

## ТЕМА : «Сучасна біотехнологія та її основні напрямки.

Застосування досягнень молекулярної генетики, молекулярної біології та біохімії у біотехнології».

### ПЛАН

1. Біотехнологія, її значення, мета, різновидності.

1. Мікроклональне розмноження
2. Клонування тварин
3. Генна терапія
4. Фармакогенетика, її значення.

**1. БІОТЕХНОЛОГІЯ** - це комплекс наук, засобів, методів, спрямованих на одержання і використання процесів, клітин, продуктів життєдіяльності організмів у промисловому виробництві. Різні сучасні методи біотехнології використовують у промисловості (харчовій, легкій, хімічній, будівельній), сільському господарстві (рослинництві, тваринництві), медицині, міському господарстві, кібернетиці, природокористуванні тощо. Наукові дослідження сучасної біотехнології спрямовано на розробку методів і спеціальних виробничих технологій для різних галузей діяльності людини. Через те відокремлюють такі основні розділи, як харчова, промислова, ветеринарна, екологічна, медична біотехнологія.

**Біотехнологія** - це одна з найперспективніших галузей діяльності людини. У найближчі роки разом з нею швидко розвиватимуться медицина, енергетика, переробка сировини й виробництво матеріалів, міське й сільське господарство. Теоретичною основою біотехнології є передусім біологічні науки. У багатьох випадках сучасна біотехнологія сприяє знаходженню нових розв'язків на стикові різних галузей. Так, виникають і розвиваються біоінформативний, біокібернетичний, біоінженерний напрями біотехнології. З'являються нові матеріали й пристрої - біопаливо, біоцемент, біосорбенти, біосенсиори.



Мал.1 Напрями сучасної біотехнології

## Розрізняють такі технології :

- **нанотехнологія** - технологія наночастинок (наприклад, технологія адресної доставки ліків);
- **цитотехнологія** - клітинна технологія (наприклад, вирощування *гібридів*, отримання білків-інтерферонів, *інсуліну*, *моноклональних антитіл*);
- **гістотехнологія** - тканинна технологія (наприклад, вирощування штучного м'яса, шкіри, органів для трансплантації);
- **ембріотехнологія** - зародкова технологія (наприклад, пересаджування ембріональних стовбурових клітин пуповинної крові для лікування променевої хвороби, репродуктивна технологія екстракорпорального запліднення);
- **біоінженерна технологія** із застосуванням технічного підходу (наприклад, тестування ДНК з використанням біочипів, біопротезування, створення біосенсорів);
- **біотехнологія культивування організмів певних видів** (наприклад, клональне мікророзмноження рослин, вермикультура, технологія вирощування печериці двоспорової);
- **біотехнологія захисту екосистем** (наприклад, технологія фіторе mediaції ґрунтів, біодеградації токсичних речовин).

**2. Мікроклональне розмноження** - метод вегетативного розмноження рослин «у пробірці». Шматочки тканин вихідної рослини розміром 0,1 мм переносять на поживне середовище, у яке додано фітогормони, що стимулюють поділ клітин та утворення пагонів або подібних до них структур, які формуються у зародків. Далі новоутворені рослини розвиваються і ростуть на штучному середовищі в пробірці, потім їх переносять у ґрунт .



Мал. 2. Етапи мікроклонального розмноження рослин

### Культури клітин і тканин рослин

Рослинні регулятори росту, які містить поживне середовище, стимулюють необмежене розмноження клітин і утворення

недиференційованої клітинної маси - калюсу. Якщо потім калюс розділити на окремі клітини і продовжити культивувати ізольовані клітини на поживних середовищах, то з окремих клітин можна отримати повноцінні рослини .

Культури клітин і тканин рослин використовують для отримання цінних речовин. Це дає змогу отримувати рослинні лікарські препарати, не винищуючи рідкісні рослини.

До отримання повноцінної рослини в культурі можна здійснювати попередню клітинну селекцію. Відбирають клітини, стійкі до гербіцидів, засолення, дії екстремальних температур, патогенів, а також ті, для яких характерний підвищений синтез корисних для людини речовин.

