

№2 1998 год ВВЕДЕНИЕ ТЕЛОМЕРАЗЫ В НОРМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА ПРОДЛЕВАЮТ ЖИЗНЬ. ПОЛЕМИКА ПО ПОВОДУ СТАТЬИ

Статья А.Г.Воднар с соавторами «Введение теломеразы в нормальные клетки человека продлевают жизнь», опубликованная в журнале Science, 279, 1998, вызвала большой резонанс. Помимо очевидных достоинств статьи, некоторые моменты вызвали недоумение среди российских специалистов. Ниже мы приводим краткое изложение статьи из Science и письмо доктора биологических наук, члена-корреспондента РАН И.Ф.Жимулева авторам (S.Lichtsteiner, C.B.Harley).

Редакция предлагает читателям самим определить свою позицию в этой дискуссии.

Extension of Life-Span by Introduction of Telomerase into Normal Human Cells *Science, 279, 1998, 349-352*

Andrea G. Bodnar, Michel Ouellette, Maria Frolkis Shawn E. Holt, Choy-Pik Chiu, Gregg B. Morin, Calvin B. Harley, Jerry W. Shay, Serge Lichtsteiner, Woodring E. Wright

Normal human cells undergo a finite number of cell divisions and ultimately enter a nondividing state called replicative senescence. It has been proposed that telomere shortening is the molecular clock that triggers senescence. To test this hypothesis, two telomerase-negative normal human cell types, retinal pigment epithelial cells and fore-skin fibroblasts, were transfected with vectors encoding the human telomerase catalytic subunit. In contrast to telomerase-negative control clones, which exhibited telomere shortening and senescence, telomerase-expressing clones had elongated telomeres, divided vigorously, and showed reduced staining for β -galactosidase, a biomarker for senescence. Notably, the telomerase-expressing clones have a normal karyotype and have already exceeded their normal life-span by at least 20 doublings, thus establishing a causal relationship between telomere shortening and in vitro cellular senescence. The ability to maintain normal human cells in a phenotypically youthful state could have important applications in research and medicine.

Введение теломеразы в нормальные клетки человека продлевают жизнь

Клетки человека в норме претерпевают конечное число делений, после чего входят в необратимое состояние репликативной усталости (replicative senescence). Было предположено, что укорачивание теломеразы и является тем молекулярным часовым механизмом, который останавливает дальнейшее деление клеток. Для проверки этой гипотезы в нормальные клетки человека, а именно клетки ретикулярного пигмента эпителия и фибробласты крайней плоти, были введены векторы, кодирующие каталитическую субъединицу теломеразы человека. В контрольных клонах, не имевших активности теломеразы, наблюдались и укорачивание теломеры, и усталость, в то время как в клонах, в которых теломераза экспрессировалась, теломеры были удлиненными, шло активное деление, и эти клоны хуже окрашивались β -галактозидазой, являющейся биомаркером усталости. Более того, эти клоны имеют нормальный кариотип и на настоящий момент «перевыполнили» свою норму по продолжительности жизни на 20 циклов делений, так что причинную связь между укорачиванием теломеры и клеточной усталостью in vitro можно считать установленной. Возможность поддерживать нормальные клетки человека в состоянии фенотипической юности может найти достойное применение в научно-исследовательской работе и медицине.

Далее следует текст письма И.Ф.Жимулева.

Copies to: wright@utsw.swmed.edu

Subject

Date sent: Wed, 28 Jan 1998 15:59:39

Dear Dr. Harley,

Please accept my congratulations with fantastic paper you published in Science 279:349-352 (1988)

Several questions appeared when I was reading it.

1. I found in Olovnikov's paper in J. Theor. Biol. (1973), vol. 41, on page 186:

«Each linear chromosome in normal cell of an eukaryote... is subject to marginotomy, unless the chromosome possesses circular replicons at its ends. Marginotomy leads to edge deletions in the end-genes of chromosome.»

«It is assumed that telogenes bear no genetic information, but fulfill «buffer» function. In the course of each mitosis, the telogene is marginotomically shortened by the RNA-primer length and/or by an appropriate length ... thus protecting informative genes from marginotomy.»

«Disappearance of end-replicons in chromosomes and, hence, disappearance of the above-mentioned genes should lead to pathological changes in different cellular structures and functions, including changes in karyotype, to cell ageing, and later to death of the cells.»

