



Σερ John Gurdon

Ψάχνουμε τη «μοριακή συνταγή» των βλαστοκυττάρων

Ο άνθρωπος που πρώτος κλωνοποίησε βάτραχο - πριν από μισό αιώνα και πλέον - συνεχίζει να αναζητεί με την ίδια ερευνητική ζέση τα μυστικά του επαναπρογραμματισμού των κυττάρων, του «ιερού δικοποτήρου» της αναγεννητικής ιατρικής

ΤΗΣ ΙΩΑΝΝΑΣ ΣΟΥΦΛΕΡΗ

Στο γραφείο του σερ John Gurdon στο Πανεπιστήμιο του Κέμπριτζ υπάρχει σε κορνίζα μια αναφορά προόδου γραμμένη από τον πρώτο δάσκαλό του της Βιολογίας στο φημισμένο κολέγιο Eton. Ο έκπληκτος αναγνώστης διαβάζει: «Πιστεύω ότι του Gurdon του περνά η ιδέα να γίνει επιστήμονας. Με βάση τα υπάρχοντα δεδομένα, αυτό είναι άκρας γελοίο! Αν δεν μπορεί να μάθει απλά βιολογικά δεδομένα, δεν μπορεί να έχει καμία πιθανότητα να κάνει δουλειά ειδικού και θα είναι καθαρό λάσιο χρόνου τόσο για τον ίδιο όσο και για αυτούς που θα πρέπει να τον διδάξουν».

Διερωτάται κανείς τι θα έλεγε ο «διορατικός» καθηγητής Βιολογίας του Eton αν μπορούσε να δει σήμερα τον πρώην μαθητή του. Ο σερ John Gurdon όχι μόνο φέρει έναν τίτλο ευγενείας που του απονεμήθηκε από τη βασίλισσα της Αγγλίας ως αναγνώριση του επιστημονικού έργου του αλλά και έχει χάρισει το όνομά του σε ένα ερευνητικό ίδρυμα βιολογίας (Gurdon Institute) του φημισμένου πανεπιστημίου που υπηρετεί εδώ και τέσσερις δεκαετίες. Παρά το πλήθος των διακρίσεων, ο βρετανός επιστήμονας δεν φαίνεται να επαναπαύεται στις δάφνες του και παραμένει εξαιρετικά δραστήριος ερευνητικά και διδακτικά. Διδακτικής φύσεως ήταν και οι λόγοι που τον έφεραν πρόσφατα στην Αθήνα. Ανταποκρινόμενος στην πρόσκληση του Ιδρύματος Μποδοσάκη, ο σερ John Gurdon βρέθηκε για λίγες ημέρες στη Βραυρώνα προκειμένου να διδάξει στο ετήσιο Σεμινάριο Βιολογίας και Ιατρικής που διοργανώνεται από το Ίδρυμα για έναν μικρό αριθμό εκλεκτών μεταπτυχιακών φοιτητών. Το «ΒΗΜΑScience» δεν έχασε την ευκαιρία να συνομιλήσει με τον κορυφαίο επιστήμονα.

– Ποια είναι τα σημερινά ερευνητικά ενδιαφέροντά σας;

«Διερευνούμε τους μηχανισμούς του πυρηνικού επαναπρογραμματισμού (nuclear reprogramming), του φαινομένου που επιτρέπει σε έναν πυρήνα σωματικού κυττάρου να αλλάξει πρόγραμμα και να εξειδικεύεται από το ωάριο για τη δημιουργία ενός εμβρύου».

– Ψάχνετε, δηλαδή, να εξηγήσετε πώς προέκυψε η Ντόλι, το πρόβατο

που υπήρξε το πρώτο κλωνοποιημένο θηλαστικό, αλλά και τα υπόλοιπα κλωνοποιημένα ζώα;

«Ακριβώς! Η δημιουργία των κλώνων περιλαμβάνει την εισαγωγή ενός πυρήνα από κάποιο σωματικό κύτταρο σε ένα ωάριο από το οποίο έχει αφαιρεθεί ο δικός του πυρήνας. Ο πυρήνας του σωματικού κυττάρου είναι προγραμματισμένος να εκφράζει τα γονίδια που απαιτούνται για την καλή λειτουργία του ιστού από τον οποίο προ-



έρχεται (συνήθως δέρμα, λόγω εύκολης πρόσβασης). Υπό την επίδραση όμως του νέου περιβάλλοντος, του κυτταροπλάσματος δηλαδή του ωαρίου, ο πυρήνας αυτός εκφράζει γονίδια τα οποία επιτρέπουν τη δημιουργία ενός ολόκληρου εμβρύου.

