

Министерство сельского хозяйства и продовольствия
Республики Беларусь

Учреждение образования
«Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины»

**Кафедра генетики и разведения сельскохозяйственных животных
им. профессора О. А. Ивановой**

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ

Учебно-методическое пособие по дисциплине «Биотехнология»
для студентов по специальности 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина»

Витебск
ВГАВМ
2018

УДК 577. 218(07)
ББК 28.070
О63

Рекомендовано к изданию редакционно-издательским советом
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная
академия ветеринарной медицины»
от 08.02.2018 г. (протокол № 1)

Авторы:

кандидат биологических наук, доцент *С. Е. Базылев*, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *С. Л. Карпеня*, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *А. В. Коробко*, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *О. А. Яцына*, магистр сельскохозяйственных наук, ассистент *Е. Е. Соглаева*

Рецензенты:

кандидат ветеринарных наук, доцент *В. Н. Алешкевич*; кандидат ветеринарных наук, доцент *Е. А. Юшковский*

Основы биотехнологии в животноводстве : учеб. - метод. пособие
О63 по дисциплине «Биотехнология» для студентов по специальности
1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина» / С. Е. Базылев [и др.]. – Витебск :
ВГАВМ, 2018. – 32 с.

Учебно-методическое пособие подготовлено в соответствии с учебной программой по дисциплине «Биотехнология» для высших учебных заведений по специальности 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина». Содержит сведения о теоретических основах биотехнологии и методики выполнения практических занятий для студентов факультета ветеринарной медицины.

УДК 577. 218(07)
ББК 28.070

©УО «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной
медицины», 2018

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Тема 1. Введение в биотехнологию.....	6
Тема 2. Генная инженерия.....	9
Тема 3. Клеточная инженерия.....	13
Тема 4. Стволовые клетки и их использование.....	16
Тема 5. Методы получения и перспективы использования трансгенных животных и растений.....	18
Тема 6. Получение клонированных и химерных животных.....	21
Тема 7. Имобилизованные ферменты: источники их получения и использования.....	24
Тема 8. Экологическая биотехнология. Биобезопасность и биоэтика биоинженерных работ.....	26
Список рекомендуемой литературы.....	31

ВВЕДЕНИЕ

Биотехнология объединяет прикладные направления в микробиологии и биохимии, технологии ферментов, молекулярной генетике, репродукции человека и животных, обеспечивает дальнейшее их развитие. Эффективность селекции и воспроизводства животных, рациональное использование кормовых ресурсов, обеспечение экологически безопасных технологий животноводства во многом определяется условиями биотехнологии. На современном этапе молекулярная биология и генетика – фундаментальная основа биотехнологии, а генетическая и клеточная инженерия – центральное ядро современной биотехнологии. Изучение основ биотехнологии подразумевает получение знаний в этих направлениях.

Цель учебной дисциплины – дать теоретические знания и практические навыки по строению генов, о роли генетического конструирования – как современном методе совершенствования пород, растений и микроорганизмов, интенсификации производства и получения новых видов продуктов различного назначения, сущности биологических систем, процессов и способов их применения в животноводстве и ветеринарной медицине.

В результате изучения дисциплины выпускник должен знать:

- принципы создания и использования генетически модифицированных клеток и высокопродуктивных штаммов микроорганизмов для получения биологически активных веществ, ферментов, кормовых добавок и высококачественных продуктов, иммунологических материалов;
- способы выделения клоновых культур и клонирования животных;
- методы получения и использования ооцитов и стволовых клеток;
- методы конструирования рекомбинантных ДНК, введения генов в зародышевые клетки и получение трансгенных животных;
- биотехнологические способы производства экологически чистых источников энергии, переработки твердых отходов, продуктов различного назначения;

уметь:

- рационально использовать, получаемые биотехнологическим путем кормовые белковые и ферментные препараты, организовать в хозяйстве простейшую переработку корма для обогащения белком из одноклеточных организмов (или получение белка с помощью микробного синтеза);
- использовать другие доступные биотехнологические методы для повышения молочной и мясной продуктивности, плодовитости животных и защиты окружающей среды;

владеть:

- способностью определить наиболее подходящий продукт, получаемый биотехнологическим путем, для улучшения продуктивности и репродуктивной способности животных или в терапевтических целях и для повышения общей резистентности организма;
- умением грамотно оценить возможности сельскохозяйственной организации в использовании современных методов применения и утилизации биомассы, растительных отходов и навоза для получения биогаза, а также других источников энергии (биотоплива и др.);
- способностью проведения экспериментов в различных технологических условиях, методами обработки результатов исследований, системным и сравнительным анализом;

В соответствии с учебным планом учреждения высшего образования по спе-

специальности 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина» на изучение учебной дисциплины «Биотехнология» отводится 70 часов (10 семестр), из них 34 аудиторных часа. Распределение аудиторного времени по видам занятий: лекции – 18 часов, практические – 16 часов.

В соответствии с учебным планом учреждения высшего образования по специальности 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина» ССПВО на изучение учебной дисциплины «Биотехнология» отводится 70 часов (9 семестр), из них 16 аудиторных часов. Распределение аудиторного времени по видам занятий: лекции – 8 часов, практические – 8 часов. Формы текущей аттестации по учебной дисциплине – зачет (2 зачетные единицы).

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

Тема 1. ВВЕДЕНИЕ В БИОТЕХНОЛОГИЮ

Цель занятия: изучить роль биотехнологии в ускорении научно-технического прогресса, ознакомиться с задачами, основными направлениями и перспективами развития биотехнологии в Республике Беларусь.

Время: 2 часа.

Литература: 1, 2, 3, 5.

Контрольные вопросы:

1. Понятие о биотехнологии, история ее возникновения и развития.
2. Основные направления и задачи биотехнологии. Связь биотехнологии с другими дисциплинами.
3. Достижения биотехнологии в различных отраслях человеческой деятельности.
4. Экономические и коммерческие аспекты биотехнологии. Приоритетные направления биотехнологии и мировой уровень. Развитие биотехнологии в Республике Беларусь.

Теоретическая часть

Термин «**биотехнология**» был введен в 1917 г. венгерским инженером **Карлом Эреки** при описании процесса крупномасштабного выращивания свиней с использованием в качестве корма сахарной свеклы. По определению Эреки, биотехнология – это «**все виды работ, при которых из сырьевых материалов с помощью живых организмов производятся те или иные продукты**».

Однако этот термин в те годы не получил широкого распространения. Только в 1961 г. к нему вновь вернулись после того, как шведский микробиолог **Карл Герен Хеден** порекомендовал изменить название научного журнала «Journal of Microbiological and Biochemical Engineering and Technology» (Журнал микробиологической и химической инженерии и технологии), специализирующегося на публикации работ по прикладной микробиологии и промышленной ферментации, на «Biotechnology and Bioengineering» (Биотехнология и биоинженерия).

