

ИСТОРИЯ

Клеточной биологии – 100 лет: уроки на будущее

В.С. Репин

Директор НП Институт клеточных технологий и регенерационной медицины
им. А.Я. Фриденштейна

The centenary of cell biology: lessons for the future

V.S. Repin

A.S. Fridenstein Institute of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Moscow

Подводя итог главных событий, открытий и ученых в пределах «Клеточной биологии XX века», следующие темы выдвинуты на первый план: 1) начало клеточной биологии и эпоха витализма, связанные с именами Ж. Леба, Э. Гаррисона, А. Карреля, Т. Моргана и Д.Х. Вильсона; 2) движение от концепции ультраструктуры к идее компартиментализации клетки; 3) начало системной биологии и биоинформатики; 4) рекомбинантная молекулярная клеточная биология; 5) клеточная биология развития; 6) поведение клетки *in vitro* и *in vivo*; 7) клеточная биология и трансплантация органов; 8) постгеномная клеточная биология: препятствия и пределы для следующих этапов прогресса; 9) от молекулярной биологии до модульной биологии; 10) ведущая роль новых мега-проектов в XXI веке.

Summing up the main events, discoveries and scientists within the «Cell Biology XX», the following topics are highlighted: 1) The beginning of cell biology and the epoch of vitalism – the impact of J. Loeb, R. Harrison, A. Carrel, T. Morgan and D.H. Wilson; 2) from cell ultrastructure to the concept of cell compartmentalization; 3) the beginning of systemic system biology and bioinformatics; 4) recombinant molecular cell biology; 5) developmental cell biology; 6) cell behavior *in vitro* and *in situ*; 7) organ and cell transplantation – the impact into basic cell biology; 8) post-genomic gigabyte cell biology: hurdles and limits for the next round of progress; 9) from molecular biology to modular biology; 10) the leading role of a new mega – international project in the XXI century.

Во все эпохи наука делится на две реальности: 1 – новейшие методические прорывы, поток новизны и предчувствий в виде новых гипотез последнего десятилетия; 2 – всё остальное. Однако последний мир – не кладбище, а музей личностей и событий. Здесь время течёт медленней, а река жизни отбирает самое существенное. Прошлое и настоящее необходимо связаны творчеством каждого нового поколения учёных, поскольку меняется лишь глубина наших вопросов и ответов.

Сидней Бреннер

У истоков органных и клеточных культур

В первое десятилетие XX века Росс Гаррисон использовал метод висячей капли, разработанный микробиологами, для наблюдения под микроскопом за ходом поведения нервных клеток в эксплантатах нервной ткани цыплёнка [1, 2]. Работая в университете Джона Гопкинса в Нью-Йорке, Р. Гаррисон задался целью выяснить механизм роста нервной ткани в простых химических условиях вне организма. Как известно, механизм возникновения нервных отростков был в центре мировой дискуссии в первое десятилетие XX века. За 5 лет Р. Гаррисон описал более 211 трудоёмких методик, необходимых для стерильного выращивания эксплантатов ткани млекопитающих и человека. Учёные-современники утверждали, что первая технология культивирования эксплантатов была заимствована у Лео Лёба (брата Жака Лёба), работавшего в пригороде Нью-Йорка с 1897 года [3].

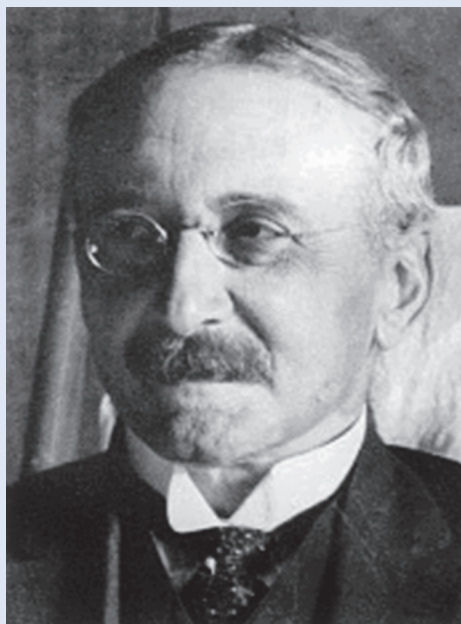
Через 35 лет разработки Р. Гаррисона в области выращивания органных культур получили мощный импульс к развитию в связи с федеральной программой США по разработке вакцины против полиомиелита. Долгие годы фундаментальные исследования в вирусологии были невозможны, т.к. изолированные вирусы размножались только внутри соматических клеток *in vitro*. Сначала J.F. Enders,

T.H. Weller, F.C. Robbins показали, что вирус полиомиелита хорошо размножается в культуре эпителиальных/стромальных эмбриональных клеток. Через 5 лет R. Dulbecco и M. Vogt разработали методику крупномасштабного выращивания вируса полиомиелита на клетках почки приматов для получения живой и мертвой вакцины. Эта методика была использована Ионасом Солком для первой вакцинации людей (вместе с А.А. Смородинцевым) в Карелии.

До Р. Гаррисона было известно о различной способности тканей человека и животных переживать без кровоснабжения. Метод культуры *in vitro* позволил более точно определять сроки выживания перивитальных тканей и клеток. Эти знания позже были использованы для разработки протоколов изъятия и хранения органов для трансплантации. Как правило, сосудистый эндотелий, эпителиальная паренхима органов более чувствительны к гипоксии, чем строма и соединительная ткань органов. В лаборатории Ю.М. Лопухина было показано, что эндотелиальная выстилка крупных и мелких артерий первой повреждается в переживающих органах. Эти особенности клеточной биологии сосудистой стенки сыграли важную роль в разработке новых гиперкалиевых сред для улучшения сохранности донорских органов в перивитальный период.



Профессор Росс Гаррисон



Профессор Жак Лёб



Профессор Алекс Каррель

Клеточная биология в эпоху витализма

В начале XX века развитие экспериментальной биологии по всем направлениям сдерживалось представителями витализма. Виталисты считали, что все химические и физические процессы управляются нематериальными силами. Любое разделение ткани (клеток) на составляющие неизбежно приводит к утере «витальности» и артефактам. Представители витализма господствовали во всех университетах Европы и США. По этой причине не финансировалось развитие экспериментальной биохимии и молекулярной биологии. Первой набирала силу экспериментальная морфология, поскольку здесь господствовали взгляды К. Линнея о кодировании функции органа его морфологическим устройством. Морфологические данные служили главным катализатором развития эволюционной теории и биологии развития.

Жак Лёб первым продемонстрировал, что изолированные яйцеклетки в культуре не только переживали, но и сохраняли автоматику оплодотворения. В 1899 году он получил личинку морского ежа из неоплодотворенных яиц в простой солевой среде. Партеногенетическое развитие зародышей Ж. Лёб вызывал градиентом одновалентных и двухвалентных катионов. Затем он получил нормальных головастиков лягушки, стимулируя начальное развитие яйцеклетки микроиглой. Открытия Ж. Лёба нанесли первый сильный удар по позициям витализма в биологии. В 1901 году Ж. Лёб был выдвинут на соискание Нобелевской премии.

