

Генная инженерия ЖИВОТНЫХ

Преподаватель: старший преподаватель
кафедры молекулярной биологии и генетики,
PhD, Сметенов И.Т.

Дисциплина: Рекомбинация ДНК

(Лекция 8)

Цель

Изучить методы генной инженерии животных для создания трансгенных организмов и трансгенных линий, а также рассмотреть ключевые технологии введения трансгенов.

Задачи

1. Рассмотреть методы создания трансгенных животных, включая пронуклеарную микроинъекцию и использование вирусных векторов.
2. Описать использование эмбриональных стволовых клеток для создания стабильных трансгенных линий.
3. Изучить методы введения трансгенов, такие как биобаллистика и электропорация, и их применение в генетических манипуляциях.
4. Обсудить практические области применения трансгенных животных в научных исследованиях и биотехнологии.

Ключевые слова: *генная инженерия, трансгенные животные, трансген, пронуклеарная микроинъекция, вирусные конструкции, эмбриональные стволовые клетки, биобаллистика, электропорация*



Флуоресцентные мыши

Манипуляции с клетками млекопитающих можно разделить на 2 большие группы: эксперименты с соматическими клетками и эксперименты по трансформации половых клеток. В последнем случае конечный **результат** — получение **трансгенных организмов**.

Какие животные генетически
модифицируются?



- ✓ Животное, несущее рекомбинантный ген, называется **трансгенным**;
- ✓ Ген, интегрированный в геном реципиента, называется **трансгеном**;
- ✓ Продукт этого гена — **трансгенным**.
- ✓ Селекция позволяет закрепить новый ген в потомстве и создать **трансгенные линии**.

Существует несколько основных способов создания генных модификаций у высших животных:

1. пронуклеарная микроинъекция;
2. использование вирусных конструкций;
3. использование эмбриональных стволовых клеток.
4. использование биобаллистика
5. электропорация