Термин «**биотехнология**» включает составляющие «биос», «техне», «логос» греческого происхождения (от греч. «биос» – жизнь, «техне» – искусство, мастерство, умение и «логос» – понятие, учение).

Биотехнология – наука, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач, а также возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом геной инженерии.

До 1971 года термин «биотехнология» использовался, большей частью, в пищевой промышленности и сельском хозяйстве. С 1970 года ученые используют термин в применении к лабораторным методам, таким как использование рекомбинантной ДНК и культур клеток, выращиваемых *in vitro*.

Объектами биотехнологии служат многочисленные представители групп живых организмов – микроорганизмы (вирусы, бактерии, дрожжи и др.), растения, животные, а также изолированные из них клетки и субклеточные структуры (органеллы).

Биотехнология включает многие традиционные процессы, давно известные и

давно используемые человеком. Это пивоварение, хлебопечение, изготовление вина, производство сыра, приготовление многих восточных пряных соусов, а также разнообразные способы утилизации отходов. Во всех перечисленных процессах использовались биологические объекты (пусть даже без достаточных знаний о них), и все эти процессы на протяжении многих лет совершенствовались.

Основные направления биотехнологии:

1. **Генная инженерия** – это разделы молекулярной и клеточной биологии, которые позволяют *in vitro* изменять структуру генов, создавать новые гены или конструировать химерные гены.

2. **Клеточная инженерия** – это совокупность методов, используемых для конструирования новых клеток. Включает культивирование и клонирование клеток на специально подобранных средах, гибридизацию клеток, пересадку клеточных ядер и другие микрохирургические операции по «разборке» и «сборке» (реконструкции) жизнеспособных клеток из отдельных фрагментов.

3. **Эмбриогенетическая инженерия** – это активная перестройка генома животных путем вмешательства в их развитие на самых ранних стадиях онтогенеза. Перестройка генома – это реконструкция эмбрионов путем клонирования, слияния или непосредственной инъекции в их ядра чужеродной ДНК. Однако получение эмбриональных клонов, химер или трансгенных животных возможно лишь в результате успешной трансплантации реконструированного эмбриона.

Основные направления эмбриогенетической инженерии: а) клонирование животных; б) получение генетических химер; в) получение трансгенных животных; г) трансплантация эмбрионов.

4. **Традиционная биотехнология** – это использование анаэробных процессов для производства вина, силоса, получение молочнокислых продуктов, спирта и т.д.

5. **Инженерная энзимология** – это применение микробиологических, физико-химических методов для производства ферментов – специфических катализаторов белковой природы.

Задание 1. Изучить таблицу «История развития молекулярной биотехнологии (Б. Глик, Дж. Пастернак, 2002)». Выписать значительные даты.

Задание 2. Изучить перспективные направления биотехнологии в снабжении человечества продовольствием (рисунок 1).

Задание 3. Заполнить таблицу области применения биотехнологии в различных отраслях.

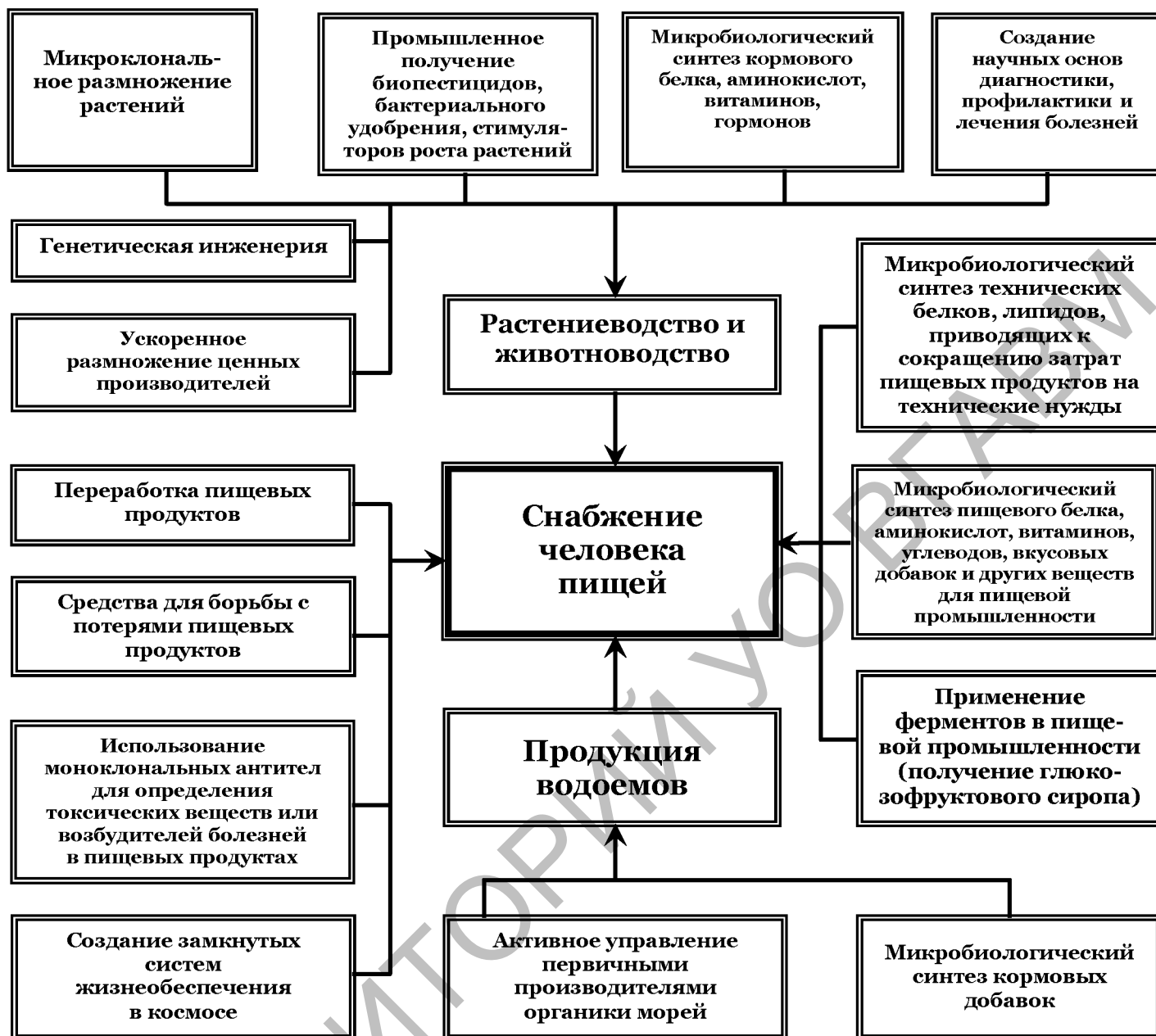


Рисунок 1 – Перспективные направления биотехнологии в снабжении человечества продовольствием

Задание 4. Просмотр видеофильма «Экскурс в биотехнологию». Решение кроссворда «Введение в биотехнологию».

