

«Дорога от идентификации гена до эффективного лечения заболеваний - это длинный путь, который придется пройти практической медицине в течение ближайших десятилетий, но это самая эффективная дорога...»

Заведующий лабораторией «Геномных технологий» НИИ биологии ЮФУ, к.б.н., с.н.с. М.Ю. Бибов.



Казакский Национальный Медицинский Университет имени С.Д.Асфендиярова



СРС на тему: «Геномные технологии. Биотехнология»



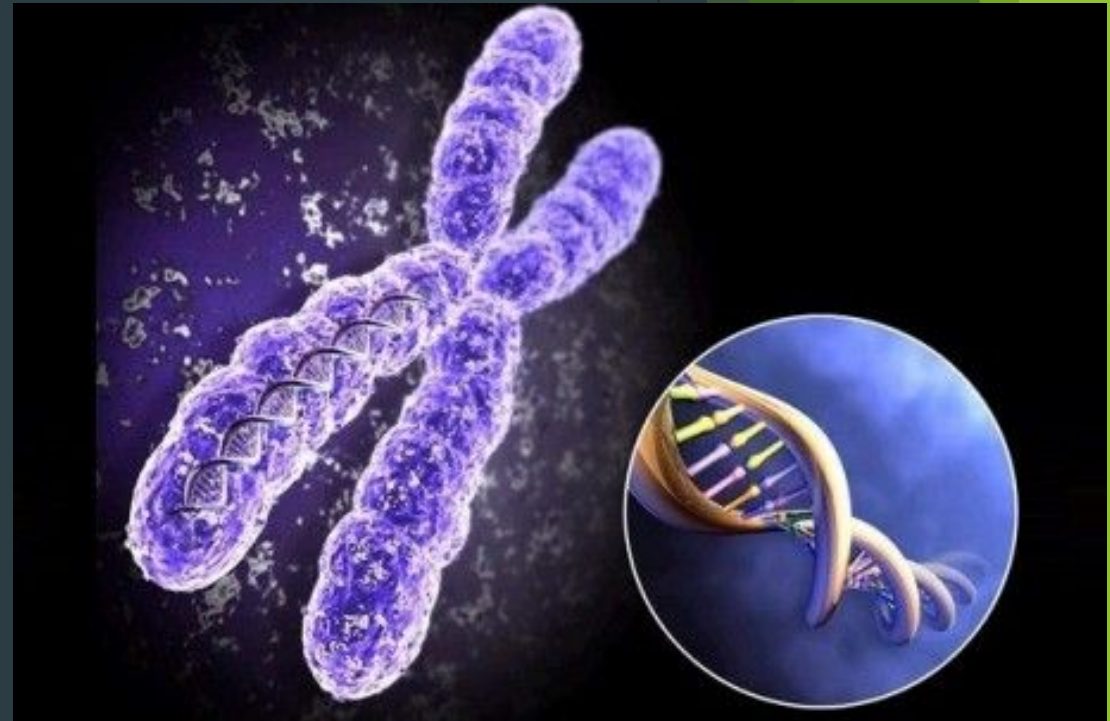
Выполнила: Куаныш А.О

Группа: 30-02

Проверила: Яхин Р.Ф

История.

- ▶ Геномика сформировалась как особое направление в 1980–1990-х гг. вместе с возникновением первых проектов по секвенированию геномов некоторых видов живых организмов. Первым был полностью секвенирован геном бактериофага Ф-Х174; (5 368 нуклеотидов) в 1977 году. Следующим этапным событием было секвенирование генома бактерии *Haemophilus influenzae* (1995). После этого были полностью секвенированы геномы ещё нескольких видов, включая геном человека (2001 год – первый черновой вариант, 2003 год – завершение проекта). Её развитие стало возможно не только благодаря совершенствованию биохимических методик, но и благодаря появлению более мощной вычислительной техники, которая позволила работать с огромными массивами данных



Основные понятия.

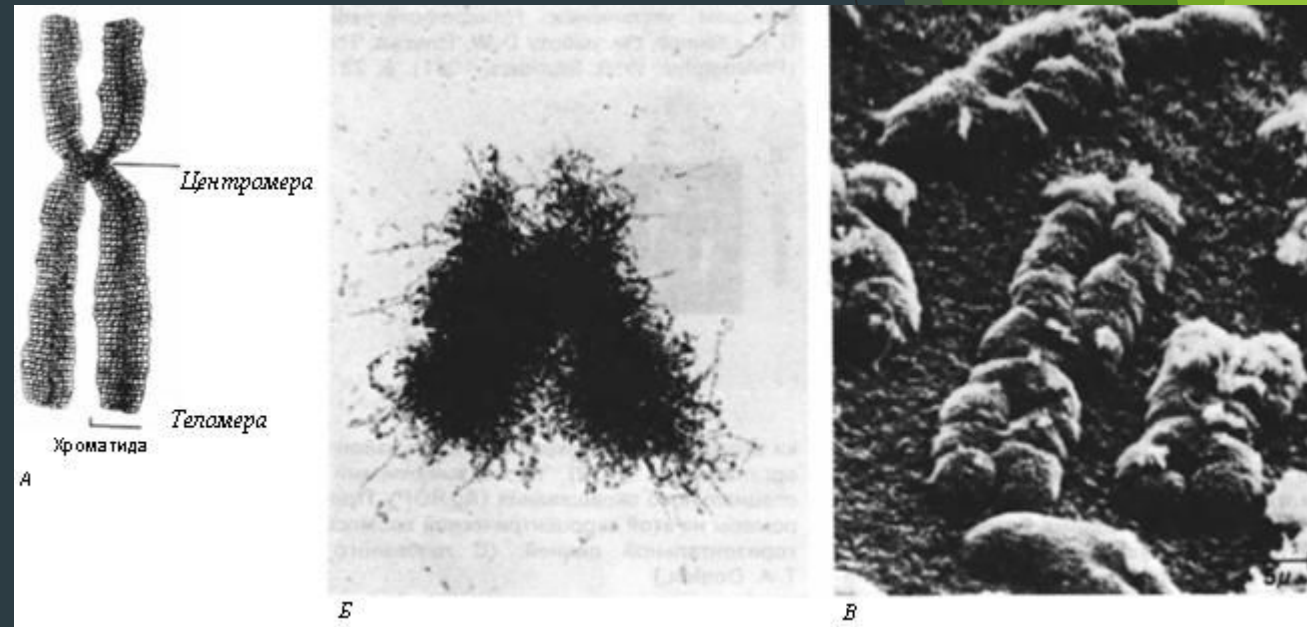
- ▶ Геномными технологиями называют новые методы, технологии и инструменты, используемые для изучения генома и манипулирования им.
- ▶ **Гено́м** — совокупность наследственного материала, заключенного в клетке организма. Геном содержит биологическую информацию, необходимую для построения и поддержания организма. Большинство геномов, в том числе геном человека и геномы всех остальных клеточных форм жизни, построены из ДНК, однако некоторые вирусы имеют геномы из РНК.