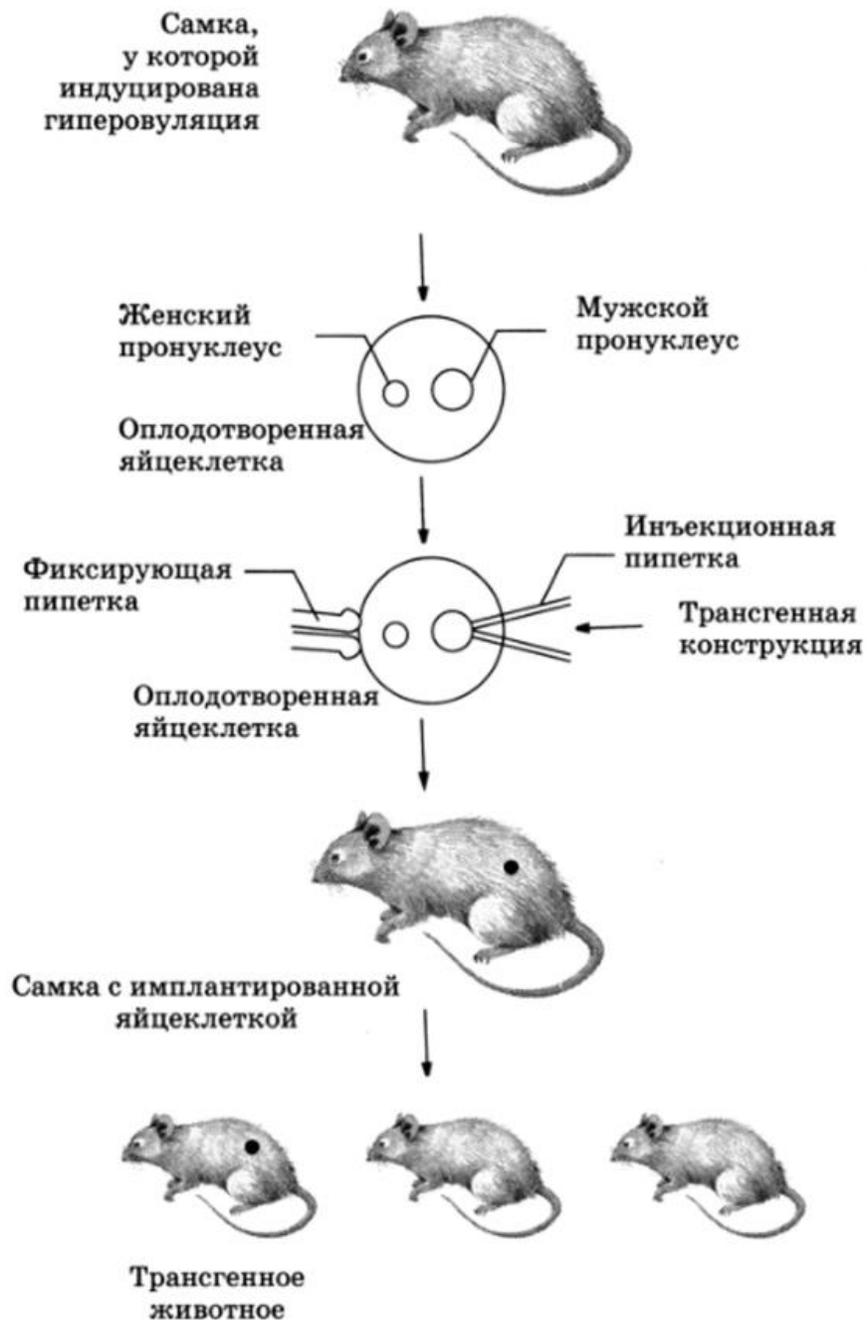
Микроинъекция

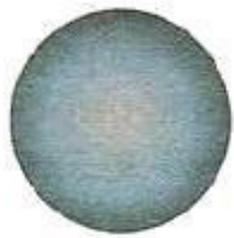
Клеточная мембрана прокалывается микроиглой и раствор, содержащий ДНК, вводится в цитоплазму клетки или напрямую в ядро, если ядро достаточно большое (например, ядро яйцеклетки).



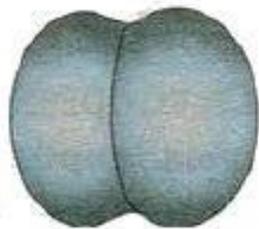
Микроинъекция ДНК в клетки млекопитающих стала возможной с появлением прибора для изготовления микропипеток диаметром 0,1–0,5 мк и микроманипулятора. Этот метод позволяет вводить любую ДНК в любые клетки и для сохранения в клетках введенного гена не требуется никакого селективного давления.

