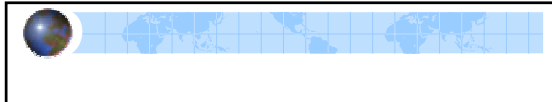


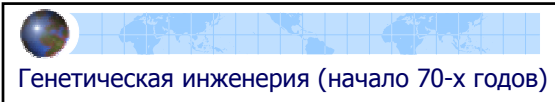


РАЗВИТИЕ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ В ИНТЕРЕСАХ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И МЕДИЦИНЫ

Академик Н.А.Каргель
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси



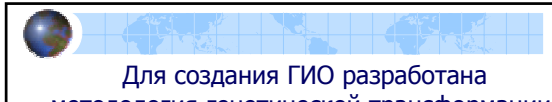
Фундаментальные исследования в области молекулярной биологии и генетики за последние 30-40 лет XX столетия привели к глубокому пониманию молекулярных механизмов наследственности, структурно-функциональной организации и регуляции геномов живых организмов.



Генетическая инженерия (начало 70-х годов)

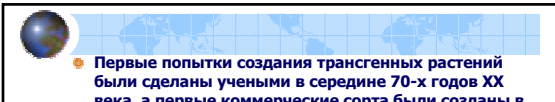
- открыла принципиально новые подходы по использованию живых организмов в интересах человека (медицина, сельское хозяйство, промышленность, экология)

Одним из таких подходов является создание в лабораторных условиях **генетически-измененных** или **генно-инженерных организмов (ГИО)** - растений, животных, микроорганизмов.



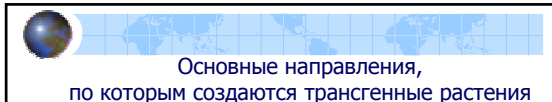
Для создания ГИО разработана методология генетической трансформации, которая включает:

- получение и клонирование рекомбинантных молекул ДНК
- культивирование или клонирование клеток и тканей высших организмов *in vitro*
- системы переноса генов от донора к реципиенту (трансгеноз)
- молекулярно-генетический анализ и биотестирование трансгенных организмов



- Первые попытки создания трансгенных растений были сделаны учеными в середине 70-х годов XX века, а первые коммерческие сорта были созданы в США в 94-96гг. фирмой Монсанто.

Культура	Генетическая модификация	Фирма
Картофель New Leaf	Устойчивость к колорадскому жуку (ген <i>cry III B.t.</i>)	Монсанто
Кукуруза Jield Gard	Устойчивость к кукурузному мотыльку (ген <i>cry I A</i>)	Монсанто Новартис
Хлопчатник Bollgard	Устойчивость к совкам (ген <i>cry I</i>)	Монсанто
Томаты	Лежкость плодов	Монсанто
Соя	Устойчивость к гербициду РАУНДАП	Монсанто



Основные направления, по которым создаются трансгенные растения

- устойчивые к гербицидам (Раундап, Баста и др.)
- устойчивые к грибным болезням и вирусам
- с улучшенными качественными показателями и повышенной продуктивностью
- с измененными физиологическими показателями (раннеспелость и др.)
- адаптированные к измененным факторам среды (засуха, жара, холод)
- толерантные к загрязнению почвы (тяжелые металлы, нефтепродукты)
- служащие биореакторами для продукции веществ, используемых в медицине, парфюмерии и др.



Вред, наносимый болезнями и вредителями

- ❖ Потери урожая до 30% и более
- ❖ При использовании защитных средств – 12-13%
- ❖ Мировые потери оцениваются в 42 млрд.долларов в год.
- ❖ В США на борьбу с колорадским жуком и кукурузным мотыльком тратится около 1млрд.долларов в год
- ❖ Сильное загрязнение окружающей среды пестицидами и инсектицидами
- ❖ Гибель полезных насекомых и птиц
- ❖ Влияние на здоровье людей



Трансгенные растения-биореакторы способны продуцировать в повышенных количествах вторичные метаболиты.

- ❖ Рапс, синтезирующий белки крови, антитела, вакцины (фирмы Calgene, Limaqrain)
- ❖ Рапс, синтезирующий высокое содержание лаурата (12-ти членная жирная кислота). Используется для производства стиральных порошков, шампуней, косметики (ген тиоэстеразы из растений).
- ❖ Трансгенные растения сои и кукурузы, продуцирующие антитела.

Экологически-ценные трансгенные растения (например, с геном металлотионина, способны связывать тяжелые металлы)



Для животных также разработаны методы эффективной трансформации

- ❖ Овца Трейен в молоке содержит белок человека 1991 г.
- ❖ Трансгенные животные, продуцирующие белки и другие вещества, ценные для фармацевтической промышленности
- ❖ Животные (козы, коровы, свиньи, кролики, мыши), продуцирующие лекарственные вещества против инфекционных заболеваний, тромбоза, гемофилии, малярии, диабета и др.
- ❖ Клонирование животных для целей биомедицины и др.