Тема 2. ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Цель занятия: изучить основные задачи генной инженерии, ее связь с другими науками, узнать основные способы получения генов.

Время: 2 часа.

Литература: 3, 4, 6, 7.

Контрольные вопросы:

1. Понятие о генной (генетической) инженерии, история развития.
2. Основные задачи генной инженерии на современном этапе.
3. Получение генов (химический и ферментативный синтез, выделение генов с помощью ферментов рестрикции и трансдуцирующих фагов).
4. Рестриктазы и их значение.
5. Рекомбинантная ДНК. Векторы и их использование для переноса генетического материала.
6. Методы введения генов в бактериальные клетки. Экспрессия чужеродных генов.
7. ПЦР – полимеразная цепная реакция. Амплификация фрагментов ДНК.

Теоретическая часть

Обычно употребляют два названия данного научного направления – генетическая инженерия и генная инженерия, являющиеся как бы синонимами. Однако их смысловое содержание неодинаково.

Генетическая инженерия – это наука о генетическом конструировании новых форм биологически активных ДНК и генетически новых форм клеток, выполненных с помощью искусственных приемов переноса генов (технологии рекомбинантных ДНК, генетической трансформации, гибридизации клеток).

Речь идет о конструировании молекулярных генетических систем вне организма с последующим введением их в живой организм. При этом **рекомбинантные ДНК** становятся составной частью генетического аппарата реципиентного организма и сообщают ему новые уникальные генетические, биохимические, а затем и физиологические свойства, а также свойства, полезные для человека.

Под **генной инженерией** подразумевают целый комплекс технологий, методов, процессов, посредством которых получают рекомбинантные (созданные благодаря биотехнологии на основе ДНК) РНК и ДНК, а также гены из клеток организмов, осуществляют различные манипуляции с генами и вводят их в другие организмы. **Генная инженерия не является наукой** – это только набор инструментов, использующий современные достижения клеточной и молекулярной биологии, генетики, микробиологии и вирусологии.

Датой рождения генетической инженерии как самостоятельной дисциплины следует считать **1972 год**, когда в Стенфордском университете (США) ученый **Пол Берг** с сотрудниками опубликовали работу о создании искусственным путем первой **рекомбинантной ДНК**. Эта молекула состояла из фрагментов ДНК, взятых у обезьяньего вируса **SV40**, бактериофага **λ** с галактозным опероном *Escherichia coli*.

Выделяют следующие методы получения генов:

1. Химико-ферментативный синтез.
2. Ферментативный синтез.
3. Рестрикционный.

Области применения генной инженерии:

1. Получение генно-инженерных вакцин.
2. Получение искусственных белков с заданными свойствами.
3. Получение гормонов, ферментов.
4. Диагностика и лечение заболеваний.

Рестриктазы (специфические эндонуклеазы) – это ферменты, узнающие и атакующие определенные последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК (сайты рестрикции). Процесс «разрезания» молекулы ДНК называется **рестрикцией**. Рестриктазы были открыты в 1968 году (рисунок 2).

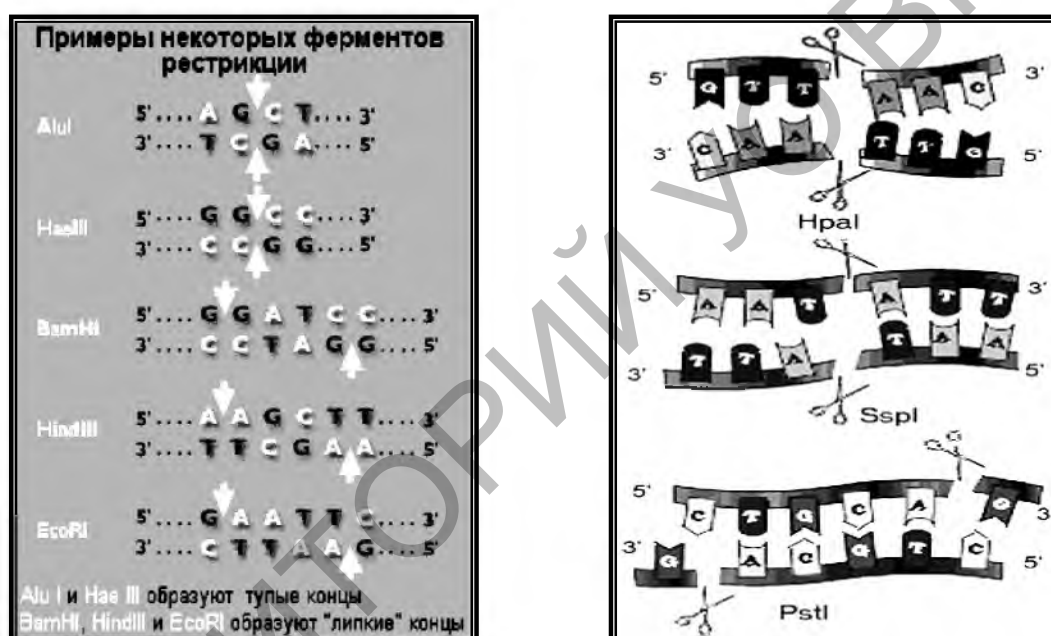


Рисунок 2 – Примеры некоторых ферментов рестрикции (по Н. Кузьминой)

Следует отметить, что ферменты, применяемые в генетической инженерии, лишены видовой специфичности, поэтому экспериментатор может сочетать в единое целое фрагменты ДНК любого происхождения в избранной им последовательности. Это позволяет преодолевать установленные природой видовые барьеры и осуществлять межвидовое скрещивание.

В 1973 году Гамильтон Смит и Даниэль Натанс предложили номенклатуру рестриктаз, включающую следующие пункты:

1. Аббревиатура названия каждого фермента является производной от названия микроорганизма, содержащего данную метилазно-рестриктазную систему. Обозначают рестриктазы по следующему правилу: к первой прописной букве названия рода добавляют две первые строчные буквы вида (например, фермент, выделенный из *Escherichia coli*, обозначают как **Eco** или из *Haemophilus influenzae* – **Hin**, *Streptomyces albus* – **Sal** и т.д.). В случае необходимости добавляют обозначение штамма (например, Eco B).

