

УДК 576.363

Самоподдержание СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

В.В. Терских*, Е.А. Воротеяк, А.В. Васильев

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26

*E-mail: terskikh@bk.ru

РЕФЕРАТ Одним из характерных признаков взрослых стволовых клеток является асимметричное деление, благодаря которому одна дочерняя клетка сохраняет статус стволовых клеток, а другая оказывается комитированной к дифференциации. В последнее время появляются данные, позволяющие заключить, что асимметричное деление имеет еще один важный аспект – обеспечивает самоподдержание стволовых клеток.

Ключевые слова: асимметричное деление, стволовые клетки, старение стволовых клеток, самоподдержание стволовых клеток, агресомы, нейробласты дрозофилы.

Список сокращений: гемопоэтические стволовые клетки (ГСК), мутантный белок хантингтин Htt, опухолевый супрессор Lgl (lethal giant larvae), стволовые клетки (СК), опухолевый супрессор Discs-large (Dlg), Partitioning defective protein (Par).

ВВЕДЕНИЕ

Центральным аспектом биологии стволовых клеток является асимметричное деление. Достаточно давно было предположено, что именно с помощью асимметричного деления решаются сразу две проблемы: одна дочерняя клетка сохраняет свойства стволовой и продолжает самоподдерживаться, тогда как другая приобретает способность к дифференциации [1, 2, 3, 4]. Ниши стволовых клеток создают асимметричное микроокружение и контролируют локальные процессы пролиферации и дифференциации стволовых клеток путем интеграции сигналов, поступающих от соседних клеток, от организма и от внешней среды [5]. Ниши создают систему сигналов, направленную на поддержание стволовых клеток, что достаточно детально было изучено на примере герминативных стволовых клеток *Drosophila*. Например, для герминативных стволовых клеток яичника дрозофилы было показано, как сигнал стромальных клеток (Dpp) регулирует самоподдержание стволовых клеток и оказывает влияние на судьбу дочерних клеток [6]. В процессе онтогенеза и при опухолевой трансформации стволовые клетки могут делиться как симметрично, так и асимметрично в зависимости от обстоятельств, в которых они находятся [2].

Асимметричное деление, наряду с межклеточными взаимодействиями, является универсальным механизмом формирования разнообразия клеток, и поэтому оно имеет исключительное значение в развитии многоклеточных организмов. Разнообразие клеточных типов может создаваться двумя основными путями [7]. Один путь заключается

в том, что сначала образуется большое число одинаковых клеток, которые в дальнейшем благодаря межклеточным взаимодействиям приобретают разные пути дифференциации. В другом случае, при асимметричном делении, дочерние клетки оказываются разными, когда в поляризованной материнской клетке в процессе митоза происходит сегрегация определяющих судьбу клеток детерминант только в одну дочернюю клетку. Такое распределение детерминант обеспечивает выбор одной дочерней клеткой определенного пути специализации, который отличается от специализации сестринской клетки.

Для успешного протекания асимметричного деления необходимо осуществление нескольких ключевых процессов.

1. Делящаяся клетка исходно должна быть поляризована. Поляризация может включать различие в структуре отдельных участков клеточной мембраны и неравномерное распределение каких-либо детерминант в кортексе и цитоплазме клетки.
2. Митотическое веретено ориентируется параллельно оси поляризации клетки.
3. Образующееся митотическое веретено также асимметрично. Это выражается в том, что две центросомы, его образующие, оказываются неодинаковыми.
4. В результате деления детерминанты, определяющие судьбу дочерних клеток, распределяются асимметрично между дочерними клетками.

Оба пути дифференциации клеток и стратегии развития организмов можно видеть у близкородственных нематод [8]. У *Caenorhabditis elegans* и *Acrobeloides nanus* раннее