СХЕМА ПОЛУЧЕНИЯ ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ

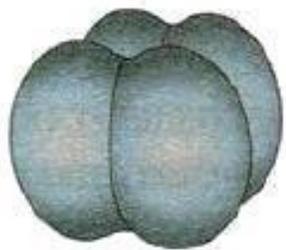




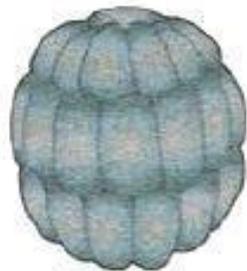
Зигота



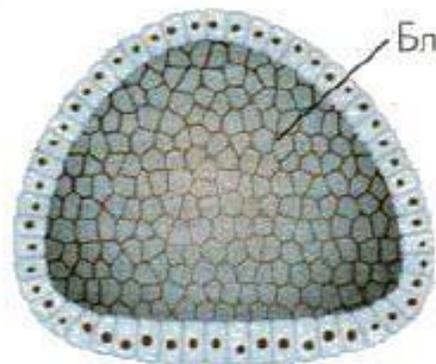
Стадия 2-х бластомеров



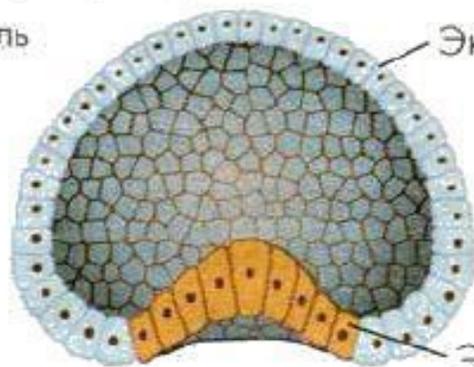