**Клітинна інженерія** - це сукупність методів і підходів, які використовують для конструювання клітин нового типу. За допомогою методів клітинної інженерії отримують гібриди соматичних клітин неспоріднених і еволюційно віддалених видів або вносять у соматичну клітину окремі клітинні органели, ядро, цитоплазму.

Для проведення гібридизації або реконструкції спочатку за допомогою спеціальних ферментів рослинні клітини позбавляють клітинної стінки - отримують протопласти. Їх переносять у поживне середовище для подальшого використання. Під час гібридизації здійснюють повне злиття протопластів клітин, отриманих від різних рослин.

**Методи генної інженерії** використовують для отримання трансгенних рослин, у яких усі клітини несуть чужорідний ген. Часто для цього використовують ґрунтових бактерій з родини агробактерій. Крім ДНК ядерної зони (нуклеоїду), вони містять великі плазмиди із так званою Т-ДНК - ділянкою, що може вбудовуватись у ядерний геном рослинної клітини. Для отримання трансгенних рослин використовують плазмиди зі зміненою Т-ДНК, у якій її власні гени замінені на будь-який ген, який бажано ввести в рослину. Таку плазмиду конструюють генно-інженерними методами, а потім вводять в агробактерію, якою потім інфікують рослини.

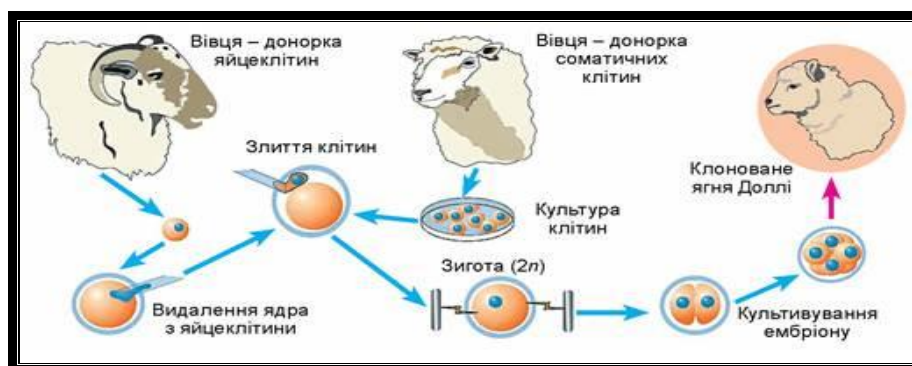
Трансгенні рослини отримують також методами **мікроін'єкції** та «бомбардування» клітин. Мікроін'єкцію проводять під мікроскопом за допомогою скляної голки, уводячи через неї ДНК у ядро клітини. Під час «бомбардування» клітин золоті кульки діаметром 0,4-1,2 мкм укривають шаром ДНК і «вистрілюють» у суспензію клітин зі спеціальної «генної гармати». Цей метод дає змогу вбудовувати потрібні гени не тільки в хромосоми рослин, але і в геном їхніх пластид, наприклад хлоропластів.

Генетичну трансформацію рослин використовують для: поліпшення харчових якостей рослин, їхньої стійкості до факторів довкілля, синтезування білків, які використовують у фармакології тощо.

Основні напрями біотехнології сільськогосподарських тварин пов'язані з підвищенням їхньої плодючості (репродуктивні технології); клонуванням і генною інженерією. Пригадаємо: до репродуктивних технологій належать, зокрема, штучне запліднення, запліднення та отримання ембріонів «у пробірці».

### 3. Клонування тварин

На малюнку 3 зображено схему клонування ягняти Доллі. Так, за допомогою пересаджування ядер соматичних клітин у яйцеклітини, які перед тим позбавляють ядер, отримують особину, генетично повністю ідентичну самці, від якої взято і яйцеклітину, і соматичну клітину (тобто її клон). Ця методика має неабиякий науковий інтерес, але вона ще недосконала і потребує великих витрат.



