro мРНК активує протеїнкіназу R (PKR), яка розпізнає дволанцюгову РНК вірусів і фосфорилює фактор ініціації трансляції евкаріот eIF2α, що інгібує синтез протеїну й унеможливлює розмноження вірусу в клітині. Тоді як мРНК, що містить модифікований нуклеозид псевдоуридин, менш ефективно зв'язується з PKR і синтез протеїну не пригнічується [29]. Крім того, транскрибована in vitro мРНК з модифікованими нуклеозидами менш ефективно зв'язується з іншим ключовим ензимом противірусного захисту — 2′-5′-олігоаденілатсинтетазою (OAS), яка й собі індукує РНКазу L, що руйнує всю РНК у клітині, включно з вірусною [30].

Для блокування цих противірусних механізмів і підвищення синтезу протеїну, який закодований у мРНК, було розроблено методи очищення транскрибованої in vitro мРНК від дволанцюгової РНК за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (що збільшувало синтез протеїну в 10—1000 разів) [31]. Пізніше, вже під час роботи Каріко в BioNTech, було розроблено простіший і дешевший метод селективного зв'язування мРНК з целюлозою в буфері, що містив етанол [32].

У 1997 р. американська компанія Merix Bioscience (у 2004 р. змінила назву на Argos Therapeutics, а в 2019 р. — на CoImmune) першою почала розви-

вати технології мРНК. У перші роки свого існування Merix Bioscience розробила імунотерапію з використанням мРНК для стимуляції in vitro клітин імунної системи хворого на рак. Цей підхід згодом зазнав невдачі на пізній стадії клінічних випробувань. Однак досвід Merix Bioscience надихнув інших провідних учених у галузі вивчення мРНК заснувати власні біотехнологічні компанії. Так з'явилися дві німецькі компанії CureVac (2000) і BioNTech (2008), метою яких стало розроблення мРНКвакцин проти інфекційних та злоякісних захворювань. У 2010 р. було засновано американську компанію Moderna, що планувала використовувати мРНК для доставки терапевтичних протеїнів і перетворення соматичних клітин на плюрипотентні клітини.

Цікаво, що CureVac замість включення модифікованих нуклеозидів до складу мРНК використовувала оптимізацію кодонів і 5′- і 3′-нетрансльованих ділянок мРНК, що також дозволило підвищити ефективність виробництва протеїну [33]. Ця компанія досягла певних успіхів у розробленні персоніфікованої мРНК-вакцини проти меланоми з використанням фактора росту GM-CSF як ад'юванту (2008), а також у створенні мРНК-вакцини проти сказу (2017).

Слід зазначити, що перші успіхи CureVac нікого не зацікавили. Так, на одній конференції неназваний нобелівський лауреат, що сидів у першому ряду, сказав співзасновнику CureVac Інгмару Герру: «Це повне лайно, що ви нам тут розповідаєте...». В ті часи через скептичне ставлення було важко отримати фінансування для проведення клінічних досліджень мРНК. Головний науковий співробітник компанії CureVac Стів Пасколо став першим об'єктом дослідження: він зробив собі ін'єкцію мРНК і досі має невеликі шрами на нозі, які залишилися після біопсії, коли зразки тканини було взято для аналізу. Крім того, наукові установи, як правило, не хотіли патентувати розробки, пов'язані з мРНК. Так, відділ технологічного розвитку Гарвардського університету вирішив не патентувати відкриття групи Пола Кріга, яке стосувалося одержання синтетичної мРНК за допомогою РНК-полімерази бактеріофага SP6. Кріг із колегами просто віддали свої реагенти корпорації Promega, яка торгувала реактивами і надала їм раніше інструменти для синтезу РНК. Натомість учені отримали скромні гонорари та ящик шампанського Veuve Clicquot.

У 1990-х роках і впродовж більшої частини 2000-х років майже всі компанії з виробництва вакцин, вирішуючи, куди спрямовувати свої ресурси, однозначно надавали перевагу іншим розробкам, а не роботі над мРНК. Тоді вважали загальноприйнятим, що мРНК є занадто нестабільною та схильною до деградації, а її виробництво дуже дороге. Згодом інвестори все ж зацікавилися технологією мРНК: компанії BioNTech було виділено $150 млн, а невеликий мРНК-стартап під назвою RNARx (2006) отримав скромнішу суму ($97 396) у вигляді гранту для малого бізнесу від уряду США [34]. Засновниками RNARx були біохімік Каталін Каріко та імунолог Дрю Вайсман, які відіграли вирішальну роль у впровадженні мРНК-вакцин. Однак слід зазначити, що цей успіх досяг грандіозного масштабу завдяки справжньому лиху — коронавірусній пандемії, яка охопила весь світ.

На початку XXI ст. все частіше стали реєструвати спалахи вірусних інфекцій, які мали потенціал до переростання у пандемію, наприклад спалахи вірусу Зіка. Цей вірус вперше було виділено в 1947 р. від макак-резусів у лісі Зіка

в Уганді (Африка). З 1950-х років його реєстрували в районах екваторіального поясу Африки та Азії, однак у 2007—2015 рр. він почав поширюватися на схід і досяг островів Океанії, Південної та Центральної Америки. Вірус Зіка передавався з укусами комарів і викликав гарячку Зіка, небезпечну своїми ускладненнями, зокрема синдромом Гієна—Барре (що проявлявся як млявий параліч унаслідок гострої автоімунної запальної полірадикулонейропатії) та мікроцефалією новонароджених, які заражалися вірусом від інфікованих матерів під час вагітності.

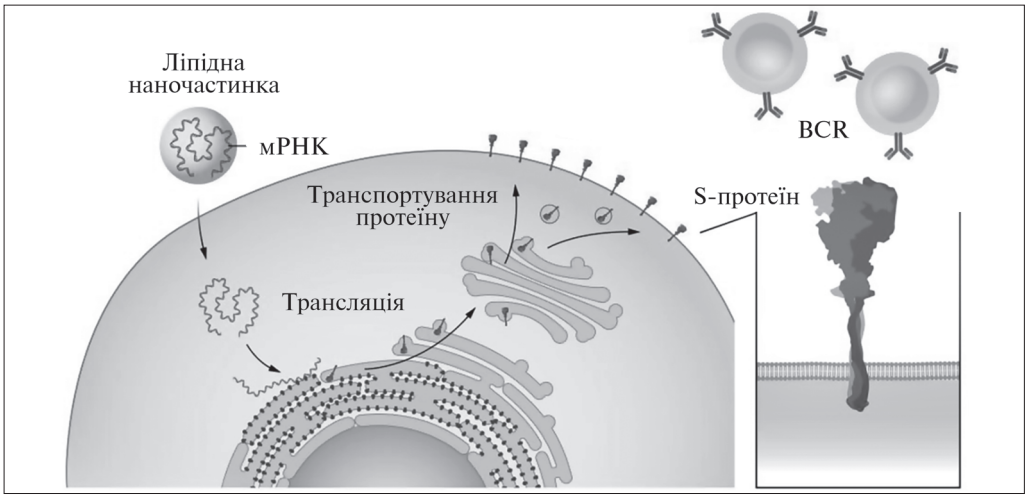
Причиною поширення рідкісних вірусів стало все більше «занурення» людини в дику природу Азії, Південної Америки та Африки, де вона дедалі частіше стикалася з видами тварин, які є природними резервуарами вірусів. Крім того, глобалізація, яка торкнулася всіх сфер життя, вимагала швидкого переміщення людей на великі відстані, що давало вірусним інфекціям можливість дуже швидко поширюватися в напрямках найбільш завантажених маршрутів авіакомпаній. За таких умов розвиток місцевого спалаху до рівня пандемії міг відбутися за лічені тижні. Подолання потенційної небезпеки виникнення пандемій потребувало нових технологій для швидкого розроблення вакцин і діагностикумів, які б допомогли своєчасно виявити хворих і захистити здорове населення від інфікування або хоча б зменшити негативні наслідки захворювання. Технології на основі мРНК відповідали заданим критеріям і тому все більше привертали увагу дослідників як з академічних установ, так і з біотехнологічних компаній. У 2017 р. Вайсман і його колеги з кількох наукових закладів опублікували результати успішних доклінічних випробувань на мишах і мавпах мРНК-вакцини з модифікованими нуклеозидами проти вірусу Зіка [35]. Того самого року компанія Moderna розпочала клінічні випробування цієї вакцини, а також мРНК-вакцин проти штамів H10N8 і H7N9 вірусу грипу людини [36] і двох штамів пташиного грипу.

Люди традиційно вважали вірус грипу найбільш вірогідним кандидатом на роль ініціатора ймовірної нової пандемії, пам'ятаючи про найсмертоноснішу за всю історію людства пандемію грипу «іспанки», спричинену вірусом грипу H1N1, яка тривала з січня 1918 р. по грудень 1920 р. і призвела до близько 500 млн інфікованих та 50 млн померлих. Однак біда прийшла, звідки не чекали — від коронавірусів, які раніше викликали у людини лише легку сезонну застуду. Один за одним в Азії почали виникати нові види коронавірусів, що переходили від тварин до людини, викликали тяжкі, смертельно небезпечні респіраторні захворювання та швидко поширювалися світом. Перша епідемія (2002—2004 рр.) була спричинена коронавірусом SARS-CoV, що перейшов до людей від цивет, викликав тяжкий гострий респіраторний синдром (SARS) і за 5 місяців поширився з Китаю на 37 країн на всіх континентах, інфікувавши понад 8400 людей, з яких 916 з летальним результатом. Друга епідемія виникла у 2012 р. у Саудівській Аравії і була спричинена коронавірусом MERS-CoV, який перейшов до людей від верблюдів і викликав середньосхідний респіраторний синдром (MERS). Епідемія MERS охопила 26 країн (передусім Середнього Сходу) і спричинила 2519 випадків захворювання, з яких 866 були летальними.

Епідемії SARS і MERS вражали своїми летальними наслідками (на щастя, вони не досягли України), однак наступна епідемія, яка виникла в китайському місті Ухань у листопаді 2019 р., значно перевершила за масштабами попередні та змінила життя людей у всьому світі. Нове респіраторне захворювання здобуло назву коронавірусна хвороба 2019 року (COVID-19), його викликав коронавірус SARS-CoV-2, який перейшов до людей, ймовірно, від кажанів (хоча активно обговорюється і версія про штучне походження цього вірусу). За три чверті року від моменту появи перших випадків інфікування SARS-CoV-2 вірус поширився у 188 країнах, інфікувавши близько 28 млн людей і спричинивши майже 1 млн смертей [37]. Станом на 10 березня 2023 р., коли Університет Джона Гопкінса в Балтиморі (штат Меріленд) припинив збір статистичних даних щодо пандемії COVID-19, зафіксована кількість інфікованих становила понад 676 млн, а померлих — майже 6,9 млн. В Україні зареєстровано понад 5,7 млн випадків зараження, з яких близько 120 тис. виявилися летальними, хоча ці дані, ймовірно, занижені, оскільки після 24 лютого 2022 р. збір статистичних даних по всій території України став неможливим у зв'язку з веденням бойових дій.

На відміну від епідемії SARS 2002—2004 рр., коли причина виникнення захворювання стала зрозумілою лише через кілька тижнів, інформацію про новий вірус SARS-CoV-2, який викликає серйозне респіраторне захворювання COVID-19, було передано службами охорони здоров'я КНР до ВООЗ наприкінці грудня 2019 р., і в найкоротший термін (уже 10 січня 2020 р.) китайські вчені опублікували повну послідовність геному SARS-CoV-2. Це було вкрай важливим для створення ефективних діагностикумів та інженерії вакцин проти вірусу. У березні 2020 р. опубліковано просторову структуру «шипоподібного» S-протеїну оболонки коронавірусу SARS-CoV-2 з високою роздільною здатністю, що дозволило визначати епітопи для нейтралізуючих антитіл [38].

Розробленням вакцин різних типів проти COVID-19 займалося понад 300 компаній, третина з яких пішла перевіреним шляхом — створювали «субодиничні» вакцини на основі рекомбінантних протеїнів коронавірусу SARS-CoV-2. В Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України за участі авторів цієї статті та за підтримки колективного гранту Національного фонду досліджень України 2020.01/0322 було проведено дослідження, спрямовані на розроблення вакцини проти COVID-19 на основі рекомбінантних протеїнів SARS-CoV-2. В результаті одержано дослідний зразок вакцини проти COVID-19 на основі рекомбінантного злитого кон'югату — рецепторзв'язувального домену (RBD) S-протеїну коронавірусу SARS-CoV-2 із високоімуногенним носієм — дифтерійним токсоїдом CRM197 та N-протеїном нуклеокапсиду вірусу [39]. Попередні випробування на тваринах показали, що зразок вакцини виявив достатню імуногенність, гарну місцеву переносимість і низьку токсичність. Прототип вакцини на основі N-протеїну вірусу було також створено в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України та в Інституті біології клітини НАН України у дріжджах — на основі S-протеїну коронавірусу. На додаток до згаданих вище субодиничних вакцин в Інституті біохімії було створено також модель вакцини на основі рекомбінантного аденовірусу AdvC5, нездатного до самореплікації, та рекомбінантних RBD-S та CRM-197, яка зараз



Вироблення спайк-протеїну поверхні вірусу (антигену) після вакцинації мРНК і розпізнавання його В-клітинами імунної системи вакцинованих. За допомогою ліпідних наночастинок, що містять мРНК, мРНК потрапляє в клітину і діє як матриця для синтезу S(спайк)-протеїну. Потім спайк-протеїн тимчасово експресується на поверхні клітини, де він розпізнається В-клітинами через їхні В-клітинні імуноглобулінові рецептори (BCR), стимулюючи синтез і секрецію спайк-специфічних (противірусних) антитіл

проходить патентування за кордоном. На жаль, у зв'язку з відсутністю в Україні лабораторій рівня біобезпеки BSL-3 для роботи з культурою SARSCoV-2 противірусну активність створених вакцин не вдалося перевірити.

Водночас провідні розробники вакцин проти COVID-19 на основі мРНК зробили неможливе: вони менше ніж за рік завершили всі стадії клінічних випробувань, причому вакцини було розроблено лише за три місяці після секвенування геному вірусу. Це стало можливим завдяки створенню протягом десяти попередніх років механізму пришвидшеного проведення досліджень і використанню штучного інтелекту для керування роботизованими системами масової паралельної обробки мРНК.

Першою вийшла на ринок мРНК-вакцина проти COVID-19 Comirnaty виробництва Pfizer-BioNTech (США/Німеччина), яка 2 грудня 2020 р. отримала дозвіл на використання у Великій Британії. Слідом за нею протягом 2021 р. з'явилося ще три вакцини: мРНК-вакцина Spikevax від компанії Moderna (США), а також дві вакцини на основі аденовірусів від Oxford-AstraZeneca (Велика Британія/Швеція) і Johnson & Johnson (США/Бельгія).

«Мішенню» переважної більшості вакцин проти COVID-19 був «шипоподібний» S-протеїн на поверхні коронавірусу SARS-CoV-2, який через свій рецептор-зв'язувальний домен (RBD) зв'язувався з відповідним йому рецептором (ангіотензин-конвертувальним ензимом другого типу ACE-2) на поверхні клітин-мішеней на тканинах людини. В процесі проникнення (після злиття вірусу з мембраною клітин людини) вірус змінював свою конформацію. Успіх розроблених вакцин проти COVID-19 став можливим також завдяки стабілізації протеїну S у вихідній конформації (до проникнення) за допомогою введен-

ня пролінів у певних позиціях у його S2-домені. Цей спосіб стабілізації було вперше застосовано ще в 1998 р. при введенні пролінів у домен гемаглютиніну 2 вірусу грипу [40]. Згодом його почали використовувати й при розробленні вакцин проти інших вірусів, зокрема в мРНКвакцинах проти MERS (Moderna, 2017) і COVID-19 (Pfizer/BioNTech, Moderna, 2020), а також у деяких вакцинах проти COVID-19, спричиненого іншими варіантами вірусу.

