

# Биотехнология – достижения и проблемы



# Основные методы селекции и биотехнологии

- **Селекция**- наука изучающая биологические основы и методы создания и улучшения пород животных, сортов растений и штаммов микроорганизмов.



# **Порода, сорт и штамм –**

**это популяция организмов, искусственно созданная человеком, которая характеризуется специфическим генофондом, наследственно закрепленными морфологическими и физиологическими признаками, определенным уровнем и характером продуктивности.**

# Задачи селекции?

1. Выведение новых пород животных и сортов растений, совершенствование ныне существующих;
2. Повышение урожайности сортов и продуктивности пород;
3. Повышение устойчивости к заболеваниям;
4. Экологическая пластичность сортов и пород.



# МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИИ

```
graph TD; A[МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИИ] --> B[ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ]; A --> C[КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ]; A --> D[ИСКУССТВЕННЫЙ ОТБОР]; A --> E[МУТАГЕНЕЗ]; A --> F[ГИБРИДИЗАЦИЯ]; A --> G[ПОЛИПЛОИДИЯ];
```

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

КЛЕТОЧНАЯ  
ИНЖЕНЕРИЯ

ИСКУССТВЕННЫЙ  
ОТБОР

МУТАГЕНЕЗ

ГИБРИДИЗАЦИЯ

ПОЛИПЛОИДИЯ

# Искусственный отбор

- это выбор человеком наиболее ценных для него особей животных и растений данного вида, породы или сорта для получения от них потомства с желательными свойствами.



## Методический (сознательный)

```
graph TD; A([Методический  
(сознательный)]) --> B[Массовый  
Селекция перекрестно  
опыляемых растений  
(рож, кукуруза)  
Итог: улучшение сортовых  
качеств, но результат не  
устойчив из-за перекрестного  
опыления]; A --> C[Индивидуальный  
Селекция самоопыляемых  
растений (пшеница, горох,  
ячмень) потомство  
гомозиготно=чистая  
линия.  
Селекция животных с  
учетом экстерьерных  
признаков.];
```

### Массовый

Селекция перекрестно  
опыляемых растений  
(рож, кукуруза)  
Итог: улучшение сортовых  
качеств, но результат не  
устойчив из-за перекрестного  
опыления

### Индивидуальный

Селекция самоопыляемых  
растений (пшеница, горох,  
ячмень) потомство  
гомозиготно=чистая  
линия.  
Селекция животных с  
учетом экстерьерных  
признаков.

# Гибридизация

- это процесс создания гибридов в результате объединения генетического материала разных половых клеток в одной клетке.



**Гибридизация (скрещивание)** - это процесс создания гибридов в результате объединения генетического материала разных половых клеток в одной клетке.

**Инбридинг**

**Скрещивание внутри одной породы между близкими родственниками для сохранения важных признаков**

**Аутбридинг**

**Скрещивание различных пород животных, отличающихся по ряду признаков для получения межвидовых гибридов**

**Гетерозис**

**Получение межпородных высокопродуктивных гибридов**

**Гибридизация** – искусственное скрещивание различных по признакам особей с целью выявления характера наследования признаков, получения новых сочетаний и закрепления признаков на уровне генотипа

**Инбридинг** – близкородственная гибридизация - близкородственное скрещивание животных или принудительное самоопыление растений с целью сохранения и распространения особенно желательных признаков. Позволяет перевести рецессивные гены в гомозиготное состояние.

Часто ведет к снижению жизнеспособности и продуктивности особи, появлению уродств – **инбредной депрессии**.

**Аутбридинг** – неродственное скрещивание (внутривидовое и межвидовое), отдаленная гибридизация.

Неродственное скрещивание организмов, относящихся к разным линиям внутри породы или сорта, разным сортам и породам, разным видам и родам, отличающихся контрастными признаками.

Переводит вредные мутации в гетерозиготное состояние, оказывая положительное влияние.

Потомки от скрещивания – гибриды



**Гетерозис** – мощное развитие признаков (ускорение роста, увеличение размеров, повышение жизнестойкости и плодовитости) по сравнению с родительскими формами у гибридов, полученных при скрещивании особей двух чистых линий, одна из которых несет доминантные, а другая - рецессивные признаки в гомозиготном состоянии.

**AAbbCCdd x aaBBccDD**



**AaBbCcDd**

**Для сохранения эффекта гетерозиса в следующих поколениях организмы надо размножать только бесполом путем**

Явление превосходства первого поколения гибридов над обоими родительскими формами называют гибридной мощью или гетерозисом.





**Мул – гибрид  
лошади и  
осла**

## Отдаленная гибридизация (межвидовое скрещивание)

Чаще всего межвидовые гибриды стерильны.

- Гибрид кобылицы с ослом – мул, отличается выносливостью и долгожительством.
- Архаромериносы (плодовитые), которые, как и архары, могут пастись высоко в горах и, подобно мериносам, дают хорошую шерсть.
- При скрещивании белуги и стерляди получен плодовитый гибрид - бестер,
- Хорька и норки – хонорик,
- Продуктивен гибрид между карпом и карасем.

# Мутагенез

- это процесс возникновения мутаций под действием различных мутагенов.



# Искусственный (индуцированный) мутагенез

## 1. Физический

- Облучение
- Изменение температуры
- Ультразвук

## 2. Химические

- Кислоты
- Токсины
- Лекарства

## 3. Биологический

- Вирусы
- Бактерии

# Искусственный мутагенез

Получение мутаций, контролируемых человеком

1927г. – американский генетик Меллер открыл искусственный мутагенез.

Воздействовал на растения рентгеновскими, УФ, химическими веществами.