Потенциальная польза от исследований генома

- Идентификация гена для дифференциального диагноза
- Понимание путей возникновения патогенеза заболеваний
- Предсказание ответа на лечение. Фармакогеномика
- Понимание ген-генных взаимодействий и взаимодействий ген-среда
- Генотерапия
- Персонализированная медицина
- Предиктивная медицина
- Установление биологического родства
- Развитие новых диагностических технологий

Как сегодня исследуются хромосомы?

- ▶ Для цитогенетического анализа используются делящиеся клетки. Так как для анализа используют метафазные хромосомы (т.к. хромосомы на стадии метафазы хорошо спирализованы, и поэтому становятся 8 «видимыми»). Учитывая, что в периферической крови человека основная масса клеток представлена эритроцитами и тромбоцитами, которые не имеют ядра (а следовательно и хромосом), а остальные – лейкоциты достаточно хорошо дифференцированы и вступают в деление только в патологических состояниях, то исследование хромосом проводится после предварительной индукции митоза в лимфоцитах в присутствии митогенов.

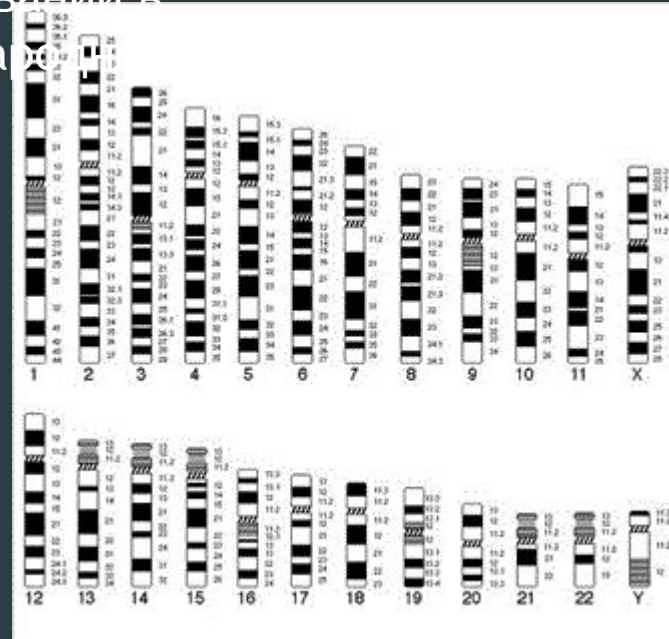


Нормальный кариотип человека.

- ▶ В кариотипе аутосомы пронумерованы с 1-й по 22-ю по мере уменьшения их длины. При одинаковом размере хромосом значение имеет расположение центромеры - на первом месте метацентрики, потом субметацентрики, потом акроцентрики. Половые хромосомы (или гоносомы) обозначаются как X (женский пол) и Y (мужской пол) и располагаются в конце кариотипа. Группа А (1-3) - большие метацентрические хромосомы легко отличимые друг от друга по размерам и расположению центромер. Группа В (4-5) - большие субметацентрические хромосомы. Группа С (6-12 и X) - мета- и субметацентрические хромосомы среднего размера, хромосома X похожа на самые большие хромосомы из этой группы. Группа D (13-15) - среднего размера акроцентрические хромосомы со спутниками на коротких плечах. Группа E (16-18) - относительно небольшие метацентрические и субметацентрические хромосомы. Группа F (19-20) - небольшие 12 метацентрические хромосомы. Группа G - (21-22 и Y) - маленькие акроцентрические хромосомы со спутниками на коротких плечах; хромосома Y в нормальном кариотипе никогда не имеет спутников. Районы и сегменты на хромосомах проявляются после дифференциального окрашивания хромосом различными методами, которые указывают при описании хромосомных аномалий (рис. 1.5):

Нормальный кариотип человека.

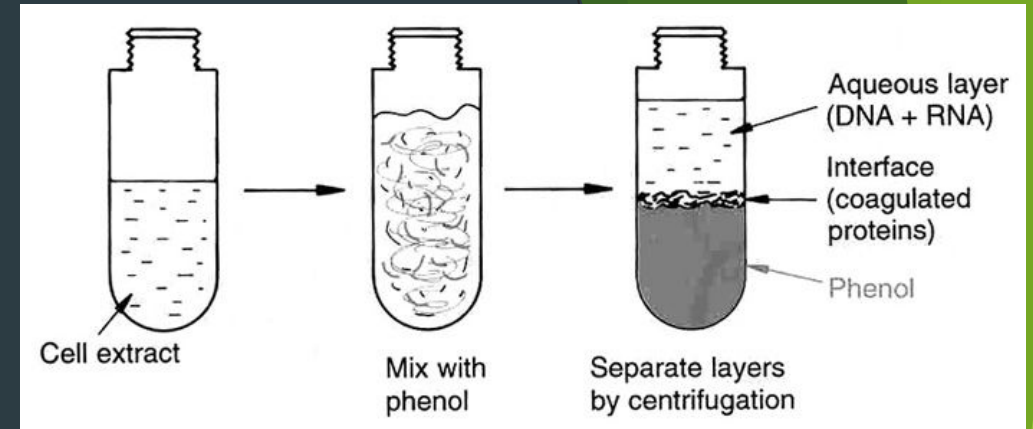
Схематическое изображение хромосом человека при G-окрашивании в соответствии с международной классификацией



Геномные технологии

- ▶ К технологиям относят:
 1. Методы выделений ДНК
 2. Идентификация специфических последовательностей
 3. Установление первичной структуры ДНК-фрагментов (секвенирование ДНК)
 4. Получение рекомбинантных ДНК и их амплификация
 5. ДНК-диагностика заболеваний
 6. Использование ДНК-технологий для получения лекарственных препаратов и лечения различных болезней

Методы выделения ДНК.



