



NOBELPRISET I FYSIOLOGI ELLER MEDICIN 2009

tilldelas

ELIZABETH H. BLACKBURN, CAROL W. GREIDER
OCH JACK W. SZOSTAK

för upptäckten av

*”hur kromosomerna skyddas av telomerer
och enzymet telomeras”*

Årets Nobelpris går till tre forskare som har löst en av biologins stora gåtor: Hur kan kromosomerna som innehåller vår arvs massa kopieras på ett fullständigt sätt vid celledelning och skyddas mot nedbrytning? Nobelpristagarna har visat att förklaringen finns i kromosomernas ändar – telomererna – och i ett enzym som bildar dem – telomeras.

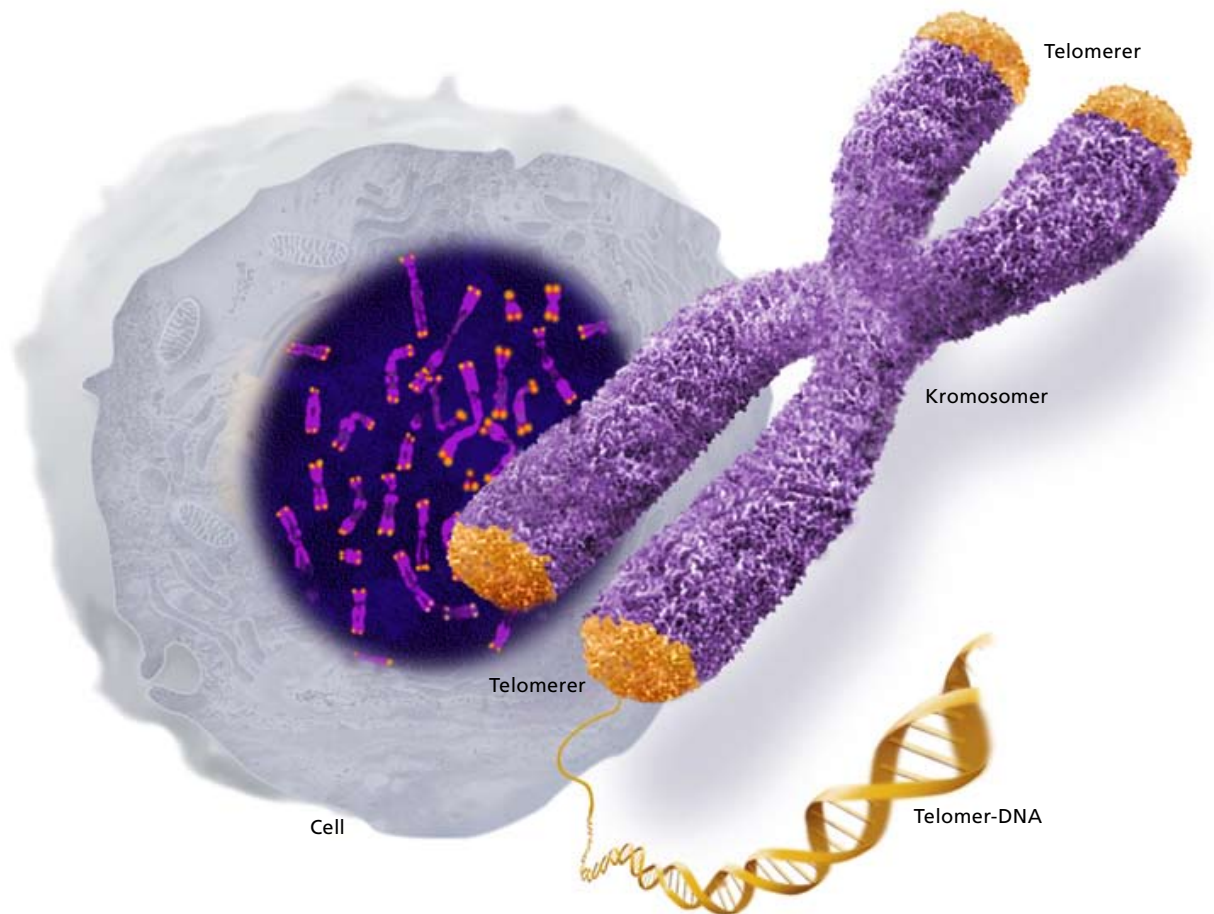
Elizabeth Blackburn och Jack Szostak var de första att visa att den unika DNA-sekvens som finns i telomererna har som funktion att skydda kromosomerna. Carol Greider och Elizabeth Blackburn kunde därefter visa att telomererna kan förlängas av enzymet telomeras.

