

Лекция 15 «КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ЖИВОТНЫХ»

по учебной дисциплине
«Основы биотехнологии»
для специальности 1-31 01 01-02
Биология (научно-педагогическая
деятельность)
3 курс 6 семестр

Учреждение образования
«Брестский государственный
университет имени А.С. Пушкина»

Биологический факультет

Кафедра зоологии и генетики

Контактные данные для
консультирования
lenivko@brsu.brest.by

к.б.н., доцент
**Ленивко Светлана
Михайловна**

**Методические рекомендации
по управляемой самостоятельной работе
с использованием ИКТ**



Ознакомьтесь с кратким
конспектом лекционных
вопросов



Составьте план изложения ответа
на каждый вопрос и словарь
основных терминов по лекции



Изучите дополнительную
литературу, обобщите
сведения в виде тезисов

Клеточная инженерия животных, подобно клеточной инженерии растений, направлена на практическое применение культуры клеток и тканей животных организмов в условиях in vitro.

Направления клеточной инженерии животных и их задачи

- **Культивирование клеток животных**

задача

разработка

вакцин против

вирусных заболеваний,

получение

моноклональных

антител

- **Трансплантация эмбрионов**

задача

быстрое

размножение в

нужном количестве

с/х животных

с высокими

показателями

продуктивности

- **Клонирование**
задача

разработка

методологии

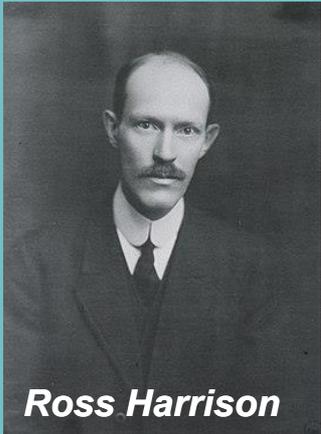
клонирования

различных видов

животных

Вопрос 1. Культивирование клеток животных. Практическое применение культуры клеток животных

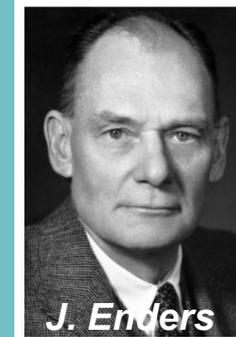
Освоение техники культивирования клеток животных



Ross Harrison

Основателем методологии культивирования клеток животных считают Р. Гаррисона, который в 1907-1910 гг. опубликовал результаты экспериментов культивирования животных клеток вне организма в условиях, необходимых для их жизнедеятельности.

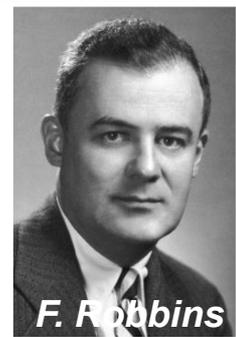
Методы культивирования клеток получили значительное развитие в 1940-х 1950-х годах в связи с исследованиями в области вирусологии.



J. Enders



T. Weller



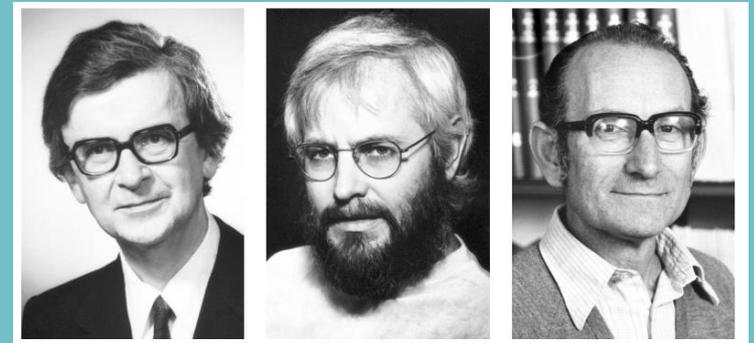
F. Robbins

Выращивание вирусов в культурах клеток дало возможность получения чистого вирусного материала для производства вакцин. Вакцина против полиомиелита стала одним из первых препаратов, массово произведённых с использованием технологии культивирования клеток. В 1954 г. Дж. Эндерс, Т. Уэллер и Ф. Роббинс получили Нобелевскую премию «За открытие способности вируса полиомиелита расти в культурах различных тканей».