На момент початку пандемії COVID-19 у світі не існувало жодної офіційно затвердженої до використання мРНК-вакцини, і ніхто не знав, наскільки ефективною і безпечною є мРНК-технологія. З іншого боку, кілька провідних компаній, спираючись на десятиліття фундаментальних досліджень, оптимізували платформу мРНК, і жодна інша технологія не дозволяла отримати вакцини проти COVID-19 так швидко. Розробники мРНК-вакцин були готові до виклику і ризикнули. Компанія BioNTech (Німеччина) на чолі з Угуром Шахіном і його дружиною Озлем Тюреджі за участі Карін Каріко працювала в партнерстві з Pfizer (США) [41], а Moderna (Массачусетс, США) тісно співпрацювала з Центром дослідження вакцин Національного інституту здоров'я США, в якому проводили тестування вакцини [42]. Обидві компанії взяли до уваги відкриття Каріко і Вайсмана і тому у складі вакцин проти COVID-19 використали мРНК із модифікованими нуклеозидними основами. Зокрема, було повністю замінено уридини на N1метилпсевдоуридини (m1Ψ), щоб уникнути небажаних запальних реакцій і збільшити продукцію протеїну. Клінічні випробування показали, що мРНК-вакцини викликали потужну імунну відповідь з утворенням клітин пам'яті, однак через 4—5 місяців після вакцинації спостерігалося зниження рівня антитіл, що свідчило про необхідність проведення ревакцинацій. мРНК-вакцини захищали від захворювання на COVID-19 з високою ефективністю (близько 95 %) [43] і виявилися відносно безпечними, викликаючи, як правило, лише місцеві прояви реактогенності, а серйозні побічні ефекти (такі як підвищення ризику виникнення міокардиту) траплялися вкрай рідко [44]. Значною перевагою мРНК-вакцин було й те, що залежно від актуального варіанта коронавірусу можна було швидко змінити послідовність мРНК у складі вакцини. Після виходу на ринок мРНК-вакцин ними було охоплено понад 80 % вакцинованих проти COVID-19 людей у Європі та понад 95 % — у Сполучених Штатах.

Успішне застосування мРНК-вакцин для захисту людства від пандемії COVID-19 і захмарні прибутки біотехнологічних компаній-розробників привернули ще більшу увагу вчених та інвесторів до технології мРНК, що сприятиме ймовірності її вдосконалення у майбутньому і ширшого використання. Можливо, буде розроблено нові способи оптимізації мРНК до клінічного застосування (без введення модифікованих нуклеозидних основ), зокрема використовуючи модифікації полі-А «хвоста», або кільцеву мРНК, яка є більш стійкою до дії ензимів [45], або самоампліфікуючі вірусні РНК-реплікони [46]. Наступним кроком може стати створення пероральної або назальної нановакцини для цілеспрямованої доставки синтетичної мРНК у дихальні шляхи; полівалентної мРНК-вакцини, яка кодує багато антигенних детермінант вірусу від різних штамів і може слугувати унікальним інструментом у боротьбі з майбутніми пандеміями. Дехто вважає, що перспективною мішенню для мультива-

лентної вакцини проти COVID-19 може бути коронавірусний протеїн нуклеокапсиду N, в якому рідко бувають мутації.

Сьогодні технологію мРНК використовують у широкому спектрі біомедичних застосувань і нанотехнологій: від доставки генів за допомогою наночастинок до генної терапії з використанням різноманітних наноматеріалів, відкриваючи нову еру мРНК-наномедицини. Тому системи доставки продовжують вдосконалювати: створюють нові вектори доставки на основі вірусоподібних частинок; олігомерів протеїнів і пептидів, які самі збираються в наночастинки; позаклітинних везикул; наноструктур ДНК; ліпідних, полімерних і гібридних наночастинок; неорганічних наночастинок із золота, кремнезему, графену, фосфату кальцію; металоорганічних каркасів, що складаються з катіонів металів і органічних лінкерів тощо. Ці системи доставки можуть націлюватися на певний орган чи тканину (пасивно чи активно, внаслідок зв'язування з лігандом, з яким взаємодіють певні клітини), а також контрольовано вивільняти свій вміст (за дії певних факторів середовища: pH, присутність відновників, або забезпечуючи поступове вивільнення протягом тривалого періоду, зокрема при введенні у склад гідрогелів). Для підвищення імуногенності мРНК-вакцин до конструкції системи доставки включають ад'юванти або використовують для побудови наночастинок матеріали з ад'ювантними властивостями, наприклад природні зовнішні мембранні везикули, що виділяються бактеріями. Для систем доставки обирають нетоксичні компоненти або зменшують токсичність позитивно заряджених наночастинок екрануванням за допомогою шару поліетиленгліколю, циклодекстрину чи саліциламіду. Важливими чинниками, які враховують при розробленні систем доставки, є також біорозкладність і біосумісність, масштабованість виробництва, стабільність рецептури в середовищі організму, а також при зберіганні [47].

Крім того, може бути корисним використання штучного інтелекту для розроблення високоструктурованих суперскладчастих ланцюгів мРНК, які здатні збільшити стійкість мРНКвакцин при зберіганні та транспортуванні (актуальним є зниження вимог щодо глибокого охолодження мРНК-вакцин). Іншою перспективною розробкою можуть бути вакцини, які достатньо вводити один раз без проведення ревакцинацій. Такі вакцини доставляють за допомогою стабільних наночастинок або локальних пластирів (наприклад, мікроголок), і вони періодично стимулюють імунітет, вивільняючи чергову дозу вакцини, що особливо актуально для груп населення, які не мають вільного доступу до медичних послуг [48].

мРНК-вакцини допомогли людству подолати пандемію COVID-19, але вони також можуть захистити його від багатьох інших інфекційних захворювань, зокрема запропонувати універсальний захист від грипу і навіть лікувати злоякісні пухлини. Слід зазначити, що відкриття Каріко і Вайсмана зробили технологію мРНК придатною до застосування з метою вирішення практично будь-якої медичної проблеми. На сьогодні найбільш перспективними для використання мРНК є такі напрями:

1) розроблення вакцин проти невідомих патогенів, здатних викликати пандемію, або проти вірусів, що швидко мутують;

2) боротьба з інфекційними захворюваннями, які важко піддаються лікуванню, або з «невловимими» збудниками;

3) розроблення вакцин, що навчають імунну систему боротися зі злоякісними пухлинами;

4) терапія рідкісних генетичних розладів і використання технологій редагування генів.

Оскільки синтетичну мРНК можливо виготовити за кілька днів, мРНК-вакцини можна швидко створювати для боротьби з новими інфекційними загрозами або швидко змінювати, щоб усунути вплив постійної еволюції вірусів, таких як коронавірус SARS-CoV-2 або вірус грипу. Біотехнологічна компанія Moderna випробувала мРНК-вакцини проти збудника віспи мавп, вірусів Зіка та Ніпа, які можуть стати джерелом нових пандемій [49]. Зараз багато компаній (Moderna, Pfizer, Sanofi Pasteur і GlaxoSmithKline у партнерстві з CureVac) зосередили свої зусилля на розробленні мРНКвакцини проти грипу, який щороку спричиняє 400 тис. смертей у світі. Кілька компаній також працюють над комбінованими вакцинами, які водночас захищають і від COVID-19, і від грипу. Яка стратегія переможе (використання універсальної вакцини чи щорічних вакцинацій, адаптованих до сезонних штамів), покаже час. Тогорічні випробування лабораторією Вайсмана універсальної мРНК-вакцини проти грипу, яка містила інформацію про антигени всіх 20 відомих підтипів вірусу грипу людини, показали, що вакцина захищала мишей і тхорів не лише від цих підтипів вірусу грипу, а й від інших також [50]. Крім того, цього року стартує клінічне випробування іншої мРНК-вакцини проти грипу, яка націлена на консервативну частину вірусу, що не так сильно змінюється з року в рік. Вакцина, яка б захищала не лише від наявних нових варіантів коронавірусу, а й від майбутніх зоонозних штамів, поки що в планах, але ці мрії стають усе ближчими до реальності. Сам Вайсман запевняє, що уже є 18 майданчиків для виробництва мРНК-вакцини проти грипу, які вже працюють або ще будуються по всьому світу. До того ж він загадково зазначив, що таке «досить неймовірне» місце є й в Україні. Що це за місце, автори не знають, але опанування технології створення мРНК-вакцин є стратегічним завданням вчених України. Поки що зусилля одного з авторів статті переконати керівництво НАН України, керівництво МОЗ України та директорат ВООЗ знайти і зосередити матеріальні та інтелектуальні ресурси на створенні мРНК-вакцин в Україні успіху не мали.

За фінансової підтримки BioNTech Д. Вайсман працює над створенням мРНК-вакцин і проти інших інфекційних захворювань, таких як генітальний герпес, СНІД, малярія. До списку захворювань, проти яких зараз розробляють мРНК-вакцини, можна додати такі хвороби, як гепатити В і С, лептоспіроз, туберкульоз, хвороба Лайма, псевдомембранозний коліт (викликаний *Clostridium difficile*), гастроентерит (викликаний норовірусом), респіраторно-синцитіальна вірусна інфекція, оперізувальний лишай, простий герпес, акне, хламідіоз та багато інших.

мРНК-вакцини дають надію на подолання «невловимих» збудників інфекційних захворювань, таких як вірус Епштейна—Барр та цитомегаловірус (CMV), що викликає вроджені дефекти у немовлят, а також потенційно смертельну інфекцію у людей з ослабленою імунною системою. Понад 50 років не

вдавалося отримати вакцину проти CMV, оскільки він використовує для входу в клітину та виходу з неї антигенний комплекс, що складається з п'яти протеїнів і який важко імітувати субодиничною вакциною. Натомість мРНК може забезпечити синтез цих протеїнів у клітині та їх правильне збирання. Цікаво, що вакцина проти CMV від Moderna, яка зараз проходить останню фазу випробувань, стимулює імунну відповідь у деяких тканинах сильніше, ніж природне інфікування CMV. Очевидно, нарешті настав час покінчити з цією найпоширенішою причиною інфекційної інвалідності [49].

Одним із «проблемних» інфекційних захворювань, що досі не вдається подолати, є малярія, на яку щороку хворіє 200 млн людей і гине приблизно 400 тис., особливо дітей. Збудником малярії є малярійний плазмодій (*Plasmodium falciparum*) — вид паразитичних найпростіших, здатний розвивати резистентність до протималярійних препаратів, що робить профілактику і лікування малярії малоефективними. Нещодавно було розроблено моноклональні антитіла проти консервативної ділянки циркумспорозоїтного протеїну (CSP) плазмодії, яка не піддається мутаціям. Ці антитіла блокували можливість зараження спорозоїтами клітин печінки, де збудник перетворюється на іншу форму, здатну руйнувати еритроцити та викликати захворювання. Випробування на добровольцях показали, що розроблені антитіла здатні захищати людей від зараження малярійним плазмодієм протягом півроку, що відкриває перспективи створення ефективної мРНК-вакцини проти малярії [51].

мРНК-вакцини можуть також захистити від захворювань, що передаються статевим шляхом. Найбільш поширеним з них є інфекція, яку викликає вірус простого герпесу 2 (HSV2), — це невиліковна хвороба, яка може супроводжуватися сильним болем, впливати на психічне та емоційне здоров'я, збільшувати ризик зараження збудниками інших інфекцій (наприклад, ВІЛ), а також може бути смертельною для новонароджених і ембріонів у випадку інфікування матері. Фрідман, Вайсман та їхні колеги розробили мРНК-вакцину проти HSV-2, яка ініціює імунну відповідь проти трьох антигенів вірусу (gC2, gD2 і gE2). Дослідження на мишах показали, що ця вакцина забезпечує ефективний захист не лише від HSV2, а й від HSV-1 [52].

мРНК-вакцини можна націлити не лише на певні антигени збудників інфекційних захворювань, а й на десятки антигенів пухлинних клітин, що має стимулювати імунну систему до боротьби з раком і ускладнити раковим клітинам пошук способів ухилення від імунної відповіді. Зараз тривають клінічні випробування нового класу таких персоналізованих вакцин проти злоякісного росту. Але мРНК-вакцини проти злоякісних пухлин можуть бути не просто вакцинами, що містять інформацію про певні протеїни, а й терапевтичними препаратами. мРНК здатна доставляти в клітини супресори пухлин, імуностимулювальні молекули (наприклад, цитокіни) для підсилення імунотерапії раку або спонукати клітини виробляти антитіла, які можуть допомогти викликати імунну відповідь. Цей напрям активно розробляє компанія BioNTech. Крім того, мРНК можна використовувати в клітинній терапії, в якій у клітини пацієнта ex vivo вводять мРНК для зміни клітинного фенотипу або функції, а потім їх розмножують і повертають пацієнту [49].

Насправді експериментальну мРНК-вакцину проти злоякісного росту від BioNTech вперше було розроблено та випробувано на людях ще у 2008 р., коли у хворих на меланому значно зменшився ризик розвитку нових метастатичних уражень. Пізніше клінічні дослідження терапевтичної мРНК-вакцини FixVac (BioNTech), націленої на чотири основні пухлинні антигени меланоми, в поєднанні з інгібіторами контрольних точок, які блокували протеїн PD1, показали успішну індукцію Т-клітинної імунної відповіді проти пухлини [53]. Протипухлинна мРНК-вакцина від Moderna, яка використовує інший підхід, подібним чином викликала імунну відповідь у солідних пухлинах, а її поєднання з інгібіторами контрольних точок призвело до зменшення пухлин у 6 пацієнтів із 20. Нещодавнє доклінічне дослідження BioNTech також показало, що застосування терапії CARVac — поєднання мРНК-вакцини з CAR-T-клітинною терапією зумовлювало активацію дендритних клітин, які своєю чергою стимулювали й підвищували ефективність CAR-T-клітин. Поки тривають випробування мРНКвакцин проти раку, єдиною офіційно схваленою у 2010 р. в США вакциною проти раку залишається персоніфікована вакцина Provenge (Sipuleucel-T) від Dendreon Corporation проти метастатичного раку передміхурової залози, яка стимулює імунну відповідь на простатичну кислу фосфатазу (PAP) — антиген, притаманний раку простати. Ця вакцина не використовує технологію мРНК і налаштовується персонально для кожного пацієнта. Клінічні випробування показали, що вона збільшує виживаність чоловіків із метастатичним раком передміхурової залози, стійким до гормонів, приблизно на чотири місяці. Досить дороге лікування ($141 тис. за курс) з використанням Provenge здійснюють тільки в США, незважаючи на отримані дозволи на використання в країнах Європи та в Китаї.

З 2008 по 2013 р. було розроблено кілька інструментів редагування генів на основі мРНК, таких як нуклеази цинкового пальця, TALEN і CRISPR-Cas9. Виявилося, що головний недолік мРНК — її нестабільність — може бути перевагою при використанні в системах для редагування генів. Так, при редагуванні геному (наприклад, за допомогою технології CRISPR-Cas9) дуже важливо, щоб ензими, які розрізають ДНК, не затримувалися в клітині надто довго через ймовірність ненавмисного редагування. мРНК може забезпечити доставку інструкцій для синтезу певних ензимів та зникнення їх після виконання роботи [49].

Компанії працюють над мРНК-терапією для рідкісних захворювань, таких як муковісцидоз. Люди з цим захворюванням мають мутації в гені CFTR, що відповідає за транспортування іонів хлору через мембрану клітини. Ці мутації призводять до утворення липкого слизу, який закорковує легені та викликає респіраторні інфекції з рецидивами. Компанія Vertex у співпраці з Moderna розробили й отримали дозвіл на випробування мРНК-препарату, який при вдиханні потрапляє в легені й виправляє мутації в гені CFTR. Moderna також розпочала клінічні випробування мРНК-препаратів для лікування таких метаболічних розладів, як метилмалонова і пропіонова ацидемії [15].