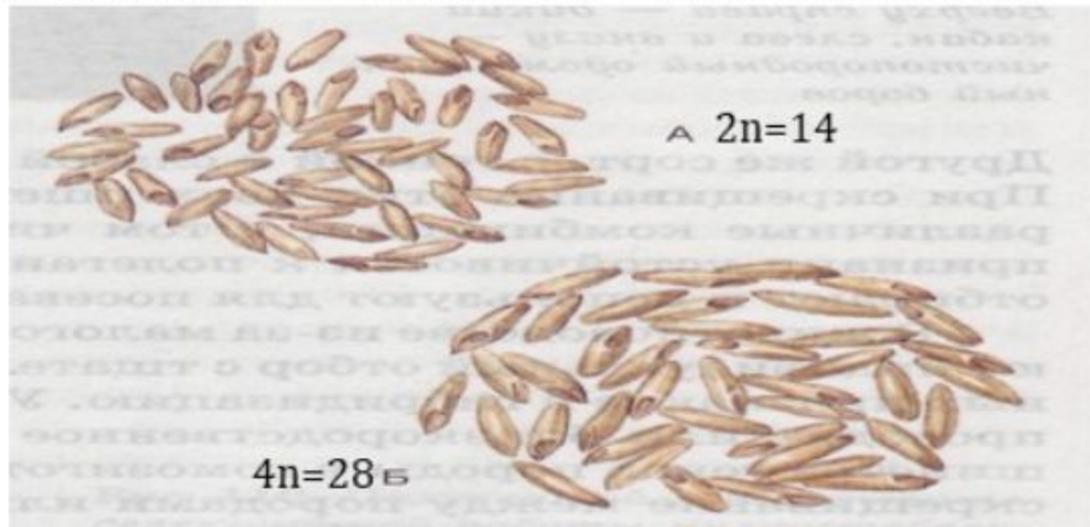
(основные объекты - пшеница, ячмень, рис, овес, кукуруза, гречиха, соя, хлопчатник и т.д.)

Созданные сорта превосходят исходные:

- урожайностью
- содержанием белка
- скороспелостью
- устойчивостью к полеганию
- устойчивостью к болезням

# Полиплоидия

- наследственное изменение, характеризующаяся многократным увеличением числа хромосом в клетках организма. Возникает в результате нарушения расхождения хромосом в митозе или мейозе.



**Метод ментора** — способ направленного развития («воспитания») молодых гибридных растений при их прививке на другой сорт, разработанный И. В. Мичуриным.

# Микробиологический синтез-

использование микроорганизмов для получения белков, ферментов, лекарственных препаратов.

## *Упрощённая схема селекции микроорганизмов.*

1. Природный штамм
2. Выявить и отобрать продуктивный штамм на основе естественного отбора.
3. Обработка мутагенами
4. Выявить и отобрать перспективных мутантов
5. Многократный пересев с контролем на образец требуемого продукта
6. Получение продуктивного штамма
7. Передача его в промышленное производство.

# Методы селекции животных

## 1. Гибридизация

- инбридинг
- аутбридинг

## 2. Отбор по экстерьеру (внешним и хозяйственным признакам)

## 3. Испытание родителей по потомству (наиболее точная оценка племенных качеств у производителей осуществляется по потомству).

## Особенности селекции животных:

- 1.Используется только **половое размножение**;
- 2.у животных не наблюдается такое большое количество потомства, как у растений;
- 3.размножение происходит реже, чем у растений (особи должны еще достичь полового созревания);
- 4.у животных инбридинг приводит к ослаблению гибридов, **уменьшению жизнеспособности**;
- 5.при неродственном скрещивании — наоборот, **жизнеспособность** гибридов **увеличивается**
- 6.при массовом отборе животных руководствуются **стабилизирующим отбором**;

# Методы селекции растений

1. Гибридизация

2. Отбор

- массовый
- Индивидуальный

3. Мутагенез

4. Метод Ментора

5. Клеточная инженерия

## Методы селекции микроорганизмов

1. Гибридизация различных штаммов
2. Искусственный мутагенез
3. Генная инженерия

- **Современная биотехнология** — это наука о генно-инженерных и клеточных методах создания и использования генетически трансформированных биологических объектов для интенсификации производства или получения новых видов продуктов различного назначения.

**Биотехнология основана на:**

- Генетике;
- Молекулярной биологии;
- Биохимии;
- Эмбриологии и клеточной биологии;
- Прикладных дисциплинах: химической и информационных технологиях и робототехнике.

## биотехнологии

биоинженерия

биомедицина

наномедицина

биофармакология

клонирование

гибридизация

биоинформатика

генная инженерия

биоремедиация

бионика

опонка

# Значение биотехнологии:

- получение продуктов питания, кормовых добавок и ценных кормовых белков, лекарственных препаратов и средств диагностики, биотоплива
- борьба с загрязнением окружающей среды
- защита растений от вредителей и болезней
- создание штаммов микроорганизмов, сортов растений и пород животных с новыми полезными свойствами

# Разделы биотехнологии

- **Промышленная биотехнология** (биотехнологические производства, использующие преимущественно микроорганизмы).
- **Клеточная инженерия** (культивирование растительных и животных клеток).
- **Генная инженерия** (получение трансгенных организмов с новыми или усиленными свойствами и признаками).

# Промышленная биотехнология

- **Фармацевтическая биотехнология** (вакцины, ферменты, инсулин, интерфероны, витамины, антибиотики, биodeградируемые пластмассы, биосовместимые материалы, тест-системы).
- **Сельскохозяйственная биотехнология** (биологическая азотфиксация, микробные инсектициды и пестициды, кормовые препараты).
- **Биоэлектроника** (биосенсоры, биочипы).
- **Биоэнергетика** (пр-во биогаза путем метанового «брожения» отходов, дешевый спирт как топливо, фотогальванические элементы из бактериородопсина).
- **Биотехнологическая очистка сточных вод.**
- **Биогеотехнология** (извлечение металлов из руд, десульфуризация углей, борьба с метаном в угольных шахтах, повышение нефтеотдачи пластов).

# Использование бактерий в биотехнологии:

- Производство кисломолочных продуктов
- Квашение овощей
- Силосование травы
- Производство витаминов, гормонов, ферментов

Первой микробиологической синтез **гормона инсулина** с помощью методов генной инженерии «освоила» кишечная палочка *Escherichia coli*.

Выщелачивание  
меди, урана и др.