развитие начинается с асимметричных митозов, и образовавшиеся клетки имеют строго детерминированную судьбу: из 949 митозов, которые происходят при развитии *C. elegans*, 807 являются асимметричными. А у нематоды *Enoplos brevis* вначале образуются одинаковые бластомеры, которые дифференцируются уже в дальнейшем развитии в результате асимметричных делений. Асимметричное деление является консервативным механизмом, обеспечивающим возможность развития дочерних клеток в разных направлениях, поэтому проблема асимметричного деления имеет фундаментальное значение для биологии развития, и в частности для биологии стволовых клеток [9, 7, 10]. Асимметричное деление обнаружено в разных группах организмов: у бактерий [11, 12], дрожжей [7], вольвокса [13], нематод [14], у дрозофилы [15], у позвоночных [16, 17] и растений. Несколько объектов хорошо изучены и считаются классическими. К их числу относятся делящиеся нейробласты дрозофилы [15] и деления первых бластомеров у *Caenorhabditis elegans* [14, 18]. Предпосылки для асимметричного деления клеток, по-видимому, существуют у всех организмов, но их реализация зависит от конкретных условий, в которых находится клетка. Сейчас можно с достаточной уверенностью сказать, что в клетке есть две программы: для симметричного и асимметричного деления. В процессе онтогенеза и при опухолевой трансформации стволовые клетки могут делиться как симметрично, так и асимметрично в зависимости от обстоятельств, в которых они находятся [2]. Например, в эмбриональном развитии мышцы асимметричное деление направлено на регулирование числа нейтральных стволовых клеток. На стадии 12–16 сут гестации в вентрикулярной зоне мозга обнаруживается большое количество апоптотических клеток и одновременно повышается экспрессия церамида. Показано [19], что в это время нейральные прогениторные клетки делятся таким образом, что в них происходит асимметричное распределение нестина и PAR-4 (prostate apoptosis response 4). В результате такого деления одна дочерняя клетка оказывается нестин⁻ PAR-4⁺, в которой повышенное содержание церамида вызывает апоптоз, а другая клетка, не экспрессирующая PAR-4, была нестин-положительной и не подвергалась апоптозу. Кроме того, асимметричное деление функционально связано с апоптозом, поскольку некоторые гены, вовлеченные в регуляцию асимметричного деления, контролируют сигнальные пути, ответственные за апоптоз [20]. Переход дочерних клеток в апоптоз, так же как и в дифференцированное состояние, может быть использован в организме для поддержания клеточного гомеостаза. У дрозофилы мутации по некоторым генам в гомозиготном состоянии вызывают нарушение апикально-базальной поляризации клеток и дезорганизацию структуры эпителия, и поэтому такие гены были обозначены как гены клеточной поляризации. Установление и поддержание апикально-базальной поляризации клеток имеет исключительно большое значение для их функционирования и протекания асимметричного митоза. Поляризация клеток контролируется сложным взаимодействием большого числа генов [21, 22]. Потеря клеточной поляризации и связанное с этим нарушение асимметричного митоза могут повлиять на нарушение пролиферативного контроля, что в свою очередь способно вызвать цепь событий, при-

водящих к развитию опухоли. На нейробластах *Drosophila* было показано, что гены, от которых зависит асимметричный митоз, могут быть опухолевыми супрессорами, а мутации этих генов способны вызывать неопластический рост [23, 24].

АСИММЕТРИЧНОЕ ДЕЛЕНИЕ НЕЙРОБЛАСТОВ ДРОЗОФИЛЫ

Одной из наиболее изученных моделей асимметричного деления являются нейральные прогениторные клетки (нейробласты) *Drosophila*, которые дают начало большей части клеток центральной нервной системы. Нейробласт проходит асимметричное деление и образует две дочерние клетки разного размера. Большая по размеру клетка сохраняет свойства нейробласта и может несколько раз асимметрично разделиться, тогда как меньшая дочерняя клетка, называемая материнской клеткой ганглия, комитирована к дифференциации и делится только один раз, образуя два нейрона или две клетки глии. В поляризации клетки участвует большое число белковых комплексов [25, 26]. Апикально-базальная поляризация нейробласта происходит в позднем периоде G₂, когда набор белков, получивший название Par комплекс, локализуется в апикальной части клетки. Для успешного протекания митоза необходима правильная локализация белковых комплексов в апикальном кортексе нейробласта [24]. По-видимому, сегрегация базолатеральных и апикальных белковых комплексов основана на их антагонизме, что и вызывает их полярное распределение в клетке.

В нейробласте дрозофилы апикально расположенные белки образуют два комплекса, объединенных адапторным белком Inscuteable. Эволюционно консервативный комплекс Par включает Bazooka/Par3, aPKC, и Par6 и является первым комплексом белков, который локализуется в клеточном кортексе нейробласта и первоначально вовлечен в вытеснение из апикального кортекса белков, которые локализируются в базальной части клетки. Этот белковый комплекс регулирует активность опухолевого супрессора Lgl (lethal giant larvae), который также необходим для правильного таргетинга базальных белковых комплексов. Lgl напрямую ассоциирован с Par6 и в этом комплексе aPKC, по-видимому, инактивирует Lgl путем его фосфорилирования. Благодаря активности нефосфорилированного Lgl белок Miranda рекрутируется в базальный кортекс.

Второй апикальный белковый комплекс содержит белки, связанные с сигнальным путем гетеротримерного G-белка, и включает Gai, Partner of Inscuteable (Pins) и Locomotion defects (Loco). Комплекс Gai-Pins-Loco опосредует образование митотического веретена и правильное его положение (параллельно апикально-базальной оси) по отношению к плоскости деления нейробласта.