Оскільки в мРНК-терапію вже було інвестовано мільярди доларів, неухильно зростає кількість біотехнологічних компаній, які застосовують мРНК-технології для лікування онкологічних, генетичних, серцево-судинних та ін-

фекційних захворювань. Серед них — Moderna, CureVac, BioNTech, Argos Therapeutics, Translate Bio, Ethris і Arcturus. На сьогодні проводять понад 200 клінічних випробувань мРНК-вакцин проти різних захворювань, з яких майже 100 — проти раку.

Відкриття, зроблені Каріко і Вайсманом, стали важливим кроком на шляху до створення двох найважливіших і найприбутковіших вакцин в історії: вакцин проти COVID-19 на основі мРНК, які було введено сотням мільйонів людей у всьому світі. Лише у 2021 р. глобальні продажі цих продуктів перевищили $80 млрд. Коли справа стосується величезних грошей, слави та престижних відзнак, одразу починаються судові процеси щодо прав на інтелектуальну власність і дебати про те, хто зробив найбільший внесок у відкриття та чи дійсно нобелівські лауреати заслужили на таку честь. Цьогорічна Нобелівська премія з фізіології або медицини не стала винятком.

Пенсільванський університет у 2006 р. подав заявку на патент щодо винаходу Каріко і Вайсмана, який стосувався використання модифікованої мРНК. Moderna намагалася отримати ліцензію на цей патент, але спізнилася: університет, не досягнувши компромісу з компанією RNARx, у 2010 р. надав виключні патентні права за $300 тис. невеликому постачальнику лабораторних реактивів у Медісоні, який тепер називається Cellscript. Залишившись без прав на патент, Moderna була змушена у 2014 р. отримати патент на власний модифікований нуклеозид, який би так само позбавляв мРНК імуногенності. Згодом Moderna отримала ще кілька патентів, але це не допомогло уникнути численних судових позовів, які почали подавати один на одного основні виробники мРНК-вакцин проти COVID-19. Судові засідання з цього питання триватимуть і в 2024 р., хоча певних результатів уже досягнуто: у 2021 р. компанія Cellscript, яка володіє правами на патент Каріко і Вайсмана, отримала за субліцензії по $75 млн від Moderna та BioNTech — розробників перших мРНК-вакцин проти COVID-19, що містять модифіковану мРНК. Однак складні ліцензійні відносини між основними гравцями зберігають право отримувати значну фінансову вигоду в майбутньому від продажу мРНК-вакцин за Пенсільванським університетом, Каріко і Вайсманом.

Дослідники досі сперечаються про те, чи є відкриття Каріко і Вайсмана важливим для успішного розроблення мРНК-вакцин і чи заслужено вони отримали Нобелівську премію. Так, Роберт Мелоун, який був співавтором двох важливих робіт під керівництвом Філіпа Фелгнера щодо введення мРНК у клітини організму [8, 15], вважає саме себе винахідником мРНК-вакцин і жаліється, що його «викреслили з історії» і «збагатилися на продуктах його розуму». Слід зауважити, що Роберт Мелоун не був першим, хто ввів мРНК у живі клітини [7] або використав ліпосоми для доставки мРНК [13]. Катіонні ліпіди, з якими він працював, також було винайдено без його участі [14]. Принаймні внесок Філіпа Фелгнера та інших провідних учених того часу, що досліджували мРНК, був більшим. Можливо, скептичне ставлення до заслуг Роберта Мелоуна спричинене ще й пов'язаними з ним скандалами: Мелоун просував препарати для лікування COVID-19 (фамотидин і гідроксихлорохін) до завершення клінічних випробувань через власну зацікавленість і безпідставно критикував мРНК-вакцини, стверджуючи, що вони надзвичайно токсичні завдяки про-

теїну S, шкідливі для дітей, викликають в американців масовий психоз, певну форму СНІДу і численні смерті (доказом цього було сфальсифіковане відео про загибель нібито від мРНК-вакцини відомого 17-річного футболіста Джейка Веста, який насправді помер у 2013 р. від зупинки серця). Водночас Мелоун зізнався, що зробив щеплення вакциною Moderna через тривалий перебіг COVID-19 і тому, що йому з дружиною потрібно було подорожувати. В результаті судових позивів і розгляду цього питання на рівні Конгресу обліковий запис Мелоуна у Twitter було «назавжди призупинено» (лише наприкінці 2022 р. Ілон Маск його знову відкрив, запровадивши нову політику в компанії).

Слід відзначити вагомий внесок у розвиток мРНК-технологій і інших розробників ефективних засобів доставки мРНК у клітини. Так, завдяки Пітеру Каллісу, який розробив наночастинки з іонізованих катіонних ліпідів, було засновано кілька успішних компаній, зокрема Alnylam Pharmaceuticals, яка створила перший дозволений в США препарат на основі інтерференційних олігонуклеотидів Patisiran (комерційна назва Onpattro), який пригнічує синтез протеїну транстиретину шляхом РНК-інтерференції та призначений для лікування рідкісного захворювання — спадкової амілоїдної полінейропатії.

У своїх дослідженнях Каталін Каріко спиралася на роботу вчених з Університету Вісконсину та біотехнологічної компанії Vical Incorporated, які у 1990 р. (за участі Роберта Мелоуна) розробили основні підходи до одержання *in vitro* транскрипційної мРНК, здатної забезпечити синтез певного протеїну в живій клітині [8]. Сама Каріко вважає, що протягом десятиліть кожний учений робив внесок у розвиток технології мРНК, а вона разом з Дрю Вайсманом зробила свій. Так уже вийшло, що цей внесок виявився «останньою краплею», яка нарешті схилила терези наукового прогресу в бік доцільності використання мРНКтехнологій для створення вакцин і терапевтичних препаратів нового покоління.

Дехто зазначає, що інші також використовували модифіковану мРНК (наприклад, компанія Moderna, сама назва якої є скороченням від «MODified RNA») або успішно створили мРНК-вакцину, не використовуючи модифіковані нуклеозиди (як компанія CureVac). Слід зауважити, що за результатами клінічних випробувань вакцина CureVac проти COVID-19 виявилася набагато менш ефективною (48,2 %) за аналогічні мРНК-вакцини з модифікованими нуклеозидами [54] і не отримала дозвіл на використання в Європі. І навіть якщо в майбутньому буде знайдено альтернативні й водночас не менш ефективні способи зробити мРНК неімуногенною, відкриття Каріко і Вайсмана не втратить своєї значущості, адже вони зробили головне — показали іншим дослідникам шлях, яким синтетична мРНК може прослизнути повз уроджений імунний захист клітини.

Історія цього відкриття не може не вражати: вона сповнена драматичних подій, щасливих випадковостей, геніальних здогадок, наполегливої праці і, безперечно, незламної волі у відстоюванні своїх ідей. Неможливо сказати, чого тут більше: впливу долі чи ролі особистості. Просто дивовижно, що у 2005 р. абсолютно ніхто не звернув увагу на відкриття, яке в подальшому започаткувало нову еру для технології та виробництва мРНК-вакцин, дало людству захист від масштабної пандемії COVID-19 і подібних викликів у майбут-

ньому, а тоді його автори, попри очікування, не отримали жодного телефонного дзвінка. Однак тепер з упевненістю можна припустити, що їхні телефони дзвонять практично безперервно, а прогрес нової галузі науки на стику імунології, генетики та наномедицини, яка відкриває широкі перспективи використання мРНК для боротьби з багатьма захворюваннями різної природи, вже ніщо не зможе зупинити.

THE VICTORY OF MRNA VACCINES OVER THE PANDEMIC OF THE SARS-COV-2, THE CORONAVIRUS THAT CAUSES THE DISEASE COVID-19, OR HOW SYNTHETIC MRNA SLIPPED PAST THE CELL'S INNATE IMMUNE DEFENSE. NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE FOR 2023

S.V. Komisarenko, S.I. Romaniuk

The Nobel Prize in Physiology or Medicine in 2023 was awarded to two scientists: the Hungarian-American biochemist Katalin Kariky and the American immunologist Drew Weissman from the University of Pennsylvania, Philadelphia (Katalin Kariky simultaneously works at the Szeged University in Hungary) "for their discoveries concerning nucleoside base modifications that enabled the development of effective mRNA vaccines against COVID-19". As stated in the press release of the Nobel Committee, the discoveries by the two Nobel Laureates were critical for developing effective mRNA vaccines against COVID-19 during the pandemic that began in early 2020. Through their groundbreaking findings, which have fundamentally changed our understanding of how mRNA interacts with our immune system, the laureates contributed to the unprecedented rate of vaccine development during one of the greatest threats to human health in modern times.

***Keywords**: Nobel Prize in Physiology or Medicine 2023, Katalin Kariky, Drew Weissman, SARS-CoV-2 pandemic, COVID-19, mRNA vaccine.*

REFERENCES

1. Tang D.C., DeVit M., Johnston S.A. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. Nature. 1992. 356(6365): 152—154. https://doi.org/10.1038/356152a0

2. Martinon F., Krishnan S., Lenzen G., Magné R., Gomard E., Guillet J.G., Lévy J.P., Meulien P. Induction of virus-specific cytotoxic T lymphocytes in vivo by liposome-entrapped mRNA. Eur. J. Immunol. 1993. 23(7): 1719—1722. https://doi.org/10.1002/eji.1830230749

3. Liu M.A., Ulmer J.B. Human clinical trials of plasmid DNA vaccines. Adv. Genet. 2005. 55: 25—40. https://doi. org/10.1016/S0065-2660(05)55002-8

4. Brenner S., Jacob F., Meselson M. An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. Nature. 1961. 190: 576—581. https://doi.org/10.1038/190576a0

5. Gros F., Hiatt H., Gilbert W., Kurland C.G., Risebrough R.W., Watson J.D. Unstable ribonucleic acid revealed by pulse labelling of Escherichia coli. Nature. 1961. 190: 581—585. https://doi.org/10.1038/190581a0

6. Lockard R.E., Lingrel J.B. The synthesis of mouse hemoglobin beta-chains in a rabbit reticulocyte cell-free system programmed with mouse reticulocyte 9S RNA. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1969. 37(2): 204—212. https://doi. org/10.1016/0006-291x(69)90720-7

7. Gurdon J.B., Lane C.D., Woodland H.R., Marbaix G. Use of frog eggs and oocytes for the study of messenger RNA and its translation in living cells. Nature. 1971. 233(5316): 177—182. https://doi.org/10.1038/233177a0

8. Wolff J.A., Malone R.W., Williams P., Chong W., Acsadi G., Jani A., Felgner P.L. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. Science. 1990. 247(4949 Pt. 1): 1465—1468. https://doi.org/10.1126/science.1690918

9. Krieg P.A., Melton D.A. Functional messenger RNAs are produced by SP6 in vitro transcription of cloned cDNAs. Nucleic Acids Res. 1984. 12(18): 7057—7070. https://doi.org/10.1093/nar/12.18.7057

10. Dunn J.J., Studier F.W. Complete nucleotide sequence of bacteriophage T7 DNA and the locations of T7 genetic elements. J. Mol. Biol. 1983. 166(4): 477—535. https://doi.org/10.1016/s0022-2836(83)80282-4

11. Studier F.W., Moffatt B.A. Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes. J. Mol. Biol. 1986. 189(1): 113—130. https://doi.org/10.1016/0022-2836(86)90385-2

12. Langer R., Folkman J. Polymers for the sustained release of proteins and other macromolecules. Nature. 1976. 263(5580): 797—800. https://doi.org/10.1038/263797a0

13. Ostro M.J., Giacomoni D., Lavelle D., Paxton W., Dray S. Evidence for translation of rabbit globin mRNA after liposome-mediated insertion into a human cell line. Nature. 1978. 274(5674): 921—923. https://doi.org/10.1038/274921a0

14. Felgner P.L., Gadek T.R., Holm M., Roman R., Chan H.W., Wenz M., Northrop J.P., Ringold G.M., Danielsen M. Lipofection: a highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1987. 84(21): 7413—7417. https://doi.org/10.1073/pnas.84.21.7413

15. Malone R.W., Felgner P.L., Verma I.M. Cationic liposome-mediated RNA transfection. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989. 86(16): 6077—6081. https://doi.org/10.1073/pnas.86.16.6077

16. Gref R., Minamitake Y., Peracchia M.T., Trubetskoy V., Torchilin V., Langer R. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. Science. 1994. 263(5153): 1600—1603. https://doi.org/10.1126/science.8128245

17. Zhou X., Berglund P., Rhodes G., Parker S.E., Jondal M., Liljeström P. Self-replicating Semliki Forest virus RNA as recombinant vaccine. Vaccine. 1994. 12(16): 1510—1514. https://doi.org/10.1016/0264-410x(94)90074-4

18. Jirikowski G.F., Sanna P.P., Maciejewski-Lenoir D., Bloom F.E. Reversal of diabetes insipidus in Brattleboro rats: intrahypothalamic injection of vasopressin mRNA. Science. 1992. 255(5047): 996—998. https://doi.org/10.1126/ science.1546298

19. Karikó K., Keller J.M., Harris V.A., Langer D.J., Welsh F.A. In vivo protein expression from mRNA delivered into adult rat brain. J. Neurosci. Methods. 2001. 105(1): 77—86. https://doi.org/10.1016/s0165-0270(00)00355-1

20. Weissman D., Ni H., Scales D., Dude A., Capodici J., McGibney K., Abdool A., Isaacs S.N., Cannon G., Karikó K. HIV gag mRNA transfection of dendritic cells (DC) delivers encoded antigen to MHC class I and II molecules, causes DC maturation, and induces a potent human in vitro primary immune response. J. Immunol. 2000. 165(8): 4710—4717. https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.8.4710

21. Ni H., Capodici J., Cannon G., Communi D., Boeynaems J.M., Karikó K., Weissman D. Extracellular mRNA induces dendritic cell activation by stimulating tumor necrosis factor-alpha secretion and signaling through a nucleotide receptor. J. Biol. Chem. 2002. 277(15): 12689—12696. https://doi.org/10.1074/jbc.M110729200

22. Akira S., Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. Immunol. Lett. 2003. 85(2): 85—95. https://doi.org/10.1016/s0165-2478(02)00228-6

23. Diebold S.S., Kaisho T., Hemmi H., Akira S., Reis e Sousa C. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. Science. 2004. 303(5663): 1529—1531. https://doi.org/10.1126/science.1093616

24. Heil F., Hemmi H., Hochrein H., Ampenberger F., Kirschning C., Akira S., Lipford G., Wagner H., Bauer S. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. Science. 2004. 303(5663): 1526—1529. https://doi.org/10.1126/science.1093620

25. Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K., Akira S. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. Nature. 2000. 408(6813): 740—745. https://doi. org/10.1038/35047123

26. Karikó K., Ni H., Capodici J., Lamphier M., Weissman D. mRNA is an endogenous ligand for Toll-like receptor 3. J. Biol. Chem. 2004. 279(13): 12542—12550. https://doi.org/10.1074/jbc.M310175200

27. Karikó K., Buckstein M., Ni H., Weissman D. Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. Immunity. 2005. 23(2): 165—175. https://doi. org/10.1016/j.immuni.2005.06.008

28. Karikó K., Muramatsu H., Welsh F.A., Ludwig J., Kato H., Akira S., Weissman D. Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability. Mol. Ther. 2008. 16(11): 1833—1840. https://doi.org/10.1038/mt.2008.200

29. Anderson B.R., Muramatsu H., Nallagatla S.R., Bevilacqua P.C., Sansing L.H., Weissman D., Karikó K. Incorporation of pseudouridine into mRNA enhances translation by diminishing PKR activation. Nucleic. Acids Res. 2010. 38(17): 5884—5892. https://doi.org/10.1093/nar/gkq347

30. Anderson B.R., Muramatsu H., Jha B.K., Silverman R.H., Weissman D., Karikó K. Nucleoside modifications in RNA limit activation of 2′-5′-oligoadenylate synthetase and increase resistance to cleavage by RNase L. Nucleic Acids Res. 2011. 39(21): 9329—9338. https://doi.org/10.1093/nar/gkr586