В 1960 г. Ж. Барским было обнаружено, что культивируемые соматические клетки мышей в условиях культуры могут сливаться друг с другом, образуя гибридные жизнеспособные клетки. Позднее было установлено, что гибриды соматических клеток животных возникают довольно редко, однако присутствие определенных факторов (например, введение в культуру клеток РНК-содержащего вируса парагриппа Сендай) может способствовать увеличению частоты слияния клеток, в том числе и межвидовых гибридных клеток.

Под влиянием такого вируса в смешанной культуре двух типов клеток образуются клетки, содержащие в общей цитоплазме ядра обеих родительских клеток – гетерокарионы.

В 1975 г. впервые Г. Келером и К. Мильштейном был разработан способ гибридизации лимфоцитов мышей, предварительно иммунизированных антигеном, и культивируемых опухолевых клеток костного мозга, с образованием гибридомы.



N. Jerne

G. Kohler

C. Milstein

Метод получения моноклональных антител был удостоен в 1984 г. Нобелевской премии.

Гибридомы соединили в себе способность лимфоцита секретировать антитела одного типа (т. н. моноклональные антитела) и способность опухолевых клеток к неограниченному размножению на питательных средах. Метод получения моноклональных антител оказался перспективным и до сих пор является одним из востребованных в биотехнологическом производстве.

Техника культивирования клеток животных

Для культивирования могут использоваться клетки различных органов и тканей животных, а также различные типы опухолевых клеток.

Клетки животных и человека выращивают на более сложных питательных средах, чем растительные клетки.

Культивирование производят обычно в виде культуры клеточных суспензий либо в виде монослоя культуры одиночных клеток, прикрепленных к субстрату. Рост клеток происходит медленно, преимущественно после прикрепления их к поверхности.

Типы культур животных клеток

первичные

постоянные

диплоидные

Первичные культуры – культуры, полученные при изолировании из организма и существующие на питательной среде до их первого пассирования. Характеризуются слабой пролиферацией. Обычно неоднородны, т. к. представлены несколькими типами клеток той ткани, из которой были выделены.

Постоянные культуры – культуры, содержащиеся в условиях *in vitro* длительное время благодаря обновлению питательной среды. С течением времени теряют требовательность к качеству субстрата, накапливают спонтанные изменения генетического материала.