- ▶ ДНК может быть выделена из любого типа тканей и клеток, содержащих ядра. Этапы выделения ДНК включают быстрый лизис клеток, удаление фрагментов клеточных органелл и мембран с помощью центрифугирования, ферментативное разрушение белков протеиназами и экстрагирование ДНК из раствора с помощью фенола и хлороформа. Затем ДНК осаждают, как правило, этанолом и после удаления надосадочной жидкости растворяют в буферном растворе.
- ▶ Оценку качества экстрагированной ДНК проводят на основании измерения оптической плотности раствора ДНК в области белкового и нуклеинового спектров поглощения, т.е. при 280 и 260 нм, соответственно. Для чистых образцов ДНК соотношение оптических плотностей, полученных при 260/280 нм, должно быть больше 1,8.
- ▶ Молекула ДНК одной хромосомы среднего размера содержит 150×10^6 пар нуклеотидов и имеет длину около 4 см. Молекулы такого размера чувствительны к механическим воздействиям, возникающим в растворе в процессе выделения, и часто фрагментируются. В ходе выделения получают молекулы ДНК значительно меньше исходных, но всё равно очень большие - тысячи или десятки тысяч пар нуклеотидов. Такие молекулы неудобны для исследований, и их приходится дополнительно фрагментировать.

Генетические методы.

- ▶ В зависимости от целей исследования все молекулярно-генетические методы можно подразделить на две группы: методы, направленные на поиск неизвестных мутаций (первичная идентификация) и анализ известных мутаций.

Наиболее распространенные молекулярно-генетические методы идентификации мутаций.

- ▶ Полиморфизм для амплифицированных фрагментов (AFLP)
 - Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (RFLP)
 - Расщепление резолвазой (EMD)
 - Методы, основанные на лигазной реакции (LDL, LCR, Padlock)
 - Инвазивное расщепление олигонуклеотидов (расщепление Clevasel) ▫ Случайная амплификация полиморфной ДНК (RAPD, AP-PCR)
 - ПЦР с прямой терминацией синтеза (DT-PCR)
 - Анализ конформации одноцепочечных фрагментов ДНК (SSCP)
 - Гетеродуплексный анализ
 - Секвенирование ДНК
 - Минисеквенирование
 - Аллель-специфическая ПЦР
 - Масс-спектрометрия
 - ПЦР в реальном времени
 - Микрочипы

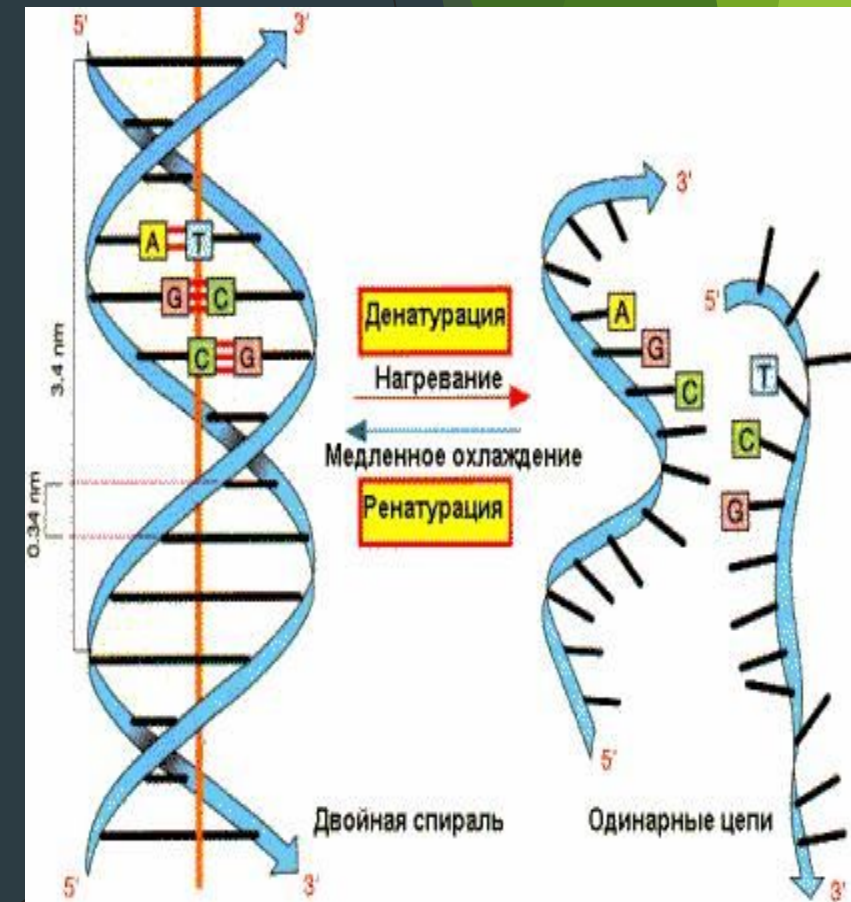
Наиболее распространенные молекулярно-генетические методы идентификации мутаций.

Все эти лабораторные методы в своей основе сводятся к одному из двух основных подходов:

- ▶ а) гибридизация последовательностей с мечеными соответствующими последовательностями олигонуклеотидов (радиоактивными, или флуорсциентами метками).
- ▶ б) амплификация (увеличение копий) последовательностей нуклеиновых кислот; при этом они многократно копируется и созданные копии можно детектировать различными методами.

