



Трансгенные биотехнологии в животноводстве. Безопасность генно-инженерной деятельности

И.П.Шейко, академик

Научно-практический центр

Национальной академии наук Беларуси

по животноводству

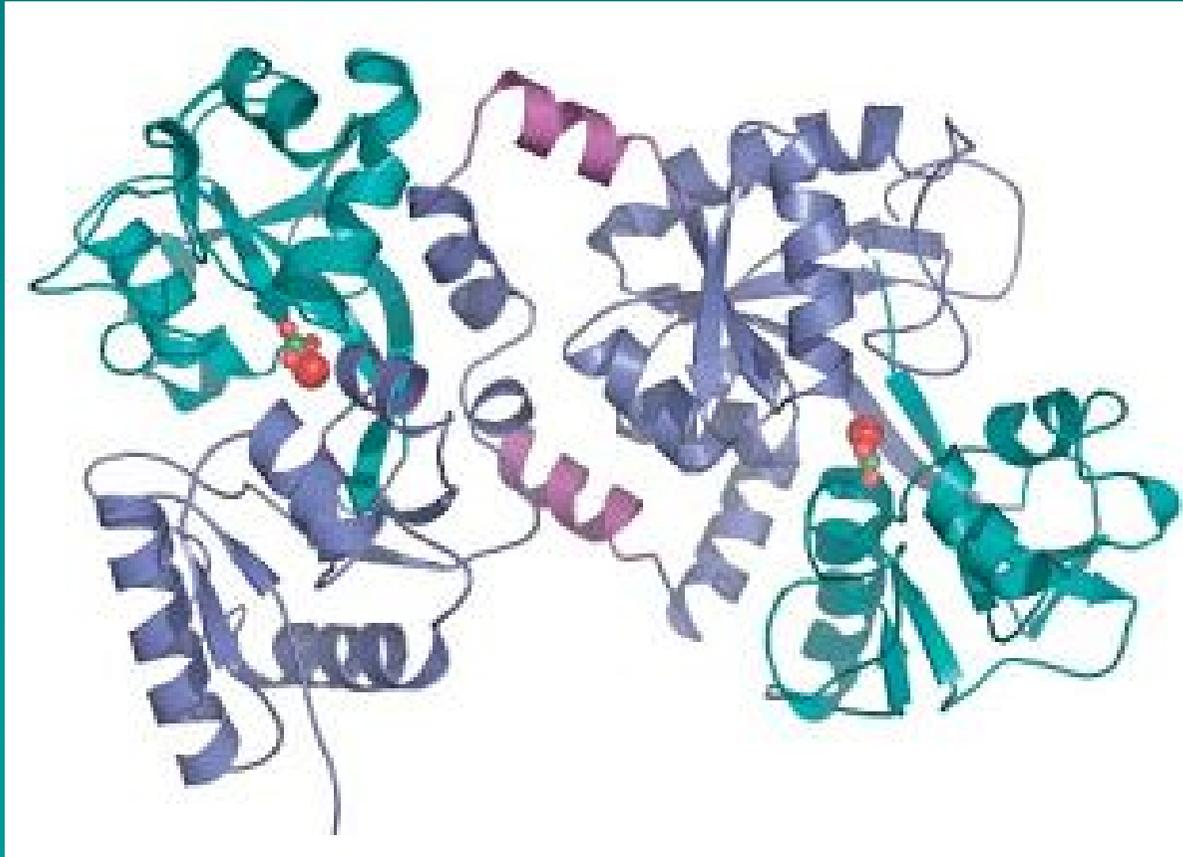
Лактоферрин – уникальный многофункциональный белок, получаемый из молока животных-производителей.

Лактоферрин

- обеспечивает связывание и транспорт ионов железа;
- обладает иммуномодулирующими свойствами, противовирусным, антибактериальным и антигрибковым эффектом;
- оказывает противовоспалительное действие;
- обладает антиоксидантными свойствами;
- повышает адаптивные возможности организма.

Область применения – фармацевтика, косметология, пищевая промышленность, медицина, спорт.