31. Karikó K., Muramatsu H., Ludwig J., Weissman D. Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA. Nucleic Acids Res. 2011. 39(21): e142. https://doi.org/10.1093/nar/gkr695

32. Baiersdörfer M., Boros G., Muramatsu H., Mahiny A., Vlatkovic I., Sahin U., Karikó K. A Facile Method for the Removal of dsRNA Contaminant from In Vitro-Transcribed mRNA. Mol. Ther. Nucleic Acids. 2019. 15: 26—35. https:// doi.org/10.1016/j.omtn.2019.02.018

33. Hoerr I., Obst R., Rammensee H.G., Jung G. In vivo application of RNA leads to induction of specific cytotoxic T lymphocytes and antibodies. Eur. J. Immunol. 2000. 30(1): 1—7. https://doi.org/10.1002/1521-4141(200001)30:1<1::AIDIMMU1>3.0.CO;2-#

34. Dolgin E. The tangled history of mRNA vaccines. Nature. 2021. 597(7876): 318—324. https://doi.org/10.1038/ d41586-021-02483-w

35. Pardi N., Hogan M.J., Pelc R.S., 33 coauthors, Weissman D. Zika virus protection by a single low-dose nucleosidemodified mRNA vaccination. Nature. 2017. 543(7644): 248—251. https://doi.org/10.1038/nature21428

36. Bahl K., Senn J.J., Yuzhakov O., Bulychev A., Brito L.A., Hassett K.J., Laska M.E., Smith M., Almarsson Ö., Thompson J., Ribeiro A.M., Watson M., Zaks T., Ciaramella G. Preclinical and clinical demonstration of immunogenicity by mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses. Mol. Ther. 2017. 25(6): 1316—1327. https://doi. org/10.1016/j.ymthe.2017.03.035

37. Komisarenko S.V. Scientists' pursuit for SARS-COV-2 coronavirus: strategies against pandemic. Ukr. Biochem. J. 2020. 92(6): 5—52. https://doi.org/10.15407/ubj92.06.005

38. Wrapp D., Wang N., Corbett K.S., Goldsmith J.A., Hsieh C.L., Abiona O., Graham B.S., McLellan J.S. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science. 2020. 367(6483): 1260—1263. https://doi. org/10.1126/science.abb2507

39. Krynina O.I., Romaniuk S.I., Gorbatiuk O.B., Korchynskyi O.H., Rebriiev A.V., Kulyk Ya.S., Kozadaieva Ye.O., Siromolot A.A., Guzyk M.M., Kolybo D.V., Komisarenko S.V. Production of recombinant SARS-CoV-2 proteins and diphtheria toxoid CRM197-based fusion. Ukr. Biochem. J. 2021. 93(6): 31—45. https://doi.org/10.15407/ ubj93.06.031

40. Qiao H., Pelletier S.L., Hoffman L., Hacker J., Armstrong R.T., White J.M. Specific single or double proline substitutions in the "spring-loaded" coiled-coil region of the influenza hemagglutinin impair or abolish membrane fusion activity. J. Cell. Biol. 1998. 141(6): 1335—1347. https://doi.org/10.1083/jcb.141.6.1335

41. Sahin U., Muik A., Derhovanessian E., 38 coauthors, Türeci Ö. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. Nature. 2020. 586(7830): 594—599. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2814-7

42. Corbett K.S., Edwards D.K., Leist S.R., 58 coauthors, Graham B.S. SARS-CoV-2 mRNA vaccine design enabled by prototype pathogen preparedness. Nature. 2020. 586(7830): 567—571. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2622-0

43. Polack F.P., Thomas S.J., Kitchin N., 24 coauthors, Gruber W.C., C4591001 Clinical Trial Group. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. N. Engl. J. Med. 2020. 383(27): 2603—2615. https://doi.org/10.1056/ NEJMoa2034577

44. Husby A., Køber L. COVID-19 mRNA vaccination and myocarditis or pericarditis. Lancet. 2022. 399(10342): 2168— 2169. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00842-X

45. Qu L., Yi Z., Shen Y., 28 coauthors, Wei W. Circular RNA vaccines against SARS-CoV-2 and emerging variants. Cell. 2022. 185(10): 1728—1744.e16. https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.03.044

46. O'Connor M.A., Hawman D.W., Meade-White K., 23 coauthors, Erasmus J.H. A replicon RNA vaccine can induce durable protective immunity from SARS-CoV-2 in nonhuman primates after neutralizing antibodies have waned. PLoS Pathog. 2023. 19(4): e1011298. https://doi.org/10.1371/ journal.ppat.1011298

47. Sun B., Wu W., Narasipura E.A., Ma Y., Yu C., Fenton O.S., Song H. Engineering nanoparticle toolkits for mRNA delivery. Adv. Drug Deliv. Rev. 2023. 200: 115042. https://doi.org/10.1016/j. addr.2023.115042

48. Conde J., Langer R., Rueff J. mRNA therapy at the convergence of genetics and nanomedicine. Nat. Nanotechnol. 2023. 18(6): 537—540. https://doi.org/10.1038/s41565-023-01347-w

49. Dolgin E., Ledford H. mRNA COVID vaccines saved lives and won a Nobel — what's next for the technology? https://www.nature.com/articles/d41586-023-03119-x

50. Arevalo C.P., Bolton M.J., Le Sage V., 13 coauthors, Weissman D., Hensley S.E. A multivalent nucleoside-modified mRNA vaccine against all known influenza virus subtypes. Science. 2022. 378(6622): 899—904. https://doi. org/10.1126/science.abm0271

51. Cohen J. 'Landmark' study finds artificial antibodies can protect against malaria. Science News. https://doi. org/10.1126/science.abl8960

52. Egan K.P., Awasthi S., Tebaldi G., Hook L.M., Naughton A.M., Fowler B.T., Beattie M., Alameh M.G., Weissman D., Cohen G.H., Friedman H.M. A trivalent HSV-2 gC2, gD2, gE2 nucleoside-modified mRNA-LNP vaccine provides outstanding protection in mice against genital and non-genital HSV-1 infection, comparable to the same antigens derived from HSV-1. Viruses. 2023. 15(7): 1483. https://doi.org/10.3390/v15071483

53. Sahin U., Oehm P., Derhovanessian E., 37 coauthors, Türeci Ö. An RNA vaccine drives immunity in checkpointinhibitor-treated melanoma. Nature. 2020. 585(7823): 107—112. https://doi. org/10.1038/s41586-020-2537-9

54. Cromer D., Reynaldi A., Steain M., Triccas J.A., Davenport M.P., Khoury D.S. Relating in vitro neutralization level and protection in the CVnCoV (CUREVAC) Trial. Clin. Infect. Dis. 2022. 75(1): e878—e879. https://doi. org/10.1093/cid/ciac075

ЗАМІСТЬ ПІСЛЯМОВИ

НОТАТКИ З ЕТИКИ В НАУЦІ, або чи можуть відкриття бути запланованими і як здобутки другої наукової революції допоможуть вижити українській науці

С.В. Комісаренко, С.І. Романюк

«...погано, коли політики викривляють науку, але значно-значно гірше,коли вони її ігнорують...»

Незважаючи на те, що дискусія з приводу причин занепаду української науки та способів подолання кризи триває понад 20 років, ситуація продовжує погіршуватися. До численних публікацій на цю тему, часто суперечливих, протилежних за думкою, можна віднести декілька праць [1—4].

Передусім, на стан науки негативно впливають чинники глибокої економічної кризи — недостатнє фінансування, відплив «мізків» за кордон, низький попит на результати науковотехнічної діяльності та ін. Проте суттєве погіршення спостерігається через згубні наслідки «керівництва» наукою, намагання влади «підвищити ефективність» наукового процесу без розуміння суті сучасної науки, нехтування її потребами та можливостями. Серед головних негативних стратегічних і тактичних чинників на сьогодні можна назвати такі: структура керування наукою на вищому рівні є неефективною; на матеріали, реактиви та устаткування не виділяються бюджетні кошти, що знищує експериментальну науку; драматичне падіння курсу гривні унеможливлює закупівлю імпортних реактивів і навіть недорогого устаткування; через зміни в податковому кодексі зникли українські технопарки; жорсткі вимоги проведення тендерних закупівель ускладнюють виконання наукових проєктів за грантами; на митниці створено значні перешкоди для одержання благодійної допомоги від закордонних колег у вигляді обладнання, реактивів чи книг. Щоб вижити, наукові установи шукають додаткові джерела фінансування (роялті, оренда, гранти тощо), однак ці позабюджетні кошти зараховуються до так званого спецбюджету і ними не можна скористатися через постійні перепони Казначейства. В останні роки витрати на науку в Україні зменшилися до 0,4 % ВВП, що відповідає рівню слаборозвинених країн [1], у поточному році вони виявилися ще меншими — до 0,27 %, а останній секвестр бюджету НАН України — головної наукової установи країни — та запровадження обмежень на виплати зарплат узагалі ставлять під сумнів подальшу долю вітчизняної науки, хоча йдеться про дуже незначні суми для бюджету країни. Незначні ще й з огляду на реальний і потенційний внесок учених у економіку, культуру та суспільне життя України.

Неодноразові звернення науковців до президентів України та керівників Уряду, на жаль, залишалися без відповіді. Очевидно, дехто «нагорі» вважав (або вважає) науку непотрібним «тягарем» для держави і не проти знайти інше застосування землі, майну та співробітникам Академії. Подібні ідеї вже реалізуються в Росії, де влітку 2013 р., незважаючи на протести вчених, було прийнято законопроєкт про реформу Російської академії наук, унаслідок якої вона втратила свою незалежність і можливість розпоряджатися майном своїх інститутів [5]. Події Євромайдану в Україні, обрання нових керівних органів

держави зумовили кардинальні зміни у владі та суспільстві, що дає надію на докорінні зміни в політиці керування вітчизняною наукою та вирішення її наболілих проблем.

Проте проблеми української науки не обмежуються лише недостатністю фінансування та недосконалістю законодавства. Гостро стоїть також проблема якості виконуваних наукових робіт. Одним із можливих шляхів її подолання може бути розподіл бюджетного фінансування між науковими установами та окремими лабораторіями у чіткій відповідності до наукової значущості виконаних ними робіт. Проте постає питання, як саме оцінювати важливість тієї чи іншої роботи для наукового прогресу. Деякі вчені закликають ввести в Україні досить поширену в світі систему оцінювання за низкою кількісних показників, таких як індекс цитування, сумарний імпакт-фактор публікацій за певний період часу, індекс Хірша. Загальний індекс цитування та імпакт-фактор було розроблено Інститутом наукової інформації (ISI) (Філадельфія, США) — нинішнім підрозділом «Thomson Reuters». Загальний індекс цитування — сумарна кількість посилань на публікації вченого, а імпакт-фактор — кількісний показник якості журналу, який розраховують щороку як відношення кількості цитувань статей журналу, опублікованих за 2 попередні роки, до загальної кількості цих статей. Ідея розрахунку імпакт-фактора належить Юджину Гарфілду — засновнику та керівнику ISI [6]. Індекс Хірша (h), запропонований у 2005 р. американським фізиком Джорджем Хіршем з університету Сан-Дієго (Каліфорнія, США), відповідає кількості публікацій ученого h, процитованих не менше ніж h разів [7].

Оцінювання наукової діяльності за кількісними показниками, безумовно, слід брати до уваги, але лише як приблизний критерій. Ця система оцінювання має багато противників і не тільки серед учених, в яких ці показники є низькими. Адже абсолютно незрозуміло, як кількість цитувань пов'язана з якістю публікації та як бути з науковцями, які працюють за «закритою» тематикою чи займаються переважно прикладними дослідженнями. Часто велику кількість цитувань мають статті на популярні теми, а також статті, що містять несподівані висновки або суперечливі чи навіть помилкові результати. Різні галузі науки можуть істотно різнитися за середньою кількістю цитувань, наприклад, математичні праці зазвичай цитують менше, ніж медичні. До того ж, 90 % цитувань математичних статей з'являється через два і більше років після публікації [8]. Дослідження, нехай і дуже важливі, з так званих національних проблем можуть бути абсолютно нецікавими для вчених інших країн, тому не цитуватимуться. Журнали, що публікують оглядові статті, часто мають значно вищий імпакт-фактор, ніж престижні, але вузькоспеціалізовані наукові часописи. Відносність загального індексу цитування для оцінювання наукової роботи можна проілюструвати тим, що одна з найвідоміших у світі наукових статей Дж. Уотсона і Ф. Кріка, опублікована 25 квітня 1953 р. у журналі «Nature» і присвячена дослідженню структури ДНК, за що її автори отримали Нобелівську премію (1962), не потрапила навіть до першої сотні найбільш цитованих наукових статей, так само, як і відкриття високотемпературної надпровідності й того факту, що розширення нашого Всесвіту прискорюється [9].

Останнім часом учені зі світовим ім'ям усе частіше висловлюють сумніви щодо доцільності цієї наукометричної системи. Так, лауреат Нобелівської премії з фізіології та медицини за 2013 р. Ренді Шекман заборонив співробітникам своєї лабораторії публікуватися в найвідоміших наукових журналах з високим імпакт-фактором — «Science», «Nature», «Cell» — і полишив посаду головного редактора відомого американського журналу PNAS для того, щоб очолити веб-журнал відкритого доступу «e-Life» [10]. Ще відвертіше висловив свої думки в «Nature» відомий китайський хімік Nai-Xing Wang [11]: «Якщо високий імпакт-фактор — єдина мета досліджень у хімії, то хімія більше не є наукою». На перший погляд, такі висновки видаються принаймні дивними. Проте це лише на перший погляд...

Р. Шекман, як і багато його колег у всьому світі, вбачає в наявній системі оцінювання наукових робіт велику небезпеку для науки. Адже останнім часом учені дедалі більше думають не про здобуття нових знань на користь людству, а про власний успіх і кар'єру, одержання грантів, престижних премій і нагород, шлях до яких лежить через сенсаційні публікації у відомих журналах. Ці журнали завжди були уособленням високої якості та наукової значущості досліджень, але насправді до друку в них зараз приймають передусім праці з несподіваними (іноді помилковими) висновками, бо вони можуть викликати значний суспільний резонанс. Наукові журнали, як і будь-які ЗМІ, насамперед націлені на збільшення продажів, а не на підтримку найвагоміших досліджень. Намагаючись підвищити рейтинг, вони створюють ажіотаж, штучно обмежуючи кількість публікацій, підтримуючи окремі «модні» наукові напрями. Дуже часто опубліковані «блискучі» дослідження не мають ніякої користі для науки, а «модні» напрями з часом виявляються тупиковими. У провідних наукових журналах неодноразово з'являлися статті сумнівного наукового змісту або відверто псевдонаукові. Наприклад, повідомлялося про успішне клонування ембріонів людини, виявлення специфічних генів довгожителів і відкриття мікроорганізмів, у ДНК яких фосфор замінений на миш'як [10].

Редакції журналів розпочали активну діяльність, спрямовану на штучне підвищення імпакт-фактора, всіляко заохочуючи авторів посилатися на статті останніх двох років, друкуючи огляди за матеріалами цих статей тощо. Звичайним явищем для наукових журналів стала розсилка рекламних оголошень на кшталт оголошення видавництва «World Scientific», що видає журнал «International Journal of Algebra and Computation» (IJAC): «Імпакт-фактор IJAC зріс із 0,414 у 2007 р. до 0,421 у 2008 р.! Вітаємо редакційну раду і авторів IJAC». У цьому випадку зростання імпакт-фактора на 0,007 означало появу одного додаткового посилання на одну зі 145 статей, опублікованих за 2 попередні роки [8]. Неймовірно, але імпакт-фактор перетворився з основного кількісного показника якості журналу на інструмент оцінювання не лише якості надрукованих у ньому статей, а й авторів і навіть організацій, в яких ці автори працюють. Трапляється, що вчені в списку публікацій вказують імпакт-фактор для кожної з них з точністю до трьох десяткових знаків, а в деяких країнах публікація в журналах з імпакт-фактором, нижчим за 5,0, офіційно не має жодного значення. Закон, відкритий економістом Чарльзом Гудхартом у 1975 р.,

якнайкраще описує ситуацію з імпакт-фактором: «Коли досягнення деякого показника стає метою, він перестає бути хорошим показником» [12].