Το ερώτημα λοιπόν που θέσαμε στον εαυτό μας συνοψίζεται στο εξής: Ποιοι παράγοντες του ωαρίου επιδρούν στον πυρήνα του σωματικού κυττάρου και πώς ώστε αυτός να επαναπρογραμματιστεί και να λειτουργήσει όπως λειτουργεί ο πυρήνας που προκύπτει από τη σύντηξη του ωαρίου και του σπερματοζωαρίου υπό κανονικές συνθήκες; Με άλλα λόγια, αναζητούμε τις προϋποθέσεις που πρέπει να ισχύσουν για να περάσει ένας πυρήνας από μια κατάσταση περιορισμένου δυναμικού (δημιουργία δέρματος) σε μια κατάσταση πολυδυναμίας (δημιουργία εμβρύου)».

– Ποιος είναι ο στόχος αυτής της ερευνητικής εργασίας, πέρα από το προφα-

νές της ανακάλυψης των μυστικών της ζωής;

«Όπως πιθανότατα γνωρίζετε, τα τελευταία χρόνια η επιστήμη έχει εναποθέσει πολλές ελπίδες στα βλαστικά κύτταρα, τα πολυδύναμα κύτταρα από τα οποία προκύπτουν κατά την εμβρυογένεση όλα τα όργανα και οι ιστοί μας. Ο πυρηνικός επαναπρογραμματισμός επιτρέπει τη δημιουργία των πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων από τα οποία στο μέλλον θα μπορούσαν να παραχθούν στο εργαστήριο όργανα και ιστοί για μεταμοσχεύσεις. Είναι προφανές ότι η πλήρης κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στη δημιουργία των βλαστικών κυττάρων και φυσικά στην περαιτέρω διαφοροποίησή τους σε ιστούς και όργανα αποτελεί προϋπόθεση για την ασφαλή κλινική αξιοποίηση των εν λόγω κυττάρων».

– Ο πειραματισμός ιαπωνών ερευνητών έχει καταδείξει ότι δεν είναι απαραίτητη η παρουσία του ωαρίου για να υπάρξει πυρηνικός επαναπρογραμματισμός σωματικών κυττάρων...

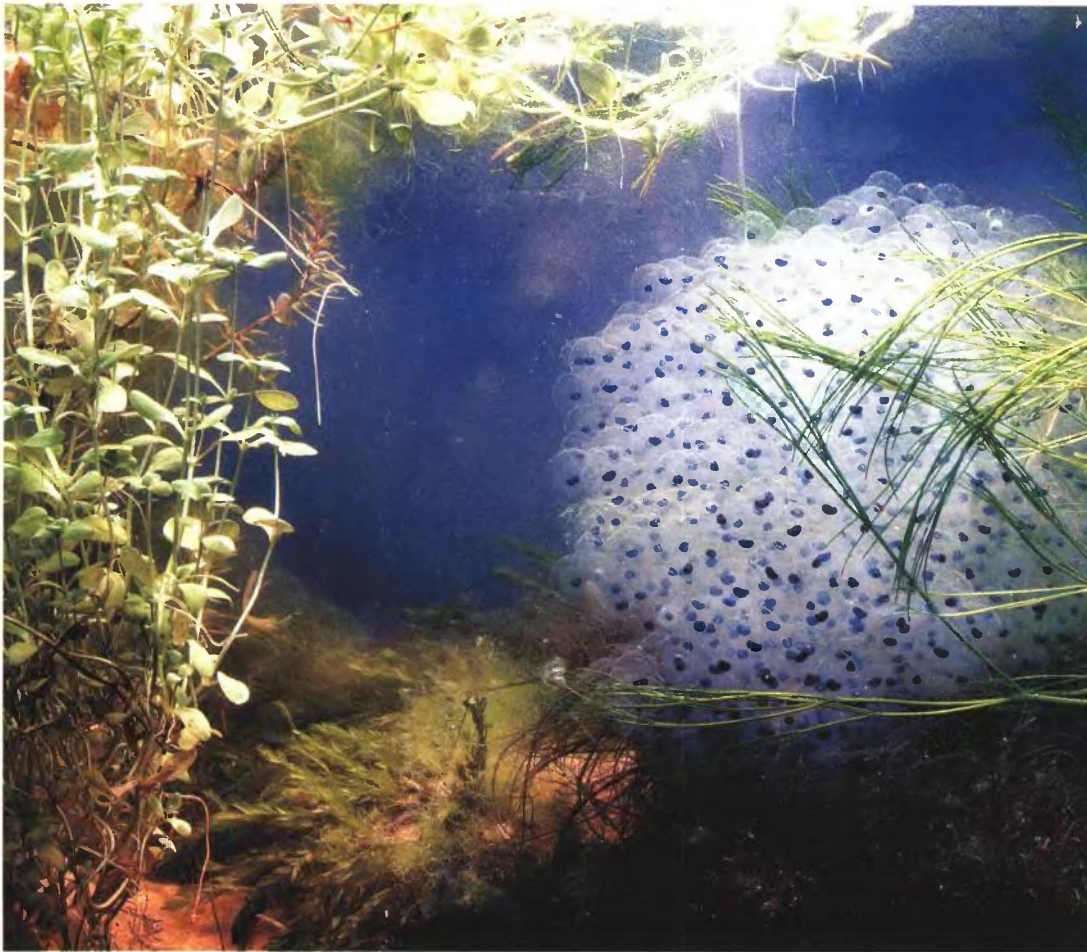
«Πράγματι, η ερευνητική ομάδα του Yamanaka και των συνεργατών του έχει πετύχει τη δημιουργία πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων χωρίς τη χρήση ωαρίου. Αλλά το σύστημα τους δεν επιτρέπει τη μελέτη του μηχανισμού μέσω του οποίου επιτυγχάνεται ο επαναπρογραμμα-

