Дальнейшие исследования помогут проверить эту гипотезу. Несмотря на многочисленные вновь возникшие вопросы, Kimiko Inoue и его коллеги получили важный результат, заключающийся не только в клонировании мышей с использованием HSC, но и в сравнительном анализе, показывающем низкий уровень перепрограммирования ядра HSC. Возможно, что аналогичная недостаточность перепрограммирования будет наблюдаться и с ядрами взрослых стволовых клеток человека. Вопрос выбора оптимальной клетки–донора ядра клонирования остается актуальным.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Rideout W.M. 3rd, Eggan K., Jaenisch R. Nuclear cloning and epigenetic reprogramming of the genome. Science 2001; 293: 1093–8.
2. Blelloch R. Progress for nuclear transfer technology. 7th Int Congress Cell Transplant Society. Nov. 17–20, Boston, USA. Oral presentation.
3. Osawa M., Hanada K., Hamada H. et al. Long–term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34–low/negative hematopoietic stem cell. Science 1996; 273(5272): 242–5.
4. Krause D.S., Theise N.D., Collector M.I. et al. Multi–organ, multi–lineage engraftment by a single bone marrow–derived stem cell. Cell 2001; 105(3): 369–77.
5. De Sousa P.A., Watson A.J., Schultz RM. Transient expression of a translation initiation factor is conservatively associated with embryonic gene activation in murine and bovine embryos. Biol. Reprod. 1998; 59(4): 969–77.
6. Hamatani T., Carter M.G., Sharov A.A. et al. Dynamics of global gene expression changes during mouse preimplantation development. Dev. Cell. 2004; 6(1): 117–31.
7. Evsikov A.V., de Vries W.N., Peaston A.E. et al. Systems biology of the 2–cell mouse embryo. Cytogenet. Genome Res. 2004; 105(2–4): 240–50.
8. Schultz R.M., Davis W. Jr., Stein P. et al. Reprogramming of gene expression during preimplantation development. J. Exp. Zool. 1999; 285(3): 276–82.
9. Ma J., Svoboda P., Schultz R.M. et al. Regulation of zygotic gene activation in the preimplantation mouse embryo: global activation and repression of gene expression. Biol. Reprod. 2001; 64(6): 1713–21.
10. Inoue K., Wakao H., Ogonuki N. et al. Generation of cloned mice by direct nuclear transfer from natural killer T cells. Curr. Biol. 2005; 15(12): 1114–8.

Подготовила Т.В. Лопатина
по материалам J. Cell Sci. 2006; 119: 1985–91

Изучение иммунологической совместимости клона и клетки – донора ядра

Считается, что создание индивидуальных для каждого пациента линий эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) с помощью метода переноса ядра соматической клетки в энуклеированный овоцит позволит избежать проблемы иммунного отторжения. Действительно, клонированные ЭСК имеют идентичный реципиенту генетический материал ядра и, следовательно, идентичные антигены главного/минорного комплекса гистосовместимости ядерного происхождения. Полная совместимость по антигенам МНС I–II классов исключает прямое распознавание Т–лимфоцитами и, следовательно, реакции острого отторжения.

С другой стороны, митохондриальная ДНК клонированных ЭСК и клеток реципиента не идентичны. Митохондриальный геном человека содержит гены не менее 13 белков [1]. Для этих генов характерен выраженный полиморфизм [2], что, по–видимому, обусловлено несовершенством механизмов репарации, отсутствием гистонов и присутствием свободных радикалов кислорода – побочных продуктов аэробного дыхания. Таким образом, митохондриальные белки клонированных ЭСК и клеток реципиента могут иметь значительные структурные различия. Подобные структурные различия, в свою очередь, могут обуславливать реакцию отторжения по механизму непрямого распознавания. Представления о роли антигенов митохондриального происхождения в реакциях отторжения в настоящий момент имеют преимущественно теоретический характер и требуют тщательного изучения.

Первые исследования, проведенные группой R. Lanza et al. [3], показали, что трансплантация клонированных гемопоэтических стволовых клеток не сопровождается какой–либо видимой реакцией иммунного отторжения. Исследованию иммунологической совместимости пары клонированное животное/линия клеток, являющихся источником ядра, посвящена недавно опубликованная в Biochemical and Biophysical Research Communications работа японской группы A. Shimada.