Стадия 4-х бластомеров



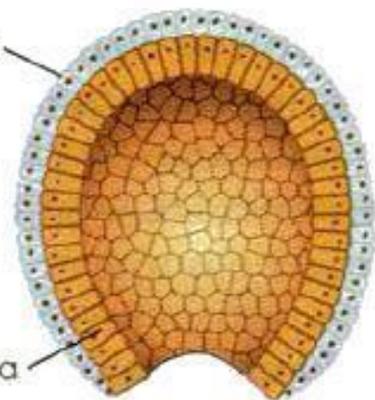
Стадия 32-х бластомеров



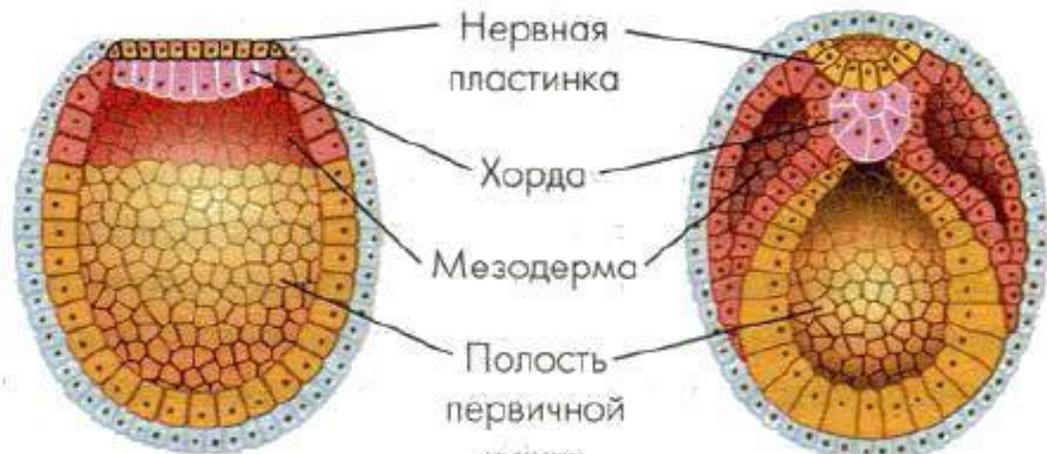
Бластула в разрезе



Начало образования гастрюлы

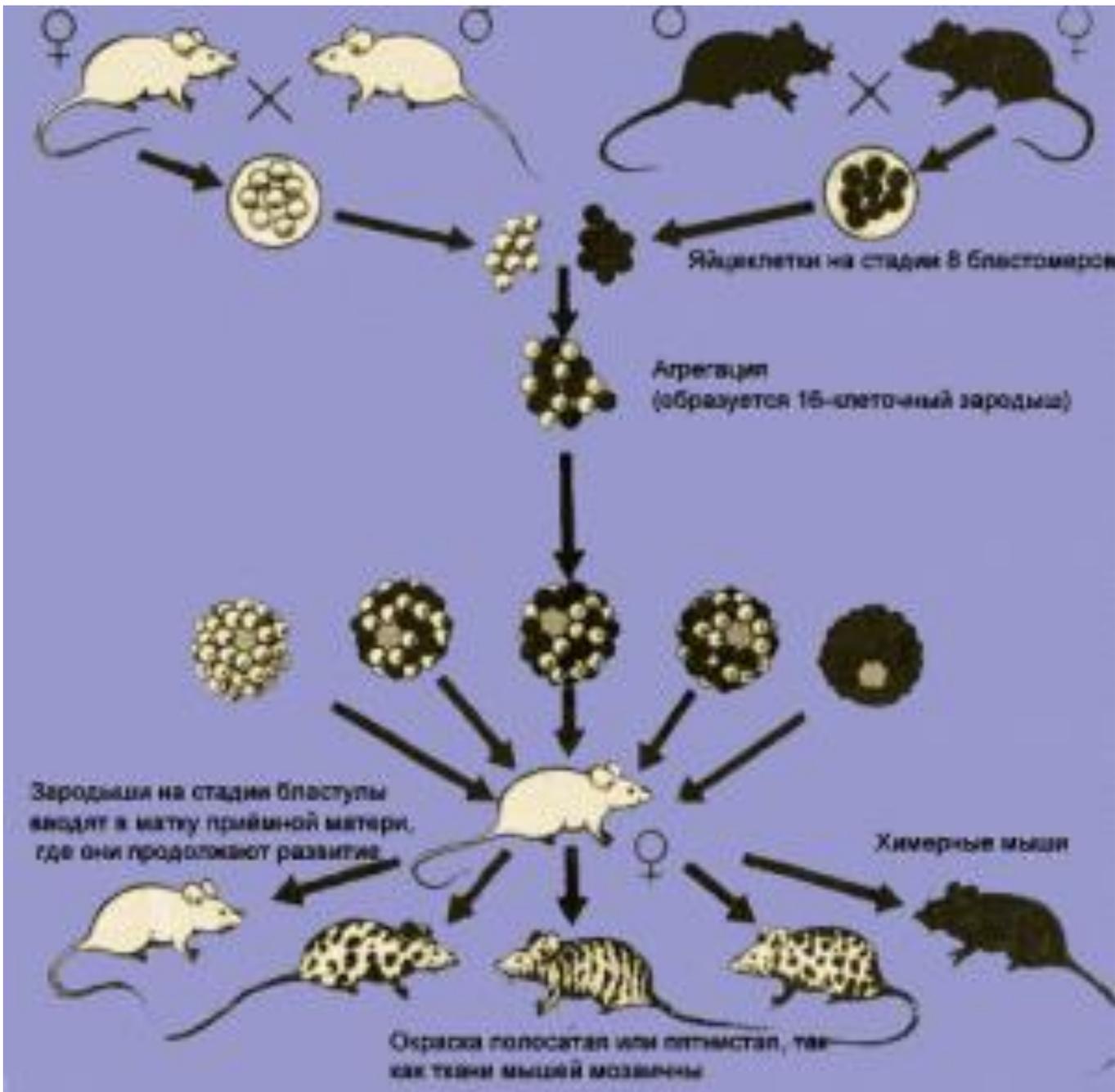


Гастроула



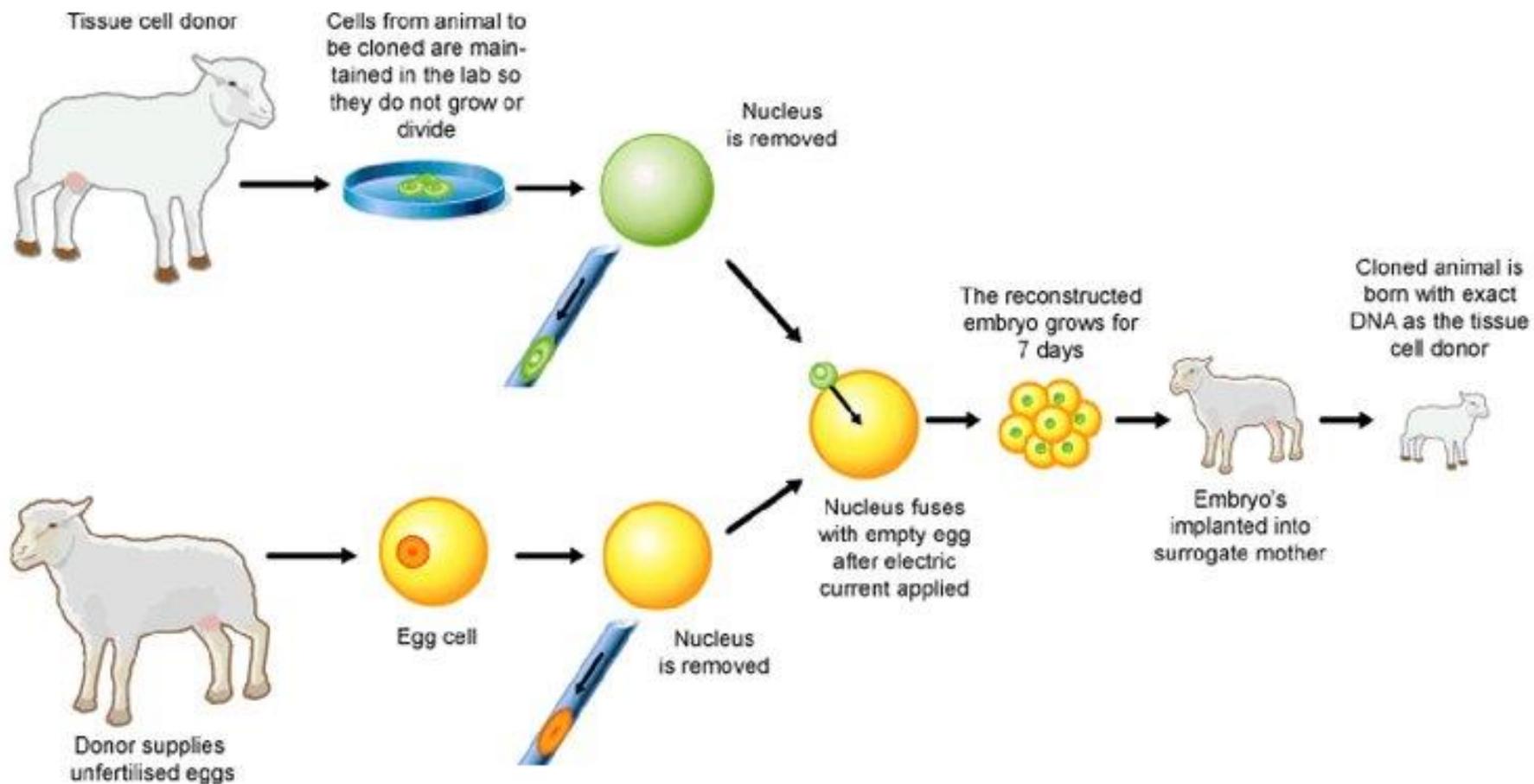
Ранняя нейрула