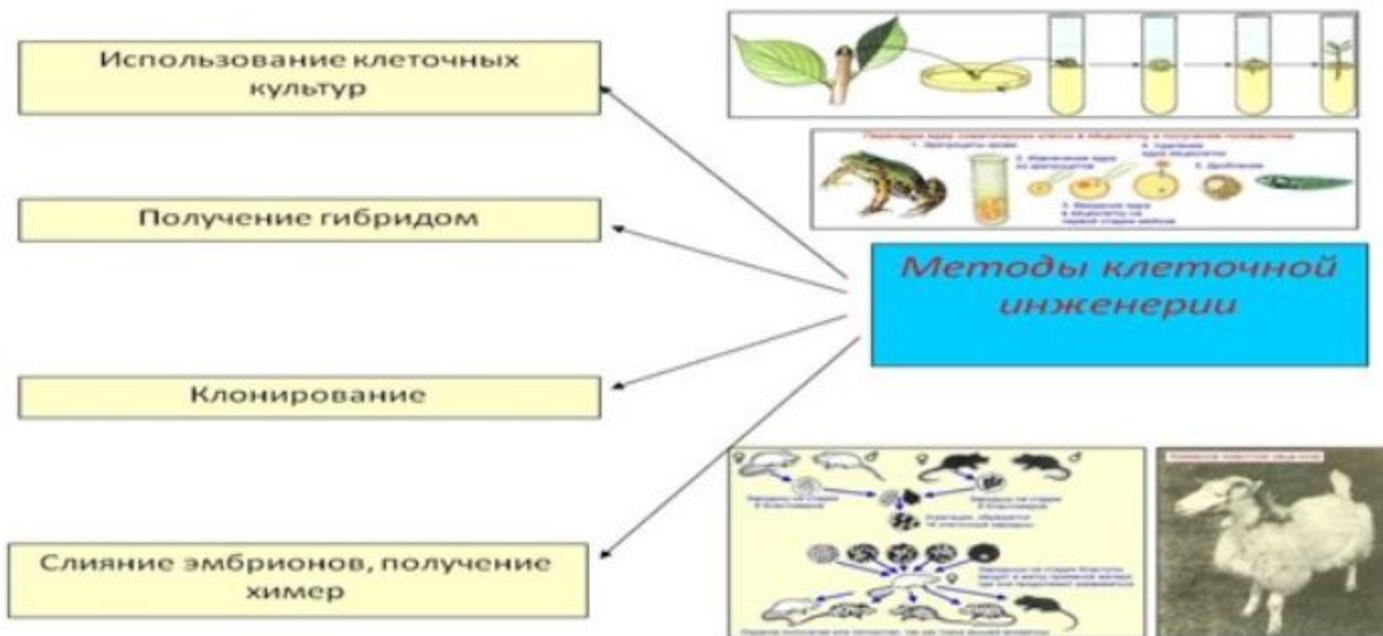


# «Грибные» биотехнологические продукты

- Антибиотики (пенициллин и др.).
- Ферменты (амилазы, протеазы, целлюлаза и др.)
- Органические кислоты: лимонная, щавелевая, итаконовая, фумаровая и др.
- Аминокислоты в промышленных масштабах.
- Грибные алкалоиды (спорыньи, псилоцибе мексиканской и др.).
- Витамины ( $\beta$ -каротин, группа В, D и др.).
- Кормовые препараты витаминов и белков.
- Регуляторы роста растений.
- Препараты для биологической защиты растений от болезней и вредителей.

# Клеточная инженерия

- метод конструирования клеток нового типа путем гибридизации их содержимого.



**Клеточная инженерия** — метод конструирования клеток нового типа на основе их культивирования на питательной среде, гибридизации и реконструкции. При этом в клетки вводят новые хромосомы, ядра и другие клеточные структуры.

Достижения клеточной инженерии растений, которая позволяет сформировать целое растение, в том числе с измененными свойствами, из отдельной клетки, нашли широкое применение в растениеводстве и селекции. Так, стали возможными **соматическая гибридизация, клеточная селекция, гаплоидизация, преодоление нескрещиваемости в культуре** и другие приемы.



# Клеточная инженерия

- конструирование клеток нового типа;
- создание химер агрегационным или инъекционным методом (генетическая мозаичность химер не наследуется);
- выращивание целого организма (клона) из одной соматической клетки или из культуры тканей.



# Клонирование

- **Растений, грибов и микроорганизмов** – бесполое размножение зачатками многоклеточными или одноклеточными
- **Животных** – многоплодность за счет близнецов; создание клонов методами биоинженерии; трансплантация эмбрионов.

# Клон - точная копия?

- Точное воспроизведение растения, животного или человека **невозможно**.
- Новый организм обязательно будет отличаться от материнского за счет **соматических мутаций, эпигенетической изменчивости, влияния окружающей среды на фенотип и случайных отклонений** в ходе онтогенеза.

# Клеточная инженерия растений

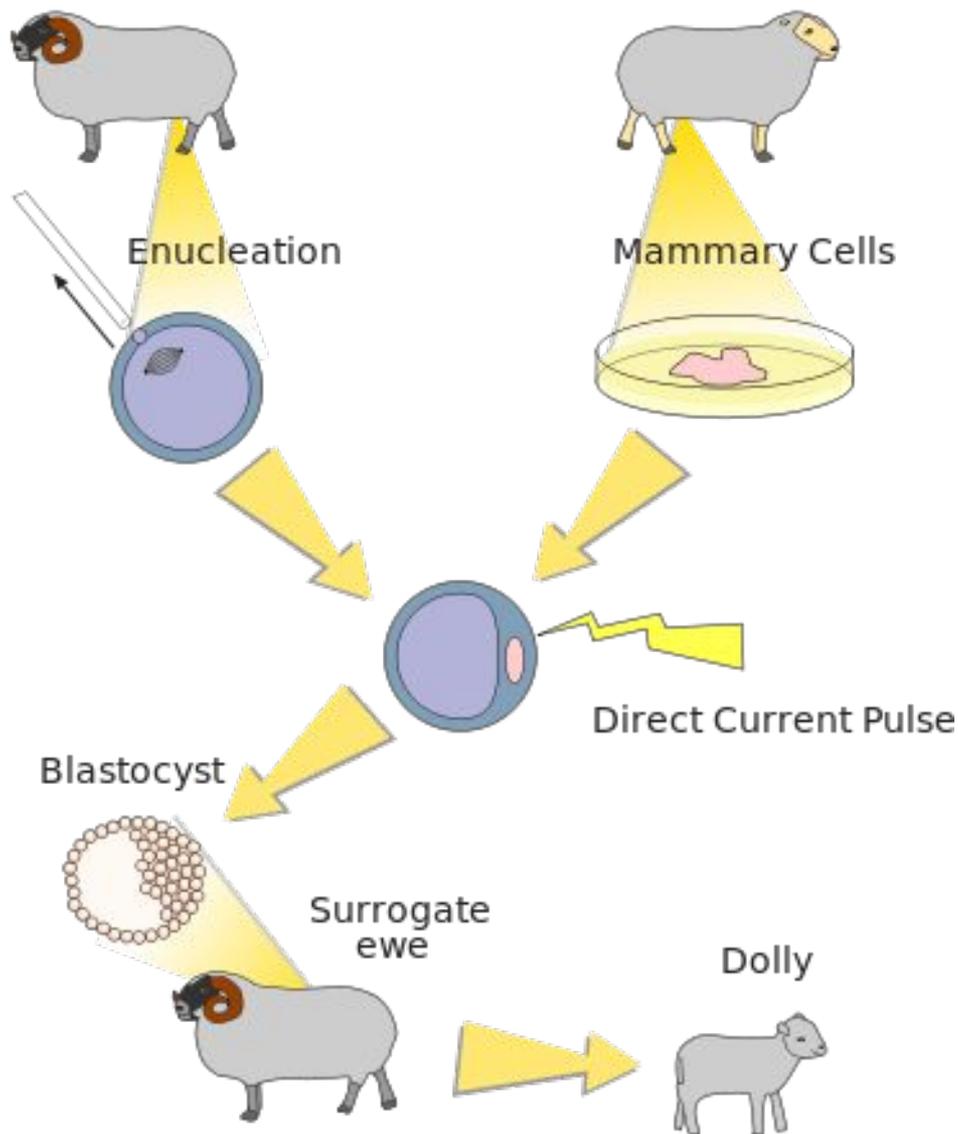
- Ускоренное клональное микроразмножение растений, позволяющее из одного экспланта получать до 1 млн. растений в год;
- Получение безвирусных растений;
- Мультиферментные системы из культивируемых в суспензии клеток;
- Культивирование иммобилизованных клеток и протопластов;
- Отдалённая (до семейств) гибридизация при слиянии растительных протопластов и др.