Много раньше других, когда классическая генетика в США и Европе делала лишь первые шаги, Ж. Лёб провидчески полагал, что язык наследственности материален и секреты поведения клеток зашифрованы на языке химии. «Мы должны преуспеть в создании искусственной живой материи, либо найти объяснение, почему это невозможно... Поведение наших клеток, как и наше поведение и инстинкты, запрограммировано наследственным аппаратом. Мы подчиняемся законам наших клеток, которые живут двойной жизнью: в мире химии и мире смысла». Тайны зачатия и начального развития в его понимании свелись к локальному сродству (тропизму) ионов к участкам клеточной мембраны клеток. Ж. Лёб в начале XX века стал самым популярным борцом с витализмом. В письме к Эрнсту Маху Ж. Лёб писал:

«После открытия лабораторного партеногенеза сбылась моя мечта – от описаний я перешел к лабораторному конструированию жизни».

Работы следующих поколений учёных показали, что поведение простейших, инфузорий, эукариот и даже прокариот управляется не столько локальными сигналами, сколько стратегией выживания. Эта стратегия всегда больше, чем сумма составляющих входных сигналов. Сложное адаптивное поведение клеток опирается на быстрое развитие автоматических навыков, расширяющийся спектр сенсорного распознавания, новизну двигательных ответов, секреторной активности, репрограммирование поведения.

Под влиянием Ж. Лёба хирург Алекс Каррель (только что получивший Нобелевскую премию за создание первых сосудистых анастомозов) увлекся идеями и возможностями клеточной биологии в медицине. В 1912 году он основал первую специализированную лабораторию культуры клеток (до него Р. Гаррисон занимался лишь культивированием эмбриональных тканей) на базе Рокфеллеровского института в Нью-Йорке. А. Каррель создал основное оборудование (прототип современных CO₂-инкубаторов, ламинарных шкафов, многоразовой стеклянной посуды – флаконов Карреля). А. Каррель первым в мире получил линии фибробластов человека, которые пассировали в его лаборатории более 30 лет. А. Каррель нанёс второй сильнейший удар по витализму, поскольку сумел доказать, что фенотип и профиль поведения клеток человека/животных в культуре сохраняют особенности, присущие им *in situ*. А. Каррель предсказал великое будущее культуры клеток для медицины, поскольку только клетки являются единственно морально допустимой формой «эксперимента на человеке». А. Каррель первый доказал, что неограниченная пролиферация *in vitro* позволяет наращивать биомассу соматических клеток в масштабах, сопоставимых с размерами органов. А. Каррель предвидел эпоху, когда трансплантация клеток будет использоваться как альтернатива трансплантации органов. А. Каррель первым показал, каким образом клетки человека и животных могут использоваться для изучения клеточных манифестаций и механизмов заболеваний человека. В 30-х годах А. Каррель сконструировал первый вариант искусственного сердца.



Профессор А.А. Богданов



Профессор В.Я. Александров

С 30-х годов XX века в лаборатории Т. Моргана с помощью количественных морфологических и биохимических признаков началось изучение взаимосвязи генотипа и фенотипа клеток/организма, что привело к бурному экспериментальному прогрессу генетики развития. В первые 30 лет XX века удалось преимущественно добиться выращивания в пассажах тех популяций соматических клеток, которые первично мигрировали из эксплантатов ткани [4].

В 1907 году Д.Х. Вильсон впервые описал удивительный феномен регенерации морских губок. Он разрушил особь до составляющих ее клеток и затем воссоздал живой организм заново за счет спонтанной агрегации клеток. В середине XX века M.S. Steinberg продолжил изучение самосборки диссоциированных эмбриональных клеток в функциональную ткань у млекопитающих [5, 6]. Позднее на многих видах было показано, что регенерация начинается с повторной спонтанной сборки клеток на почве селективных клеточных узнаваний. Применение этого правила вылилось в технологии получения химерных зародышей и клеточную инженерию тканей [7].

Яркой фигурой в естествознании начала XX века в России был харьковский врач-революционер А.А. Богданов. В 1905 году в Швейцарии он издал «Эмпириомонизм». Эта философская работа побудила В.И. Ленина написать «...эмпириокритицизм». В 20-х годах вышла «Тектология: всеобщая организационная наука» – первая русская книга о кибернетике в биологии и обществе. В 1926 году А.А. Богданов создал первый в России институт переливания крови. А.А. Богданов был увлечён идеей пересадки клеток и тканей для лечения человека. Он погиб в Ленинграде в результате неудачно проведенного экспериментального переливания крови.

С 1912 года появились публикации харьковского профессора Н.А. Белова об организме человека как самоизлучивающемся автомате, наделенном сетями обратных связей. Свои идеи Н.А. Белов докладывал на семинаре В.М. Бехтерева в Петербурге. Ряд серьёзных специалистов в наше время утверждают, что многие ключевые идеи кибернетики и теории систем были сформулированы Н.А. Беловым раньше Винера и Берталанфи.

От ультраструктуры к компартиментализации клетки

Изучение ультраструктуры клеток эукариот и прокариот быстро продвинулось вперед с наступлением эпохи электронных микроскопов. Первые электронограммы ультратонких срезов клеток были опубликованы Кейтом Портером и Албертом Клодом в 1944 году. Эта команда Колумбийского университета в Нью-Йорке на долгие годы стала лидером в клеточной биологии по нескольким причинам. Во-первых, К. Портер и А. Клод создали новую философию одновременного морфо-биохимического изучения изолированных клеточных органелл. К. Портер создал стандартные воспроизводимые протоколы исследования клеток под электронным микроскопом, которые сразу стали доступны десяткам лабораторий. Как и в случае с ДНК, качество подготовленных препаратов играло решающее значение для интерпретации полученных данных. А. Клод впервые разработал метод фракционирования составных частей клетки в растворах с изотоничной сахарозой (маннитом), которые препятствовали преждевременной гибели мембран и артефактному набуханию органелл. Гомогенаты после мягкого разрушения ткани в гомогенизаторе разделяли в центрифуге на однородные слои в соответствии с величиной, формой и плотностью. Стандартно изолированные клеточные органоиды параллельно изучались биохимическими и морфологическими методами. Электронный микроскоп соединил новыми мостами гистологию и биохимию, структуру и функцию клеточных органелл.

А. Клод, К. Портер и Паллад сыграли главную роль в создании нового «профсоюза» клеточных биологов – Tissue Culture Organization. Эта организация стала функционировать и заниматься стандартизацией методов клеточной биологии с 1948 года. Этот этап был необходим для индустриализации и коммерциализации исследований.

