

ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ БІОТЕХНОЛОГІЙ У ТВАРИННИЦТВІ ТА МЕДИЦИНІ В УКРАЇНІ

В історичному аспекті в біотехнології розрізняють традиційний і новий напрями. Останнім часом з'явився термін "новітні біотехнології".

До традиційного напрямку, зокрема, відносять мікробіологічне виробництво різних речовин (білків, амінокислот, ферментів тощо), штучне осіменіння сільськогосподарських тварин, трансплантацію ембріонів реципієнтам (схеми МОЕТ — multiple ovulation and embryo transfer).

До нової біотехнології відносять клітинну і генетичну інженерію, наприклад створення гібридом для біосинтезу моноклональних антитіл (діагностика вірусних і бактеріальних антигенів), одержання химерних ембріонів з половинок зародків різного походження, одержання зародків ссавців методом запліднення *in vitro* ооцитів, клонування тварин методом пересадження ядер у цитопласти, отримання трансгенних мікроорганізмів та тварин тощо.

До новітніх біотехнологій відносять одержання зародків ссавців *in vitro* методом мікроін'єкції поодиноких сперматозоїдів, сперматид, сперматоцитів в ооплазму ооцитів, визначення статі зародків до їхнього пересадження реципієнтам за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) або методу флуоресцентної *in situ* гібридизації хромосом із ДНК-зондами (fluorescence *in situ* hybridization — FISH), розподіл чоловічих гамет на сперматозоїди, що несуть X- або Y-хромосому, за кількістю ДНК за допомогою проточної цитометрії при проходженні спермій крізь лазерний промінь, одержання і культивування *in vitro* клітинних ліній (ембріональних стовбурових клітин, ліній соматичних клітин плодів, новонароджених та дорослих тварин), клонування зародків і тварин методом переса-

© В.Є. Кузнецов, 2001

дження ядер, отримання трансгенних тварин, ДНК-технології. Серед останніх привертають увагу ДНК-технології, спрямовані на одержання *in vitro* рекомбінантних ДНК для введення трансгена у геном реципієнта, а також ДНК-технології, що дають змогу одночасно проаналізувати велику кількість локусів — ДНК-фінгерпринтинг, варіанти полімеразної ланцюгової реакції (наприклад, RAPD-PCR, ISSR-PCR).

Досягнення біотехнологій дадуть можливість значно підвищити ефективність відтворення і селекції сільськогосподарських тварин. Нині без використання досягнень сучасної біотехнології неможливо серйозно говорити ні про створення нових (або удосконалення існуючих) порід тварин, ні про швидке розмноження видатичних фенотипів, ні про оцінку отриманих тварин. Саме біотехнології можуть найближчим часом кардинально розв'язати проблему отримання у достатній кількості якісних продуктів тваринництва.

Розгляньмо лише деякі приклади можливого (і необхідного) широкого застосування біотехнології у тваринництві.

Однією із перспективних методик щодо використання великої кількості жіночих статевих клітин генетично цінних корів і телиць є прижиттєве нехірургічне вилучення (двічі на тиждень без гормональної обробки донорів) незрілих ооцитів методом трансвагінальної пункції антральних фолікулів під контролем ультразвуку (OPU — ovum pick-up). Методика OPU у поєднанні з методикою дозрівання і запліднення *in vitro* ооцитів забезпечує отримання від одного донора значно більше зародків і телят, ніж у схемах МОЕТ. Ця біотехнологія є більш дешевою, ніж отримання ембріонів у схемах МОЕТ. Вона успішно використовується для швидкої оцінки бугаїв за якістю нащадків, забезпечує значне скорочення генераційного інтервалу та істотно впливає на ефективність селекції, відчутно підвищує роль материнського фактора в селекційному процесі порівняно із штучним осіменінням тварин та МОЕТ.