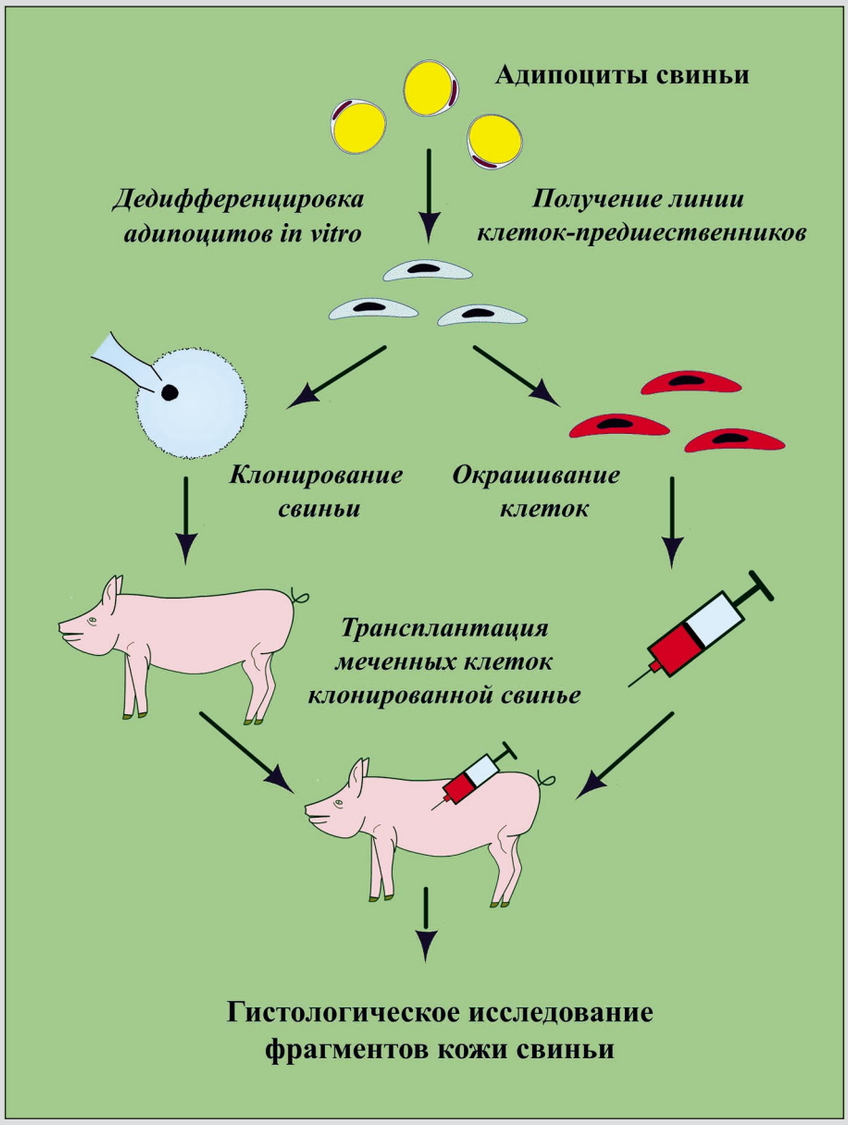
В исследовании использовались преадипоцитарные клеточные линии преадипо–1 и преадипо–2, полученные из адипоцитов жировой ткани разных (аллогенных по отношению друг к другу) свиней путем дедифференцировки [3, 4]. Ранее ядра клеток этих линий использовали для клонирования 2 свиней – клон–PA1 и клон–PA2, соответственно [3]. Преадипоциты обеих линий маркировали витальным красителем. Окрашенные клетки пересаживали в кожу клонированных животных в количестве 1,0–1,4 млрд (сингенная и аллогенная трансплантация). Через 3 недели фрагменты кожи в местах введения резецировали, подвергали всестороннему гистологическому исследованию (схема эксперимента для сингенной трансплантации показана на рисунке).

Гистологический анализ показал, что клетки сингенных трансплантатов располагались в виде скоплений, в составе которых обнаружено незначительное количество некротического дебриса. Большинство меченых клеток имело первоначальную фибробластоподобную морфологию. Эта клеточная популяция была представлена адипоцитами (жировые включения в цитоплазме). Однако, меченые адипоциты не были обнаружены в 35–40% сингенных трансплантатов. Клетки аллогенных трансплантатов также располагались в виде скоплений, среди которых не было обнаружено некротического дебриса. Во всех фрагментах кожи меченые клетки имели только однотипную фибробластоподобную морфологию.

Таким образом, авторы не наблюдали реакции острого отторжения не только для сингенных, но и для аллогенных преадипоцитов. Отсутствовала и лимфоидная инфильтрация трансплантатов. С другой стороны, исследуемые клетки дифференцировались в адипоциты только при введении

сингенному реципиенту. Остается не понятным, обусловлено ли последнее иммунной реакцией реципиента или имела место разновидность феномена «аллогенной ингибиции» [5].

Следует отметить, что использованная экспериментальная модель, в целом, оказалась неудачной для изучения совместимости клонированных клеток, так как не было обнаружено признаков реакции иммунного отторжения аллогенного трансплантата. Причины последнего остаются неясны. Возможно, преадипоциты сами обладают слишком малой иммуногенностью или имел место очень короткий период наблюдения. Таким образом, проблемы иммуногенности клонированных клеток и роль митохондриальных антигенов в индукции «реакции хозяин против трансплантата» требует дальнейшего изучения.



Изучение иммунологической совместимости клона и клетки – донора ядра

ЛИТЕРАТУРА:

1. Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature 1981; 290: 457–65.
2. Ingman M., Gyllensten U. mtDB: Human Mitochondrial Genome Database, a resource for population genetics and medical sciences. Nuc. Ac. Res. 2006; 34: 749–51.
3. Tomii R., Kurome M., Ochiai T. et al. Production of cloned pig by nuclear transfer of preadipocytes established from adult mature adipocytes, Cloning Stem Cells 2005; 7(4): 279–88.
4. Yagi K., Kondo D., Okazaki Y., Kano K. A novel preadipocyte cell line established from mouse adult mature adipocytes. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004; 321: 967–74.
5. Петров Р.В., Швец В.Н. Взаимодействие стволовых кроветворных клеток с лимфоцитами. Проблемы гематологии и переливания крови 1973; 18(10): 48–55.

Подготовил В.С. Сергеев
по материалам Biochem. Biophys. Res. Commun. 2006; 344(2): 455–6