

GIẢI NOBEL Y HỌC 2013: NỘI DUNG KHOA HỌC VÀ Ý NGHĨA ỨNG DỤNG PGS.TS. Lê Văn Đông^{1*}, GS.TSKH. Phạm Mạnh Hùng²

TÓM TẮT: Giải Nobel về Y học năm 2013 đã được trao cho các nhà khoa học James E. Rothman thuộc Đại học Yale (Mỹ), Randy W. Schekman thuộc Đại học Stanford (Mỹ) và Thomas C Südhof (người Đức) đang công tác tại Đại học California (Mỹ) với các thành tựu nghiên cứu của họ về cách thức các tế bào tổ chức hệ thống vận chuyển giữa các phần khác nhau bên trong tế bào cũng như từ bên trong tế bào ra ngoài tế bào. Báo cáo sẽ trình bày cơ chế chung của những phương thức vận chuyển này là sử dụng các bọc đóng vai trò như những cỗ xe để đem những chất cần vận chuyển từ bào quan này đến bào quan khác và từ trong các bào quan ra bên ngoài. Các chất được vận chuyển có thể là các hormone, chất dẫn truyền thần kinh, các chất tham gia vào quá trình xử lý các vật lạ xuất hiện bên trong tế bào..., từ đó cơ chế này có vai trò thiết yếu trong hoạt động của tế bào, và do vậy rối loạn cơ chế này sẽ dẫn đến những hậu quả nghiêm trọng cho tế bào và cơ thể. Cũng chính từ đó, các cơ chế này cũng trở thành đích để can thiệp trong một số quá trình bệnh lý và là đích tác động của một số thuốc sinh học.

1. NỘI DUNG KHOA HỌC

1.1. Mở đầu

Ở các tế bào eukaryote (tế bào có nhân thật), các chức năng tế bào được phân chia vào các khoang trong nhân tế bào và trong các bào quan xung quanh nhờ vào hệ thống các màng nội bào. Việc chia khoang như vậy làm tăng hiệu quả của các chức năng tế bào và ngăn không cho các phân tử nguy hiểm có thể lan tỏa một cách tự do bên trong tế bào. Tuy nhiên, khi mỗi quá trình diễn ra trong tế bào đều được chia ngăn như vậy, lại xuất hiện vấn đề là cần phải có sự trao đổi các phân tử giữa các khoang khác nhau (hình 1); đồng thời một số phân tử còn cần phải được giải phóng ra bên ngoài tế bào. Hầu hết các phân tử đều có kích thước quá lớn để có thể vận chuyển trực tiếp qua được các màng và vì thế cần có một cơ chế nào đó đảm bảo rằng các phân tử được đóng gói và vận chuyển một cách đặc hiệu.

Nhờ có các tiến bộ của kính hiển vi quang học đã cho phép chúng ta hiểu được cấu trúc bên trong tế bào. Nhờ có kính hiển vi điện tử với các kỹ thuật nhuộm

khác nhau và các thử nghiệm hoạt tính các phân đoạn dưới tế bào khác nhau được tách chiết bằng các kỹ thuật siêu ly tâm nên đã cho phép chúng ta hiểu được điều gì diễn ra bên trong tế bào. Các protein chế tiết được tạo ra tại các ribosome trong lưới nội nguyên sinh rồi được chuyển vào các phức hợp Golgi (gọi theo tên của Camillo Golgi người đoạt giải Nobel năm 1906) (hình 1). Gunter Blobel (Giải thưởng Nobel năm 1999) đã khám phá ra rằng protein có các tín hiệu nội sinh vận hành việc vận chuyển và định vị chúng bên trong tế bào. Tuy nhiên vẫn còn những câu hỏi quan trọng cần được giải đáp như con đường vận chuyển và phân phối đến đúng địa chỉ của các phân tử bao gồm các hormon, các protein vận tải và các chất dẫn truyền thần kinh được thực hiện như thế nào? Palade (Giải thưởng Nobel năm 1974) đã phát hiện ra rằng các protein chế tiết được vận chuyển từ lưới nội nguyên sinh chất ra bên ngoài bằng cách đựng trong các bọc nhỏ. Màng của bọc chứa protein chế tiết được tách ra từ một màng này rồi lại được hòa màng vào với một màng khác. Tuy nhiên làm thế nào để quá trình này có thể diễn ra một cách chính xác thì vẫn là điều còn cần được làm sáng tỏ.