2. Различные системы рестрикции – модификации, кодируемые одной бакте-

риальной клеткой, обозначают римскими цифрами: **Hin I**, **Hin II**, **Hin III** (*Haemophilus influenzae*).

3. **Рестриктазы** обозначают буквой **R** (R Hin III), **метилазы** – **M** (M Hin III).

Векторами называются молекулы ДНК, способные акцептировать чужеродную ДНК и обеспечивающие ее репликацию, экспрессию и/или трансформацию (перенос в другие организмы). Таким образом, вектор позволяет осуществить введение в клетку дополнительной генетической информации.

В настоящее время создано большое число векторов, и по профилю использования их можно разделить на несколько типов.

1. **Векторы для клонирования.** Используют для увеличения количества (амплификации) фрагмента ДНК, встроенного в такой вектор посредством репликации. В этом качестве наиболее часто используются бактериальные плазмиды и фаги.

2. **Экспрессионные векторы.** Их используют для анализа конкретных последовательностей генов и их белковых продуктов, а также наработки конкретного белка.

3. **Векторы для трансформации.** Используют для введения чужеродного фрагмента ДНК в геном реципиента. Обычно такие векторы содержат специфические последовательности, способствующие интеграции в геном.

В качестве векторов используют, как правило, плазмиды, космиды (рисунок 3), бактериофаги, мобильные элементы, вирусы животных.

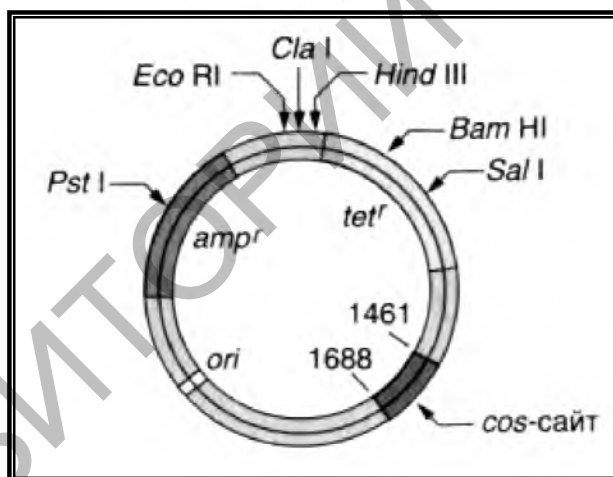


Рисунок 3 – Типичная космида (Вместо фрагмента с 1461 нуклеотида по 1688 встроен участок генома фага λ) (по С.Б. Бокуть и др.)

Требования, которые предъявляют к векторным молекулам:

1. Вектор должен реплицироваться в определенных клетках за счет имеющейся последовательности точки начала репликации.

2. Вектор должен содержать уникальные сайты рестрикции для нескольких рестриктаз, что делает возможным встроить в него фрагмент чужеродной ДНК. При этом места разрезания и введения другой ДНК не должны влиять на репликацию вектора.

3. Вектор должен обладать определенной емкостью и не отвергать встроенный фрагмент.

4. Должен содержать специфические для данной клетки промоторы и терминаторы транскрипции.

5. Вектор должен содержать последовательность маркерного гена, облегчающего селекцию клеток, несущих векторную конструкцию.

Методы введения генов в бактериальные клетки:

1) трансформация; 2) трансфекция; 3) трансдукция; 4) электропорация.

Молекула рекомбинантной ДНК представляет собой соединенные в бесклеточной системе два компонента: фрагмент клонируемой («чужеродной») ДНК, содержащий генетические элементы и **вектор**, обеспечивающий механизм репликации и экспрессии. Рекомбинантными ДНК называют молекулы ДНК, полученные вне живой клетки путем соединения природных или синтетических фрагментов ДНК с молекулами, способными реплицироваться в клетке (рисунок 4).

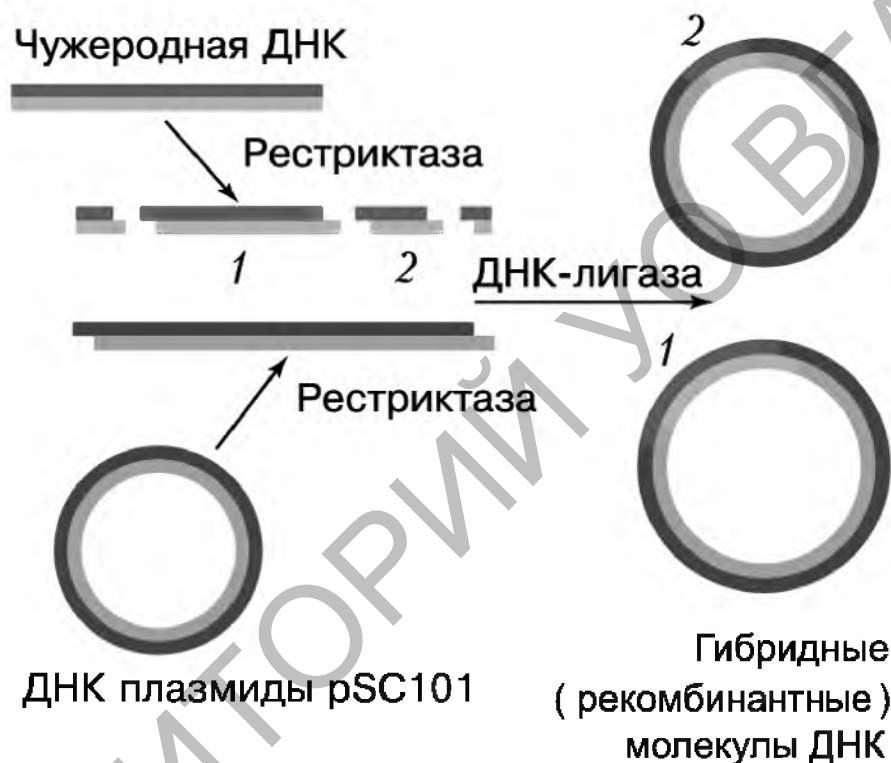


Рисунок 4 – Схема получения рекомбинантной ДНК (по С. Коэну)

Ключевыми в этом определении являются слова «фрагмент ДНК» и «объединение *in vitro*», что указывает на сущность генетической инженерии и ее отличие от всех остальных методов получения гибридных (или химерных) организмов, таких как генетическая селекция, эмбриональная инженерия и т.д.

Задание 1. Найти из таблицы рестриктазу, которая может разрезать молекулу ДНК в определенной точке (по индивидуальным заданиям).

Задание 2. Указать, на каком участке молекулы ДНК данная рестриктаза произведет разрыв (по индивидуальным заданиям).