Нейрула

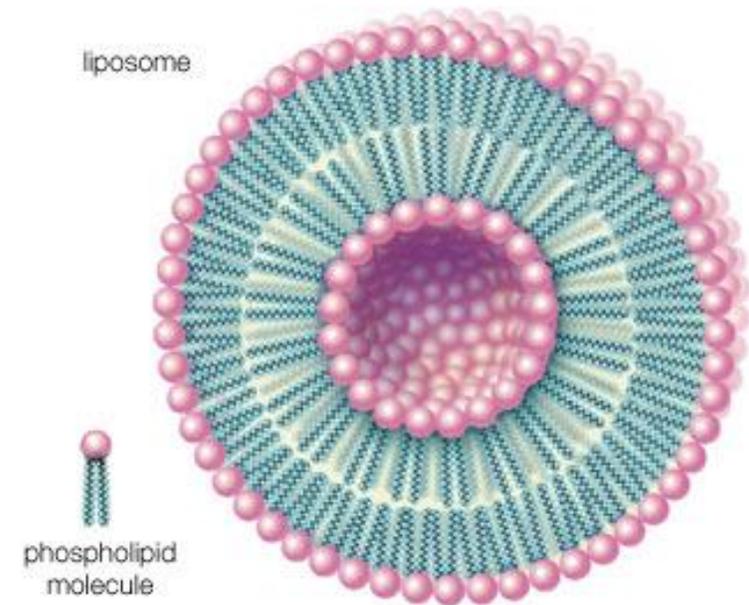


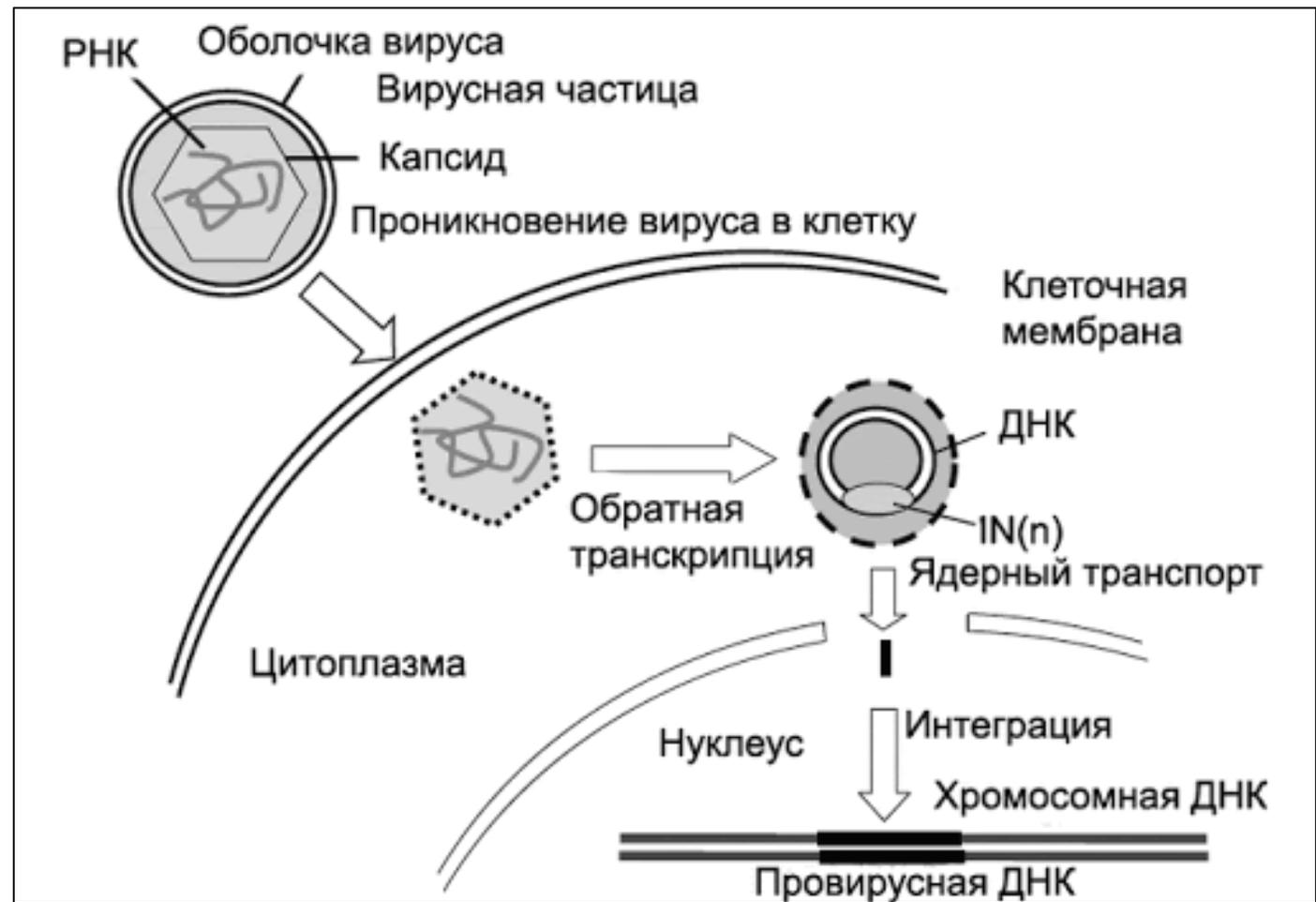
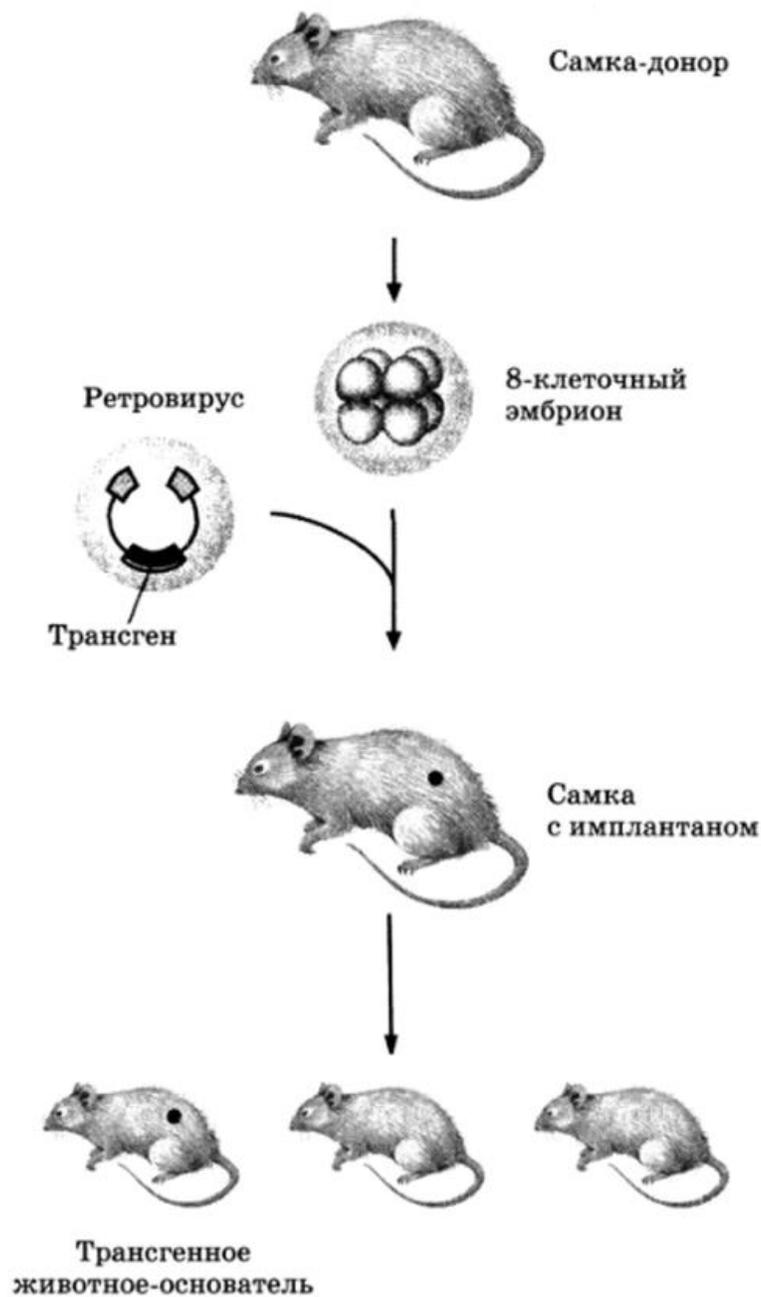
Были инъецированы гены интерферона и инсулина человека, ген β -глобина кролика, ген тимидинкиназы вируса простого герпеса и кДНК вируса лейкемии мышей. Число молекул, вводимое за одну инъекцию, колеблется от 100 до 300 000, а их размер - от 5 до 50 кб. Выживает обычно (10 – 30) % яйцеклеток, а доля мышей, родившихся из трансформированных яйцеклеток варьирует от нескольких до 40%. Таким образом, реальная эффективность составляет около 10%.