Upptäckterna har hjälpt oss att bättre förstå hur våra gener och celler bevaras under livet. Telomerer och telomeras spelar dessutom en viktig roll i olika sjukdomar som till exempel cancer. Kunskapen har också lett till ökad förståelse av hur våra celler och kroppar åldras.

Klistriga kromosomer

Intresset för telomerer väcktes redan på 1930-talet när forskarna Barbara McClintock och Hermann Muller uppmärksammade att kromosomernas ändar verkade ha en skyddande roll. Barbara McClintock såg att kromosomer som saknade ändpartiet blev ”klistriga” – de smälte ofta samman med varandra eller bröts ned. Liknande observationer gjordes av Hermann Muller, som myntade ordet telomer från grekiskans *telo* (ände) och *meros* (del).

På den tiden var dock kromosomernas inre uppbyggnad så gott som okänd. Forskarna visste att kromosomerna innehöll arvs massan och misstänkte att telomererna skyddade denna från att förstöras, men hur detta gick till kunde de inte förstå.



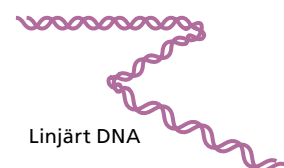
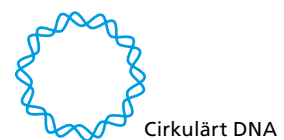
Telomeren

Kromosomerna innehåller de långa trådlika DNA-molekyler som bär våra gener. Telomererna utgör ett slags hättor på kromosomernas ändar.

Problemet med den (o)ändliga förkortningen

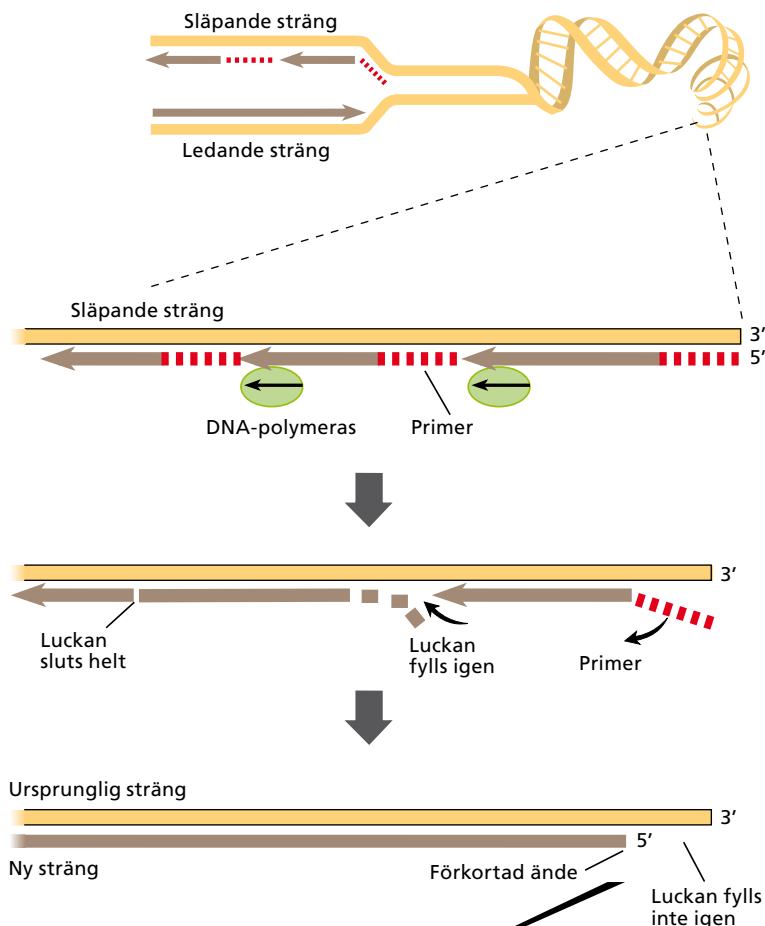
I början av 1970-talet var det dags för en ny generation molekylärt inriktade forskare att förbryllas av kromosomändarna. James Watson, som tillsammans med Francis Crick löste DNA-molekylens struktur, påpekade ett besvärande förhållande. Den etablerade teorin för hur cellens DNA kopieras inför celledelningen gick inte ihop med det faktum att DNA-strängen har en ände!