Слід відмітити, що у медицині методика запліднення яйцеклітин людини *in vitro* (екстракорпоральне запліднення) досягла значно більшого розповсюдження. Все більш широке

застосування в медицині знаходить мікроін'єкція поодиноких сперматозоїдів в ооплазму дозрілих ооцитів (ICSI — intracytoplasmic sperm injection). Ці методи ефективно використовуються для лікування чоловічого і жіночого безпліддя. Різновидом методики ICSI, яка передбачає використання еякульованих сперматозоїдів, є використання сперматозоїдів або сперматид, вилучених біопсією придатка сім'яника (MESA — microepididymal sperm aspiration) або сім'яника (TESA — testicular sperm aspiration).

У тваринництві застосування для одержання зародків *in vitro* сперматозоїдів з хвоста придатка сім'яника (свіжоотриманих, короткочасно збережених при близьконульових температурах та кріоконсервованих сперматозоїдів) дає змогу додатково використовувати цінний генетичний матеріал плідників (зокрема, бугаїв), які з ряду причин були вибракувані. Так саме у тваринництві знайде достатнє розповсюдження і методика ICSI, що дасть можливість використовувати сперматозоїди від генетично цінних бугаїв з недостатньою для штучного осіменіння кількістю сперматозоїдів. До того ж методика ICSI дає змогу відбирати морфологічно нормальні сперматозоїди, і поки саме ця методика може забезпечити використання відселекційованих за кількістю ДНК "чоловічих" та "жіночих" спермій для одержання потомства бажаної статі.

Необхідно зазначити, що вже тепер розподіл чоловічих гамет на Х- і У-сперматозоїди у скотарстві та свинарстві за кількістю ДНК є досить ефективним (90%), а цілеспрямоване отримання, наприклад, бугайців для племпідприємств, а теличок для товарних господарств має, як відомо, велике значення у тваринницькій галузі.

За бажанням пацієнтів у деяких провідних медичних інститутах та біотехнологічних центрах за допомогою FISH- або ПЛР-методів визначають стать зародків до їхнього пересадження з метою отримання потомства бажаної статі. Все ширшого розповсюдження набуває і методика визначення статі зародків у сільськогосподарських тварин перед їхньою трансплантацією реципієнтам.

Доцільно додати, що методика запліднення ооцитів *in vitro* становить великий інтерес ще і тому, що вона дає можливість здійснити діагностику генетичних захворювань або оцінку генотипу ще до трансплантації ембріона реципієнту, а це є новим кроком порівняно з пренатальною діагностикою. Наприклад, у медицині в деяких інститутах та провідних біотехнологічних центрах проводять доімплантаційну генетичну діагностику (PGD — preimplantation genetic diagnostic), метою якої є отримання генетично здорових дітей. Це здійснюється шляхом виявлення в ооцитів (аналіз першого та другого полярного тілець) або у ранніх зародків (аналіз відокремленого бластомера) хромосомних аберацій (анеуплоїдії, транслокації тощо) за допомогою FISH-методу та генних порушень, наприклад гена таласемії (спадкової генетичної анемії, яка характеризується порушенням синтезу глобіну) за допомогою ПЛР-аналізу. Немає сумнівів, що преімплантаційна генетична діагностика відкриває великі можливості її різноманітного застосування не тільки у медицині, але й у тваринництві.

Одержання генетично ідентичних монозиготних близнят у тваринництві методом мікрохірургічного поділу морул-бластоцист на половинки, четвертинки та на 1/8, або поділ більш ранніх зародків на окремі бластомери з наступним культивуванням їх *in vitro*, сприяє істотному збільшенню кількості потомства (зокрема, у великої рогатої худоби, овець, свиней), одержаного з одного ембріона або донора, та відкриває унікальну можливість використання близнят у дослідженнях "генотип-середовище". У великої рогатої худоби ймовірність отримання спонтанних монозиготних близнят становить менше 0,2%, тоді як при мікрохірургічному поділі пізніх морул і бластоцист кількість телят від одного донора збільшується практично без додаткових затрат не менш як на 60—70%.