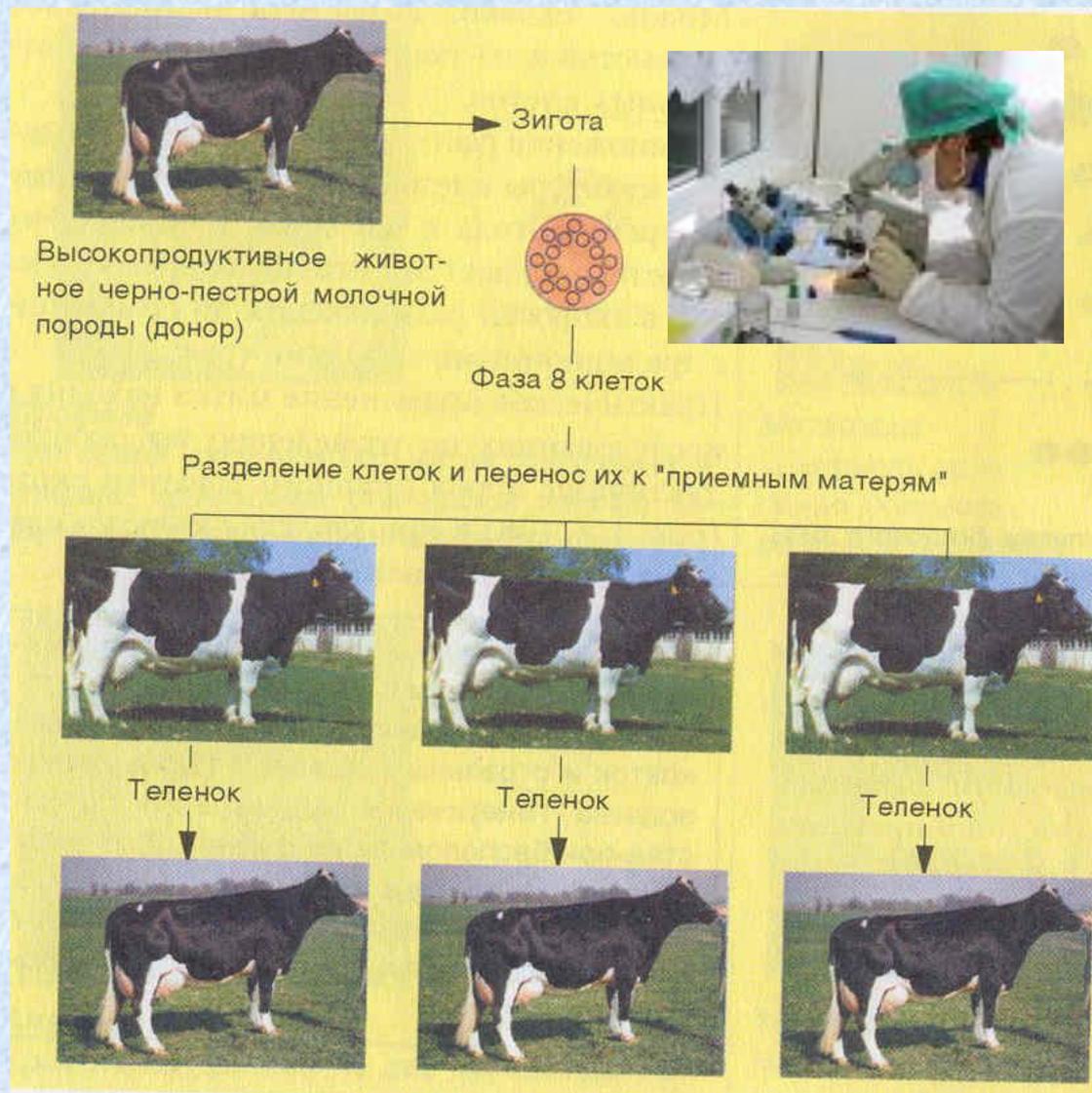
Ограниченные (диплоидные) культуры – культуры, поддерживаемые в течение определенного количества пассажей, а затем трансформирующиеся в постоянную культуру. Представляют однородную популяцию клеток, сохраняющих диплоидный набор хромосом во время деления.

Технология получения и трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота

- отбор доноров и реципиентов для эмбриотрансплантации
- гормональная индукция полиовуляции у коров-доноров
- искусственное осеменение коров-доноров
- извлечение эмбрионов
- пересадка эмбрионов в организм реципиента или хранение эмбрионов



Технология получения монозиготных близнецов у крупного рогатого скота



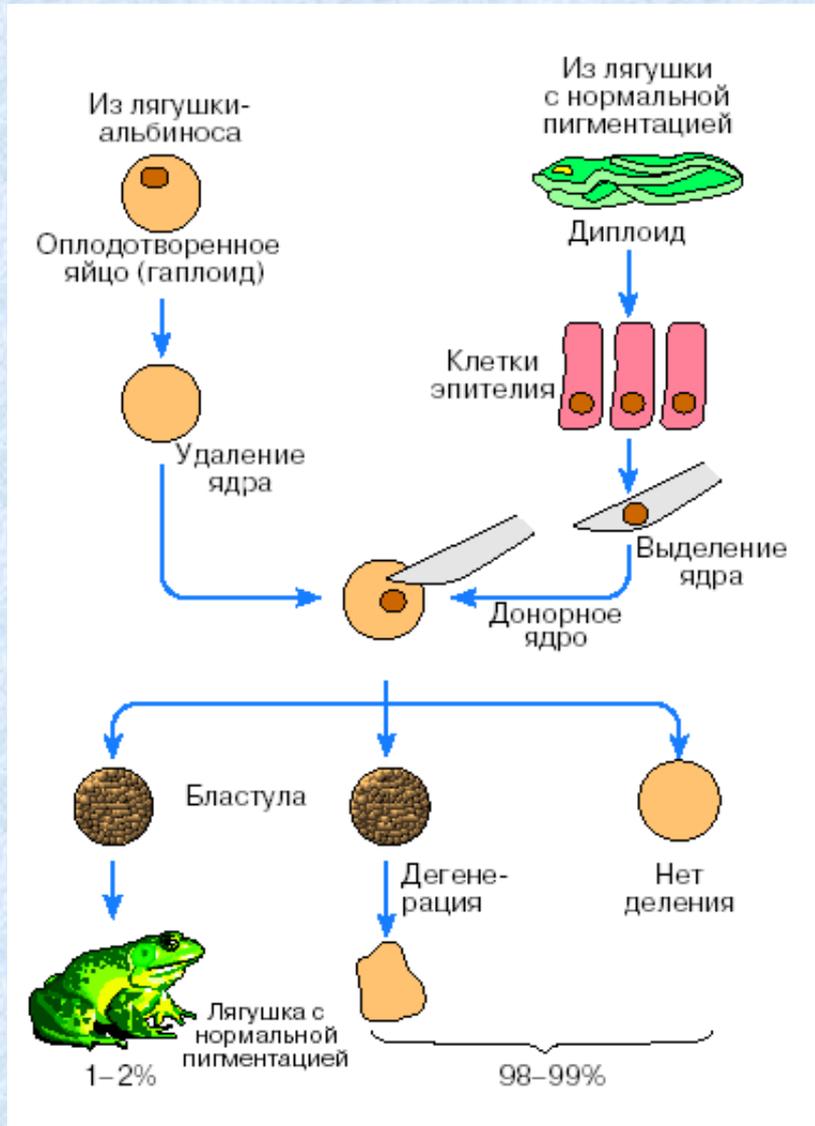
Вопрос 2. Разработка приемов и методов клонирования животных