В 50–60-е годы XX века опережающими темпами развивались идеи самосборки клеточных структур из исходного набора молекул. В эту эпоху полагали, что химический порядок в клетке создается за счёт высоко-аффинных химических взаимодействий, ферментативного катализа и разделения гидрофильных/гидрофобных отсеков (компартиментализации). За короткий срок удалось осуществить

самосборку *in vitro* нескольких вирусов, бактериофагов, рибосом и плазматической мембраны клеток–эукариот. В 1974 году К. Де Дюв и А. Клод получили Нобелевскую премию за открытие универсальных законов компартиментализации эукариотических клеток. Важно, что с этого времени молекулярную и информационную «начинку» клеточных органелл стали изучать *in vitro*.

Казалось, что методы высокоаффинной сборки органелл подскажут принцип их функционирования. Однако желаемого не случилось. Функция митохондрий, рибосом, аппарата Гольджи, синапсов не проглядывала сквозь двухмерные электронограммы и даже через 3D–компьютерные макеты клеточных органоидов. Физика устройства не давала ключей к расшифровке soft–программ. Клеточная биохимия была вынуждена двигаться к биоинформатике и нековалентным взаимодействиям макромолекул в клетке.

Однако идея «компартиментализации» клетки, предложенная К. Портером, оказалась очень плодотворной и породила множество новых подразделов клеточной биологии.

Все клеточные органеллы – это не только ферментативные фабрики, но и информационные чипы. Двойственные функции цитоскелета были первыми открыты в связи с изучением циркуляции информации от рецепторов плазматической мембраны в ядро и наоборот. Силы механического напряжения, сжатия, растяжения через цитоскелет и сенсоры плазматической мембраны/экстраклеточного матрикса перекодируются в поток химических сигналов в локальных сигнальных сетях. Микронные деформации цитоскелета вызывают сопряженную активацию/ингибирование метаболических каскадов с помощью позитивных/негативных feed–back сигналов [8].

Идея «нано–компартиментализации» клетки появилась в начале 50–х годов XX века. Инициатором этого направления в биологии был физик, Нобелевский лауреат Ричард Фейнман. Первая информация о нано–компартаментах клетки пришла от специалистов по конфокальной и сканирующей электронной микроскопии высокого разрешения. Около 100 лет назад клеточные биологи высказывали предположение, что клетки реагируют изменением формы на сигналы окружающей среды. Клетки нафаршированы сократительными нитями, использующими принцип взаимного скольжения, моторами, помпами катионов и анионов. Масштабы производимой механической работы измеряются в пиконьютонах в нанометровой шкале и быстродействием порядка нескольких мсек. Молекулярные машины работают без инерции. Между входными и выходными характеристиками этих машин существуют гибкие связи, которые хорошо регулируются [9]. Передача сигналов опосредуется «конформационной волной» за счет природной гибкости (flexibility) вторичной структуры белков, обеспечивающей передачу сигнала по сетям с максимальным быстродействием, помехоустойчивостью и минимальными затратами АТФ. Начальные англостремные сдвиги рецепторного активированного домена при передаче на миофибриллы и цитоскелет миоцитов трансформируются в мышечное сокращение или клеточную подвижность. Масштаб выходных реакций уже измеряется сотнями микрон. Обратимые взаимодействия на уровне лиганд/рецептор происходят в масштабе тысячных секунды. Геномные ответы клеток осуществляются в масштабе часов, перестройки фенотипа клеток – в течение нескольких суток. Нетрудно видеть, что этот принцип «перевернутых часов» позволяет клетке сортировать наиболее существенные входные сигналы и автоматически игнорировать краткосрочные «помехи».

Протеомика подчиняется правилам динамичной, обратной 3D–сборки белков в функциональные мультиферментные комплексы, молекулярные машины, органеллы. Многоликий

фенотип клеток формируется на базе этих широких возможностей белков к комплексообразованию, которые выходят из границ и информационных лимитов генов. Динамическая перестройка хроматина, плазматической мембраны, органелл постоянно регулируется по «горизонтали» (внутри клетки) soft–сетями. Другие софты контролируют «хореографию» белков по «вертикали» – через множественные межклеточные взаимодействия в тканях. Софты отдельных клеток становятся средством для более высоких задач клеточных коопераций на уровне модулей. Поэтому изучение клеток сверху вниз – от поведения ткани к геному составляющих клеток – становится наиболее производительной и продуктивной технологией. Клеточная биология наших дней, опираясь на функциональную геномику, нацелена на управление коллективным поведением клеток *in vitro* и *in vivo*.

Сейчас в разных лабораториях с помощью «нокаут–мутаций» создаются линии клеток со стопроцентно однотипными поведенческими ответами в культуре. Барбара МакКлинтон, получившая в 1985 году Нобелевскую премию за открытие мобильных генов, так сформулировала основную идею на следующие годы: «Главная задача на будущее – определить те знания, которые есть в клетке, и знания, которые она вырабатывает и использует для генерации разумного адекватного поведения».

CD5 иммунный рецептор Т и В лимфоцитов обеспечивает распознавание нанометровых участков поверхности микробов и чужеродных клеток [10]. Понять функцию такого защитного белка можно в нано–шкале взаимодействий микробной и иммунной клетки.

Мезенхимальные клетки, мигрирующие внутри бластоцеля морских ежей, формируют многочисленные филоподии, которые используют как сенсорные органы для анализа формы поверхности и детекции химических сигналов в масштабе 75–120 нм [11]. Аналогичным образом мезенхимальные клетки млекопитающих с помощью филоподий детектируют строение и 3D–микрорельеф кости или гидроксиапатита для выбора наиболее адекватных путей миграции, заселения и синтеза экстрацеллюлярного матрикса. Эпицентр регуляторных событий между клеткой и поверхностью матрикса локализован в масштабе 30–60 нм [12].

В микрошкале идет катализ в активном центре фермента. В нано–шкале организована регуляция активности каталитических центров через нано–регуляторные взаимодействия. Софты организованы в нано–шкале. Регуляторная нано–soft–ниша фермента NO–синтазы уже полностью расшифрована [13].

Молекула фибронектина имеет около 50 нано–доменов, выполняющих разную роль в адгезии и локомоции клеток. Эти же участки являются источником афферентных сигналов для цитоскелета клетки. Участки матрикса размером 11 нм способны эффективно менять взаимодействие клетки с подложкой, направленную адгезию и форму «contact guidance» [14]. Сигналы с рельефа экстраклеточного матрикса порядка нескольких десятков мк² обеспечивают «грубую» шкалу архитектуры, тогда как сигналы с нано–поверхности матрикса контролируют локальное образование филоподий, ламеллы или транспортных везикул для эндоцитоза.

У истоков системной биологии

Парадокс между простой линейной химией входных реакций и нелинейно возрастающей сложностью выходных физиологических и поведенческих реакций клеток требовал не модных тогда редуccionистских решений, а менее категоричных, осторожных системных подходов для высшей архитектуры и порядка клеток. Кибернетика сыграла важную роль в открытии обратных связей между входными и выходными реакциями клеток. Молекулярные и клеточные

feed-back устройства защищают содержимое клеток и тканей от хаоса, провоцируя кооперативные и циклические гомеозащитные циклы. Открытие аллостеризма – регуляторных и каталитических субъединиц в мире информационных молекул – объяснило, каким образом одни и те же макромолекулы участвуют в сборке софт-программ и хард-устройств или молекулярных машин клеток.