Величезний потенціал у тваринництві має методика клонування ембріонів та тварин методом пересадження ядер у цитопласти. Це, насамперед, методика множинного клонування ембріонів методом серійних пересаджень ядер, використання для пересадження ядер ембріональних стовбурових клітин, со-

матичних клітин плодів і тварин. Отримані таким способом клони знайдуть широке застосування в селекційних програмах для швидкого розмноження кращих тварин, у тому числі з уже відомим фенотипом, забезпечать більш точну і дешеву оцінку плідників за генотипом; поряд з цим схрещування спеціалізованих клонів між собою сприятиме проявленню ефекту гетерозису. Особливого значення набуває можливість отримання у тваринництві великої кількості генетично ідентичних трансгенних клітин, зародків і тварин (клонів) для їхнього використання як у тваринництві, так і медицині.

Клонування, окрім прикладних аспектів, відкриває нові шляхи для фундаментальних досліджень. Наприклад, за висновками ряду американських дослідників, які спостерігали за шістьма клонованими теличками, клонування знижує темпи клітинного ділення порівняно із звичайними ровесницями. У медицині великі надії покладають на терапевтичне клонування — отримання ліній стовбурових клітин і їхнє використання для наступного одержання тканин та органів.

Біотехнологія отримання трансгенних тварин дасть можливість, зокрема, вивчати тканинноспецифічну регуляцію експресії генів. Також біотехнологія відкриває широкі перспективи для розвитку різних прикладних напрямів. Крім отримання тварин із швидким ростом, стійких проти захворювань, якісної продукції (наприклад, пісного м'яса), привертає увагу одержання так званих тварин-біореакторів — трансгенних сільськогосподарських тварин, отриманих з ембріонів, що містять ген людини (наприклад, гени альфа-1-антитрипсину, фактора зсідання крові IX) і разом з молоком (вівці, кози, корови, свині, кролі) виділяють фармацевтичні білки для виробництва лікувальних препаратів.

Останнім часом проводяться роботи з одержання трансгенних лабораторних тварин, як моделей різних аномалій і патологій людини. Так були одержані миші з боковим амінотрофічним склерозом і щури із підвищеним артеріальним тиском. Такі тварини є також цінним інструментом для випробування нових медичних препаратів.

Прогрес у селекції і розведенні сільськогосподарських тварин неможливий без використання молекулярно-генетичних маркерів, створених, насамперед, з використанням ПЛР. Саме із застосуванням ДНК-маркерів можна проаналізувати поліморфізм ДНК, виявити генетичну структуру порід, виконувати роботи з пошуку асоціацій між молекулярно-генетичними маркерами генів і деякими ознаками продуктивності тварин (наприклад, доведено, що з молока корів з ВВ-генотипом капа-казеїну отримують сири з більш високим вмістом білка). Велике значення ДНК-технології мають і для виявлення патогенів та носіїв шкідливих мутацій (наприклад, рецесивної мутації імунodefіциту — BLAD, *bovine leukocyte adhesion deficiency*, яка полягає у дефіциті адгезивності лейкоцитів у тварин голштинської породи, мутації в RYR-1 гені в популяціях свиней м'ясних генотипів, яка зумовлює проявлення стрес-синдрому у тварин).

Слід відмітити, що в Україні у деяких установах НАНУ та УААН на високому рівні проводяться дослідження з новітніх біотехнологій (клонування, трансгенезу, отримання зародків *in vitro* з використанням мікроманіпуляційної техніки, виявлення поліморфізму ДНК та ін.). Однак унаслідок вкрай недостатнього фінансування наукових робіт, відтоку кращих наукових кадрів у інші країни та комерційні структури, Україна поступово втрачає свої позиції в біології (і це у країні, де на світовому рівні здійснювалися важливі наукові дослідження із загальної та молекулярної біології, прикладом чого, зокрема, є і відкриття світового значення професора І.В. Смирнова щодо збереження життєздатності сперматозоїдів кролів, баранів і бугаїв після їхнього зберігання при наднизьких температурах). Відновити ж науковий потенціал (кадри, обладнання, методика, технології, ставлення до праці тощо) буде вкрай важко. Для запобігання цим негативним наслідкам необхідно, нарешті, зробити загальновідомі висновки щодо національної політики в науці.

Інститут розведення і генетики тварин УААН