В умовах постійної конкуренції та боротьби за фінансування наукових досліджень учені змушені діяти за принципом «Публікуватися чи загинути» [13]. Тобто, щоб отримувати гранти, посади, нагороди, вчений повинен постійно публікуватися в журналах з високим імпакт-фактором. Саме публікації, а не наукові відкриття, стали головною метою вчених, і заради швидкого досягнення цієї мети принесено в жертву якість і завершеність робіт. Без доскональної перевірки результатів нашвидкуруч зроблені висновки часто виявляються помилковими. На ці праці спираються інші вчені в своїх дослідженнях, і лавина помилкових результатів наростає фантастичними темпами. «Полювання» за високими наукометричними показниками має ще один небезпечний для науки наслідок: учені втрачають свободу у виборі напряму досліджень. Наявна система оцінювання за кількістю цитувань робить вигідним дослідження в популярних галузях науки, в яких працює багато інших вчених, і стримує проведення ризикованих і новаторських робіт, оскільки під час їх виконання публікацій може не бути впродовж тривалого періоду. Внаслідок цього дуже небагато вчених насмілюються працювати в нових галузях досліджень, а отже, мати можливість зробити щось принципово нове [14]. Крім того, широке застосування кількісних критеріїв оцінювання наукових праць призводить до своєрідного штучного відбору науковців певного типу: енергійних, агресивних, з підприємницькою хваткою, а спокійні люди, схильні до роздумів і творчості, стають аутсайдерами. З цим пов'язана тенденція останніх років: біологічну науку залишають талановиті жінки-вчені, що не бажають пускати пил в очі та боротися за виживання заради отримання грантів [15].

Іноді вчені, намагаючись підвищити свої показники, не витримують психологічного пресингу і свідомо порушують етичні норми: вони посилаються на велику кількість власних статей (хоча зараз самоцитування не враховують), домовляються з колегами про обмін цитуваннями, проводять псевдонаукові дослідження або навіть підробляють результати досліджень. Узагалі вважається, що навіть авторитетні наукові журнали містять 1—2 % сфабрикованих результатів, а за даними вебсайту Retraction Watch, кількість статей, які після публікації потім відкликають, постійно зростає. Один із авторів цієї статті під час відрядження до США в 1981 р. став свідком наслідків гучного скандалу в експериментальній медицині, за матеріалами якого було опубліковано книгу «The Patchwork Mouse» і знято художній фільм. Учень професора Роберта Гуда — одного з найталановитіших американських медиків, академіка Національної академії наук США, директора Нью-Йоркського протиракового центру ім. Слоан-Кеттерінга — нібито винайшов шлях подолання тканинної несумісності і демонстрував його на моделі пересадки шкіри. Перші публікації викликали величезний інтерес серед імунологів. Учений отримав грант на розширення експериментів, але не зміг відтворити результати, і тоді почав підмальовувати чорним маркером пересаджені ділянки шкіри на білих мишах. Шахрайство викрили, вченого звільнили з «вовчим квитком», а Роберту Гуду довелося покинути Слоан-Кеттерінгівський центр, хоча він нічого не знав про «витівки» співробітника.

Традиційно багато фальсифікацій спостерігається в галузі біології розвитку, оскільки успіхи регенеративної медицини обіцяють велику популярність і значне збагачення. Одна з таких історій, яка набула широкого розголосу та ще й закінчилася трагічно, сталася у 2014 р. Журнал «Nature» опублікував дві статті з неймовірними результатами, які доводили, що клітини крові можуть повернутися до фенотипу стовбурових клітин (STAP) після інкубації в м'якому розчині кислоти. Ці публікації відразу зробили знаменитим їх головного автора — 30-річну дослідницю Харуко Обоката з японського Центру біології розвитку RIKEN у місті Кобе. Через кілька місяців після невдалих спроб інших дослідників відтворити результати з'ясувалося, що дані було сфабриковано. Крім того, виявилося, що в статті використано ілюстрації з докторської дисертації Обоката. Журнал «Nature» відкликав ці статті, Обоката була змушена звільнитися, а її наставник і співавтор Йошікі Сасаї вчинив самогубство [16].

Випадки фальсифікації трапляються і в інших галузях науки. Знаменитий (нині — сумнозвісний) німецький фізик Ян Хендрік Шон — співробітник Bell Laboratories у США, лауреат багатьох премій, імовірний кандидат на Нобелівську премію з фізики, який нібито відкрив перший у світі пластиковий лазер та найменший транзистор із однієї молекули, «прославився» тим, що використовував один і той самий графік у багатьох різних статтях, присвячених вивченню нанометрових транзисторів і надпровідності. Наукові дані Яна Шона публікувалися в журналах «Nature» та «Science». Зрештою, підробки було виявлено і Шона позбавили докторського ступеня Університету в Констанці.

Відомий доказами скандальних теорій соціальний психолог з Нідерландів Дідерик Стапель за десяток років сфабрикував дані близько 30 наукових публікацій і 14 кандидатських дисертацій, виконаних під його керівництвом. У 2011 р. журнал «Science» опублікував статтю Стапеля, яка доводила зв'язок між захаращеністю міських вулиць і стереотипністю мислення пересічних громадян, що проявлялася в дискримінації щодо тієї чи іншої соціальної групи [17].

Історія шахрайства британського вченого Ендрю Уейкфілда, що «відкрив» зв'язок між аутизмом і вакциною проти кору, паротиту та краснухи (КПК), розгорталася впродовж 15 років і мала серйозні наслідки для багатьох людей і країни в цілому. Публікація Уейкфілда та співавторів у журналі «The Lancet» у 1998 р. доводила, що щеплення КПК спричинює запалення кишечника, яке призводить до порушення його бар'єрної функції, потрапляння в кровообіг білків, що зумовлюють енцефалопатію і в подальшому аутизм. Ці роботи ґрунтувалися на обстеженні 12 дітей із затримками розвитку нервової системи, 8 з яких страждали на аутизм. Проте виявилося, що результати було сфальсифіковано, дослідження Уейкфілда фінансували адвокати, яких залучали батьки цих дітей для участі в судових позовах проти компаній — виробників вакцин, а сам Уейкфілд, як автор патенту на альтернативну вакцину проти кору, був зацікавлений у відмові від вакцини КПК. Багато років у ЗМІ та судах тривала справжня війна між прихильниками та противниками Уейкфілда. У цей конфлікт втягнули навіть прем'єр-міністра Великої Британії, Тоні Блера, якому закидали, що він начебто не вакцинує свого сина вакциною КПК. PR-кампанія проти щеплення КПК призвела до того, що в 2006 р. імунний прошарок знизився до 78,9 %, в усій країні виникли спалахи кору і вперше за 14 років було

зафіксовано летальний випадок цього захворювання — помер 13-річний хлопчик. Незважаючи на результати журналістського розслідування, статті інших дослідників, які не змогли відтворити результати, відмову від цих публікацій більшості співавторів, журнал «The Lancet» до останнього захищав Уейкфілда і лише в 2010 р. визнав помилку. Серйозне занепокоєння викликає той факт, що викриття цього шахрайства відбулося завдяки ЗМІ, а зовсім не внаслідок пильності наукового співтовариства [18].

Водночас некомпетентні чи заангажовані ЗМІ та «екзальтовані» представники громадськості вносять свій негатив. Так, поширюваний у суспільстві екологічний рух зробив «модними» дослідження, які б доводили шкідливість вакцинації, фторування води, створення генетично модифікованих рослин, захоронення ядерних відходів. І навіть якщо результати таких робіт підроблено, вчені-шахраї все одно стають героями, а образ науки в суспільстві спотворюється. Деякі її галузі громадськість починає вважати потенційно небезпечними і навіть злочинними, наприклад генетичну інженерію, синтетичну хімію чи ядерну фізику, що істотно зашкоджує прогресу і не дає можливості вирішувати нагальні проблеми людства [19].

Найгучнішими і найскандальнішими прикладами неетичної поведінки стають випадки, що трапляються серед досвідчених учених з високою репутацією. Чому вчені, які переважно є людьми розумними, відважуються на шахрайство, обманюють колег, рецензентів наукових журналів і, зрештою, суспільство? Адже наукове дослідження нічого не варте, якщо його результати не можна відтворити. Часто на підроблення результатів учених спонукають очікування суспільства, політична актуальність і «тиск життя науковця». Що це, останнє, означає в пострадянському просторі? Якщо для не науковця науковий ступінь чи наукове звання — справа престижу, красива довічна етикетка, то для вчених і викладачів — це обов'язковий етап кар'єрного росту. В нашій країні не можна обіймати певні посади, не маючи відповідних наукових ступенів чи наукового звання. Крім того, гроші за ступені й звання додаються до зарплати. Але отримати ступені й звання можна, лише маючи необхідну кількість публікацій, нехай і низької якості. Це створює відповідний тиск на науковців і зумовлює масову появу «дутих» публікацій, кандидатів і докторів наук, доцентів і професорів, а також підштовхує вдаватися до плагіату, особливо в галузі суспільних наук.

Отже, виникає слушне питання, чи є такі випадки наслідками системи організації досліджень і публікацій, чи це особливості менталітету окремих учених. Відповідь, напевне, полягає в поєднанні обох чинників. Випадки фальсифікації чи публікації неперевірених даних траплялися завжди і траплятимуться, мабуть, надалі. Повністю викорінити наукове шахрайство та плагіат вкрай важко, хоча сьогодні є багато комп'ютерних програм, що допомагають відшукати сліди плагіату. Наукова громадськість має постійно та пильно стежити за появою псевдонаукових тенденцій, перешкоджаючи їх розповсюдженню. А для цього потрібно чітко усвідомлювати причини поширення цього явища та способи його подолання. Найдієвішим є не стільки небезпека покарання, скільки підтримання традицій наукової етики, починаючи зі студентсь-

кої лави, і розповсюдження інформації щодо етичних принципів у науці серед широкого загалу.

Іншим тиском на науку, який часто призводить до шахрайства, є тиск політичної влади та грошей. Наукове дослідження іноді потрапляє в зону бізнесових і владних інтересів, націлених на використання науки як чергового інструменту для відмивання грошей. Наприклад, у 2010 р. спікер Держдуми Російської Федерації, Борис Гризлов, різко розкритикував роботу комісії РАН з боротьби з псевдонаукою, назвавши її «середньовічною інквізицією», яка винищує паростки всього нового. Виявилося, що комісія стала на заваді просуванню багатомільярдної держпрограми «Чистая вода», згідно з якою планувалося перетворювати радіоактивні стоки на питну воду за сумнівною методикою Віктора Петрика, запатентованою у співавторстві зі спікером [20].

З метою одержання значних інвестицій наукові проєкти часто штучно «розкручуються» в ЗМІ, а згодом виявляються просто «мильними бульбашками». Так, варто згадати скандал навколо данського науково-дослідного центру OPUS при Університеті Копенгагена, який провів масштабну PR-кампанію, спрямовану на популяризацію проєкту з відновлення данської кулінарної культури та створення спеціальної північної дієти, базованої на місцевих продуктах і начебто корисної для здоров'я данців. Усе б нічого, але широкомасштабну інформаційно-пропагандистську діяльність розгорнули задовго до публікації результатів проєкту, цьому сприяла економічна зацікавленість у просуванні проєкту місцевих виробників продуктів, один з яких — Клаус Мейєрис — входив до ради директорів центру OPUS. Ретельно розроблена медіа-стратегія видавала бажане за дійсне та створювала ажіотаж у суспільстві, що дало змогу центру OPUS обійти конкурентів і отримати грант у 13 млн євро від данського приватного фонду Nordea. І коли у вересні 2013 р. один зі співробітників центру оприлюднив результати опитування споживачів, які свідчили про недоцільність розробленої дієти, стався повний провал проєкту і в пресі здійнявся гучний скандал [21].

Ще одним чинником, який сприяє зростанню кількості псевдонаукових і сфальсифікованих публікацій, є розвиток сучасних комп'ютерних технологій, що значно полегшує процес наукового оброблення документів. Прикладом цього є нещодавній випадок із вилученням з баз даних двох найвідоміших видавців наукової літератури — IEEE і «Springer» — 120 абсолютно абсурдних статей, написаних з використанням програмного забезпечення SCIgen для комп'ютерної генерації випадкових текстів науково-дослідних робіт. Формально ці роботи мали незалежне рецензування і були опубліковані в справжніх матеріалах конференцій, щоправда переважно китайських конференцій з машинобудування та комп'ютерних технологій, і, можливо, проблема стосується якості організації цих наукових форумів. У будь-якому разі, всі ці статті спокійно пройшли непоміченими крізь систему публікування, хоча цього не мало статися. Такі випадки свідчать про появу нового типу спаму, кількість якого в науковій пресі зростає фантастичними темпами. Звичайно, можна застосовувати спеціальні комп'ютерні програми для пошуку й видалення автоматично створених статей, плагіату, втім це не вирішує проблему кардинально [13].

Збільшення кількості випадків неетичної поведінки серед учених має досить вагомі наслідки. По-перше, це формує негативну громадську думку про

вчених і науку взагалі. По-друге, виникають сумніви щодо того, на яких цінностях має ґрунтуватися науково-технічна політика, адже вчені — це продукт системи освіти та культурних цінностей, що суттєво впливають на їхню поведінку. Нині соціологи та психологи намагаються дослідити, чому одні вчені дотримуються принципів порядності, чесності, відкритості в наукових дослідженнях, а інші — весь свій розум і винахідливість спрямовують на те, щоб приховати шахрайство. Нещодавно Наффілдська рада з біоетики (Велика Британія) запропонувала провести дослідження, які б дали відповідь на питання, як культура сучасних учених впливає на якість наукових досліджень і стан науки загалом [22].

Деякі політики, громадські діячі й навіть науковці вважають, що фундаментальна наука не має подальшої перспективи і невдовзі зійде майже нанівець, оскільки суспільство вже потонуло у величезному масиві інформації, яка не має великого значення для прогресу людства. Нібито мета наукової діяльності зводиться до того, щоб відшукати невелику тематичну нішу та проводити дослідження в її межах. Не обов'язково вирішити якесь фундаментальне питання, головне — публікувати статті за обраною тематикою, отримувати цитування від колег та гроші на подальші дослідження й залучення молоді. І коли молоді вчені зростають у таких умовах, стають старшими науковими співробітниками, вони «просять» ще більшого фінансування і т. д.... А що насправді дає суспільству фундаментальна наука? Чи не настав час зосередитися на прикладній науці? Напевне, можна знайти приклади, що підтверджують такі погляди, але це швидше винятки, ніж загальне правило. Досить згадати один, імовірно, найяскравіший приклад того, як фундаментальні дослідження спричинили революційні зміни у промисловості та побуті. 27 січня 2022 р. отримано звістку про смерть видатного американського фізика Чарлза Таунса — лауреата Нобелівської премії з фізики (1964) за фундаментальні роботи в галузі квантової електроніки, яку він розділив з радянськими вченими Миколою Басовим і Олександром Прохоровим. Тоді ще навіть гадки не було, як лазери, принцип дії яких розробили ці вчені, можуть вплинути на повсякденне життя людини. А сьогодні лазерні технології повсюди — від побуту до космосу. Зауважимо, що в СРСР винахід лазерів було використано майже винятково в інтересах ВПК, а в усьому світі вони стали підґрунтям для численних технологій, впровадження яких дало користь суспільству та принесло величезні прибутки промисловості.