Ещё неоформленные идеи системной биологии в нашей стране породили оригинальное направление, которое стали называть биосинергетикой или интегратизмом. Его плодотворно развивали школы А.А. Ляпунова и Г.Р. Иваницкого.

Кауфман на многих моделях показал, что главной мишенью селекции клеточных систем на стыке порядок/хаос является адаптивно-приспособительное поведение клеток. Оно включает: распознавание новых важных сигналов окружения, выработку нового типа поведения, освоение новизны на уровне выходных физиологических ответов и поведения клеток.

Биоинформатика

Биоинформатика пришла в биологию на смену витализму через многие экспериментальные двери. Выдающиеся физики XX века первыми сформулировали вопрос вопросов: как неживые молекулы становятся живой клеткой с целенаправленной деятельностью? Когда и как организованное вещество превращается в существо, мир молекул соединяется мостами с миром мегабайтов, давая на выходе физиологию и целенаправленное поведение клеток? Питер Мидавар первый указал на бесплодность поиска простых формул, связывающих биологическую организацию с законами термодинамики. Лексикон химии и морфологии не имел работающего дискрипторного словаря в мир физиологии и высших форм поведения клетки. Вклад физика Э. Шредингера оказался решающим для материализации концепции гена. Его идея координатного кода смогла соединить воедино мир ДНК/РНК/белков. В этот период Э. Шредингер активно занимался поиском того «дополнительного» принципа, который бы объяснил физиологический масштаб и уровень поведенческих реакций клетки. Э. Шредингер рассматривал клетку как «лестницу чудес» где простые химические реакции на входе рождали пока необъяснимый порядок целесообразного поведения на выходе. Л. Сцилард первый предположил, что клетка работает как «киллер хаоса». Импортируя энергию, клетка экспортирует энтропию. В ходе эволюции клетки и организмы не столько воюют друг с другом, сколько сражаются с хаосом окружающей среды за выживание. Организация и регуляторные мегабайты минимизируют законы вероятности внутри клеток. Структуры клетки подготовлены для хранения, накопления, циркуляции и генерации новой информации. Накопление новой информации проявляется в новом фенотипе или новом организованном поведении клеток. Только организованные системы не перегреваются в условиях интенсивного клеточного метаболизма [15].

Ноберт Винер предложил концепцию живой клетки как информационного чипа. Входные потоки энергии, веществ и информации перекодируются в целесообразные физиологические ответы и целостное адекватное поведение клеток. Н. Винер повернул рассуждения биологов в новом направлении: «Мы – лишь водовороты в вечно текущей реке жизни. Мы представляем собой не вещество, а тройную спираль из потока веществ, энергии и информации, которые преобразуются в целесообразное поведение и физиологию клеток». Вернер Лёвенштейн оказался первым, кто доказал, что именно потоки входной информации управляют потоками энергии, веществ и метаболизмом клетки [16].

Эра рекомбинантной молекулярной биологии

Первый ген человеческого инсулина «заработал» в культуре кишечной палочки в 1982 году. Первая рекомбинантная вакцина против вируса гепатита В была получена в культуре дрожжевых клеток в 1986 году. Биотехнологии на основе клеточных культур в короткое время изменили лицо и возможности диагностической медицины (моноклональные антитела и ПЦР). С 1998 года герцептин стал использоваться для лечения прогрессирующего рака молочной железы.

Исследования в культуре показали, что гены человека работают эффективно как в клетках эукариот, так и прокариот. На этой платформе с 80-х годов XX века стали формироваться трансгенные технологии для двух главных целей: 1. – изучения функции генов человека и животных *in vivo*; 2. – создания экспериментальных животных моделей главных наследственных болезней человека. Оказалось, что мутантные гены человека работают в хромосомах животных и способны вызывать схожую морфологическую патологию органов, которая сочетается с похожей клинической манифестацией «моноклонного» заболевания человека. Это дало возможность приступить к реализации многолетней программы моделирования наиболее простых моноклонных заболеваний человека на лабораторных животных.

В 1973 году Сальвадор Лурия и Макс Дельбрюк создали модель для изучения лабораторной эволюции ДНК фагов в кишечной палочке *in vitro*, а также законы пластичной модификации ДНК у прокариот *in vitro*. Молекулярная биология первой нашла способ изучать эволюцию в пробирке. Империя прокариот содержит на многие порядки больше смысловой информации, чем вся современная индустрия планеты. Если эти сети сопоставлять по плотности выходных мегабайтов на мг химического продукта клетки, то биология и современная промышленность и индустрия сосуществуют в разных мирах [17].

Биология развития

В 1950 году Поль Вайс предложил термин «биология развития» для создания мультидисциплинарной платформы исследований эмбриогенеза. Входные молекулярные сигналы эмбриональных клеток изучались молекулярными биологами, тогда как развитие и построение тканей было в руках у описательной морфологии и физиологии. П. Вайс пытался выйти на одновременное изучение афферентных и эфферентных систем клеток, чтобы приблизиться к кодам эмбриогенеза. Создание новых моделей и мультидисциплинарных парадигм было необходимо, чтобы избежать моноклонного зрения узких профессионалов.

Эмбриональная индукция является главной масштабной программой координации развития зародыша как целостной развивающейся системы. Для проверки гипотезы преформации/эпигенеза Вильгельм Ру и Ганс Дриш разработали методы фрагментации зародыша с помощью микроинструментов для изучения их роли в развитии. Первые же эксперименты выявили множественные эффекты пересаженных эксплантатов на развивающийся зародыш. В середине 20-х годов XX века Ганс Шпеманн и Хильда Манголд обнаружили дубликацию нервной трубки при пересадке дорзальной мезодермы в область вентральной мезодермы вьюна. У млекопитающих дорзальная мезодерма ответственна за образование экстра – дорзальных осевых структур, включая нервную трубку и осевую мускулатуру. Удивительной оказалась способность дорзальной эктодермы к множественной эктопической репликации осевых структур зародыша [18]. Уже через 11 лет после первой публикации Г. Шпеманн получил Нобелевскую премию. Х. Манголд

погибла в 1925 году от взрыва бытового газа в квартире, не увидев даже своей первой научной публикации. Исследования эмбриональной индукции проложили дорогу к изучению антагонизма генов в развитии, а также к открытию нового класса сигнальных молекул – морфогенов. Молекулярный механизм действия самого организатора у млекопитающих был расшифрован лишь в конце XX века. В настоящее время дубликацию осевых структур можно получить инъекцией мРНК одного гена (*gooseoid*). 70 лет спустя Роза Беддингтон использовала идеи эмбриональной индукции для расшифровки осевого развития пост-гастролы млекопитающих. Пересадки кусочков примитивной полоски индуцировали эктопический дубликат нервной трубки без головной части. Перекрестные пересадки показали важную индукционную роль экстраэмбриональной энтодермы в формировании главных осей развития зародыша-дубликата [19, 20]. Главные организаторы гастролы и осевого органогенеза (экстраэмбриональная энтодерма, эктодерма, нотохорд и узелок) содержат сигналы-антагонисты, блокирующие дальнейшую дифференцировку зародышевых листков. Организованное 3D-развитие зародыша и органнй паттернинг зависит от баланса индукторов/репрессоров, контролирующих появление новых эмбриональных/фетальных линий – временных исполнителей программ формирования дефинитивных линий клеток плода и экстра-эмбриональных органов.