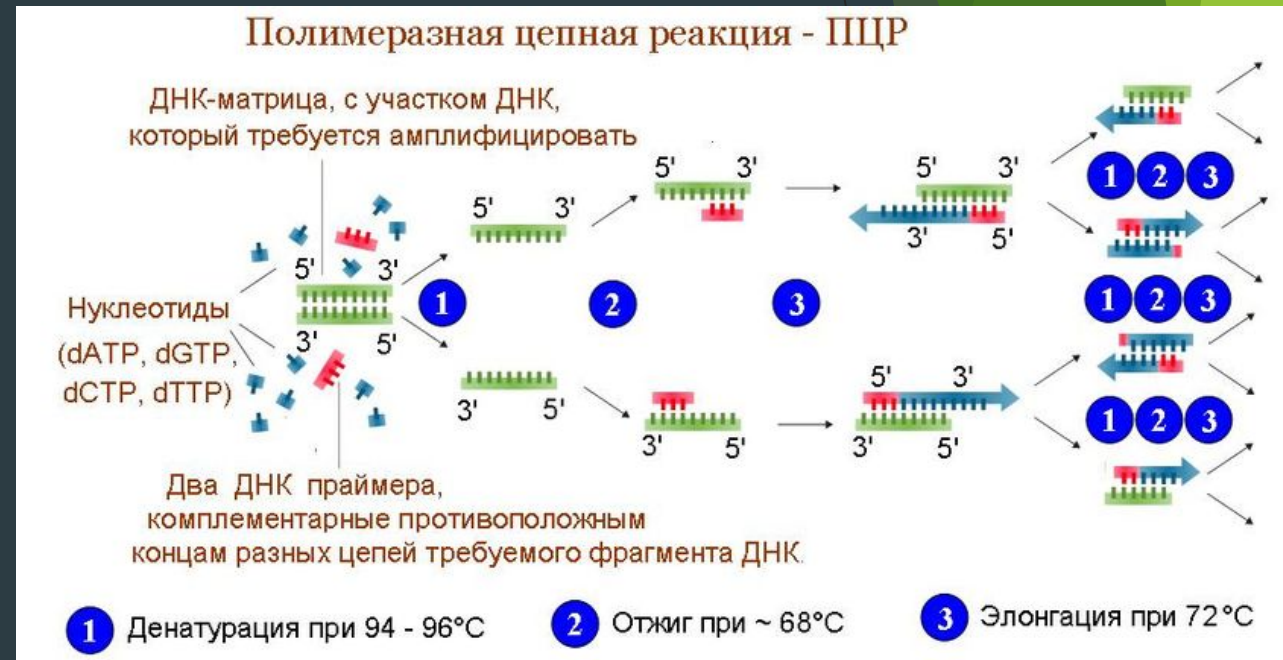
Гибридизация нуклеиновых кислот – основа для ДНК тестирования

- ▶ В основе гибридизации нуклеиновых кислот лежит принцип комплементарности ДНК (А=Т; Г=Ц), а также свойства ДНК при измененной рН и повышенной температуре (50-60 0С)- денатурировать (расплетаться на две нити). Процесс денатурации обратим. Это свойство ДНК позволяет идентифицировать олигонуклеотидные последовательности и их полиморфизмы.



Полимеразная цепная реакция

- ▶ Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) заключается в циклическом синтезе *in vitro* строго заданных, ограниченных участков ДНК длиной от десятков до нескольких тысяч п.о. Это позволяет в течение 3-5 часов получить огромное число копий искусственно синтезированных молекул нужной последовательности ДНК (т.е. амплифицировать необходимый участок ДНК, являющийся предметом молекулярного анализа). По сути, метод ПЦР «имитирует» на ограниченном участке гена естественный процесс репликации ДНК, имеющий место *in vivo*: в состав реакционного раствора с определённой концентрацией ионов магния и рН входит ДНК-матрица, четыре вида дезоксирибонуклеотид-трифосфатов, а также термостабильная ДНК-полимераза, сохраняющая свою активность при нагревании раствора до высоких температур (Горбунова В.Н. 1999). Реакция инициируется добавляемыми в раствор праймерами - олигонуклеотидными последовательностями, фланкирующими «зону интереса» и играющими роль затравок в процессе комплементарного синтеза ДНК.



Секвенирование ДНК

- ▶ Для обнаружения неизвестных нуклеотидных замен в анализируемом участке (участках) гена возникает необходимость проведения секвенирования, т.е. определения точной нуклеотидной последовательности определенного фрагмента ДНК (Иллариошкин С.Н., 2004). На практике наиболее широкое распространение получило секвенирование по классическому методу Сэнгера. Изучаемый фрагмент ДНК (например, продукт ПЦР) играет роль матрицы, на которой при участии праймера, дезоксирибонуклеотид-трифосфатов и ДНК-полимеразы инициируется направленный комплементарный синтез новых молекул ДНК, осуществляемый одновременно в 4-х параллельных реакциях. Смысл метода в том, что в каждую из реакций добавляется один из 4-х химически измененных дезоксирибонуклеотид-трифосфатов (терминаторов).

Получение рекомбинантных ДНК и их амплификация

- ▶ Для работы с нуклеотидными последовательностями в генах и других участках ДНК необходимо иметь достаточное количество материала для исследования. Это непростая задача, особенно если источником ДНК служат ткани человека. Поэтому исследуемые фрагменты ДНК обычно предварительно амплифицируют (увеличивают количественно в миллионы раз), для того чтобы получать их в любое время и в неограниченном количестве. Исключительно ценным инструментом в решении этой проблемы оказалось использование рекомбинантных ДНК (т.е. ДНК, построенных из участков разного происхождения).

ДНК-диагностика заболеваний

- ▶ Используя технику рекомбинантных ДНК, удаётся исследовать варианты генов, ответственных за развитие многих заболеваний. Этим способом идентифицированы точечные мутации, вызванные заменой одного азотистого основания, делениями или вставками, приводящими к появлению аллелей, кодирующих функционально неактивные белки. Дефектные "полиморфы" возникают как за счёт изменений в кодирующих участках гена, так и в результате мутаций в некодирующих; областях, тесно примыкающих к генам и вызывающих нарушение их работы.
- ▶ Разработанные технологии позволяют вести целенаправленное картирование генов человека в рамках международного проекта "Геном человека". Официально эта научная программа с участием ведущих молекулярно-генетических лабораторий США, стран Западной Европы, а также России и Японии оформилась в 1990 г. В ходе работы над проектом картированы 923 гена, вызывающих развитие моногенных заболеваний, более 100 из них полностью секвенированы. К концу 2001 г. работами лабораторий США, Великобритании, Японии и ряда европейских стран с точностью до 90% завершена расшифровка генома. Ожидается, что в течение ближайших 2-3 лет будут изучены все гены, ответственные за развитие патологических

Профилактика наследственных болезней.

- ▶ По данным Всемирной организации здравоохранения, около 2,5% новорожденных появляются на свет с различными пороками развития. При этом 1,5-2% из них обусловлены преимущественно неблагоприятными экзогенными факторами (так называемыми тератогенами), а остальные имеют преимущественно генетическую природу. Среди экзогенных причин пороков развития следует упомянуть биологические (инфекционные заболевания: краснуха, герпес, токсоплазмоз, хламидийная инфекция, цитомегаловирусная инфекция), физические (все виды ионизирующего излучения, радионуклиды), химические (все противоопухолевые препараты, гормональные препараты, наркотические вещества).
- ▶ Профилактика - составная часть медицины. Социально-профилактическое направление в деле охраны и укрепления здоровья народа включает в себя медицинские, санитарно-технические, гигиенические и социально-экономические мероприятия.