2. I found in paper by Greider and Blackburn (Scientific American, vol. 274, no. 2 on page 83 in the middle part:
*«In the 1970s a Soviet scientist named A.M.Olovnikov linked this programmed cessation of cell division to the end-replication problem. He proposed that human somatic cells might not correct the chromosomal shortening that occurs when cells replicate their DNA. Perhaps division ceased when cells discerned that their chromosomes had become too short.
We were unaware of Olovnikov's ideas until 1988, when Calvin B. Harley, then at McMaster University, brought them to Greider's attention. Intrigued, Greider, Harley and their collaborators decided to see if chromosomes do get shorter in human cells over time.»*

3. In your paper mentioned above (the 17th line from the very beginning):
«Telomere loss is thought to control entry into senescence (7-10).» I couldn't find in 7-10 any reference of Olovnikov.

4. The third line from the middle part on page 349:
«The telomere hypothesis of cellular ageing (16) proposes that cells become senescent when progressive telomere shortening during each division produces a threshold telomere length.» Again under ref 16 I didn't find Olovnikov but found C.B.Harley 1991.

I would be very grateful to you if you could comment these discrepancies in determination of authorship of telomere hypothesis.

*Thank you very much.
Please accept my congratulations again.*

Sincerely yours,

Igor F. Zhimulev, Professor of Genetics

Копии (кому): wright@utsw.swmed.edu
Тема:
отправлено: среда, 28 января 1998 15:59:39

Уважаемый доктор Harley,

Примите мои поздравления в связи с вашей потрясающей публикацией в журнале Science 279:349-352 (1988).

По прочтении у меня возник ряд вопросов.

1. В работе Оловникова, опубликованной в журнале J.Theor.Biol. (1973), vol.41, на стр.186 я читаю: «В нормальных клетках эукариот каждая хромосома, не имеющая циркулярных репликонов на своих концах, подвергается маргинотомии. Маргинотомия приводит к краевым делециям в концевых генах хромосомы.»
«Принято считать, что теломеры не несут генетической информации, но выполняют функцию «буфера». В каждом митозе телоген маргинотомически укорачивается на длину РНК-прайма, таким образом подставляя себя под действие маргинотомии и, следовательно, обеспечивая сохранность информативных генов.»
«Когда хромосома теряет концевые репликоны, а с ними и вышеупомянутые гены, в клетке происходят патологические изменения, затрагивающие различные структуры и функции, в том числе кариотип, клетка стареет и затем умирает».

2. В своей работе, опубликованной в журнале Scientific American, vol. 274, No.2, Greider и Blackburn пишут (стр.83, середина):
«В семидесяти годах нынешнего столетия советский ученый по имени А.М.Оловников связал это запрограммированное прекращение клеточного деления с проблемой концевой репликации. Он предположил, что соматические клетки человека, возможно, не корректируют укорачивание хромосом, которое происходит, когда клетки реплицируют свои ДНК. Возможно, что клеточное деление прекратилось, когда клетки поняли, что их хромосомы стали слишком короткими.
Мы ознакомились с идеями Оловникова лишь в 1988 году, когда Calvin B. Harley, в то время сотрудник McMaster University, предложил их вниманию Greider. Заинтригованные Greider, Harley с сотрудниками решили посмотреть, а действительно ли хромосомы в человеческих клетках укорачиваются со временем».

3. В Вашей работе, строка 17 от самого начала:
«Есть мнение, что вход в состояние [клеточной] усталости обусловлен дефектом длины теломеры (7-10)».
Я не нашел ссылки на Оловникова среди тех, которые Вы указали.

4. В той же работе, строка 3 вниз от середины на стр. 349, нахожу:
«Теломерная гипотеза клеточного старения (16) предполагает, что усталость у клеток наступает тогда, когда длина теломеры, прогрессивно уменьшающаяся в ходе каждого деления, достигает некоего порогового значения».
Опять-таки, ссылка (16) — не на Оловникова, но на C.B.Harley 1991.

Я был бы Вам весьма признателен за комментарии по поводу возникшего расхождения во взглядах на авторство теломерной гипотезы.

Заранее благодарен.
Еще раз мои поздравления,

Игорь Ф.Жимулев, профессор генетики