В середине 50-х XX века К. Гробстайн показал, что развитие зачатка эпителиальных желёз и почки (метанефроза) можно изучать в органной культуре. Такая система содержит всю необходимую информацию развития. Если эпителий и мезенхиму зачатка разделить механически или разделить ткани полупроницаемой мембраной, то развитие эпителия и стромы органа останавливается. К. Гробстайн показал, что главные индукционные события органогенеза происходят по всей площади взаимодействия эпителия и мезенхимы.

Основной прогресс в изучении генетики/эпигенетики индивидуального развития достигнут по трем направлениям: 1. – эмбриональные стволовые клетки и мезенхимальные стволовые клетки взрослых тканей; 2. – механизмы первичной и вторичной эмбриональной индукции; 3. – обратимые эпителио-мезенхимальные конверсии в эмбриональных и «взрослых» тканях.

Эмбриональные стволовые клетки в культуре проложили дорогу к лабораторному воспроизводству первичной эктодермы, мезодермы, энтодермы, экстра-эмбриональной провизорной ткани. Многие события ранней эмбриональной индукции уже удается воспроизводить в смешанных культурах, используя законы антагонизма генов в развитии.

Для получения высокоочищенной мезодермы, энтодермы используют не только сигналы-индукторы, но и сигналы-репрессоры альтернативных путей развития.

Изучение потенциала развития мезенхимальных стволовых клеток (МСК) из взрослых тканей млекопитающих и человека подтвердило предположение, что потенциал этих клеток природно ориентирован на участие в процессах естественного обновления стромы/эпителия, а также на участие в экстренной репарации ткани после массивных механических/биологических (вирусных) поражений ткани.

Пластичность фенотипа и путей дифференцировки МСК позволяет множественными путями соучаствовать в локальной репарации паренхимы за счет массовой конверсии МСК в эпителий в зонах активной регенерации и репарации. На этой удивительной программе сосуществования в качестве клеток-предшественниц эпителия *in situ* построено будущее терапевтическое использование МСК в клинике.

Поведение клеток *in vitro*

Одна из великих загадок биологии – сложные постоянные целенаправленные движения клеток. Клетки меняют форму, делятся, пролиферируют, замирают в неактивном состоянии, строят ткань. Целостность и очевидная целесообразность поведения клеток заставила многих учёных задуматься о материальной подоплёке этого феномена. Р. Weiss первый показал, что клетки в культуре предпочитают мигрировать по экстрацеллюлярному матриксу (*contact guidance*). Это свидетельствует о том, что важнейшие управляющие поведением клетки сигналы концентрируются на стыке базальной части плазматической мембраны и компонентов матрикса [21, 22]. В середине XX века Abercrombie открыл феномен контактного ингибирования в монослое нормального эпителия или плотной многослойной культуре фибробластов. Эта важная *feed-back* автоматика роста в культуре отсутствовала у малигнизированных клеток. Это было первым указанием на дефекты регуляторных модулей в раковых клетках. Более того, монослой/плотные культуры нормальных клеток влияли на пролиферацию раковых клеток только в том случае, когда индуцировали дифференцировку части незрелых мультипотентных клеток.

Второе важное отличие нормальных от малигнизированных соматических клеток заключалось в том, что вырастить пассаж из одиночных нормальных клеток не удавалось, тогда как одиночные раковые клетки легко формировали колонии. Только в 1948 году К.К. Sanford, W.R. Earle, G.D. Likely научились получать первые клоны из одиночных нормальных соматических клеток в микрообъеме кондиционированной среды, помещенной в кончик пастеровской пипетки. Когда одиночные клетки формировали колонии из 20–50 клеток, их переносили в обычные чашки Петри и получали первый пассаж. Другой способ клонирования одиночных клеток на облученном фидере был предложен Т.Т. Puck и Р.И. Marcus в 1955 г.

В 1931 году S.A. Lewis описал пиноцитоз (*water drinking*) в культуре клеток, который в дальнейшем стали широко использовать для подбора оптимальных условий культивирования. Изучение пиноцитоза, затем рецепторного эндоцитоза привело К. Де Дюва к открытию лизосом.

В работах Ю.М. Васильева было показано, что поведение изолированных дифференцированных соматических клеток человека в культуре повторяет навыки клеток в ткани – они строят или восстанавливают ткань. Малигнизированные клетки ведут себя «асоциально», утрачивая способность к гистогенезу и репарации ткани [23–25].

В 1970 году в журнале «Успехи современной биологии» появилась статья крупного ленинградского цитолога В.Я. Александрова «Проблема поведения на клеточном уровне (цитозология)» [26]. В этой пионерской статье были сформулированы две важные новые мысли: 1. – в природе клеток предусмотрен протоинтеллект, который управляет их поведением; 2. – в клетке есть молекулярные машины распознавания сигналов, новизны, а также наработки новой сигнальной информации, которые отличены от интеллекта на базе ЦНС и высшей нервной деятельности. Молекулярные машины самообучающихся клеток плодят в организме новую информацию, которая наиболее эффективно управляет поведением клеток.

В середине 70-х годов акад. В.А. Энгельгардт экспериментально обосновал предположение, что информационная и метаболическая устойчивость клеток покоится на семантических (смысловых) кодах, работающих в клетках. В 1980 году на совместной сессии АН и АМН СССР он выступил с докладом, в котором предсказал переход медицины на новый уровень, когда клетки человека станут не только главным объектом и моделью, но и новым средством лечения.

В отличие от генетики, молекулярной медицины, медицинской клеточная биология будет использовать способность клеток к самообновлению и регенерации [27, 28].

В середине 50-х годов XX века великий эрудит-биохимик Дэвид Кошланд (бывший долгое время редактором журнала Science) занялся генетикой поведения бактерий. Он показал, что клетки кишечной палочки в состоянии детектировать один новый сигнал среди 10 000 старых, чтобы принять единственно правильное решение и избавиться от смертельной угрозы. Новый детектирующий поверхностный рецептор и жгутик, направляющий движение микроба, оказались собранными в одну молекулярную машину. Д. Кошланд первый обратил внимание на двойственные функции цитоскелета в принятии новых решений: формирование новых информационных сетей от рецептора и реорганизация скелета осуществляются практически одновременно. Позднее аналогичные феномены были обнаружены у клеток эукариот. «Двойная» жизнь цитоскелета в инфо- и опорно-двигательных сетях связана с наличием в белках «регуляторных» и «локомоторных» сиквенсов (доменов), обеспечивающих одновременное формирование hard-устройств и soft-программ клеток. В белках обнаружены участки, ответственные за направленную доставку белков в ядро, лизосомы и плазматическую мембрану [29].