# Культуры растительных клеток в суспензиях

- **Растения:** женьшень, раувольфия змеиная, наперстянка шерстистая и пурпурная, диоскорея дельтовидная, воробейник, белладонна, паслён дольчатый, дурман обыкновенный, ландыш майский, клещевина, агава, мак снотворный и др.
- **Продуцируют:** алкалоиды, терпеноиды, гликозиды, полифенолы, полисахариды, эфирные масла, пигменты, антиканцерогены (птотецин, харрингтонин), пептиды (ингибиторы фитовирусов).

Scottish Blackface  
(Cytoplasmic Donor)

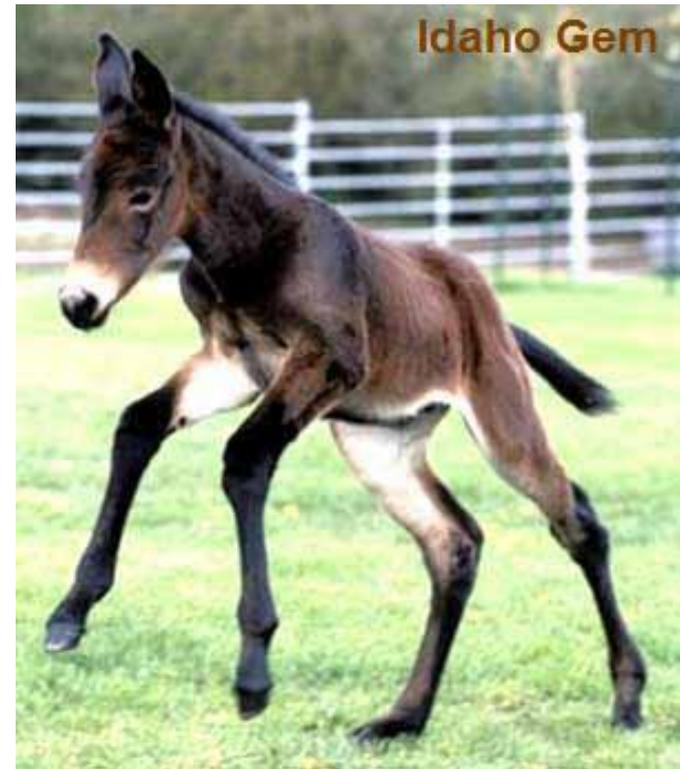
Finn-Dorset  
(Nuclear Donor)



**Овечка Долли**  
( 5.07.1996 — 14.02.2003) —  
первое клонированное  
млекопитающее животное,  
которое было получено путём  
пересадки ядра  
соматической клетки в  
цитоплазму яйцеклетки. Овца  
Долли являлась генетической  
копией овцы-донора клетки.

# Первые клонированные животные

- 1996 — овечка Долли
- 1997 — мышь
- 1998 — корова
- 1999 — козёл
- 2000 — свинья
- 2001 — кошка, гаур (дикий бык)
- 2002 — кролик
- 2003 — лошадь, мул, олень, крыса
- 2005 — собака, волк
- 2006 — хорёк
- 2009 — верблюд



# Клеточная инженерия человека

- Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО);
- Криоконсервация эмбрионов;
- Многолетнее ведение культур клеток человека;
- Культивирование фибробластов и др.;
- Использование стволовых клеток в медицине и др.

# Достижения в области изучения и терапевтического использования СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

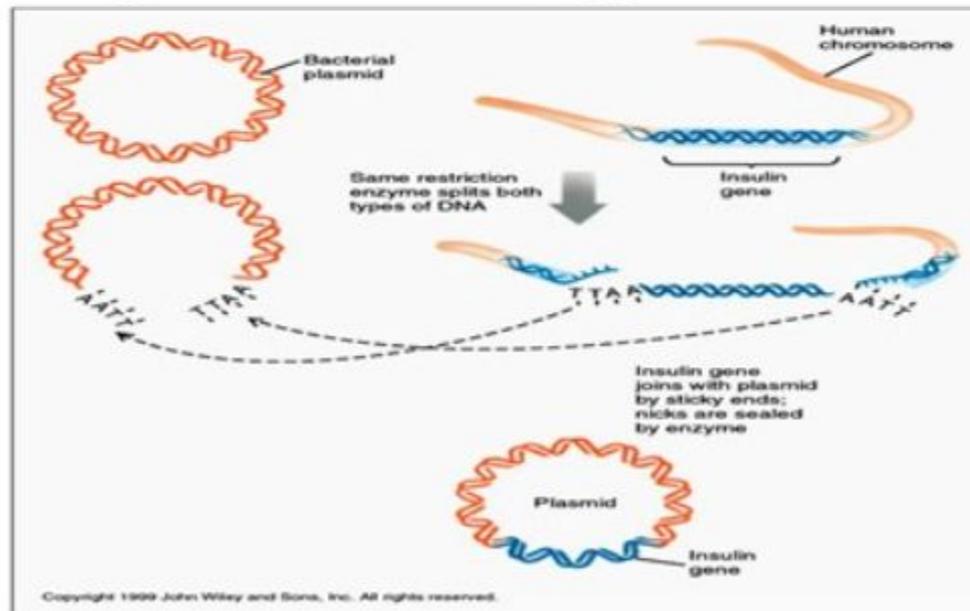
- Испанские хирурги провели первую в мире трансплантацию целого органа, выращенного из стволовых клеток пациента - **биоинженерную трахею.**