Många lägre organismer såsom bakterier har cirkulära DNA-molekyler och har därför inga ändar som behöver kopieras. Djur och människor har däremot linjära DNA-molekyler. Hur forskarna än vred och vände på saken kunde de inte förstå hur dessa DNA-strängar kan kopieras utan att en bit av änden går förlorad. Efter upprepad kopiering och förkortning borde arvsmassan och cellerna skadas. Frågan var därför hur cellerna gör för att undvika denna förkortning. Detta så kallade ändreplikationsproblem fick på ett elegant sätt sin lösning genom upptäckterna som belönas med årets Nobelpris.



Ändreplikationsproblemet

När en cell delar sig öppnas den dubbelsträngade DNA-molekylen i kromosomen och kopieras av enzymet DNA-polymeras. Den ena (ledande) strängen kopieras i ett enda svep. Den andra (släpande) strängen kopieras i korta avsnitt.



DNA kopieras inför celledelningen

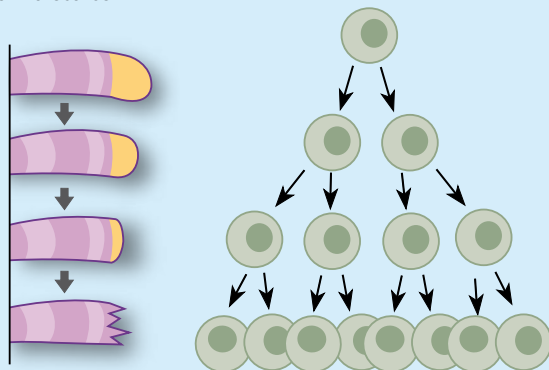
DNA-polymeras behöver en så kallad primer för att påbörja kopieringen.

Under kopieringen av den släpande strängen uppstår korta luckor som sedan fylls igen så att en intakt DNA-molekyl bildas.

Luckan längst ut i änden kan inte fyllas igen. Den nya DNA-strängen blir därför kortare än originalet.

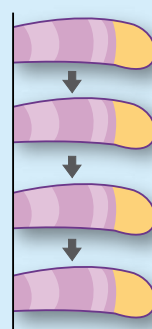
Förväntat resultat

Varje gång cellen delar sig borde kromosomerna bli kortare. Till slut borde kromosomerna brytas ned och förstöras.



Observerat resultat

Kromosomerna verkade ha ändpartier som skyddade dem från att förstöras. Men hur detta gick till var en gåta.