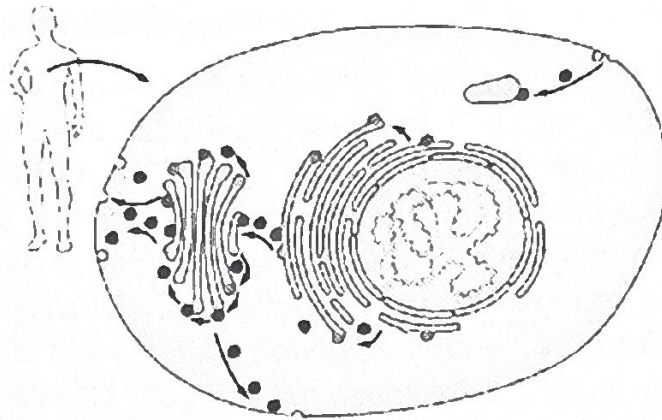
¹ Học viện Quân y

² Tổng Hội Y học Việt Nam

* Tác giả chịu trách nhiệm chính:

Lê Văn Đông

Email: levandong@yahoo.com

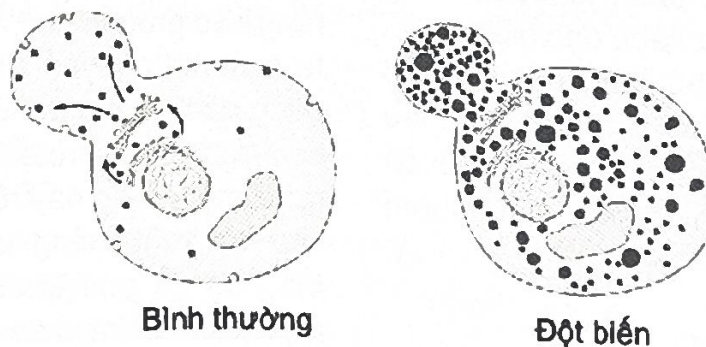


Hình 1. Mỗi tế bào trong cơ thể đều được tổ chức theo một phương thức đặc biệt, trong đó mỗi chức năng của tế bào được sắp xếp trong các khoang khác nhau gọi là các bào quan. Các phân tử được tạo ra bên trong tế bào được chứa trong các bọc và được vận chuyển một cách chính xác đúng lúc, đúng chỗ đến các vị trí đích bên trong hoặc bên ngoài tế bào.

1.2. Phát hiện ra các gen kiểm soát việc hòa màng của các bọc

Randy Schekman nghiên cứu các gen ở nấm men và nhận thấy loài nấm *Saccharomyces cerevisiae* tiết các glycoprotein vì thế đây là loài có thể tác động làm thay đổi gen nên được dùng để nghiên cứu quá trình vận chuyển và hòa màng của các bọc. Ông đã phát minh ra một phương pháp sàng lọc gen để xác định các gen kiểm soát quá trình vận chuyển bên trong tế bào. Ông đưa ra giả thuyết rằng một số đột biến có thể dẫn đến chết và để khắc phục được vấn đề này ông đã sử dụng các loại đột biến nhạy cảm với nhiệt để sàng lọc các gen có liên quan đến quá trình tập trung các enzym chế tiết bên trong tế bào. Ban đầu Schekman sàng lọc thấy 2 gen là *sec1* và *sec2* nhưng sau đó đã phát hiện tới 23 gen liên quan; các gen này có thể chia làm 3 nhóm dựa vào việc

chúng quyết định sự tập trung của các bọc được vận chuyển từ lưới nội nguyên sinh hay từ phức hợp Golgi hay từ màng tế bào (hình 2). Qua nghiên cứu đặc điểm gen và hình thái ở các thể đột biến, Schekman đã khám phá ra các bọc đóng vai trò trung gian vận chuyển giữa lưới nội nguyên sinh và phức hợp Golgi. Đặc biệt là đột biến các gen *sec17* và *sec18* sẽ làm tích tụ các bọc có kích thước nhỏ, điều này chứng tỏ chúng có liên quan đến quá trình hòa màng vào nhau để biến các bọc nhỏ thành bọc lớn hơn. Nghiên cứu của Schekman đã cho thấy có các gen liên quan đến việc vận chuyển và hòa màng của các bọc. Chuỗi các sự kiện dọc con đường chế tiết các phân tử có liên quan đến việc lưu thông của các bọc và sự tương tác của các bọc đang lưu thông với các màng đích.