Установленная в 1997 г. группой шотландских ученых под руководством Я. Уилмута возможность воспроизведения млекопитающих, на примере овцы Долли, путем развития из реконструированных яйцеклеток, ядро которых заменено на ядро соматической клетки, позволила разработать методологию клонирования различных видов животных.

Клонирование может помочь сохранить уникальные генотипы ценных пород животных, предотвратить проблему близкородственных скрещиваний редких животных, находящихся в зоопарках.

Методы клеточной инженерии используются в настоящее время в пчеловодстве, шелководстве, рыбоводстве. Такие методы, как стимуляция созревания гамет, искусственное осеменение, позволяют более целенаправленно и эффективно вести селекцию.

Клонирование животных



J. Gurdon
(1962 г.)



*Гладкая шпорцевая лягушка
(Xenopus laevis)*



Какие выводы можно сделать из представленного эксперимента?

Продолжение экспериментов Дж. Гердона



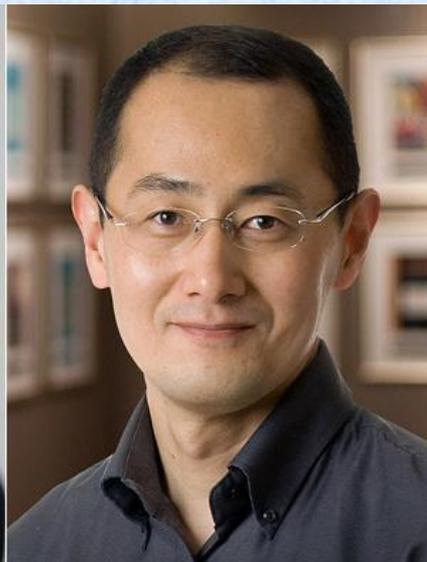
Дж. Гердон

в 1962 г.

экспериментально доказал обратимость специализации клеток животных

Нобелевская премия по физиологии и медицине 2012 г.

за обнаружение способа перепрограммирования специализированных клеток



С. Яманака

в 2006 г.

открыл 4 гена, активизирующие дедифференцировку клеток соединительной ткани



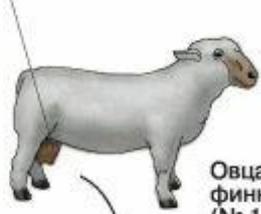
Г. Лопашов

(1912 -2010)

в 1948 г. разработал метод пересадки ядер соматических клеток в яйцеклетку лягушки

Клетки эпителия молочной железы (КЭМЖ)

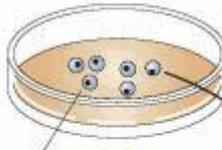
Неоплодотворенная яйцеклетка



Овца породы финн дорсет (№ 1)



Овца породы шотландская черномордая (№ 2)