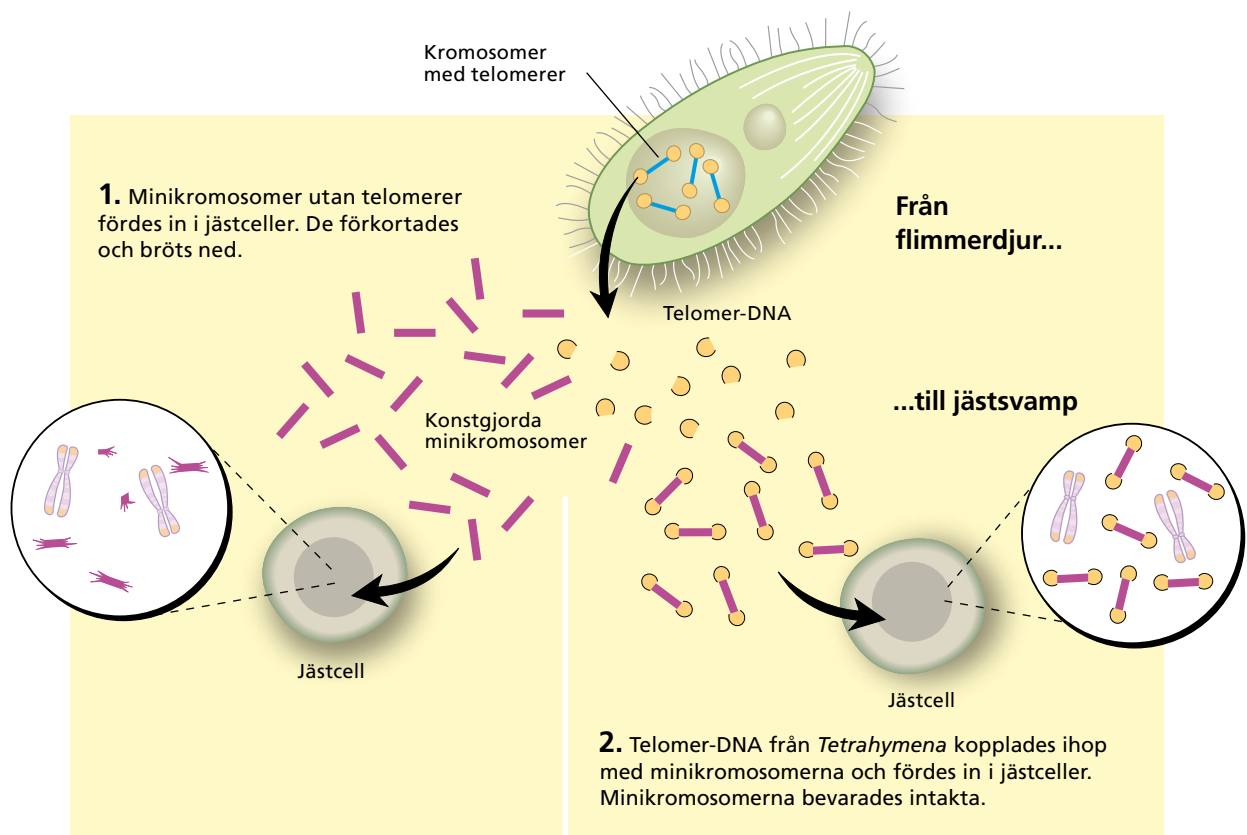
Genombrottet – ett artöverskridande experiment

Blackburn berättade om sina märkliga fynd i *Tetrahymena* på en vetenskaplig konferens 1980. Bland åhörarna fanns forskaren Jack Szostak från Harvard Medical School, USA, som just då brottades med ett problem. Han ville studera hur artificiella linjära DNA-strängar fungerar i jäst, men hindrades av att de DNA-strängar han förde in i jästceller snabbt bröts ned.

Szostak insåg att han och Blackburn var intresserade av närbesläktade frågor. Trots att organismerna de studerade var mycket olika föreslog han ett artöverskridande experiment. Kunde telomersekvenserna från *Tetrahymena* skydda DNA-strängar från nedbrytning i jäst? Det var en djärv hypotes, men experimentet var enkelt att genomföra och frågan var intressant. De båda bestämde sig för att det var värt ett försök.

Blackburn, som nu ledde ett eget laboratorium vid University of California i Berkeley, renade fram telomersekvensen från *Tetrahymena*. Szostak kopplade ihop denna med linjära DNA-strängar från jäst som han sedan förde in i jästceller. Resultaten, som publicerades 1982, var slående – telomer-DNA-sekvensen skyddade jästkromosomerna från att brytas ned.

Det stod nu klart att det är den unika DNA-sekvensen som ger telomeren dess skyddande funktion. Eftersom telomer-DNA från en organism, det encelliga flimmerdjuret *Tetrahymena*, kunde skydda DNA i en helt annan organism, jästsvamp, måste det röra sig om en fundamental mekanism som är gemensam för vitt skilda arter.