РЕКОМБИНАНТНЫЙ ЛАКТОФЕРРИН ЧЕЛОВЕКА ИЗ МОЛОКА КОЗ-ПРОДУЦЕНТОВ



**Преимущества и недостатки использования
лактоферрина крупного рогатого скота в качестве
компонента лекарственных препаратов и пищевых
добавок**

| ПЛЮСЫ | МИНУСЫ |
|---------------------------------|--|
| Доступный источник сырья | Потенциальный аллерген |
| | Низкая аффинность к рецепторам |
| | Низкое содержание лактоферрина в молоке |

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ, СОДЕРЖАЩИЕ
ЛАКТОФЕРРИН КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

| НАЗВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ | ПРОИЗВОДИТЕЛЬ | СТРАНА |
|--|--|-----------------------|
| Life extension Lactoferrin | Life extension | США |
| Lactoferrin 250 мг | Radiance | Новая Зеландия |
| Lactoferrin | Immunol | Австралия |
| Lactoferrin-GX | NRL pharma | Япония |
| Super-smart Lactoferrin | Super-smart | Люксембург |
| Ternimax | Hankintatukku Oy | Финляндия |
| Lactoferrin Gold 1.8 | "Vita-tech International, Inc." | США |
| Symbiotics Lactoferrin- Colostrum Plus Capsules | Symbiotics | США |

Японская компания MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD с 1986 года производит детское питание, обогащенное коровьим лактоферрином.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ЛАКТОФЕРРИН ИЗ ЖЕНСКОГО МОЛОКА

| Лекарственный препарат | Действующее начало | Эффект | Разработчик |
|---|--|---|--|
| <p style="text-align: center;">«Лапрот»</p> <p>(растворы для внутривенного, внутримышечного, интраназального, перорального введения и обработки раневых поверхностей; глазные капли; мазь; суппозитории для ректального и интравагинального применения; болюсы и таблетки)</p> | <p style="text-align: center;">Лактоферрин из женского молока</p> | <p style="text-align: center;">Детоксицирующее Антибактериальное Противо- воспалительное Иммуномодули- рующее</p> | <p style="text-align: center;">Московский научно- исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена</p> |

По результатам клинических испытаний «Лапрот» рекомендован :

- для профилактики возникновения злокачественных опухолей;
- для профилактики и/или лечения токсикозов различной этиологии; инфекций и воспалений в полых органах, органах желудочно-кишечного тракта, а также кожи и слизистых;
- для очищения ран, гнойных полостей и ускорения грануляции;
- для профилактики и/или лечения ринитов и конъюнктивитов различной этиологии.

**В РАМКАХ
НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИХ ПРОГРАММ СОЮЗНОГО ГОСУДАРСТВА
«БЕЛРОСТРАНСГЕН» и «БЕЛРОСТРАНСГЕН-2»
ВЫВЕДЕНЫ КОЗЫ, В МОЛОКЕ КОТОРЫХ СОДЕРЖИТСЯ
РЕКОМБИНАНТНЫЙ ЛАКТОФЕРРИН ЧЕЛОВЕКА**