Зачем клонировать овец?

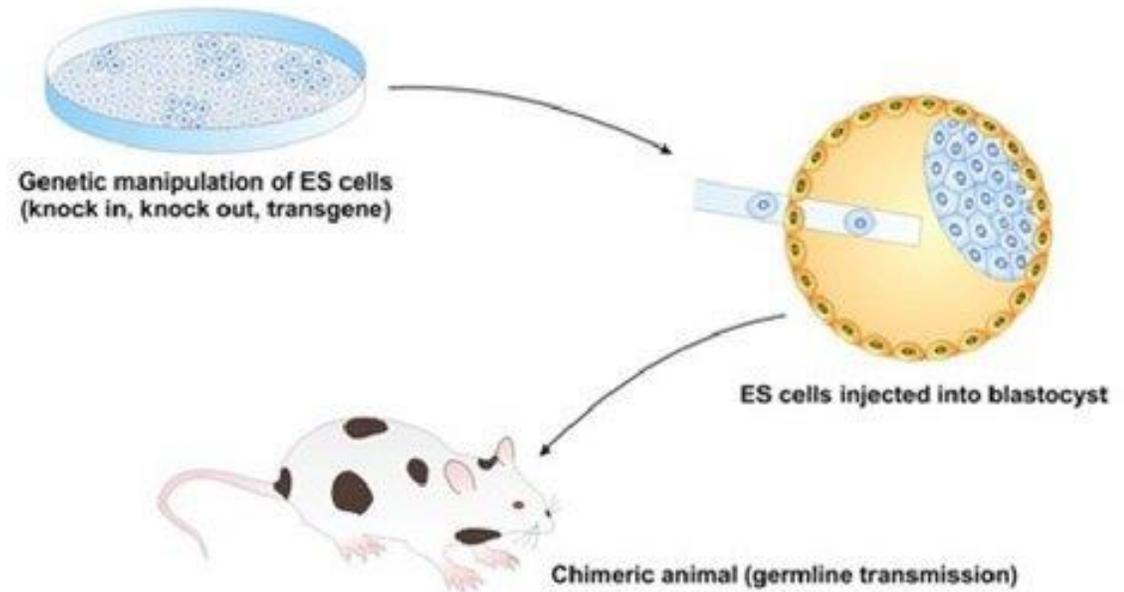
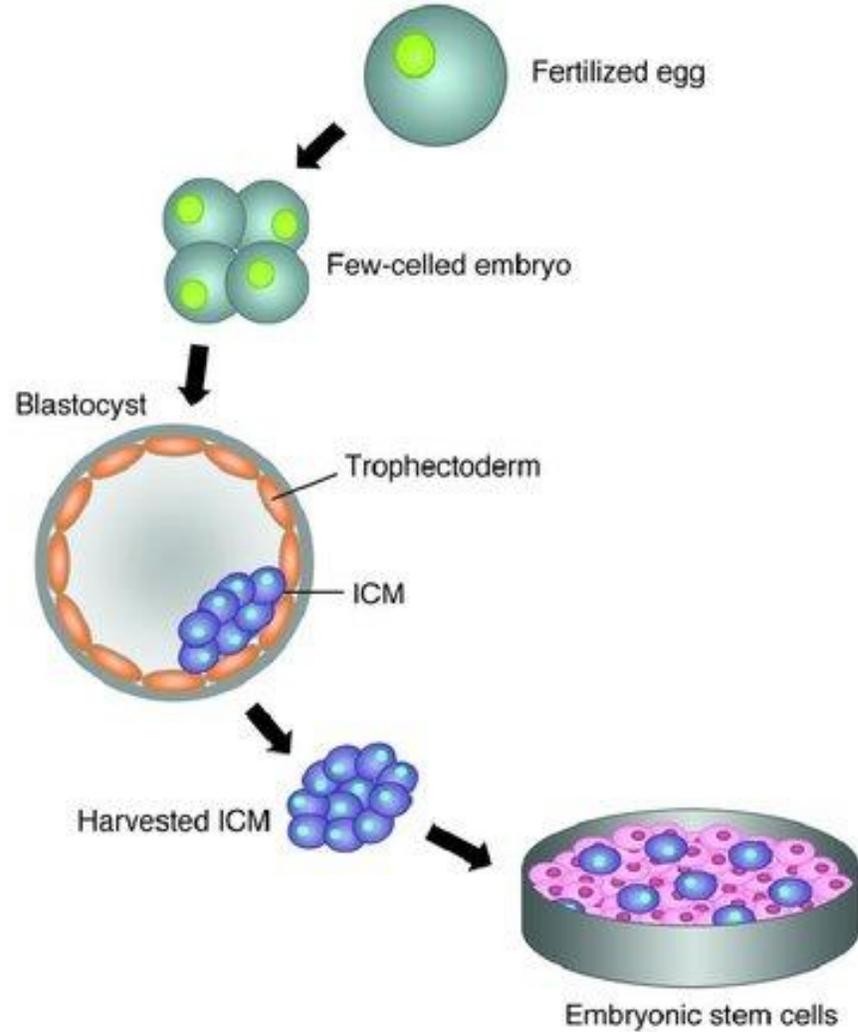


