

Яновский

ISSN 0016-6758

Том 35, Номер 3

Март 1999



ГЕНЕТИКА

Главный редактор
Г.П. Георгиев

<http://www.maik.rssi.ru>



“НАУКА”

МАИК “НАУКА/ИНТЕРПЕРИОДИКА”

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

V

ГЕНЕТИКА

(ОТДЕЛЬНЫЙ ОТТИСК)

МОСКВА

ХРОНИКА

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ И КЛОНИРОВАНИЕ ЖИВОТНЫХ: НАУКА, ОБЩЕСТВО И ИНДУСТРИЯ (МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ПО КЛОНИРОВАНИЮ, ПАРК-СИТИ, ЮТА, США, ИЮНЬ 1998 г.)

Будучи на стажировке в специализирующейся на клонировании животных лаборатории проф. Фёрста (N.L. First) университета штата Висконсин в Мэдисоне, автор данной статьи принял участие в работе конференции “Генная инженерия и клонирование животных: наука, общество и индустрия”, проходившей в Парк-Сити в июне 1998 г. Название конференции отражает теснейшую связь, которая сейчас образовалась между получением трансгенных животных и клонированием: крайне ограниченное число трансгенных животных и сложность их получения делают технологию клонирования особенно привлекательной для быстрого получения нужного количества трансгенных животных с одинаковой генной конструкцией. Огромные перспективы открываются при использовании тотипотентных клеточных линий с точными генетическими модификациями в качестве доноров для пересадки ядер с целью получения генетически идентичных трансгенных животных практически в неограниченном количестве. К одним из важных применений технологии клонирования можно отнести получение фенотипически и генетически уникальных животных для целей биомедицины (например, свиньи с человеческими патологиями сердца, которые не могут быть воспроизведены из-за высокого уровня холестерина в крови; или, например, трансгенные коровы с человеческими иммуноглобулинами в молоке) и для сельского хозяйства с рекордными производственными характеристиками. Поистине захватывающие перспективы могут открыться при использовании клонированных клеток для целей клеточной терапии человека.

Опубликованные в 1997 г. сведения о возможности получения организма животного за счет генома взрослой соматической клетки вызвали не только огромный научный интерес, но и всколыхнули мировое сообщество и привлекли к этой проблеме пристальное внимание крупных компаний и финансового бизнеса США и других стран Запада. Это нашло отражение как в названии конференции, так и в тематике докладов и структуре участников конференции: среди участников, кроме биологов, было заметное число представителей бизнеса, социологов, патентоведов, а также представителей государственных правительственных структур США (например, Food&Drug

Administration), регулирующих эти области деятельности. После биологических докладов были сделаны сообщения, посвященные этическим проблемам клонирования и генетическим модификациям, обзор государственных актов, регулирующих использование трансгенных животных для производства лекарств, и был представлен сравнительный экономический анализ производства разных лекарственных препаратов из молока трансгенных коров и овец. Доля небиологических докладов составила 21.7% от общего числа устных докладов. Всего было зарегистрировано 127 участников конференции и представлено около 50 докладов и оригинальных сообщений. Была представлена основная часть ведущих научных групп из разных стран мира, занимающихся клонированием животных. Однако автор данной статьи был единственным представителем России.

Конференцию открыл Кейт Кэмпбелл (Keith Campbell) лекцией о взаимодействии клеточных циклов соматической клетки-донора ядра и яйцеклетки-реципиента при пересадке ядра и рассказал об идеологии, приведшей его к получению овцы Долли - первого животного, полученного из взрослой соматической клетки. Однако на конференции не было представлено работ, кроме исследований Кэмпбела из группы Уильмута (I. Wilmut), в которых бы сообщалось о получении животных из соматической клетки взрослого организма. Все клонированные животные, о которых сообщалось на конференции, были получены путем переноса ядер из эмбриональных blastomeres или из соматических клеток плода. Так, Уеллс (D.N. Wells) из Новой Зеландии получил двух клонированных ягнят разного пола, используя в качестве источника генетического материала установившиеся линии эмбриональных (8-й день развития) клеток, и одного клонированного теленка, используя ядро фибробласта клеточной линии, полученной из плода, находившегося на 34-м дне развития. Сделаны интересные наблюдения при развитии полученных таким образом животных: нарушение дыхания и гидронефроз были общими дефектами почти всех погибших сразу после рождения животных; все выжившие животные были рождены при помощи

кесарева сечения; 85% подсаженных эмбрионов было потеряно в течение первых 35 дней гестации; 43% из выживших на 100-й день развития были потеряны в последнем триместре. По мнению большинства специалистов, эти данные могут быть полезными для оценки эффективности при отработке технологии клонирования.

Робл (J.M. Robl – University of Massachusetts, USA) сообщил о шести трансгенных телятах, полученных из трансгенных фетальных фибробластов, а также о шести химерах, содержащих клетки, полученные путем переноса трансгенного ядра. Он также обнаружил, что после подсадки эмбрионов лишь 38% коров забеременели и 56% из них было самопроизвольно абортировано. Половина абортослучилась в течение первых 45 дней беременности, а большинство поздних абортос произошло вблизи срока родов.