Sekvensen går igen

Szostak vidareutvecklade experimentet och lyckades snart identifiera också jästcellens egen telomersekvens. Detta gjorde han genom att ta bort den ena telomeren från de konstgjorda kromosomerna som han och Blackburn hade skapat och i stället sätta dit olika DNA-fragment från jästceller. De flesta av kromosomerna bröts då snabbt ned. Men till slut hittade han en DNA-sekvens som kunde stabilisera kromosomerna i en jästcell.

Det visade sig att även jästcellernas telomerer innehåller en kort upprepad DNA-sekvens, mycket lik sekvensen från *Tetrahymena*. Senare forskning har visat att detta gäller telomererna hos de flesta växter och djur – från amöba till människa. Man vet idag att den upprepade sekvensen binder till sig specifika proteiner som bildar en skyddande kapsel runt de ömtåliga DNA-ändarna. Utan kapseln binder DNA-ändarna lätt till varandra så att kromosomerna ofta smälter samman.

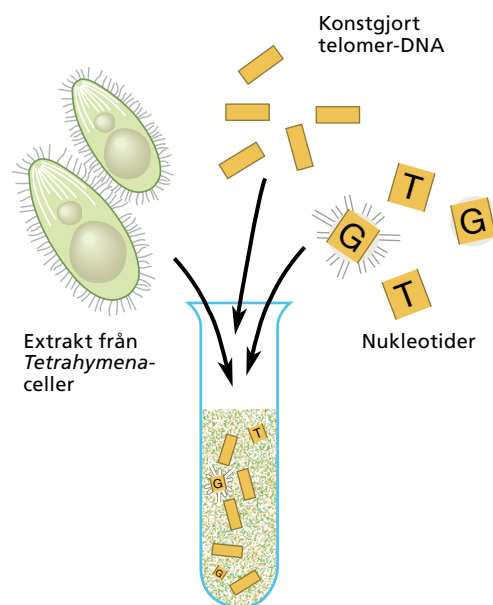
Ändarna ändrar längd!

När Blackburn och Szostak analyserade kromosomer som funnits en tid i jästceller upptäckte de att deras telomerer hade förlängts. Flera studier bekräftade att telomerernas längd både växer och krymper. I enlighet med James Watsons förutsägelse förkortas DNA-strängarna vid celledelning, men de verkade också förlängas genom att DNA-sekvenser adderas.

Detta förbryllade de båda forskarna. Visserligen kände man till enzymer som bygger DNA. Dessa så kallade DNA-polymeraser kan "läsa av" och göra en exakt kopia av en befintlig DNA-sträng. Men här var det inte frågan om att kopiera från en DNA-mall, utan att förlänga en DNA-sekvens i änden. Kunde det finnas ett okänt enzym som bygger DNA på detta sätt?