Задание 3. Зарисовать схему получения рекомбинантной ДНК (рисунок 4).

Задание 4. Просмотр видеофильма «Чудеса науки – генная инженерия». Решение кроссворда «Генная инженерия».

Тема 3. КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Цель занятия: усвоить методы культивирования и гибридизации клеток, способы получения гибридом.

Время: 2 часа.

Литература: 3, 4, 6, 7.

Контрольные вопросы:

1. История развития и области применения клеточной инженерии.
2. Микроорганизмы, культуры клеток, тканей, органов растений и животных – основа биологических систем и биотехнологического процесса.
3. Понятие о культуре клеток. Подбор и селекция продуцентов БАВ.
4. Сущность гибридизации соматических клеток. Гибридная технология.
5. Использование моноклональных антител (МКА). Клеточная терапия.

Теоретическая часть

Под **клеточной инженерией** понимают метод конструирования клеток нового типа на основе их культивирования, гибридизации и реконструкции.

Главным звеном биотехнологического процесса, определяющим его сущность, является **клетка**. Именно в ней синтезируется целевой продукт. Клетка представляет собой миниатюрный химический завод, работающий с колоссальной производительностью, с предельной согласованностью и по заданной программе. В ней ежеминутно синтезируются сотни сложнейших соединений, включая гигантские биополимеры, в первую очередь белки.

Культура клеток – метод сохранения жизнеспособности клеток вне организма в искусственно созданных условиях жидкой или плотной питательных сред.

Для культивирования могут быть использованы клетки опухолевых тканей, клетки различных органов, лимфоциты, фибробласты, эмбрионы, клетки почек животных и человека, раковые клетки человека и т.д.

Культуры, приготовленные непосредственно из тканей организма, называются **первичными**. В большинстве случаев клетки первичной культуры можно использовать для получения **вторичных культур**, которые можно последовательно перевивать в течение недель и месяцев. Многие клетки при этом сохраняют признаки дифференцировки тех тканей, из которых они были получены.

Как продуценты различных веществ используются **микроорганизмы**. К ним предъявляют ряд требований, важных с точки зрения технологии производства.

Требования, предъявляемые к микроорганизмам:

1. Должны расти на дешевых и доступных субстратах.
2. Обладать высокой скоростью роста биомассы и давать высокую продуктивность целевого продукта при экономичном потреблении питательного субстрата.
3. Проявлять направленную биосинтетическую активность при минимальном образовании побочных продуктов.
4. Быть генетически однородными, устойчивыми к посторонней микрофлоре.
5. Быть безвредными (не обладать патогенными свойствами) для людей и окружающей среды.
6. Целевой продукт биосинтеза должен иметь экономическую и народнохозяйственную ценность.

В настоящее время в промышленности применяют три вида штаммов:

1) природные штаммы; 2) штаммы, измененные в результате индуцированных мутаций; 3) штаммы, полученные методами генной или клеточной инженерии.

Практическое применение культуры клеток животных:

1. Использование в научно-исследовательской работе.

2. Получение вирусных препаратов.

3. Создание материала клеток при трансплантации.

4. Синтез физиологически активных веществ.

5. Получение иммунорегулирующих, неспецифических активных веществ, медицинских препаратов.

6. Изучение токсичности препаратов, применяемых в медицине, ветеринарии и биологических исследованиях.

Гибридизация соматических клеток – это слияние соматических клеток, лишенных оболочек, и получение гибридных клеток с хромосомными наборами неродственных видов.

Предположение о том, что соматические клетки могут сливаться друг с другом, было высказано еще в начале XIX века в связи с открытием многоядерных клеток. Гибриды соматических клеток были открыты лишь в 60-х годах нашего столетия. В 1960 г. Барский с сотрудниками сообщили о выделении линии гибридных клеток. Гибридные клетки были получены путем смешения двух линий, выделенных ранее из 1 клетки мышинной саркомы. Исходные линии отличались по числу и морфологии хромосом, а также по способности к образованию опухоли при введении их мышам. Гибридные клетки содержали число хромосом, отличное от исходных клеточных линий, а также содержали поверхностные антигены клеток обеих родительских линий.

Метод слияния соматических клеток открывает перед биотехнологией значительные перспективы:

1. Возможность скрещивания филогенетически отдаленных форм живого. Путем слияния клеток растений получены плодовые, фенотипические нормальные межвидовые гибриды табака, картофеля, капусты с турнепсом.

2. Получение асимметричных гибридов, несущих полный набор генов одного из родителей и частичный набор другого родителя. Асимметричные гибриды бывают устойчивее, плодovitее и жизнеспособнее, чем симметричные, несущие полные наборы генов родительских клеток.

3. Получение гибридов путем слияния трех и более родительских клеток.

4. Гибридизация клеток, несущих различные программы развития. В этом случае получают так называемые **гибридомы** (наследующие от нормальной родительской клетки способность к синтезу полезного соединения, а от злокачественной – способность к быстрому неограниченному росту).

Общая схема получения гибридом включает следующие этапы:

1. Получение мутантных опухолевых клеток (плазмоцитомы), погибающих при последующей селекции гибридомных клеток (рисунок 5).

2. Получение лимфоцитов (АОК) – продуцентов антител к заданным антигенам. Животное (мышь, реже – крысу, кролика) иммунизируют введением антигена в брюшную полость, внутривенно или подкожно. Для получения человеческих гибридом прибегают к иммунизации лимфоцитов человека в культуре ткани, что является более сложной и многоэтапной процедурой.

3. Слияние лимфоцитов с опухолевыми клетками при помощи полиэтиленг-

ликоля, реже – вируса Сендай, а также электрического поля.

4. Скрининг (селективный отбор) гибридных клеток. Известно, что имеется два пути синтеза предшественников нуклеиновых кислот: основной и резервный. **Основной** – это путь новообразования нуклеотидов (звеньев, входящих в состав нуклеиновых кислот). Этот путь включает несколько этапов и блокируется противоопухолевым препаратом **аминоптерин** (А). Однако клетки не гибнут от этого препарата, поскольку обладают **резервным путем** – способностью синтезировать нуклеотиды и нуклеиновые кислоты, реутилизируя продукты распада ранее синтезированных нуклеиновых кислот: **гипоксантина (Г)** и **тимидина (Т)**. Добавление Г и Т в питательную среду, содержащую А, снимает токсический эффект последнего.

5. Проверка способности гибридных клеток продуцировать моноклональные антитела к заданному антигену.

6. Клонирование гибридных клеток, прошедших проверку на образование моноклональных антител, с постоянным контролем на стабильность их иммунных свойств.

7. Массовое культивирование гибридных клеток, выделение, концентрирование и очистка продуцируемых антител.