Плотность информационных потоков в микробной клетке оказалась сопоставимой с нервной клеткой высших животных. Бактерия – это простейший инфо-чип, наделенный целесообразным поведением. В бактериальной клетке существует система сопоставления входных и выходных ответов. Эта согласующая система (intelligent primer) постоянно манипулирует и балансирует простыми химическими входными сигналами и комплексными выходными поведенческими реакциями. Эта софт-органелла перекодирует молекулярную химию входных реакций на язык физиологии и поведения. Бактериальные клетки наделены способностью к самообучению.

В середине 60-х годов XX века Ф. Жакоб и Ж. Моно высказали предположение, что сигнальные сети, соединяющие внешние рецепторы с геномом и органеллами, управляют поведением клеток про- и эукариот. Более того, эволюционно родственные сигнальные системы управляют поведением всех клеток биоценозов (что справедливо для *E. coli*, то работает и для клеток слона и человека). По этой причине гены человека работают в клетках микроорганизмов и других млекопитающих. По той же причине мышечные или сердечные клетки человека работают, приживляются и функционально интегрируются в тканях животных. В случае регенерации или локальной репарации ткани клетки разных видов демонстрируют общие паттерны поведения [30]. Общность поведения клеток построена на общей платформе генов.

В виде метафоры упорядоченную платформу сигнальных сетей и цитоскелета клетки можно представить себе следующим образом: 1. – общая универсальная часть сети во всех клетках контролирует фенотип и физиологические ответы клеток по общим правилам (подобно правилам шахматной игры); 2. – вторая более индивидуальная часть сетей вокруг intelligent primer формулирует стратегию поведения клетки как баланс между правилами игры и витальными сигналами микроокружения [31].

Трансплантация клеток

В 1884 году Вильямс подождал имплантировал больному сахарным диабетом фрагменты ткани поджелудочной железы овцы. В 1890 году Томсон в Нью-Йоркском университете провёл эксперименты по пересадке клеток головного мозга от кошки собаке. В 1906 году была выполнена первая успешная пересадка роговицы. В 1907 – первое

успешное переливание АВО-совместимой крови. В 1922 году в США надпочечники плода были пересажены двум пациентам с болезнью Аддисона, после чего наблюдали длительный терапевтический эффект. В 1931 году П. Ниханс в Швейцарии спас от смерти пациентку, которая после ошибочного удаления околощитовидной железы находилась в коматозном состоянии. П. Ниханс в это время разрабатывал метод получения растворимого кофе из замороженного сырья для компании «Nestle». Одновременно он получил патент на заморозку функционально полноценных клеток животных. В дальнейшем терапия с помощью замороженных клеток животных получила его имя. В 1928 году в Италии была произведена первая безуспешная пересадка поджелудочной железы пациенту с инсулин-зависимым сахарным диабетом. Начавшаяся в середине XX века эра успешной пересадки органов надолго приостановила фундаментальные и прикладные разработки с трансплантацией соматических клеток.

Пересадки донорского аллогенного костного мозга, почек, печени сердца привели к выявлению важной закономерности: строма пересаженного органа в течение 2–3 лет практически полностью замещается собственными МСК и прогениторными стромальными клетками. Одновременно в ряде случаев донорские МСК из пересаженного органа расселяются по всем больным и здоровым органам пациента и дают стабильные линии клеток соединительной ткани и эпителиальной паренхимы. Аллогенные МСК стабильно химеризуют органы взрослых животных. Часть нейральных стволовых клеток и МСК после пересадки переходят в статус «дормантных» резервных стволовых клеток.

Новый этап клеточной трансплантации начался в 1985 году попытками лечения тяжёлых форм нарушения двигательной активности при болезни Паркинсона пересадкой хромаффинной ткани фетальных надпочечников в стриатум. Оказалось, что донорские ДОФА-продуцирующие клетки способны контролировать гиперкинез и другую симптоматику заболевания у пациентов, не реагирующих на лекарственную терапию. С тех пор клеточные пересадки шаг за шагом развиваются в медицине многих стран мира, когда прекращаются стандартные медицинские услуги по страховке. Пересадки гематогенных и мезенхимальных стволовых клеток стали регулярной медицинской услугой в гематологии, онкологии, в случае некоторых иммунодефицитов. Особо следует выделить успехи экспериментальных пересадок клеток в изучении эмбриогенеза низших и высших организмов. Механизмы эмбриональной индукции, потенциал развития эмбриональных стволовых клеток, экто- мезо- и энтодермы, экста-эмбриональных тканей был выяснен с помощью ауто- и аллогенных трансплантаций. До сих пор фетальные ткани и клетки остаются уникальным источником информации для изучения геномики и протеомики пост-гастролы, органогенеза, вторичной индукции и формирования терминальных соматических линий паренхимы/мезенхимы в дефинитивных органах и тканях [32].

Постгеномная клеточная биология: проблемы экспоненциального роста

Наметившийся идейный кризис в современной клеточной биологии из-за дефицита крупных научных идей проявляется в беспрецедентной затоваренности рынка сырой гигабайтной инструментальной информацией. Более того, геномные данные банка Национального Центра Биотехнологии США продолжают удваиваться каждые 18 месяцев. Традиционные грантовые академические исследования в клеточной биологии XX века не имели возможности выходить за рамки частных вопросов и деталей. Фокус исследований от центральных глобальных проблем всё более смещался на

периферию вторичных задач. Подсчитано, что только знакомство с экспериментальными данными вокруг 5 генов дрожозофилы потребует годовой работы примерно 1200 специалистов.

Между тем будущее принадлежит сплаву крупных новых идей с огромным корпоративным капиталом. Эта мысль Карла Поппера нашла первое воплощение в мега-проекте «Геном человека», который организовал на 15 лет работу более 300 международных лабораторий с годовым бюджетом более 200 млн долларов. Клеточная биология XXI века и в дальнейшем будет рывками развиваться за счет новых «Манхэттенских мега-проектов». Почему редукционизм молекулярных биологов в начале XXI века стал таким же тормозом прогресса биологии, как витализм в начале XX века?

Пока стопроцентное линейное секвенирование геномов человека и других многоклеточных подтвердило старую аксиому: первичное устройство генов не объясняет правила их функционирования в дифференцированных и эмбриональных клетках. Однако знание полной линейной структуры ДНК было непременным условием системной биологии, чтобы начать атаковать функциональные коды клетки сверху (up-to-bottom) (от их поведения) и снизу (bottom-to-up) (от правил синхронной активации/репрессии генов к правилам функциональной кластеризации белков в функциональных и регуляторных модулях клетки) [33]. Первый проект «Геном человека» создал методическую платформу для последующих мега-проектов в виде: 1. – полностью автоматизированных лабораторий; 2. – компьютерного обеспечения для интерпретации серийной мегабайтной информации. «Увидеть, чтобы понять». Этой логике следует стратегия пост-геномной клеточной биологии.