Мал. 3. Схема клонування ягняти Доллі

**Генетично модифікованих тварин** отримують: за допомогою мікроін'єкції ДНК у запліднену яйцеклітину; введенням генетично модифікованих ембріональних стовбурових клітин в ембріон на ранніх стадіях його розвитку; пересаджуванням генетично модифікованих ядер соматичних клітин в яйцеклітину; застосуванням векторів, створених на основі ретровірусів.

Після введення ДНК яйцеклітини чи бластоцити імплантують у «сурогатну матір». Після народження тварин ідентифікують на наявність трансгену (у середньому на 100 вагітностей отримують одну трансгенну тварину). Для цього трансгенну тварину схрещують із звичайними. Далі можна схрещувати нащадків такої тварини між собою для отримання чистих трансгенних ліній.

Чималим успіхом є отримання, розведення та офіційний продаж у Канаді та США генномодифікованої сьомги. У її геном додали ген гормону росту іншого, більшого за розмірами представника лососевих - чавичі. У результаті трансгенна риба росте і набирає масу значно швидше, на її розведення потрібно півтора року, а не три, як для звичайної сьомги.

Трансгенних тварин (кіз, овець, свиней, кролів) використовують для синтезу білків, які застосовують у фармакології. Вони виділяються прямо в молоко. Це, наприклад, фактори зсідання крові, фібриноген, колаген, інтерферони та багато інших. Отримано модифікованих птахів, які відкладають яйця, що містять деякі білки людини, наприклад інтерферони.





**Мал. 4. Отримання трансгенних тварин за допомогою мікроін'єкції ДНК у овоцити**

Важливим напрямом є використання трансгенних тварин як генетичних моделей спадкових захворювань людини. Так, створюють два типи модельних тварин: трансгенні миші, у геном яких уведено ген людини, відповідальний за конкретне захворювання, і миші, у яких утрачено функцію цього гена. Якщо схильність до захворювання залежить від наявності в геномі одного з багатьох алелів, то створюються лінії трансгенних мишей, що несуть різні алелі цього гена. На цих моделях можна досліджувати вплив кількості копій гена та рівня його експресії на прояв захворювання, а також розробляти нові методи лікування. На моделі, у якої ген, що спричиняє захворювання у людини, неактивний, досліджують конкретні функції генів. Це важливо для аналізу причин генних захворювань людини.

#### **4. Генна терапія**

Найбільш радикальним способом боротьби з різними захворюваннями, спричиненими змінами генетичної інформації клітин, є виправлення або знищення самої генетичної причини захворювання, а не її наслідків. Найбільше досліджень пов'язано з генною терапією онкологічних захворювань .

#### **Стратегії генної терапії такі:**

- клітини, які потрібно вилікувати, втратили функцію певного гена. Тоді в клітину потрібно доставити ген, здатний цю функцію відновити;
- хворобу спричинено надлишковою функцією, не властивою нормальній клітині. Це відбувається, зокрема, у разі інфекцій або пухлинних захворювань. Тоді варто пригнітити таку зайву функцію;
- підходи, спрямовані на підсилення імунної відповіді організму.

**Генна терапія.  
В очікуванні дива**

Генотерапія пов'язана зі зміною спадкового апарату людини, потрібні особливі вимоги при клінічному дослідженні:

- 1) чітке знання дефекту гена і яким чином формуються симптоми хвороби;
- 2) відтворення генетичної моделі у тварин;
- 3) відсутність альтернативної терапії, або існуюча терапія неможлива або неефективна;
- 4) безпека для хворого

Генна терапія - заміна дефектних (негативних) генів нормальними. Вона включає також використання генів для лікування цукрового діабету і СНІДу.

### Мал. 5 Генотерапія, основні поняття

У 2012 р. у США та Європейському Союзі ліцензію на комерційне використання отримав перший засіб генної терапії для лікування недостатності ферменту ліпопротеїніпази, що призводить до важкого ураження підшлункової залози. Однак через непомірну вартість цього лікування цією можливістю скористалась тільки одна людина у 2016 р. Улітку 2018 р. у США правління із санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів схвалило використання генної терапії для пацієнтів у віці від 3 до 25 років із гострим лімфобластним лейкозом.