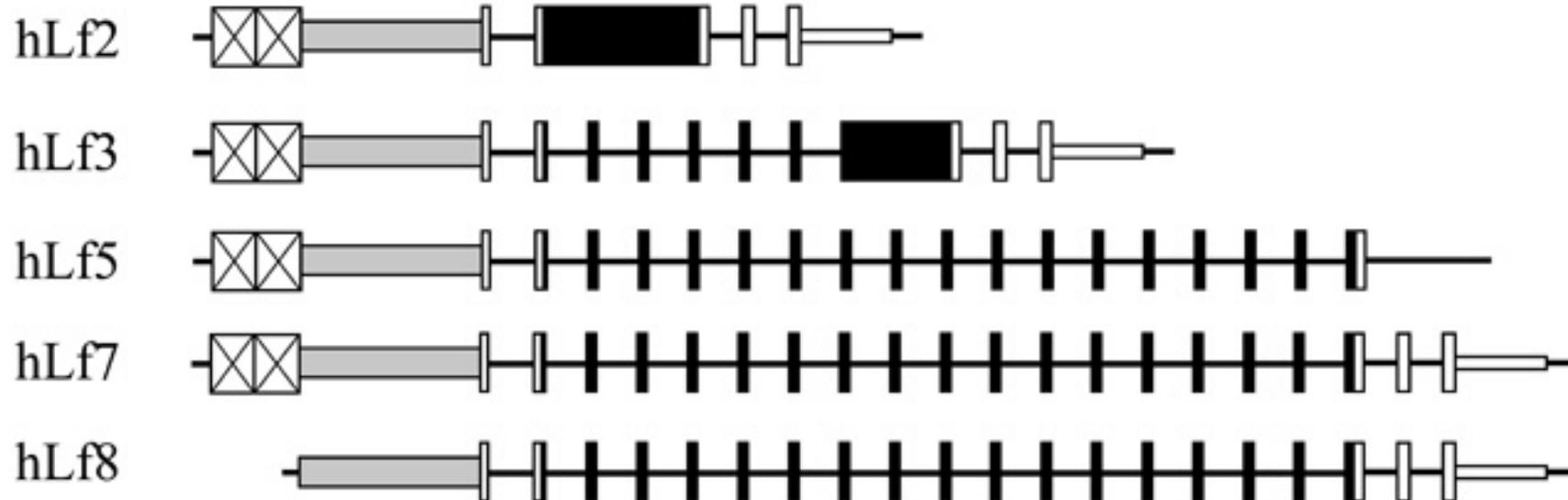
Институт биологии гена РАН,
РФ



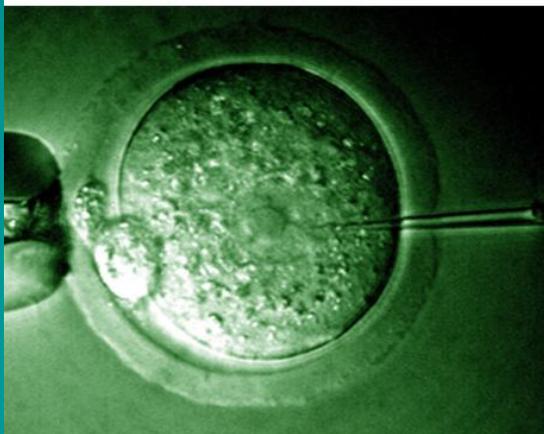
Научно-практический центр
НАН Беларуси по животноводству,
РБ



Конструкции по гену лактоферрина человека



Микроинъекция рекомбинантной ДНК в зиготы мыши



Процесс доения трансгенной мыши



Таблица 1. Содержание лактоферрина человека в молоке трансгенных мышей

| Генная конструкция | Количество лактоферрина в молоке, г/л |
|--------------------|---------------------------------------|
| hLf2 | 4,00 |
| hLf3 | 0,87-14,00 |
| hLf5 | 1,50-40,00 |
| hLf7 | 3,70-8,09 |
| hLf8 | 0,22-3,30 |

Биотехнологический центр с опытным производством, РБ



Доильный зал



Цитологическая лаборатория



Экспериментальное стадо



Хирургическая операция по извлечению эмбриоматериала у коз



Реакция суперовуляции (яичник козы)



