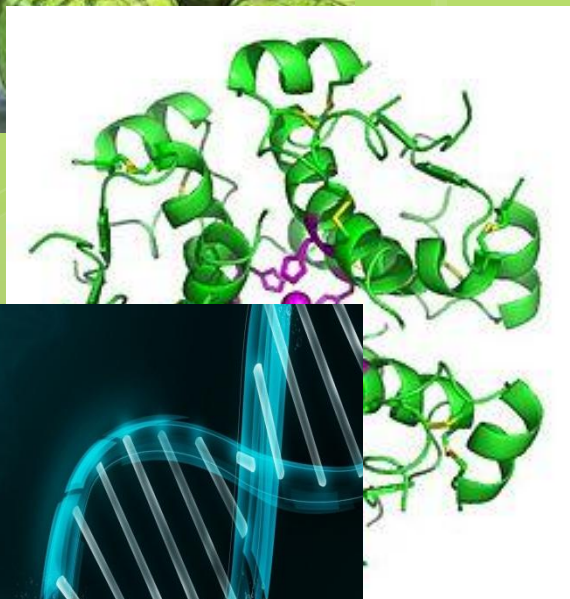


Понятие о генной инженерии и биотехнологии



- Биотехнология - это производственное использование биологических агентов или их систем для получения ценных продуктов и осуществления целевых превращений.
- Вероятно, древнейшим биотехнологическим процессом было сбраживание с помощью микроорганизмов. В пользу этого свидетельствует описание процесса приготовления пива, обнаруженное в 1981г. при раскопках Вавилона на дощечке, которая датируется примерно 6-м тысячелетием до н. э.
- В традиционном, классическом, понимании биотехнология - это наука о методах и технологиях производства различных веществ и продуктов с использованием природных биологических объектов и процессов.

РОЛЬ БИОТЕХНОЛОГИИ В РЕШЕНИИ ГЛОБАЛЬНЫХ ПРОБЛЕМ ЧЕЛОВЕЧЕСТВА



▣ Основные направления биотехнологии

- ▣ Условно можно выделить следующие основные направления биотехнологии:
- ▣ биотехнология пищевых продуктов;
- ▣ биотехнология препаратов для сельского хозяйства;
- ▣ биотехнология препаратов и продуктов для промышленного и бытового использования;
- ▣ биотехнология лекарственных препаратов;
- ▣ биотехнология средств диагностики и реактивов.
- ▣ Биотехнология также включает выщелачивание и концентрирование металлов, защиту окружающей среды от загрязнения, деградацию токсических отходов и увеличение добычи нефти.



■ Практические достижения биотехнологии

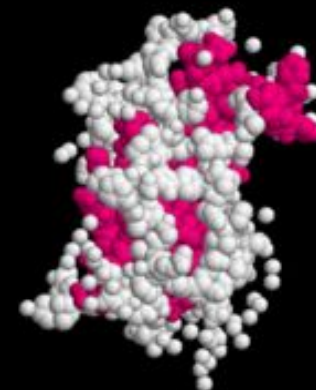
- С помощью биотехнологии получено множество продуктов для здравоохранения, сельского хозяйства, продовольственной и химической промышленности.
- Особенно большие надежды связываются с попытками использования микроорганизмов и культур клеток для уменьшения загрязнения среды и производства энергии.
- В молекулярной биологии использование биотехнологических методов позволяет определить структуру генома, понять механизм экспрессии генов, смоделировать клеточные мембраны с целью изучения их функций и т.д.
- Конструирование нужных генов методами генной и клеточной инженерии позволяет управлять наследственностью и жизнедеятельностью животных, растений и микроорганизмов и создавать организмы с новыми полезными для человека свойствами, ранее не наблюдавшимися в природе.
- В биохимии, микробиологии, цитологии несомненный интерес вызывают методы иммобилизации как ферментов, так и целых клеток микроорганизмов, растений и животных.
- В ветеринарии широко используются такие биотехнологические методы, как культура клеток и зародышей, овогенез *in vitro*, искусственное оплодотворение.