За законами капіталізму, для успішної діяльності наукові установи мають постійно зростати і потребувати дедалі більшого фінансування. Коли інвестиції в науку досягають межі можливого, криза нібито стає неминучою. Нині найбагатші країни прагнуть інвестувати близько 3 % ВВП у наукові дослідження та розробки, з яких понад 20 % припадає на фундаментальну науку. Проте це державні кошти. Не меншими, а інколи і більшими є видатки у бізнес, наприклад фармацевтичних та ІТ-компаній. Показник державного фінансування в абсолютних цифрах постійно збільшувався протягом останніх кількох десятиліть, і, можливо, в найближчому майбутньому інвестиції досягнуть межі, а потім наукові центри почнуть закриватися. У сучасних ознаках кризи в галузі науки дехто навіть вбачає прикмети загального занепаду європейської культури, який ще на початку XX ст. пророчив Освальд Шпенглер у книзі

«Захід Європи» [23]. Імовірно, такі передбачення є надто песимістичними, але побоювання багатьох учених щодо подальшої долі науки не є безпідставними. Як саме можна запобігти глобальній кризі світової науки?

По-перше, потрібно припинити широке використання системи оцінювання наукової діяльності винятково за кількісними показниками, яка підтримується її агресивними і часто зацікавленими прихильниками. Ці показники обов'язково слід враховувати, але лише як допоміжні критерії. Наукові дослідження є доволі складною справою, щоб їх оцінювати за допомогою тільки одного примітивного засобу.

У цій ситуації слід дослухатися поради Альберта Ейнштейна: «Усе має бути максимально простим, наскільки це можливо, але не занадто простим» [24]. У грудні 2012 р. на з'їзді Американського товариства клітинної біології у Сан-Франциско прийнято декларацію про оцінювання наукової діяльності — DORA (Declaration on Research Assessment), яка закликала весь науковий світ відмовитися від використання імпакт-фактора для оцінювання індивідуальних робіт окремого науковця. Вчені дійшли висновку про необхідність зниження вимог щодо престижності та кількості публікацій, змінення системи публікування так, щоб приділяти більше уваги якості та цілісності робіт, і прийняття рішень на основі здорового глузду та експертизи вибраних робіт дослідника [14]. Очевидно, що тільки експертна оцінка фахівців може об'єктивно оцінити роботу. Проте, як бути з порівнянням результатів робіт, виконаних у різних галузях фундаментальної науки, і чи взагалі можливе таке порівняння, особливо у фіксований проміжок часу?

По-друге, слід розробити чітку систему виявлення та покарання науковців-шахраїв. Це можна виконувати за допомогою спеціальних комп'ютерних програм, які зіставляють вихідні та статистично оброблені дані. Варто організовувати відкриті слухання та обговорення науково-дослідних робіт. Оскільки шахраї здебільшого діють самостійно, то інші співробітники лабораторії або колеги-співавтори можуть помітити фальсифікацію, хоча на практиці таке трапляється рідко, адже вчені бояться втратити дружні зв'язки та репутацію, побоюються стати об'єктом помсти. Останнім часом популярною стає ідея психологічної підготовки молодих учених, яка б дала їм змогу усвідомити обов'язки науковця перед суспільством і адаптуватися до умов постійного тиску щодо збільшення кількості публікацій та необхідності постійно шукати додаткове фінансування [23].

По-третє, потрібно ефективно співпрацювати зі ЗМІ з метою створення позитивної громадської думки про вчених і про науку. Останніми десятиліттями ЗМІ активно «розкручували» скандальні історії про науковців-шахраїв і негативні наслідки наукових досліджень, виходячи з принципу «з хорошої історії доброї новини не зробиш». Так, поступово було створено стереотип неохайного, недбалого чи навіть божевільного науковця, який заради результатів досліджень готовий вчинити будь-який злочин проти людства. І такий образ знайшов відображення у художній літературі, кінематографі, на телебаченні й навіть у коміксах. Щоб змінити ситуацію та поширити в суспільстві більш поважне ставлення до науки, вчені мають відкрито обговорювати проблеми і прагнення науки, популярно та цікаво висвітлювати в ЗМІ свої наукові досягнення [25].

Проєкти, спрямовані на розвиток практики відкритого доступу та обміну науковими даними, полегшують перевірку результатів іншими вченими і в такий спосіб сприяють виявленню фальсифікацій. Наприклад, вебжурнал «PLoS One», що видається з 2003 р. Публічною науковою бібліотекою (Public Library of Science), — це архів статей з відкритим доступом, де статті публікуються на кошти авторів після загального схвалення рецензентами і можуть отримувати коментарі від інших учених. Ще одним прикладом є найбільший сервер препринтів arXiv, який функціонує з 1991 р. і зараз підтримується Корнельським університетом США. Цей сервер публікує тисячі електронних версій статей (переважно з фізики й математики) без рецензування та коментарів щодо їх наукової значущості. З метою запобігання появі псевдонаукових статей для публікації потрібне підтвердження поручителя — вченого з визнаної академічної установи. Для зручності читачів статті з анотаціями можуть надсилатися на електронну пошту [26].

Тенденція до глобалізації наукових досліджень сприяла появі в останні роки багатьох соціальних мереж, блогів, порталів, на кшталт Global Research Report, які надають широкі можливості для спілкування вчених, обговорення результатів наукових досліджень і пошуку партнерів у інших країнах. Так, у 2008 р. з'явилися такі відомі соціальні мережі для вчених, як ResearchGate та Academia.edu. Це пов'язано зі спробою прийняти в США закон, що обмежує можливості обміну науковими статтями, які містять результати досліджень, проведених за гроші платників податків. Мережу ResearchGate засновано в Берліні лікарем-вірусологом Їядом Медішем та його колегами на гроші Білла Гейтса та інших інвесторів: 35 млн дол. США. У червні 2013 р. у цій мережі вже було зареєстровано понад 3 млн науковців зі 193 країн світу [27]. Сьогодні активно функціонують і багато інших наукових мереж — Epernicus, Graduate Junction, Laboratree, LabSpaces, Methodspace, Nature Network, Ologeez, Social Science Research Network. Найпопулярнішими міжнародними дослідницькими блогами є OpenWetWare, Science 2.0, ScienceBlogs, Scientific Blogging, Wordpress [28]. Щоб запобігти плутанині через участь одних і тих самих учених у кількох соціальних мережах, у 2008 р. Thomson Reuters створив персональний ідентифікатор ученого ResearcherID, пов'язаний зі системою Web of Science [29]. Також у 2008 р. в Інтернеті з'явилася безкоштовна програма Mendeley для керування бібліографічною інформацією, яка дає змогу зберігати та переглядати дослідницькі праці у форматі PDF, а також вільно обмінюватися ними в соціальній мережі вчених. Проте в 2013 р. науковий видавничий дім «Elsevier» придбав Mendeley за 65 млн дол. США, що спричинило значний резонанс у наукових колах і ЗМІ, оскільки «Elsevier» зацікавлений в обмеженні доступу до публікацій [30]. Ще більший резонанс у січні 2022 р. викликало повідомлення про те, що видавництво «Macmillan Science and Education» (власники «Nature» та «Scientific American») об'єднується з видавництвом «Springer Science+Business» [31]. Новостворений супергігант разом з «Elsevier» може повністю взяти під контроль більшість наукових публікацій у світі. На тлі цих новин позитивом стало рішення Фундації Білла і Мелінди Гейтс про фінансування публікацій (близько 1400 за рік) у «миттєвих і відкритих» (immediate open-access) журналах тих учених, які виконують дослідження за численними грантами фундації [32].

Узагалі, в науковому середовищі поширюється думка, що система рецензування статей перед їх друком застаріла і слід переходити до оцінювання статей після публікації в immediate open-access-журналах, коли з ними ознайомиться не обмежене, а широке коло експертів. Такий підхід дасть можливість виявляти помилки чи фальсифікації значно швидше й ефективніше, особливо за допомогою соціальних мереж. Щоправда, результати опитування свідчать, що нині всього 10—20 % дослідників у своїй професійній діяльності використовують соціальні мережі та блоги, і здебільшого — це молоді вчені. Але кількість користувачів таких мереж постійно зростає. Соціальні мережі у сфері науки значно підвищили рівень співпраці й темпи досліджень, а також заклали засади нової культури, яка спонукає вчених не конкурувати, а об'єднуватися, обмінюватися досвідом, допомагати один одному. Соціальні мережі сприяють об'єднанню науки на Сході та Заході та відкривають нові перспективи для країн з недостатнім фінансуванням, зокрема для України. Ще однією перевагою соціальних мереж з погляду психології є те, що вони надають науковцю можливість привернути до себе увагу світового співтовариства, не вдаючись до шахрайства. Репутація вченого в соціальних мережах стає одним із найважливіших чинників впливу на прийняття рішень щодо кар'єрного росту та підбору колег для співпраці [33]. У 2012 р. Королівське товариство Британії зміни в науці, спричинені розвитком цифрових технологій, назвало другою науковою революцією. Ця революція ознаменувала початок нової ери відкритої науки, яка надає вченим можливості для вільного та взаємовигідного обміну опублікованими працями, експериментальними даними та ідеями. Завдяки системам відкритого доступу в центрі наукової діяльності опинилася не економічна складова, а здатність людей до спілкування та співробітництва [34].

Безперечно, поява соціальних мереж вплинула і на зв'язок науки з громадськістю. Адже відкритість науки є важливою не лише для науковців, а й для всіх інших людей, оскільки вона може прискорити подолання таких глобальних проблем людства, як енергетична криза, дефіцит продовольства, смертельні хвороби. Сьогодні будь-яка людина має доступ до практично необмеженого масиву інформації.

Науковий потенціал цього громадського розуму потрібно використовувати на благо науки та людства. Нині ЄС розпочав фінансування проєкту Socientize, орієнтованого на створення так званої громадянської науки. Цей проєкт має залучати громадян до вирішення глобальних проблем через надання невеликої фінансової підтримки в обмін на інноваційні ідеї [35]. Проте такий підхід наукова спільнота поки ще сприймає неоднозначно.

Навколо питання взаємовідносин громадськості та науки останнім часом відбувається багато дискусій. Якою мірою громадськість має брати участь у керуванні наукою, чи повинна наука бути автономною, вільною та самостійно обирати напрями досліджень? Опитування свідчать, що вчені загалом позитивно ставляться до тісних зв'язків із громадськістю, адже обізнаність суспільства щодо питань науки сприяє позитивному ставленню людей до цієї галузі. Проте багато вчених дотримуються думки, що оприлюднювати результати досліджень можна лише після їх опублікування в науковому журналі. Крім того, у більшості випадків науковці вважають громадськість недостатньо кваліфіко-

ваною, щоб визначати політику керування науковими дослідженнями. Висловлюючись образно, наука має бути відмежована від громадськості «прозорим парканом», тобто громадськість може бути спостерігачем, але не безпосереднім учасником наукового процесу. Втім, якщо врахувати, що наука часто перебуває під тиском політичної влади та фінансових інтересів, то взаємодія з громадськістю може сприяти пом'якшенню цього впливу [36]. Є безліч прикладів того, як владні структури намагаються вплинути на науку та освіту й навіть використати наукові результати у своїх інтересах. Так, відомий журнал «Bulletin of the Atomic Scientists» опублікував статтю «Коли політики викривляють науку», де, серед іншого, йшлося про те, що кандидат у Президенти США, губернатор Техасу республіканець Рік Перрі публічно ставив під сумнів наукові дані щодо змін клімату, Джиммі Картер безпідставно обіцяв, що у 2000 р. 20 % енергії в США вироблятиметься з альтернативних джерел, Рональд Рейган намагався запровадити викладання креаціонізму в школах, Білл Клінтон наказав бомбардувати хімічний завод на Середньому Сході нібито на підставі наукових даних, яких не було, а Джордж Буш наполягав на тому, що Ірак має біологічну зброю масового знищення [37]. Автори завершили свою статтю очевидним висновком: погано, коли політики викривляють науку, але значно-значно гірше, коли вони її ігнорують.

Українська наука повинна подолати довгий шлях реформ, щоб вирішити гострі проблеми сьогодення. Необхідно забезпечити об'єктивну систему оцінювання проєктів, справедливий розподіл коштів, захистити інтелектуальну власність, підвищити престиж науки, налагодити взаємодію між наукою, освітою, суспільством, керівництвом країни тощо. Здобутки другої наукової революції створюють сприятливі умови для цього, пропонуючи спосіб ефективної взаємодії між ученими, політиками та громадськістю. Проте для їх успішного втілення в життя потрібно, щоб чиновники, які керують українською наукою, пам'ятали: наука та свобода є нероздільними. Неможливо прийняти закон, який би змушував ефективно займатися наукою. Як влучно зазначив біохімік Макс Перуц у передмові до своєї книги, «...творчість у науці, як і в мистецтві, не може бути організованою. Вона виникає спонтанно з індивідуального таланту. Добре організовані лабораторії можуть сприяти творчості, але ієрархічна організація, негнучкі бюрократичні правила та гори непотрібних документів можуть її вбити. Відкриття не можуть бути запланованими, вони з'являються як ельфи в несподіваних місцях» [38]. Водночас у будь-якій країні, а особливо в нашій, у вчених крім їх головної місії — отримання нових знань та підготовки нової наукової зміни — є обов'язок (так, саме обов'язок) перед суспільством — бути експертами із впровадження здобутків світової науки на благо батьківщини.

Чи не є це обмеженням свободи вченого, чи не суперечить попередній сентенції про свободу науки? І так, і ні. Шукаймо розумний і продуктивний компроміс, на відміну від релігії наука побудована не на догмах і розвивається завдяки протиріччям, сумнівам, пошукам та постійним змінам.

REFERENCES

1. Стріха М. Наука в Україні: зруйнувати — легко, відновити — майже неможливо. *Світ*. 2013. № 43—44.

2. Сибирный А. Сколько ни говорите «халва»... *Зеркало недели*. 2014. № 14.

3. Локтєв В.М. Реформи заради реформ? *Вісник НАН України*. 2015. № 2. С. 69—72.
4. Стріха М. Наука — це не засіб задоволення чиєїсь цікавості, а гарантія безпеки держави. *Український тиждень*. 2015. № 5.
5. Ivan Kurilla. The Last Year for Russian Academia? http://www.wilsoncenter.org/article/the-last-year-for-russianacademia.
6. Garfield E. Citation indexes to science: a new dimension in documentation through association of ideas. *Science*. 1955. Vol. 122, N 3159. P. 108—111.
7. Hirsch J.E. An index to quantify an individual's scientific research output. *PNAS*. 2005. Vol. 102, N 46. P. 16569—16572.
8. Arnold D.N., Fowler K.K. Nefarious Numbers. *Notices of the American Mathematical Society*. 2011. Vol. 58, N 3. P. 434—437.
9. Noorden Van R., Maher B., Nuzzo R. The top 100 papers. *Nature News*. 2014. Vol. 514, N 7524. P. 550—553.
10. Schekman R. How journals like Nature, Cell and Science are damaging science. *The Guardian*. 2013. Dec. 9.
11. Nai-Xing Wang. China's chemists should avoid the Vanity Fair. *Nature*. 2011. Vol. 476, N 253. DOI: 10.1038/476253a.
12. Strathern M. Improving ratings: audit in the British University system. *European Review*. 1997. Vol. 5, N 3. P. 305—321.
13. Labbé C. Publish or perish: an incitement to fraudulence. *EuroScientist*. 2014. April 30.
14. Alberts B. Impact factor distortions. *Science*. 2013. Vol. 340, N 6134. P. 787.
15. Lawrence P.A. Men, women, and ghosts in science. *PLOS Biology*. 2006. Vol. 4, N 1. P. e19.
16. Jun Hongo. The Rise and Fall of Haruko Obokata in 2014. *The Wall Street Journal*. 2014. Dec. 19.
17. Frood A. From fraudsters to fudgers: research integrity is on trial. *EuroScientist*. 2014. April 30.
18. Deer B. Secrets of the MMR scare. How the vaccine crisis was meant to make money. *BMJ*. 2011. N 342. P. c5258.
19. Byrne G. The abuse of Science. *EuroScientist*. 2014. April 16.
20. Ворсобин В. Академия мракобесия. *РИА Новости*. 2010. 29 января.
21. Jens Degett. Science Communication: putting the cart before the horse. *EuroScientist*. 2014. April 30.
22. Louët S. Gaming the system: who is responsible? *EuroScientist*. 2014. April 30.
23. López-Corredoira M. Have we reached the twilight of the fundamental science era? *EuroScientist*. 2014. April 30.
24. Einstein A. On the Method of Theoretical Physics. *Philosophy of Science*. 1934. Vol. 1, N 2. P. 163—169.
25. Theodoulou F. Science and the media. *Biochemist e-volution*. 2010. Vol. 32, N 1. P. 3.
26. Campbell P. Escape from the impact factor. *Ethics in science and environmental politics*. 2008. N 8. P. 5—7.
27. Madisch I. Open Science — more than sharing. *EuroScientist*. 2014. Feb. 26.
28. Соколова М.Е. Развитие научно-сетевого Рунета: от телекоммуникационных сетей до технологий Веб 2.0. *Информационные Ресурсы России*. 2011. № 3. С. 16—20.
29. Researcher I.D. http://en.wikipedia.org/wiki/ResearcherID.
30. Shaw C. Elsevier buys Mendeley: your reaction. *The Guardian*. 2013. April 10.
31. Chawla D. Nature publisher to merge. *Science*. 2015. Jan. 15.
32. Kaiser J. Gates Foundation to require immediate free access for journal articles. *Science*. 2014. Nov. 21.
33. Whitfield J. Online reputation: necessary, but not sufficient. *EuroScientist*. 2014. Feb. 26.
34. Trescher D. Digitally-enhanced research has yet to become more collaborative. *EuroScientist*. 2014. Feb. 26.
35. Sanz F. Towards increasing citizens' contribution to research. *EuroScientist*. 2014. Feb. 26.
36. Peters H. Scientists' dreams: a society supporting science and respecting its autonomy. *EuroScientist*. 2013. Oct. 10.
37. Socolow R., Pielke R. When politicians distort science. *Bulletin of the Atomic Scientists*. 2011. Oct. 20.
38. Perutz M.F. I wish I'd made you angry earlier: essays on science, scientists, and humanity. New York, 2003. 460 p.