Пронуклеусы зиготы козы



Микроинъекция рекомбинантной ДНК в пронуклеус зиготы козы



Микроинъекция рекомбинантной ДНК в пронуклеус зиготы козы

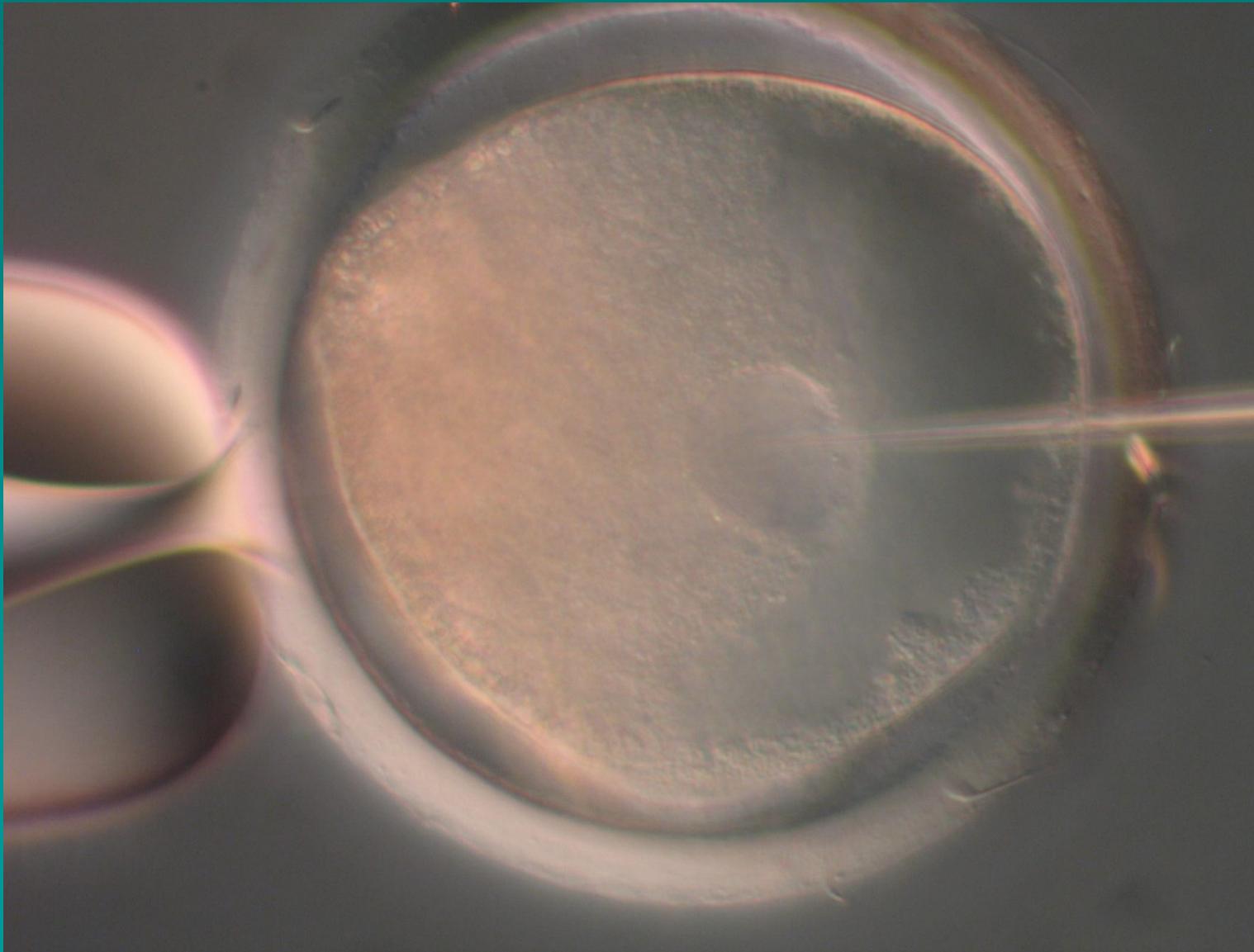


Таблица 2. Влияние генной конструкции с лактоферрином на показатель дробления

МИКРОИНЪЕЦИРОВАННЫХ КОЗЬИХ ЗИГОТ

| Генная конструкция | Количество микроинъецированных зигот | Количество проробившихся клеток, n-% | | | Общее кол-во жизнеспособных клеток после культивирования, n-% |
|--------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------|------------------|---|
| | | до 2-х бластомеров | до 4-х бластомеров | до 8-бластомеров | |
| hLf-5 | 15 | 15-100,0 | 10-66,7 | 2-13,3 | 13-86,7 |
| hLf -3 | 13 | 12-92,3 | 11-84,6 | - | 11-84,6 |
| Буфер | 12 | 10-83,3 | 9-75,0 | 1-8,3 | 10-83,3 |
| Клетки без прокола | 16 | 15-93,6 | 12-75,0 | 1-6,3 | 14-87,5 |