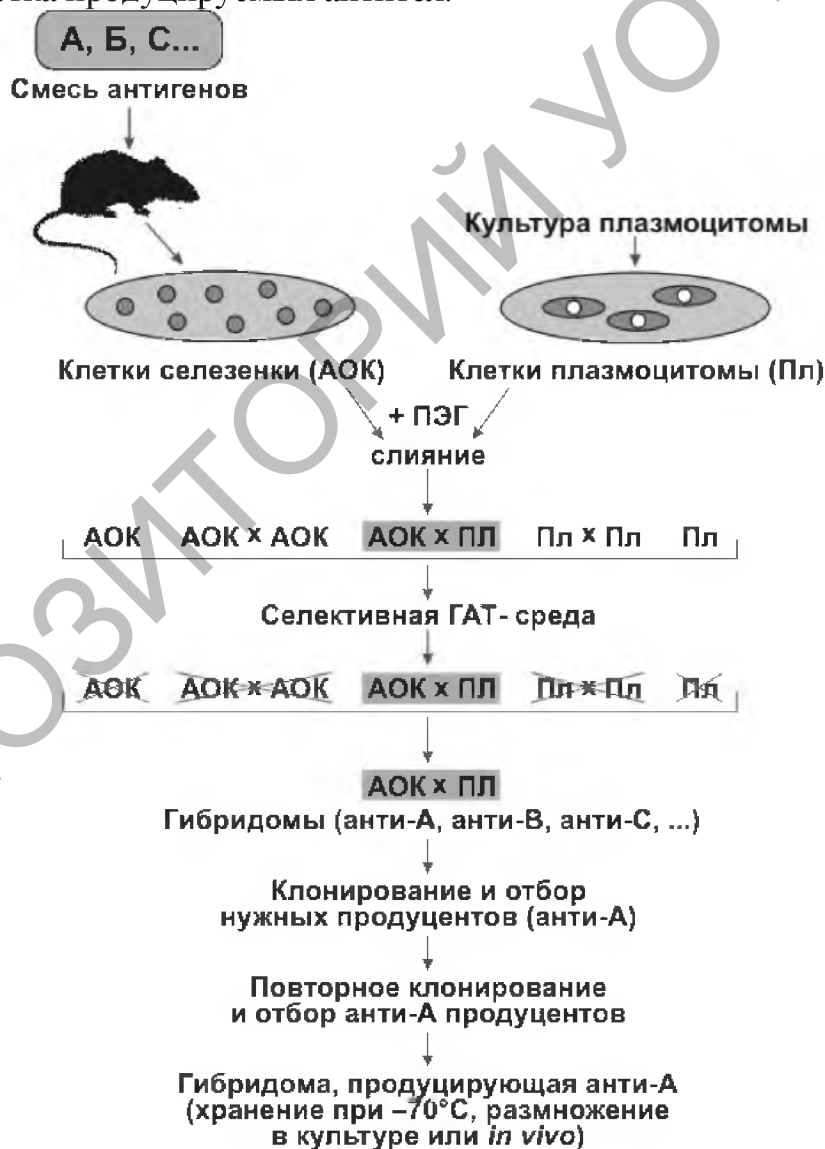


Рисунок 5 – Схема получения гибридом
(<https://biomolecula.ru/articles/monoklonalnye-antitela>)

Условные обозначения рисунка 5: А, В, С – многокомпонентная смесь антигенов, использованная для иммунизации; АОК – антителообразующие клетки селезенки; Пл – клетки плазмцитомы, не растущие в селективной ГАТ-среде; ПЭГ – полиэтиленгликоль; ГАТ – среда, содержащая гипоксантин, аминоптерин, тимидин; анти-А, анти-В, анти-С – моноклональные антитела соответственно к А-, В-, С-антигенам.

Использование моноклональных антител (МКА):

1. Совершенствование диагностики инфекционных, аутоиммунных, аллергических, врожденных и других заболеваний. 2. Изучение эпидемиологии заболеваний. 3. Усовершенствование вакцин. 4. Раскрытие механизма дифференцировки тканей. 5. Изучение патогенеза и иммунологии заболеваний. 6. Расшифровка механизма иммунного ответа. 7. Лечение инфекционных и онкологических заболеваний. 8. Определение пола у крупного рогатого скота.

Задание 1. Записать основные термины, которые используются в клеточной инженерии.

Задание 2. Изучить использование моноклональных антител.

Задание 3. На основании схемы получения гибридом (рисунок 5) записать основные этапы их получения.

Задание 4. Просмотр видеофильма «На пути к конструированию клетки». Решение кроссворда «Клеточная инженерия».

Тема 4. СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Цель занятия: освоить классификацию, свойства и область применения стволовых клеток.

Время: 2 часа.

Литература: 2, 5, 6, 7.

Контрольные вопросы:

1. Понятие о стволовых клетках, их особенности.
2. Классификация стволовых клеток.
3. Свойства стволовых клеток. Источники стволовых клеток.
4. Применение стволовых клеток.

Теоретическая часть

Стволовые клетки – недифференцированные (незрелые) клетки, имеющиеся у многих видов многоклеточных организмов.

Стволовые клетки способны самообновляться, образуя новые стволовые клетки, делиться посредством митоза и дифференцироваться в специализированные клетки, то есть превращаться в клетки различных органов и тканей.

В общем виде можно сказать, что стволовые клетки – это структуры, обладающие способностью трансформироваться во взрослые и функционально активные клетки различных органов. Из стволовых клеток может вырасти и сформиро-

ваться и клетка печени (гепатоцит), и почки (нефроцит), и сердца (кардиомиоцит), и сосуда, и кости, и хряща, и матки, и яичника и т.д. То есть, по своей сути, стволовые клетки – это своеобразные резервные запасы, из которых по мере необходимости будут формироваться новые клетки различных органов взамен погибших или поврежденных.

Развитие многоклеточных организмов начинается с одной стволовой клетки, которую принято называть зиготой. В результате многочисленных циклов деления и процесса дифференцировки образуются все виды клеток, характерные для данного биологического вида.

В человеческом организме таких видов клеток более 220. Этапы формирования эмбриональных стволовых клеток представлены на рисунке 6.