Культивирование КЭМЖ

Удаление ядра из яйцеклетки

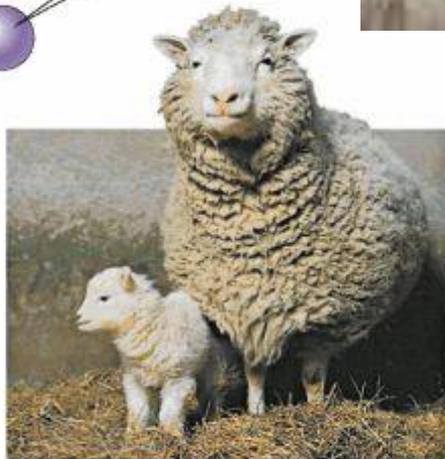
Микропипетка

Слияние КЭМЖ и безъядерной яйцеклетки

Стимуляция дробления реконструированной зиготы

Трансплантация эмбриона на ранней стадии развития в матку овцы-реципиента (№ 3)

Развитие эмбриона и рождение Долли



Овца породы финн дорсет, генетически идентичная овце № 1



Ian Wilmut (1997) овца Dolly

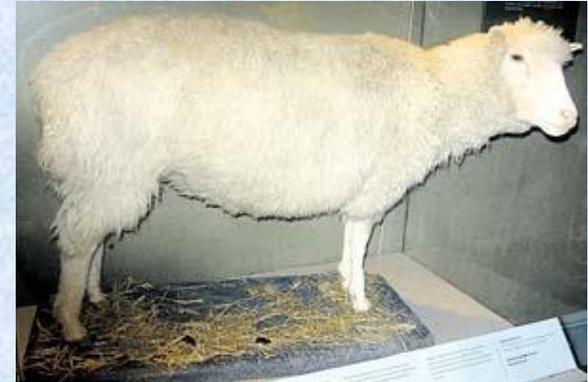
Прооперировано 40 овец

430 яйцеклеток

**277 реконструированных
яйцеклеток**

29 эмбрионов

1 овца Долли (0,36%)

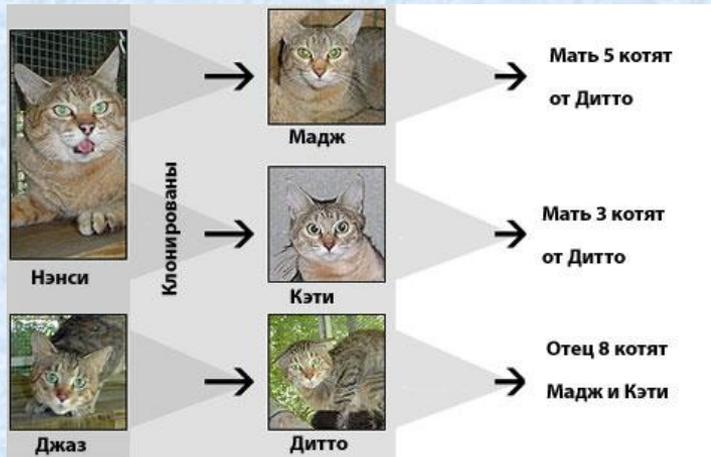


Клонирование ради клонирования?



Когда	Где	Клоны
2001 год	США	кошка Никки (1)
2002 год	Китай	кролик (2)
2003 год	Италия	жеребенок
2003 год	США	олень
2005 год	Италия	14 поросят (3)
2005 год	США	собака (4)
2005 год	Южная Корея	афганская борзая Снаппи (5)
2006 год	Южная Корея	волчицы исчезающего вида (6)
2009 год	Япония ОАЭ	мышь верблюд Инджаз из замороженных клеток

Перспективы клонирования



- *Низкая эффективность технологии клонирования
- *Быстрое старение клонов

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

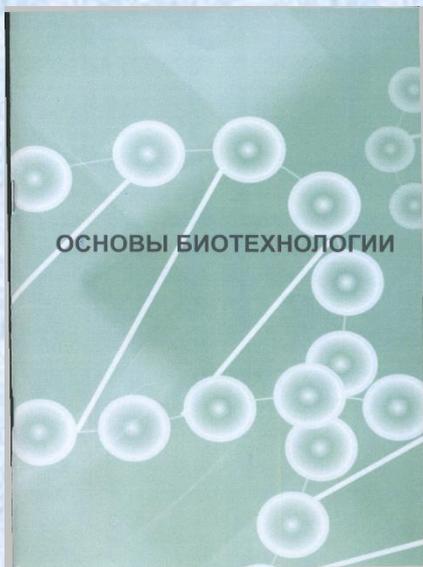
Основная:

1. Ленивко, С.М. Основы биотехнологии : учеб.-метод. комплекс / С.М. Ленивко, Ю.В. Кирисюк; Брест. гос. ун-т им. А.С. Пушкина. - Брест: БрГУ, 2018. - 92 с.
2. Биотехнология. Биобезопасность. Биоэтика / А. П. Ермишин [и др.]; под ред. А. П. Ермишина. – Минск : Тэхналогія, 2005. – 430 с.
2. Гончаренко, Г. Г. Основы генетической инженерии : учеб. пособие / Г. Г. Гончаренко. – Минск : Выш. шк., 2005. – 183 с.
3. Егорова, Т. А. Основы биотехнологии : учеб. пособие для высш. пед. учеб. заведений / Т. А. Егорова, С. М. Клунова, Е. А. Живухина – М. : Академия, 2003. – 208 с.
4. Картель, Н. А. Биотехнология в растениеводстве : учебник / Н. А. Картель, А. В. Кильчевский. – Минск : Тэхналогія, 2005. – 310 с.
5. Основы генетической инженерии и биотехнологии: учеб.-метод. рекомендации / сост. С. М. Ленивко ; Брест. гос. ун-т им. А. С. Пушкина, каф. зоологии и генетики. – Брест : Изд-во БрГУ, 2006. – 42 с.
6. Рыбчин, В. Н. Основы генетической инженерии : учеб. пособие для вузов / В. Н. Рыбчин. – 2-е изд., перераб. и доп. – СПб : СПбГУ, 2002. – 522 с.
7. Рыбчин, В. Н. Основы генетической инженерии : учеб. пособие для вузов / В. Н. Рыбчин. – Минск : Высш. шк., 1986. – 186 с.
8. Сельскохозяйственная биотехнология : учебник / В. С. Шевелуха [и др.] ; под ред. В. С. Шевелухи. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Высш. шк., 2003. – 469 с.
9. Сельскохозяйственная биотехнология : учебник / В. С. Шевелуха [и др.] ; под ред. В. С. Шевелухи. – М. : Высш. школа, 1998. – 416 с.

•

Дополнительная:

10. Бирюков, В. В. Основы промышленной биотехнологии : учеб. пособие / В. В. Бирюков. – М. : КолосС, 2004. – 296 с.
11. Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак ; пер. с англ. Н. В. Баскаковой [и др.] ; под ред. Н. К. Янковского. – М. : Мир, 2002. – 589 с.
12. Ермишин, А. П. Генетически модифицированные организмы : мифы и реальность / А. П. Ермишин. – Минск : Тэхналогія, 2004. – 118 с.
13. Коничев, А. С. Молекулярная биология : учебник / А. С. Коничев, Г. А. Севастьянова. – 4-е изд., перераб. и доп. – М. : Академия, 2012. – 400 с.
14. Ксенофонтов, Б. С. Основы микробиологии и экологической биотехнологии : учеб. пособие / Б. С. Ксенофонтов. – М. : ИД «ФОРУМ» : ИНФРА-М, 2017. – 224 с.
15. Ленивко, С.М. Технология введения в культуру и методы культивирования клеток, тканей, органов растений на примере пшеницы : метод. рекомендации / С. М. Ленивко ; Брест. гос. ун-т им. А. С. Пушкина. – Брест : БрГУ, 2013. – 46 с.
16. Основы сельскохозяйственной биотехнологии / Г. С. Муромцев [и др.]. – М. : Агропромиздат, 1990. – 384 с.
17. Шмид, Р. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия / Р. Шмид ; пер. с нем. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2016. – 325 с.



**Ленивко, С.М. Основы биотехнологии : учеб.-метод. комплекс /
С.М. Ленивко, Ю.В. Кирисюк; Брест. гос. ун-т им. А.С. Пушкина. -
Брест: БрГУ, 2018. - 92 с.**

**УДК 60(075.8)
ББК 28.087:30.16
ISBN 978-985-555-847-8**

**Форма контроля
выполнения заданий**

**Отчет о
выполнении
(см. слайд 2)
сдать на кафедру
до 05.06.2020**