Продукты из трансгенных организмов

Продукт	Использование	Преимущество
химозин	60% сыра на мировом рынке	Снижение стоимости на 50%
Бычий соматотропин; гормоны роста	Производство молока, мяса	Увеличение производства на 10-15%
ДНК и РНК	Диагностика загрязнения пищевых продуктов	Возможность проведения тестов в сжатые сроки (24-48 часов)
Биополимеры	Косметика, медицина	Биодеградируемые и возобновляемые источники
Теплоизоляторы	Фруктовые сады	Технология, совместимая с окружающей средой
Моноклональные антитела	Медицина и ветеринария	Лечение, увеличение продуктивности



- ❖ Фирмы и НИИ многих стран сейчас интенсивно работают над созданием, испытанием и коммерческой реализацией трансгенных растений, несущих новые ценные сельскохозяйственные признаки.



Научные учреждения и фирмы большинства развитых стран активно ведут работу по созданию и использованию самых разнообразных трансгенных растений

- ❖ Наиболее активно эти работы ведутся в США, Канаде, Великобритании, Германии, Аргентине, Чили, Кубе, Китае, Индии и др.
- ❖ Предполагается, что в ближайшие 10-15 лет около 80% основных 29 с/х культур будут высеваться семенами трансгенных растений.
- ❖ В 2002 году в США 25% площадей, занятых кукурузой, 54% соей, и 61% хлопком были засеяны трансгенными сортами.
- ❖ Использование трансгенных растений позволило резко снизить объем вносимых пестицидов и гербицидов, а также снизить затраты на производство продуктов и вредную нагрузку на окружающую среду.
- ❖ В государствах ЕС зарегистрировано более 400 заявок на реализацию генетически измененной кукурузы, 13 заявок по пшенице, 3 заявки по ячменю.



Генно-инженерные исследования и биотехнология в Беларуси

- ✿ Пока развиты слабо
- ✿ Наиболее продвинуты на растениях:
 - Использование культуры клеток и тканей для научных целей и практического применения (микрклональное размножение, создание безвирусного посадочного материала и др.) (НАНБ, БСХА)
 - Генно-инженерные биотехнологии для научных целей и создание трансгенных растений для нужд народного хозяйства (НАНБ)



ГП «Разработка и использование генно-инженерных биотехнологий в интересах сельского хозяйства и медицины» (Генетическая инженерия), 2002-2006 гг.

Постр. СМ. № 378 от 27.03.2002

- ✿ В программу включено 36 проектов из 12 научных учреждений:

НАНБ – ГНУ ИГиЦ, ИФ, ИМ, ЦБС, ИФОХ, РУП БелНИИ картофелеводства, РУП БелНИИ Земледелия и селекции, РУП Институт животноводства

БГУ – кафедры генетики и биотехнологии, молекулярной биологии, микробиологии

МЗРБ – ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии, ГУ НИИ гематологии и переливания крови

БГМУ – кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии



Цель:

- ✿ Обеспечение ускоренного развития и использования в РБ молекулярно-генетических исследований и современных генно-инженерных биотехнологий как нового и эффективного подхода к обеспечению продовольственной, экологической независимости Республики от импорта отдельных видов продовольствия, средств защиты и лекарственных препаратов, развитию экспортного потенциала страны

Одна из главных **задач** Программы – создание в Республике организационных, кадровых и материально-технических условий для ускоренного развития генно-инженерных и биотехнологических разработок на их основе.



Научная часть программы состоит из 3-х разделов:

1. **Поиск хозяйственно-ценных генов, конструирование плазмидных векторов, разработка и усовершенствование методов создания трансгенных растений и микроорганизмов, несущих новые агрономически важные гены (21 проект).**

Среди проектов, включенных в первый раздел, есть проекты, в которых предусматривается клонирование генов глюкоуронидазы, глюкоизомеразы, глюкозооксидазы, и др. для создания новых высокоэффективных штаммов бактерий-продуцентов белков для пищевой промышленности (глюкозо-фруктозного сиропа из крахмального сырья), препараты для защиты растений от болезней (корневые гнили и др.), препараты для повышения продуктивности растений, ветеринарные препараты для лечения животных и др.

Ряд проектов предполагает конструирование векторов и создание трансгенных растений, устойчивых к вирусам (картофель), грибным болезням (картофель, рапс, ячмень), получение растений клюквы с модифицированными вкусовыми качествами и др.