Митотическое веретено нейробласта асимметрично, длина его больше в апикальной части, в результате чего оно сдвинуто в сторону базального кортекса. Это обеспечивает, как указано выше, образование клеток разного размера. Центросомы в делящемся нейробласте *Drosophila* оказываются неравнозначными, большая по размеру материнская центросома окружена более экстенсивными астральными микротрубочками и остается в нейробласте в последующих делениях.

Благодаря двум локализованным в кортексе опухолевым супрессорам (Dlg) Discs large и (Lgl) Lethal (2) giant larvae апикальный Par комплекс обеспечивает базальную локализацию РНК-связывающего белка Staufen, транскрипционного фактора Prospero (Pros), белка Numb, ассоциирующегося с плазматической мембраной, и адапторных белков Miranda (Mira) и Partner of Numb (Pon) [27, 28]. Опухолевый супрессор Lgl, являющийся цитоскелетным белком, непосредственно связывается с немышечным миозином II (Zipper), подавляет его активность и предотвращает связывание с апикальным кортексом. Lgl равномерно распределен по всему кортексу клетки. Однако в области апикального кортекса аРКС фосфорилирует и инактивирует Lgl, высвобождая миозин II. Активированный миозин II может формировать филаменты и вытеснять белок Miranda. Напротив, в базальном кортексе Lgl активен, поскольку здесь нет аРКС, и он подавляет активность миозина II, что позволяет белку Miranda локализоваться в базальном кортексе [29]. В противоположность миозину II, который вытесняет детерминанты из апикального кортекса, миозин VI (Jaguar) обеспечивает базальную локализацию и сегрегацию Mira/Pros посредством везикулярного транспорта [30].

Белок Pins может ассоциироваться с белком митотического аппарата Mud (mushroom body defective), ассоциированного с centrosомой и апикальным кортексом, который необходим для правильной ориентации веретена. Dlg и белок Khc-73 (Kinesin-73), находящиеся на плюс-концах астральных микротрубочек, также необходимы для правильного положения веретена. Актиномиозиновый цитоскелет играет важную роль в сборке этих апикальных и базальных белковых комплексов. По-видимому, филаменты актина, а не микротрубочки, участвуют в связывании белков с кортексом. Миозины *Drosophila* II (Zipper) и VI (Jaguar) присутствуют во взаимоисключающих комплексах с Miranda и необходимы для правильной локализации детерминант, определяющих судьбу клетки. Асимметричная локализация Numb регулируется каскадом фосфорилирования, который запускает активированная Aurora-A. Эта киназа фосфорилирует Par-6, регуляторную субъединицу аРКС, что вызывает активацию аРКС. Это, в свою очередь, приводит к фосфорилированию Lgl, который связывает и подавляет аРКС в интерфазе. Фосфорилированный Lgl освобождается от аРКС и позволяет белку Vazooka занять свое место в белковом комплексе. В результате этого меняется специфичность субстрата, и аРКС может фосфорилировать Numb. В фосфорилированном виде Numb локализуется асимметрично в виде серпа в базальной части клетки [31]. Белки базальной части нейробласта образуют два комплекса. Один из этих комплексов содержит адапторный белок Miranda, который ассоциируется с транскрипционным репрессором Brat (Brain tumor) и способствует его асимметричной локализации, гомеодоменный транскрипционный фактор Prospero и белок Staufen, связывающий двунигетивную РНК, который сам может связывать транскрипты *prospero*. Второй комплекс содержит Numb, антагонист белка Notch, и связывающийся с ним Pon (Partner of Numb). После сегрегации в материнскую клетку ганглия Miranda деградирует, что позволяет Prospero транслоцироваться в ядро и активировать гены, вовлеченные в дифференциацию, и репрессировать гены,

вовлеченные в процессы пролиферации. Митотическое веретено принимает активное участие в процессе асимметричного деления. На ряде объектов было показано, что оно образовано структурно и функционально различающимися centrosомами. Митотическое веретено также оказывается асимметричным, поскольку оно образовано структурно и функционально различающимися centrosомами.

