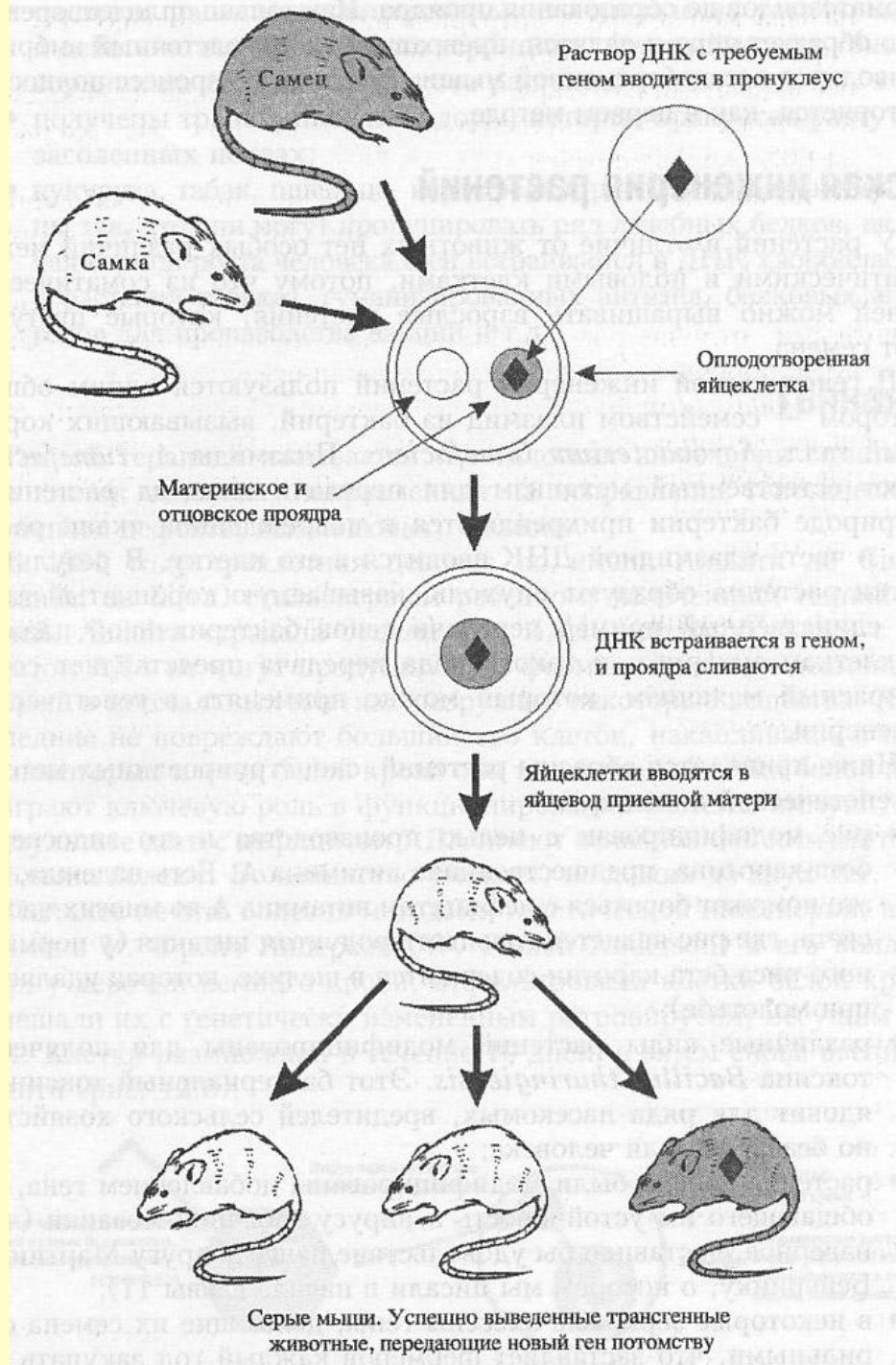


БИОТЕХНОЛОГИЯ

Трансгенные животные

- **Если внести в организм (растение, микроорганизм, животное или даже человек) новые гены, то можно наделить его новой желательной характеристикой, которой до этого он никогда не обладал.**

получение трансгенных животных



трансген
трансгенное
животное
трансгеноз

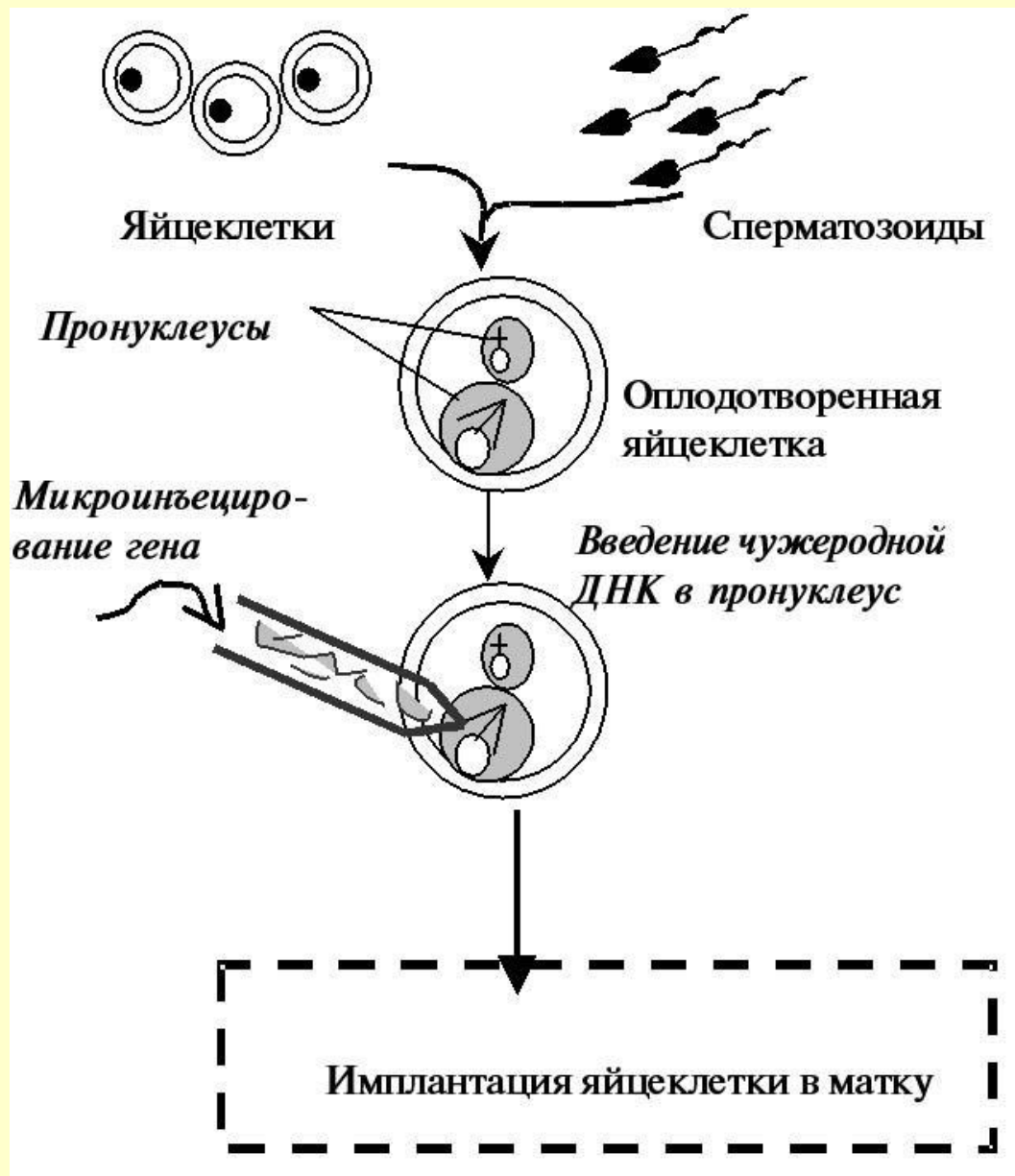
Получение трансгенных мышей

После скрещивания самки с самцом оплодотворенные яйцеклетки собирают путем их вымывания из фаллопиевых труб яичника. В мужской пронуклеус инъецируют 2 нл раствора, содержащего несколько сотен копий чужеродной ДНК. Инъецированные яйцеклетки затем переносят в матку приемной матери.

Процент яйцеклеток, которые выживают при манипуляции и начинают развиваться, варьирует, но, как правило, не превышает 10—30%. Из уцелевших яйцеклеток чужеродную ДНК, интегрированную в их хромосомы, содержат 0—40%. Введенная ДНК интегрируется случайно, беспорядочно, без какого-либо предпочтения хромосомной локализации, обычно в виде тандемного множества копий в одном локусе хромосомы.

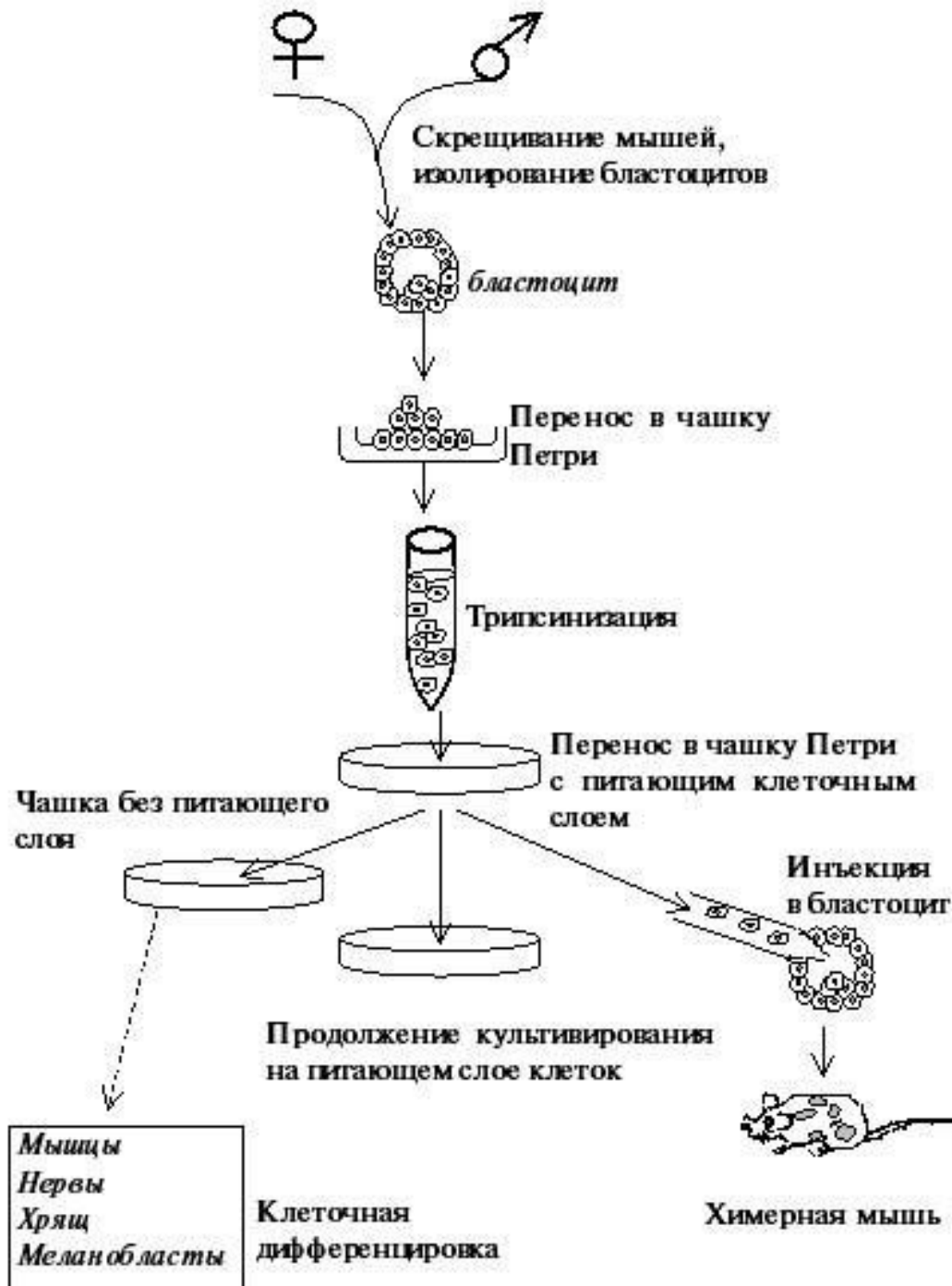


трансген трансгенное животное трансгеноз



- **Использование эмбриональных стволовых клеток для получения трансгенных животных**
- Эта выдающаяся способность ЭСК может считаться эквивалентом модели с пронуклеусами мыши. При инъекции в мышинные бластоциты ЭСК способны участвовать в образовании всех тканей. ДНК может быть введена в ЭСК путем трансфекции, ретровирусной инфекции или другим способом.
- ЭСК получают с помощью культивирования мышинных бластоцитов, растущих в клеточной культуре подобно всем другим клеткам. Однако обязательным является создание условий, препятствующих дифференцировке ЭСК. Это достигается одним из следующих способов: 1) выращиванием клеток на питающем монослое фибробластов; 2) добавлением в культуральную среду ингибирующего фактора, например лейкиния. В таких условиях ЭСК могут расти в течение многих недель и при этом сохранять способность к дифференцировке. Дифференцировка возможна в направлении образования миокарда, сосудов, хряща, миобластов и нервных клеток.
- *Бластоциты изолируют через 3 дня после скрещивания мышей и помещают в культуральную среду. Размножаясь, они распространяются по поверхности чашки Петри. Скопления клеток, образующие внутреннюю клеточную массу и формирующие будущий эмбрион, изымают и разобщают на отдельные клетки с помощью протеолитического фермента трипсина. Если ЭСК культивировать без питающего подслоя фибробластов, они будут дифференцироваться в различные ткани. При культивировании на питающем подслое фибробластов они будут продолжать размножаться, но не дифференцироваться. Если ЭСК инъецировать в бластоциты, они станут образовывать внутреннюю клеточную массу и формировать ткани химерной мыши. Вклад стволовых клеток в химерное потомство легко оценить по цвету шерсти, если реципиентные бластоциты были взяты от мышей с шерстью разного цвета.*

химеры



Генетическая инженерия животных

Есть два способа генетической модификации животных:

- путем изменения соматических клеток (клеток тела) и
- половых клеток.

Первый путь приводит к изменению клеток индивидуального организма, получившего модификацию, а вот второй приносит новые наследуемые признаки.

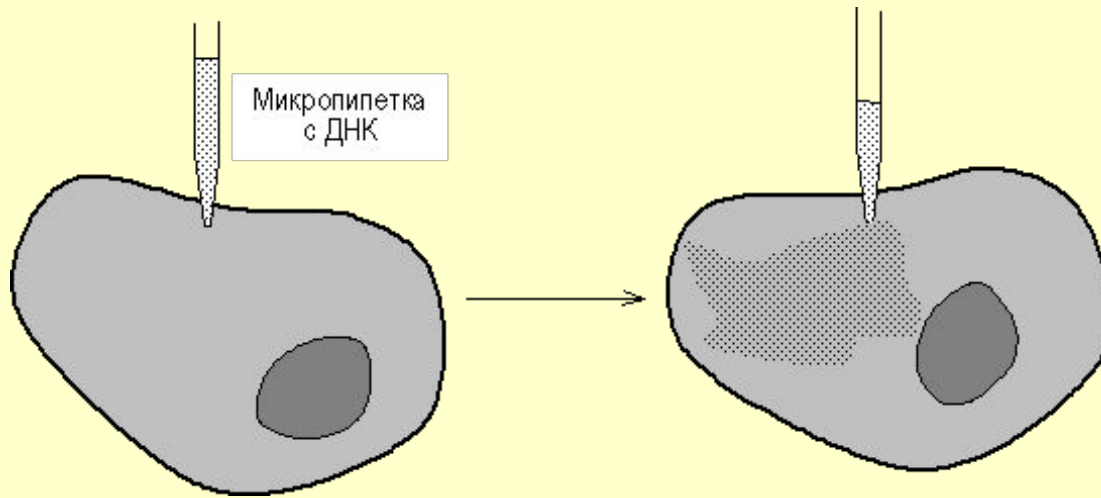
- **Модификация соматических клеток состоит из четырех этапов.**

1. Удалить клетки из организма.
2. Сделать из них культуру клеток.
3. Трансформировать клетки вектором, содержащим ген, который желательно ввести в клетки.
4. Вновь ввести трансформированные клетки в организм.

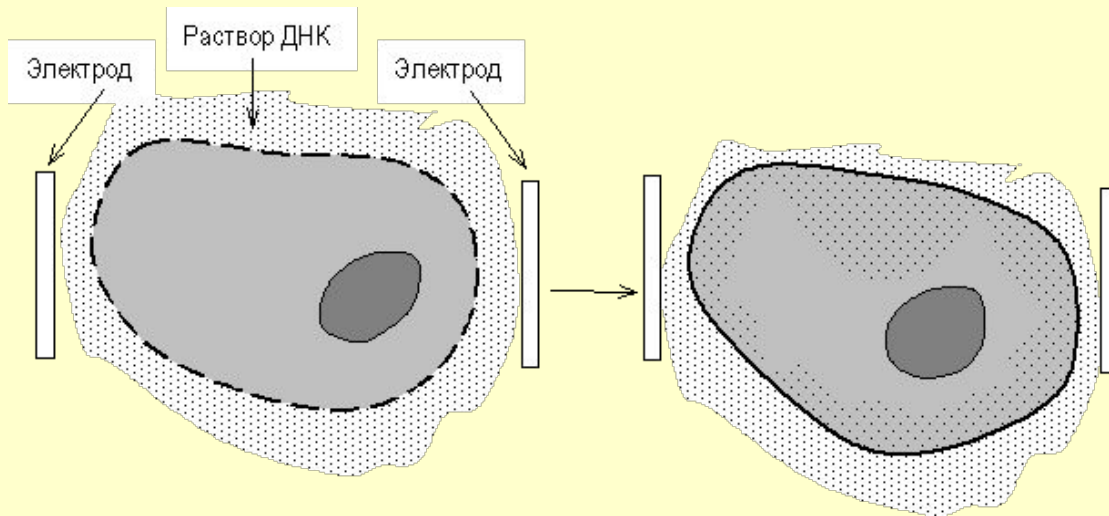
- **Изменение половых клеток дает организмы с новыми наследуемыми признаками. Организм, передающий новые признаки своему потомству, называется трансгенным, а новый ген, введенный в организм, — трансгеном.**

Таблица 1. Методы внесения ДНК в эукариотические клетки и область их применения

Методы переноса ДНК	Применимость для доставки генов	
	в культивируемые клетки	в ткани
Химические		
осаждение ДНК фосфатом Са	+	—
Физические		
электропорация	+	—
микроинъекция	+	—
бомбардировка частицами	+	+
простая инъекция	—	+
Слияние		
липосомы	+	+
Опосредованное рецепторами поглощение		
ДНК-белковые комплексы	+	+
Рекомбинантные вирусы		
аденовирусы	+	+
ретровирусы	+	—



