

УДК 573.22/602

ДОСЯГНЕННЯ ГЕННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ: ПОГЛЯД У ХХ СТОЛІТТЯ ТА МОЖЛИВІ РИЗИКИ СЬОГОДЕННЯ

Левашова В. М.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Вступ. *Трансгенними* називаються організми які мають у складі свого геному чужорідні гени інших організмів. Одержують такі організми шляхом *генної інженерії*.

Мета дослідження: дослідити розвиток генної інженерії в історичному аспекті, розглянути погляди науковців щодо практичного використання досягнень цієї галузі науки.

Методи дослідження: термінологічний та структурно-логічний аналіз літературних джерел.

Основні результати. Офіційним початком народження генної інженерії і створення генетично модифікованих організмів можна вважати 1927-1928 рік, що пов'язано з роботами Г. Карпенченко і Ф. Грифіта.

Г. Карпенченко (1927) уперше синтезував нову невідому в природі видову форму *Raphanobrassica*, константний полиплоїдний міжродовий гібрид між редькою та капустою. Очевидно, що створення рафанобрассіки було першим випадком конструювання нового геному, а також того факту, що у кінці 70-х нове направлення у біології дістало назву *генної інженерії*.

Пропонуємо короткий список важливих історичних подій для формування генної інженерії як науки.

II тис. До н.е. - використання дріжджів для отримання вина, пива і дріжджового хліба і кефіру.

1700-ті - натуралісти ідентифікують рослини-гібриди.

1861 - Луї Пастер розробляє технологію пастеризації

1865 - досліди Грегора Менделя - засновника генетики.

1917 - Карл Ерек ввів термін "біотехнологія"

1922 - американські фермери закупають гібридні сорти кукурудзи. З

1930 по 1985 рік завдяки методам генетики та селекції спостерігається збільшення врожайності пшениці на 600 %.

1943 - розроблено пеніцилін та виробництво в промисловому масштабі

1944 – О. Евері, К. Маклауд і М. Маккарті довели, що генетичним матеріалом є ДНК.

1953 - лауреати Нобелівської премії Джеймс Уотсо і Фредерік Крік відкривають структуру ДНК у вигляді подвійної спіралі.

1961 - Засновано журнал "Biotechnology and Bioengineering"

1961 - 1966 розшифровано генетичний код.

Основні принципи генної інженерії були розроблені в 60-70-х роках ХХ ст. Вони включали три основних етапи: а) отримання генетичного матеріалу (штучний синтез або виділення природних генів); б) включення цих генів у генетичну структуру, яка реплікується автономно (векторну молекулу ДНК), тобто створення рекомбінантної молекули ДНК; в) введення векторної молекули

(з включеним у неї геном) у клітину - реципієнта, де вона вмонтовується в хромосомний апарат.

1970 - Норман Борлауг отримує Нобелівську премію за створення низьких сортів пшениці.

Виділено перші ендонуклеази (endonuclease) рестрикції, тобто специфічного ферменту з допомогою якого можна видалити якусь частину молекули ДНК [3].

1972 – Г. Корану та ін. синтезували повнорозмірний ген тРНК

1973 - Стенлі Коеном і Герберт Бойером був перенесений ген, специфічний ділянці ДНК, з одного організму до іншого, започаткування ДНК-технологій, започаткування технології рекомбінантних ДНК.

1975 – Д. Колер і С. Мільштейн описали отримання моноклональних антитіл. Перші моноклональні тіла, використовувані вченими, були мишачими. Але, оскільки вони були чужими для організму людини, їх уведення могло спровокувати імунну відповідь. У зв'язку в цим вчені почали замінювати ті ділянки тварин мат-білків, що не зв'язуються з цільовим антигеном, на людські. (На сьогоднішній день виробництво моноклональних антитіл є сегментом фармацевтичної індустрії, що найбільш швидко розвивається. За підсумками 2010 року, два моноклональні антитіла – Rituxan/MabThera та Remicade – увійшли в топ-5 «блокбастерів» серед біотехнологічних фармацевтичних препаратів насамперед для лікування ракових захворювань, поліартритів та ін..) [4].