Для дрожжей *S. cerevisiae* была предложена «модель компаса» [32, 33], которая состоит в том, что митотическое веретено, подобно магнитной стрелке компаса, располагается в клетке не пассивно, а реагирует на сигналы кортикального слоя цитоплазмы. При почковании дочерней клетки белок Kar9, необходимый для правильной ориентации веретена, располагается на полюсе, который ориентирован в сторону дочерней клетки. Затем Kar9 переходит от полюса на микротрубочки, которые направляются в дочернюю клетку к определенным участкам кортикального слоя цитоплазмы. Эта модель предполагает, что асимметрия веретена необходима для того, чтобы оно могло реагировать на сигналы кортекса и занимать правильное положение в делящейся клетке. В нейробластах дрозофилы [34] и эмбриональном кортексе мозга мыши [35] асимметричное деление клетки сопровождается активным движением митотического веретена. Однако в герминативных стволовых клетках дрозофилы уже в интерфазе centrosомы занимают окончательную позицию, и протекание асимметричного деления происходит при постоянном положении веретена [36].

АССИМЕТРИЧНОЕ ДЕЛЕНИЕ У ВЫСШИХ ОРГАНИЗМОВ

У высших организмов асимметричное деление изучено недостаточно. Отдельные данные указывают на то, что эти деления имеют место. Во многих эпителиальных тканях обнаруживаются как симметричные, так и асимметричные деления клеток. Например, при симметричных митозах обе клетки оказываются морфологически одинаковыми и располагаются на базальной мембране, а при асимметричном митозе дочерние клетки морфологически различаются, причем одна из них сразу переходит в супрабазальный слой эпителия. Это позволяет предположить, что при симметричном и асимметричном делениях могут быть разные механизмы миграции клеток в супрабазальный слой. В базальных клетках эпителия пищевода человека описано асимметричное деление [37], при котором митотическое веретено располагается перпендикулярно базальной мембране, и поэтому одна дочерняя клетка сохраняет контакт с базальной мембраной, а другая оказывается в супрабазальном слое эпителия. Авторы предполагают, что таким способом делятся стволовые клетки. В эпидермисе мыши на 12.5-й день эмбрионального развития большая часть эпидермиса однослойна и подавляющее число клеточных делений осуществляется в плоскости эпителия, т.е. они симметричны, однако некоторые клетки делятся перпендикулярно плоскости базальной мембраны. По мере появления многослойного эпидермиса после 15.5-го дня гестации более 70 % клеток имеют вертикально расположенное веретено. Это может говорить о том, что стратификация эпидермиса в значительной мере происходит за счет асимметричных митозов [38]. В эпидермисе хвоста мыши около 30 % клеток базального слоя могут проходить асимметрич-

ное деление [39]. Лампрехт [40] показал, что в базальных клетках эпителия роговицы крысы встречаются как симметричные, так и асимметричные митозы.

Одиночные прогениторные гематопоэтические клетки, выделенные из фетальной печени человека, проходят асимметричные деления *in vitro* [41]. Это выразилось в том, что клетки CD34⁺ приблизительно в 30 % случаев давали начало двум дочерним клеткам с разным поведением. Одна клетка оставалась в состоянии покоя до 8 дней, тогда как другая начинала размножаться экспоненциально со временем удвоения, равным 12 ч. Еще чаще (приблизительно в 40 % случаев) асимметрично делились клетки CD34⁺CD38⁻. Вопрос относительно асимметричного деления стволовых клеток у млекопитающих остается пока недостаточно изученным, но некоторые косвенные данные позволяют предположить такую возможность. Стволовые клетки составляют от долей процента до нескольких процентов от всех тканевых клеток и во многих случаях их очень трудно идентифицировать *in situ*. Роль асимметричной сегрегации детерминант в клетках позвоночных практически не изучена, однако были обнаружены гомологи некоторых генов, обеспечивающих прохождение асимметричного митоза у дрозофилы. Эволюционно консервативный ген *numb* обнаружен у многих позвоночных животных [44, 45]. Асимметричные деления происходят в клетках церебрального кортекса хорька [42] и в стволовых клетках церебрального кортекса и нейробластах мыши [43], и для их реализации, так же как и в нейробластах дрозофилы, необходимо асимметричное распределение фактора Numb. Асимметричная локализация Numb обнаружена в делящихся сателлитных клетках мыши [46]. У дрозофилы функция Numb заключается в подавлении сигнализации Notch в процессе нейрогенеза. У позвоночных Numb выполняет те же функции, что и в нейробластах дрозофилы, и участвует в регуляции асимметричного деления клеток млекопитающих [45, 47, 48]. У позвоночных были обнаружены два гомолога Pins [49]. У крысы белку Pins соответствует AGS-3, который экспрессируется только в некоторых тканях. Другой гомолог Pins, LGN, экспрессируется во многих тканях у человека. В интерфазе этот белок находится в цитоплазме, а во время митоза он ассоциируется с полюсами веретена. Подавление экспрессии LGN нарушает организацию веретена и препятствует нормальному расхождению хромосом [50]. Функционирование Insc необходимо для правильной ориентации асимметричного митоза в прогениторных клетках сетчатки крысы [51]. Найдены также гомологи для Par-3, Par-6 и aPKC.

СТАРЕНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Вопрос о возрастных изменениях стволовых клеток по мере старения всего организма и тканей, в которых они локализованы, представляет большую важность для биологии стволовых клеток [52]. В быстро обновляющихся тканях (таких как кровь, эпидермис, эпителий кишечника) стволовые клетки составляют заметный компартмент и имеют большой пролиферативный потенциал. Гематопоэтические стволовые клетки мыши функционируют на протяжении жизни животного, а серийные трансплантации показали, что продолжительность жизни стволовых клеток может даже значительно превышать продолжительность жизни

организма. Во многих экспериментах было показано, что старые (aging) клетки костного мозга, так же как и молодые, способны восстанавливать гемопоэз у реципиентов после повторных трансплантаций [53, 54, 55]. После нескольких раундов трансплантации способность стволовых клеток спасать летально облученных животных снижается, однако следует отметить, что при этом может не истощаться пролиферативный потенциал стволовых клеток, но неблагоприятные факторы, связанные с техникой выделения и трансплантации стволовых клеток и облучения донорских ниш [56, 57], проявляют свое действие. Это позволяет предположить, что с возрастом организма в стволовых клетках не происходит существенное снижение пролиферативного потенциала. И тогда, естественно, возникает вопрос: стареют ли стволовые клетки? В настоящее время этот вопрос не может быть решен однозначно. Старение стволовых клеток может быть репликативным (в результате накопления ошибок при повторных пролиферативных циклах) и хронологическим и затрагивать разные аспекты поведения стволовых клеток. Хотя по способности восстанавливать кроветворение гематопоэтические стволовые клетки (ГСК) молодых и старых мышей были сходны, у старых животных было в 5 раз больше ГСК, чем у молодых, но они хуже находили ниши и встраивались в костный мозг облученных реципиентов. У молодых животных ГСК преимущественно были в состоянии покоя, тогда как у старых животных они чаще находились в пролиферативном цикле [58, 59]. Клональный анализ репопулирующих ГСК показал, что у стареющих животных снижается число лимфоидных (lymphoid-biased) ГСК, а число долгоживущих ГСК миелоидного ряда накапливается. Миелоидные ГСК молодых и старых животных ведут себя одинаково во всех отношениях. Это указывает на то, что старение не влияет на свойства индивидуальных СК, но сказывается на клональном составе ГСК. По-видимому, снижение уровня лимфоцитов в крови может быть показателем старения ГСК [60]. Росси с сотрудниками [61] показал, что с возрастом животного в стволовых клетках накапливаются эндогенные нарушения ДНК, что может быть причиной их старения и отразиться на функционировании СК и поддержании тканевого гомеостаза при стрессе. Поведение ГСК при старении организма может зависеть также от генетических факторов, что проявляется у мышей разных линий. Число ГСК у мышей линии DBA с возрастом почти не меняется, а число молодых ГСК даже снижается, тогда как в линии C57BL/6 оба показателя у старых животных существенно увеличены [62].

Есть основания считать, что возрастные изменения стволовых клеток являются обратимыми, поскольку на примере сателлитных клеток скелетной мышцы мыши было показано [63], что при гетерохронном парабиозе происходит омоложение сателлитных клеток старых животных. Возрастные изменения стволовых кроветворных клеток мышей также могут быть обратимыми [64]. Что касается герминативных стволовых клеток, то происходит явное старение ниши, в которой они находятся [65]. Эмбриональные стволовые клетки в условиях культивирования *in vitro*, по-видимому, не стареют [66]. У мыши в течение жизни не обнаружено заметного старения и снижения физиологических функций эпидермальных стволовых кле-

