Приложение 3

Выступление экспертной группы по вопросам развития прикладной цитологии.

*а) Современные аспекты микробиологии*

Бактерии - это рекордсмены клеточного деления!

Бактерии - это рекордсмены клеточного деления: в зависимости от условий и бактериального вида требуется от считанных минут до нескольких часов на то, чтобы клетка бактерии произвела перетяжку посредине и разделилась. Если принять во внимание, что одна бактериальная клетка делится каждые 20 минут (в среднем), то, стало быть, через 20 минут образуются две «дочерних» бактерии, спустя 40 минут - четыре «внучки», через 60 минут - восемь «правнучек», через 80 минут - 16 «правнучек» и т.д. Число бактерий увеличивается лавинообразно. Спустя всего лишь 10 ч 40 минут из одной бактериальной клетки возникло бы свыше 4 миллиардов потомков, т.е. столько, сколько людей живет в данное время на Земле.

Микробы невероятно продуктивны. В то время как одна корова с живой массой в 500 кг образует за сутки около 0,5 кг белка, а 500 кг растений сои продуцируют за тот же срок 5 кг белка, равная масса дрожжей (т.е. тоже 500 кг) способна выработать в биореакторе за сутки 50 т белка, что в 100 раз превышает их собственную массу и примерно равно массе 10 взрослых слонов.

Таким образом, при определенных условиях микробная клетка способна за равное время продуцировать в 100000 раз больше белка, чем животная клетка. При этом она потребляет дешевые вещества, например крахмальные растворы или даже сточные воды. Корове же требуется хорошие и, следовательно, дорогие корма.

Микробы съедобны?!

Сегодня на нашей Земле полмиллиарда человек не имеют в достатке пищи. В первую очередь ощущается нехватка продуктов - поставщиков белков, таких, как мясо, рыба, яйца, молоко и бобовые (фасоль, горох, соя).

Микроорганизмы эффективно помогают решению продовольственных проблем человека. Они ведь не только продуцируют лечебные средства, вино и сыр - они еще и съедобны! В них содержатся полноценные белки, жиры, сахара и витамины. Spirulina:

На равновеликих площадях водоросль Spirulina образует в 10 раз больше белковой массы, чем пшеница, и к тому же с более высоким содержанием белка. При сборе урожая водоросли попросту «отцеживают» с помощью сетки, затем их сушат на воздухе и добавляют к ним вещества, улучшающие вкус; после этого продукт готов потреблению и поступает в продажу.

«Жаркое по-домашнему» из микробов»

В 60-х годах XX века начали сооружать установки по производству белка с помощью микробов. Человечество нуждалось во все больших количествах белка. Со временем было обнаружено, что микроорганизмы способны питаться не только сахаросодержащими питательными растворами, но и усваивать компоненты нефти - алканы. Несъедобные для человека и животных твердые алканы - парафины - только микробы в состоянии утилизировать и преобразовать в ценный белок. В Советском Союзе осуществляется программа по изысканию наилучших «пожирателей» алканов. Уже в 1963 году начали работать первые опытные установки. На предварительно очищенных пробах нефти росли штаммы дрожжей рода Candida, которые питались алканами и при этом очень быстро размножались и образовывали белок. Из 1 т нефти получалось около 1 т дрожжей, содержащих 600 кг белка. Мало того! Из уже не содержащей алканов остаточной нефти получалось гораздо более высококачественное дизельное топливо!

В середине 70-х годов прошлого века в результате внезапного довольно сильного повышения цен на нефть страны, не имеющие собственной нефтедобычи, были вынуждены изыскивать другой, более дешевый источник питательных веществ для белкпродуцирующих микробов. В качестве такового был предложен метиловый спирт (метанол). Его модно получать в очень чистом виде из каменного угля или нефти. В Англии на одной из установок для получения микробного белка из метанола «работает» Bacterium Methylophilus methylotrophus (при дословном переводе на русский язык это латинское наименование бактерии звучит так: «Бактерия, любящая метан и поедающая метан»); ежегодная «производительность» этой бактерии 50000 т белкового корма прутин, используемого в основном при выращивании цыплят-бройлеров и откорме телят.