# Создание iPS-клеток

- iPS-клетки (**Induced Pluripotent Stem cells**)- индуцированные плюрипотентные стволовые клетки.
- Основной метод перепрограммирования для получения iPS-клеток - использование вирусных векторов - чужеродная ДНК (вируса или бактериофага) включается в генетический аппарат клетки и с помощью её обменных механизмов начинает синтезировать «свой» белок.

# Генная инженерия

- это совокупность методов воздействия на ДНК, позволяющих переносить наследственную информацию из одного организма в другой.





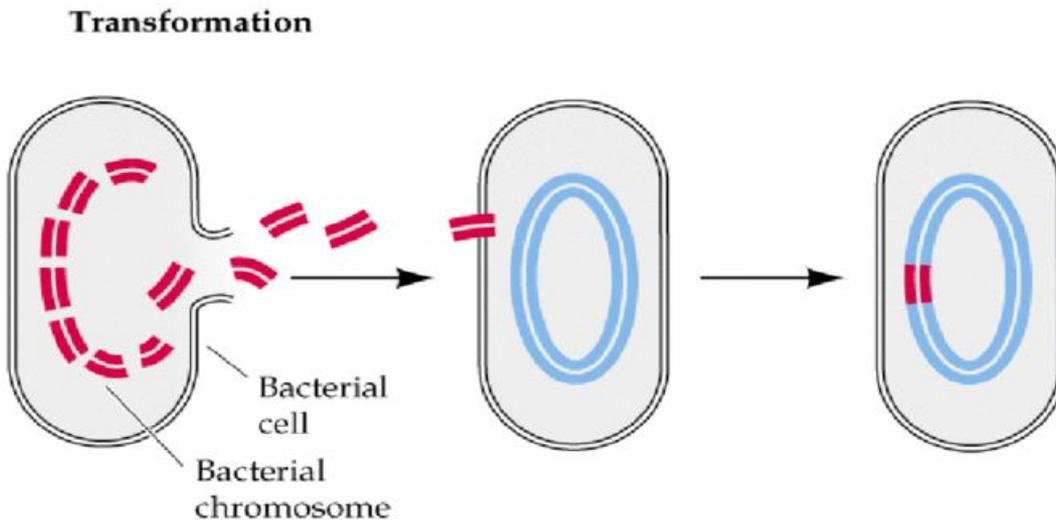
**Генная инженерия** — это отрасль молекулярной биологии и генетики, задачей которой является конструирование генетических структур по заранее намеченному плану, создание организмов с новой генетической программой.

Во многих случаях это сводится к переносу необходимых генов от одного вида живых организмов к другому, зачастую очень далекому по происхождению.

Переносу генов предшествует кропотливая работа по **выявлению нужного гена в геноме организма - донора** (вируса, бактерии, растения, животного, гриба) и его **выделению**. Это наиболее трудная часть работы, поскольку вместе со **структурным геном** необходимо перенести и **регуляторные**. Затем необходимо встроить данный участок молекулы ДНК в **генетический вектор (переносчик ДНК)**. В качестве векторов чаще всего используют вирусы, плазмиды бактерий, хромосомы митохондрий и пластид, а также искусственно сконструированные молекулы ДНК.

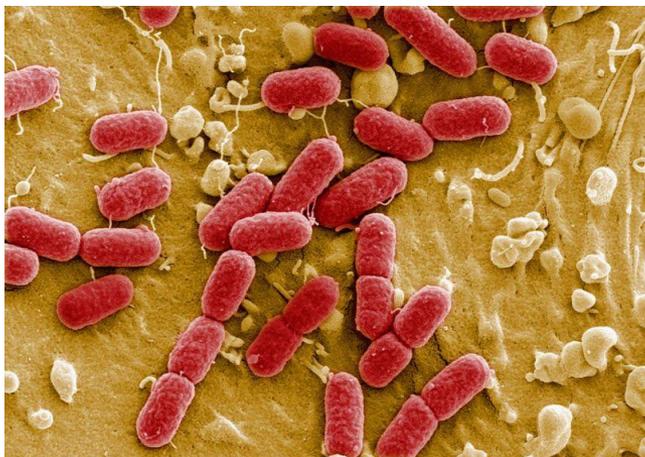
Процесс введения вектора новой ДНК в клетку-хозяина называется **трансформацией**. Последний этап работы заключается в размножении организмов-хозяев и отборе тех из них, в которых «прижился» введенный ген. В настоящее время применяют и прямое введение ДНК в клетки эукариот с помощью электрических разрядов, генной пушки и другими способами.

Полученные в результате переноса генов организмы называются **генетически модифицированными**, или **трансгенными**.