2. **Разработка и совершенствование ДНК технологий для идентификации и паспортизации сортов сельскохозяйственных растений, древесных и плодово-ягодных культур, пород животных на основе молекулярных маркеров.**

Здесь включено 5 проектов, в которых предполагается разработать системы генетической паспортизации сортов сельскохозяйственных культур на основе геномной ДНК, а также хлоропластной и митохондриальной ДНК для пшеницы, ржи, ячменя, льна, сахарной свеклы, древесных растений.

Один проект посвящен разработке метода получения эмбрионов *in vitro* для генно-инженерных работ в животноводстве.



3. **Разработка генно-инженерных подходов для создания рекомбинантных белков вирусного и микробного происхождения в целях их использования для производства новых вакцин, моноклональных антител, диагностикумов и других лекарственных препаратов**

Здесь включено 11 проектов. Среди них есть проекты, посвященные созданию рекомбинантных белков для ВИЧ-диагностики, рекомбинантных белков вируса гепатита В и С для иммунобиологических препаратов, созданию иммуоферментных наборов на основе Н- и L- ферративов для диагностики онкологических заболеваний, разработке технологии получения генно-инженерной пероксидазы щитовидной железы человека для создания наборов иммуноанализа.

Три основных направления развития биотехнологии:

1. Селекция новых эффективных штаммов микроорганизмов как биотехнологических объектов для микробного синтеза биологически-активных соединений и для их использования в промышленности, сельском хозяйстве и охране окружающей среды
2. Селекция генно-инженерных сортов сельскохозяйственных и декоративных растений
3. Применение генно-инженерных технологий в медицине для диагностики и лечения болезней, создания принципиально-новых лекарственных препаратов.

Поскольку для получения значимых результатов требуются время и значительные финансовые ресурсы, ожидать быстрого прорыва в этой области не приходится. Поэтому в ближайшее время целесообразно расширять международное сотрудничество в современной биотехнологии.

Ожидаемые результаты

- ✦ Создание и включение трансгенного сорта картофеля, устойчивого к вирусной болезни, позволит повысить урожайность на 15 ц/га, и при условии посева этого сорта на площади 60 тыс. га обеспечить экономический эффект в 17 млн. долларов. Разработка новой методологии получения эмбрионов коров *in vitro* позволит сэкономить до 22 тыс. долларов в год.
- ✦ Будут созданы новые вакцины против наиболее распространенных в Республике вирусных и бактериальных инфекций, моноклональные антитела для терапии аллергических и аутоиммунных заболеваний человека, диагностические и лекарственные препараты для профилактики и лечения животных.
- ✦ Будет организовано отечественное производство вакцин (например, против гепатитов В и С, ВИЧ-инфекции, гриппа), ветеринарных препаратов (Аверин 1 и Аверин 2).
- ✦ Создание иммуоферментных диагностикумов позволит получить экономический эффект от внедрения не менее 1,2 млн. долларов США в год.
- ✦ Создание генно-инженерной пероксидазы цитовидной железы человека для иммуоанализа позволит экономить не менее 750 тыс. долларов ежегодно и удешевить готовую продукцию в виде наборов для иммуоанализа на 50%.

Организационные мероприятия

- ✦ Подготовка кадров:
 - Министерство образования дополняет школьные программы по биологии разделом по генетической инженерии и биотехнологии
 - Подготовка специалистов в аспирантуре по проблемам молекулярной биологии и биотехнологии в БГУ и НАНБ
 - Создана кафедра молекулярной биологии в БГУ
 - В печати учебник «Биотехнология в растениеводстве для сельскохозяйственных ВУЗов»
 - Планируется Международная научная конференция «Молекулярная генетика, геномика и биотехнология» в 2004 г.
- ✦ Подготовка проекта закона о биобезопасности

Дегградация нефти трансгенными растениями

Тестирование табака на средах, содержащих нефть

Содержание нефти	Среда MS-morpho								
	0%	1%	2%	3%	4%	5%	5,5%	6%	6,5%
Каллусообразование, %	100	98	82	55	30	1	0	0	0
Контрольные растения	100	98	82	55	30	1	0	0	0
Трансгенные растения	100	100	100	100	100	100	100	92	85

Каллусообразование на среде MS-morpho (4%нефти)

Растения на почве, загрязненной сырой нефтью

Содержание нефти	Почва				
	0% нефти	1% нефти	2% нефти	3% нефти	4% нефти
Длина корневой системы, см	17,0 см	14,5	13,6	11,0	8,2
Контрольные растения	17,0 см	14,5	13,6	11,0	8,2
Трансгенные растения	17,5	18,1	17,0	15,9	14,4

Устойчивый к нефтепродуктам арабидопсис

Растения на почве, загрязненной 2,4% нефти

- 1- контрольное
- 2- с rhIA геном
- 3- с rhIB геном
- 4- с rhIA+rhIB генами



Трансформанты с генами rhIA и rhIB хорошо растут на почве, содержащей до 6,5% сырой нефти