ΑΠΟ ΤΟΝ ΗΣΙΟΔΟ ΣΤΗΝ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΒΑΤΡΑΧΟΥ

Ο σερ John Gurdon γεννήθηκε στις 2 Οκτωβρίου 1933 στην Αγγλία. Φοίτησε στο ιστορικό κολέγιο Eton, όπου ακολουθώντας τη συμβουλή των δασκάλων του μελέτησε λατινικά και αρχαία ελληνικά. Αν και οι ευκατάστατοι γονείς του θα προτιμούσαν μια σταδιοδρομία στα οικονομικά ή στο στράτευμα, ο νεαρός Gurdon σπούδασε Ζωολογία στο Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης. Όταν οι προσπάθειές του να ασχοληθεί με την εντομολογία απέτυχαν (δεν έγινε δεκτός για διδακτορική διατριβή στο Τμήμα Εντομολογίας), μεταπήδησε στην εμβρυολογία. Η επιτυχία ήρθε γρήγορα: ο Gurdon ήταν ακόμη μεταπτυχιακός φοιτητής όταν πραγματοποίησε την πρώτη κλωνοποίηση σπονδυλόζωου (και ειδικότερα βατράχου), πράγμα το οποίο εθεωρείτο αδύνατο από κορυφαίους επιστήμονες του πεδίου που είχαν προσπαθήσει ανεπιτυχώς να κάνουν το ίδιο. Η κλωνοποίηση δεν ήταν αυτοσκοπός: ήταν το μέσον για να απαντηθεί ένα θεμελιώδες ερώτημα της βιολογίας το

οποίο συνοψίζεται ως εξής: «Τα κύτταρα ενός οργανισμού διαφέρουν μεταξύ τους τόσο στη μορφολογία όσο και στις λειτουργίες που επιτελούν. Οι διαφορές τους οφείλονται στο γεγονός ότι περιέχουν διαφορετικό DNA ή στο γεγονός ότι ενώ διαθέτουν το ίδιο DNA χρησιμοποιούν διαφορετικό τμήμα του;». Η δυνατότητα κλωνοποίησης (και ειδικότερα δημιουργίας γυρίνων έπεται από εισαγωγή σε αποπυρηνωμένο ωάριο βατράχου ενός πυρήνα που είχε προέλθει από κύτταρα εντερικού επιθηλίου βατράχου) έδειξε στον νεαρό Gurdon ότι «κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης ενός οργανισμού από τα πρώτα κύτταρα που είναι ταυτόσημα δημιουργούνται όλα τα άλλα. Για τη διαδικασία αυτή, η οποία ονομάζεται διαφοροποίηση, δεν απαιτείται απώλεια DNA αλλά επιλεκτική χρησιμοποίηση συγκεκριμένων τμημάτων του», όπως είχε σημειώσει σε παλαιότερη συνέντευξή του στο «Βήμα» (<http://www.tovima.gr/relatedarticles/article/?>