Профилактика наследственных болезней.

- ▶ Почти все заболевания зависят от наследственной предрасположенности человека. Иными словами, в зависимости от того, какие признаки унаследовал человек от родителей, его шансы на заболевание отдельными болезнями могут различаться. Среди прочих болезней выделяют такие, которые целиком (или почти полностью) зависят от наследственных факторов. Эти болезни называют наследственными. Их можно предотвратить или уменьшить вероятность их проявления, если принимать специальные меры.
- ▶ По степени угрозы (риска) повторного проявления в семье наследственных заболеваний их подразделяют на 3 группы:
- ▶ 1. заболевания с высокой степенью генетического риска (1 : 4), к которым относятся болезни с аутосомно-доминантным, аутосомно-рецессивным и сцепленным с полом типом наследования;
- ▶ 2. заболевания с умеренной степенью генетического риска (менее 1 : 10); к ним относятся наследственные заболевания, вызванные свежими мутациями, а также хромосомные болезни и заболевания с полигенным типом наследования, то есть значительная часть врождённых уродств и наследственных заболеваний, развивающихся на генетически неблагоприятном фоне;
- ▶ 3. болезни, характеризующиеся незначительным риском повторного проявления или полным отсутствием риска.
- ▶ Одним из направлений профилактики наследственных заболеваний является их ранняя диагностика, определение риска наследственных заболеваний.

Профилактика наследственных болезней. Методы пренатальной диагностики.

- ▶ Пренатальная диагностика (ПД) наследственных и врожденных болезней - сравнительно новое направление медицинской генетики, возникшее в 80-х годах XX века на стыке таких клинических наук, как акушерство, гинекология, неонатология, медицинская генетика, с одной стороны, патофизиология, биохимия, цитогенетика, молекулярная биология, генетика человека - с другой [1].
- ▶ На современном этапе развития пренатальная диагностика приобретает очертания самостоятельного научного направления со своими задачами, методами и предметом исследования. Предметом (объектом) научного изучения ПД является зародыш человека на разных этапах внутриутробного развития. Человеческий зародыш сегодня доступен для самых разнообразных исследований и диагностики практически на любой стадии развития. Методы, применяемые в ПД, целесообразно разделить на не прямые, когда объектом исследования является беременная женщина, и прямые, когда исследуется сам плод. Последние могут быть инвазивными (оперативными) и неинвазивными.



Профилактика наследственных болезней.

- ▶ **Непрямые методы пренатальной диагностики**
- ▶ Следует отметить, что основное назначение непрямых методов - отбор женщин групп высокого риска для дальнейшего углубленного наблюдения. Наряду с бактериологическими исследованиями на скрытые инфекции и акушерско-гинекологическим осмотром важная роль принадлежит медико-генетическому консультированию. При этом уже на уровне женских консультаций женщина может получить информацию о том, относится она или нет к группам высокого риска рождения больного ребенка.
- ▶ Основные показания для направления беременной на ПД во всем мире примерно одинаковы. Они включают: 1) возраст женщины старше 35 лет ; 2) наличие не менее двух самопроизвольных выкидышей (абортов) на ранних сроках беременности; 3) наличие в семье ребенка или плода от предыдущей беременности с болезнью Дауна, другими хромосомными болезнями, с множественными врожденными пороками, семейное носительство хромосомных перестроек; 4) многие моногенные заболевания, ранее диагностированные в семье или у ближайших родственников; 5) применение перед и на ранних сроках беременности ряда фармакологических препаратов; 6) перенесенные вирусные инфекции (гепатит, краснуха, токсоплазмоз и др.); 7) облучение кого-нибудь из супругов до зачатия.
- ▶ Проведенное в оптимальные сроки (15-16-недельной беременности) с использованием трех тест-систем исследование позволяет выявить до 80% плодов с дефектами развития внутренних органов и до 65% - с хромосомными болезнями (например, с болезнью Дауна, популяционная частота которой составляет 1 на 600-650 новорожденных).

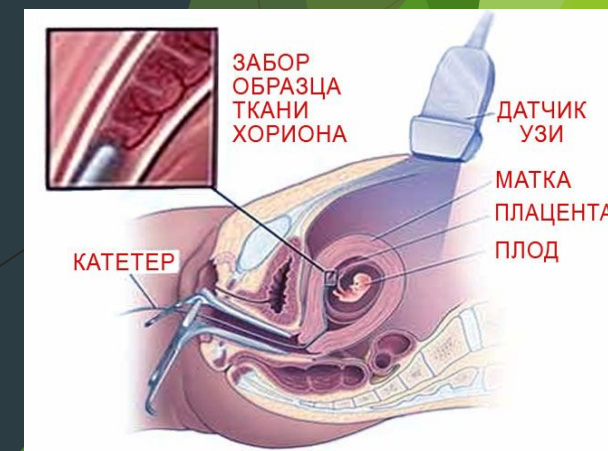
Профилактика наследственных болезней. Прямые методы пренатальной диагностики

- ▶ **Ультразвуковое сканирование.** Наиболее распространенным и самым эффективным прямым неинвазивным методом исследования плода является ультразвуковое обследование (сканирование) - ультразвуковая диагностика (УЗД).
- ▶ **Инвазивные (оперативные) методы пренатальной диагностики.** Достаточно полная информация о кариотипе зародыша, биохимических и генотипических особенностях его клеток может быть получена только на основании соответствующих исследований непосредственно тканей самого плода или его провизорных органов (плаценты, хориона). Разработаны и широко применяются различные инвазивные методы, позволяющие получать эмбриональный материал на любом сроке беременности (рис. 1). Так, в настоящее время реально доступны исследованию зародыши человека доимплантационных стадий развития, то есть в течение первых 7 дней после оплодотворения. Анализируя молекулярными или цитогенетическими методами полярные тельца или изолированные клетки (бластомеры) дробящихся зародышей, полученных в результате искусственного оплодотворения вне организма матери, можно с достаточной уверенностью определить пол плода (что важно при наличии в семье заболеваний, сцепленных с X-хромосомой), а также провести молекулярную диагностику некоторых распространенных наследственных заболеваний (муковисцидоз, гемофилия, синдром фрагильной X-хромосомы).