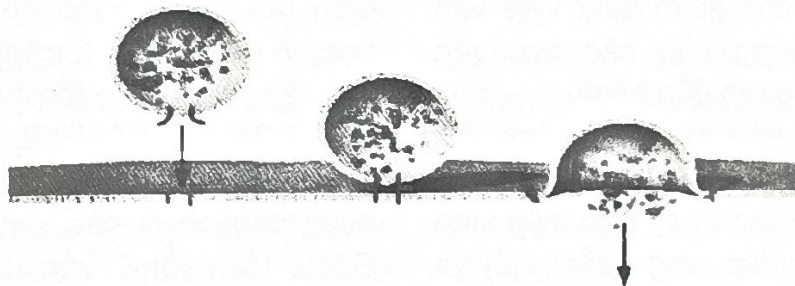


Hình 2. Schekman phát hiện ra các gen mã hóa các protein kiểm soát sự di chuyển của các bọc. Đột biến các gen này sẽ làm rối loạn sự di chuyển của các bọc

1.3. Phát hiện ra các protein chủ chốt trong quá trình hòa màng của các bọc

Trên phương diện nghiên cứu hóa sinh, Jame Rothman đã thiết kế thử nghiệm tái lập *in vitro* để nghiên cứu các sự kiện diễn ra trong quá trình vận chuyển của các bọc bên trong tế bào. Sử dụng phương pháp này ông đã tách chiết được các thành phần thiết yếu có liên quan đến quá trình hòa màng vào nhau của các bọc. Vì nghiên cứu được thực hiện vào những năm 1970 - khi đó còn rất khó khăn trong việc nghiên cứu biểu hiện gen ở các tế bào động vật nên Rothman đã sử dụng một hệ thống dựa trên đặc điểm đặc biệt của virus VSV (vesicular stomatitis virus) - đây là loại virus kích thích tế bào nhiễm nó sinh ra một lượng lớn protein G đồng thời protein G của virus VSV lại có đặc điểm là xảy ra biến đổi một gốc đường đặc trưng

khi protein này đến phức hợp Golgi. Nhờ đó Rothman đã tái lập được quá trình vận chuyển bên trong tế bào của protein G của virus VSV trong phức hợp Golgi. Từ đó ông đã sử dụng hệ thống này để nghiên cứu cả quá trình tách ra từ màng để tạo thành bọc và sự hòa màng của các bọc vào với màng khác, đồng thời cũng tách chiết được các protein từ bào tương có liên quan đến quá trình vận chuyển các bọc. Các protein mà Rothman chỉ ra cũng tương đồng với các gen mà Schekman chỉ ra. Hai ông đã cùng nhau clon gen mã hóa một protein có vai trò trong quá trình hòa màng của bọc. Từ các khám phá về các protein, Rothman đã đưa ra giả thuyết về mô hình hòa màng của bọc vận chuyển một cách đặc hiệu vào màng đích nhờ có các protein đặc hiệu.



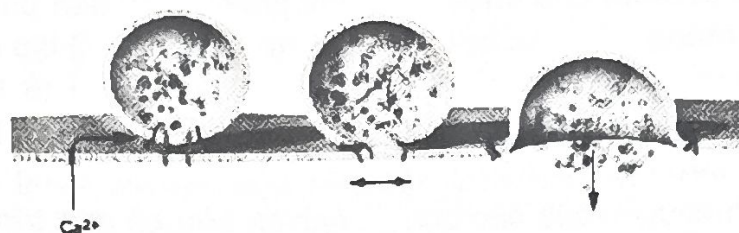
Hình 3. Rothman cho rằng có một phức hợp protein cho phép các bọc hòa màng được với các màng đích, từ đó các protein ở trong bọc gắn đặc hiệu được vào các protein đích trên màng. Điều này giúp bảo đảm cho các bọc hoà màng được đúng vị trí và các phân tử chứa trong bọc được chuyển đến đúng địa chỉ của chúng

1.4. Phát hiện ra các gen kiểm soát thời gian hòa màng của các bọc

Thomas Südhof là người nghiên cứu về sự kiểm soát quá trình hòa màng của bọc synap. Rothman và Schekman đã chỉ ra cơ chế căn bản của quá trình hòa màng của bọc nhưng việc kiểm soát sự hòa màng sao cho đúng lúc vẫn cần được làm sáng tỏ. Quá trình hòa màng ở trong cơ thể cần được kiểm soát một cách chặt chẽ, và trong nhiều trường hợp điều này phải được thực hiện với một độ chính xác rất cao để đáp ứng với các tín hiệu kích thích đặc hiệu, ví dụ: giải phóng chất dẫn truyền thần kinh trong não hoặc chế tiết Insulin từ tuyến tụy nội tiết.