ток [67], что может быть связано с особой биологической значимостью эпидермиса как защитного барьера в жизни животных. Эти данные позволяют говорить о возрастных обратимых (эпигенетических) изменениях стволовых клеток при длительном сохранении их пролиферативного потенциала. В целом можно заключить, что число тканевых стволовых клеток и их функциональное состояние с возрастом организма могут меняться, но при этом стволовые клетки сохраняют способность к самоподдержанию. Одним из процессов, связанных со старением клеток, является образование внутриклеточных белковых включений. Правильное сворачивание (folding) вновь синтезированных белков в клетке требует участия различных белковых кофакторов, известных под именем молекулярных шаперонов. Эти молекулы распознают и связывают растущие цепи полипептидов и частично свернутые белки, чтобы обеспечить им нативную конформацию и предотвратить неправильное сворачивание (misfolding) и последующую агрегацию. Существует несколько семейств шаперонов, в т.ч. белков теплового шока. На протяжении клеточного цикла происходят постоянный синтез и деградация белков. Неправильно свернутые белки или белки, поврежденные в результате окислительного стресса или теплового шока, разрушаются в клетке в результате протеолиза, однако при некоторых условиях клетка оказывается неспособной деградировать неправильно свернутые и поврежденные белки [68], и они могут образовать микроагрегаты. У высших эукариот эти микроагрегаты накапливаются в агрегосомах, которые образуются в результате направленного транспорта микроагрегатов от периферии клетки к центросомам или центрам организации микротрубочек, где они окружаются промежуточными микрофиламентами [69]. Образование агрегосом представляет собой генерализованный ответ клетки на скопление агрегированных недеградированных белков. После включения в агрегосому белки уже не могут быть деградированы протеасомами. Накопление большого количества агрегосом («биологического мусора») рассматривается как одна из важных причин старения и гибели клеток [70, 71]. Накопление агрегосом может быть причиной нарушения функции и гибели постмитотических клеток, таких как нейроны или кардиомиоциты. Многие нейродегенеративные патологии, включая болезни Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона, характеризуются избирательной гибелью нейронов, связанной с накоплением агрегосом, образование которых является результатом ненормального процессинга мутантных неправильно свернутых или поврежденных белков убиквитин-протеасомной системой [72]. Например, мутантный белок хантингтин (Htt, Huntingtin), характерный для болезни Хантингтона, содержит увеличенный полиглутаминовый фрагмент, что способствует образованию агрегосом. Arrasate et al. [73] показали, что при увеличении в клетках количества диффузного Htt наступает гибель определенных нейронов. Объединение микроагрегосом с формированием тел включения увеличивает жизнеспособность нейронов и защищает их от токсического действия Htt. Подобным же образом стареющие клетки накапливают окисленные белки,

например карбонилированные белки, которые образуют высокомолекулярные агрегаты, не подверженные деградации [74]. Скопление агрегосом около центросом до определенной степени не влияет на правильную организацию веретена и течение митоза, но при большом избытке агрегосом начинается нарушение митоза и функционирования клеток [75]. Функциональная неодинаковость центросом в клетке вызывает асимметричную ориентацию веретена. Это показано для нейробластов дрозофилы [76], стволовых герминативных клеток дрозофилы [77] и клеток почкующихся дрожжей [32]. Асимметрия центросом выражается в частности в том, что только около одной из них накапливаются агрегосомы [75]. Поскольку механизм асимметричного деления в нейробластах дрозофилы хорошо изучен, а сами нейробласты часто используют для моделирования поведения стволовых клеток, они были выбраны для изучения поведения мутантных белков в асимметричном митозе [75]. Была создана рекомбинантная дрозофила, у которой экспрессировался N-концевой фрагмент белка человека Htt, содержащий 128 глутаминовых повторов (Htt-Q128). В культуре изолированных нейробластов было показано, что агрегированный белок Htt-Q128 обычно формировал белковое включение, ассоциированное только с одним полюсом веретена. В результате асимметричного деления включение попадало в новообразованный нейробласт, а материнская клетка ганглия была свободна от поврежденных белков. Эти данные позволяют предположить, что механизм сегрегации агрегосом в процессе асимметричного митоза может выполнять ту же функцию и в стволовых клетках млекопитающих. В клетках дрозофилы на стадии бластомеры происходят асимметричные деления, и при этом белки, предназначенные для деградации, распределяются асимметрично [78].

Есть указание на то, что в стволовых клетках крипты тонкого кишечника у пациентов со спиноцереbellарной атаксией 3 типа (СЦА-3) происходит асимметричное распределение мутантного белка ataxin-3 [75]. Этот белок не образует включений у нормальных пациентов, а у пациентов с СЦА-3 агрегосомы выявляются в комитированных и дифференцированных клетках, но не образуются в стволовых клетках, находящихся на дне крипты около клеток Панета. Судя по микроскопическим включениям, которые видны в электронном микроскопе, ataxin-3 экспрессируется и в стволовых клетках крипты, но они освобождаются от агрегосом в результате асимметричного митоза. Эти данные позволяют предположить, что еще одна исключительно важная функция асимметричного деления заключается в самоподдержании линии взрослых стволовых клеток. При этом одна из двух дочерних клеток освобождается от поврежденных недеградируемых молекул белков и сохраняет свой биологический возраст, тогда как другая дочерняя клетка, получающая поврежденные молекулы, или погибает в результате апоптоза, или дифференцируется. Непрерывная пролиферация является необходимым условием самоподдержания взрослых стволовых клеток, поскольку в непролиферирующих клетках поврежденные белки накапливаются, и происходит хронологическое старение клеток. ●