- В основном трансформации животных клеток осуществляют либо с помощью **ретровирусов** (около 40% от всех трансформаций), либо путем упаковки ДНК в **липосомы** (25%), реже используют **аденовирусы**, так как они могут вызывать сильный иммунный ответ, кроме того, невозможно их повторное введение.





Эмбриональные стволовые клетки



- Уже успешно используются овцы с вполне обычной внешностью, которые вырабатывают молоко, содержащее фермент *химозин*. В молокоперерабатывающей отрасли он очень важен для производства твёрдых сыров.



- В Англии существует большое стадо генномодифицированных коров, продуцирующих молоко с идеальным составом для производства сыра «Чеддер», который так высоко ценится в мире.
- Созданы коровы, в молоке которых значительно снижено содержание веществ, способных вызвать аллергические реакции у потребителей.
- С помощью генной инженерии созданы также свиньи, у которых добавлен геном, кодирующий выработку пищеварительного фермента *фитазы*.





- получены трансгенные рыбы нескольких видов, в генетический код которых добавлен ген, кодирующий повышенный синтез соматотрофного гормона (гормона роста), благодаря чему рыба растёт быстрее и вырастает крупнее своих обычных размеров.

- Рекомбинантная вакцина при введении ее в организм принесет ДНК фибера в клетку, выработка вирусного белка спровоцирует синтез специфических антител, т. е. вызовет иммунный ответ. Достоинством таких вакцин является очень маленький объем – для иммунизации одной мыши достаточно (10-50) мкг плазмиды, одной коровы – (200-300) мкг. Плазмида сохраняется в организме до 1 года.



Препарат «Спутник V» состоит из двух компонентов, в состав каждого из которых входит рекомбинантный аденовирусный вектор на основе аденовируса человека