Микроинъекция ДНК



Электропорация

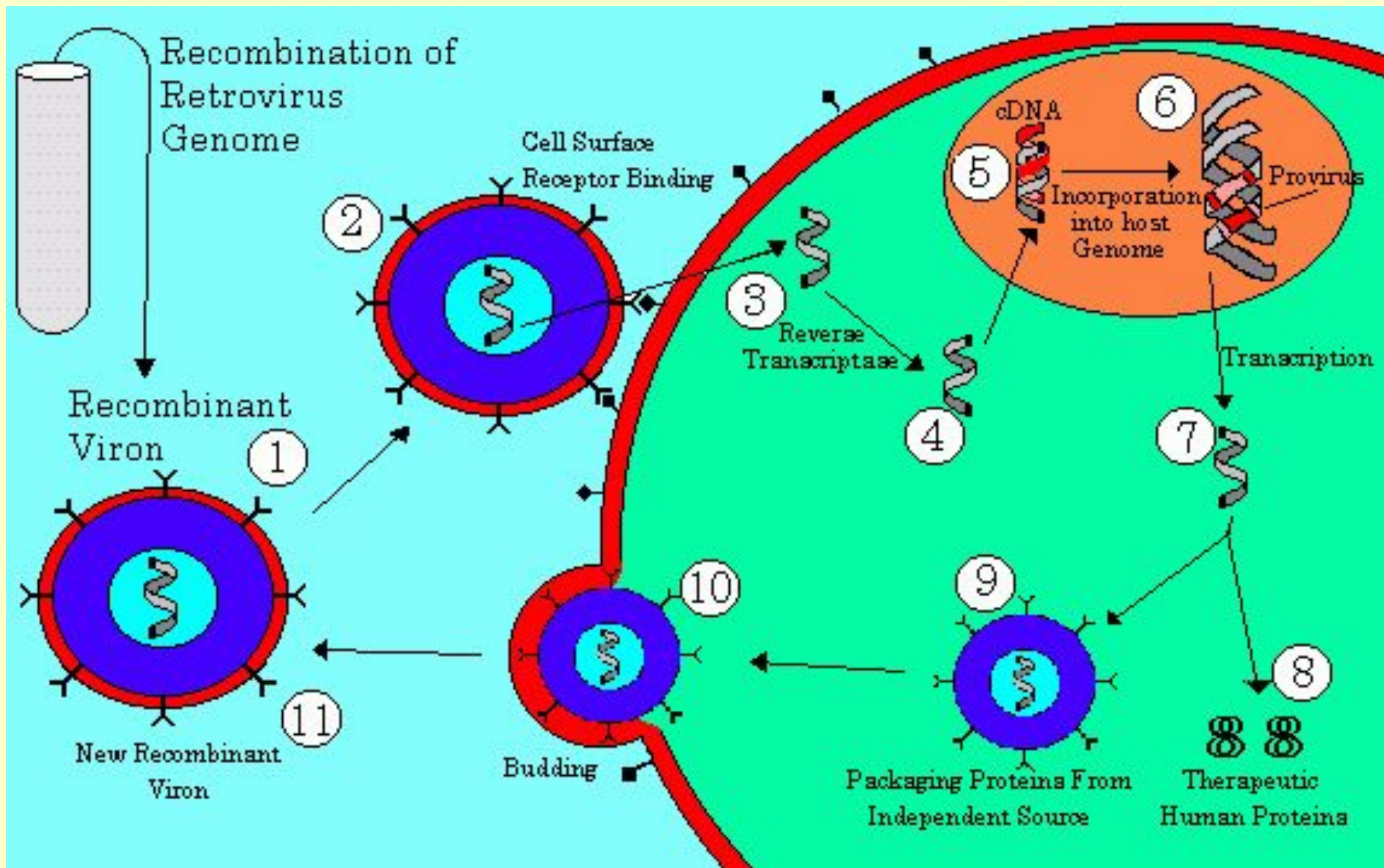


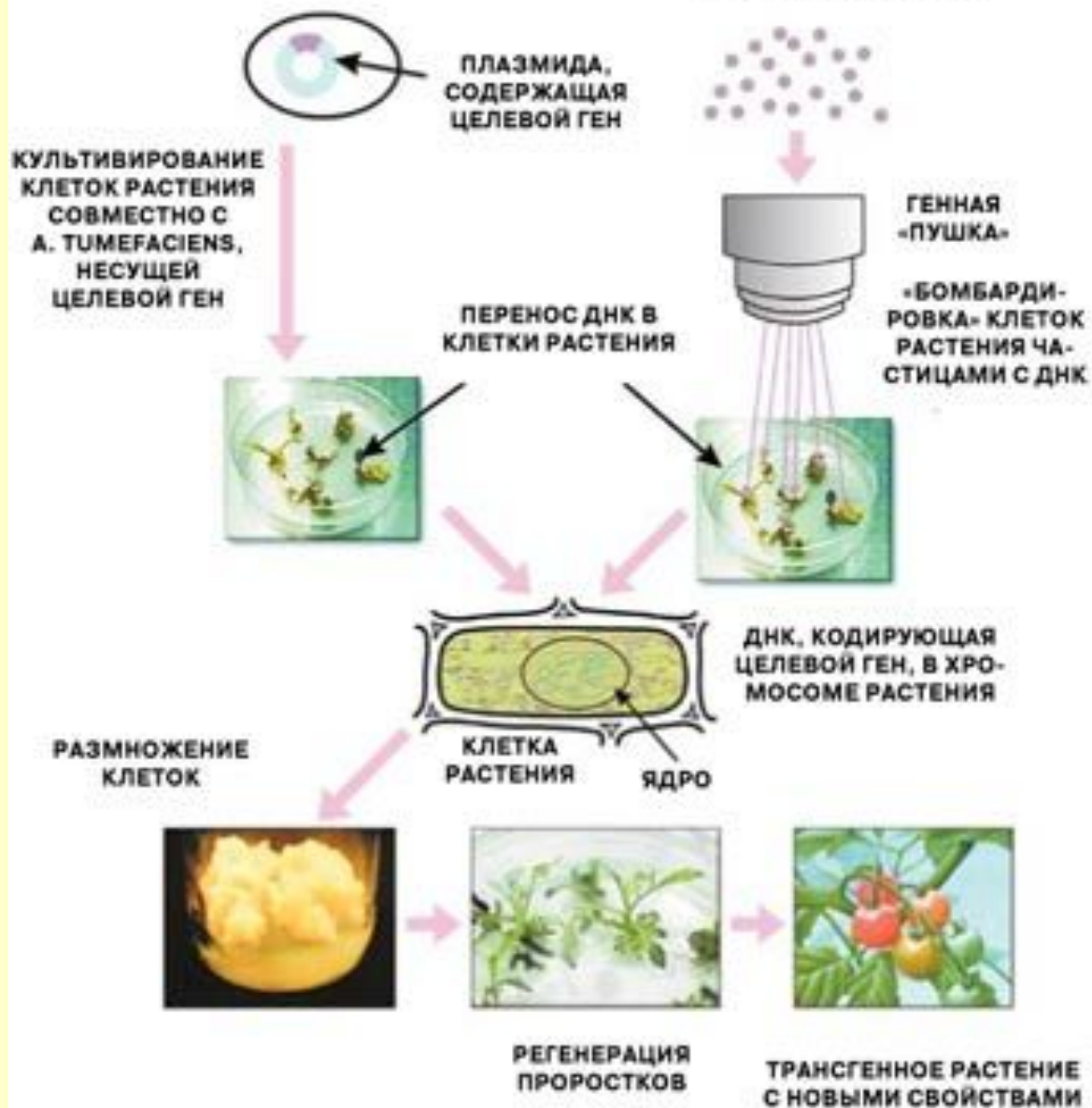
Схема доставки генов в клетку методом вирусного вектора

АГРОБАКТЕРИАЛЬНЫЙ МЕТОД

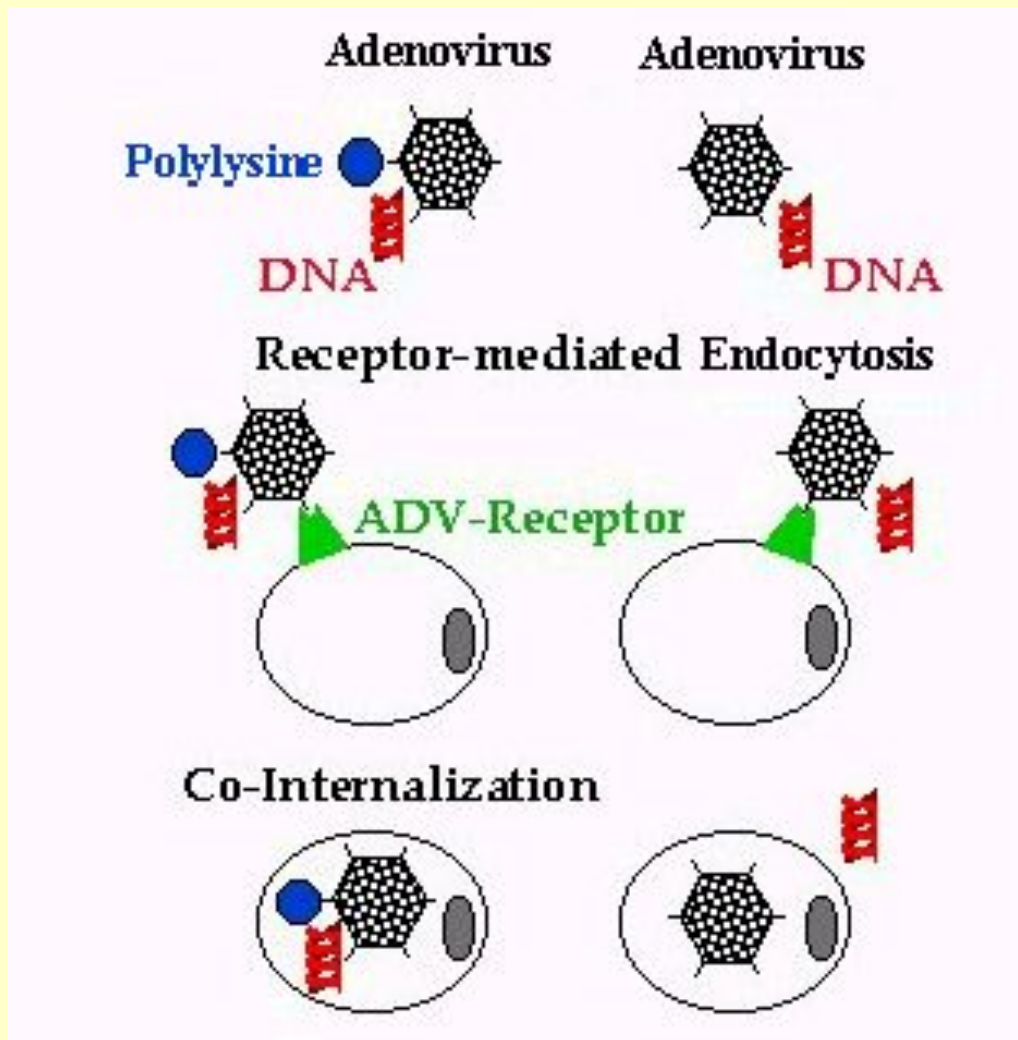
AGROBACTERIUM TUMEFACIENS

БАЛЛИСТИЧЕСКИЙ МЕТОД

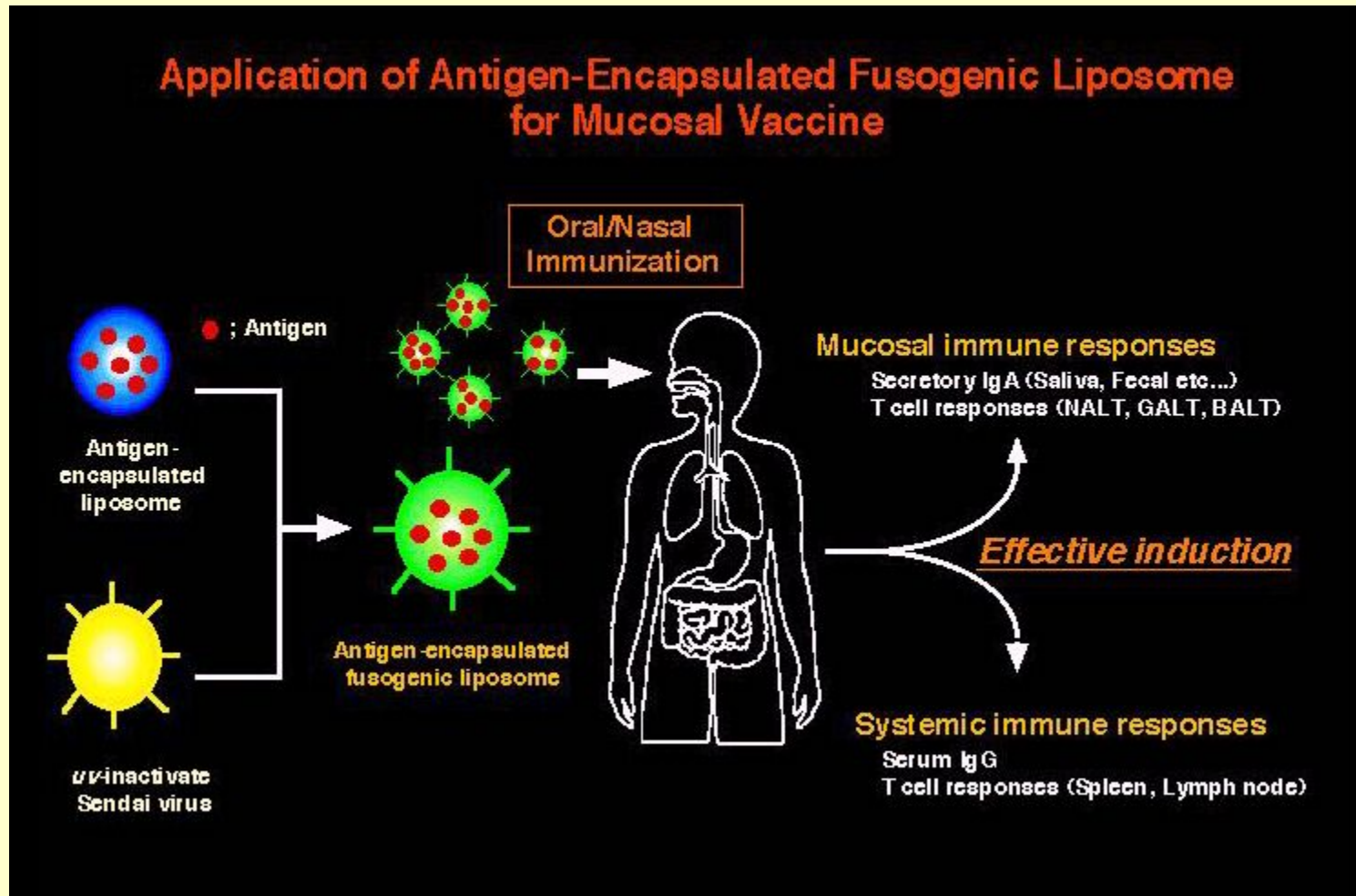
ЧАСТИЦЫ, ПОКРЫТЫЕ ДНК, СОДЕРЖАЩЕЙ ЦЕЛЕВОЙ ГЕН



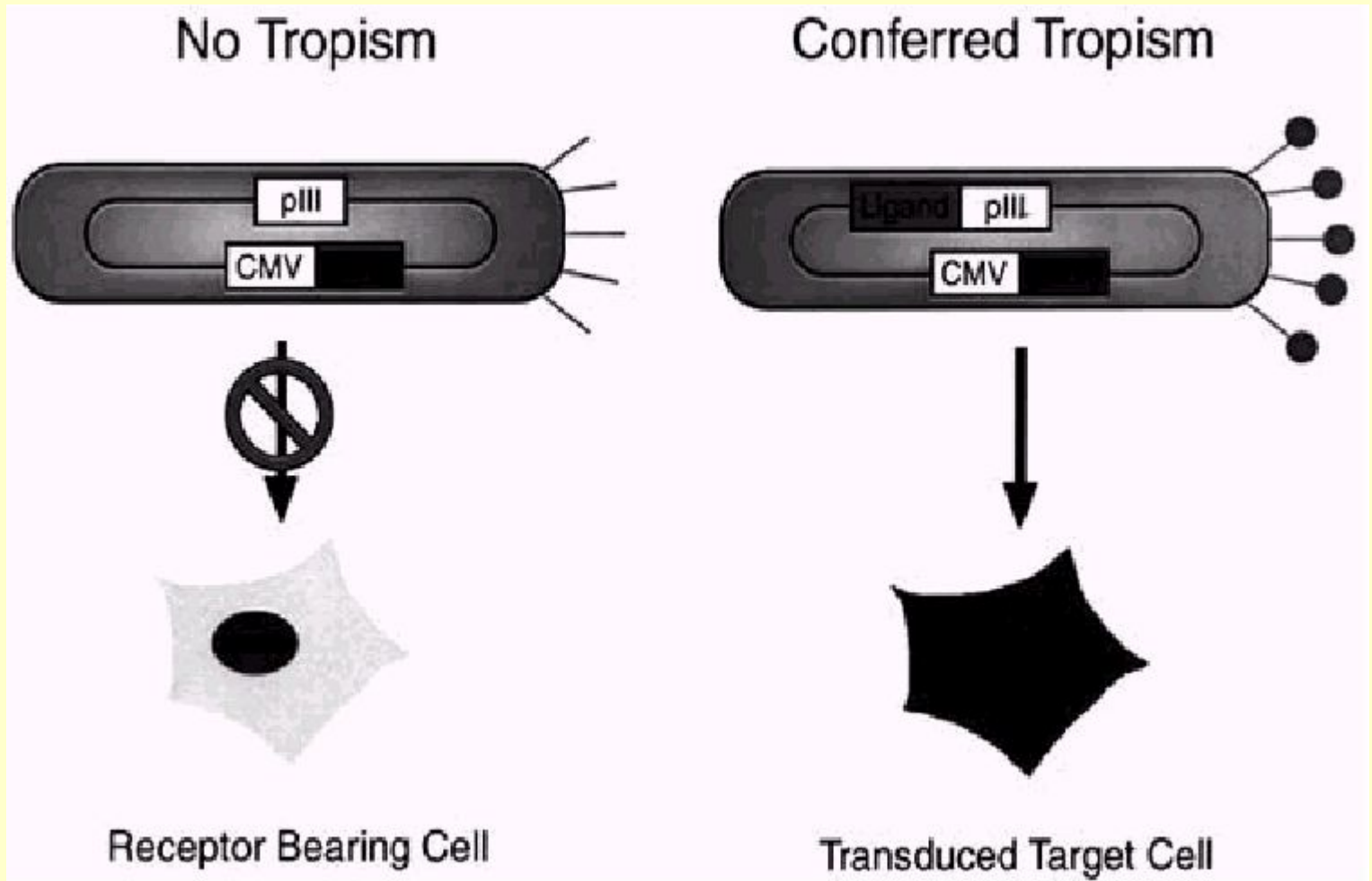
Рецептор – опосредованный эндоцитоз



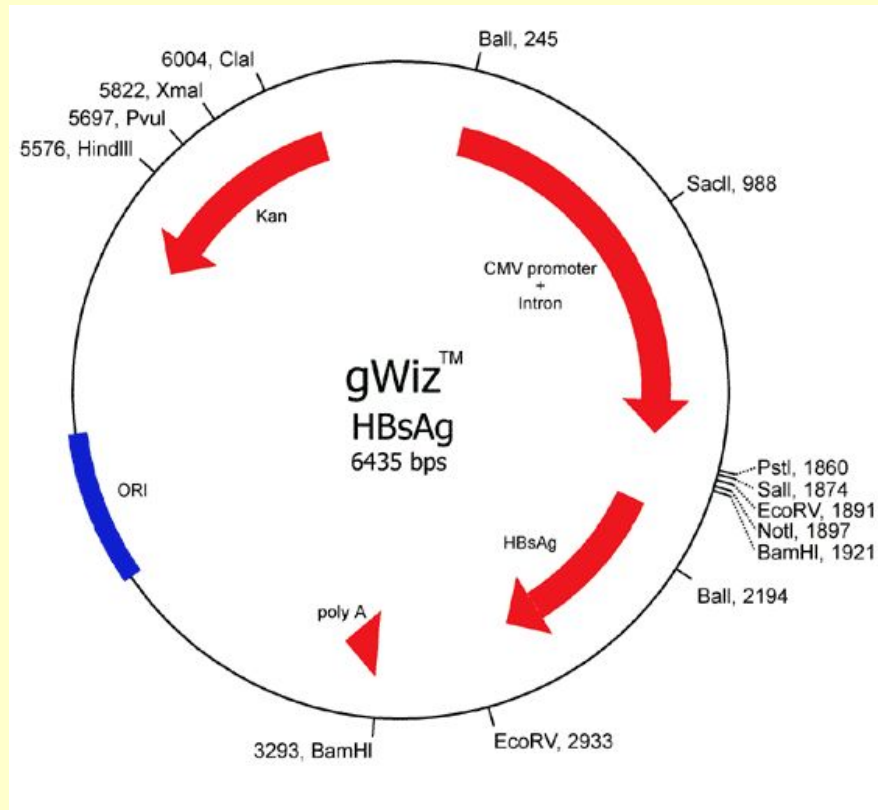
Вирус -липосомы



Бактериофаги



Плазмида



The Gene Gun

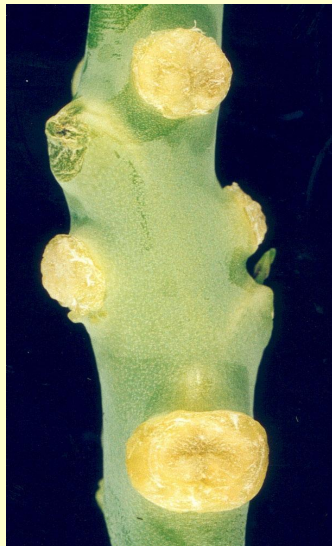
- **DNA vector is coated onto gold or tungsten particles**
- **Particles are accelerated at high speeds by the gun**
- **Particles enter plant tissue**
- **DNA enters the nucleus and incorporates into chromosome**
- **Integration process unknown**



Agrobacterium

A natural DNA delivery system

- A plant pathogen found in nature
 - Infects many plant species
- Delivers DNA that encodes for plant hormones
 - DNA *incorporates* into plant chromosome
- Hormone genes expressed and galls form at infection site



Gall on
stem



Gall on
leaf

The Galls Can Be Huge



Ti-Плазмиды способны трансформировать практически все двудольные растения, что делает их перспективным вектором для введения чужеродных ДНК в растения.