Начиная с 1985 г. микробный белок используется также в пищевой промышленности для изготовления различных блюд и полуфабрикатов. В Англии специализированные магазины проводят слоенные паштеты с начинкой, похожей на виду и вкусу на говяжью. В этом блюде даже можно ощутить «мясные волокна»! Новый биопродукт микопротеин изготовляется из гриба фузариум. Он содержит 45% белка и 13% растительного жира, т.е. не уступает по питательности многим сортам мяса. Грибные нити (мицелий) так «сплетаются» между собой, что появляется внешняя аналогия с мясными волокнами. Фузариум растет на всех сахаристых веществах, например в Европе для этого используют отходы картофеля, а в Америке - корни кассавы, фрукты или сахарный тростник. Наряду с «говядиной» из фузариума изготавливается также «куриное мясо». В скором будущем в магазинах можно будет купить не менее 10 видов пирожков, рубленые котлеты, лакомства и салаты, приготовленные с добалением микробного белка.

Микробы против вредителей.

В некоторых африканских странах насекомые или грызуны уничтожают около 60% урожая. В Европе потери урожая составляют от 25% до 40%.Кроме того, в тропических странах насекомые представляют опасность как переносчики малярии (комары рода Anopheles) или сонной болезни (муха цеце). Малярией впервые заболевают ежегодно 300 млн человек; по своим масштабам малярия занимает первое место в мире среди других болезней на Земле.

Бактерии, грибы и вирусы используются для борьбы с вредителями. Так, Bacillus thuringiensis, которая стала известна в Тюрингии как истребитель личинок моли, прекрасно зарекомендовала себя и как «убийца» гусениц. В настоящее время Bacillus thuringiensis выращивают в биореакторах. Одной тонны микробного препарата достаточно, чтобы очистить от вредителей 300 га леса, свекловичных полей, посевов хлопчатника или плантаций плодовых деревьев!

Гусеницы озимой совки, повреждающие хлебные злаки посредством погрызов корней, погибают, если только поглотят вместе с пищей бактерии Pseudomonas, трансформированные генно-инженерными методами.

Чистая вода благодаря работе микробов.

При очистке сточных вод микроорганизмы проделывают особенно трудную работу. Потребляя кислород в процессе дыхания, они с его помощью разлагают содержащиеся в сточных водах сахара, жиры и белки до углекислого газа и воды и на этой основе растут и строят свои новые клетки. Очистные установки предоставляют им наилучшие условия для развития, размножения и для деструктивной деятельности. Это гигантские «биофобрики», и их «биопродуктом» является чистая вода.

В институте биотехнологии в Лейпциге были выделены штаммы бактерий, поглощающие и откладывающие в своих клетках ртуть. Если этих «собирателей ртути» осадить на фильтре, то тем самым можно вновь уловить ртуть из сточных вод. Водоросли тоже обладают способностью накапливать в своих клетках ртуть, свинец и серебро и благодаря этому очищать сточные воды.

И все-таки самый короткий и простой путь к тому, чтобы защитить водный бассейн нашей планеты, это разработка таких производственных процессов, которые вовсе не выделяют вредных продуктов в окружающую среду! Именно этой цели желают достичь биотехнологии.

Биогаз спасает тропические леса.

Метанобактерии продуцирующие биогаз, очень чувствительны к кислороду. Предполагают, что они жили уже в первичной атмосфере Земли. Тогда в атмосфере еще не было кислорода, зато имелись углекислый газ, водрод; атмосфера имела такую температуру, которая как раз и необходима для развития метанобактерий. Если в настоящее время для них гдеОнибудь в болотах или искусственно в биореакторе создаются такие же условия, то они точно так же продуцируют метан.[4]

*б) Канцерогенез. Молекулярно-клеточные основы.*

Изучение процесса канцерогенеза является ключевым моментом как для понимания природы опухолей, так и для нахождения новых и эффективных методов лечения онкологических заболеваний. Канцерогенез - сложный многоэтапный процесс, ведущий к глубокой опухолевой реорганизации нормальных клеток организма.