Секвенирование двухметровой цепочки ДНК человека выявило, что 30 000 с небольшим генов занимают около 2% длины молекулы. «Островки» генов разбиты «озёрами» и «морями» бессмыслицы. Как такие структуры работают в пространстве? В 2002 году Европейский Союз выделил 2,2 млн евро научному консорциуму из 7 крупнейших институтов, которые начали разрабатывать проект «3D-GENOME». Проект был закончен в 2006 году. Его главная задача состояла в разработке методов одновременной экспрессии всех генов с помощью визуальных метчиков, локализованных вблизи «бессмысленной» ДНК. Результаты этого второго мега-проекта в пост-геномную эпоху пока остаются не опубликованными.

Например, попытки каталогизировать список универсальных, незаменимых белков стволовых клеток дал трудно интерпретируемые результаты. Сопоставление 2D-протеомных карт всех анализируемых ЭСК выявил 92 общих белка. Сопоставление 2D-протеомных карт ЭСК и МСК позволило идентифицировать 52 общих белка [34]. Однако найти общий функциональный смысл этой весьма гетерогенной группе белков не удалось. Правила функциональной интеграции генов лучше всего могут быть поняты на примере организации и поддержания фенотипа стволовых и дифференцированных клеток. Иногда правила перекодировки молекулярных сетей в поведение клеток лучше всего изучать на линиях клеток с первичными дефектами клеточной адгезии, цитоскелета, хемотаксиса или репарации [35]. Клеточная биология сегодня, как и во времена двойной спирали ДНК, должна получить ответ на вопрос вопросов: как организованное поведение информационных и сигнальных молекул в сетях перекодировается в организованное целесообразное поведение клеток? Концепция функциональных и регуляторных модулей в клетке помогает выделить те (пока незримые) «клеточные лифты», которые превращают организованный химический катализ в физиологический процесс. Все белки являются частью множества протеомных сетей. Однако

только модули являются теми уникальными органеллами клетки, где стыкуется молекулярный и физиологический порядок явлений [36]. Для всех метаболических и физиологических ответов клетки существует свой модуль. Более того, все модули интегрированы иерархически в общий модуль клетки с плотным и рыхлым «кластерингом» сигнальных связей [37].

Функциональные и регуляторные молекулярные модули сейчас изучают как на стволовых, так и на дифференцированных клетках в культуре. Не исключено, что многие раковые линии клеток, утрачивающие способность к гистогенезу и репарации, подскажут способы диалога молекул и мегабайтов, молекулярных устройств и функции (поведения). Изучение формирования фенотипа дифференцированных клеток уже привело к открытию многочисленных функциональных супрамолекулярных модулей, обеспечивающих реализацию элементарных специализированных функций соматических дефинитивных клеток. В эмбриогенезе во всех тканях формируются модулярные повторяющиеся структуры, собранные из стволовых/прогениторных клеток, подвергающиеся клональной экспансии и обеспечивающие аксиальный паттернинг и органогенез зародыша [38]. Регуляторные модули развития лишены физиологии и поведения, характерных для клеток дефинитивных тканей. Более 280 регуляторных модулей уже идентифицировано в имгинальных дисках и других структурах дрожозофилы [39]. Регуляторные модули опережающе клонируют новые программы и клеточные модули для реализации новых фаз эмбриональной индукции, формирования плакоды/папиллы для вторичного органогенеза в зародышевой эктодерме и энтодерме.

В дифференцированных соматических клетках фокус протеомных исследований пока находится на стадии визуализации крупных супрамолекулярных агрегатов, собирающих в едином пространстве несколько мультиферментных комплексов, цитоскелета, транспортных везикул, ионных каналов и рецепторов в единый функциональный выходной модуль клетки. Начальная активация рецептора и англстремные изменения его конформации на выходе модуля транслируются в видимые под микроскопом микронные изменения формы клеток и направленной подвижности. Важно другое, что такие мультимодальные комплексы, собранные из регуляторных и каталитических доменов, обеспечивают множественную амплификацию сигналов в наномасштабе конформационными «волнами» (так называемый информационный катализ софт-информации) [40]. Циркуляция и амплификация сигналов между аллостерическими доменами сопровождается минимальными затратами АТФ. Отдельные функциональные модули содержат до 15 аллостерических субъединиц и более 150 нано-доменов для soft-сигнализации [41].

Технически двумерная и трехмерная визуализация функциональных модулей начинается с составления дифференциальных протеомных карт клеток в покоящемся и активном состоянии. К сожалению, множество факторов культуральной среды, комбинации ростовых факторов и матрикса создают серьезные помехи для идентификации тех сетевых сборок белков, которые отвечают за одну выходную функцию клетки [42].

Современные клеточные модели, используемые для идентификации и визуализации мультимодальных молекулярных комплексов, должны одновременно использовать контрольные замеры экспрессии/супрессии маркерных генов относящихся к моделируемой физиологической функции клеток (секреция, направленная миграция, сокращение, апоптоз и т.д.). Алгоритмы таких программ и компьютерная графическая обработка данных уже доступны в виде