[aid=136632&wordsinarticle=Gurdon](http://www.tovima.gr/relatedarticles/article/?aid=136632&wordsinarticle=Gurdon)). Ο πειραματισμός του Gurdon έθεσε τις βάσεις της σύγχρονης αναπτυξιακής βιολογίας, πεδίο το οποίο ο βρετανός επιστήμονας συνεχίζει να υπηρετεί. Όσο για τη σκληρή μελέτη των λατινικών και των αρχαίων ελληνικών της νιότης του, φαίνεται πως δεν πήγε καθόλου χαμένη. Αρκεί κανείς να διαβάσει τις εργασίες του για να αντιληφθεί την ικανότητά του στον γρηπτό λόγο, ενώ δεν παραλείπει να διανθίζει τις ομιλίες του με αποσπάσματα από την ελληνική γραμματεία. Για την περίπτωση του Σεμιναρίου Βιολογίας και Ιατρικής του Ιδρύματος Μποδοσάκη επέλεξε ένα απόσπασμα από τη Θεογονία του Ησίοδου όπου η περιγραφή του μαρτυρίου του Προμηθέα καταδεικνύει τη γνώση των αρχαίων Ελλήνων για τις αναγεννητικές ιδιότητες του ήπατος. Μεταφράζοντάς το από το αρχαίο κείμενο ο Gurdon εισήγαγε τα δικά του ερευνητικά ευρήματα που προαναγγέλλουν την αναγεννητική ιατρική!



Αβγά βατράχου επέλεξε για τον πειραματισμό του ο σερ John Curdon καθώς το μεγάλο μέγεθός τους παρέχει άφθονο υλικό για μελέτη

τισμός. Τα ποσοστά επαναπρογραμματισμού που επιτυγχάνουν οι ιάπωνες συνάδελφοί μας μέσω μιας διαδικασίας που αξιοποιεί ιούς για την υπερέκφραση γονιδίων και διαρκεί αρκετές εβδομάδες είναι της τάξεως του ενός κυττάρου ανά 10.000. Με δεδομένο ότι δεν υπάρχει κανένας τρόπος να γνωρίζει κανείς εκ των προτέρων ποιο από τα 10.000 κύτταρα θα επαναπρογραμματιστεί, αντιλαμβάνεστε ότι είναι αδύνατον να αξιοποιηθεί το εν λόγω σύστημα για τη μελέτη των βημάτων που προηγούνται του πυρηνικού επαναπρογραμματισμού και που μοιραία οδηγούν σε αυτόν».

– Ποιο είναι το δικό σας πειραματικό σύστημα και τι ποσοστά επιτυχίας έχετε;

«Πραγματοποιούμε δύο τύπους πειραμάτων. Ο πρώτος περιλαμβάνει την εισαγωγή των πυρήνων σε ώριμα ωάρια και ο δεύτερος σε κύτταρα πρόδρομα των ωαρίων. Τα γενικά ποσοστά επιτυχίας αγγίζουν το 30%. Στην περίπτωση δε της αξιοποίησης των πρόδρομων ωαρίων παρατηρούμε έκφραση των γονιδίων της πολιδυναμίας (πράγμα που αποδεικνύει τον επαναπρογραμματισμό) στο 100% των περιπτώσεων. Επιπροσθέτως, η διαδικασία είναι πολύ σύντομη. Μέσα σε περίπου 24 ώρες διαθέτουμε επαναπρογραμματισμένους πυρήνες. Να σημειώ-

σω εδώ ότι χρησιμοποιούμε ωάρια αμφιβίων, τα οποία είναι άφθονα και τεράστια σε σχέση με τα ανθρώπινα, και πως οι πυρήνες σωματικών κυττάρων προέρχονται από θηλαστικά, του ανθρώπου συμπεριλαμβανομένου. Με άλλα λόγια, έχουμε ένα πειραματικό σύστημα το οποίο μας παρέχει σε μικρό χρονικό διάστημα άφθονο υλικό προς μελέτη. Σε αυτό το υλικό αναζητούμε τα μοριακά συστατικά του ωαρίου τα οποία καθιστούν εφικτό τον πυρηνικό επαναπρογραμματισμό».