Upptäckten av telomeras

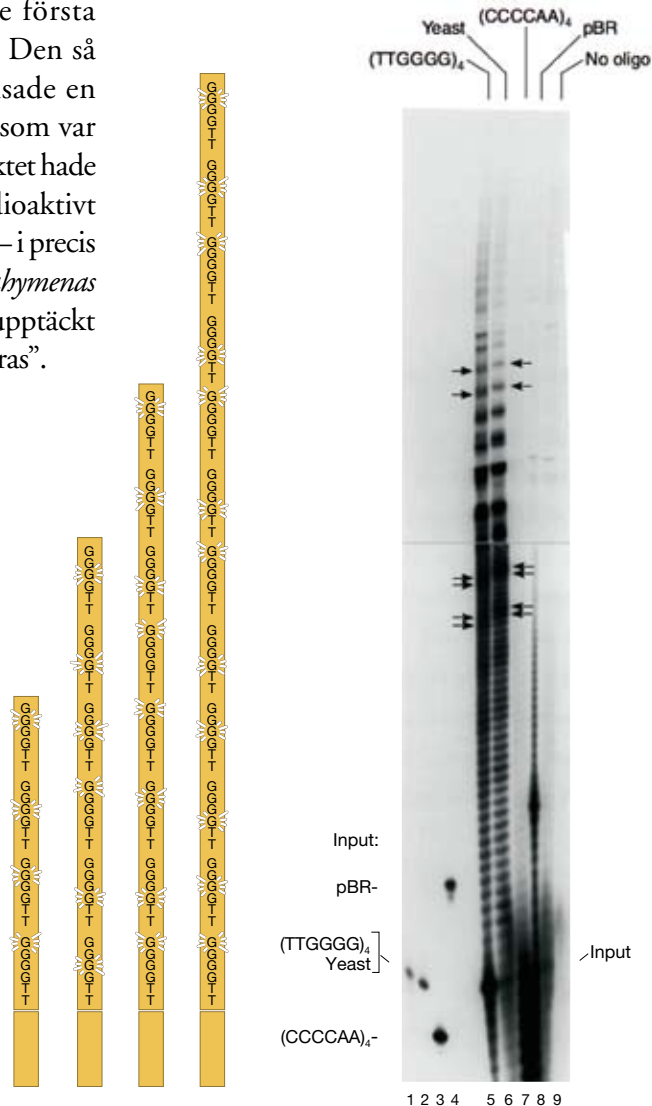
Den 23-åriga doktoranden Carol Greider som arbetade på Blackburns laboratorium i Berkeley tog sig an den intressanta uppgiften. Greider och Blackburn framställde ett extrakt från *Tetrahymena*-celler och tillsatte en blandning av korta telomer-DNA-sekvenser och radioaktivt märkta nukleotider (DNA-byggstenar). Om endast de vanliga DNA-polymeraserna fanns i extraktet skulle inget hända, men om det eftersökta enzymet fanns i cellextraktet borde telomererna förlängas med de radioaktiva nukleotiderna.



På juldagen 1984 såg Greider de första bevisen för en ny enzymaktivitet. Den så kallade sekvenseringsgelen uppvisade en pryddlig trappa. DNA-fragmenten som var identiska när de blandades i cellextraktet hade fått olika längder genom att de radioaktivt märkta nukleotiderna hade adderats – i precis den ordning som kännetecknar *Tetrahymena* telomerer. Ett helt nytt enzym var upptäckt och döptes kort därefter till "telomeras".

Upptäckten av telomeras

1. Korta fragment av telomer-DNA och radioaktivt märkta nukleotider blandades i ett extrakt av *Tetrahymena*-celler.



2. Ett enzym i cellextraktet förlängde telomer-DNA-sekvenserna. Mönstret på sekvenseringsgelen (5 och 6 ovan) visade att enzymet förlängde telomer-DNA från både *Tetrahymena* (TTGGGG) och jäst men saknade effekt på andra DNA-sekvenser.

En byggarbetare med egen ritning

De kommande åren ägnade Blackburn och Greider åt att lista ut hur telomeras utför sitt arbete. Kärnfrågan var enkel att formulera men svår att lösa. Hur kunde enzymet i cellextraktet "veta" i vilken ordning nukleotiderna skulle adderas?

Efter flera års arbete kunde Blackburn och Greider föreslå den modell som i dag är allmänt accepterad. Precis som andra enzymer har telomeras en proteindel som kan bygga DNA-strängar. Men unikt för telomeras är att det också innehåller en RNA-komponent (en nära släkting till DNA) som har samma sekvens som telomerens ena DNA-sträng. På så sätt har telomeras alltid ritningen för sitt byggnadsverk med sig.

Telomeras

Så löser telomeras ändreplikationsproblemet

Ursprunglig sträng

Ny sträng

Krympande telomerer och åldrande celler

Det var nu dags att börja undersöka vilken roll telomeren spelar i cellens liv. Szostaks grupp identifierade mutationer i jästceller som gjorde att telomererna gradvis blev kortare. Cellerna växte sämre och slutade så småningom att dela sig. Blackburn och hennes medarbetare förde in mutationer i telomeraset RNA i *Tetrahymena* och fann liknande effekter. I båda fallen ledde detta till att cellen åldrades i förtid, så kallad senescens. En intakt telomer skyddar alltså kromosomen mot skador och skjuter upp cellens åldrande.

Upptäckterna av de grundläggande mekanismerna gjordes i encelliga organismer, men 1988 identifierades en snarlik DNA-sekvens även i människans telomerer. Nu låg vägen öppen för utforskandet av telomerernas roll i människokroppen.