Перспективы развития биотехнологии

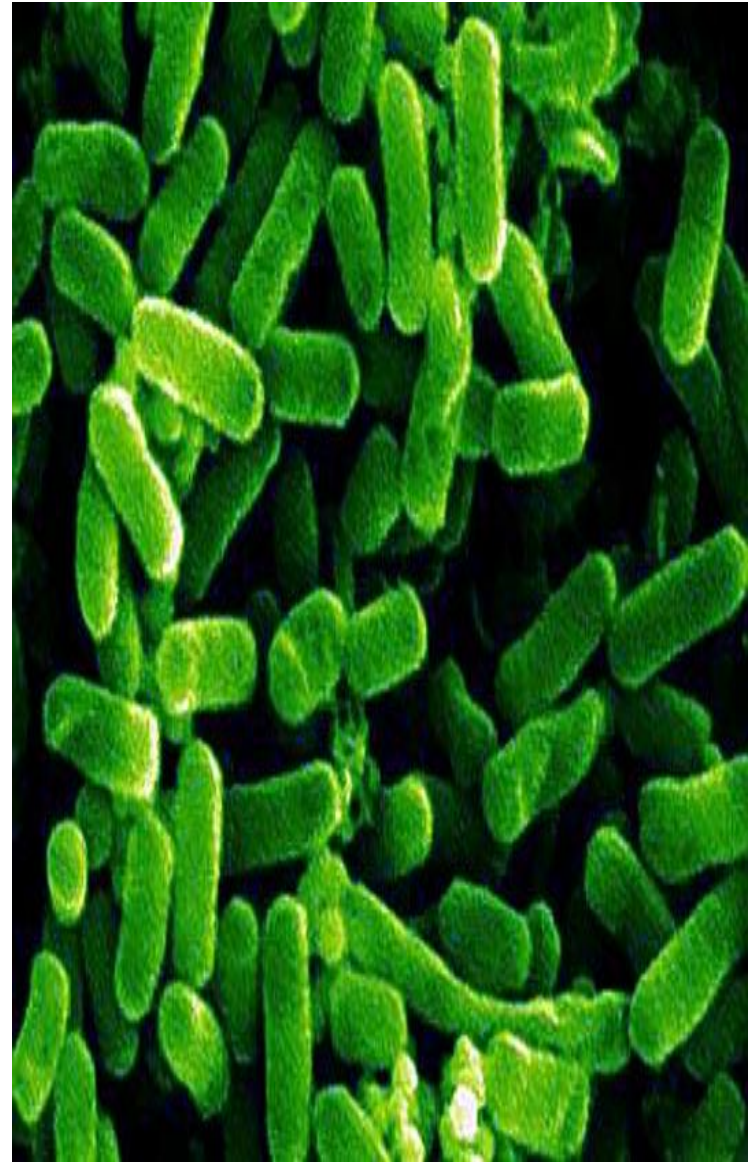
- Центральная проблема биотехнологии - интенсификация биопроцессов как за счет повышения потенциала биологических агентов и их систем, так и за счет усовершенствования оборудования, применения биокатализаторов (иммобилизованных ферментов и клеток) в промышленности, аналитической химии, медицине.
- В основе промышленного использования достижений биологии лежит техника создания рекомбинантных молекул ДНК.
- Конструирование нужных генов позволяет управлять наследственностью и жизнедеятельностью животных, растений и микроорганизмов и создавать организмы с новыми свойствами.
- В качестве источников сырья для биотехнологии все большее значение будут приобретать воспроизводимые ресурсы не пищевых растительных материалов, отходов сельского хозяйства, которые служат дополнительным источником как кормовых веществ, так и вторичного топлива (биогаза) и органических удобрений.
- Не менее важным аспектом современной микробиологической технологии является изучения участия микроорганизмов в биосферных процессах и направленная регуляция их жизнедеятельности с целью решения проблемы охраны окружающей среды от техногенных, сельскохозяйственных и бытовых загрязнений.
- С этой проблемой тесно связаны исследования по выявлению роли микроорганизмов в плодородии почв (гумусообразовании и пополнении запасов биологического азота), борьбе с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур, утилизации пестицидов и других химических соединений в почве.
- Биотехнологии, основанные на достижениях микробиологии, наиболее экономически эффективны при комплексном их применении и создании безотходных производств, не нарушающих экологического равновесия.
- Важным и перспективным направлением биотехнологии является разработка способов получения экологически чистой энергии.
- Есть и принципиально новые экспериментальные подходы в этом направлении. Одним из них является получение фотоводорода:
 - «Если из хлоропластов выделить мембраны, содержащие фотосистему 2, то на свету происходит фотолиз воды - разложение ее на кислород и водород. Моделирование процессов фотосинтеза, происходящих в хлоропластах, позволило бы запастись энергией Солнца в ценном топливе – водороде».
- Преимущества такого способа получения энергии очевидны:
 - наличие избытка субстрата, воды;
 - нелимитируемый источник энергии - Солнце;
 - продукт (водород) можно хранить, не загрязняя атмосферу;
 - водород имеет высокую теплотворную способность (29 ккал/г) по сравнению с углеводородами (3.5 ккал/г);
 - процесс идет при нормальной температуре без образования токсических промежуточных продуктов;
 - процесс циклический, так как при потреблении водорода регенерируется субстрат - вода.