– Ποια είναι τα αποτελέσματά σας ως σήμερα;

«Αρχικά περιγράψαμε τη διαδοχή των μεταβολών που λαμβάνουν χώρα στον πυρήνα ώστε να ενεργοποιηθούν τελικά τα γονίδια της πολιδυναμίας. Έτσι έχουμε εντοπίσει τρία βασικά βήματα-στάδια. Το πρώτο είναι η απομεθυλίωση του DNA. Γνωρίζετε ότι ένας τρόπος να απενεργοποιηθούν, να σιωπήσουν, τα γονίδια είναι η προσθήκη ομάδων μεθυλίου σε συγκεκριμένες περιοχές τους. Έτσι, π.χ., ο πυρήνας ενός δερματικού κυττάρου είναι πιθανόν να έχει μεθυλιωμένες περιοχές εκεί όπου εδράζουν γονίδια που αξιοποιούνται για τη λειτουργία του ήπατος. Προκειμένου να είναι εκ νέου διαθέσιμα τα γονίδια που είχαν απενεργοποιηθεί, πράγμα απαραίτητο για τη δημιουργία εμβρύου, έ-

ιναι ανάγκη να απομακρυνθούν οι μεθυλομάδες που δρουν ανασταλτικά στην έκφρασή τους και αυτό ακριβώς παρατηρούμε. Το δεύτερο βήμα το οποίο μπορεί και να συμπίπτει χρονικά με το πρώτο είναι η αποσυμπύκνωση (decondensation), η εκπτώχωση του DNA, το “ξετύλιγμα” δηλαδή του μορίου του DNA από το “κουβάρι” των ιστινών, των πρωτεϊνών που το συνοδεύουν. Μόνο όταν αυτά τα δύο πρώτα βήματα έχουν ολοκληρωθεί, πράγμα το οποίο στο δικό μας σύστημα διαρκεί περί τις δύο ώρες, αρχίζει το τρίτο βήμα, η μεταγραφή των νέων γονιδίων. Πρόκειται δε για γονίδια τα οποία λειτουργούν ως μοριακοί διακόπτες ενεργοποιώντας την περαιτέρω ενεργοποίηση όλων των γονιδίων που απαιτούνται για τη δημιουργία ενός εμβρύου. Να προσθέσω εδώ ότι τα επόμενα δύο βήματα είναι η κυτταρική διαίρεση και στη συνέχεια η κυτταρική διαφοροποίηση, αλλά εμείς έχουμε εστιάσει το ενδιαφέρον μας στα τρία πρώτα, καθώς σε αυτά κρύβεται το μυστικό του πυρηνικού επαναπρογραμματισμού».

– Τι κάνατε, λοιπόν, για να διεσώσετε στα μυστικά του επαναπρογραμματισμού;

«Σχεδιάσαμε πειράματα βιοχημείας τα οποία θα μας επέτρεπαν να αποκαλύψουμε τα επί μέρους στοι-

χεία του μηχανισμού μέσω του οποίου επιτυγχάνεται ο επαναπρογραμματισμός. Ειδικότερα πραγματοποιήσαμε ένα είδος ανάλυσης (ονομάζεται CHIP analysis) το οποίο επιτρέπει τον προσδιορισμό των πρωτεϊνικών μορίων τα οποία κάθονται πάνω σε ένα γονίδιο. Αντιλαμβάνεστε ότι με τη λέξη “κάθονται” εννοούμε ότι σχετίζονται, αλληλεπιδρούν. Με άλλα λόγια, μπορεί κανείς μέσω αυτού του πειραματισμού να εντοπίσει με ποια ένζυμα αλληλεπιδρά το DNA σε μια δεδομένη στιγμή και από αυτό εξάγονται πολύ χρήσιμα συμπεράσματα».