Рождение стволовых клеток

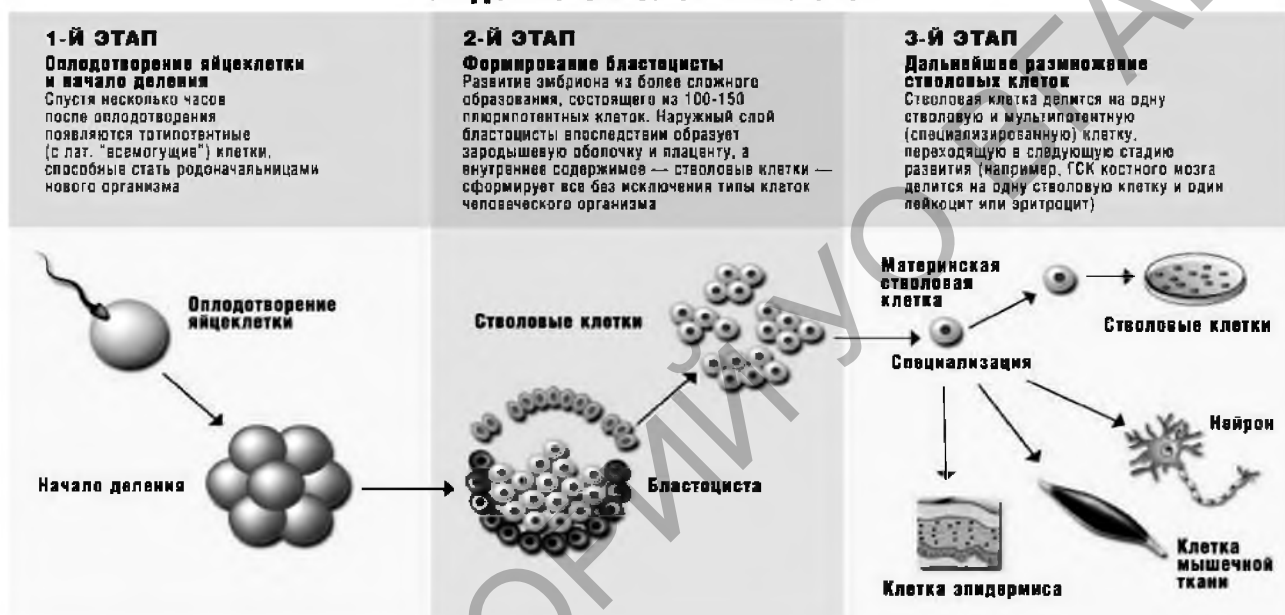


Рисунок 6 – Формирование стволовых клеток (по В. Плисову)

Стволовые клетки сохраняются и функционируют и во взрослом организме, благодаря им может осуществляться обновление и восстановление тканей и органов. Тем не менее в процессе старения организма их количество уменьшается.

Когда происходит созревание стволовых клеток, то они проходят несколько стадий. В результате в организме имеется ряд популяций стволовых клеток разной степени зрелости. В нормальном состоянии – чем более зрелой является клетка, тем меньше вероятность того, что она сможет превратиться в клетку другого типа.

Стволовые клетки применяются для лечения и профилактики широкого спектра заболеваний, используются в геномной и клеточной инженерии. Обнаружить стволовые клетки можно по определению специфических белков, с помощью иммуногистохимического метода.

Задание 1. Переписать классификацию стволовых клеток.

Задание 2. Записать свойства стволовых клеток.

Задание 3. Просмотр видеофильма «Что такое стволовые клетки?».

Тема 5. МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТРАНСГЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И РАСТЕНИЙ

Цель занятия: освоить методику трансгеноза – переноса генов и получения трансгенных животных.

Время: 2 часа.

Литература: 3, 4, 5, 6, 7.

Контрольные вопросы:

1. Дать определение следующим понятиям: «перенос чужеродных генов», «трансген», «трансгенный продукт», «трансгеноз», «трансгенное животное».
2. Способы получения трансгенных животных.
3. Перспективы использования трансгенных животных.
4. Трансгенные растения, методы получения и перспективы использования.

Теоретическая часть

Идея генетического изменения животных путем введения генов в оплодотворенные яйцеклетки была реализована на практике в 1980-х годах. Как и во многих других новых областях науки, для упрощения обмена информацией между учеными был введен ряд новых терминов.

1. **Перенос генов** – это пересадка *in vitro* рекомбинантной конструкции гена (рекомбинантной ДНК) в клетки другого животного вне зависимости от его видовой принадлежности.

2. Если рекомбинантная конструкция гена встроилась в геном другого животного, то такой ген обозначается как **трансген**.

3. Кодированный трансгеном белок носит название **трансгенного продукта**.

4. Животное, которое содержит в своем геноме трансген (от других видов животных или человека), называется **трансгенным**.

5. Под **трансгенозом** понимают процесс переноса и интеграции чужеродной генетической информации в геном животных.

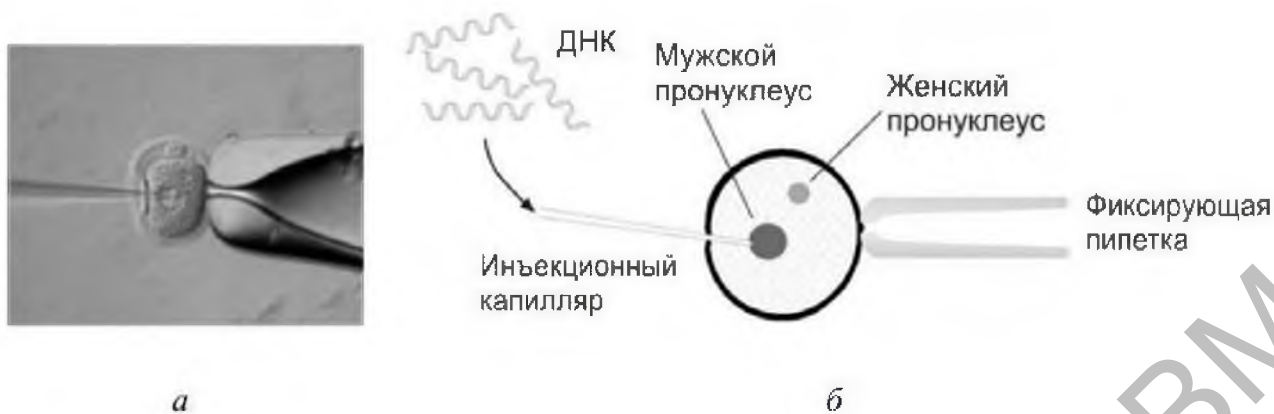
Гены, которые используются для переноса, выделяют из **определенного генома** или **синтезируют искусственно**.

В мировой практике уже получены трансгенные животные, продуцирующие с молоком целый ряд лекарственных веществ:

1. Факторы свертываемости крови против гемофилии.
2. Тканевой плазменно-генный активатор, применяемый при лечении венозных тромбов и поражении легочной артерии.
3. Человеческий белок С для предотвращения образования тромбов.
4. Моноклональные антитела для лечения различных форм рака.

Методы переноса генов:

1. Микроинъекция рекомбинантной (экзогенной) ДНК в мужской пронуклеус зиготы (рисунок 7).