- **Генная инженерия** – это сумма методов, позволяющих переносить гены из одного организма в другой, или – это технология направленного конструирования новых биологических объектов.
- В настоящее время кишечная палочка (*E. coli*) стала поставщиком таких важных гормонов как инсулин и соматотропин.
- Ранее инсулин получали из клеток поджелудочной железы животных, поэтому стоимость его была очень высока. Для получения 100г кристаллического инсулина требуется 800-1000кг поджелудочной железы, а одна железа коровы весит 200-250грамм. Это делало инсулин дорогим и труднодоступным для широкого круга диабетиков.
- Было показано, что он не содержит белков *E. coli*, эндотоксинов и других примесей, не дает побочных эффектов, как инсулин животных, а по биологической активности от него не отличается.
- Соматотропин - гормон роста человека, секретируемый гипофизом. Недостаток этого гормона приводит к гипофизарной карликовости. Если вводить соматотропин в дозах 10 мг на 1 кг веса три раза в неделю, то за год ребенок, страдающий от его недостатка, может подрасти на 6 см.
- Ранее его получали из трупного материала, из одного трупа: 4 - 6 мг соматотропина в пересчете на конечный фармацевтический препарат. Таким образом, доступные количества гормона были ограничены, кроме того, гормон, получаемый этим способом, был неоднороден и мог содержать медленно развивающиеся вирусы.
- Компания "Genentec" в 1980 году разработала технологию производства соматотропина с помощью бактерий, который был лишен перечисленных недостатков. В 1982 году гормон роста человека был получен в культуре *E. coli* и животных клеток в институте Пастера во Франции, а с 1984 года начато промышленное производство инсулина и в СССР.



■ История генетической инженерии

- Генная инженерия появилась благодаря работам многих исследователей в разных отраслях биохимии и молекулярной генетики.
- На протяжении многих лет главным классом макромолекул считали белки. Существовало даже предположение, что гены имеют белковую природу.
- Лишь в 1944 году Эйвери, Мак Леод и Мак Карти показали, что носителем наследственной информации является ДНК.
- Спустя десятилетие, в 1953 году Дж. Уотсон и Ф. Крик создали двуспиральную модель ДНК. Именно этот год принято считать годом рождения молекулярной биологии.
- Историю развития генетической инженерии можно условно разделить на три этапа:

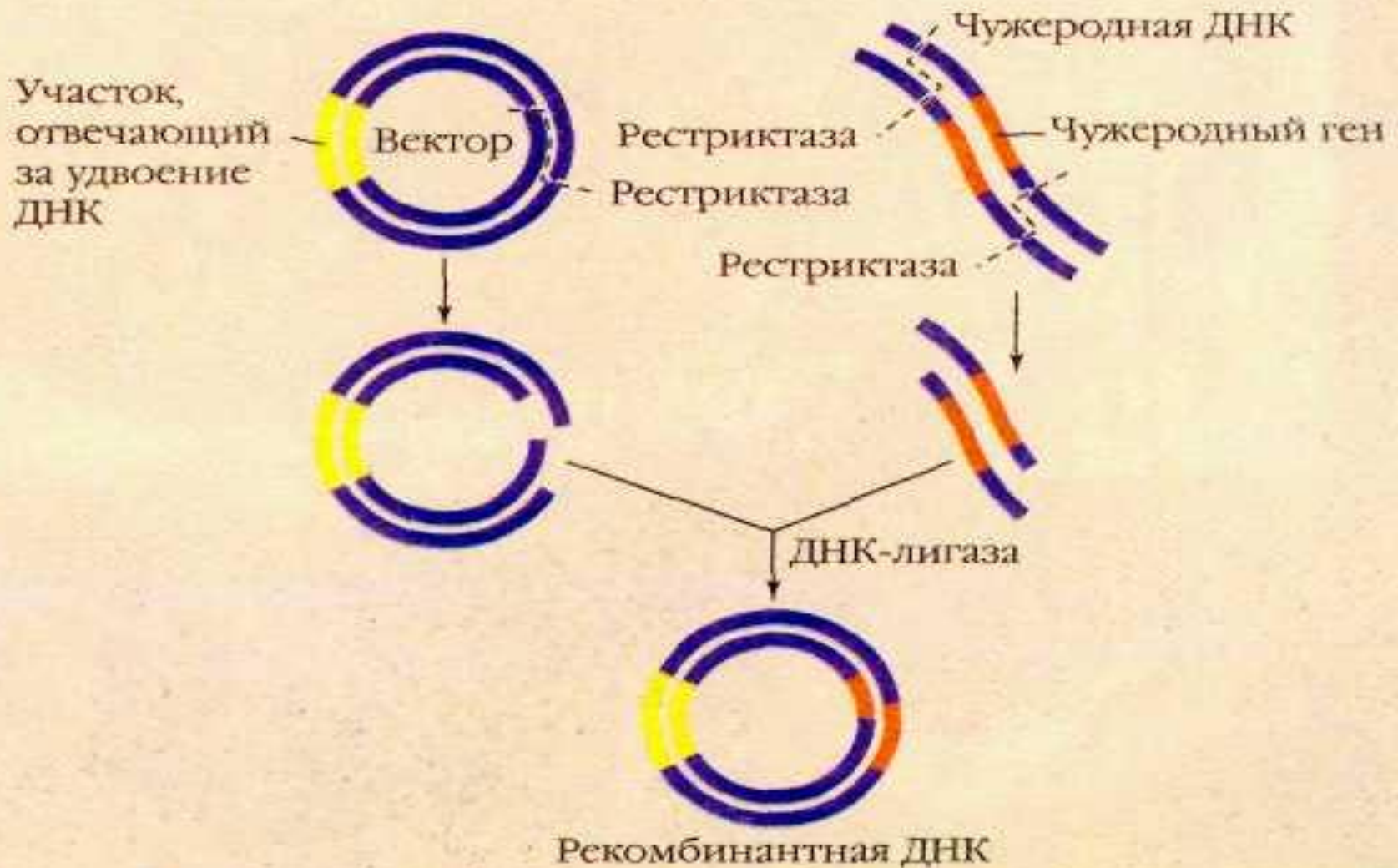


- Первый этап связан с доказательством принципиальной возможности получения рекомбинантных молекул ДНК *in vitro*. Эти работы касаются получения гибридов между различными плазмидами. Была доказана возможность создания рекомбинантных молекул с использованием исходных молекул ДНК из различных видов и штаммов бактерий, их жизнеспособность, стабильность и функционирование.
- Второй этап связан с ачалом работ по получению рекомбинантных молекул ДНК между хромосомными генами прокариот и различными плазмидами, доказательством их стабильности и жизнеспособности.
- Третий этап - начало работ по включению в векторные молекулы ДНК (ДНК, используемые для переноса генов и способные встраиваться в генетический аппарат клетки-реципиента) генов эукариот, главным образом, животных.
- Формально датой рождения генетической инженерии следует считать 1972 год, когда в Стенфордском университете П. Берг и С. Коэн с сотрудниками создали первую рекомбинантную ДНК, содержащую фрагменты ДНК вируса SV40, бактериофага и *E. coli*.