Продукты генов T-ДНК вызывают образование у растений корончатых галлов.

Опины – уникальные продукты, синтезируются в корончатом галле, затем секретируются и могут использоваться в качестве источника углеводов.

- **«голая» ДНК**
- **в составе плазмидного, фагового, вирусного вектора**
- **в комплексе с белком и др. полимерами**
- **в липидной оболочке, липосомы**

Генная инженерия в сельском хозяйстве

- *К концу 1980-х удалось успешно внедрить новые гены в десятки видов растений и животных — создать растения табака со светящимися листьями, томаты, легко переносящие заморозки, кукурузу, устойчивую к воздействию пестицидов.*
- **Список растений, к которым успешно применены методы генной инженерии, составляет около 50 видов, включая яблоню, сливу, виноград, капусту, баклажаны, огурец, пшеницу, сою, рис, рожь и много других сельскохозяйственных растений.**

- **Одна из важных задач - получение растений, устойчивых к вирусам,** так как в настоящее время не существует других способов борьбы с вирусными инфекциями сельскохозяйственных культур. Введение в растительные клетки генов белка оболочки вируса, делает растения устойчивыми к данному вирусу. *В настоящее время получены трансгенные растения, способные противостоять воздействию более десятка различных вирусных инфекций.*
- **Генные инженеры вывели трансгенные растения с удлинённым сроком созревания плодов.** Такие помидоры, например, можно снимать с куста красными, не боясь, что они перезреют при транспортировке.

- **Еще одна задача связана с защитой растений от насекомых-вредителей.** Применение инсектицидов не вполне эффективно, во-первых, из-за их токсичности, во-вторых, потому, что дождевой водой они смываются с растений. В генно-инженерных лабораториях Бельгии и США были успешно проведены работы по внедрению в растительную клетку генов земляной бактерии *Bacillus thuringiensis*, позволяющих синтезировать инсектициды бактериального происхождения. Эти гены ввели в клетки картофеля, томатов и хлопчатника. Трансгенные растения картофеля и томатов стали устойчивы к непобедимому колорадскому жуку, растения хлопчатника оказались устойчивыми к разным насекомым, в том числе к хлопковой совке. *Использование генной инженерии позволило сократить применение инсектицидов на 40 - 60%.*

Lab Testing The Transgenics

Insect Resistance



Transgene=
Bt-toxin protein

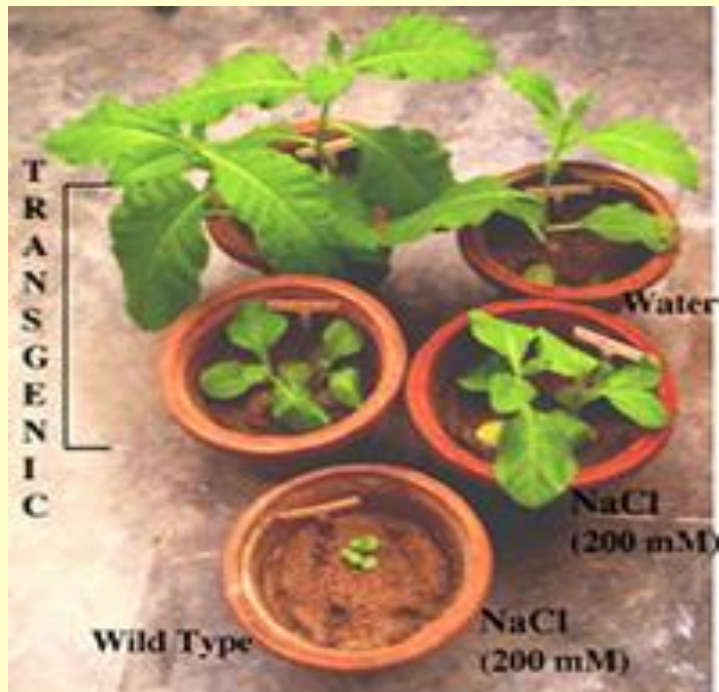
Cold Tolerance



Transgene=
CBF transcription factors

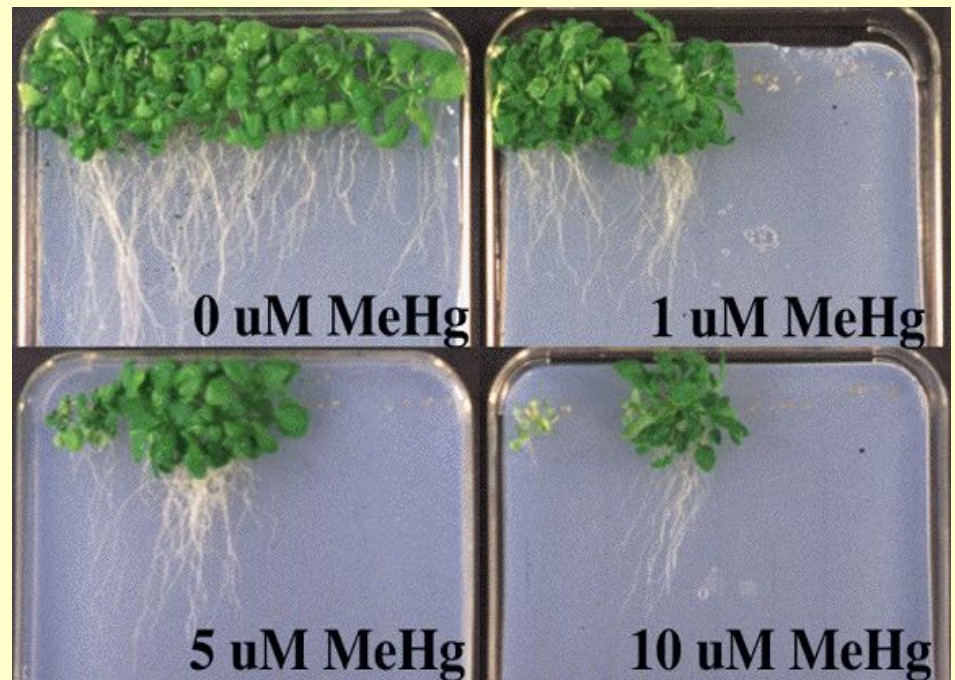
More Modern Examples

Salt Tolerant



Transgene=
Glyoxylase I

Mercury Resistance



Transgene=
Mercuric ion reductase

The Next Test Is The Field

Herbicide Resistance



Non-transgenics

↑ ↑
Transgenics

Перспективы контроля над генами

- Развитие генной инженерии сделает возможным **улучшение генотипа человека**. Масштабные задачи, стоящие сегодня перед человечеством требуют людей талантливых во многих отраслях, совершенных и высокоразвитых личностей, обладающих идеальным здоровьем, высочайшими физическими и умственными способностями. *Таких людей можно будет создать методами генной, генетической и клеточной инженерии. Эти методы будут применимы как к только появляющимся на свет детям, так и к уже взрослым людям. Человек сможет многократно усилить свои собственные способности, и увеличить способности своих детей.*

- Будут полностью ликвидированы генетические причины заболеваний, все люди будут совершенно здоровыми. Старение будет остановлено и никому не придётся сталкиваться с увяданием, с упадком сил, с дряхлостью. *Люди станут практически бессмертными* - смерть будет становиться всё более редким явлением, перестав быть неизбежностью.
- Известно, например, что одной из причин старения является сокращение теломер при каждом делении клетки. Теломеры - это копии фрагмента TTAGGG, расположенные на концах всех хромосом и защищающие ДНК как металлические наконечники шнурков. Обычно клетка умирает, пережив *около 50 процессов деления*, однако учёным удалось добиться неограниченного деления клеток. *В конце 1990-х* ученым удалось внедрить в клетки открытый ими ген, отвечающий за выработку белка теломеразы, восстанавливающего теломеры, и тем самым сделать их бессмертными.

- Излечив болезни и остановив старение, человек примется за **улучшение собственного организма**, за его *перестройку по собственным планам и желаниям*. Люди смогут произвольным образом лепить свое собственное тело и мозг, *добавлять себе новые способности*, возможность жить под водой, летать, питаться энергией солнечного света, добавлять новые отделы мозга, новые органы тела. Любители модификации своего тела смогут *сделать свои тела похожими на тела животных или даже химер*, таких как кентавры или русалки.

- **Человек сможет воссоздать организмы, исчезнувшие ранее с лица Земли - мамонтов, птицу дронга, динозавров, а также создавать совершенно новые организмы - драконов, единорогов, живые дома, летающие деревья. Новые виды животных, растений и даже совершенно новых существ будут создаваться в промышленных целях, как форма творчества, для освоения космоса. С помощью генной модификации можно будет усилить интеллект собак, шимпанзе, дельфинов, других животных. Человек больше не будет одинок в царстве жизни на Земле.**

- **Идущий параллельно прогресс в области нанотехнологий приведёт к тому, что границы между живым и неживым будут стёрты. Нанороботы и роботы смогут выполнять все функции биологических объектов, кибернетические организмы будут сочетать в себе биологические и машинные части, андроиды будут неотличимы от биологических людей. Искусственный интеллект и загруженные в компьютер люди будут разумны так же как и личности, существующие в живых мозгах. В конце концов, неизбежна перестройка всей косной материи в умную материю, организованную на нано-уровне, обладающую способностью перестраивать себя и служить носителем разума.**

Птичий грипп победят трансгенные куры



- Шотландские биологи надеются победить эпидемию птичьего гриппа, создав новую породу генетически модифицированных кур, невосприимчивых к этому вирусу.
- Слева: Хелен Санг, руководитель проекта по выведению гриппостойкой породы кур. Справа: одна из участниц эксперимента (фото с сайта www.prnewswire.com)

- **Ожидается, что в течение следующих недель ученые приступят к имплантации генетического материала птичьего гриппа в куриные яйца. По словам руководителя проекта Хелен Санг (Helen Sang) из Рослинского института, если эксперимент пройдет удачно, то в скором будущем нас ожидает появление новой породы кур, совершенно нечувствительной к заразе, нанесшей удар по птицеводам Евразии.**
- *Учитывая тот факт, что основные разносчики гриппа — постоянно мигрирующие дикие птицы, создание генетически модифицированных пород домашних птиц является, по всей видимости, единственным по-настоящему эффективным способом долгосрочного решения проблемы. Дело здесь, разумеется, не только в благосостоянии птицеводов: большинство случаев заражения человека смертельно опасным штаммом H5N1 происходило из-за контакта с больными курами и утками. И чем реже будут вспыхивать эпидемии в курятниках, тем ниже будет риск возникновения очередной пандемии.*

Трансгенные рыбы заменят вымирающих жителей моря



- **На мировом рынке морепродуктов в настоящее время преобладают всего четыре вида рыб: лосось, сибас, тунец и треска. Сейчас почти половина всей рыбы, потребляемой человеком, выращивается на специальных рыбных фермах, и, как считает автор новой книги «Четыре рыбы: Будущее последней дикой еды» Пол Гринберг, наступил момент изменений.**
- **«Судьбы» всех этих четырех видов рыб сложились по-разному, пишет журнал The Economist. Для существования лосося необходимы реки, которые почти заблокированы и загрязнены человеком. Но лососи легко приспособляются к разведению в неволе, и в результате, рыбные фермы Чили сегодня поставляют почти столько же лососины, сколько все реки мира вместе взятые.**
- **Средиземное море сейчас, вероятно, представляет собой прототип Мирового океана в недалеком будущем. Европейский сибас когда-то в изобилии водился в мелких прибрежных водах. Теперь эти рыбы живут в сетях — и выращенных в неволе особей этого вида в десять раз больше, чем диких.**



- **Флуоресцентная зеленая свинья** после спаривания с обыкновенным самцом родила одиннадцать поросят, два из которых унаследовали ее трансгенные свойства, сообщает агентство "Синьхуа".



- В декабре 2006 года группа китайских ученых под руководством профессора Лю Чжунхуа создала трех трансгенных свиней, введя в эмбрионы зеленый флуоресцентный белок. В ультрафиолетовом освещении животные светятся зеленым светом.
- *Теперь доказано, что свойство, искусственно приданное организму при помощи трансфера ядер соматических клеток, может успешно передаваться по наследству.* В понедельник, 7 января, одна из трех свиней родила одиннадцать поросят. У двух из них часть морды, языки и ножки светятся зеленым светом в ультрафиолете.
- Общая цель экспериментов с трансгенными свиньями - выращивание животных, которые смогут стать донорами органов для человека.

- **"СУПЕР-МЫШЬ"**

- **Она способна много часов бежать со скоростью 20 метров в минуту, не уставая. Живет она дольше, сексом занимается чаще, а ест больше, но не толстеет.**

Американские ученые, создавшие этих мышей, – сейчас у них уже имеется целая колония из 500 особей – говорят, что сами удивились их возможностям, особенно если учесть, что супермыши созданы в результате стандартной процедуры по генетической модификации одного-единственного гена, регулирующего обмен веществ. Между прочим, этот ген у мышей – общий с людьми.

Фармацевтические компании, возможно, смогут на базе этих результатов разрабатывать новые препараты, улучшающие работу мышц, что будет полезно людям с определенными заболеваниями. Профессор Хенсон признал, что существует вероятность злоупотребления такими препаратами среди спортсменов.

Трансгенных коз одобрили



- Ученые Института биологии гена РАН совместно с коллегами из Белоруссии создали трансгенных животных, которые дают молоко с *человеческим белком лактоферрином*. На днях российский биотехнологический центр трансгенеза в фарминдустрии стал резидентом инновационного проекта "Сколково".

- **Работы по выведению животных, которые могли бы давать молоко с человеческими белками, идут во многих странах мира. В России эти работы начали ученые под руководством директора трансгенбанка Игоря Гольдмана из Института биологии гена (ИБГ) РАН более 10 лет назад. Впервые об этом перспективном научном направлении "Известия" рассказали еще в июне 2004 года.**

Но поначалу идеи наших генетиков не нашли поддержки на родине - не было тогда в стране ни чистопородных коз, ни денег. Зато понимание, финансовую поддержку и породистых коз ученые нашли в Союзном государстве России и Белоруссии. За прошедшие годы им удалось создать генно-инженерные конструкции, которые позволяли внедрить ген человеческого белка лактоферрина в организм животных. Их испытали на мышах, а потом внедрили в яйцеклетки коз. Получили козлов-производителей, от них - потомство козочек, которые дают молоко с волшебным человеческим белком.

- **Лактоферрин - тот самый белок, которым материнское молоко заменяет новорожденному младенцу пока еще не сформировавшийся у него иммунитет. Он защищает от болезней, стрессов, холода и жары - от всего, что может повредить малышу. А при встрече с инфекциями работает как природный антибиотик, уничтожая бактерии, вирусы и грибки.**

- Дети, находящиеся на искусственном вскармливании, лактоферрин не получают, поэтому чаще болеют и среди них значительно выше заболеваемость и смертность, - рассказывает заведующая лабораторией трансгенеза ИБГ РАН Елена Садчикова. - Чтобы помочь им, можно было бы использовать донорское молоко. Но его мало, к тому же оно может быть источником опасных вирусов и бактерий, поэтому его использование в качестве источника лактоферрина в России запрещено.

Но лактоферрин нужен не только детям, он эффективен и в лечении онкологических и многих других заболеваний. Не случайно один его грамм на мировом рынке стоит до 3000 долларов. Во многих странах мира уже вывели трансгенных коров, чье молоко содержит человеческий лактоферрин. Недавно об этом отрапортовали даже китайцы.

- Однако наши ученые не случайно выбрали коз. **Во-первых**, коровье молоко переносят далеко не все дети, а козье издавна применяется в лечебном питании. **Во-вторых**, высокоудойная коза дает до тонны молока за год. **В-третьих**, выделенный из него белок надо зарегистрировать как препарат, что требует времени, а козье молоко можно просто пить и детям, и взрослым. **В-четвертых**, содержание в нем лактоферрина в среднем в 10 раз выше, чем в женском грудном молоке, и он полностью идентичен человеческому.

Цели ученых нашли поддержку у российских фермеров. Две козьи фермы для получения лечебного молока уже построены - в Подмосковье и рядом с Великим Новгородом. Фермеры готовы наладить производство молока и различных продуктов из него. А тем временем генетики создали и технологию выделения из него лечебного лактоферрина, а также разделения человеческого и собственного белка животных. Теперь предстоит провести все положенные испытания препарата и зарегистрировать его как лекарство. Под зонтиком "Сколково", уверены генетики, все эти работы пойдут гораздо быстрее.

inauka.ru

Людам будут пересаживать органы от свиней



Людей спасут
модифицированные свиньи

Китайские учёные изобрели новый метод, который должен произвести революцию в медицине. Они предлагают использовать клонированных свиней с целью пересадки органов людям.

Учёными Нанкинского медицинского университета удалось **определить ген, который отвечает за отторжение органов животных при пересадке их людям.** Они изменили ген и добились того, что организм человека стал принимать органы. Сейчас исследуют возможность отторжения тканей при длительном использовании.

Прогнозы китайцев весьма оптимистичны. За 5 лет они проведут несколько клинических испытаний новой методики. **Планируют сначала протестировать роговицу глаза и кожу, после перейдут к исследованию операций по пересадке почек, печени, сердца.**

Новая методика сделает процедуру пересадки органов значительно дешевле. Например, **стоимость полученной от свиньи роговицы всего 1,5 тыс. долларов.**

Клетки для клонирования берут у генетически модифицированных свиней. Планируется производить несколько сотен животных в год. Поросята появляются на свет посредством операции кесарева сечения, тут же изолируются от матерей и помещаются в стерильную среду. Постоянно будут проводиться карантинные проверки для подтверждения качества органов.

Генетически модифицированные кошки для исследования ВИЧ



- Американский исследователь Эрик Poeschla создал три светящихся генетически модифицированных кошек которые являются носителями гена зеленого флуоресцентного белка (GFP). Ген был доставлен в яйцеклетки с помощью вируса.
- Ген GFP, кодирует белок, который светится при освещении в определенных частотах света.
- Разработка и совершенствование техники GFP удостоена Нобелевской премии по химии в 2008 году. В случае светящихся кошек, ученые надеются использовать ГМ животных в исследовании ВИЧ / СПИДа.