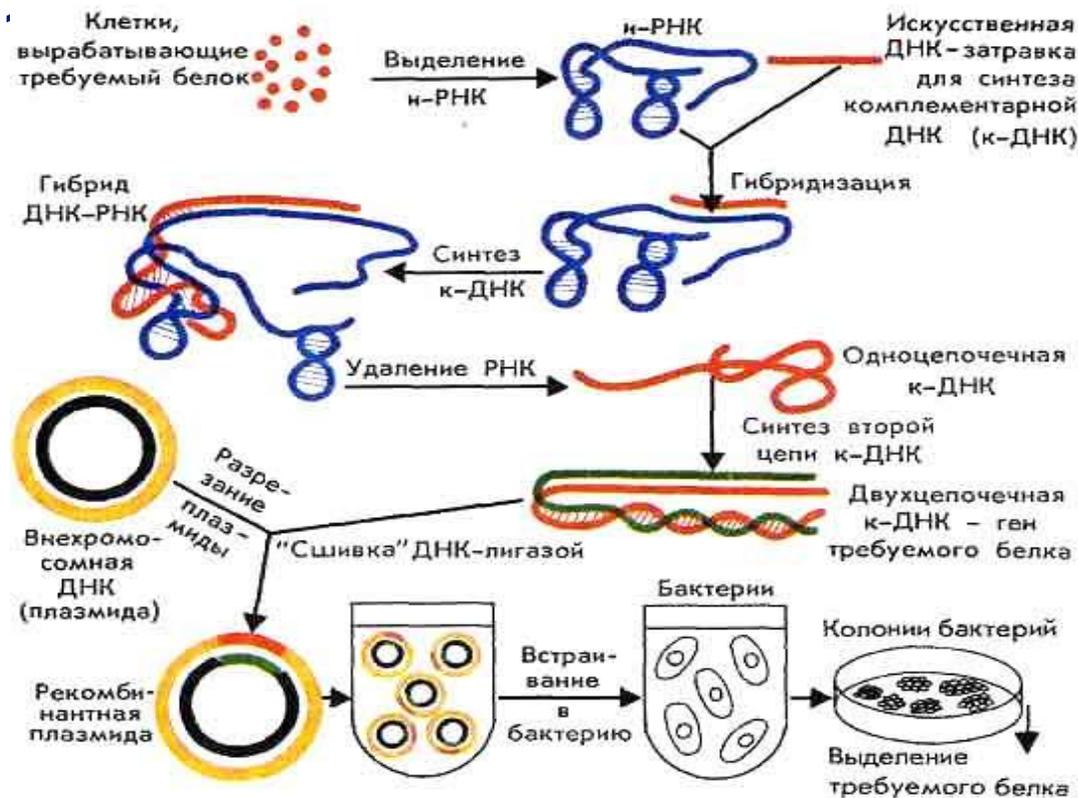


# Генная инженерия

Основана на выделении (или на искусственном синтезе) нужного гена из генома одного организма и введение его в геном другого организма зачастую далёкому по происхождению (впервые процесс был проведён в



**Кишечная палочка-излюбленный объект микробиологов**



# Генная инженерия

- Конструирование рекомбинантных молекул ДНК, внедрение селективных и репортёрных генов;
- Генетическая паспортизация;
- Диагностика генетических заболеваний;
- Создание ДНК-вакцин;
- Генотерапия различных заболеваний;
- Международная научная программа «Нокаут всех генов»(на мышах).

# История становления генной инженерии

- конструирование специальных штаммов **кишечной палочки** для промышленного производства человеческих гормонов – инсулина (1978 г.), гормона роста (1982 г.) и др.;
- получение **трансгенных** организмов с гибридной ДНК;
- создание линий (пород, сортов), устойчивых к вирусным заболеваниям, а также линий с полезными для человека признаками;
- выращивание лабораторных животных со **светящимися** тканями и другими маркерами.



Мышь, маркированная геном GFP

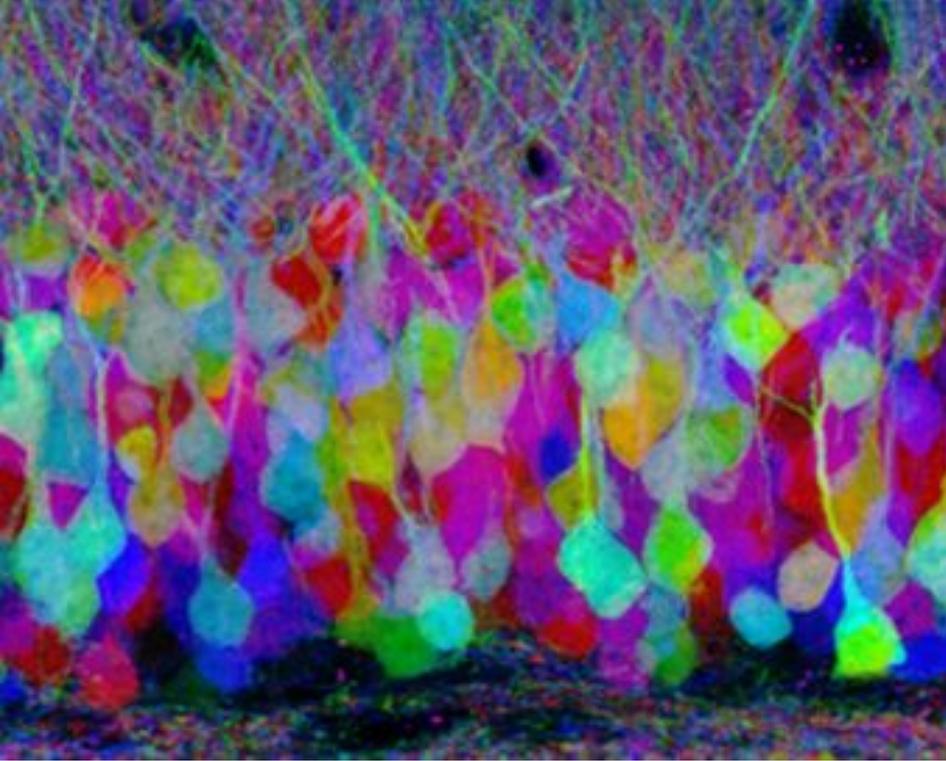
Широко используются для прижизненного мечения белков, органелл и клеток генетические флуоресцирующие маркеры типа GFP (зелёные) и RFP (красные).

Ген, кодирующий **зелёный флуоресцентный белок** первоначально был выделен из медуз, а ген, кодирующий **красный флуоресцирующий белок** - из морского анемона.

В настоящее время выведено несколько линий трансгенных мышей, крыс, свиней, обладающих светящимися тканями. Это позволяет проследить судьбу отдельных клеток и органелл при изучении стволовых клеток, трансплантантов и др.