ISSN 1027-3239 Вісник НАН України. 2015. № 4. С. 13—23

ПРО АВТОРІВ

Сергій Васильович КОМІСАРЕНКО — відомий український вчений, державний та політичний діяч, дипломат; дійсний член (академік) НАН та НАМН України, доктор біологічних наук (молекулярна біологія, біохімія), професор (біохімія); має ранг Надзвичайного і Повноважного посла. Працює академіком-секретарем Відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології НАН України_і на громадських засадах — директором Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (ІБХ) та завідувачем відділу молекулярної імунології цього Інституту.

З ім'ям С.В. Комісаренка пов'язано створення, становлення та активний розвиток *молекулярної імунології* в нашій державі. По суті, в Україні він є засновником цієї винятково актуальної галузі, яка з'явилася на стику біохімії, молекулярної біології, імунології та медицини. Головні фундаментальні досягнення вченого пов'язані з імунохімічним дослідженням антигенної структури пептидів і білків. С.В. Комісаренко разом з учнями першим у колишньому Радянському Союзі розпочав вивчення імунохімічної структури цих сполук, зокрема, ввів у дослідження гібридомну техніку одержання моноклональних антитіл.

Під його безпосереднім керівництвом було проведено унікальне дослідження стану імунітету в людей, які працювали після аварії на Чорнобильській АЕС, і вперше у світі з'ясовано та доведено, що низькі дози радіації істотно пригнічують систему «природного імунітету», який відповідає за протипухлинний і противірусний захист в організмі людини. Саме Сергій Васильович ввів у обіг термін «Чорнобильський СНІД».

Під керівництвом С.В. Комісаренка останнім часом розроблено методи імунодіагностики порушень системи гемостазу з використанням моноклональних та одноланцюгових антитіл, проводиться пошук речовин,

що впливають на полімеризацію фібрину та на фібриноліз, а також сучасних матеріалів із суттєвою кровоспинною дією та антитромботичними властивостями тощо. Серед інших наукових проблем С.В. Комісаренко плідно займається проблемами біобезпеки і біозахисту.

Серед його учнів — один академік та два член-кореспонденти НАН України, 6 докторів і 18 кандидатів наук. С.В. Комісаренко є автором понад 600 наукових праць (монографій і статей), понад 80 національних і міжнародних патентів і винаходів, а також численних статей і виступів з питань політики і культури України, з питань розповсюдження та запобігання інфекційним захворюванням, зокрема COVID-19 тощо.

С.В. Комісаренко — редактор наукових часописів «*Ukrainian Biochemical Journal*» і «*Biotechnologia Acta*», член редколегій міжнародного журналу «*Європа*» та журналу з імунофармакології (Італія), представник України в раді Міжнародного союзу біохіміків і молекулярних біологів (IUBMB), Федерації європейських біохімічних товариств (FEBS), Міжнародного товариства імунофармакологів (США) тощо.

Наукові досягнення С.В. Комісаренка відзначено багатьма високими державними вітчизняними та іноземними нагородами (орденами, медалями, почесними званнями, грамотами тощо). Детальніше на сайті: http://komisarenko.kiev.ua

Валентина Михайлівна ДАНИЛОВА — кандидат біологічних наук (біохімія), старший науковий співробітник (біохімія), *співкерівник і відповідальний виконавець проєкту* «Лідери наукового прогресу: під знаком Нобеля». Після закінчення аспірантури на кафедрі біохімії Київського державного (нині — національного) університету імені Тараса Шевченка більшу частину життя присвятила науково-педагогічній діяльності, працюючи в НДІ фізіології та на кафедрі біофізики рідного університету. Там вона 30 років очолювала відділ біофізики і створила пріоритетний на той час напрям досліджень, присвячених дослідженню молекулярних механізмів м'язового скорочення, запропонувала принципово нову концепцію багаторівневої регуляції скорочення гладеньких м'язів, створила відому в колишньому СРСР і за його межами наукову школу. Під її безпосереднім керівництвом виконано і захищено 5 кандидатських дисертацій і понад 100 дипломних і курсових робіт. Чимало з її учнів, серед яких є члени НАН України, професори, доктори і кандидати наук, продовжують цей напрям досліджень, успішно працюючи в провідних наукових установах та університетах України й світу. Її науковий доробок (у тому числі у співавторстві) на той період становить 4 монографії, один навчальний посібник і понад 100 наукових статей.

У 2002 р. В.М. Данилова перейшла до Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України і очолила відділ науково-технічної інформації, який відіграє суттєву роль у забезпеченні наукової та науково-організаційної роботи інституту. Тут її наукові інтереси зосереджені на історико-науко-знавчих дослідженнях. Зокрема, вона пропонує і бере участь у виконанні проєктів, які присвячено становленню і розвитку наукових шкіл Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна, аналізу інноваційної діяльності Інституту за всю його 90-річну історію, аналізу наукових досягнень всіх лауреатів академічної премії ім. О.В. Палладіна тощо. Кілька років вона присвятила проєкту, завершенням якого є продукт, який Ви, шановний читач, тримаєте в руках!

За 20-річний період роботи в Інституті її перу належать біля 100 наукових статей і участь як укладача у багатьох виданнях, присвячених ювілейним датам як окремих діячів науки, так й Інституту в цілому. Крім того, підготовка і регулярне проведення Українських біохімічних конгресів, міжнародних Парнасівських конференцій та інших наукових форумів — це також коло її інтересів і поле діяльності.

Наукову та науково-організаційну діяльність Валентини Михайлівни було неодноразово відзначено почесними грамотами Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Мінвузу України, Президії НАН України, мерії м. Києва тощо.

(1933—2020)

Руфіна Петрівна ВИНОГРАДОВА — знаний в Україні педагог і науковець, доктор біологічних наук (радіобіологія), професор (біохімія), лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки. Більшу частину свого життя присвятила науково-педагогічній діяльності. Як професор кафедри біохімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка (КНУ) вона розробила численні навчальні програми, наочні та навчально-методичні посібники, опублікувала 15 підручників і практикумів (особисто і в співавторстві), серед яких слід відзначити «Молекулярные основы действия ферментов» (К.: Вища школа, 1978 р.) і підручник «Біохімія» (К.: Либідь, 1995 р.), якими користуються студенти-біологи багатьох вищих навчальних закладів України. Наукова діяльність Руфіни Петрівни під час роботи в університеті була пов'язана з дослідженнями в галузі фундаментальної та радіаційної біохімії, а також молекулярної біології. Винятково важливими є результати її дослідження впливу високих і низьких доз іонізуючої радіації на регуляторний апарат біосинтезу протеїнів та на структурно-функціональні особливості будови хроматину лімфоцитів крові, що відкрило нові підходи для розроблення перспективних препаратів-радіопротекторів. За цей період вона опублікувала близько 150 експериментальних праць, згуртувала навколо себе молодих і талановитих науковців, які гідно представляють розпочатий нею науковий напрям, створила наукову школу. Під керівництвом Руфіни Петрівни виконано і захищено 6 кандидатських дисертацій та понад 450! дипломних і курсових робіт.

У 2000 р. у творчій діяльності Руфіни Петрівни відбулися корінні зміни: вона перейшла на роботу до Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, де спочатку займалася організацією кафедри біотехнології як філії кафедри біохімії КНУ і одночасно викладацькою роботою. Пізніше вона активно включилася в роботу відділу науково-технічної інформації (на посаді провідного наукового співробітника), де стала *відповідальним і абсолютно незамінним виконавцем* наукових проєктів цього відділу, присвячених історії науки. Таким чином, Руфіна Петрівна стала історіографом вітчизняної біохімії і в наступні 20 років роботи в академічному інституті була автором/співавтором понад 70! наукових статей вже з питань історії біохімії.

Високу педагогічну майстерність і наукові досягнення Руфіни Петрівни було неодноразово відзначено державними нагородами і почесними грамотами Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Мінвузу СРСР та України.

Світлана Іванівна РОМАНЮК — старший науковий співробітник лабораторії імунобіології відділу молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, кандидат біологічних наук (біоорганічна хімія), представниця наукової школи молекулярної імунології академіка НАН та НАМН України С.В. Комісаренка. С.І. Романюк закінчила з відзнакою біологічний факультет Київського національного університету імені Тараса Шевченка (мікробіологія/імунологія) та протягом останніх 25 років працює в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України над створенням перспективних імунобіотехнологічних розробок.

Наукова діяльність С.І. Романюк пов'язана передусім з дослідженням антигенних, імуногенних та імунобіологічних властивостей протеїнів, зокрема рекомбінантних, які можуть бути використані як компоненти діагностичних тест-систем, терапевтичних препаратів і вакцин нового покоління для боротьби з інфекційними захворюваннями дихальних шляхів (кашлюком, дифтерією, туберкульозом, COVID-19).

Крім того, С.І. Романюк бере участь у популяризації наукових досліджень, рецензуванні рукописів, поданих до друку в «*Ukrainian Biochemical Journal*», проведенні експертного оцінювання дослідницьких проєктів, що подаються на конкурси Національного фонду досліджень України, а також є членом Українського біохімічного товариства.

С.І. Романюк є автором понад 100 наукових публікацій, серед яких 60 наукових статей, 2 монографії (у співавторстві) і 6 патентів. За цикл праць «Вивчення антигенних та імуногенних властивостей факторів патогенності і вірулентності збудників кашлюка та дифтерії з метою вдосконалення діагностики і профілактики цих захворювань» її було нагороджено Премією Президента України для молодих учених Національної академії наук України.

Ольга Павлівна МАТИШЕВСЬКА — знаний в Україні й зарубіжжі науковець, педагог, доктор біологічних наук (біохімія), професор (біохімія), лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки. Науково-педагогічна діяльність на посаді професора кафедри біохімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка була пов'язана з викладанням курсів з біохімії протеїнів, структури і функції ліпідів, біохімічної топографії клітини, а також з підтримуваними міжнародними і вітчизняними грантами щодо дослідженнями систем Ca^{2+}-залежного сигналювання, механізмів апоптозу в нормальних і злоякісно трансформованих клітинах та розробкою біонанотехнологічних підходів до підвищення ефективності протипухлинних препаратів. Нею опубліковано понад 100 наукових статей, під її керівництвом захищено 1 докторську та 9 кандидатських дисертацій.

Наукова діяльність О.П. Матишевської на посаді провідного наукового співробітника відділу науково-технічної інформації Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України пов'язана з аналізом значення відкриттів вчених — нобелівських лауреатів для розвитку сучасної біології та медицини.

О.П. Матишевська є заступником редактора наукового часопису «*Ukrainian Biochemical Journal*», членом редколегії часопису «*Biotechnologia Acta*», вченим секретарем Українського біохімічного товариства. Нагороджена знаком «Відмінник освіти України».

Майя Володимирівна ГРИГОР'ЄВА — кандидат біологічних наук (біоорганічна хімія), старший науковий співробітник (біохімія). Після закінчення біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка працювала в Інституті високомолекулярних сполук НАН України у відділі полімерів медичного призначення, де досліджувала структуру та фізико-хімічні властивості синтезованих поліуретанових композицій з іммобілізованими біологічно активними сполуками, вивчала *in vitro* та *in vivo* закономірності вивільнення іммобілізованих лікарських речовин, займалася пошуком направленої регуляції процесів біодеструкції полімерних носіїв, модифікованих за різних способів. Нею отримано важливі наукові результати у галузі медико-біологічних досліджень біосумісних біодеградабельних полімерів, які оприлюднено в наукових вітчизняних та міжнародних журналах (близько 90 публікацій) та презентовано на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях, з'їздах і симпозіумах.

З 2010 р. і дотепер М.В. Григор'єва працює на посаді старшого наукового співробітника відділу науково-технічної інформації Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, беручи участь у виконанні проєкту, присвяченого аналізу відкриттів нобелівських лауреатів у галузі хімії, фізіології або медицини та їх ролі в розвитку сучасних медико-біологічних наук.

Крім того, вона є відповідальним секретарем і членом редколегії одного із найстаріших академічних часописів «*Ukrainian Biochemical Journal*».

Тетяна Вікторівна ДАНИЛОВА — кандидат філософських наук, доцент, старший науковий співробітник, знаний в Україні та за її межами викладач і дослідник. Сфера її інтересів включає (але не обмежується) філософську антропологію, східну філософію, психічне здоров'я, психоаналіз, гендерні студії, культурологію, міжкультурну комунікацію, філософію, історію науки тощо. Вона є автором і співавтором понад 260 публікацій, 6 монографій, 7 навчально-методичних посібників з грифом МОН, рекомендованих вченою радою Національного університету біоресурсів і природокористування України (НУБіП). Нею розроблено авторські курси «Теорії цивілізацій і міжкультурна комунікація», «Філософські засади психодуховного простору особистості», «Філософські виміри буття людини», «Психічне здоров'я»; лекційно-тренінгову програму «Світоглядні виміри лідерства в реаліях XXI століття» та різні психологічні тренінги.

Крім того, Т.В. Данилова є експертом щорічного міжнародного конкурсу молодих вчених «Архетипіка і державне управління»; членом редакційної колегії журналів «*Research Revolution. A Social Science and Management Journal*», «*Journal of Human Resources Development*», «*Гуманітарні студії: педагогіка, психологія, філософія*», «*Труди Київської Духовної Академії*». Вона активно співпрацює з International Platform on Mental Health.

У 2018 році Т.В. Данилова долучилась до проєкту, спрямованого на висвітлення досягнень лауреатів Нобелівської премії в галузі хімії, фізіології або медицини та їх впливу на розвиток сучасних наук про життя (Life Sciences). Як зазначає дослідниця, наука не є ізольованою сферою, але вона має бути "вбудована" в більш широкий філософський контекст і прийшов час почути філософів».

Високу педагогічну майстерність і наукові досягнення Т.В. Данилової було відзначено грамотами, дипломами та подяками НУБіП України та Міністерства освіти і науки України.