One of the transgenic mice used in bioclock studies



- **Процесс получения трансгенных животных оказался гораздо сложнее введения новых генов бактериям. Однако к настоящему времени создано много трансгенных животных. Вот только несколько примеров:**
- **• мыши** модифицированы для различных целей. Некоторым введены человеческие гены для получения нечеловеческой **модели человеческих болезней**. Например, измененные методами генетической инженерии мыши несут человеческий ген клеточного рецептора для вируса полиомиелита. В отличие от нормальных мышей они могут быть заражены данным вирусом, у них даже развиваются симптомы этой болезни. Другим примером могут стать мыши с иммунной системой человека, которые позволяют исследовать ее без участия больных людей;
- **• куры** успешно изменены генными инженерами и несут **яйца, в белке которых содержатся потенциально полезные человеческие белки**;
- **• генетически модифицированные овцы** продуцируют **человеческий ген альфа 1-антитрипсина в молоке**. Люди, наследующие два нефункционирующих гена этого белка, страдают болезнью, называемой альфа 1-антитрипсиновой недостаточностью. Она поражает легкие и иногда печень;
- **• исследователи из Гелфа, Онтарио** создали **«Енвиросвинью»**, генетически модифицированную так, что в ее навозе содержится на **60% меньше фосфора**;
- **• козы**, измененные методами генетической инженерии, дают **молоко, содержащее человеческий инсулин или белки паутины пауков (не одновременно, конечно)**.
- **Методы модификации, использованные при работе с различными животными, отличаются, но два метода, примененных на мышах, дают представление о типичной модификации (рис. 12.5).**

- В методе эмбриональных стволовых клеток используются стволовые клетки эмбриона, обладающие потенциалом превращаться в клетки любой ткани организма. Они собираются с внутренней стороны бластоцита мышей (мышь на очень ранней стадии развития после зачатия).
- Ген, выражение которого исследователи хотят получить у мыши, выделяется и клонируется методами, описанными выше. В составе соответствующего вектора новый ген, несущий необходимые последовательности промотора и энхансера, вводится в стволовые клетки. Среди полученных в результате клеток ведется поиск несущих нужный ген, успешно встроенный не просто в клетку, а в нужное место генома. Эти трансформированные клетки культивируются, потом вводятся во внутренний массив клеток мышинового бластоцита, который переносится псевдобеременной самке, то есть скрещенной со стерильным самцом для инициации гормональных изменений, приводящих к изменениям в матке. Эти изменения позволяют ей принять эмбрион.
- Не более трети эмбрионов разовьется в здоровых мышат. Из них только у 10 — 20% будет обнаружен желаемый ген, и мышата будут гетерозиготными, то есть несущими одну копию данного гена.
- Полученных мышей скрещивают друг с другом, а среди их потомства ищут одну из четырех мышей (по закону Менделя), которая будет гомозиготной, т.е. несущей две копии гена. Скрещивание гомозиготных мышей стабилизирует новую линию трансгенных особей, у которых выражается новый ген, введенный исследователями.

- **Второй метод называется методом проядра. Он заключается в получении свежееоплодотворенных яйцеклеток, а донорская ДНК (получение которой описано в предыдущем методе) вводится в головки сперматозоидов до образования проядра. Как только оплодотворенное яйцо образует ядро и делится, превращаясь в двухклеточный эмбрион, он вводится псевдобеременной мыши. После этого процесс полностью повторяется, как в первом методе.**

- Пищевые риски



- В первую очередь употребление ГМ-продуктов грозит **ослаблением иммунитета**. В результате непосредственного действия трансгенных белков появляется возможность возникновения **аллергических реакций**. Влияние новых белков, которые продуцируют встроенные гены, неизвестно. Человек их ранее никогда не употреблял и поэтому неизвестно, являются ли они аллергенами.

- Также у человека появляется **устойчивость к антибиотикам**, что делает процесс лечения многих заболеваний очень сложным. Очень часто в ГМ-растение внедряется ген, отвечающий за устойчивость к антибиотикам в качестве гена-маркера. Многие ГМ-виды содержат гены антибиотической резистентности. Если такой ген резистентности передается болезнетворным бактериям, то они получают иммунитет против действия антибиотиков. Таким образом, лечение обычными антибиотическими средствами становится менее эффективным. Уже, к сожалению, **известны случаи гибели людей по этой причине**.

- У человека *нарушается здоровье в связи с накоплением в организме гербицидов, так как ГМ-продукты имеют свойство их аккумулировать.*

- Существует **возможность отдаленных канцерогенных эффектов** (опасность раковых заболеваний).

- **Черный список продуктов, в которых используют ГМО чаще всего:**

ГМ соя может входить в состав хлеба, печенья, детского питания, маргарина, супов, пиццы, еды быстрого приготовления, мясных продуктов (например, вареной колбасы, сосисок, паштетов), муки, конфет, мороженого, чипсов, шоколада, соусов, соевого молока и т. д.

ГМ кукуруза (маис) может быть в таких продуктах как еда быстрого приготовления, супы, соусы, приправы, чипсы, жвачка, смеси для пирожных.

ГМ крахмал может содержаться в очень большом спектре продуктов, в том числе и в тех, которые любят дети, например, в йогуртах.

70% популярных марок **детского питания** содержат ГМО.

Около 30% **кофе** на рынке СНГ — генетически модифицировано. Та же ситуация с **чаем**.

- **Химическая атака**

Если находятся компании, которые уверенно заявляют об отсутствии ГМО в своём товаре, то ни одна из них не берётся заявлять подобное в отношении *пищевых добавок*: соевого белка, эмульгаторов, стабилизаторов, отвердителей, загустителей, имитаторов вкуса, запаха и пр. Химия – удивительная наука, сумевшая в XX веке не только максимально увеличить численность блондинок, но и подарить нам икру, не имеющую ничего общего с рыбным промыслом.

Добавки позволяют экономить: уменьшать убытки от порчи товара, значительно снижать себестоимость. Изменилась рецептура приготовления еды, входящей в минимальную потребительскую корзину. Поменялся вкус сгущёнки, мясных полуфабрикатов, шоколада, сыра и многой другой, казалось бы, простой еды.

В результате продукты, которые раньше даже педиатры советовали включать в детский рацион, теперь если не представляют реальной угрозы, то уж точно не имеют необходимой пищевой ценности.

Современное питание, которое должно служить основным – поставщиком всего полезного в наш организм, вследствие большой доли синтетических заменителей утратило свою минеральную и витаминную ценность, но при этом не перестало быть калорийным, – утверждает Дмитрий Макаренко, ассистент кафедры терапевтической стоматологии Медицинского института Украинской ассоциации народной медицины. – В результате мы имеем заметно «помолодевшие» недуги, хотя медицина не стоит на месте.

Например, раньше для производства творожной массы требовались натуральное сливочное масло, творог, сахар и порошок яичной скорлупы. Теперь в ход идут *дешёвые заменители* сахара, соевый белок, а собственно творога берут на 50% меньше. *Ароматизаторы*, идентичные натуральным, роднит с натуральными только запах, да и то не всегда. Не обойтись и без эмульгаторов – органических кислот, придающих нужному продукту приятную кремовую консистенцию. Твёрдую консистенцию получают, используя растительные масла, обогащённые молекулами водорода.

Что вреднее для здоровья – продукты, произведённые по инженерно-синтетическим технологиям, или нервные опасения, что такой еды уже предостаточно в повседневном меню, – не определит ни одно исследование. А если вдруг и определит, то его результаты засекретят: уж больно много заинтересованных





- **Детей защитят от ГМО**
- **Законопроект, призванный полностью запретить использование генно-модифицированных организмов (ГМО) в продуктах детского питания, внесен на рассмотрение в Государственную Думу 2 февраля. Речь Законопроект, призванный полностью запретить использование генно-модифицированных организмов (ГМО) в продуктах детского питания, внесен на рассмотрение в Государственную Думу 2 февраля. Речь идет о поправках в статью 15 Федерального закона "О качестве и безопасности пищевых продуктов". По мнению автора документа, депутата Антона Белякова, несмотря на наличие ряда уже действующих ограничений на использование ГМО в детском питании, они не охватывают весь спектр продукции для детей, что может привести к нанесению вреда здоровью подрастающего поколения.**

- Истоки развития генной инженерии растений лежат в 1977 году, когда и произошло открытие, позволившее использовать почвенный микроорганизм *Agrobacterium tumefaciens* в качестве орудия введения чужих генов в другие растения. В 1987 году были произведены первые полевые испытания генетически модифицированных сельскохозяйственных растений. В итоге был выведен сорт помидоров, устойчивый к основным сельскохозяйственным инфекциям. В 1992 г. в Китае начали выращивать табак, который отпугивал вредителей.

Но начало массовому производству модифицированных продуктов положили в 1994 г., когда в США появились помидоры сорта *FlavrSavr* с «отложенным созреванием», которые не портились при перевозке и могли храниться до 6 месяцев при температуре 14-16 градусов. (Дозревали они при комнатной температуре).

В 1995 году американская компания Monsanto запустила на рынок ГМ-сою *RoundupReady*. В ДНК растения был внедрен чужеродный ген был внедрен чужеродный ген для повышения способности культуры противостоять сорнякам. Это позволило значительно увеличить урожайность сои и, по мнению сторонников производства таких продуктов, позволило в будущем говорить о решении проблемы глобального голода на планете. Впоследствии был выведен картофель, который содержит гены земляной бактерии, убивающей колорадского жука, стойкая к засухам пшеница, в которую вживили ген скорпиона, морозо- и болезнестойчивые помидоры с генами морской камбалы и трески, соя и клубника с генами бактерий, повышающих их урожайность и «иммунитет».

В список растений, выращиваемых с применением методов В список растений, выращиваемых с применением методов генной инженерии В список растений, выращиваемых с применением методов генной инженерии, также входят яблоня, слива, виноград, капуста, баклажаны, огурец, пшеница, рис, рожь и множество других сельскохозяйственных культур. Созданы сорта кофе без кофеина В список растений, выращиваемых с применением методов генной инженерии, также входят яблоня, слива, виноград, капуста, баклажаны, огурец, пшеница, рис, рожь и множество других сельскохозяйственных культур. Созданы сорта кофе без кофеина, клубника с меньшим содержанием сахара, рис с повышенным содержанием железа, и так далее. Активно применяются эти технологии и в непищевом сельском хозяйстве – например, при выращивании хлопка, льна, люцерны и ряда других культур.

В 2006 году ГМ-культуры выращивали в 22 странах мира, среди которых Аргентина, Австралия, Канада, Китай, Германия, Колумбия, Индия, Индонезия, Мексика, Южная Африка, Испания, США...

Широкое применение генно-модифицированные организмы получили и в медицине. К примеру, еще в 1982 г. был зарегистрирован в качестве лекарства человеческий инсулин, получаемый с помощью генетически модифицированных бактерий. *В настоящее время ГМО широко используются в фундаментальных и прикладных научных исследованиях. С их использованием исследуются закономерности развития некоторых заболеваний (болезнь Альцгеймера, рак), процессы старения и регенерации, изучается функционирование нервной системы, решается ряд других актуальных проблем биологии и медицины*





- **ГМО и дети**

По данным заведующей лабораторией детского питания НИИ педиатрии РАМН Татьяны Боровик, в России на данный момент 70% младенцев находятся на искусственном вскармливании. Это значит, что здоровье многих российских детей зависит от того, насколько качественной будет это «искусственная» еда.

По ее словам, иммунная система человека окончательно формируется только к 12-14 годам, а кишечная флора, адаптированная к «взрослой» пище – к 3-м годам. Слизистая оболочка По ее словам, иммунная система человека окончательно формируется только к 12-14 годам, а кишечная флора, адаптированная к «взрослой» пище – к 3-м годам. Слизистая оболочка пищеварительного тракта По ее словам, иммунная система человека окончательно формируется только к 12-14 годам, а кишечная флора, адаптированная к «взрослой» пище – к 3-м годам. Слизистая оболочка пищеварительного тракта ребенка обладает повышенной проницаемостью для питательных веществ. Это компенсируется высоким содержанием разнообразных иммуноглобулинов и лимфоцитов в крови По ее словам, иммунная система человека окончательно формируется только к 12-14 годам, а кишечная флора, адаптированная к «взрослой» пище – к 3-м годам. Слизистая оболочка пищеварительного тракта ребенка обладает повышенной проницаемостью для питательных веществ. Это компенсируется высоким содержанием разнообразных иммуноглобулинов и лимфоцитов в крови и слизистой оболочке По ее словам, иммунная система человека

- **Законодательство ЕС**

Существовавший до 2004 года запрет на использование ГМО в Европе полностью защищал детей от попадания трансгенных продуктов в их рацион. После снятия общего запрета в европейских странах начались активные переговоры о введении моратория на использование ГМО в детском питании, и есть все предпосылки, что такой мораторий будет введен.

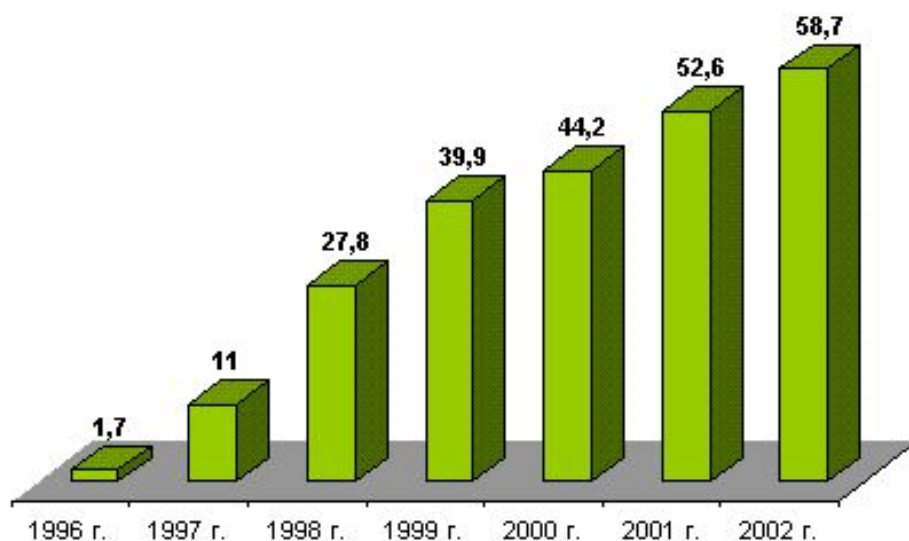
В Италии Декретом Президента республики введен мораторий на использование ГМО для специального питания грудных младенцев и детей младшего возраста еще 7 апреля 1999г.

В России в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами «Продукты детского питания должны соответствовать функциональному состоянию организма ребенка с учетом его возраста и быть безопасными для здоровья ребенка. В пищевых продуктах в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами «Продукты детского питания должны соответствовать функциональному состоянию организма ребенка с учетом его возраста и быть безопасными для здоровья ребенка. В пищевых продуктах допускаются к использованию пищевые добавки, не оказывающие, по данным современных научных исследований, вредного воздействия на жизнь и здоровье человека и жизнь и здоровье будущих поколений».

Ключевое слово здесь – «современные научные исследования», сослаться на которые противники использования ГМО, как правило, не могут...

Кроме того, еще в 2007 году глава Роспотребнадзора Геннадий Онищенко подписал постановление, согласно которому с 1 сентября 2007 года все продукты, содержащие более 0,9% генно-модифицированных организмов (ГМО), должны иметь специальную маркировку.

Мировые площади заняты трансгенными культурами, млн. га

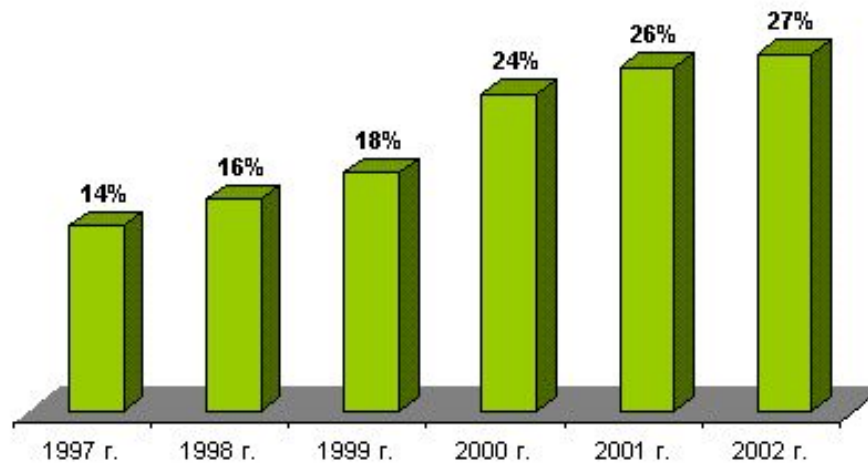


Относительные площади возделывания трансгенных культур, 2002 г.

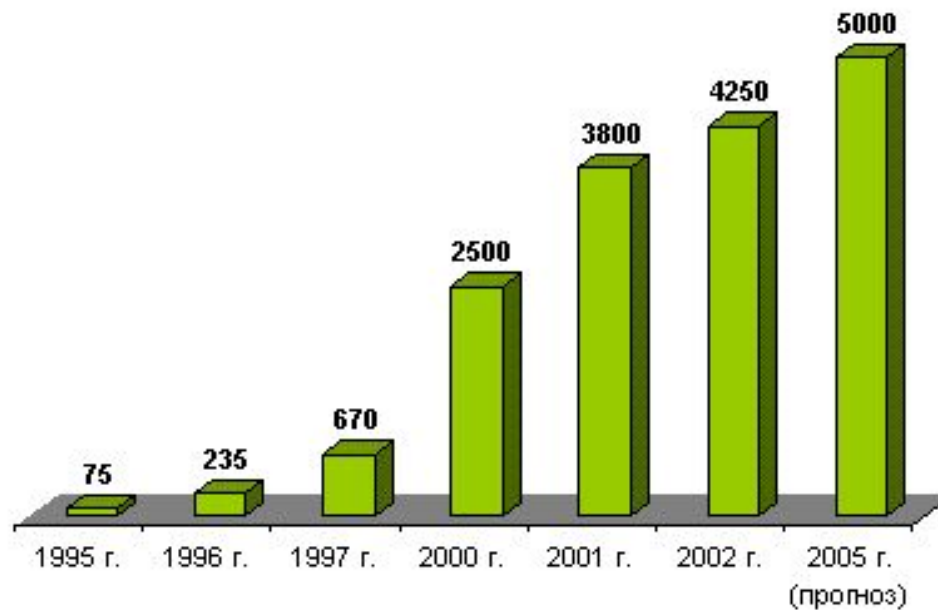


- США - 39,0 млн.га (66%)
- Аргентина - 13,5 млн. га (23%)
- Канада - 3,5 млн.га (6%)
- Китай - 2,1 млн.га (4%)

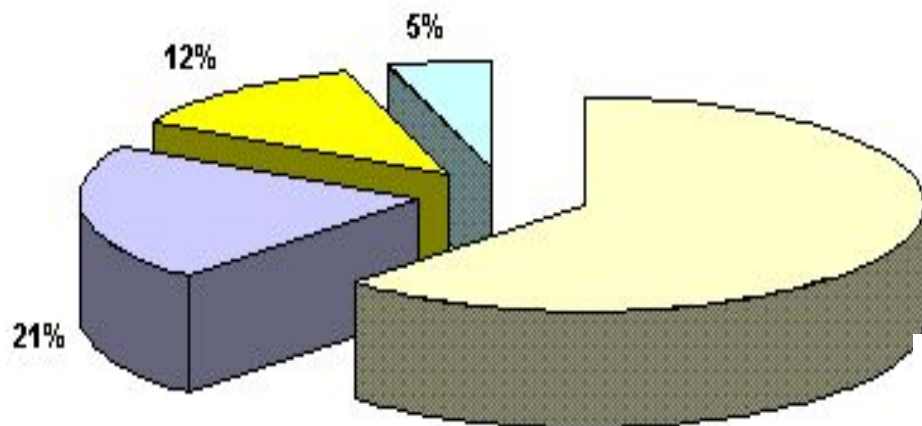
Увеличение относительной площади выращивания трансгенных культур в развивающихся странах



Объем продаж трансгенных культур, млн. \$



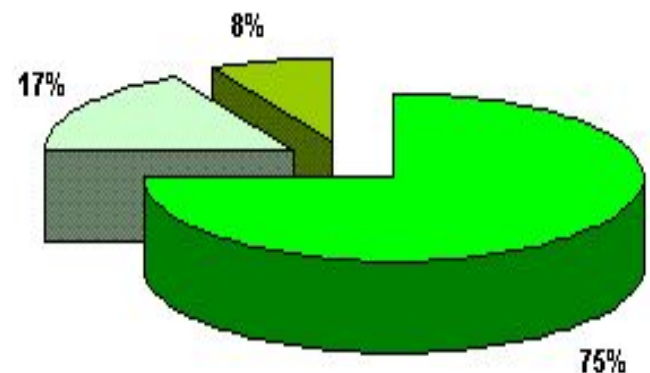
Основные трансгенные культуры



- Соя - 36,5 млн. га, +10% за 2001-2002 гг.
- Кукуруза - 12,4 млн. га, +27% за 2001-2002 гг.
- Хлопчатник - 6,8 млн. га, 0% за 2001-2002 гг.
- Озимый рапс - 3,0 млн. га, +11% за 2001-2002 гг.