Trong lĩnh vực sinh lý thần kinh, những phát minh của Bernard Katz, Ulf von Euler

và Julius Axelrod (Giải thưởng Nobel 1970) đã chỉ ra các yếu tố dẫn truyền dịch thể ở các tận cùng thần kinh và các cơ chế dự trữ, giải phóng và hoạt hóa chúng. Südhof rất kinh ngạc về việc phóng thích nhanh chóng ra khỏi tế bào các bọc ở synap và điều này được kiểm soát chặt chẽ về mặt thời gian bởi sự thay đổi nồng độ calci tự do ở trong bào tương. Từ đó Südhof đã chứng minh được calci điều hòa quá trình giải phóng các chất dẫn truyền thần kinh trong các tế bào thần kinh và phát hiện ra rằng complexin và synaptotagmin là 2 protein thiết yếu của quá trình hòa màng của bọc phụ thuộc calci (hình 4).



Hình 4. Canxi kiểm soát quá trình dẫn truyền tín hiệu từ tế bào thần kinh này sang tế bào thần kinh kia. Có các cơ chế phân tử cảm nhận ion canxi để sau đó chuyển đổi thông tin này thành hiện tượng hòa màng của bọc. Điều này lý giải cho sự chính xác về thời gian và địa điểm khi có yêu cầu giải phóng chất dẫn truyền thần kinh.

2. Ý NGHĨA ỨNG DỤNG

Các nghiên cứu của Rothman, Schekman và Südhof đã cho thấy cơ chế thiết yếu của việc duy trì lộ trình vận chuyển ở trong tế bào của các sinh vật cách rất xa nhau như nấm men và người. Các phát minh này có ý nghĩa quan trọng trong hiểu biết của chúng ta về việc các phân tử được phân loại và đưa về các vị trí rất chính xác trong tế bào. Vì thế mỗi sai sót trong bất kỳ bước nào của cơ chế kiểm soát việc vận chuyển và hòa màng của các bọc vận chuyển đều có liên quan đến bệnh.

Vận chuyển và hòa màng các bọc đối với các quá trình sinh lý từ kiểm soát việc trao đổi thông tin giữa các tế bào thần kinh trong não đến các đáp ứng miễn dịch và chế tiết hormon. Một khi có hỏng hóc ở hệ thống vận chuyển thì đều có liên quan đến các bệnh ở các lĩnh vực này. Ví dụ các rối loạn chuyển hóa như tiểu đường typ 2 có bất thường cả quá trình chế tiết insulin từ các tế bào beta tuyến tụy và quá trình vận chuyển glucose phụ thuộc insulin diễn ra trong cơ vân và mô mỡ. Hơn thế nữa, các tế bào miễn dịch trong cơ thể chúng ta cũng dựa vào việc vận chuyển và hòa màng của các bọc chức năng để gửi các chất cần thiết như các cytokin và các phân tử hoạt động của hệ miễn dịch để thực hiện các đáp ứng miễn dịch tự nhiên và đáp ứng miễn dịch thích ứng.

Bên cạnh những mối liên quan chung đó giữa quá trình hòa màng của bọc và bệnh, những đột biến đặc hiệu ở các gen mã hóa các protein liên quan đến cơ chế hòa màng của bọc cũng gây ra một số bệnh. Ví dụ như ở một số thể động kinh