Оценка деградации 2,4% нефти в почве за 45 дней



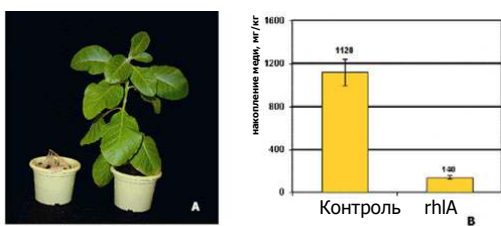
Условие	Деградация, %
1	1
2	1
3	27
4	30
5	28

Метод газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором

- 1 – почва без растений;
- 2 – почва с контрольными растениями;
- 3 – почва с трансгенными растениями (ген rhIA)
- 4 – почва с трансгенными растениями (ген rhIB)
- 5 – почва с трансгенными растениями (гены rhIA+ rhIB)

УСИЛЕНИЕ ТОЛЕРАНТНОСТИ РАСТЕНИЙ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ БЛАГОДАря ЭКСПРЕССИИ ГЕНА РАМНОЗИЛТРАНСФЕРАЗЫ


Накопление меди растениями табака, выросшими на почве, загрязненной 912 мг Cu на 1 кг влажной почвы



Группа	Накопление меди, мкг/кг
Контроль	912
rhIA	100

Содержание металла измеряли методом атомной адсорбции

ТОЛЕРАНТНОСТЬ К РАЗЛИЧНЫМ МЕТАЛЛАМ




Металл	Токсичность для контрольных растений, мг/кг	Токсичность для растений с геном rhIA, мг/кг
Al	100-300	6600
Cu	2-100	1800
Bi	0.022	1800
Zn	100-400	1200
Pb	10-100	800
Cs	10-30	800
Cr	3-30	500
Ni	10-100	500

Контроль rhIA
800 мг Cs/кг почвы

Развитие корневой системы на загрязненных металлами почвах



- 1 – контрольные растения на почве, загрязненной 3300 м/кг Al ;
- 2 – контрольные растения на почве, загрязненной 6600 м/кг Al ;
- 3 – растения с геном rhIA на почве, загрязненной 3300 м/кг Al ;
- 4 – растения с геном rhIA на почве, загрязненной 6600 м/кг Al .



**РАСТЕНИЯ НА ПОЧВЕ,
ОДНОВРЕМЕННО ЗАГРЯЗНЕННОЙ
ВЕЩЕСТВАМИ ОРГАНИЧЕСКОГО И
НЕОРГАНИЧЕСКОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ**



**Растения на почвах, загрязненных
1600 мг/кг Cu и 1% сырой нефти**



1 – контрольные растения на незагрязненной почве; 2 – растения с геном *ghIA* на незагрязненной почве; 3 – контрольные растения на почве, загрязненной 1600 мг/кг Cu и 1% сырой нефти; 4 – растения с геном *ghIA* на почве, загрязненной 1600 мг/кг Cu и 1% сырой нефти



**Трансгенные растения очищают почву для
не трансгенных растений**



1 – контрольные растения на незагрязненной почве; 2,3 – контрольные растения на почве, загрязненной 1600 мг/кг Cu и 1% сырой нефти после выращивания контрольных растений; 4,5 – контрольные растения на почве, загрязненной 1600 мг/кг Cu и 1% сырой нефти после выращивания растений с геном *ghIA*.




Программа Союзного Государства «Создание высокоэффективных и биологически безопасных лекарственных препаратов нового поколения на основе белков человека, получаемых из молока трансгенных животных (БелРосТрансген) 2003-2006
ГГ. Пост. СМ. Союзного государства № 34 от 15.10.2002.

Исполнители:
 • Институт биологии гена РАН
 • РУП Институт животноводства НАНБ




Финансирование:
 50 млн. российских рублей
 (РФ – 65%, РБ – 35%)



Цели и задачи Программы:

- Создание научной основы и технологической базы для развития в РБ и РФ совместного экологически-чистого и экономичного фармакологического биопроизводства высокоэффективных и безопасных лекарственных препаратов нового поколения на основе использования трансгенных животных, продуцирующих с молоком биологически-активные белки человека (гормоны, ферменты, факторы свертывающей системы крови, иммуномодуляторы, моноклональные антитела, стимуляторы роста и т.д.)



Разделы РУП Института животноводства

- Создание генной формы коз и инфраструктуры, необходимой для выполнения комплекса биотехнологических работ по получению первичных трансгенных животных-продуцентов с молоком лекарственных белков человека (лактоферрина и проурокиназы)
- Создание и исследование первичных трансгенных коз, продуцирующих с молоком лекарственные белки человека – основы биофармопроизводства