– Και ποια ήταν τα ευρήματα και τα συμπεράσματά σας από την ανάλυση της συσχέτισης του DNA και των πρωτεϊνικών γεπτόνων του;

«Σε ό,τι αφορά την απομεθυλίωση, δεν γνωρίζουμε το ένζυμο που την πραγματοποιεί. Διάφορες ερευνητικές ομάδες ασχολούνται με το θέμα αυτό, αλλά προς το παρόν δεν έχει σταθεί δυνατή η αποκάλυψη αυτού του ενζύμου. Κανείς λοιπόν δεν γνωρίζει ακόμη πώς γίνεται η απομεθυλίωση του DNA σε αυτό το πρώιμο στάδιο. Για το δεύτερο βήμα γνωρίζουμε περισσότερα. Προκειμένου να επιτευχθεί η εκπτώχωση του DNA λαμβάνουν χώρα αλλαγές στις ιστόνες, τις πρωτεΐνες οι οποίες καθιστούν δυνατή τη συμπίκνωση του DNA. Οι αλλαγές αυτές λαμβάνουν

χώρα πολύ γρήγορα μετά την εισαγωγή του πυρήνα στο ωάριο και δείχνουν να αποτελούν βασικό μέρος του μηχανισμού επαναπρογραμματισμού. Η αποσυμπίεση επιτυγχάνεται μέσω της πρωτεΐνης η οποία ονομάζεται oocyte-type linker-histone, η οποία δεν υπάρχει σε πυρήνες σωματικών κυττάρων. Μόνο όταν η εν λόγω ιστόνη αντικαταστήσει εκείνες των σωματικών κυττάρων σε συγκεκριμένες θέσεις του DNA, καθίσταται δυνατή η μετάβαση στο επόμενο στάδιο, της μεταγραφής των γονιδίων. Για να αρχίσει δε η έκφραση των γονιδίων της πολιδυναμίας απαιτούνται πολύ συγκεκριμένα μόρια, μεταξύ αυτών μια ιστόνη η οποία ενισχύει ισχυρά τη διαδικασία της μεταγραφής και φυσικά η RNA-πολυμεράση, η οποία μεταγράφει το DNA σε RNA».

– Σε ποιο στάδιο των ερευνών σας για τη διαλεύκανση του μηχανισμού επαναπρογραμματισμού θεωρείτε ότι βρίσκεστε;

«Ω! Είναι βέβαιον ότι υπάρχουν ακόμη πολλά κομμάτια του παζλ που λείπουν. Από το ένζυμο που προκαλεί την απομεθυλίωση του DNA ως τον εντοπισμό όλων των μορίων τα οποία απαιτούνται για την αποσυμπύκνωση και την έναρξη της μεταγραφής. Έχουμε ακόμη πολλά δουλειά να κάνουμε».

– Ας υποθέσουμε ότι έχετε ολοκληρώσει το παζλ. Ποια θα ήταν οι πρακτικές εφαρμογές των ευρημάτων σας;

«Θα μπορούσαμε πιθανόν να απεξαρτηθούμε από την ανάγκη μας για ωάρια και να χρησιμοποιούμε τα κατάλληλα μοριακά συστατικά για να επιτύχουμε την παραγωγή βλαστικών κυττάρων».

– Ποιες βλέπετε να είναι οι κλινικές εφαρμογές των βλαστικών κυττάρων;

«Εκτιμώ ότι οι πρώτες κλινικές εφαρμογές θα αφορούν όργανα ή ιστούς που δεν διαθέτουν πολλά κύτταρα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το ανθρώπινο μάτι. Αρκετά 10.000 φωτοϋποδοχείς για να μπορεί κανείς να βλέπει. Αντίθετα, η δημιουργία στο εργαστήριο καρδιάς ή εγκεφάλου, οργάνων με εκατομμύρια κύτταρα, θα είναι περισσότερο δύσκολο και θα απαιτήσει περισσότερο χρόνο».

– Ολοκληρώσατε τη διάλεξή σας στο Σεμινάριο Μποδοσάκη με δύο ερωτήματα προς τους φοιτητές που είχαν να κάνουν με βιοηθικά ζητήματα. Ποια είναι η άποψή σας σχετικά με τη δημιουργία εμβρύων για ερευνητικούς και πιθανόν αργότερα κλινικούς σκοπούς;

«Εκτιμώ ότι ένα έμβρυο έχει τη δυνατότητα να εξελιχθεί σε άνθρωπο ομόνο με την προϋπόθεση ότι θα εμβιωθεί στη μήτρα της μητέρας του. Τα έμβρυα που τώρα δημιουργούνται για ερευνητικούς σκοπούς και τα οποία πιθανότατα στο μέλλον να αξιοποιηθούν για κλινικές εφαρμογές δεν μπορούν να θεωρηθούν ανθρώπινα όντα καθώς ποτέ δεν εμφυτεύονται. Είναι αντίστοιχο με αυτό που συμβαίνει ήδη στις κλινικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής σε όλον τον κόσμο...». soufleri@dolnet.gr