nhất định đã ghi nhận có các đột biến gen mã hóa MUNC-18-1. Tương tự như vậy, các bệnh nhân bị bệnh thực bào có tính gia đình có các đột biến gen MUNC 13-4, MUNC 18-2 và syntaxin 11 làm cho các tế bào giết tự nhiên không kiểm soát được quá trình giết tế bào khi chúng gặp tế bào đích; hậu quả là tạo ra phản ứng viêm quá mức thường dẫn đến tử vong. Hơn thế nữa, một số độc tố của vi khuẩn có đích tấn công là cơ chế hòa màng của bọc, ví dụ độc tố độc thịt từ vi khuẩn độc thịt gây liệt do độc tố phân cắt các protein SNAP-25, VAMP/Synaptobrevin và syntaxin từ đó ức chế quá trình giải phóng acetylcholine ở các synap thần kinh cơ. Độc tố uốn ván tấn công vào VAMP/Synaptobrevin gây ức chế liên tế bào thần kinh và ngăn chặn quá trình giải phóng GABA hoặc glycine dẫn đến liệt ở trạng thái co cứng. Từ đó cho thấy các phát minh của Rothman, Schekman và Südhof đã giải thích rõ ràng cho các cơ chế của bệnh và đích tấn công cho các phương án điều trị, trong đó có can thiệp bằng các thuốc sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Balch WE, Dunphy WG, Braell WA, Rothman JE (1984), Reconstitution of the transport of protein between successive compartments of the Golgi measured by the coupled incorporation of N-acetylglucosamine. *Cell* 39:405-416,.

2. Balch WE, Glick BS, Rothman JE (1984), Sequential intermediates in the pathway of intercompartmental transport in a cell-free system. *Cell* 39:525-536,.

3. Braell WA, Balch WE, Dobbertin DC, Rothman JE (1984), The glycoprotein that is transported between successive compartments of the Golgi in a cell-free system resides in stacks of cisternae. *Cell* 39:511-524.
4. Fernandez-Chacon R, Konigstorfer A, Gerber SH, Garcia J, Matos MF, Stevens CF, Brose N, Rizo J, Rosenmund C, Südhof TC (2001), Synaptotagmin I functions as a calcium regulator of release probability. *Nature* 410:41-49.
5. Fries E, Rothman JE (1980), Transport of vesicular stomatitis virus glycoprotein in a cell-free extract. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:3870-3874.
6. Griff IC, Schekman R, Rothman JE, Kaiser CA (1992), The yeast SEC17 gene product is functionally equivalent to mammalian alpha-SNAP protein. *J Biol Chem* 267:12106-12115.
7. McNew JA, Parlati F, Fukuda R, Johnston RJ, Paz K, Paumet F, Sollner TH, Rothman JE (2000), Compartmental specificity of cellular membrane fusion encoded in SNARE proteins. *Nature* 407:153-159.
8. Novick P, Ferro S, Schekman R (1981), Order of events in the yeast secretory pathway. *Cell* 25:461-469.
9. Novick P, Field C, Schekman R (1980), Identification of 23 complementation groups required for post-translational events in the yeast secretory pathway. *Cell* 21:205-215.
10. Novick P, Schekman R (1979), Secretion and cell-surface growth are blocked in a temperature-sensitive mutant of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:1858-1862.
11. Schiavo G, Benfenati F, Poulain B, Rossetto O, Polverino de Laureto P, DasGupta BR, Montecucco C (1992), Tetanus and botulinum-B neurotoxins block neurotransmitter release by proteolytic cleavage of synaptobrevin. *Nature* 359:832-835.
12. The 2013 Nobel Prize in Physiology or Medicine - Advanced Information. Nobelprize.org.
13. Weber T, Zemelman BV, McNew JA, Westermann B, Gmachl M, Parlati F, Sollner TH, Rothman JE (1998), SNAREpins: minimal machinery for membrane fusion. *Cell* 92:759-772.

SUMMARY

THE 2013 NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE: ADVANCED INFORMATION AND PRACTICAL IMPLICATIONS

Assoc.Prof. Le Van Dong MD. PhD.¹, Prof. Pham Manh Hung MD. DSc.²

¹Vietnam Military Medical University

²Vietnam Medical Association

The 2013 Nobel Prize in Physiology or Medicine is awarded to Dr. James E. Rothman (Yale University – USA), Dr. Randy W. Schekman (Stanford University – USA) and Dr. Thomas C. Südhof (a German working in California University – USA) for their discoveries of machinery regulating vesicle traffic, a major transport system in the cells. This represents a paradigm shift in our understanding of how the eukaryotic cell, with its complex internal compartmentalization, organizes the routing of molecules packaged in vesicles to various intracellular destinations, as well as to the outside of the cell. These transported molecules may be hormones, neurotransmitters and molecules required for processing strange substances in the cells... This mechanism is very essential for the cells and disturbances in that have deleterious effects and contribute disorders or diseases. Therefore, this mechanism of transport system in the cell also becomes a target for treatment of some diseases or target for effect of some biological products.