З науковим доробком Т.В. Данилової можна ознайомитися на сайтах: https://www.researchgate.net/profile/Tatiana-Danilova; https://nubip.academia.edu/TatianaDanilova

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА ВІД ВІЙНИ — ДО ВІЙНИ (1943—2023) 3

FOREWORD FROM WAR TO WAR (1943—2023) 11

АЛЬФРЕД НОБЕЛЬ І НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ. *В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.В. Комісаренко* 21

SCIENTIFIC INVESTIGATIONS OF THE NOBEL PRIZE WINNER EMIL FISCHER AS A LAUNCHING PAD FOR THE DEVELOPMENT OF BIOCHEMISTRY: A BRIEF OVERVIEW. *T.V. Danylova, S.V. Komisarenko* 38

ВНЕСОК НОБЕЛІВСЬКИХ ЛАУРЕАТІВ ПОЧАТКУ XX ст. У РОЗВИТОК МОЛЕКУЛЯРНОЇ ІМУНОЛОГІЇ: Е. БЕРІНГ, І.І. МЕЧНИКОВ, П. ЕРЛІХ, Ш. РІШЕ, Ж. БОРДЕ, К. ЛАНДШТЕЙНЕР. *В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.В. Комісаренко*. . . 46

NOBEL PRIZE WINNER ERWIN SCHRÖDINGER: THE PHYSICIST, PHILOSOPHER, AND GODFATHER OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS. THE NOBEL PRIZE IN PHYSICS, 1933. *T.V. Danylova, S.V. Komisarenko* 66

РОЗВИТОК ДИНАМІЧНОЇ БІОХІМІЇ ТА БІОЕНЕРГЕТИКИ В ПЕРШІЙ ПОЛОВИНІ XX ст. ВНЕСОК ЛАУРЕАТІВ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ: Е. БУХНЕРА, А. КОССЕЛЯ, Р. ВІЛЬШТЕТТЕРА, О. МЕЙЄРГОФА, А. ХІЛЛА, О. ВАРБУРГА, А. СЕНТ-ДЬЙОРДІ. *В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.В. Комісаренко*. 76

РОЗВИТОК ЗНАНЬ З БІОХІМІЇ ГОРМОНІВ У РОБОТАХ НОБЕЛІВСЬКИХ ЛАУРЕАТІВ ПЕРШОЇ ПОЛОВИНИ XX ст.: Ф.Г. БАНТИНГ, Д.Дж.Р. МАКЛЕОД, Г.О. ВІЛАНД, А.О. ВІНДАУС, А. БУТЕНАНДТ, Л. РУЖИЧКА, Е. КЕНДАЛЛ, Ф. ХЕНЧ, Т. РЕЙХШТЕЙН. *Р.П. Виноградова, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко* 99

ВІТАМІНИ, ПОЧАТОК ШЛЯХУ. ВІТАМІННИЙ АЛФАВІТ І ЛАУРЕАТИ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ Х. ЕЙКМАН, Ф.Г. ГОПКІНС, А. СЕНТ-ДЬЙОРДІ, У. ХОУОРС, П. КАРРЕР, Р. КУН, Х. ДАМ, Е.А. ДОЙЗІ, Дж. МАЙНОТ, У. МЕРФІ, Дж. ВІПЛ, Д. ХОДЖКІН, Р. ВУДВОРД. *В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.В. Комісаренко* 125

МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ І ЙОГО РЕГУЛЯЦІЯ ТА ВНЕСОК НОБЕЛІВСЬКИХ ЛАУРЕАТІВ В ЇХ ДОСЛІДЖЕННЯ: А. ГАРДЕН, Г. ЕЙЛЕР-ХЕЛЬПІН, Г.Т. КОРІ, К.Ф. КОРІ, Б. УСАЙ, Е. САЗЕРЛЕНД, Л.Ф. ЛЕЛУАР, Г. КРЕБС, Ф. ЛІПМАН, П. МІТЧЕЛЛ. *Р.П. Виноградова, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко*. 155

БРОУНІВСЬКИЙ РУХ, ЕЛЕКТРОФОРЕЗ, ХРОМАТОГРАФІЯ ТА МАКРОМОЛЕКУЛЯРНА ХІМІЯ: ЯК ВСЕ ЦЕ ОБ'ЄДНУЄ НОБЕЛІВСЬКИХ ЛАУРЕАТІВ ПЕРШОЇ ПОЛОВИНИ XX ст. — Т. СВЕДБЕРГА, А. ТІЗЕЛІУСА, Р. СІНГА, І Г. ШТАУДІНГЕРА. *М.В. Григор'єва, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко* 192

ВНЕСОК ЛАУРЕАТІВ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ ДРУГОЇ ПОЛОВИНИ XX ст. У ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРИ ПРОТЕЇНІВ: Дж. САМНЕР, Дж. НОРТРОП, У. СТЕНЛІ, Л. ПОЛІНГ, Ф. СЕНГЕР, М. ПЕРУЦ, Дж. КЕНДРЮ. *В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.В. Комісаренко* 204

СТРУКТУРА, МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ І НОБЕЛІВСЬКІ ЛАУРЕАТИ ДРУГОЇ ПОЛОВИНИ XX ст.: К. АНФІНСЕН, С. МУР, В. СТАЙН, С. ПРУЗИНЕР, Є. СКОУ, Д. БОЙЄР, Д. ВОКЕР. *Р.П. Виноградова, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко* 239

ВНЕСОК НОБЕЛІВСЬКИХ ЛАУРЕАТІВ У ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТАБОЛІЗМУ ЛІПІДІВ І ЙОГО РЕГУЛЯЦІЇ: Ф. ЛІНЕН, К. БЛОХ, С. БЕРГСТРЕМ, Б. САМУЕЛЬСОН, Д. ВЕЙН, М. БРАУН, Д. ГОЛДСТАЙН. *О.П. Матишевська, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко* 266

A LEGEND IN HIS OWN LIFETIME: DOUBLE NOBEL PRIZE WINNER LINUS PAULING. THE NOBEL PRIZE IN CHEMISTRY, 1954; THE NOBEL PEACE PRIZE, 1962. *T.V. Danylova, S.V. Komisarenko* 285

ВІДКРИТТЯ МЕХАНІЗМІВ БІОЛОГІЧНОГО СИНТЕЗУ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ. НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ В ГАЛУЗІ ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ, 1959. *О.П. Матишевська, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко* 298

STANDING ON THE SHOULDERS OF GIANTS: JAMES WATSON, FRANCIS CRICK, MAURICE WILKINS, ROSALIND FRANKLIN AND THE BIRTH OF MOLECULAR BIOLOGY. THE NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY or MEDICINE, 1962. *T.V. Danylova, S.V. Komisarenko* 310

ВІДКРИТТЯ ГЕНЕТИЧНОГО КОНТРОЛЮ СИНТЕЗУ ЕНЗИМІВ І ВІРУСІВ. НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ, 1965. *О.П. Матишевська, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко* 324

РОЗШИФРУВАННЯ ГЕНЕТИЧНОГО КОДУ — НОВИЙ РЕВОЛЮЦІЙНИЙ ЕТАП РОЗВИТКУ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ. НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ, 1968. *О.П. Матишевська, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко* 335

DOUBLE NOBEL PRIZE WINNER: FREDERICK SANGER — THE FATHER OF GENOMICS. THE NOBEL PRIZES IN CHEMISTRY, 1958, 1980. *T.V. Danylova, S.V. Komisarenko* 353

НОВИЙ ПОГЛЯД НА РНК: ВІДКРИТТЯ СІДНІ ОЛТМЕНА І ТОМАСА ЧЕКА. НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ХІМІЇ, 1989. *М.В. Григор'єва, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко* 363

ЛАУРЕАТ НОБЕЛІВСЬКОЇ ПРЕМІЇ КЕРІ МАЛЛІС І ПОЛІМЕРАЗНА ЛАНЦЮГОВА РЕАКЦІЯ (ПЛР). НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ХІМІЇ, 1993. *В.М. Данилова, О.П. Матишевська, С.В. Комісаренко* 371

UNRAVELING THE MYSTERY OF NITRIC OXIDE: NOBEL PRIZE WINNERS ROBERT FURCHGOTT, LOUIS IGNARRO, AND FERID MURAD. THE NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY or MEDICINE, 1998. *T.V. Danylova, S.V. Komisarenko* 383

ВІДКРИТТЯ ГЕНІВ РЕГУЛЯЦІЇ АПОПТОЗУ КЛІТИН. НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ 2002. *М.В. Григор'єва, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко* 395

УБІКВІТИН ТА ЙОГО РОЛЬ У ПРОТЕОЛІЗІ. НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ХІМІЇ, 2004. *О.П. Матишевська, М.В. Григор'єва, В.М. Данилова, С. В. Комісаренко* 410

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ ОСНОВ ТРАНСКРИПЦІЇ В ЕВКАРІОТ. НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ХІМІЇ, 2006. *О.П. Матишевська, В.М. Данилова, С.В. Комісаренко* 427

ШЛЯХИ РЕАЛІЗАЦІЇ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ (PATHWAYS OF GENETIC INFORMATION REALISATION). НОБЕЛІВСЬКІ ПРЕМІЇ З ХІМІЇ ТА ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ, 2009. *С.В. Комісаренко* 439

ІМУНІТЕТ: ЩО ЗМУШУЄ ЙОГО ПРАЦЮВАТИ? (IMMUNITY: WHAT MAKES IT WORK?) НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ, 2011. *С.І. Романюк, С.В. Комісаренко*. 445

ЩО НОВОГО В ДОСЛІДЖЕННІ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН, АБО ЧИ МОЖНА З КЛІТИНИ ШКІРИ ОТРИМАТИ НОВИЙ ОРГАНІЗМ? НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ, 2012. *С.І. Романюк, С.В. Комісаренко*. 453

НАВІЩО ПОТРІБНІ РЕЦЕПТОРНІ ПРОТЕЇНИ НА МЕМБРАНАХ КЛІТИН, АБО ЯК РІЗНІ КЛІТИНИ ОРГАНІЗМУ СПРИЙМАЮТЬ НАВКОЛИШНЄ СЕРЕДОВИЩЕ? НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ХІМІЇ, 2012. *С.І. Романюк, С.В. Комісаренко*. 461

ЯК КЛІТИНА ТРАНСПОРТУЄ СИНТЕЗОВАНІ РЕЧОВИНИ, АБО ЧИ СПРАВДІ НЕ МОЖНА ЗМІНИТИ МІСЦЕ І ЧАС ЗУСТРІЧІ «ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО ВАНТАЖУ»? НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ, 2013. *С.І. Романюк, С.В. Комісаренко*. 467

ЯК КЛІТИНАМ ВДАЄТЬСЯ ЗБЕРЕГТИ МОЛЕКУЛИ ДНК НЕУШКОДЖЕНИМИ, АБО ЗАВДЯКИ ЧОМУ ІСНУЄ ЖИТТЯ НА ЗЕМЛІ? НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ХІМІЇ, 2015. *С.В. Комісаренко, С.І. Романюк* 477

ДЛЯ ЧОГО ПОТРІБНІ ЦИРКАДНІ РИТМИ, АБО ЯК ЗМІНИТИ ХІД «БІОЛОГІЧНОГО ГОДИННИКА»? НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ, 2017. *С.І. Романюк, С.В. Комісаренко* 489

НОВА СТРАТЕГІЯ БОРОТЬБИ З РАКОМ, АБО ЯК ПРАЦЮЮТЬ «ГАЛЬМА» СИСТЕМИ ІМУНІТЕТУ? НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ, 2018. *С.В. Комісаренко, С.І. Романюк* 504

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ РЕВОЛЮЦІОНУЮТЬ ХІМІЮ, АБО ЯК СКЕРУВАТИ ЕВОЛЮЦІЮ ПРОТЕЇНІВ НА БЛАГО ЛЮДСТВА? НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ХІМІЇ, 2018. *С.І. Романюк, С.В. Комісаренко* 519

МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ КЛІТИН ДО ГІПОКСІЇ, АБО ЯК «ПЕРЕКРИТИ КИСЕНЬ» ЗЛОЯКІСНІЙ ПУХЛИНІ? НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ, 2019. *С.І. Романюк, С.В. Комісаренко* 537

ЯК ВІДКРИЛИ ВІРУС ГЕПАТИТУ С, АБО ДЕТЕКТИВНІ ПОШУКИ ВІРУСОЛОГІВ «МОВЧАЗНОГО ВБИВЦІ»? НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ або МЕДИЦИНИ, 2020. *С.І. Романюк, С.В. Комісаренко* 555

ПЕРСПЕКТИВИ РЕДАГУВАННЯ ГЕНОМУ ЗА ДОПОМОГОЮ CRISPR/CAS, АБО ЯК ОПАНУВАТИ «ГЕНЕТИЧНІ НОЖИЦІ»? НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ХІМІЇ, 2020 р. *С.В. Комісаренко, С.І. Романюк* 575

ТАЄМНИЦІ ГЕНОМІВ ВИМЕРЛИХ ГОМІНІДІВ, АБО ЧИ МОЖЕ ПАЛЕОГЕНОМІКА ДАТИ ВІДПОВІДЬ НА ПИТАННЯ: ХТО МИ, ЛЮДИ, Є ТАКІ? НОБЕЛІВСЬКА ПРЕМІЯ З ФІЗІОЛОГІЇ АБО МЕДИЦИНИ, 2022. *С.В. Комісаренко, С.І. Романюк*. 596

BORN IN UKRAINE: NOBEL PRIZE WINNERS ILYA MECHNIKOV, SELMAN WAKSMAN, ROALD HOFFMANN, AND GEORGES CHARPAK. *T.V. Danylova, S.V. Komisarenko*. 615

ПЕРЕМОГА МРНК-ВАКЦИН НАД ПАНДЕМІЄЮ КОРОНАВІРУСУ SARS-CoV-2, ЯКИЙ ВИКЛИКАЄ ЗАХВОРЮВАННЯ COVID-19, АБО ЯК СИНТЕТИЧНА мРНК ПРОСЛИЗНУЛА ПОВЗ УРОДЖЕНИЙ ІМУННИЙ ЗАХИСТ КЛІТИНИ *С.В. Комісаренко, С.І. Романюк*. 626

З А М І С Т Ь П І С Л Я М О В И. НОТАТКИ З ЕТИКИ В НАУЦІ, АБО ЧИ МОЖУТЬ ВІДКРИТТЯ БУТИ ЗАПЛАНОВАНИМИ І ЯК ЗДОБУТКИ ДРУГОЇ НАУКОВОЇ РЕВОЛЮЦІЇ ДОПОМОЖУТЬ ВИЖИТИ УКРАЇНСЬКІЙ НАУЦІ. *С.В. Комісаренко, С.І. Романюк*. 653

ПРО АВТОРІВ 666

Наукове видання

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ім. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ

КОМІСАРЕНКО Сергій Васильович
ДАНИЛОВА Валентина Михайлівна
ВИНОГРАДОВА Руфіна Петрівна
РОМАНЮК Світлана Іванівна
МАТИШЕВСЬКА Ольга Павлівна
ГРИГОР'ЄВА Майя Володимирівна
ДАНИЛОВА Тетяна Вікторівна

ЛІДЕРИ НАУКОВОГО ПРОГРЕСУ: ПІД ЗНАКОМ НОБЕЛЯ

Київ, Науково-виробниче підприємство
«Видавництво "Наукова думка" НАН України», 2024

Художнє оформлення *М.А. Панасюк*
Художній редактор *І.Ю. Савицька*
Технічний редактор *Т.С. Березяк*
Оператор *О.О. Пономаренко*
Комп'ютерна верстка *Т.О. Ценцеус*

Підп. до друку 00.00.2024. Формат 70×100/16. Папір офс. № 1.
Гарн. Таймс. Друк. офс. Ум. друк. арк. 00,00. Обл.-вид. арк. 58,0.

Оригінал-макет виготовлено
у НВП «Видавництво "Наукова думка" НАН України»
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготівників і розповсюджувачів
видавничої продукції ДК № 2440 від 15.03.2006 р.
01601 Київ 1, вул. Терещенківська, 3