коммерческих продуктов Click, Expander, VennMapping, CoPub, Go-Miner, GEPAT [43–46]. Важным маркером модульной сборки является кластеризация ключевых транскрипционных факторов в зоне промоторов/энхансеров. Плотность мультидоменных белок-белковых взаимодействий здесь достигает максимума [47]. Первые описания патологии кластеризации протеомных сетей в функциональных модулях описаны для клеток сетчатки (пигментозный ретинит), нервных клеток (болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз), коронарного атеросклероза, диабета II типа, некоторых видов эпителиального рака [48].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Harrison R.G. Further experiments on the development of peripheral nerves. *Am. J. Anat.* 1906; 5: 121–31.
2. Harrison R.G. The outgrowth of the nerve fiber as a mode of protoplasmic movement. *J. Exp. Zool.* 1910; 9: 787–46.
3. Landecker H. New times for biology: nerve culture and the advent of cellular life in vitro. *Stud. Hist. Phil. Biol. Biomed. Sci.* 2002; 33: 667–94.
4. Fell H.B. Tissue culture and its contribution to biology and medicine. *J. Exp. Biol.* 1972; 57: 1–13.
5. Steinberg M.S. Mechanism of tissue reconstruction by dissociated cells II. Time-course of events. *Science* 1962; 137: 762–63.
6. Steinberg M.S. Reconstruction of tissues by dissociated cells. Some morphogenetic tissue movements and the sorting out of embryonic cells may have a common explanation. *Science* 1963; 141: 401–8.
7. Shastri V.P. Future of Regenerative Medicine: challenges and hurdles. *Art. Organs* 2006; 30: 828–34.
8. Vogel V., Scheetz M. Local force and geometry sensing regulate cell functions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2006; 7: 265–71.
9. Osawa F. Loose coupling mechanism in molecular machines of living cells. *Genes to Cells* 2000; 5: 9–16.
10. Rodamilans B., Ibanez S., Bragado-Nilsson E. et al. Expression, purification and crystallization of human CD5 domain III, a nanoscale crystallization example. *J. Struct. Biol.* 2007; 159: 144–8.
11. Wood W., Martin P. Structures in focus – filopodia. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2002; 34: 726–30.
12. Dalby M.J., Gadegaard N., Riehle M.O. et al. Investigating filopodia sensing using arrays of defined nano-pits down to 35 nm diameter in size. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2004; 36: 2005–15.
13. Haruyama T., Asakawa H., Migita S. et al. Bio-, nano-technology for cellular biosensing. *Curr. Appl. Physics.* 2005; 5: 108–11.
14. Curtis A., Wilkinson C. New depth in cell behavior: reactions of cells to nanotopography. *Biochem. Soc. Symp.* 1999; 65: 15–26.
15. Gatenby R.A., Frieden I.E. Information theory in living systems, methods, applications, and challenges. *Bull. Math. Biol.* 2007; 69: 635–57.
16. Loewenstein W.L. *The Touchstone of Life.* 1999: Oxford Univ. Press.
17. Drexler K.E. Building molecular machine systems. *TIBTECH* 1999; 17: 5–8.
18. Hartwell K.A., Muir B., Reinhardt F. Spemann organizer gene gooseoid promotes tumor metastases. *PNAS* 2006; 103: 18969–74.
19. Beddington R.S. Induction of a second neural axis by the mouse node. *Dev.* 1994; 120: 613–20.
20. Beddington R.S., Robertson E.J. Axis development and early asymmetry in mammals. *Cell* 1999; 96: 195–209.
21. Weiss P., Garber B. Shape and movement of mesenchymal cells as functions of the physical structure of the medium – contributions to a quantitative morphology. *PNAS* 1952; 38: 264–80.
22. Dunn G.A., Heath J.P. New hypothesis of contact guidance in tissue-cells. *Exp. Cell Res.* 1976; 101: 1–14.
23. Васильев Ю.М. Клетка как архитектурное чудо. 1. Живые нити. *Сорос. Образ. Журнал* 1996; 2: 36–43.
24. Васильев Ю.М. Клетка как архитектурное чудо. 2. Цитоскелет, способный чувствовать и помнить. *Сорос. Образ. Журнал* 1996; 4: 4–10.
25. Васильев Ю.М. Социальное поведение нормальных и асоциальное поведение опухолевых клеток. 3. Клетки строят ткань. *Сорос. Образ. Журнал* 1997; 5: 20–25.
26. Александров В.Я. Проблема поведения на клеточном уровне (цитозология). *Успехи соврем. биологии* 1970; 69(2): 220–40.

Изучение базовой и функциональной организации протеомных сетей в рамках одного функционального модуля дифференцированных клеток или регуляторного модуля на уровне эмбриональных столовых клеток требует организационных, финансовых и людских творческих усилий в объеме, не меньшем, чем программа «Геном человека».

Как и витализм в XIX веке, редукционизм XX века исчерпал свои лидирующие творческие возможности в пост-геномную эпоху. Новые глобальные идеи клеточной биологии требуют масштабных финансовых затрат и пристального внимания государства во имя нашего общего будущего.

27. Энгельгардт В.А. Интегрализм – путь от простого к сложному в познании явлений жизни. В кн.: *Материалы к 2-му Всесоюз. совещ. по филос. вопр. соврем. Естествознания.* М.: Ин-т философии АН СССР; 1980.
28. Энгельгардт В.А. Клетки на службе медицины. В кн.: *Фундаментальные науки – медицине.* М.; 1981.
29. Arnoys E.J., Wang J.L. Dual localization: proteins in extracellular and intracellular compartments. *Acta Histochem.* 2006; 14: 295–305.
30. Williams D.F. To engineer is to create: the link between engineering and regeneration. *Trends Biotechnol.* 2006; 24: 4–8.
31. Strohmann R. Maneuvering in the complex path from genotype to phenotype. *Science* 2002; 296: 701–3.
32. Релин В.С., Сабурова И.Н., Сухих Г.Т. Клеточная биология фетальных тканей и медицина. *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2007; 3: 123–33.
33. Bruggman F.J., Westerhoff V.H. The nature of systems biology. *Trends Microbiol.* 2007; 15: 45–59.
34. Baharvand H., Fathi A., van Hoof D. et al. Concise Review: trends in stem cell proteomics. *Stem Cells* 2007; 25: 1888–903.
35. Wolkenhauer O., Mesarovich M., Wellstead P. A plea for a more theory in molecular biology. *Ernst Shering Res. Found. Workshop* 2007; 61: 117–37.
36. Schlosser G., Wagner G. eds. *Modularity in Development and Evolution.* Chicago: Univ. Chicago Press; 2004.
37. Ravazh E., Somera A.L., Mongru D.A. et al. Modularity in metabolic networks. *Science* 2002; 297: 1552–6.
38. Allen C.E. The «Eyespot Module» and eyespots as modules: development, evolution, and integration of a complex phenotype. *J. Exp. Zool. B. Mol. Dev. Evol.* 2007; in press.
39. Li L., Zhu Q., Sinha S. et al. Large-scale analysis of transcriptional cis-regulatory modules reveals both common features and distinct subclasses. *Genome Biol.* 2007; 8: R101–4.
40. Ili M.S., Gianneschi N.C., Oliveri C.G. et al. Allosterically Regulated Supramolecular Catalysis of Acyl Transfer Reactions for Signal Amplification and Detection of Small Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* 2007; in press.
41. Del Sol A., Arauzo-Bravo M.J., Amaros D. et al. Modular architecture of protein structures and allosteric communications: potential implications for signaling proteins and regulatory linkages. *Genome Biol.* 2007; 8: R92–9.
42. Wagner W., Feldmann R.E., Seckinger A. et al. The heterogeneity of human mesenchymal stem cell preparations—evidence from simultaneous analysis of proteomes and transcriptomes. *Exp. Haematol.* 2006; 34: 536–48.
43. Sharan N., Maron-Katz A., Shamir R. CLICK and EXPANDER: a system for clustering and visualizing gene expression data. *Bioinformatics* 2003; 19: 1787–99.
44. Alako B.I., Veldhoven A., van Baal S. et al. CoPub Mapper: mining MEDLINE based on search term co-publication. *BMC Bioinformatics* 2005; 6: 51–6.
45. Feng W., Henning P., Wang M.D. EGOMiner: a comprehensive genomics and proteomics data analysis and biological function interpretation system. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2004; 4: 2809–12.
46. Weniger M., Engelmann J.G., Schultz J. Genome Expression Pathway Analysis Tool—analysis and visualization of microarray gene expression data under genomic, proteomic and metabolic context. *BMC Bioinformatics* 2007; 8: 179–89.
47. Wagner A. A computational «genome walk» technique to identify regulatory interactions in gene networks. *Pac. Symp. Biocomput.* 1998; 264: 78.
48. Lage K., Karlberg E., Storling Z.M. et al. A human phenome-interactome network of protein complexes implicated in genetic disorders. *Nat. Biotechnol.* 2007; 25: 309–16.

Поступила 24.08.2007