En klocka som styr åldrandet?

Den ryske forskaren Alexei Olovnikov hade på 1970-talet gjort en intressant association. Kanske kunde det så kallade ändreplikationsproblemet ligga bakom mänskliga cellers begränsade kapacitet till celldelningar? Hudceller från en nyfödd människa kan exempelvis dela sig 80 till 90 gånger i cellodlingar, medan celler från en 70-åring bara delar sig 20 till 30 gånger. Olovnikov föreslog att kromosomerna förkortas vid varje celldelning, och att orsaken till att delningen till slut upphör är att kromosomerna har krympt under en kritisk gräns.

Greiders grupp kunde mycket riktigt visa att telomerer i mänskliga celler förkortas vid celldelningar. Resultaten väckte uppmärksamhet i forskarsamhället och man spekulerade att telomerförkortning skulle kunna vara själva orsaken inte bara till cellens, utan till hela organismens åldrande. Kanske kunde telomeren fungera som ett räkneverk som avgör hur länge cellen kan dela sig.

Även om idén är lockande vet vi nu att den ger en ofullständig bild av åldrandet. Det är till exempel nu känt att de flesta celler, trots deras begränsade förmåga att dela sig i cellodling, troligen klarar att dela sig fler gånger i kroppen än vad som är nödvändigt under en människas livstid. Åldrandeforskningen har gått framåt på flera fronter och idag vet man att åldrandet styrs av många olika faktorer varav telomerens funktion är en. Telomerernas betydelse för åldrandet fortsätter att utforskas intensivt.

Telomeras och cancer

De flesta normala celler delar sig sällan. Deras kromosomer blir därför inte för korta och de behöver inte särskilt hög telomerasaktivitet. Cancerceller har däremot förmåga att dela sig i all oändlighet. Men hur kan de bevara sina telomerer och undgå cellåldrande?

Man har funnit att 80 till 90 procent av alla cancerceller har onormalt hög telomerasaktivitet. De undviker därigenom att förlora sina telomerer trots ett stort antal celldelningar. Forskarna tror att successiv telomerförkortning i normala celler kan vara en viktig skyddsmekanism mot den skenande och okontrollerade celldelning som kännetecknar cancer.

Detta har lett till förhoppningar om att kunna behandla cancer genom att slå ut telomeras, antingen genom substanser som kan hämma aktiviteten hos telomeras eller med vaccin

som aktiverar immunförsvaret till att angripa celler med förhöjd telomerasaktivitet. Flera sådana vacciner testas nu på människor i så kallade kliniska prövningar.

Det finns dock en rad problem som måste övervinnas innan telomeras kan bli en effektiv måltavla vid cancerbehandling. Att enbart sänka telomerasaktiviteten kan vara otillräckligt eftersom vissa cancerceller har hittat alternativa, telomerasoberoende, sätt att bilda telomerer. Dessutom riskerar man att slå ut friska celler som normalt har hög telomerasaktivitet, något som särskilt gäller för kroppens stamceller.

Betydelsen av fungerande telomerer i kroppens stamceller illustreras genom att flera ärftliga sjukdomar har visat sig bero på telomerasdefekter. Det gäller bland annat vissa former av ärftlig anemi, där otillräcklig celldelningsaktivitet i benmärgens stamceller orsakar svår blodbrist. Andra exempel är vissa ärftliga hud- och lungsjukdomar.

Drevs av nyfikenhet

Upptäckterna som belönas med årets Nobelpris är typiska exempel på nyfikenhetsdriven grundforskning. Upptäckterna gjordes utan något tydligt mål i form av tillämpningar och intresserade till en början en relativt liten krets insatta forskare. Detta förändrades dock efterhand, inte minst då betydelsen för människans biologi började bli alltmer uppenbar.

Det är ännu för tidigt att säga var historien om telomererna slutar. Så här långt står det dock klart att upptäckterna inte bara gett en ny bild av cellens inre maskineri, utan även belyst viktiga medicinska problem och visat på nya behandlingsmöjligheter.

Nyckelpublikationerna:

Szostak JW, Blackburn EH. Cloning yeast telomeres on linear plasmid vectors. *Cell* 1982; 29:245-255.

Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell* 1985; 43:405-13.

Greider CW, Blackburn EH. A telomeric sequence in the RNA of *Tetrahymena* telomerase required for telomere repeat synthesis. *Nature* 1989; 337:331-7.

Pristagarna

Elizabeth H. Blackburn är australiensisk och amerikansk medborgare. Hon är född 1948 i Hobart, Tasmanien, Australien, studerade vid University of Melbourne, disputerade 1975 vid University of Cambridge, England, och arbetade sedan vid Yale University, New Haven, USA.

Under 1980-talet var hon forskare vid University of California, Berkeley, och sedan 1990 är hon professor i biologi och fysiologi vid University of California, San Francisco.



© MICHELINE PELLETIER/CORBIS

Carol W. Greider är amerikansk medborgare. Hon är född 1961 i San Diego, Kalifornien, USA, och fick sin utbildning vid University of California, i Santa Barbara och i Berkeley, där hon disputerade 1987 med Blackburn som handledare.

Efter forskningsarbete vid Cold Spring Harbor Laboratory i New York blev hon 1997 professor vid institutionen för molekylärbiologi och genetik, Johns Hopkins University School of Medicine i Baltimore.



KEITH WELER

Jack W. Szostak är amerikansk medborgare. Han föddes 1952 i London, England, och växte upp i Kanada. Han är utbildad vid McGill University i Montreal och disputerade vid Cornell University i Ithaca, New York 1977.

Sedan 1979 är han verksam vid Harvard Medical School, där han numera är professor i genetik vid Massachusetts General Hospital i Boston. Han är även knuten till Howard Hughes Medical Institute.



JUSSI PUUKKONEN

Tidigare Nobelpris inom forskningsområdet

Årets pris har beröringspunkter med flera tidigare Nobelpris, som belönat forskning om hur arvsmassan är uppbyggd, kopieras och fördelas vid celledelning.

År 1933: **Thomas Hunt Morgan** ”för hans upptäckter rörande kromosomernas ärftlighetsbärande funktioner”.

År 1946: **Hermann Joseph Muller** ”för upptäckten av framkallandet av mutationer medelst röntgenstrålning”.

År 1958: **Joshua Lederberg** ”för hans upptäckter rörande genetisk rekombination samt arvsmassans organisation hos bakterier”.

År 1959: **Severo Ochoa** och **Arthur Kornberg** ”för deras upptäckter av mekanismen vid den biologiska syntesen av ribonukleinsyra och deoxiribonukleinsyra”.

År 1962: **Francis Crick**, **James Watson** och **Maurice Wilkins** ”för deras upptäckt av nukleinsyrornas molekylära uppbyggnad och dess betydelse för informationsöverföring i levande materia”.

År 1975: **David Baltimore**, **Renato Dulbecco** och **Howard Temin** ”för deras upptäckter över tumörvirus samspel med cellens arvs massa”.

År 1983: **Barbara McClintock** ”för hennes upptäckt av rörliga strukturer i arvs massa”.

År 2001: **Leland Hartwell**, **Tim Hunt** och **Paul Nurse** ”för deras upptäckter rörande kontrollen av cellcykeln”

Förutom ovan nämnda Nobelpris i fysiologi eller medicin har forskning inom detta område resulterat i Nobelpris i kemi.

År 1980: **Paul Berg**, **Walter Gilbert** och **Frederick Sanger** ”för deras insatser rörande bassekvensbestämning i nukleinsyror”

Redaktionskommittén för årets populärvetenskapliga presentation av Nobelpriset i fysiologi eller medicin har utgjorts av följande professorer vid Karolinska Institutet, tillika ledamöter av Nobelförsamlingen:

Göran K. Hansson, **Klas Kärre**, **Nils-Göran Larsson**, **Thomas Perlmann** och **Rune Toftgård**

Text: **Ola Danielsson**, medicinjournalist

Illustrationer: **Bengt Gullbing** och **Annika Röhl**

Nobelpriset® är Nobelstiftelsens registrerade varumärke.

© 2009 Nobelkommittén för fysiologi eller medicin, Karolinska Institutet, 171 77 Stockholm