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Watt F.M., Hogan B.L. // *Science*. 2000. V. 287. P. 1427–1430.
2. Morrison S.J., Kimble J. // *Nature*. 2006. V. 441. P. 1068–1074.
3. Fuchs E. // *J. Cell Biol.* 2008. V. 180. P. 273–284.
4. Lin H. // *J. Cell Biol.* 2008. V. 180. P. 257–260.
5. Fuchs E., Tumber T., Guasch G. // *Cell*. 2004. V. 116. P. 769–778.
6. Chen D., McKeearin D. // *Curr. Biol.* 2003. V. 13. P. 1786–1791.
7. Horvitz H.R., Herskowitz H. // *Cell*. 1992. V. 68. P. 237–255.
8. Schierenberg E. // *BioEssays*. 2001. V. 23. P. 841–847.
9. Wolpert L. // *J. Cell Sci.* 1988. Suppl. 10. P. 1–9.
10. Knoblich J.A. // *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2001. V. 2. P. 11–20.
11. Newton A., Ohta N. // *Ann. Rev. Microbiol.* 1990. V. 44. P. 689–719.
12. Lawler M.L., Brun Y.V. // *Cell*. 2006. V. 124. P. 891–893.
13. Kirk D., Kaufman M., Keeling R., Stamer K. // *Development*. 1991. V. 1 (Suppl.). P. 67–82.
14. Strome S. // *Int. Rev. Cytol.* 1989. V. 114. P. 81–123.
15. Lin H., Schagat T. // *Trends in Genet.* 1997. V. 13. P. 33–39.
16. Shen Q., Zhong W., Jan Y.N., Temple S. // *Development*. 2002. V. 129. P. 4843–4853.
17. Roegiers F., Jan Y.N. // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2004. V. 16. P. 195–205.
18. Guo S., Kempus K.J. // *Curr. Opin. Genet. Develop.* 1996. V. 6. P. 408–415.
19. Bieberich E., MacKinnon S., Silva J., Noggle S., Condie B.G. // *J. Cell Biol.* 2003. V. 162. P. 469–479.
20. Hatzold J., Conradt B. // *PloS Biol.* 2008. V. 6. Issue 4 | e84.
21. Bilder D., Li M., Perriman N. // *Science*. 2000. V. 289. P. 113–116.
22. Johnson K., Wodarz A. // *Nature Cell Biol.* 2003. V. 5. P. 12–14.
23. Caussinus, E., Gonzalez C. // *Nature Genet.* 2005. V. 37. P. 1125–1129.
24. Chia W., Somers W.G., Wang H. // *J. Cell Biol.* 2008. V. 180. P. 267–272.
25. Margolis B., Borg J-P. // *J. Cell Sci.* 2005. V. 118. P. 5157–5159.
26. Assémat E., Bazellières E., Pallesi-Pocachard E. et al. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2008. V. 1778. P. 614–30.
27. Ohshiro T., Yagami T., Zhang C., Matsuzaki F. // *Nature*. 2000. V. 408. P. 593–596.
28. Betschinger, J., Mechtler K., Knoblich J.A. // *Nature*. 2003. V. 422. P. 326–330.
29. Barres B.A., Siderovski D.P., Knoblich J.A. // *Neuron*. 2005. V. 48. P. 539–545.
30. Petritsch, C., Tavosanis, G., Turck, C.W. et al. // *Dev. Cell*. 2003. V. 4. P. 273–281.
31. Wirtz-Peitz F., Nishimura T., Knoblich J.A. // *Cell*. 2008. V. 135. P. 161–173.
32. Kusch J., Liakopoulos D., Barral Y. // *Trends Cell Biol.* 2003. V. 13. P. 562–568.
33. Liakopoulos D., Kusch J., Grava S., et al. // *Cell*. 2003. V. 112. P. 561–574.
34. Kaltschmidt J.A., Davidson C.M., Brown N.H., Brand A.H. // *Nature Cell Biol.* 2000. V. 2. P. 7–12.
35. Haydar T.F., Ang E. Jr., Rakic P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. V. 100. P. 2890–2895.
36. Yamashita Y.M., Jones D.L., Fuller M.T. // *Science*. 2003. V. 301. P. 1547–1550.
37. Seery J.P., Watt F.M. // *Curr. Biol.* 2000. V. 10. P. 1447–1450.
38. Lechler T., Fuchs E. // *Nature*. 2005. V. 437. P. 275–280.
39. Clayton E., Doupe D.P., Klein A.M. et al. // *Nature*. 2007. V. 446. P. 185–189.