Профилактика наследственных болезней. Диагностика хромосомных болезней.

- Хорошо известно, что на долю всех ПД, связанных с хромосомной патологией, приходится основная часть (около 80-85%) женщин групп высокого риска, направляемых на ПД с применением инвазивных методов. Именно поэтому такое внимание уделяется разработке удобных, эффективных и надежных методов хромосомного (цитогенетического) анализа клеток плода. В настоящее время проблема надежной цитогенетической диагностики плода человека практически на любом сроке беременности успешно решена. Методически наиболее удобными для диагностики хромосомных болезней у плода являются 10-12-я недели беременности, когда в случае необходимости возможно проведение медицинского аборта. Хромосомные препараты из ворсин хориона (плаценты) прямым методом готовят до 19-20-й недель беременности, а на более поздних сроках предпочитают их получать из культивируемых лимфоцитов пуповинной крови. Кариотипирование культивированных клеток амниотической жидкости возможно на 13-21-й неделях беременности.

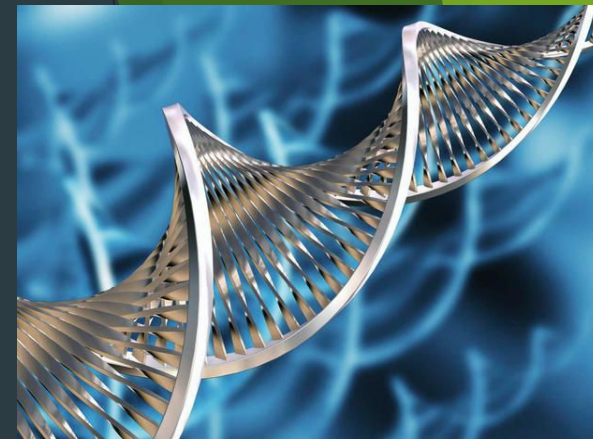
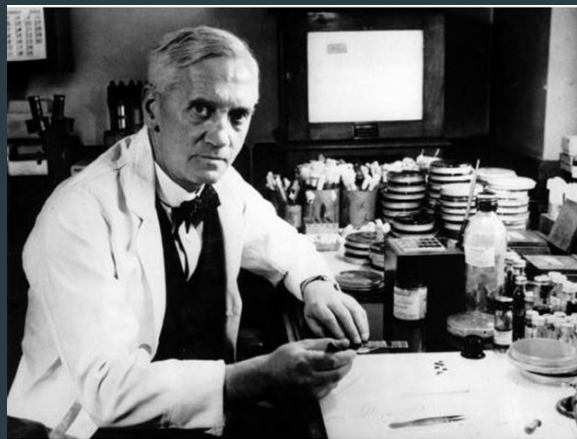


Профилактика наследственных болезней. ДНК-диагностика генных болезней.

- ▶ ДНК-диагностика моногенных болезней, доступных молекулярной диагностике, уже превышает 1000 и продолжает быстро увеличиваться. Созданы и постоянно совершенствуются все новые эффективные и достаточно универсальные методы ДНК-диагностики, такие, как метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), автор которой - американский ученый Кэй Муллис отмечен Нобелевской премией 1994 года, метод блот-гибридизации, увековечивший имя его создателя Эд. Саузерна (1975 год), и методы ДНК-секвенирования (анализ первичной последовательности нуклеотидов в цепочке ДНК), разработанные П. Сэнджером.

Профилактика наследственных болезней. Биохимическая диагностика.

- ▶ Методы биохимической диагностики наследственных болезней направлены на описание биохимического фенотипа организма. От экспрессирующегося гена до клинического фенотипа существует несколько уровней биохимических процессов. В связи с этим спектр биохимических исследований может быть различным - от определения первичного биохимического продукта (полипептида) до исследования конечных продуктов метаболизма (в крови, моче, поте и других биологических жидкостях). Иногда характерные биохимические показатели являются единственным признаком наследственного заболевания. Есть основания считать, что более дешевые, доступные для массового применения биохимические методы будут находить все более широкое применение в скрининге наследственных болезней.



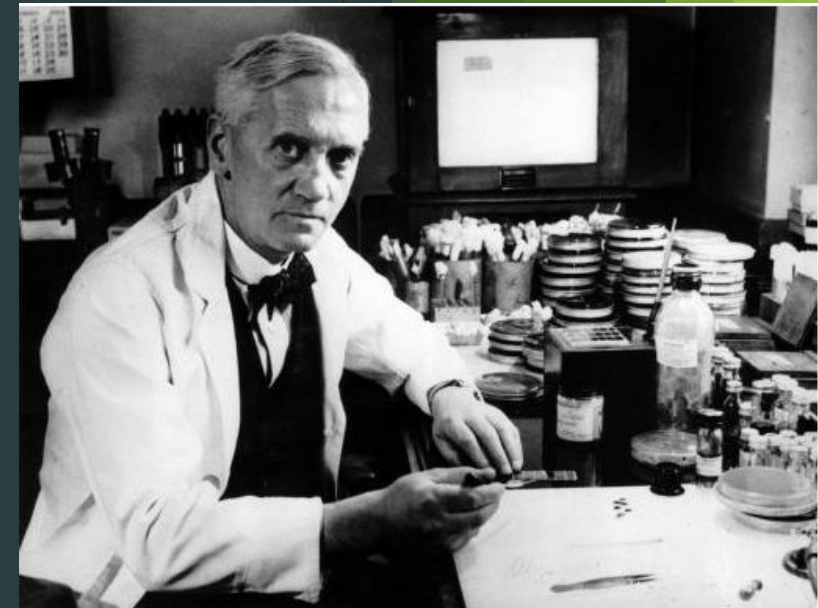
Биотехнология

Биотехнология.

- ▶ **Биотехноло́гия** — дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач, а также возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом генной инженерии.
- ▶ Биотехнологией часто называют применение генной инженерии в XX—XXI веках, но термин относится и к более широкому комплексу процессов модификации биологических организмов для обеспечения потребностей человека, начиная с модификации растений и животных путём искусственного отбора и гибридизации. С помощью современных методов традиционные биотехнологические производства получили возможность улучшить качество пищевых продуктов и увеличить продуктивность живых организмов.

История биотехнологии.