Данные 2003 г

Доля устойчивых к гербицидам промышленно выращиваемых трансгенных культур в 2002 г.



- устойчивые к гербицидам
- устойчивые к вредителям
- устойчивые к гербицидам и вредителям

- «Создание трансгенных растений – биопродуцентов белков медицинского назначения с иммуномодулирующим действием»
- Исполнитель: Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН), Новосибирск

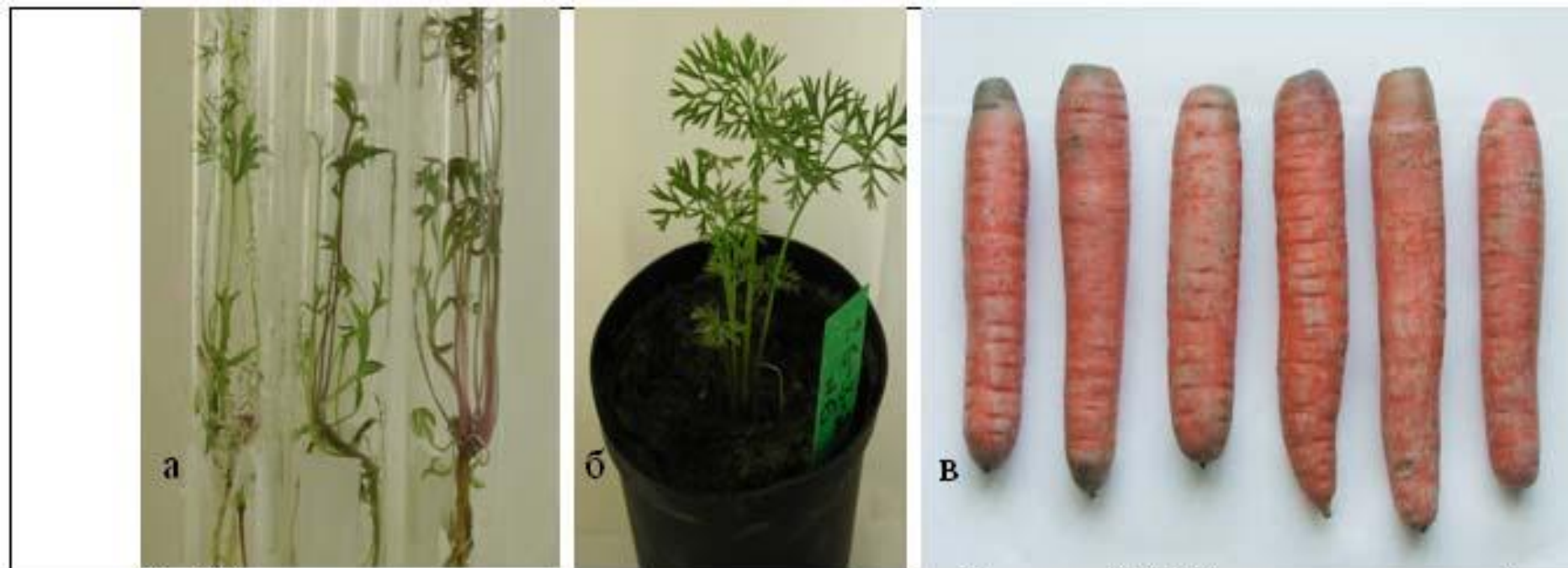


Рис.3: Трансгенные растения моркови: растения-регенеранты (а и б) и корнеплоды T_0 (в)

- **Создание трансгенных растений моркови с генами интерлейкина ИЛ10 и ИЛ18 человека.** Трансгенные растения моркови получали методом агробактериального переноса с использованием штамма LVA4404 *Agrobacterium tumefaciens*. Трансформацию моркови проводили методом совместного культивирования каллусных культур, индуцированных из семядолей зародышей предварительно набухших семян с ночной культурой *A.tumefaciens*. Селективный отбор проводили с использованием антибиотика канамицина (100 мг/л). Регенерацию растений-трансформантов проводили на среде MS (Murashige and Skooge, 1964) с добавлением 0.1 мг/л кинетина и 100 мг/л канамицина. Растения с хорошо развитой розеткой листьев переносили в условия теплицы. Режим освещения 15000 люкс, с чередованием дневного и ночного режимов в соотношении 16:8 часов и температурного режимов 24о С в течение дня и 18-20о С в течение ночи.
- **Наличие в геноме трансгенных растений моркови фрагментов, соответствующих генам ИЛ10 и ИЛ18 человека, подтверждали методом ПЦР.** Как видно на Рис. 4, в 8 из 16 геномных ДНК отобранных трансформантов (№ 2, 5, 8, 9, 12, 13, 14, 15) показано присутствие продуктов ПЦР, соответствующих по размерам целевому гену ИЛ-10 человека. Аналогичные результаты получены и для трансгенных растений моркови с геном ИЛ18 человека.

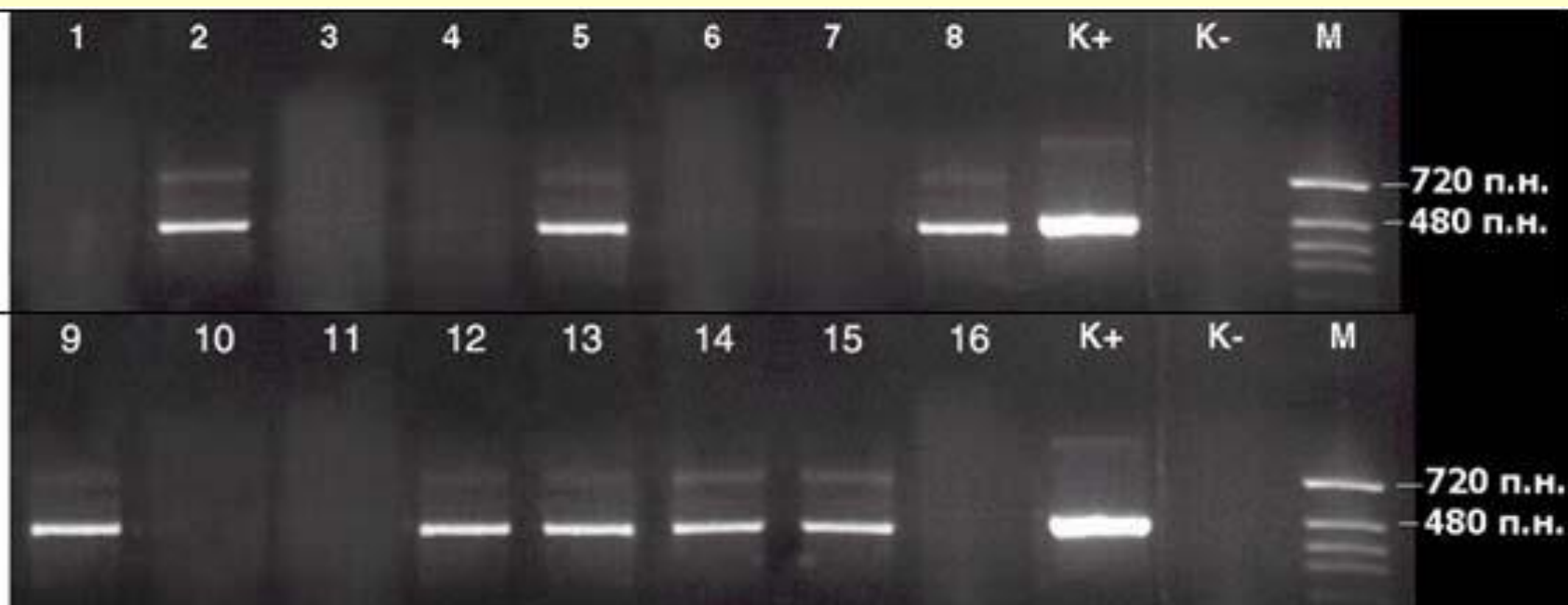
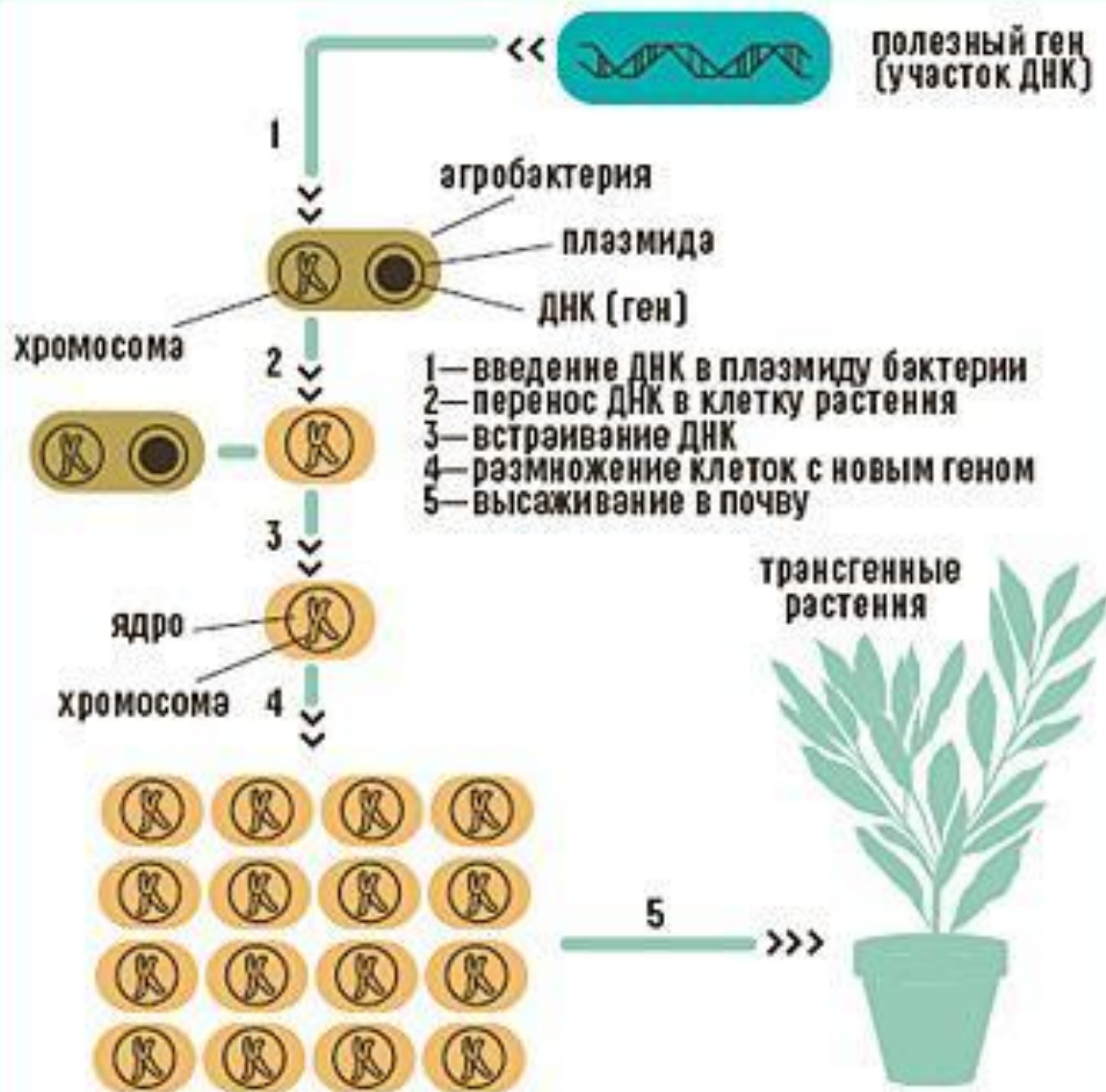


Рис.4: Результаты ПЦР анализа геномных ДНК отобранных трансформантов на наличие последовательности ИЛ-10 (электрофореграмма, 1.5% агарозный гель).

1-16 - ДНК отобранных трансформантов; К- - ДНК нетрансгенного растения; К+ - положительный контроль (pBi101-ИЛ-10); М - маркер длин фрагментов ДНК pBluescriptSK(+)/MspI.

- **Накопление интерлейкина-10 человека в корнеплодах и листьях генетически модифицированной моркови оценивали с помощью «Тест-системы иммуноферментной для определения интерлейкина–10 человека (ИФА-ИЛ-10)», ООО «Цитокин», г. Санкт-Петербург, Россия. При аппроксимации оптической плотности в лунках с экстрактом из корнеплода генетически модифицированной моркови значение концентрации интерлейкина-10 в анализируемом образце составило 22 пг/мл. Учитывая занижение концентрации искомого белка в растительных экстрактах можно предположить, что полученная концентрация может быть в несколько раз выше и составлять несколько нанограмм в экстракте из 6 г корнеплода.**

Как делают ГМО



- **Как и зачем получили генетически модифицированных рыб?
Трансгенные рыбы для развлечения, еды и науки**

Рыбки и РЫБИНЫ



- В 90-х годах прошлого века Zhiyuan Gong, трудился в Канаде над своей докторской диссертацией. Там он начал опыты, в которых **в икринки рыб вводилась** полученная из России **жидкость, содержащая гены морской анемоны***. Так начались работы, которые в конце концов привели к созданию светящихся аквариумных рыбок.

- **В то время о сотворении столь необычных домашних любимцев никто не думал. Исследования преследовали сугубо научно-практические цели и велись в основном на лососевых рыбах. Отрабатывалась техника пересадки в геном рыб чужого гена (трансгена) и выяснялось как сделать его конструкцию такой, чтобы организм нового хозяина начал активно синтезировать чужеродный белок, структура которого закодирована в "подсаженном" гене. Эти исследования можно было бы заметно ускорить, если пересаживать ген, кодирующий *нетоксичный и легко обнаруживаемый белок*, синтез которого возможен уже на самых ранних стадиях эмбрионального развития трансгенного организма. И такие гены действительно были выделены сначала из медузы (*Aequorea victoria*) – ген, кодирующий *зеленый флуоресцентный белок (green fluorescent protein, или GFP)*, и несколько позднее, из морского анемона (*Discosoma sp.*) – ген, кодирующий *красный флуоресцентный белок (red fluorescent protein, или RFP)*. Эти гены стали широко использоваться для совершенствования трансгенных технологий и в эмбриологических исследованиях. В настоящее время подобных генов известно уже около десятка.**

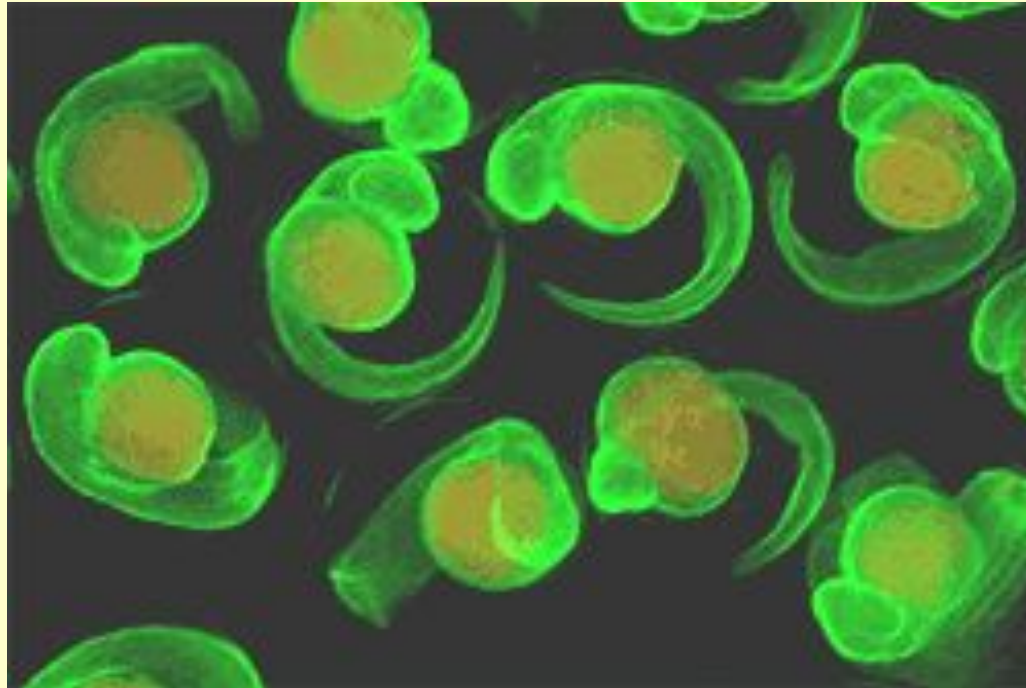
- В англоязычной литературе Zebrafish или zebra danio (рыбка-зебра), издавна использовались учеными как очень удобный модельный объект. Данио рерио *крайне нетребовательны к условиям среды обитания и к кормам.* Они неагрессивны и могут жить в очень небольших 4-5 литровых ёмкостях, быстро и легко размножаются и обладают почти всеми органами и анатомо-физиологическими системами организма, что есть у человека. *В настоящее время хорошо изучено их эмбриональное развитие и геном. Созданы многочисленные чистые генетические линии этих рыб, строго наследующие определенные признаки.* **Можно сказать, что данио рерио – это рыбий аналог лабораторной белой мыши.**

Работа с трансгенными рыбами в лабораториях корпорации Тайконг – крупнейшего производителя флуоресцирующих аквариумных рыб.

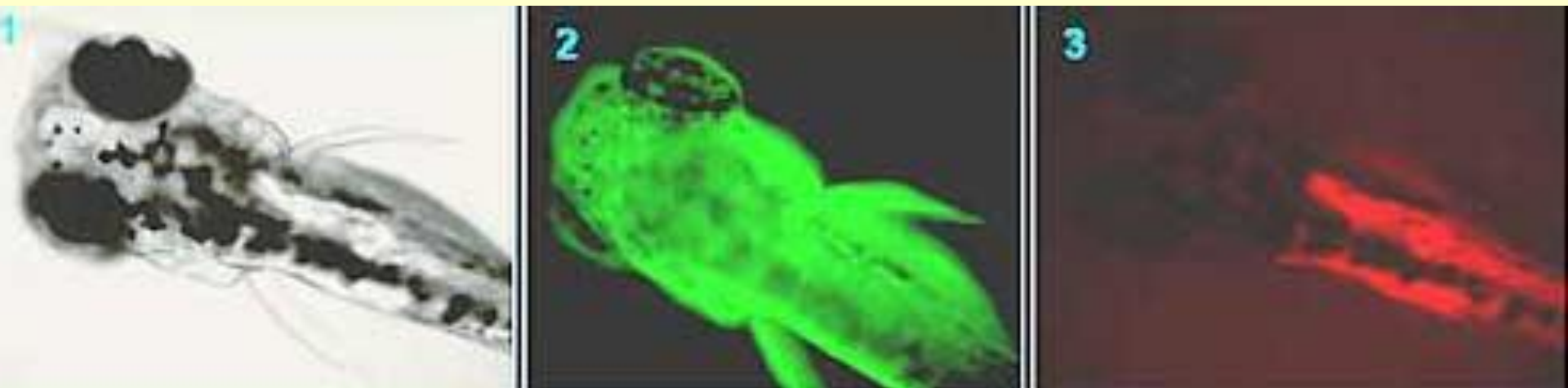




- Данио оказались обладателями еще одной особенности: *их эмбрионы быстро развиваются и долгое время остаются почти прозрачными*. Да и взрослые рыбы с ослабленной пигментацией в немалой степени сохраняют это свойство. Поэтому, если организм трансгенной рыбы приобретёт способность производить флуоресцентный белок, то свечение легко будет наблюдать даже в том случае, когда экспрессия встроенного в её геном гена будет происходить в тканях, расположенных под кожей и во внутренних органах. Сходными свойствами обладает и японская рисовая рыбка – медака (*Orizias latipes*). Тайваньские и японские исследователи много экспериментировали с этим видом. В итоге в настоящее время мы имеем флуоресцирующих и медак, и данио.



