**Нобелевская премия по физиологии и медицине — 2007**

Нобелевскую премию по физиологии и медицине в этом году получат Марио Капекки, Оливер Смитис и сэр Мартин Эванс за «открытие принципов введения специфических генных модификаций в организм мышей посредством эмбриональных стволовых клеток», то есть за **изобретение метода нокаута генов.**

Метод нокаута генов позволяет получать линии нокаутных мышей (knock-out mice, knockout mice) — мутантных мышей, у которых выключены определенные гены. Этот метод позволяет исследовать роль каждого конкретного гена в развитии организма и в его нормальной и патологической работе и изучать различные человеческие болезни, используя мышей в качестве модельных объектов. Выключенный ген приводит к тем или иным нарушениям. Характер этих нарушений позволяет судить о функциях данного гена. С тех пор как эта методика была разработана, ее применение позволило создать тысячи различных линий нокаутных мышей, из которых несколько сотен служат модельными объектами для изучения человеческих болезней, в частности заболеваний сердечно-сосудистой и нервной систем и злокачественных опухолей.

В основе метода лежит явление гомологичной рекомбинации — обмена соответствующими участками между парами гомологичных хромосом. Марио Капекки и Оливер Смитис независимо друг от друга изобрели способ выключения (нокаутирования) генов за счет гомологичной рекомбинации с участием искусственно синтезированных фрагментов ДНК, имеющих определенную последовательность нуклеотидов, соответствующую участку одного из генов, но некоторым образом видоизмененную. Такие фрагменты вводят в выращиваемые в культуре (то есть в искусственной среде отдельно от организма) клетки посредством электропорации — через поры в клеточной мембране, созданные искусственно с помощью электрического поля. За счет рекомбинации в некоторых из клеток культуры введенная последовательность внедряется в хромосому на место нормальной.

Если видоизменить внедряемую последовательность определенным образом, то на основе испорченного таким образом гена у получивших этот ген клеток будет синтезироваться нефункциональный (не выполняющий своей функции) белок, или вообще не будет синтезироваться никакого белка. Если видоизменить исходную последовательность, не только испортив некоторый ген, но и добавив другой ген, не свойственный мышиным клеткам и делающий их устойчивыми к действию некоторого антибиотика, рекомбинантные клетки можно легко отделить от остальных, подействовав на культуру данным антибиотиком, и получить таким образом культуру рекомбинантных клеток. Капекки и Смитис научились выключать с помощью этого метода гены в культурах клеток, но разработанная ими технология еще не позволяла получать нокаутные многоклеточные организмы.

Мартин Эванс, который около 1980 года одним из первых разработал способ выращивания в культуре эмбриональных стволовых (недифференцированных) клеток мышей, впоследствии изобрел метод, позволяющий передавать определенные гены потомству мышей, этими генами не обладающих. Он вводил стволовые клетки, полученные из эмбрионов мышей одной линии, в эмбрионы мышей другой линии и, используя какую-либо мышь в качестве суррогатной матери, вынашивающей эти эмбрионы, получал химерных мышей (состоящих из клеток, полученных от разных организмов). У некоторых из них предшественники гамет (половых клеток) были потомками инъецированных в эмбрионы стволовых клеток. Потомству таких химер доставались гены той линии, от которой были взяты стволовые клетки. Отбирая потомков химер, обладающих признаками этой линии, Эванс получил мышей, генетически идентичных инъецированным ранее в эмбрионы стволовым клеткам.

Затем Эванс модифицировал этот метод для получения трансгенных мышей (то есть мышей с искусственно внедренными генами), добавляя гены в хромосомы инъецируемых стволовых клеток c помощью ретровирусов (вирусов, гены которых встраиваются в хромосомы клеток хозяина). Потомки химер, полученных таким способом, если у этих химер предшественники половых клеток образовывались из инъецированных в эмбрион стволовых клеток, оказывались носителями внедренного в стволовые клетки гена.

Достижения Эванса сделали возможным создание мышей, у которых определенный ген был бы выключен посредством нокаутирования за счет гомологичной рекомбинации с участием искусственно синтезированных фрагментов ДНК, то есть объединив метод Эванса с методом Капекки и Смитиса — нокаутируя гены в инъецируемых в эмбрион стволовых клетках. Именно в лабораториях Капекки и Смитиса (снова независимо, и в разных вариантах) подобный модифицированный метод и был впервые применен на практике, положив начало множеству работ с нокаутными мышами.

Применение метода нокаута генов стало особенно актуальным в последние годы, после завершения секвенирования (прочтения последовательности) полных геномов как человека (2003), так и мыши (2002), а также ряда других видов животных. Последовательно нокаутируя различные гены в пределах мышиного генома, исследователи выясняют функции каждого из них. Учитывая, что у человека и мыши очень многие гены сходны и выполняют одни и те же функции, нокаутные мыши предоставляют исследователям богатый материал для изучения роли генов в нормальном развитии и жизни человеческого организма и в патологических процессах. По-видимому, рано или поздно благодаря методу нокаута генов удастся изучить свойства всех (нескольких десятков тысяч) генов мышиного генома. Работы в этом направлении ведутся во многих странах мира, не исключая и Россию.

Метод нокаута генов можно применять не только на мышах, но и на других животных. Однако именно нокаутные мыши нашли особенно широкое применение — в связи с тем, что они эволюционно (и, соответственно, генетически) довольно близки к человеку, а получить нокаутные линии у них намного проще, чем у большинства других лабораторных животных. В частности, у крыс первые нокаутные линии были получены только в 2003 году, через много лет после создания первых нокаутных мышей.