- ▶ Впервые термин «биотехнология» применил венгерский инженер Карл Эреки в 1917 году.
- ▶ Использование в промышленном производстве микроорганизмов или их ферментов, обеспечивающих технологический процесс, известно издревле, однако систематизированные научные исследования позволили существенно расширить арсенал методов и средств биотехнологии.
- ▶ Так, в 1814 году петербургский академик К. С. Кирхгоф открыл явление биологического катализа и пытался биокаталитическим путём получить сахар из доступного отечественного сырья (до середины XIX века сахар получали только из сахарного тростника). В 1891 году в США японский биохимик Дз. Такамина получил первый патент на использование ферментных препаратов в промышленных целях: учёный предложил применить диастазу для осахаривания растительных отходов.
- ▶ В начале XX века активно развивалась бродильная и микробиологическая промышленность. В эти же годы были предприняты первые попытки наладить производство антибиотиков, пищевых концентратов, полученных из дрожжей, осуществить контроль ферментации продуктов растительного и животного происхождения.
- ▶ Первый антибиотик — пенициллин — удалось выделить и очистить до приемлемого уровня в 1940 году, что дало новые задачи: поиск и налаживание промышленного производства лекарственных веществ, продуцируемых микроорганизмами, работа над удешевлением и повышением уровня биобезопасности новых лекарственных препаратов.



Технологии с приставкой «био».

▶ *Генная и клеточная инженерия*

Генная и клеточная инженерия - являются важнейшими методами (инструментами), лежащими в основе современной биотехнологии.

Методы клеточной инженерии направлены на конструирование клеток нового типа. Они могут быть использованы для воссоздания жизнеспособной клетки из отдельных фрагментов разных клеток, для объединения целых клеток, принадлежавших различным видам с образованием клетки, несущей генетический материал обеих исходных клеток, и других операций.

▶ Генно-инженерные методы направлены на конструирование новых, не существующих в природе сочетаний генов. В результате применения генно-инженерных методов можно получать рекомбинантные (модифицированные) молекулы РНК и ДНК, для чего производится выделение отдельных генов (кодирующих нужный продукт), из клеток какого-либо организма. После проведения определенных манипуляций с этими генами осуществляется их введение в другие организмы (бактерии, дрожжи и млекопитающие), которые, получив новый ген (гены), будут способны синтезировать конечные продукты с измененными, в нужном человеку направлении, свойствами. Иными словами, генная инженерия позволяет получать заданные (желаемые) качества изменяемых или генетически модифицированных организмов или так называемых «трансгенных» растений и животных.

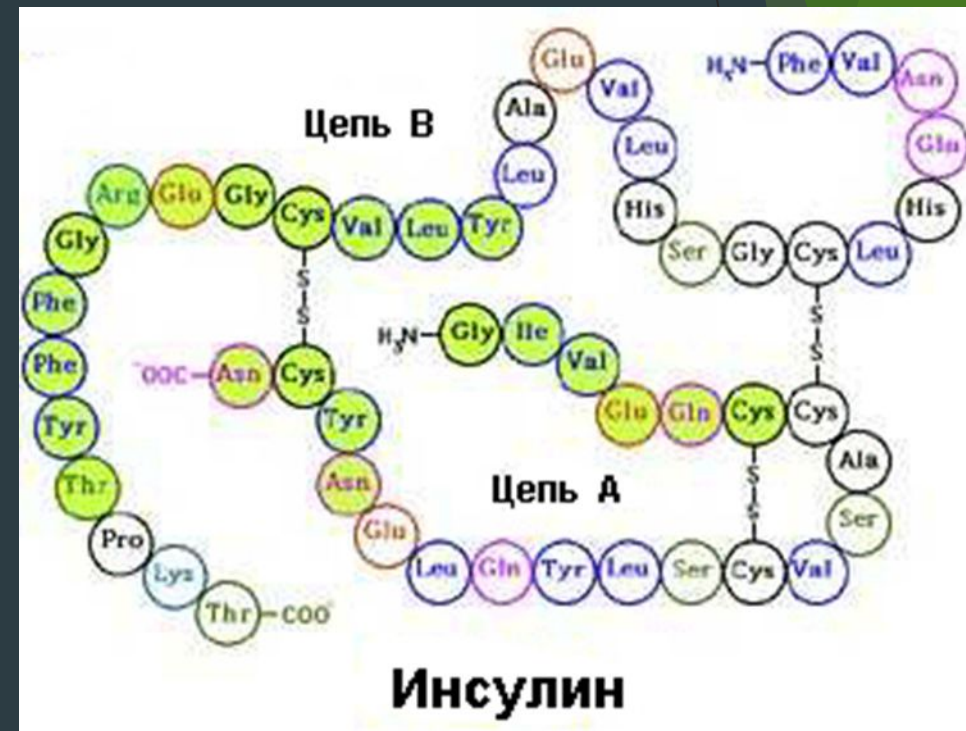
▶ Наибольшее применение генная инженерия нашла в сельском хозяйстве и в медицине.

Биотехнологии в медицине.

- ▶ На основе генной инженерии возникла целая отрасль фармацевтической промышленности, называемая “индустрией ДНК” и представляющая собой одну из современных ветвей биотехнологии. Более четверти всех лекарств, используемых сейчас в мире, содержат ингредиенты из растений. Генно-модифицированные растения являются дешевым и безопасным источником для получения полностью функциональных лекарственных белков (антител, вакцин, ферментов и др.) как для человека, так и для животных. Примерами применения генной инженерии в медицине являются также производство человеческого инсулина путем использования генно-модифицированных бактерий, производство эритропоэтина (гормона, стимулирующего образование эритроцитов в костном мозге. Физиологическая роль данного гормона состоит в регуляции продукции эритроцитов в зависимости от потребности организма в кислороде) в культуре клеток (т.е. вне организма человека) или новых пород экспериментальных мышей для научных исследований.

Биотехнология в медицине

- ▶ Инсулин - гормон поджелудочной железы, регулирующий углеводный обмен и поддерживающий нормальный уровень сахара в крови. Недостаток этого гормона в организме приводит к одному из тяжелейших заболеваний - сахарному диабету, который как причина смерти стоит на третьем месте после сердечно-сосудистых заболеваний и рака. Инсулин - небольшой глобулярный белок, содержащий 51 аминокислотный остаток и состоящий из двух полипептидных цепей, связанных между собой двумя дисульфидными мостиками. Синтезируется он в виде одноцепочного предшественника - проинсулина, содержащего концевой сигнальный пептид (23 аминокислотных остатка) и 35-звенный соединительный пептид (С-пептид). При удалении сигнального пептида в клетке образуется проинсулин из 86 аминокислотных остатков, в котором А и В-цепи инсулина соединены С-пептидом, обеспечивающим им необходимую ориентацию при замыкании дисульфидных связей. После протеолитического отщепления С-пептида образуется инсулин.