Таблица 3. Влияние спонтанного и индуцированного эструса на приживляемость микроинъекцированных

ЗИГОТ КОЗ

| Показатели | Спонтанный эструс | Индуцированный эструс | Всего |
|-------------------------------------|-------------------|-----------------------|---------|
| Количество пересадок, гол.-% | 44-38,9 | 69-61,1 | 113-100 |
| Количество пересаженных клеток, шт. | 99 | 182 | 281 |
| Приживляемость, гол.-% | 14-31,8 | 18-26,1 | 32-28,3 |
| Количество аборт, гол.-% | 2-14,3 | 4 ¹ -22,2 | 6-18,8 |
| *Получено приплода, гол.-%, | 15-34,1 | 22-31,9 | 37-32,7 |
| **из них: | | | |
| - живых, гол.-% | 14-93,3 | 19-86,4 | 33-89,2 |
| в т.ч. трансгенных | - | 2-10,5 | 2-6,1 |
| - мертворожденных, гол.-% | 1-6,7 | 3-13,6 | 4-10,8 |
| в т.ч. трансгенных | - | 1-5,3 | 1-2,7 |

Таблица 4. Получение первичных по гену лактоферрина коз

| Показатели | Количество |
|---|------------|
| Количество трансплантированных зигот, n | 281 |
| Количество реципиентов, n | 113 |
| Количество родившихся козлят, n | 33 |
| из них трансгенных, n | 2 |

Первичные по гену лактоферрина человека
производители Лак-1 (слева) и Лак-2



Таблица 5. Трансмиссия трансгена приплоду F1 от производителей Лака-1 и Лака-2

| Транс- генные произво- дители | Осеме- нено коз, n-% | *Оплодо- твори- лось коз, n-% | Получено живых козлят, n- % | **Получе- но трансген- ных козлят всего, n-% | ***Из них: | |
|--|----------------------------|--|--------------------------------------|---|---------------|---------------|
| | | | | | Самки, n-% | Самцы, n-% |
| ЛАК-1 | 44-40,4 | 36-81,8 | 72-52,2 | 22-30,6 | 10-45,5 | 12-54,5 |
| ЛАК-2 | 65-59,6 | 42-64,6 | 66-47,8 | 15-22,7 | 3-20,0 | 12-80,0 |
| Итого | 109-100,0 | 78-71,6 | 138-100,0 | 37-26,8 | 13-35,1 | 24-64,9 |

* - от числа осемененных животных

** - от числа полученных живых козлят

*** - от числа полученных трансгенных козлят

Таблица 6. Продолжительность беременности, наличие трудных козлений, многоплодие у самок, осемененных трансгенной спермой