- **Однодневные эмбрионы GloFish (под этим названием в США продают аквариумистам трансгенных данио-рерио) под флуоресцентным микроскопом. При освещении синим светом они светятся зеленым благодаря присутствию в эпидермальных клетках GFP**



Одна и та же пятидневная личинка, сфотографированная при освещении белым светом (1), синим светом (2) для выявления места экспрессии GFP-гена (кожа) и зеленым светом (3) для выявления места экспрессии RFP-гена (мышцы спины).

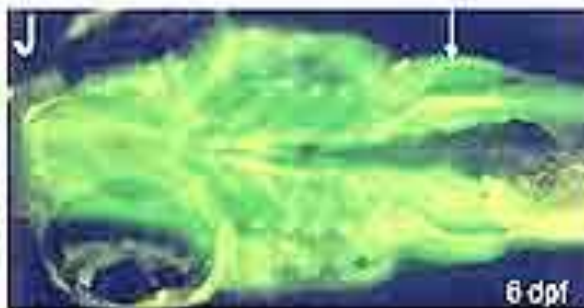
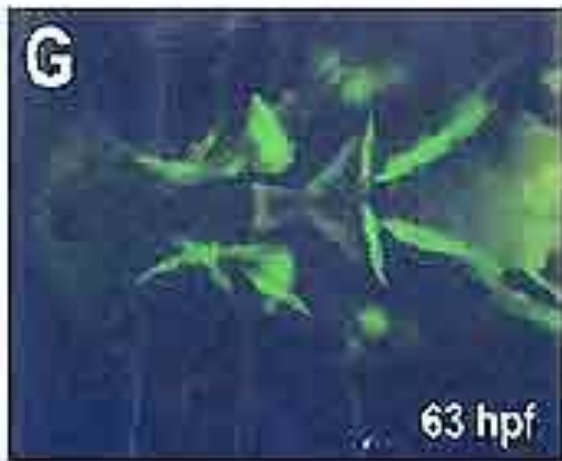
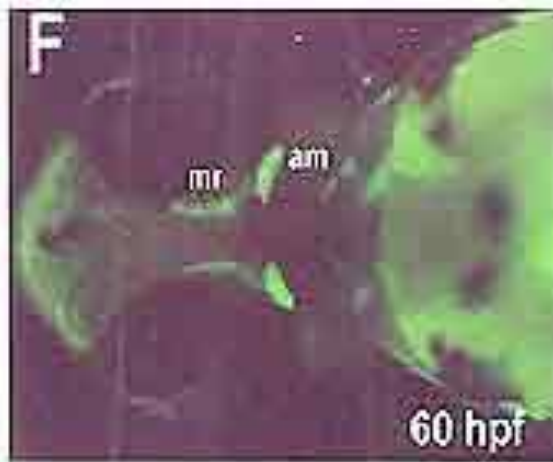
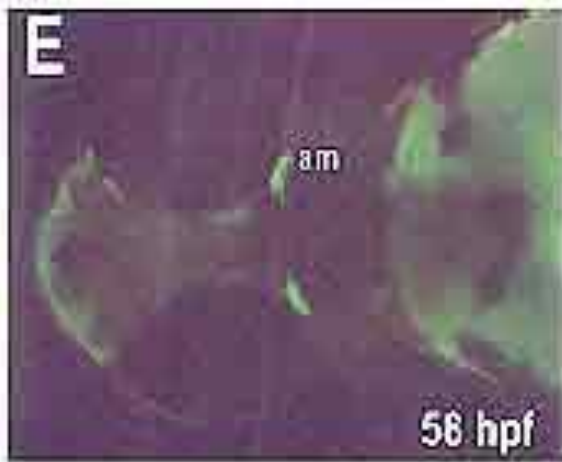
Таким образом, в геном GloFish введены сразу **два трансгена**. Однако взрослые рыбы выглядят просто красными, поскольку в тонком слое эпидермиса не может накопиться GFP в количестве достаточном для того, чтобы его можно было увидеть невооруженным глазом. При специальном освещении и при использовании светофильтров можно обнаружить, что экспрессия GFP-гена продолжается и у взрослой генетически модифицированной рыбки. Мышцы, где идет синтез RFP, имеют значительный объем и в них накапливается много флуоресцентного белка, определяющего окраску рыбы. **С возрастом цвет и флуоресценция усиливаются**

- В приведенном примере для GFP-трансгена был использован **промотор гена цитокератина**, который "допускает" экспрессию этого гена только в эпидермальных клетках. В таких случаях говорят, что промотор **тканеспецифичный**. Для RFP-трансгена также использован **тканеспецифичный промотор гена**, ответственного за синтез миозина (одного из белков мышц, который обеспечивает их сокращения), поэтому экспрессия RFP-трансгена и происходит только в мышечной ткани. В дальнейшем эти рыбки были запатентованы в США компанией Yorktown Technologies LP под названием Glofish.

<http://www.nus.edu.sg>



- Трансгенные данио рерио, полученные профессором Гонгом для научных исследований
- Профессор Гонг вводил в геном данио рерио различные конструкции. В частности, он соединял "миозиновый" промотор с **GFP-геном**. В этом случае GFP синтезировался в мышечной ткани и вырастали **зеленые рыбы**. Первоначально эти трансгенные рыбы использовались для исследований по эмбриологии. В частности, выяснялась последовательность развития в онтогенезе различных мышц.



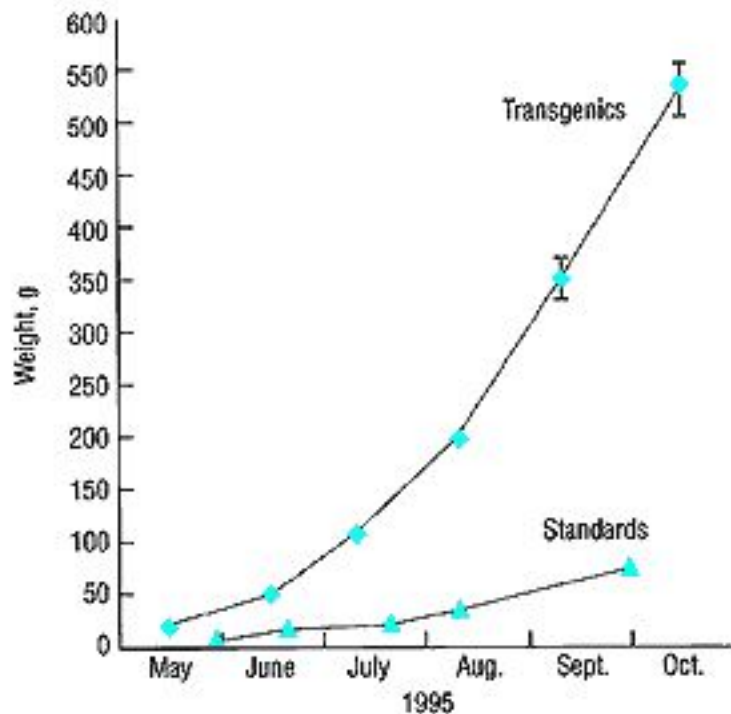
У трансгенной рыбки (в геном введена конструкция из "миозинового" промотора и GFP-трангена) ЛЕГКО МОЖНО проследить ход развития мускулов головы. Нpf и dpf – это время, прошедшее с момента оплодотворения: в часах (hour past fertilization) и в сутках (day past fertilization). Обратите внимание, эмбрионы данио, синтезирующие GFP в коже под управлением "цитокератинового промотора" (Glofish) начинают флуоресцировать раньше и выглядят иначе. Фото из статьи проф. Гонга с соавторами "Recapitulation of Fast Skeletal Muscle Development in Zebra fish by Transgenic Expression of GFP Under the mylz2 Promoter" – DEVELOPMENTAL DYNAMICS, 227, 14-26, 2003

- **Работы по созданию быстрорастущего лосося**
- Предполагалась, что лососи и форели, улучшенные с помощью методов генной инженерии, найдут народно-хозяйственное применение. Но *выход на рынок генетически модифицированных промысловых рыб был надежно закрыт.*

Однако американская фирма [Aqua Bounty](#) полна решимости не только преодолеть все бюрократические барьеры, но добиться благосклонного отношения общественности к своему продукту – AquaAdvantage® Salmon – *очень быстро растущему атлантическому лосою (Salmo salar), в геном которого "вставлены" гены другого лосося – чавычи и морской холодноводной рыбы бельдюги.* Генетически модифицированные лососи растут гораздо быстрее не модифицированных рыб своего вида, что позволило бы *снизить стоимость лососины в магазинах по крайней мере на 30%.*

<http://www.aquabounty.com>

- **Молодь атлантического лосося. Все рыбки одного возраста. Легко узнать трансгенную**



Сравнение скорости роста генетически модифицированных и обыкновенных лососей.

СНЕМТЕСН , 30(6), 17-28, 1999.

- Кроме генетически модифицированных данио рерио, медаки, атлантического лосося разводят также ГМ карпов, ГМ форель, ГМ тилапию, ГМ канальных сомов, ГМ золотых рыбок.
- Интересно, что ученые на самом деле планировали сделать из флуоресцирующих рыб индикаторы. По [задумке проф. Гонга](#) они должны были начинать светиться в присутствии веществ-загрязнителей воды. Насколько известно, важных в практическом плане результатов получить так и не удалось.
- Аналогичные попытки использовать трансгенных светящихся данио рерио в качестве тест-организмов предпринимались сразу в нескольких лабораториях. Были, например, созданы рыбки, которые действительно начинают излучать свет в присутствии некоторых опасных загрязнителей питьевой воды, таких как полихлорированные бифенилы (это сильные канцерогены). В геном этих рыб были встроены гены светлячка связанные с промотором, который активизирует их работу тогда, когда рыбы испытывают стрессовое состояние. Разработку даже планировали внедрить в реальную практику контроля водопроводной воды в графстве Клермонт штат Цинциннати (США). (Источник: архив [National Institute of Environmental Health Sciences](#)). Дело опять же окончилось ничем.



ТРАНСГЕННЫЕ ЖИВОТНЫЕ В ФАРМИНДУСТРИИ

Получение трансгенных животных



Алексей Дейкин, руководитель группы ИБГ РАН

Оборудование



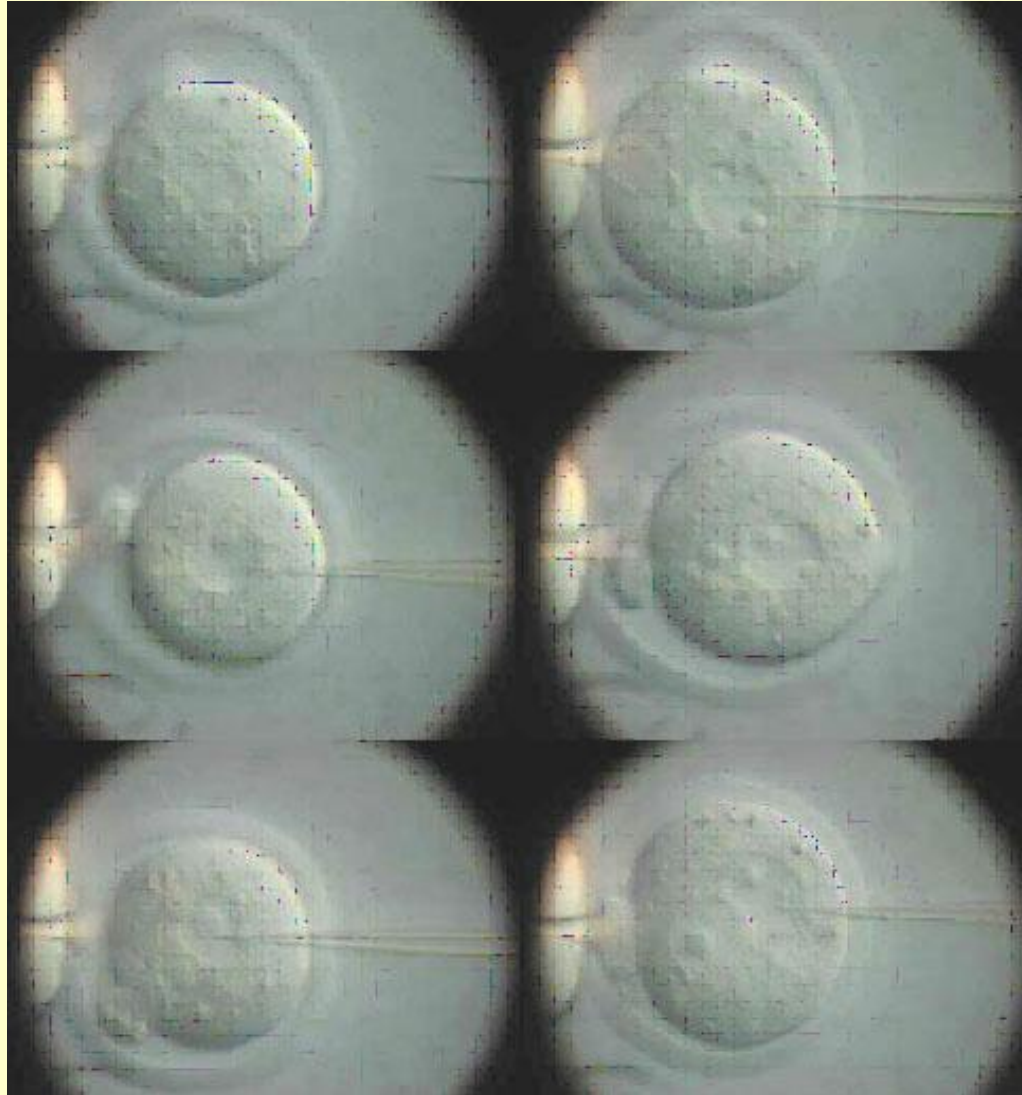
Помещения для содержания и работы с мышью



Доение мышей



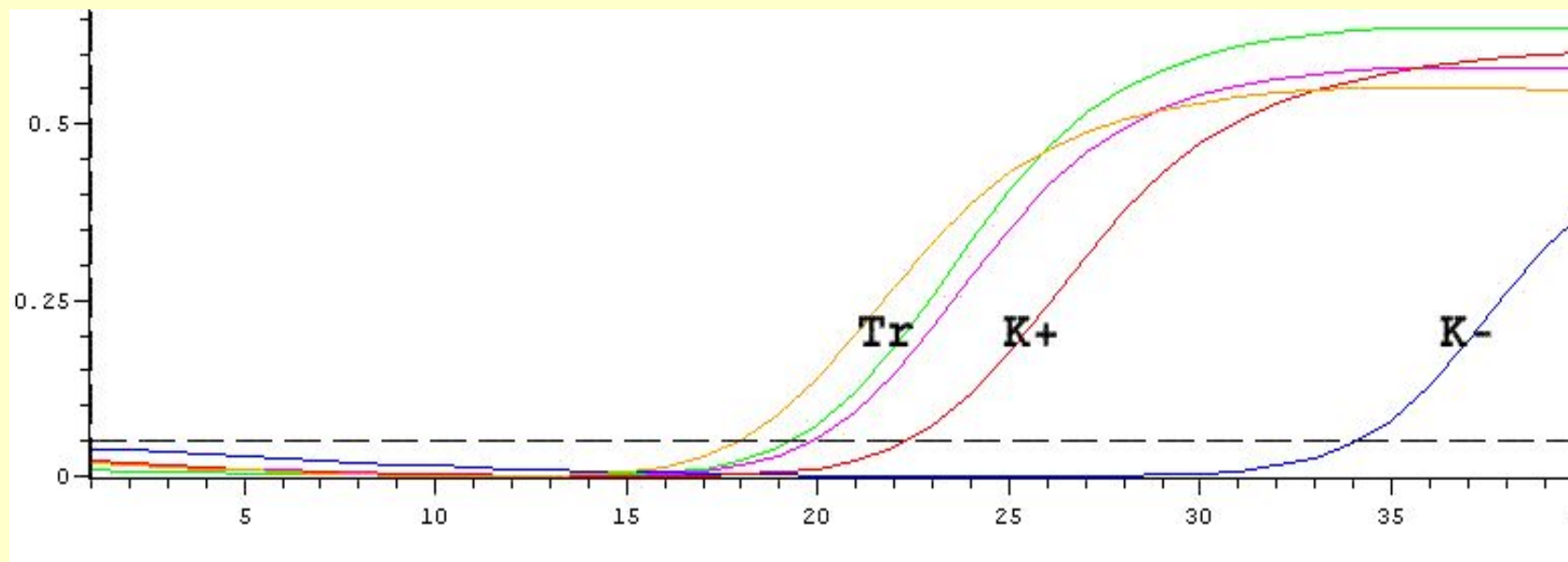
Микроинъекция ДНК содержащей ген лактоферрина человека в пронуклеус зигот мыши



Результаты экспериментов по получению мышей, трансгенных по гену лактоферрина человека

Конструкция	Микроинъекцировано зигот	Использовано реципиентов	Пересажено эмбрионов одному реципиенту	Родилось мышат		Трансгенные животные		
				Всего	% от трансплантированных зигот	Всего	% от родившихся мышат	% от трансплантированных зигот
hLf ¹ *	353	18	19,61	24	6,80	1	4,17	0,28
hLf ²	400	19	21,05	13	3,25	6	46,15	1,50
hLf ³	610	38	16,06	92	15,08	18	19,48	3,01
hLf ⁴ *	359	15	23,93	21	5,85	5	23,81	1,39
hLf ⁵	380	24	15,81	36	9,47	10	28,57	3,16
hLf ⁶ *	217	15	14,47	12	5,53	3	16,67	0,92
hLf ⁷	358	21	17,05	121	33,80	16	13,22	4,47
hLf ⁸	257	16	16,06	92	35,80	5	5,43	1,95
Всего	2934	166	18	411	14,44	64	19,69	2,01

Мыши, трансгенные по гену лактоферрина человека



K- - нетрансгенная мышь

K+ - человеческая ДНК

Tr - мышинные трансгены с разной копийностью

Исследование продукции рекомбинантного лактоферрина человека с молоком трансгенных мышей, полученных при использовании разных конструкций



Сравнение физико-химических и биологических свойств рекомбинантного и природного лактоферрина

	rhLF	hLF
Степень насыщения ионами железа	50%	25%
Содержание α -спиральной, β -слоёв, β -поворотов	0,40-0,2-0,18	0,40-0,2-0,18
Взаимодействие с лектинами	+	-
Кинетика трипсинолиза	Дополнительные фрагменты	+
Взаимодействие с ДНК	+	+
Взаимодействие с гепаринами	+	+
Взаимодействие с ЛПС	+	+
Взаимодействие с ЦП	+	+
Агглютинация protozoa	+	+
Бактерицидная активность против <i>E. coli</i>	+	+
Бактерицидная активность против <i>Listeria monocytogenes</i>	+	+
Фунгицидная активность против <i>Candida albicans</i>	+	+