Биотехнология в медицине.

- ▶ . Работы по генно-инженерному получению инсулина начались около 30 лет назад. В 1978 году появилось сообщение о получении штамма кишечной палочки, продуцирующего крысиный проинсулин (США). В этом же году были синтезированы отдельные цепи человеческого инсулина посредством экспрессии их синтетических генов в клетках *E. Coli* (рис. 8.21):
 1. Каждый из полученных синтетических генов подстраивался к 3'-концу гена фермента *v*-галактозидазы и вводился в векторную плазмиду - pBR322 (1).
 2. Клетки *E. Coli*, трансформированные такими рекомбинантными плазмидами, производили гибридные (химерные) белки, состоящие из фрагмента *v*-галактозидазы и А и В пептида инсулина, присоединённого к ней через остаток метионина (2).
 3. После обработки химерного белка бромцианом и протеолитического отщепления С-пептида образуется инсулин.



Биотехнологии в медицине.

- ▶ Разработка методов генной инженерии, основанных на создании рекомбинантных ДНК, привела к тому "биотехнологическому буму", свидетелями которого мы являемся. Благодаря достижениям науки в этой области стало возможным не только создание «биологических реакторов», трансгенных животных, генно-модифицированных растений, но и проведение генетической паспортизации (полного исследования и анализа генотипа человека, проводимого, как правило, сразу после рождения, для определения предрасположенности к различным заболеваниям, возможную неадекватную (аллергическую) реакцию на те или иные лекарства, а также склонность к определенным видам деятельности). Генетическая паспортизация позволяет прогнозировать и уменьшать риски сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, исследовать и предотвращать нейродегенеративные заболевания и процессы старения, анализировать нейро-физиологические особенности личности на молекулярном уровне), диагностирование генетических заболеваний, создание ДНК-вакцин, генотерапия различных заболеваний и т. д.

Клонирование.

- ▶ Клонирование - это один из методов, применяемых в биотехнологии для получения идентичных потомков при помощи бесполого размножения. Иначе клонирование можно определить как процесс изготовления генетически идентичных копий отдельной клетки или организма. То есть полученные в результате клонирования организмы похожи не только внешне, но и генетическая информация, заложенная в них, абсолютно одинакова.
- ▶ Термин «клонирование» происходит от английского слова clone, cloning (веточка, побег, отпрыск), которое обозначает группу растений (например, фруктовых деревьев), полученных от одного растения-производителя вегетативным (не семенным) способом. Позже название «клонирование» было перенесено на разработанную технологию получения идентичных организмов, именуемую также «замещение клеточного ядра». Организмы, полученные по такой технологии, стали называться клонами. В конце 1990-х годов XX века стала очевидна возможность применения этой технологии для получения генетически идентичных человеческих индивидов, то есть стало реальным клонирование человека.

Клонирование.

- ▶ Первым искусственно клонированным многоклеточным организмом стала в 1997 г. овца Долли. В 2007 году одного из создателей клонированной овцы Елизавета II наградила за это научное достижение рыцарским званием.
- ▶ Сутью техники «ядерного переноса», используемой при клонировании, является замена собственного клеточного ядра оплодотворенной яйцеклетки на ядро, извлеченное из клетки организма, точную генетическую копию которого планируется получить. К настоящему времени разработаны не только методы воспроизведения того организма, из которого клетка была взята, но и того, от которого был взят генетический материал. Появилась потенциальная возможность воспроизведения умершего организма, даже в том случае, когда от него остались минимальные части - необходимо только, чтобы из них можно было выделить генетический материал (ДНК).
- ▶ Клонирование организмов может быть полным или частичным. При полном клонировании воссоздаётся весь организм целиком, а при частичном - воссоздаются лишь те или иные ткани организма.
- ▶ Технология воссоздания целого организма крайне перспективна в случае необходимости сохранения редких видов животных или для восстановления исчезнувших видов.

Частичное клонирование и его значение в медицине.

- ▶ Частичное клонирование - может стать важнейшим направлением в медицине, поскольку клонированные ткани могут компенсировать недостаток и дефекты собственных тканей организма человека и, что особенно существенно, они не отторгаются при трансплантации. Такое терапевтическое клонирование изначально не предполагает получение целого организма. Его развитие сознательно останавливают на ранних стадиях, а получившиеся клетки, которые называются эмбриональные стволовые клетки (эмбриональные или зародышевые стволовые клетки - самые примитивные клетки, возникающие на ранних стадиях развития эмбриона, способные развиться во все клетки взрослого организма), используют для выработки нужных тканей или других биологических продуктов. Экспериментально доказано, что терапевтическое клонирование может быть также с успехом применено для лечения некоторых заболеваний человека, до сих пор считающихся неизлечимыми (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, инфаркт, инсульт, диабет, рак, лейкемия и др.), позволит избегать рождения детей с синдромом Дауна и другими генетическими заболеваниями. Ученые видят возможность успешного использования методов клонирования в борьбе со старением и для увеличения продолжительности жизни. Важнейшим приложением этой технологии является и область репродукции - при бесплодии, как женском, так и мужском.

Вывод.

- ▶ Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод о том, что передовые биотехнологии способны играть существенную роль в улучшении качества жизни и здоровья человека, обеспечении экономического и социального роста государств (особенно в развивающихся странах).
- ▶ С помощью биотехнологии могут быть получены новые диагностические средства, вакцины и лекарственные препараты.
- ▶ Особенностью развития биотехнологии в XXI веке является не только ее бурный рост как прикладной науки, она все более широко входит в повседневную жизнь человека, и что еще более существенно - обеспечивая исключительные возможности для эффективного (интенсивного, а не экстенсивного) развития практически всех отраслей экономики, становится необходимым условием устойчивого развития общества, и тем самым оказывает трансформирующее влияние на парадигму развития социума в целом.

Использованная литература:

- ▶ http://niib.sfedu.ru/assets/files/Reports/UP_Genomnye%20tekhnologii%200501.pdf
- ▶ <https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%BC>
- ▶ http://ibookcase.com/info/medicine/hereditarydisease_prophylaxis
- ▶ <http://www.biorosinfo.ru/press/cto-takoe-biotekhnologija/>