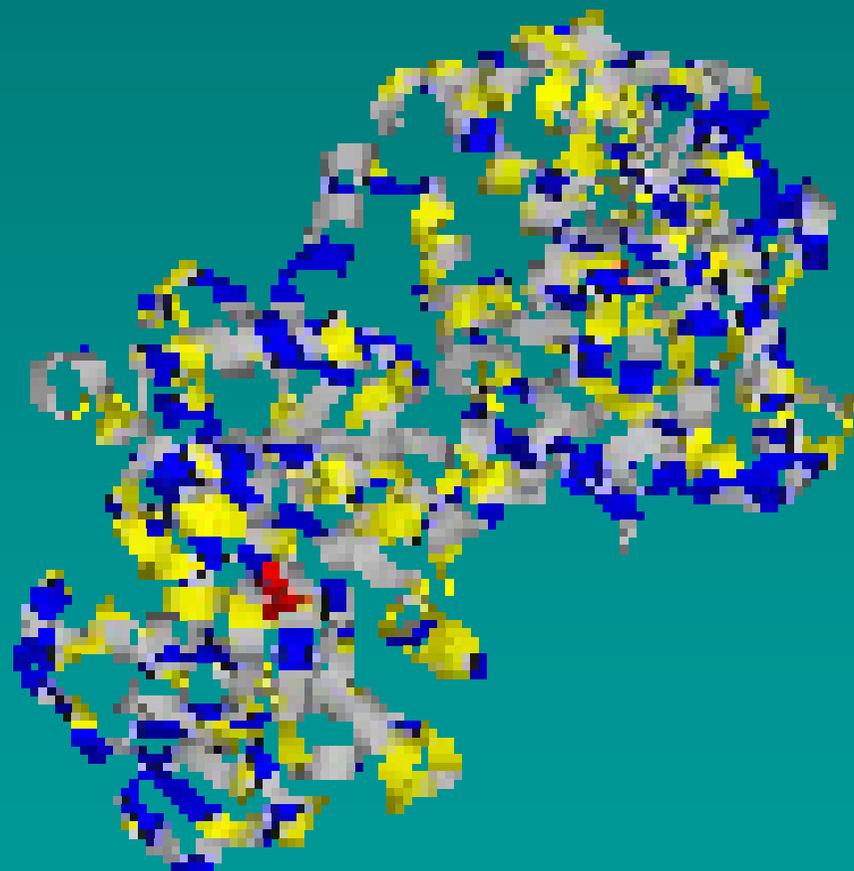
| Группы животных | Окозилось маток, n | Кол-во дней беременности, n | *Кол-во трудных козлений, n-% | *Многоплодие маток | | |
|-----------------|--------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------|-------------|-------------|
| | | | | Одинцы, n-% | Двойни, n-% | Тройни, n-% |
| Опыт | 76 | 148,51 | 4-5,3 | 21-27,6 | 43-56,6 | 12-15,8 |
| Конт- роль | 58 | 149,34 | 2-3,4 | 15-25,9 | 31-53,4 | 12-20,6 |

* - ОТ ЧИСЛА ОКОЗЛИВШИХСЯ МАТОК

Таблица 7. Содержание лактоферрина человека в молоке трансгенных коз-продуцентов

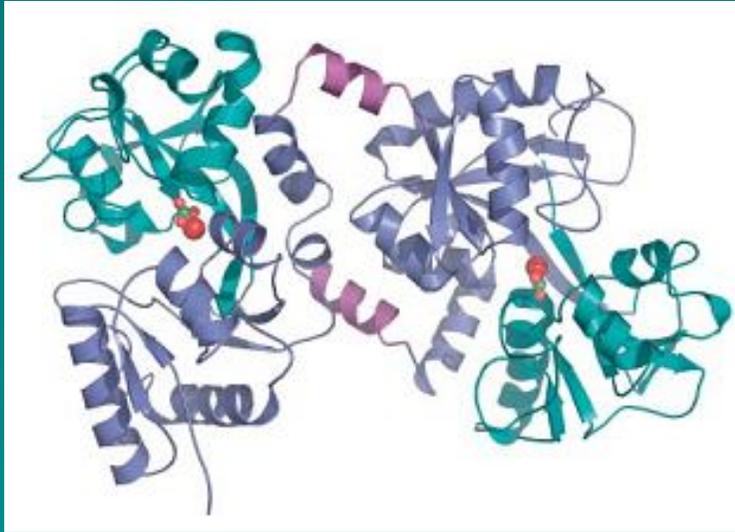
| Генная конструкция | Трансгенные производители | Количество коз-продуцентов, гол. | Продукция лактоферрина человека с молоком, г/л | |
|--------------------|---------------------------|----------------------------------|--|-----------|
| | | | min-max | в среднем |
| hLf5 | ЛАК-1 | 9 | 2,08-8,10 | 5,8 |
| hLf3 | ЛАК-2 | 3 | 0,25-3,40 | 1,9 |
| Всего | | 12 | 0,25-8,10 | 4,9 |