- Технология рекомбинантных ДНК использует следующие методы:
- специфическое расщепление ДНК рестрицирующими нуклеазами, ускоряющее выделение и манипуляции с отдельными генами;
- быстрое секвенирование всех нуклеотидов очищенном фрагменте ДНК, что позволяет определить границы гена и аминокислотную последовательность, кодируемую им;
- конструирование рекомбинантной ДНК;
- гибридизация нуклеиновых кислот, позволяющая выявлять специфические последовательности РНК или ДНК с большей точностью и чувствительностью;
- клонирование ДНК: амплификация *in vitro* с помощью цепной полимеразной реакции или введение фрагмента ДНК в бактериальную клетку, которая после такой трансформации воспроизводит этот фрагмент в миллионах копий;
- введение рекомбинантной ДНК в клетки или организмы.

получение рекомбинантной ДНК



□ Цели и методы генетической инженерии

- Цель прикладной генетической инженерии заключается в конструировании таких рекомбинантных молекул ДНК, которые при внедрении в генетический аппарат придавали бы организму свойства, полезные для человека.
- Технология рекомбинантных ДНК сделала возможным нетрадиционный подход «белок-ген», получивший название «обратная генетика». При таком подходе из клетки выделяют белок, клонируют ген этого белка, модифицируют его, создавая мутантный ген, кодирующий измененную форму белка. Полученный ген вводят в клетку. Таким способом можно исправлять дефектные гены и лечить наследственные заболевания.
- Если гибридную ДНК ввести в оплодотворенное яйцеклетку, могут быть получены трансгенные организмы, передающие мутантный ген потомками.

Достижения генетической инженерии

С помощью генетической инженерии созданы линии животных, устойчивых к вирусным заболеваниям, а также породы животных с полезными для человека признаками.

Генная инженерия открыла путь для производства продуктов белковой природы путем введения в клетки микроорганизмов, искусственно синтезированных генов, где они могут экспрессироваться (встраиваться) в состав гибридных молекул.

Первой удачной попыткой такого рода стала работа К. Итакуры и Г. Бойера с соавторами (1977г.) по экспрессии в *E. coli* химически синтезированного гена, кодирующего гормон млекопитающих - соматостатин.

Ген соматостатина был получен на основе сведений о первичном строении этого пептидного гормона, состоящего всего из 14 аминокислот.

В различных лабораториях в СССР и за рубежом были созданы штаммы *E. coli*, синтезирующие в составе гибридных белков гормон роста человека (соматотропин), пептидные гормоны — брадикинин и ангиотензин, нейропептид лей-энкефалин и др.

В 1976г. Гилберт и Максам в Гарвардском университете, а также Сэнгер разработали быстрый метод химического анализа ДНК. Появилась реальная возможность определять последовательность до 1000 нуклеотидов в неделю силами одного исследователя.

В 1982-1985гг. стало возможно создать прибор для автоматического анализа нуклеиновых кислот (а значит и генов).

В лабораториях мира полным ходом идет расшифровка генома человека. Эта международная программа была начата в 1989 году.

Биоэтические аспекты генной инженерии

В соответствии с рекомендациями Европейского комитета по генной инженерии (1984г.) все исследования, проводимые по рекомбинации ДНК должны быть в обязательном порядке доведены до сведения экспертной комиссии по генной инженерии тех стран, на территории которых они проводятся.

Это необходимо для того, чтобы любую работу, грозящую опасностью человеку или среде обитания, можно было вовремя остановить или изменить.

Большинство работ, связанных с клонированием человеческого материала, по мнению большинства экспертов, должно быть запрещено, как и работы по выращиванию химер и гибридов с помощью комбинаций генетического материала, полученного от человека и животных. Такие работы должны расцениваться как преступление.

Пересадка генов с терапевтической целью допустима только для соматических клеток. Генная пересадка зародышевых клеток для иных целей, кроме терапевтических, должна быть, безусловно, запрещена.

Применение половых клеток для генного лечения будет возможно только после получения достоверных доказательств преимущества и безопасности такого лечения по сравнению с генной терапией соматических клеток.



КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

- Что такое биотехнология?
- Назовите древнейший биотехнологический процесс.
- Перечислите основные направления биотехнологии.
- Какие перспективы у развития биотехнологии?
- Что такое генная инженерия?
- Когда открыли, что носителем генной информации является ДНК?
- Назовите три этапа развития генной инженерии.
- Расскажите о технологии рекомбинантной ДНК.
- Расскажите об основных достижениях генной инженерии.
- Что вы можете сказать о биоэтических аспектах генной инженерии?