Опухоли (лат. Tumors) - патологические образования, возникающие в следствии нарушения механизмов контроля деления, роста и дифференцировки клеток.

По смертности рак занимает второе место после сердечно-сосудистых заболеваний, по страху, который он внушает людям, - первое. Многие тысячи исследователей стремятся понять его причины, найти путь к его профилактике и лечению. Десятки институтов и сотни лабораторий во всём мире работают над этими проблемами, обеспечивая успех в понимании канцерогенеза и медленный, но неуклонный прогресс в профилактике и лечении рака.

Онкогены - это гены, мутации которых вызывают трансформацию. Иными словами, присутствие такого онкобелка в клетке необходимо для появления и поддержания трансформации. Для трансформации достаточна мутация даже одного гена из пары нормальных генов - предшественников онкогена (такие нормальные гены называют протоонкогенами). Антионкогены обладают совсем иными, во многом противоположными свойствами. Для появления или усиления трансформации необходима инактивация обоих членов каждой пары антионкогенов, имеющихся в клетке.[6]

Из всех предложенных до ныне теорий канцерогенеза, мутационная теория заслуживает наибольшего внимания. Согласно этой теории, опухоли являются генетическими заболеваниями, причиной возникновения которых является повреждение генетического материала клетки ( точечные мутации, хромосомные аберрации и т.п.). Повреждение специфических участков ДНК приводит к нарушению механизмов контроля за пролиферацией и дифференцировкой клеток и в конце концов к возникновению опухоли.

Возникает раковая клетка, которая приобретает новые свойства:

1. способность к бесконечному количеству митозов;
2. способность к метастазированию;
3. способность активно противостоять системе иммунитета.

На схеме показано деление клеток в культуре. В то время как нормальные клетки в условиях in vitro делятся до установления контакта с соседними клетками (примерно 20- 60 циклов), опухолевые клетки делятся неограниченно долго и не подвержены контактному торможению.

Почти каждая опухоль начинается с повреждения ДНК в отдельной клетке. Этот генетический дефект может быть вызван канцерогенами, например канцерогенными веществами (в частности компонентами табачного дыма), физическими факторами (УФ- излучение, рентгеновские лучи или онкогенными вирусами. По-видимому, в течение человеческой жизни немалое числи клеток организма из общего их числа 1014 претерпевает повреждение ДНК.

Различают два вида опухолей: доброкачественные и злокачественные.

* 1. Доброкачественные опухоли. Клетки доброкачественных опухолей в процессе опухолевой (неопластической) трансформации утрачивают способность контроля клеточного деления, но сохраняют способность (частично или почти полностью) к дифференцировке. По своей структуре доброкачественные опухоли напоминают ткань из которой они происходят (эпителий, мышцы, соединительная ткань). Характерно так же и частичное сохранение специфической функции ткани. Клинически доброкачественные опухоли проявляются как медленно растущие новообразования различной локализации. Доброкачественные опухоли растут медленно, постепенно сдавливая прилежащие структуры и ткани, но никогда не проникают в них. Они, как правило, хорошо поддаются хирургическому лечению и редко рецидивируют.
  2. Злокачественные опухоли. Клетки злокачественных опухолей претерпевают значительные изменения, ведущие к полной утрате контроля над делением и дифференцировкой. По степени дифференцировки различаем высоко, средне, мало и недифференцированные опухоли. Порой определить источник опухоли довольно трудно из-за высокой степени атипизма. Гистологический анализ позволяет определить ткань источник опухоли только в случае высоко и среднедифференцированных опухолей. Клинически злокачественные опухоли проявляются весьма разнообразно. Им свойственен как очаговый рост, так и диффузная инфильтрация окружающих тканей и органов. Злокачественные опухоли характеризуются быстрым и агрессивным ростом и способностью прорастать в окружающие органы и ткани, кровеносные и лимфатические сосуды с образованием метастаз. Злокачественные опухоли, как правило, трудно поддаются лечению и часто рецидивируют. Прогноз заболевания при наличии метастаз в отдаленных органах неблагоприятный.[7]