Потенційно редагування ДНК може допомогти в боротьбі проти майже будь-яких захворювань - від спадкових до тих, які поки що є невиліковними (рак, ВІЛ, хвороба Альцгеймера тощо).

Безпечність втручань у геном людини та біоетичні проблеми генної інженерії людини. Як будь-який метод лікування, генна терапія також має недоліки й побічні ефекти.

Це пов'язано насамперед з методами доставляння генів у відповідні клітини. Найчастіше як вектори використовують віруси, які можуть спричинити бурхливу імунну відповідь у пацієнта або ризик розвитку інфекції, якщо модифікований вірус буде взаємодіяти з незмінними вірусами, наявними у клітинах пацієнта.

Ще один ризик: вбудовування в геном привнесеного гена є випадковим, а це може призвести до появи додаткових мутацій і розвитку різних патологій.

Біоетичні питання застосування генної інженерії людини стосуються насамперед використання статевих клітин та ембріонів. Зрозуміло, що ці питання мають бути врегульовані законодавчо.

**Персоналізована медицина** - це відповідна модель організації медичної допомоги, яка базується на виборі діагностичних, лікувальних і профілактичних засобів, оптимальних для пацієнта, що враховує його індивідуальні особливості.

Відомо, що реакція на лікарські препарати значною мірою індивідуальна. При призначенні та дозуванні ліків потрібно враховувати вік пацієнта, його фізіологічний стан (наявність хронічних захворювань, вагітності, грудне вигодовування немовлят тощо) та взаємодію з іншими лікарськими препаратами. Так, у разі вживання одних і тих самих ліків у кожній групі пацієнтів можуть спостерігати різний ефект .

### **5. Фармакогенетика, її значення**

Фармакогенетика - - розділ медичної генетики, що вивчає генетичні особливості пацієнтів, які впливають на ефективність терапії за допомогою лікарських препаратів.

Основна мета фармакогенетики - розроблення індивідуальних підходів до лікування пацієнтів, ураховуючи їхні генетичні особливості. Небажані реакції на ліки, причиною яких є особливості генотипу людини з хворобою, називають фармакогенетичними дефектами. Вони зумовлені порушеннями функцій генів, які кодують ферменти, що забезпечують метаболізм лікарських препаратів, транспортні білки або білки-мішені (наприклад рецептори), з якими зв'язується лікарський засіб .

Фармакогенетичні дефекти є спадковими синдромами, але проявляються лише як відповідь на дію відповідного лікарського препарату

Фармакогенетичне тестування базується на визначенні фенотипових маркерів порушення дії препаратів або на прямому генотипуванні пацієнтів за допомогою молекулярно-біологічних методів для визначення поліморфних варіантів генів, що визначають фармакологічну відповідь. Пригадаємо: поліморфні гени представлені в популяції кількома алелями, що зумовлює різноманітність станів ознак усередині виду.

### **Питання для самоконтролю:**

1. Що таке біотехнологія?
2. Назвіть розділи сучасної біотехнології.
3. Які біологічні науки є теоретичною основою біотехнології?
4. Наведіть приклад найвідоміших напрямів у біотехнології.
5. Назвіть імена видатних вітчизняних учених у біотехнології.
6. Наведіть приклад досягнень біотехнології в Україні.
7. Які основні завдання, розділи та напрями сучасної біотехнології?
8. Які теоретичні основи сучасної біотехнології? 9. Який внесок вітчизняних учених у розвиток біотехнології?
10. Сформулюйте власну позицію щодо трансгенних організмів і перспективи використання генетично модифікованих харчових продуктів.
11. У чому полягає основна проблема сучасної лікарської терапії?
12. Сформулюйте основну мету фармакогенетики.
13. Дайте визначення терміну «фармакогенетичний дефект».
14. На чому базується фармакологічне тестування?