1976 - Видано перші керівництва, що регламентують роботи з РС комбінантними ДНК. Розроблено методи визначення нуклеотидної послідовності ДНК.

1978 - Фірма Genentech почала використовувати інсулін, отриманий за допомогою E. coli для лікування людей хворих на цукровий діабет.

1981 - Надійшли у продаж перші автоматичні синтезатори ДНК. Дозволений до застосування в США перший діагностичний набір моноклональних антитіл

1982 - Дозволено до застосування в Європі перша вакцина для тварин, отримана за технологією рекомбінантних ДНК. Перше комерційне застосування методів біотехнології для отримання інсуліну.

1983 - отримання перших рослин з використанням методів біотехнології. Для трансформації рослин застосовані гібридні "Т-плазмідні».

1988 - Видано патент США на лінію мишей з підвищеною частотою виникнення пухлин, отриману методиками генної інженерії. Створений метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

1990 - перший харчовий продукт, модифікований методом біотехнології, фермент, який застосовується при виготовленні сиру, був дозволений для використання в США. У США затверджено план випробувань генної терапії з використанням соматичних клітин людини. Офіційно розпочаті роботи над проектом "Геном людини".

1992 - адміністрація з контролю над харчовими продуктами і лікарськими препаратами постановляє, що продукти харчування, отримані з використанням біотехнологічних методик, повинні регулюватися тим же самим способом, що і отримані з використанням традиційних методик.

1994 – FLAVR SAVR помідори - перший харчовий продукт, отриманий з використанням біотехнологічних методик.

1994-1995 - Опубліковано докладні генетичні та фізичні карти хромосом людини [2, с.22].

1995 - введення в практику першого сорту сої, отриманого за допомогою біотехнології.

1996 - Щорічний обсяг продажів першого рекомбінантного білка (еритропоетина) перевищив 1 млрд. \$.

1997 - американський уряд схвалює 18 різновидів зернових, отриманих з використанням біотехнології. Клоновані ссавці з диференційованої соматичної клітини.

1999 - виведений "золотий" рис, збагачений каротином, для профілактики гіповітамінозу А у дітей, бідних країн, але (на даний час актуальність вживання підлягає гострій критиці з боку науковців).

2000 - створення Ради з питань інформації в області біотехнології. Розшифровано геном людини.

Взагалі, отримання трансгенних організмів, розвиток генно-інженерних методів, безумовно відкриває нову можливість для виживання людства як виду в екологічних умовах, що стрімко змінюються, виснаження біоресурсів. У цьому випадку зрозуміла вимушена прискорена швидкість уведення трансгенних сортів культурних рослин та видів тварин. Глобалізація екологічних змін, відсутність іншого середовища існування не залишають людству альтернативи вибору.

Також не можна ігнорувати той факт, що висловлюються побоювання про можливе горизонтальне перенесення генів від трансгенних рослин до ґрунтових мікроорганізмів. Визначено частота можливої трансформації ґрунтової бактерії *acinetobacter calcoaceticus* BD 413 ДНК трансгенних рослин при двох джерелах ДНК рослин, різних форм плазмідної ДНК з геном прс11. Не виявлені трансформації при використанні ДНК трансгенних рослин, що передбачає частоту трансформації нижче 10^{-13} трансформантів на реципієнт в оптимальних умовах. Однак, в умовах ґрунту, при зниженні концентрації ДНК, доступної бактеріям, ця частота повинна знизитися до 10^{-16} . З огляду на раніше отримані дані про обмеження у часі збереження хромосомної ДНК та неможливості визначення детерміновані властивості клітин *acinetobacter calcoaceticus* в ґрунтових умовах, отримані результати призводять до висновку про невизначувану частоту можливого поглинання рослинної ДНК цим ґрунтовим мікроорганізмом у природних умовах [1].

Однією з привабливих можливостей ДНК-технології є створення генетично модифікованих культурних рослин, стійких до рідних класів гербіцидів. В такому випадку, при застосуванні гербіцидів суцільної дії, на площі

будуть знищені всі рослини за виключенням культури, яка має генетично обумовлену стійкість до визначеного гербіциду. Це було б ідеальним варіантом контролю розвитку бур'янів.