*в) Биотехнология. Перспективы развития.*

Новые растения из пробирки

На первом этапе от растения, которое предполагается размножить, отрезается лист. В растворе, содержащем ферменты, разрушающие клеточные стенки, образуются тысячи одиночных «голых» клеток (протопластов), не имеющих стенок. В питательном растворе протопласты образуют новые клеточные стенки, клетки начинают делиться. Приблизительно через две недели из каждой отдельной клетки возникает скопление клеток (каллюс). Каллюс помещают на особую питательную среду, где он развивается в полную силу и начинает образовывать побег. На другой питательной среде побег вырастает в маленькое растеньице с корнями, которое затем высаживают в землю. Так из одного единственного листа в самое короткое время можно вырастить тысячи новых растений со свойствами материнского растения.

Клеточная инженерия. Клонирование

К генной инженерии примыкает клеточная инженерия, основанная на успехах клеточной биологии. Ученые научились соединять клетки разных видов растений, объединял их генетические программы. Такие клетки приобретают новые свойства, становятся производителями ценных лекарственных или пищевых веществ, витаминов. Из таких гибридных клеток можно выращивать целые растения с новыми свойствами, объединяющими признаки растений разных видов, которые обычно не скрещиваются между собой. В зародыши клеток животных научились вводить новые гены и получать животных с новыми наследуемыми свойствами.

Не за горами исправление наследственной программы, полученной ребенком от родителей, в том случае, если она содержит «испорченные» гены. Станет возможным введение в зародыш на ранних этапах его развития нормальных генов и тем самым избавление людей от страданий, вызываемых генетическими болезнями.

Человечество вступило в новую эпоху конструирования генетических программ, и на этой основе создаются новые формы микроорганизмов, растений, животных. В технике начинается широкое использование физико-химических принципов работы живой клетки, ее энергетических устройств для решения практических задач и создания промышленных технологий. Возникло перспективное направление в биологии биотехнология. Бурное развитие новых методов исследований в генетике, расширение и углубление наших представлений о структуре и законах организации наследственного аппарата клетки обусловили создание и разработку принципиально новых методов селекции. Появились такие направления современной генетики, как клеточная инженерия и генная инженерия. Принципиальное отличие данных методов от традиционно используемых в селекции, например мутагенеза, состоит в целенаправленном расширении границ изменчивости генотипа, в планируемом разнообразии исходного материала для селекции. Наибольшее применение эти современные методы получили в селекции растений. Клеточная инженерия и клонирование связаны с культивированием отдельных клеток или тканей на специальных искусственных средах. Если взять отдельные клетки растений и пересадить их на специальные среды, содержащие минеральные соли, аминокислоты, гормоны и другие питательные компоненты, то они способны расти. Это значит, что в таких изолированных от организма тканях и клетках продолжаются клеточные деления. Но самым важным оказалось то, что отдельные растительные клетки в таких искусственных условиях обладают способностью к формированию полноценных растений. Эта их особенность была использована для селекции.

В отличие от растений у животных такой способностью расти в искусственной среде и давать начало целым организмам обладают только особые стволовые клетки, в особенности эмбриональные стволовые клетки. Первое в мире клонированное животное овца Долли — было получено в Шотландии в 1997 г. для этого ученые перенесли ядро стволовой клетки, взятой из молочной железы, в неоплодотворенную яйцеклетку овцы, из которой было предварительно удалено собственное ядро. Затем эту яйцеклетку перенесли в матку овцы, и в положенный срок родилось первое клонированное животное. В настоящее время получены клоны мышей, коров, свиней, кроликов и других животных