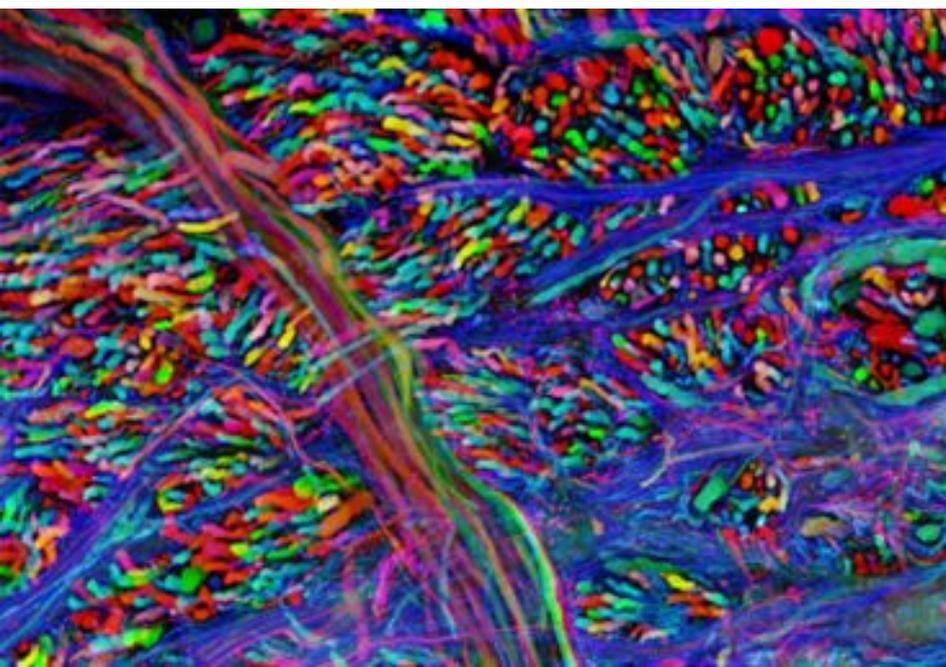
# «Своящиеся» ткани у трансгенных кур





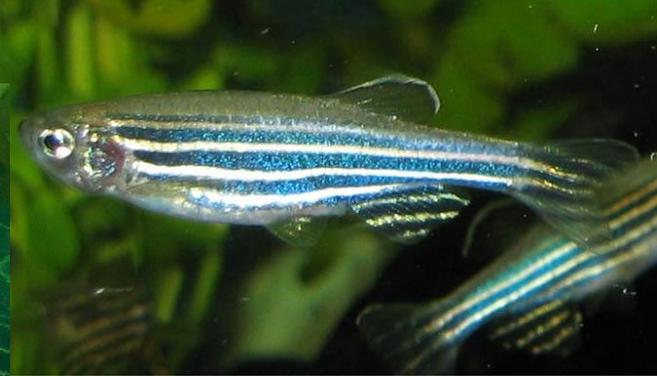
В мозге живой мыши  
хорошо различимы  
отдельные нейроны

(зубчатая извилина гиппокампа;  
конфокальный микроскоп)



Разноцветные  
пучки аксонов

(поперечный срез ствола мозга;  
конфокальный микроскоп)



«Светящиеся»  
рыбки данио  
рерио (GloFish)  
стали первым  
общедоступным  
генетически  
модифицирован-  
ным домашним  
животным.

# Методы введения генов в клетку

- При помощи векторов (бактериальные плазмиды, вирусы, транспозоны и др.).
- Прямое введение гена в клетку (трансфекция, микроинъекция, электропорация, метод «мини-клеток», упаковка в липосомы, электронная пушка)

# «Генная пушка»

- Метод **биологической баллистики** является одним из самых эффективных методов трансформации растений, особенно однодольных (кукуруза, рис, пшеница, ячмень).
- Генные конструкции напыляют на частички вольфрама, платины или золота (0,6-1,2 мкм) и выстреливают ими из пушки по суспензии клеток с расстояния 10-15 см.
- Вместо суспензии клеток можно стрелять по пыльце (гаплоидные трансформанты табака).



**Генная  
пушка**

# Введение генов животным

- Лучшие векторы созданы на основе ретровирусов (вирус лейкоза мышей и др.).
- Ретровирусы обеспечивают около 40% от всех трансформаций, реже используют аденовирусы (из-за сильного иммунного ответа).
- Около 25% генов вводят путем упаковки ДНК в липосомы.