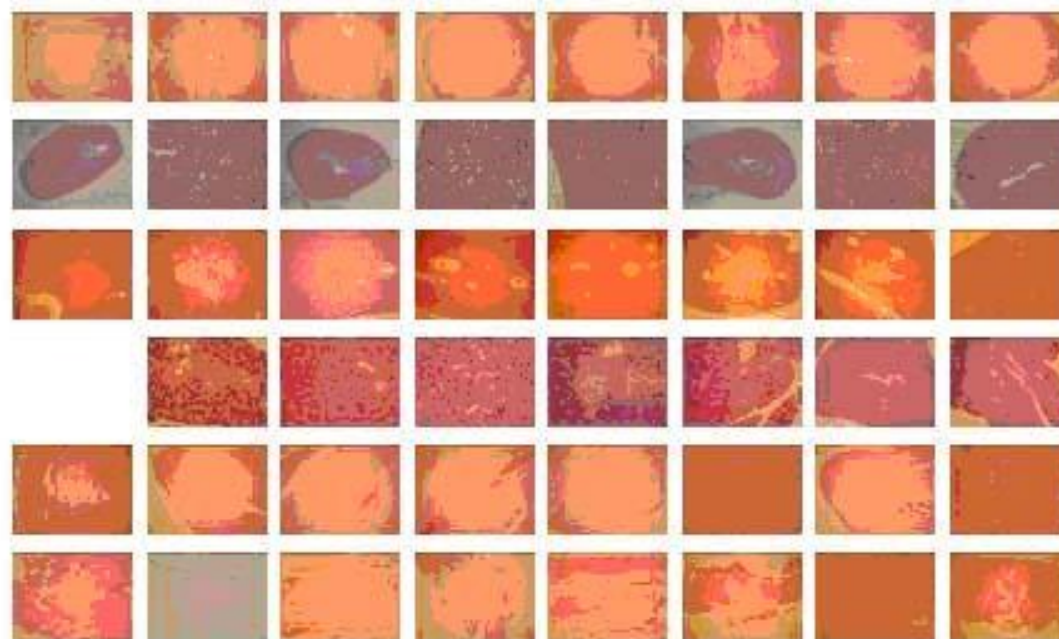
Гистологический анализ органов и тканей трансгенных мышей

	1mk	2mk	3mk	4mk	5fk	6fk	7ft	8ft
Лимфоузлы								
Молочная железа								
Тимус								
Селезенка								
Лёгкое								
Почки								
Половые железы								
Спинной мозг								

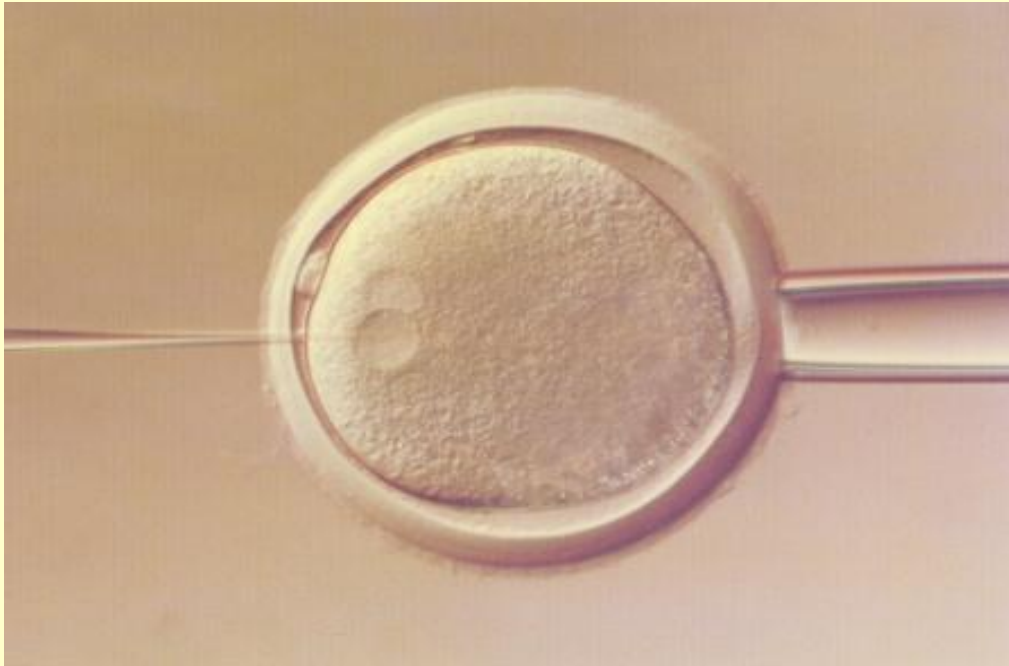
Гистологический анализ органов и тканей трансгенных мышей

1mk	2mk	3mk	4mk	5fk	6fk	7ft	8ft
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Головной мозг
Надпочечники
Печень
Поджелудочная железа
Сердце
Скелетная мышца



Операции на козах



- **Операция по хирургическому промыванию яйцеводов коз.**
Экперимент и фотографии выполнены в Южной Корее (*Youn W.S., Lee C.S., Goldman I.L., Fang N.Z., Koo D.B., Han Y.M., Shin S.T., Yoo O.J., Park C.S., and Lee K.K. Studies on the superovulation and collection of microinjectable embryos in Korean native goats (Capra hircus aegagrus). Korean J. Animal Reprod., 1997, V. 21, N 4, pp. 373-379.*)



1. Подготовка
операционного
поля.



2. Вскрытие
брюшины.



3. Извлечение
матки из
брюшной
полости.



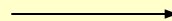
4. Катетеризация
яйцевода



5. Промывание
яйцеводов.



6. Зашивание
операционной
раны.







- **ГМО выращивают на продажу с 1996 года. Сейчас 98 процентов мирового промышленного производства ГМО (соя, кукуруза, рапс, хлопок и картофель) сосредоточено в США, Бразилии, Чили, Канаде, Аргентине и Китае. Общая площадь посевов ГМ-растений – более 50 млн.га.**
- **Деятельность корпораций, производящих ГМО, не ограничивается сельским хозяйством, они постепенно овладевают рынком медикаментов, лесным бизнесом, внедряются в рыбоводство и другие области.**
- **Масштабы этой деятельности возрастают: за последние 15 лет прошли испытания 25 тыс. трансгенных растений, предназначенных для использования в сельскохозяйственном производстве и полученных с заранее заданными качествами (40% устойчивы к вирусам, 25% - к инсектицидам, 25% - к гербицидам) Среди них соя, кукуруза, картофель, хлопок. По прогнозам к 2010 году рынок трансгенных зерновых составит 25 млрд.долларов США.**

- **Области практического применения генной инженерии**
- ***Создание трансгенных растений***
- **Еще 10 лет тому назад биотехнология растений заметно отставала в своем развитии, но за последние 3 года наблюдается быстрый выброс на рынок трансгенных растений с новыми полезными признаками. Трансгенные растения в США в 1996 году занимали площадь 3 млн. акров, в 1997 году площадь увеличилась до 15 млн. акров, в 1998 году – до 60 млн. акров, а в прошлом году до 80 млн. акров. Поскольку основные трансгенные формы кукурузы, сои, хлопчатника с устойчивостью к гербицидам и насекомым хорошо себя зарекомендовали, есть все основания ожидать, что площадь под генноинженерные растения в 2001 году увеличатся в 4-5 раз. В апреле 1998 года доля в процентах трансгенных форм растений в сельском хозяйстве составила: кукуруза – 6, соя – 12, хлопчатник – 15, томаты – <1. Так как число жителей за последнее столетие увеличилось с 1.5 до 5.5 млрд. человек, а к 2020 году предполагается вырост до 8 млрд., таким образом возникает огромная проблема, стоящая перед человечеством. Эта *проблема заключается в огромном увеличении производства продуктов питания*, несмотря на то, что за последние 40 лет производство увеличилось в 2.5 раза, все равно этого не достаточно. И в мире в связи с этим наблюдается социальный застой, который становится все более настоящим.**

- **Другая проблема возникла с медицинским лечением.** Несмотря на огромные достижения современной медицины, производимые сегодня лекарственные препараты столь дороги, что $\frac{3}{4}$ населения земли сейчас полностью полагаются на традиционные донаучные методы лечения, прежде всего на неочищенные препараты растительного происхождения. В развитых странах лекарственные средства на 25% состоят из природных веществ, выделенных из растений. Открытия последних лет (противоопухолевые препараты: таксол, подофиллотоксин) свидетельствуют о том, что растения еще долго будут оставаться источником полезных биологически-активных веществ (БТА), и что способности растительной клетки к синтезу сложных БТА все еще значительно превосходят синтетические способности инженера-химика. Вот почему ученые взялись за проблему создания трансгенных растений. Отсчёт истории генетической инженерии растений принято вести с 1982 года, когда впервые были получены генетически трансформированные растения. Метод трансформации основывается на природной способности бактерий *Agrobacterium tumefaciens* генетически модифицировать растения. Реконструированные штаммы *Agrobacterium*, содержащие неонкогенные варианты Ti-плазмид и обладающие повышенной вирулентностью, стали основой одного из наиболее популярных методов трансформации.

- Первоначально **трансформация** применялась для генно-инженерных **двудольных растений**, однако работы последних лет свидетельствуют, что этот метод эффективен и в отношении кукурузы, риса, пшеницы. Другим широко распространённым методом трансформации, является технология, основанная на **обстреле ткани микрочастицами золота** (или других тяжелых металлов), покрытыми раствором ДНК. Все выращиваемые ныне коммерческие сорта получены с помощью названных выше двух методов. Современный арсенал методов трансформации, однако, довольно обширен и включает такие подходы, как **введение ДНК в голые клетки (протопласты)**, **электропорация клеток**, **микроинъекций ДНК в клетки**, **прокалывание клеток путём встряхивания их в суспензии микроигл**, **опосредованная вирусами инфекции** и так далее. *Генетические изменённые растения с устойчивостью к различным классам гербицидов в настоящее время являются наиболее успешным биотехнологическим продуктом.* Дело в том, что биотехнология позволила совершить такой прыжок, так как оказалось возможным генетически изменять устойчивость растений к тем или иным гербицидам либо путем введения генов, кодирующих белки, нечувствительные к данному классу гербицидов, либо за счет введения генов, обеспечивающих ускоренный метаболизм гербицидов растений.

- К настоящему времени клонированы гены, кодирующие нечувствительные к действию гербицидов ферменты-мишени, что дало возможность получать трансгенные растения, устойчивые к таким гербицидам, как глифостат и хлорсульфуриновым, и имидазолиноновым гербицидом. Изолированы также гены, которые кодируют ферменты деградации некоторых гербицидов, что позволило получить трансгенные растения устойчивые к фосфинотрицину и далапону. В 1997 году устойчивая к Roundup соя, распространяемая компанией "As Grow", была признана в США сельскохозяйственным продуктом года. Ученые пошли далее. Так как множество растений подвержены нападению и поеданию со стороны насекомых, то ученые генной инженерии провели эксперимент с давно известной *Bacillus-Thuringiensis*, которая продуцирует белок, оказалось она является очень токсичной для многих видов насекомых, но в то же время безопасна для млекопитающих., белок (дельта-эндотоксин, **CRY-белок**) продуцируется различными штаммами *Bacillus-Thuringiensis*. Это прототоксин который расщепляется в кишечнике насекомых, образуя активированный токсин. Активизированный белок *специфично связывается с рецепторами средней кишки насекомых, что приводит к образованию пор и лизису клеток кишечного эпителия.*

- **Взаимодействие токсинов с рецепторами строго специфично, что усложняет подбор комбинации токсин-насекомое. В природе найдено большое количество штаммов *Bacillus-Thuringiensis*, чьи токсины действуют только на определенные виды насекомых. Препараты *Bacillus-Thuringiensis* в течение десятилетий использовались для контроля насекомых на полях. Встраивание гена этого белка в геном растений дает возможность получить трансгенные растения, не поедаемые насекомые. Но этот метод потребовал большой работы со стороны генной инженерии, в плане подборов необходимых штаммов и созданию генно-инженерных конструкций, которые дают наибольший эффект для конкретных классов насекомых. Кроме видоспецифичности по действию на насекомых встраивание прокариотических генов дельта-токсинов в геном растений даже под контролем сильных эукариотических промоторов не привело к высокому уровню экспрессии. Предположительно такое явление возникло в связи с тем, что эти бактериальные гены содержат значительно больше адениновых и тиминных нуклеотидных оснований, чем растительная ДНК. Эта проблема была решена путем создания модифицированных генов, где один из природного гена вырезали и добавили те или иные фрагменты с сохранением доменов, кодирующих активные части дельта-токсинов. Так, например, с помощью таких подходов был получен картофель, устойчивый к колорадскому жуку. В настоящее время так называемый *Vt* – растения хлопка и кукурузы занимают основную долю в общем объеме генетически модифицированных растений этих культур, которые выращивают на полях США.**

- **Для чего создают ГМ-растения (трансгенные растения)?**
- **Устойчивость к гербицидам** *позволяет трансгенному растению быть невосприимчивым к смертельным для других дозам химикатов.* В результате поле очищается от сорняков, а культуры, толерантные к гербицидам, выживают. Чаще всего компания, продающая семена подобных растений, предлагает в наборе и соответствующие гербициды.
- **Устойчивость к насекомым** *позволяет существенно уменьшить потери урожая от насекомых-вредителей.* Например, колорадский жук, съедая лист ГМ-картофеля, погибает. Почти все такие растения содержат встроенный ген природного токсина земляной бактерии *Bacillus thuringiensis* (Bt-ген).
- **Устойчивость к патогенам** – грибам, бактериям и вирусам, например, за счет генов хитиназ или генов белков оболочки вирусов.
- **Качество продукции** (улучшенный соевый белок, рапсовое масло с низким содержанием эруковой кислоты, тополь без «пуха», лесные культуры)
- **Зеленые вакцины и лекарства** (гепатит В, Гепатит С, бананы с введенным анальгином и т.д.)

- **Что такое биобезопасность?**
- **Начало дискуссии по проблеме биобезопасности положили в 1974 году основатели биоинженерии - одиннадцать ведущих молекулярных биологов мира во главе с американцами П. Бергом, С.Козном и Г. Бойером, создавшим первую рекомбинантную молекулу ДНК.**
- **Биобезопасность - это состояние защищённости человека, общества и природы от возможного опасного воздействия на них генетически модифицированных и иных биологических объектов, а также полученных из них продуктов и веществ различного назначения.**
- **Биобезопасность – это безопасность, обеспечивающая использование достижений современных биотехнологий, в первую очередь, генной инженерии**

БИОБЕЗОПАСНОСТЬ

Биологические
риски

Микроорганизмы, их
токсины, прионы,

Биохимические
факторы

Инфекционные
заболевания

Работа с ПБА в
лабораториях

Биокатастрофы,
биотерроризм

ГМО и их продукты

Наночастицы

Инфекция	Факторы
Птичий грипп	Возможно, сельскохозяйственное разведение уток и свиней, что облегчает рекомбинацию генов птичьих вирусов и вирусов млекопитающих
ВИЧ	Сексуальные контакты, вертикальная передача от инфицированных матерей детям, переливание крови и т.д.
Лихорадки Эбола и Марбург	Неизвестны, в Европу и США заболевания были завезены с обезьянами
Гепатиты В и С	Переливание крови, трансплантация органов, половое инфицирование, инъекции, вертикальный перенос от инфицированных матерей детям
Легионеллез	Охлаждающие и водопроводные системы (микроорганизм растет в биопленках)
Боррелиоз	Преобразования природной среды вокруг населенных пунктов, способствующие распространению клещей-носителей заболевания
Язвенная болезнь желудка	Вероятно, возбудитель уже давно широко распространен, но не был распознан
Малярия (в «новых» регионах)	Путешествия и миграция, прекращение дезинсекционных мероприятий

- **Надежды, связанные с генной инженерией и ГМО-технологиями**
- **1. Медицинские задачи:**
 - - профилактика заболеваний (вакцины, в том числе, «зеленые» или растительные)
 - - диагностика заболеваний
 - - лечение инфекционных и генетических заболеваний (антибиотики, гормоны, иммуноглобулины, ферменты и т.д.)
- **2. Селекция:** создание пород животных, сортов растений и штаммов организмов с улучшенными наследуемыми признаками
 - - повышение продуктивности растений и животных
 - - улучшение качества биомассы, сырья, конечного продукта
 - - создание микроорганизмов-продуцентов БАВ, антибиотиков, ферментов, аминокислот и т.д.
 - - создание устойчивых к патогенам и факторам среды форм живых организмов, полезных человеку
- **3. Экологические задачи**
 - - переработка отходов, загрязняющих окружающую среду,
 - - биомелиорация и биоремедиация

- **Опасения, связанные с генной инженерией и ГМО-технологиями**
- **Окажут ли ГМО вредное воздействие на другие живые организмы и окружающую среду?**
- **Приведет ли создание и распространение ГМО к уменьшению природного биоразнообразия?**
- **Правомочно ли изменять генетическую природу живых организмов вообще и человека в частности?**
- **Нанесет ли генная инженерия ущерб традиционному сельскому хозяйству и медицине?**
- **-Смогут ли воспользоваться преимуществами современных биотехнологий все люди?**
- **Патентовать ли ГМО? Права на использование?**

- **Предпосылки для возникновения рисков от использования ГМО**

- 1. ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ В КОРНЕ ОТЛИЧАЕТСЯ ОТ традиционных способов выведения новых сортов и пород. *Искусственное добавление чужеродных генов сильно нарушает точно отрегулированный генетический контроль нормальной клетки.*** Манипулирование генами коренным образом отличается от комбинирования материнских и отцовских хромосом, которое происходит при естественном скрещивании.
- 2. В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ТЕХНИЧЕСКИ *несовершенна*,** так как она не в состоянии управлять процессом встраивания нового гена. Поэтому *невозможно предвидеть место встраивания и эффекты добавленного гена.* Даже в том случае, если местоположение гена окажется возможным установить после его встраивания в геном, имеющиеся сведения о ДНК очень неполны для того, чтобы предсказать результаты.
- 3. В РЕЗУЛЬТАТЕ ИСКУССТВЕННОГО ДОБАВЛЕНИЯ ЧУЖЕРОДНОГО ГЕНА *непредвиденно могут образоваться опасные вещества.*** В худшем случае это могут быть токсические вещества, аллергены или другие вредные для здоровья вещества. Сведения о подобного рода возможностях ещё очень неполны.

4. **НЕ СУЩЕСТВУЕТ СОВЕРШЕННО НАДЁЖНЫХ МЕТОДОВ ПРОВЕРКИ на безвредность.** Более *10 % серьёзных побочных эффектов новых лекарств не возможно выявить* несмотря на тщательно проводимые исследования на безвредность. Степень риска того, что опасные свойства новых, модифицированных с помощью генной инженерии *продуктов питания*, останутся незамеченными, вероятно, *значительно больше, чем в случае лекарств.*
5. **СУЩЕСТВУЮЩИЕ В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ ТРЕБОВАНИЯ ПО ПРОВЕРКЕ на безвредность крайне *недостаточны.*** Они совершенно явно составлены таким образом, чтобы упростить процедуру утверждения. Они позволяют использовать крайне нечувствительные методы проверки на безвредность. Поэтому *существует значительный риск того, что опасные для здоровья продукты питания смогут пройти проверку незамеченными.*
6. **СОЗДАННЫЕ ДО НАСТОЯЩЕГО ВРЕМЕНИ С ПОМОЩЬЮ ГЕННОЙ инженерии продукты питания *не имеют сколько-нибудь значительной ценности для человечества.*** Эти продукты удовлетворяют, главным образом, лишь коммерческие интересы.