Модель лактоферрина

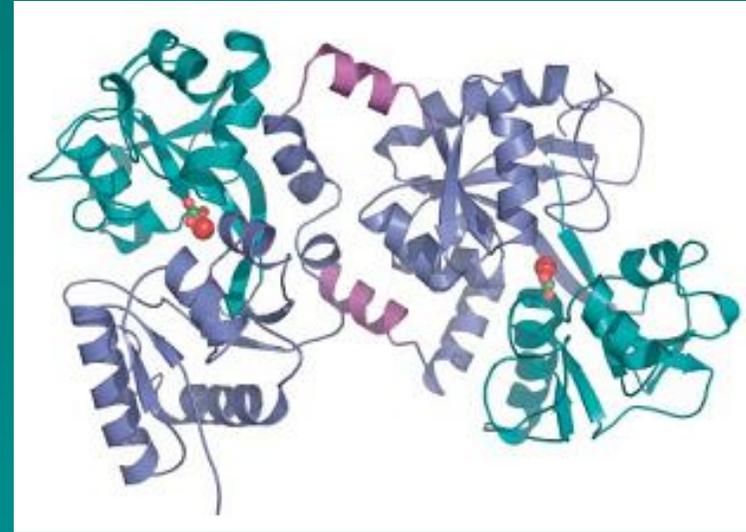


Преимущества РЕКОМБИНАНТНОГО ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА
из молока коз-производителей:

- идентичен лактоферрину из женского молока;
- не оказывает аллергенного действия;
- обладает высокой аффинностью к рецепторам человека;
- содержится в молоке в концентрации 1,5-6 грамм на литр, что делает экономически выгодным его выделение и производство на его основе лекарственных препаратов и пищевых добавок.



Рекомбинантный лактоферрин человека



Лактоферрин из женского молока

- Проводятся доклинические испытания рекомбинантного лактоферрина.
- Изучается физиологическая и фармакологическая активность.
- Разрабатываются проекты ТУ, ФС и лабораторных регламентов на производство пищевых добавок и лекарственных средств на основе лактоферрина.
- Ведутся работы по организации опытного производства экспериментальных образцов лекарственных средств и пищевых добавок с лактоферрином.



БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ОКП РБ 01.22.22.000

МКС 67.100.10

СОГЛАСОВАНО

Первый заместитель генерального
директора РУП «НПЦ НАН Беларуси
по животноводству»


И.П.Шейко
2012 г.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель проректора по научной
работе БГУ


Т.А.Дик
2012 г.

МОЛОКО КОЗЬЕ С ЛАКТОФЕРРИНОМ ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ
РЕКОМБИНАНТНЫМ

ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ
ТУ ВУ 100235722.212-2012

Срок действия с « 13 » 03 2012 г.
по « 13 » 03 2014 г.

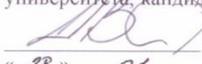
СОГЛАСОВАНО

Письмо ГУ «Республиканский
центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья»

№ 16-12.03/8737
« 17 » 02 2012 г.

РАЗРАБОТАНО

Заведующий кафедрой биохимии
Белорусского государственного
университета, кандидат биологических наук


И.В. Семак
« 28 » 01 2012 г.

Заведующий лабораторией воспроизводства
и генной инженерии с.-х. животных РУП
«НПЦ НАН Беларуси по животноводству»,
кандидат сельскохозяйственных наук


А.И. Будевич
« 28 » 01 2012 г.

Нормоконтролер
Белорусского государственного
университета


Т.Н. Долгая
« 30 » 01 2012 г.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ ПО
СТАНДАРТИЗАЦИИ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ
№ 034516 от 13.03.2012

КОНЦЕПЦИЯ

Научно-технологической программы Союзного государства
**«Создание научной и технологической основы
фарминдустрии производства высокоэффективных и
биологически безопасных продуктов функционального
питания, гигиенических и лекарственных средств нового
поколения на основе лактоферрина и других белков
человека»**

на 2014-2018 годы
(НТП «БелРосФарм»)

Спасибо за внимание!