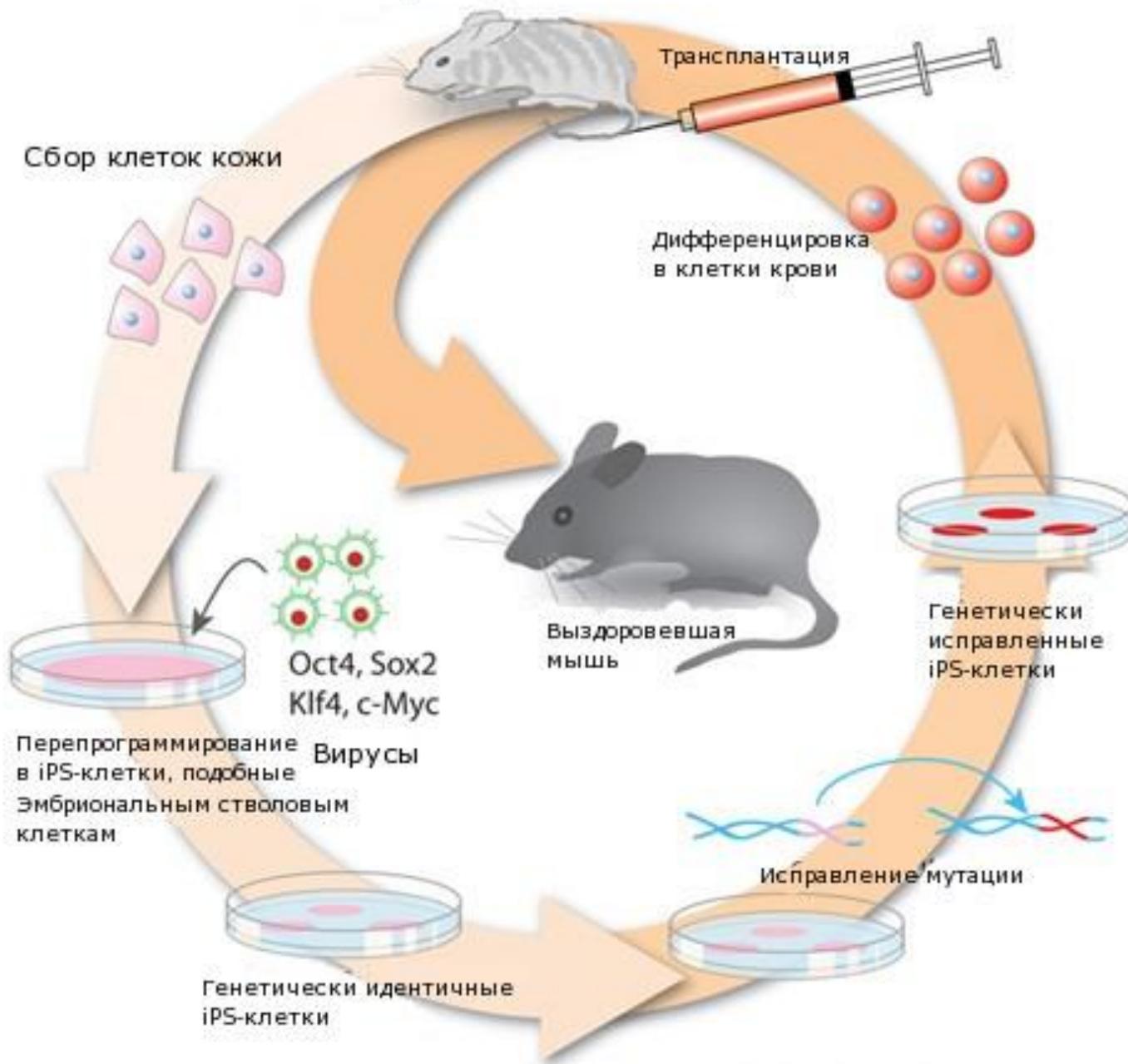
# Фетальная генотерапия животных

- Введение генетической конструкции в зиготу или эмбрион на ранней стадии развития.
- Трансгенные животные получаютс из 15-20% яйцеклеток с инъецированной ДНК, и лишь у 20-30% животных введенный ген экспрессируется.
- Велика опасность повреждения гена хозяина (инсерционный мутагенез), что может стать причиной злокачественного новообразования .

# Соматическая генотерапия ЖИВОТНЫХ

в 2007 г. мыши, больные человеческой **серповидноклеточной анемией**, были вылечены с помощью перепрограммированных клеток своей кожи.

# Мышь с серповидно-клеточной анемией



- В 2008 г. биологи Гарвардского университета сумели перепрограммировать взрослые клетки в эмбриональные **непосредственно в живом организме**, не извлекая из него эти клетки.
- Эксперимент был проведен на клетках поджелудочной железы взрослых мышей, в результате этого из обычных клеток были получены клетки, производящие **инсулин**.

# Успехи генетической инженерии в экспериментах над приматами

- Доказана возможность «вживления» искусственно модифицированного гена в ткани взрослых особей приматов;
- Доказана пластичность центральной нервной системы, которая готова принять сигналы от новых рецепторов без глубоких качественных перестроек.

# Соматическая генотерапия человека

- **Амавроз Лебера** - врождённая слепота. Инъекция вектора с геном, кодирующим светочувствительный пигмент, в сетчатку глаза.
- **Муковисцидоз** - поражение эпителия лёгких и др. органов. Аденовирусный вектор или липосомы вводят в форме аэрозоля в дыхательные пути больного.
- **Прогрессирующая мышечная дистрофия Дюшенна**. Ген дистрофина инъецируют в мышцы.

# Применение генной инженерии в сельском хозяйстве

- Первые трансгенные растения (растения **табака** со встроенными генами из микроорганизмов) были получены в 1983 г.
- Первые успешные полевые испытания трансгенных растений (устойчивые к вирусной инфекции растения **табака**) были проведены в США в 1986 г.

## Первые трансгенные продукты появились в продаже в США в 1994 г.

- **томаты** «Flavr Savr» с замедленным созреванием, созданные фирмой «Calgen»;
- гербицид-устойчивая **соя** компании "Monsanto".

*Уже через 1-2 года биотехнологические фирмы поставили на рынок целый ряд генетически изменённых растений: томатов, кукурузы, картофеля, табака, сои, рапса, кабачков, редиса, хлопчатника.*

# Трансгенный хлопчатник

- В 1997 году в Китае начали выращивать трансгенный хлопчатник, в геном которого был вставлен ген бактерии *Bacillus thuringiensis*.
- Белок, кодируемый этим геном, токсичен только для гусениц некоторых бабочек.
- Повысились урожаи хлопка.
- Резко сократилось использование химических ядов, что сильно улучшило экологическую обстановку в сельскохозяйственных районах Китая.

- В XXI веке начала развиваться «**метаболическая инженерия**» - получение организмов, содержащих ценные белки, модифицированные полисахариды, вакцины, антитела, интерфероны и другие "лекарственные" белки.

# **Значение биотехнологии для развития селекции, сельского хозяйства, микробиологической промышленности, сохранения генофонда планеты**

Прогресс биотехнологии позволил совершить прорыв в таких отраслях человеческой деятельности, как селекция, сельское хозяйство, медицина, фармацевтика и др.

Так, введение в растения бактериальных генов устойчивости к поеданию насекомыми и поражению вирусами, а также способных расти на бедных или загрязненных почвах способствует решению продовольственной проблемы, особенно в странах с быстро растущим населением. В настоящее время значительная часть посевных площадей занята **трансгенными культурами** в США, Канаде и Китае.



Культивирование клеток растений на фоне высоких концентраций солей и других соединений позволяет сократить сроки выведения новых сортов пшеницы, сои и других важнейших сельскохозяйственных культур до одного-двух лет.

Клонирование животных, особенно с генетически измененными признаками и свойствами, позволяет вывести более продуктивные породы и добиться их быстрого размножения, однако этот процесс пока еще слишком трудоемок и дорог, чтобы применяться в промышленном масштабе.



Трансформация бактерий позволила уже в начале 80-х годов XX века получать биологически активные вещества — **инсулин, соматотропный гормон, интерферон**, которые применяются в медицине, а также создать новые штаммы микроорганизмов, предназначенных для очистки сточных вод, ликвидации нефтяных разливов и т. д. Путем селекции выведены также и формы бактерий, с помощью которых получают антибиотики, извлекают цветные металлы, получают биогаз.

# Успехи в выведении трансгенных животных

- В 1980-х гг. фирма «*AquaBounty*» (Массачусетс) впервые ввела в икринки **атлантического лосося** конструкцию из «антифризного» гена бельдюги и изменённого гена гормона роста лосося - получился ген, синтезирующий избыток гормона роста и работающий круглый год, а не только в теплые месяцы.
- Позже были выведены гигантские форели, тилапии, палтусы и другие рыбы.

***В настоящее время  
биотехнологические продукты  
составляют около четверти  
всех товаров в мире.***