Але будь-яку людину перш за все цікавить питання: Чи існує небезпека зміни трансгенних рослин таким чином, що вони стануть небезпечними для людини і тварин? Важко собі уявити, що уведення одного або декількох генів у вищий еукаріотичний організм, геном якого складається з десятків тисяч генів, так змінить його метаболізм, що ця рослина почне синтезувати будь-які токсичні сполуки, які не пов'язані з експресією введеного гена. Звичайно, в кожному разі внесення нового гена, одержувані трансгенні рослини повинні проходити ретельні випробування. При цьому досліджують продукти метаболізму, які кодуються внесеним геном, і тільки після цього такі трансгенні рослини повинні вивчатись у польових умовах.

І хоча обмін генів між сконструйованими трансгенними рослинами і родинними їм культурними і дикими видами, на думку більшості біотехнологів, не становить загрози для навколишнього середовища, є спроби розробки системи, повністю перешкоджаючі такому перенесенню генів. Одним з підходів до вирішення цієї проблеми є створення стерильних рослин чоловічої статі. Однак, незважаючи на свою ефективність, у даний час такий підхід обмежений невеликою кількістю видів сільськогосподарських рослин.

Висновки. Таким чином, у підсумку можна відмітити, головні аспекти для безпечного використання досягнень генної інженерії:

1. Інтеграція нового матеріалу в геном не може на теперішній час розглядатися як повністю прогнозований процес - можливий запуск подій "інсерційного" (вставочного) мутагенезу.

2. У генетично модифікованих рослин: а) модифікації, пов'язані зі збільшенням стійкості до гербіцидів та паразитам, не враховують традиційні проблеми коеволуції господаря і паразита, можливість передачі генетичного матеріалу стійкості бур'янам; б) модифікації з метою отримання фармакологічних препаратів - не враховуються не в повному обсязі досліджені наслідки для імунної системи людини і тварин зміни антигенного складу харчових продуктів; в) не враховується той факт, що широке використання генетично модифікованих рослин неминуче призводить до змін біорізноманіття у глобальному масштабі.

Крім того, в проблемі трансгенних організмів є ряд невирішених теоретичних проблем, наприклад, одна з них "сайленсінг" (виключення генів) – пасивність вбудованих генів. Вплив кількості копій або місця умонтування генів на їх експресію, рівень активності або повне виключення - лише один з механізмів явища сайленсінгу.

Інша важлива проблема трансгенних організмів - виникнення мутацій як наслідок умонтування чужорідної ДНК (Т-ДНК інсерцій). Зібрана ціла колекція Т-ДНК індукованих мутацій, що характеризуються, наприклад, зміненою будовою квітки і чоловічою стерильністю. Мутантні фенотипи з'являються з частотою до 5%. Встановлено, що у більшій частині досліджуваних рослин мутантний фенотип успадковується зчеплено з

ознакою стійкості до антибіотика канаміцину, що свідчить про інсерційну природу мутаційних процесів у результаті інтеграції чужорідна ДНК у геном рослин (1, с. 122).

Досліджувана тема, звісно розкрита не в повному обсязі, інші категорії даної теми є метою наступних досліджень.

У підсумку відмітимо, що будь-яка наука багатогранна, будь-яке дослідження має, принаймні, «дві сторони медалі». Недарма девізом екологічної конференції у Ріо-де-Жанейро (1992 р.) були надзвичайні слова: «Ми не отримали цю планету у спадщину від батьків, ми взяли її у борг у наших дітей».

Список літератури

1. Глазко В. И. (2002) Генетически модифицированные организмы: от бактерий до человека, Киев. (Genetically modified organisms: from bacteria to humans, Kiev).
2. Пирог Т.П. (2010) Загальна мікробіологія: Підруч. — 2 вид., доп . і перероб. — Київ. (Pirog T.P. (2010) General Microbiology: Handbook. - 2 form., Additional and processing, Kyiv).
3. https://genetics_dictionary.academic.ru/5455/Эндонуклеаза_АР
4. <http://health-ua.com/article/30807-vropejska-protirevmaticzna-lga-svyatku-70rchchya-osnovn-etapi-rozvitku>