40. Lamprecht J. // *Cell Tissue Kinet.* 1990. V. 23. P. 203–216.
41. Huang S., Law P., Francis K. et al. // *Blood*. 1999. V. 94. P. 2595–2604.
42. Chenn A., McConnell S.K. // *Cell*. 1995. V. 82. P. 631–641.
43. Shen Q., Zhong W., Jan Y.N., Temple S. // *Development*. 2002. V. 129. P. 4843–4853.
44. Petersen P.H., Zou K., Hwang J.K. et al. // *Nature*. 2002. V. 419. P. 929–934.
45. Cayouette M., Raff M., Koster R.W., Fraser S.E. // *Nature Neurosci.* 2002. V. 5. P. 1265–1269.
46. Shinin V., Gayraud-Morel B., Gómés D., Tajbakhsh S. // *Nature Cell Biol.* 2006. V. 8. P. 677–687.
47. Wakamatsu Y., Maynard T.M., Jones S.U., Weston J.A. // *Neuron*. 1999. V. 23. P. 71–81.
48. Verdi J.M., Bashirullah A., Goldhawk D.E. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999. V. 96. P. 10472–10476.
49. Yu F., Morin X., Kaushik R. et al. // *J. Cell Sci.* 2003. V. 116. P. 887–896.
50. Du Q., Stukenberg P.T., Macara I.G. // *Nat. Cell Biol.* 2001. V. 12. P. 1069–1075.
51. Igman M., Cayouette M., Charalambous C. et al. // *Neuron*. 2005. V. 48. P. 539–545.
52. Rando T.A. // *Nature*. 2006. V. 441. P. 1080–1086.
53. Harrison D.E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1973. V. 70. P. 3184–3188.
54. Ogden D.A., Micklem H.S. // *Transplantation*. 1976. 22:287–293.
55. Harrison D.E. // *J. Exp. Med.* 1983. V. 157. P. 1496–1504.
56. Ross E.A., Anderson N., Micklem H.S. // *J. Exp. Med.* 1982. V. 155. P. 432–444.
57. Iscove N.N., Nawa K. // *Curr. Biol.* 1997. V. 7. P. 805–808.
58. Morrison S.J., Wandycz A.M.K., Akashi A. et al. // *Nat. Med.* 1996. V. 2. P. 1011–1016.
59. Liang Y., Van Zant G., Szilvassy S.J. // *Blood*. 2005. V. 106. P. 1479–1487.
60. Cho R.H., Sieburg H.B., Muller-Sieburg C.E. // *Blood*. 2008. V. 111. P. 5553–5561.
61. Rossi D.J., Bryder D., Seita J. et al. // *Nature*. 2007. V. 447. P. 725–729.
62. Geiger H., True J.M., de Haan G., Van Zant G. // *Blood*. 2001. V. 98. P. 2966–2972.
63. Conboy I.M., Conboy M.J., Wagers A.J. et al. // *Nature*. 2005. V. 433. P. 760–764.
64. Van Zant G., Scott-Micus K., Thompson B.P. et al. // *Exp. Hematol.* 1992. V. 20. P. 470–475.
65. Jones D.L. // *Stem. Cell Rev.* 2007. V. 3. P. 192–200.
66. Zeng X. // *Stem. Cell Rev.* 2007. V. 3. P. 270–279.
67. Stern M.M., Bickenbach J.R. // *Aging Cell*. 2007. V. 6. P. 439–452.
68. Kopito R.R. // *Trends Cell Biol.* 2000. V. 10. P. 524–530.
69. Johnston J.A., Ward C.W., Kopito R.R. // *J. Cell Biol.* 1998. V. 143. P. 1883–1898.
70. Terman A. // *Redox Rep.* 2001. V. 6. P. 15–26.
71. Bucciantini M., Giannoni E., Chiti F. et al. // *Nature*. 2002. V. 416. P. 507–511.
72. Moore D.J., Dawson V.L., Dawson T.M. // *Molecular Med.* 2003. V. 4. P. 95–108.
73. Arrasate M., Mitra S., Schweitzer E.S. et al. // *Nature*. 2004. V. 431. P. 805–810.
74. Nystrom T. // *EMBO J.* 2005. V. 24. P. 1311–1317.
75. Rujano M.A., Bosveld F., Salomons F.A. et al. // *PloS Biol.* 2006. V. 4. Issue12: e417.
76. Rebollo E., Sampaio P., Januschke J. et al. // *Developmental Cell*. 2007. V. 12. P. 467–474.
77. Yamashita Y.M., Jones D.L., Fuller M.T. // *Science*. 2003. V. 301. P. 1547–1550.
78. Fuentealba L.C., Eivers E., Geissert D. et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2008. V. 105. P. 7732–7737.