- 7. ЗНАНИЯ О ДЕЙСТВИИ ГМО на окружающую среду совершенно *недостаточны*.** Не доказано, что ГМО не окажут вредного воздействия на окружающую среду. Имеется много возможностей для неконтролируемого распространения потенциально опасных генов, используемых генной инженерией, в том числе передача генов бактериями и вирусами. *Осложнения, вызванные в окружающей среде, вероятно, невозможно будет исправить, так как выпущенные гены невозможно взять обратно.*
- 8. МОГУТ ВОЗНИКНУТЬ НОВЫЕ И ОПАСНЫЕ ВИРУСЫ.** Экспериментально *показано, что встроенные в геном гены вирусов могут соединяться с генами инфекционных вирусов.* Такие новые вирусы могут быть *более агрессивными, чем исходные.* Вирусы могут стать также менее видоспецифичными. Например, вирусы растений могут стать вредными для полезных насекомых, животных, а также *людей.*
- 9. ЗНАНИЯ О НАСЛЕДСТВЕННОМ ВЕЩЕСТВЕ, ДНК, ОЧЕНЬ НЕПОЛНЫ.** Известно о функции *лишь трёх процентов ДНК.* *Рискованно манипулировать сложными системами, знания о которых неполны.* Обширный опыт в области биологии, экологии и медицины показывает, что это может вызвать серьёзные непредсказуемые проблемы и расстройства

- **Итак, при возделывании ТР возможны:**
- **Непредсказуемость последствий экспрессии трансгена из-за плейотропного действия генов;**
- **Потенциальная опасность (токсичность, аллергенность и др.) продуктов, биосинтез которых контролируется мутировавшими трансгенами;**
- **Дефицит семян ТР и их значительное удорожание из-за терминаторных технологий;**
- **Уменьшение сортового и видового разнообразия возделываемых культур вследствие массового внедрения более урожайных, и, часто, более рентабельных сортов ТР;**
- **Возникновение вредных организмов-мутантов (например, сорняков) с непредсказуемыми свойствами из-за спонтанного переноса трансгенов в агросфере;**
- **Поражение нецелевых насекомых и других животных (в том числе, полезных человеку);**
- **Негативное воздействие экспрессируемого энтомотоксина на ризосферную микрофлору ТР;**

- **Горизонтальный перенос трансгенов в культурные и дикорастущие растения, и в другую биоту;**
- **Появление новых, более опасных, вирусных патогенов из-за эволюционирования фитовирусов вследствие взаимодействия с генно-модифицированным продуктом вирусоустойчивого ТР;**
- **Сукцессия биоты и появление резистентных к гербицидам, Vt-энтомотоксинам форм целевых вредных организмов из-за непрерывного пресса на агроценоз гербицидов или Vt-токсинов ТР;**
- **Утрата и уменьшение разнообразия генофонда диких сородичей культурных растений в генетических центрах их происхождения, а также «порча» или “генетическое загрязнение” сортов изогенных растений из-за интрогрессии трансгенов (т.е. внедрения генов одного вида биоты в геном другого вида в результате гибридизации) с пылью перекрестно-опыляемых ТР.**
- **Таким образом, ГМО и ГМО-технологии порождают проблемы биобезопасности. Особенно остро они стоят в настоящее время, на этапе, когда биотехнология и биоинженерия стали выходить на уровень важнейших научных и технических приоритетов XXI века.**

- **С 50-х годов до настоящего времени разработаны методы генетического манипулирования, которые сложились в четкую систему генной инженерии животных. К этим работам относится *пересадка клеточных ядер у лягушек методом микроинъекции Бригса и Кинга*. В настоящее время перенос ядра соматической клетки в энуклеированную зиготу успешно проведен на мышах.**
- **Освоен метод переноса ядра путем слияния кариопластов. Разработана методика получения химер у млекопитающих.**

- **Гарднер разработал методику инъекции бластомеров в бластоцисты реципиента.** Эта методика освоена на мышах Бутлером. На ее основании получены химеры у овец. Указанные работы, связанные с клеточной инженерией животных, подготовили подходы к генной инженерии сельскохозяйственных животных. *Один из методов получения трансгенных животных заключается в переносе генов в культивируемые клетки, а затем их инъекции в бластоцисту.* Разработаны различные методы внесения генов в генотип реципиентных клеток.
- **Наибольшее распространение в последнее время получил метод инъекции чужеродных генов в пронуклеус зиготы животных.** Впервые инъекция была проведена на ооцитах лягушек: в яйцеклетки вводили определенную ДНК, и были отмечены интеграция и транскрипция.

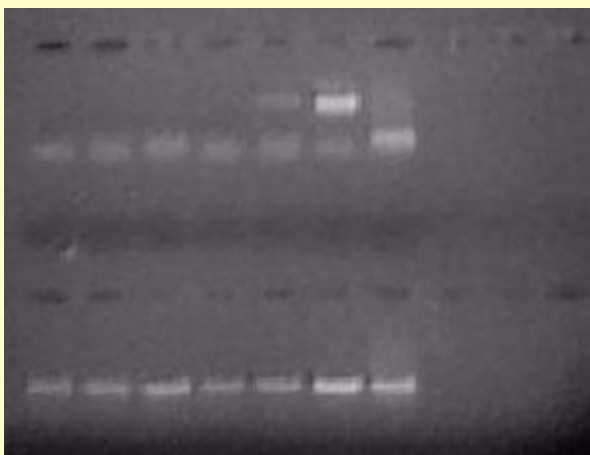
- **В 1981 г. был инъецирован ген глобина кролика в зиготу мыши.** Ген, включенный в геном, имел вид длинного тандема организованных участков, которые корректно транскрибировались только в том случае, если они не содержали плазмидных компонентов (Т. Е. Wagner и др.).
- **Проявление действия встроенных генов, введенных путем микроинъекции, изучали на мышах.** На ряде генов установлено их тканеспецифическое действие в зависимости от регуляторных элементов того или иного гена.
- **В 1980 г. в пронуклеус зиготы мыши была инъецирована плаزمида рBR322, содержащая вставку генов вирусов SK40 и HSV.** У трех мышей (3,8%) из 78 найдена ДНК, что подтвердило *хромосомную интеграцию*, однако *ДНК подверглась реорганизации*.
- **При инъецировании гена глобина человека в комплексе с геном ТК HSV в пронуклеусы зигот мыши установлена интеграция у пяти из 33 плодов (15,1%), извлеченных на 16—17-й день.**
- **Проведена микроинъекция в пронуклеус зиготы гена глобина кролика, экспрессия наблюдалась у пяти мышей.**
- **Бринстер и др. инъецировали в пронуклеусы зигот мышей комплекс, включающий металлотioneин мыши с геном тимидинкиназы с промотором, интеграция была отмечена у семи из 41 мыши (17%), экспрессия наблюдалась у четырех особей. Наиболее активная экспрессия отмечена в печени и почках.**

- **Революционные достижения в биологии, особенно в генетике, позволили создать принципиально новые биотехнологии, генетическая инженерия стала признанной, перспективной технологией.**
- **В середине 70-х годов были открыты микробные ферменты, позволяющие разрезать молекулы ДНК в совершенно определенном месте, то есть выделять нужные ее участки, что позволило искусственно сливать гены или создавать рекомбинантную ДНК.**
- **Стало возможным идентифицировать и клонировать определенные гены. Выбранный ген должен иметь какую-либо биологическую функцию, которая может быть детектирована. Выделенный ген должен быть введен в ДНК-молекулу переносчика или вектора — посредника при переносе гена. Таким образом, ген может быть перенесен из организма донора в организм реципиента, который впоследствии будет в состоянии реплицировать чужеродный ген. Следовательно, чужеродный ген в организме реципиента будет не только действовать, но и реплицироваться.**

- **Генная инженерия в основном состоит из выделения из одного организма гена (ДНК), определяющего желательный признак, и переноса его в другой организм, который получает новый генетически наследуемый признак.**
- **Современная биотехнология создает возможность передачи отдельного гена или блока генов, контролирующего определенный признак. Такой ген может быть перенесен из любого организма в любой другой организм. При этом в новом организме он будет, вероятно, способен проявлять свойственную ему экспрессию, то есть проявляться в фенотипе. При этом организмом реципиентом может быть как растительная, так и животная форма.**

- На фото, приведенных выше, видно, что одна и та же рыбка может быть носителем разных трансгенов, экспрессия которых достаточно строго локализована. Так GFP-ген в данном случае работает в клетках эпидермиса, а RFP-ген проявляет себя в мышечной ткани. Почему так происходит? Экспрессия этих трансгенов (как, впрочем, и любых других родных для организма генов) контролируется специальными последовательностями нуклеотидов в молекуле ДНК, расположенными впереди этих генов – промоторами. Именно от промотора зависит когда и при каких обстоятельствах, и в каких тканях произойдет экспрессия управляемого им гена – репортера. Поэтому при пересадке генов используют сложную конструкцию важнейшими элементами которой являются промотор (он может быть родным для того организма в геном которого вводят чужеродный ген, а может быть и чужим, взятым от какого-либо другого организма), ген-репортер (чужеродный для данного организма) и последовательность нуклеотидов, останавливающих синтез мРНК. **В приведенном выше примере для GFP-трансгена был использован промотор гена цитокератина, который "допускает" экспрессию этого гена только в эпидермальных клетках. В таких случаях говорят, что промотор тканеспецифичный. Для RFP-трансгена также использован тканеспецифичный промотор гена, ответственного за синтез миозина (одного из белков мышц, который обеспечивает их сокращения), поэтому экспрессия RFP-трансгена и происходит только в мышечной ткани.** Совсем не обязательно, чтобы трансгенные данио красного цвета обладали способностью к синтезу GFP. Просто Dr. Gong первоначально создавал своих рыб не для декоративных целей, поэтому они могут являться носителями сразу нескольких чужеродных генов и экспрессия некоторых из них не влияет на окраску рыбы. **В дальнейшем эти рыбки были запатентованы в США компанией Yorktown Technologies LP под названием Glofish.** Американцы и сейчас продолжают разводить красных рыб этой линии и их можно узнать по наличию GFP в эпидермальных клетках. Флуоресцирующие красные рыбы, производимые тайваньской фирмой Taikong Corp. – ТК-2 (Taikong-2) не обладают GFP-трансгеном. Их окраска обусловлена экспрессией всё того же RFP-трансгена, то есть в их геном введен такой же как и в случае с Glofish, ген актинии, но в сочетании с другим промотором. Тайваньские специалисты для создания своих трансгенных рыб применили промотор, контролирующий синтез актина. Актин также интенсивно синтезируется в мышечной ткани. Собственно, благодаря взаимодействию актина и миозина мышцы и обладают способностью сокращаться. В норме организм интенсивно синтезирует актин и миозин в мышечной ткани, поэтому соответствующие промоторы искусственно связанные с RFP-трансгеном отлично обеспечивают его экспрессию в мышцах.

Профессор Гонг вводил в геном данио рерио различные конструкции. В частности, он соединял "миозиновый" промотор с GFP-геном. В этом случае GFP синтезировался в мышечной ткани и вырастали зеленые рыбы (см. фото внизу).



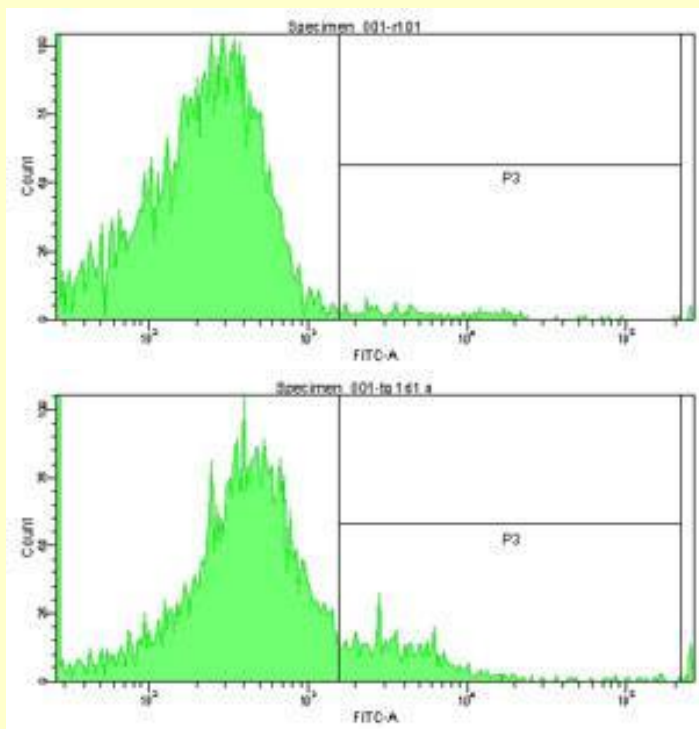
А - Электрофоретическое исследование ПЦР продукта (праймеры к α -цепи Т-клеточного рецептора гибридомы клеток памяти CD8+ 1D1)

Б - Электрофоретическое исследование ПЦР продукта (праймеры к гену RAG1)

1-5 - матрица - ДНК мышей, рождённых после микроинъекции гена

+ - ДНК исходной гибридомы

W.T. - ДНК мышей дикого типа



Цитофлуориметрическое исследование периферической крови мышей дикого типа (А) и первичного трансгена по гену β -цепи Т-клеточного рецептора гибридомы клеток памяти CD8+ 1D1 (Б). Клетки крови окрашивали антителами к $V\alpha 11$, конъюгированными с флуорохромом FITC-A

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

- **С 50-х годов до настоящего времени разработаны методы генетического манипулирования, которые сложились в четкую систему генной инженерии животных.** К этим работам относится пересадка клеточных ядер у лягушек методом микроинъекции Бригса и Кинга. В настоящее время перенос ядра соматической клетки в энуклеированную зиготу успешно проведен на мышах.
- **Освоен метод переноса ядра путем слияния кариопластов.** Разработана методика получения химер у млекопитающих.
- **Гарднер разработал методику инъекции бластомеров в бластоцисты реципиента.** Эта методика освоена на мышах Бутлером. На ее основании получены химеры у овец. Указанные работы, связанные с клеточной инженерией животных, подготовили подходы к генной инженерии сельскохозяйственных животных. Один из методов получения трансгенных животных заключается в переносе генов в культивируемые клетки, а затем их инъ-ецировании в бластоцисту. Разработаны различные методы внесения генов в генотип реципиентных клеток.
- **Наибольшее распространение в последнее время получил метод инъецирования чужеродных генов в пронуклеус зиготы животных.** Впервые инъецирование было проведено на ооцитах лягушек: в яйцеклетки вводили определенную ДНК, и были отмечены интеграция и транскрипция.
- **В 1981 г. был инъецирован ген α -глобина кролика в зиготу мыши.** Ген, включенный в геном, имел вид длинного тандема организованных участков, которые корректно транскрибировались только в том случае, если они не содержали плазмидных компонентов (Т. Е. Wagner и др.).

- **Проявление действия встроенных генов, введенных путем микроинъекции, изучали на мышах.** На ряде генов установлено их тканеспецифическое действие в зависимости от регуляторных элементов того или иного гена.
- **В 1980 г. в пронуклеус зиготы мыши была инъецирована плаزمид рBR322, содержащая вставку генов вирусов SK40 и HSV.** У трех мышей (3,8%) из 78 найдена ДНК, что подтвердило хромосомную интеграцию, однако ДНК подверглась реорганизации.
- **При инъецировании гена β -глобина человека в комплексе с геном ТК HSV в пронуклеусы зигот мыши установлена интеграция у пяти из 33 плодов (15,1%), извлеченных на 16—17-й день.**
- **Проведена микроинъекция в пронуклеус зиготы гена β -глобина кролика, экспрессия наблюдалась у пяти мышей.**
- **Бринстер и др. инъецировали в пронуклеусы зигот мышей комплекс, включающий металлотioneин мыши с геном тими-динкиназы с промотором, интеграция была отмечена у семи из 41 мыши (17%), экспрессия наблюдалась у четырех особей. Наиболее активная экспрессия отмечена в печени и почках.**

Перспективы контроля над генами

- **Улучшение генотипа человека.**
- **Ликвидированы генетические причины заболеваний.**
- **Старение будет остановлено. В конце 1990-х ученым удалось внедрить в клетки ген, отвечающий за выработку белка теломеразы, восстанавливающего теломеры, и тем самым сделать их бессмертными.**
- **Улучшение собственного организма (создание химер)**
- **Воссоздание исчезнувших видов (мамонтов, птицу дронга, динозавров)**
- **Создавать совершенно новые организмы - драконов, единорогов, живые дома, летающие деревья.**
- **С помощью генной модификации можно будет усилить интеллект собак, шимпанзе, дельфинов, других животных. Человек больше не будет одинок в царстве жизни на Земле.**
- **Генная революция не будет длиться бесконечно. Идущий параллельно прогресс в области нанотехнологий приведёт к тому, что границы между живым и неживым будут стёрты.**
- **Нанороботы и роботы смогут выполнять все функции биологических объектов, кибернетические организмы будут сочетать в себе биологические и машинные части, андройды будут неотличимы от биологических людей. Искусственный интеллект и загруженные в компьютер люди будут разумны так же как и личности, существующие в живых мозгах. В конце концов, неизбежна перестройка всей косной материи в умную материю, организованную на нано-уровне, обладающую способностью перестраивать себя и служить носителем разума. Но это уже совсем другая история.**

Перспективы контроля над генами

- Развитие генной инженерии сделает возможным **улучшение генотипа человека**. Масштабные задачи, стоящие сегодня перед человечеством требуют людей талантливых во многих отраслях, совершенных и высокоразвитых личностей, обладающих идеальным здоровьем, высочайшими физическими и умственными способностями. Таких людей можно будет создать методами генной, генетической и клеточной инженерии. Эти методы будут применимы как к только появляющимся на свет детям, так и к уже взрослым людям. Человек сможет многократно усилить свои собственные способности, и увеличить способности своих детей. С объективной точки зрения в этом нет ничего плохого или не этичного. Уже сегодня многие всемирно известные учёные, такие как Уотсон, один из первооткрывателей ДНК, говорят о том, что человеческая глупость, например, является по сути своей генетическим заболеванием и в будущем будет излечима.
- Будут полностью **ликвидированы генетические причины заболеваний**, все люди будут совершенно здоровыми. **Старение будет остановлено** и никому не придётся сталкиваться с увяданием, с упадком сил, с дряхлостью. Люди станут практически бессмертными - смерть будет становиться всё более редким явлением, перестав быть неизбежностью.
- Известно, например, что одной из причин старения является сокращение теломер при каждом делении клетки. Теломеры - это копии фрагмента TTAGGG, расположенные на концах всех хромосом и защищающие ДНК как металлические наконечники шнурков. Обычно клетка умирает, пережив около 50 процессов деления, однако учёным удалось добиться неограниченного деления клеток. **В конце 1990-х учёным удалось внедрить в клетки открытый ими ген, отвечающий за выработку белка теломеразы, восстанавливающего теломеры, и тем самым сделать их бессмертными.**
- Конечно, отдельные группы, не отягченные соответствующими знаниями, но, преследующие какие то личные, идеологические или лоббистские цели могут пытаться запретить подобные технологии, но как показывает история развития науки, надолго это сделать им не удастся.
- Прогресс вряд ли остановится на исправлении недостатков. Излечив болезни и остановив старение, человек примется за **улучшение собственного организма**, за его перестройку по собственным планам и желаниям. Люди смогут произвольным образом лепить свое собственное тело и мозг, добавлять себе новые способности, возможность жить под водой, летать, питаться энергией солнечного света, добавлять новые отделы мозга, новые органы тела. Любители модификации своего тела смогут сделать свои тела похожими на тела животных или даже химер, таких как кентавры или русалки.
- Человек вряд ли ограничится собственной перестройкой. Он сможет **воссоздать организмы, исчезнувшие ранее** с лица Земли - мамонтов, птицу дронга, динозавров, а также **создавать совершенно новые организмы** - драконов, единорогов, живые дома, летающие деревья. Любой организм, существование которого не противоречит законам природы, сможет быть создан. Новые виды животных, растений и даже совершенно новых существ будут создаваться в промышленных целях, как форма творчества, для освоения космоса. Кроме того, человек наверняка захочет помочь братьям своим меньшим подняться с животного уровня. **С помощью генной модификации можно будет усилить интеллект собак, шимпанзе, дельфинов, других животных.** Человек больше не будет одинок в царстве жизни на Земле.
- Но **генная революция не будет длиться бесконечно. Идущий параллельно прогресс в области нанотехнологий приведёт к тому, что границы между живым и неживым будут стёрты.** Нанороботы и роботы смогут выполнять все функции биологических объектов, кибернетические организмы будут сочетать в себе биологические и машинные части, андройды будут неотличимы от биологических людей. Искусственный интеллект и загруженные в компьютер люди будут разумны так же как и личности, существующие в живых мозгах. В конце концов, неизбежна перестройка всей косной материи в умную материю, организованную на нано-уровне, обладающую способностью перестраивать себя и служить носителем разума. Но это уже совсем другая история.