Генная инженерия. Под генной инженерией обычно понимают искусственный перенос нужных генов от одного вида живых организмов (бактерий, животных, растений) в другой вид, часто очень далекий по своему происхождению. Чтобы осуществить перенос генов (или трансгенез), необходимо выполнить следующие сложные операции:

- создание специальных генетических конструкций (векторов), в составе которых намеченные гены будут внедряться в геном другого вида. Такие конструкции, кроме самого гена, должны содержать все необходимое для управления его работой (промоторы, терминаторы) и гены-«репортеры», которые будут сообщать, что перенос успешно осуществлен;

- внедрение генетических векторов сначала в клетку, а затем в геном другого вида и выращивание измененных клеток в целые организмы.

Растения и животные, геном которых изменен в результате таких генно- инженерных операций, получили название трансгенных.

Для более наглядного представления рассмотрим, как ученым из разных стран, в том числе и нашей, удалось с помощью генно-инженерных методов создать ценные для селекции новые формы растений.

В природе существует бактерия Bacillus thuringiesis, вырабатывающая белок, называемый эндотоксином. При попадании этой бактерии в желудок насекомых — вредителей сельскохозяйственных растений эндотоксин вызывает разрушение стенки желудка и гибель насекомого-вредителя. Такое свойство белка генные инженеры решили использовать для создания форм сельскохозяйственных растений, устойчивых к насекомым-вредителям. Они выделили из бактериальной ДНК ген, кодирующий эндотоксин. Этот ген был встроен в состав родных генетических векторов — плазмид, присутствующих в клетках почвенной oaK i epHMAgrobacterium tumefaciens. Этой бактерией были заражены кусочки растительной ткани, выращиваемой на отельной среде. Через некоторое время плазмиды, несущие ген белка-токсина, внедрились в растительные клетки, и ген встроился ДНК растений. Затем кусочки растительной ткани перенесли на отдельную среду другого состава, которая обеспечивает рост и развитие полноценных растений. В конце концов такие растения были выращены и выяснилось, что если на их листья посадить гусениц насекомых-вредителей, то, отведав растительной ткани с белком- токсином, гусеницы погибают. Важно, что токсин оказался гибельным только для насекомых и совершенно безвредным для человека и сельскохозяйственных животных. Описанным выше путем к настоящему моменту удалось получить формы картофеля, томатов, табака, рапса, устойчивые к разнообразным сельскохозяйственным вредителям. При этом отпадает необходимость во внесении химических инсектицидов, от которых страдают не только люди, но и многие животные: насекомые, звери и птицы. Специалисты в области молекулярной биологии передали винограду ген морозоустойчивости от дикорастущего родственника капусты брокколи. Получение морозостойкого сорта заняло всего год. Обычно выведение нового сорта винограда занимает от 25 до 35 лет при этом традиционные методы не позволяют переносить гены от других растений, не относящихся к роду винограда. Трансгенные растения выращивают во многих странах мира. На первом месте по размеру посевных площадей под трансгенными растениями находятся США, Аргентина и Китай. Больше всего земли занимают трансгенные соя, кукуруза, хлопок, рапс и картофель. Были разработаны и другие способы введения новой наследственной информации в клетки растений с использованием электрических разрядов и генной пушки, стреляющей частицами металла с нанесенными на них фрагментами ДНК.

Перенос новых генов в геном животных обеспечивается разными методами. Используется микроинъекция ДНК в ядро яйцеклетки. Вирусы могут переносить участки чужеродной ДНК в культивируемые эмбриональные стволовые клетки животных. Такие измененные стволовые клетки затем трансплантируют в развивающийся эмбрион и получают химерных животных. Химерами они называются потому, что часть их клеток происходит от собственных клеток эмбриона, а часть — от измененных трансплантированных клеток. Потомки трансплантированных клеток участвуют в формировании многих тканей и органов химерных животных, в том числе и половых клеток. Это открывает возможность получения пород трансгенных животных, несущих хозяйственно полезные признаки.