Особого внимания заслуживает работа Николая Стрельченко (Infigen, Inc., USA). Ему удалось получить клонированного теленка “Gene”. Источник генетического материала – линия стволовых тотипотентных герменативных клеток плода (45 дней) – впервые для коровы был получен не из эмбриональных клеток. Линию клеток культивировали более года со стабильным соматическим кариотипом. Таким образом был получен неограниченный источник тотипотентных соматических клеток для трансплантации ядер. Кроме того, Н. Стрельченко применил методику реклонирования: 5-дневные эмбрионы, полученные путем трансплантации ядер, использовались в качестве доноров для следующей трансплантации ядер, и лишь после реклонирования производилась подсадка эмбриона приемной матери. Предполагается, что при реклонировании происходит более полное репрограммирование генома.

Пьедрахита (J.A. Piedrahita – Texas A&M University, USA) показал, как можно успешно комбинировать технологию пересадки ядер и технологию гомологичных рекомбинаций в эмбриональных клеточных линиях половых клеток с целью получения трансгенных животных применительно к тем видам, у которых невозможно получить эмбриональные стволовые линии клеток.

К сожалению, на конференции практически не было представлено работ, за исключением сообщения Уэстхьюсина (M.E. Westhusin – Texas A&M University, USA), которые ставили бы своей целью фундаментальные исследования механизмов перепрограммирования генома при трансплантации ядер и клонировании. В то же время все участники конференции в дискуссиях сошлись в едином мнении, что прорыв в этом направлении и повышение эффективности клонирования животных будут возможны лишь после выяснения биомолекулярных механизмов взаимодействия цитоплазмы ооцита-реципиента и ядра соматиче-

ской клетки-донора, т.е. после проведения серьезных фундаментальных исследований. Однако в связи с тем, что частный бизнес вкладывает сейчас значительные средства в клонирование, американское государственное финансирование исследований по клонированию в университетах, где есть достаточный научный потенциал для этого, практически не ведется. Частные же компании обычно не проводят фундаментальных исследований и добиваются получения клонов и трансгенных животных путем осуществления огромного количества пересадок ядер. Такая ситуация с финансированием исследований по клонированию в США значительно тормозит качественный прогресс в этом направлении.

Клонирование человека при существующей низкой эффективности трансплантации ядер (большой процент поздних абортос, серьезные нарушения развития плода – такие, как нарушение дыхания, гидронефроз, отек плаценты) недопустимо, так как нарушается главный медицинский принцип “не навреди”. Клонирование человека станет возможным лишь после проведения широкомасштабных биомолекулярных фундаментальных исследований механизма перепрограммирования генома при пересадке ядер с целью повышения эффективности, а также после отработки методик на животных. Однако количество клонированных животных на сегодняшний день после Долли показывает, что темпы развития клонирования превосходят самые смелые прогнозы.

Уэстхьюсин методом RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) провел сравнительный анализ экспрессии некоторых генов на ранних стадиях развития эмбрионов, полученных путем оплодотворения *in vitro*, и эмбрионов, полученных в результате пересадки ядер. Экспрессия транскриптов ростовых факторов IGF-II, TGF α и рецептора IGF-I оказалась повышенной в эмбрионах, полученных путем пересадки ядер. Транскрипты БРОР экспрессировались в бластоцистах, полученных с помощью пересадки ядер, и не экспрессировались в эмбрионах, полученных в результате оплодотворения *in vitro*. Были обнаружены три участка ДНК, которые не экспрессировались в ранних эмбрионах, полученных путем трансплантации ядер, и экспрессировались в эмбрионах, полученных в результате оплодотворения *in vitro*. Один из этих участков ДНК содержит ген IGF-I. Таким образом, установлено, что существуют некоторые различия в экспрессии генома эмбрионов, полученных путем пересадки ядер, и эмбрионов, полученных с помощью оплодотворения *in vitro*. Значение и влияние этих различий на развитие эмбрионов предстоит выяснить.

Среди других направлений исследований наибольшее внимание на конференции было уделено получению человеческих белков крови в молоке

трансгенных животных, экономическому анализу трансгенных технологий, получению трансгенных химер, ксенотрансплантации трансгенных органов, а также этическим проблемам клонирования и получения трансгенных животных.

Подводя итоги прошедшей конференции, можно заключить, что клонирование животных переживает в настоящее время бум, в эту область все больше вовлекаются специалисты разных направлений, включая специалистов по этическим проблемам. Возникают новые биотехнологии, способные изменить облик нашей цивилизации.

Развитие исследований в области клонирования дает нам поучительный пример влияния фундаментальных исследований на новые прикладные технологии. Не исключено, что развитие исследований в области клонирования животных приведет к появлению новых технологий репродукции человека при лечении некоторых форм бесплодия и развитию новых методов клеточной терапии, при которых не будет происходить отторжения трансплантатов.

С. Яковенко

ОПЕЧАТКА

В Summary к статье В.Н. Калинина, Ф.А. Амосенко, К. Пушкаша, А. Фриллинг, К.Е. Брельша “Новая наследуемая мутация протоонкогена *RET*, ассоциированная с семейным медуллярным раком щитовидной железы, и полиморфизмы в окружающих областях” и в английском содержании русской версии (1998 г. Т. 34. № 8. С. 1157-1159) допущены опечатки.

Следует читать:

V.N. Kalinin, F.A. Amosenko, C. Puskas, A. Frilling, C.E. Broelsch.