Микроинъекция экзогенной ДНК в пронуклеус оплодотворенной яйцеклетки млекопитающих под микроскопом (а) и схема эксперимента (б)

Рисунок 7 – Микроинъекция рекомбинантной ДНК в мужской пронуклеус оплодотворенной яйцеклетки (по Н.А. Воинову, Т.Г. Воловой)

2. Использование ретровирусов в качестве векторов (рисунок 8).

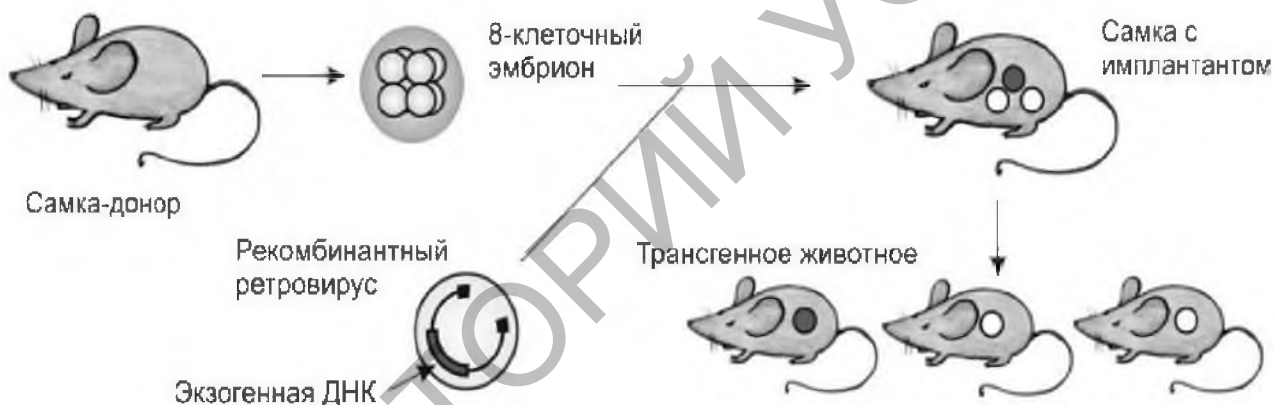


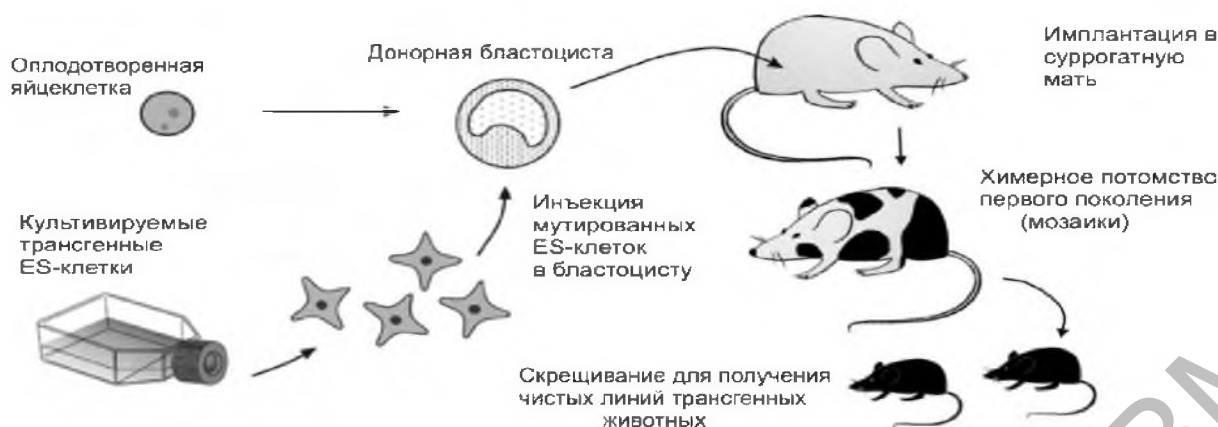
Схема получения линии трансгенных мышей с использованием ретровирусных векторов

Рисунок 8 – Введение ДНК с помощью векторов на основе ретровирусов (по Н.А. Воинову, Т.Г. Воловой)

3. Использование трансформированных эмбриональных стволовых клеток (рисунок 9).

Получены мыши с генами гормона роста крысы, ген был введен в виде раствора и состоял из 353 нуклеотидов, вектором была рекомбинантная плазмида. В результате был получен 21 потомок, из которых у 7 мышей был обнаружен чужеродный ген, живая масса их была в 1,8 раза больше, чем обычных.

Также получены трансгенные овцы, кролики, коровы и свиньи путем введения гена гормона роста человека. В России создано стадо трансгенных овец с генами крупного рогатого скота, которые продуцируют с молоком **химозин** крупного рогатого скота. Этот фермент применяется при производстве твердого сыра. Обычно его получали из экстракта ткани желудка новорожденных телят.



Получение трансгенных мышей методом реконструкции эмбрионов с помощью генетически модифицированных эмбриональных стволовых клеток (ES-клеток). ES-клетки получают из внутренней клеточной массы бластоцисты мыши

Рисунок 9 – Использование трансформированных эмбриональных стволовых клеток (по Н.А. Воинову, Т.Г. Воловой)

Основные направления исследований для получения трансгенных животных:

1. Создание новых пород с повышенным содержанием некоторых компонентов.
2. Создание животных, которые способны синтезировать несвойственные их виду белки (**например**, свиньи, которые могут продуцировать интерферон человека).
3. Создание трансгенных животных – доноров при трансплантации органов человеку.

Трансгенными называют растения, в которых успешно функционирует ген или гены, пересаженные из других видов растений или животных.

В настоящее время при создании трансгенных растений преследуют следующие цели:

1. Повышение урожайности.
2. Сокращение сроков вегетации и получение нескольких урожаев в год (в России созданы ремонтантные сорта клубники, дающие два урожая за лето).
3. Приобретение токсичности для некоторых видов вредителей (в России созданы сорта картофеля, листья которого являются остротоксичными для колорадского жука и его личинок).
4. Повышение устойчивости к неблагоприятным климатическим условиям (**например**, к засухе путем переноса в геном растения гена скорпиона).
5. Приобретение растениями способности синтезировать определенные белки животного происхождения (**например**, в Китае получен сорт табака, синтезирующий лактоферрин человека).
6. Получение растений со свойствами «живых вакцин».

Методы получения трансгенных растений:

1. **Трансформация растительных протопластов.** Осуществляется благодаря комбинации методик кальциевой преципитации ДНК и слияния протопластов.

Для трансформации может быть использован практически любой ДНК-вектор.

2. Культуру протопластов на начальной стадии ее роста заражают агробактериями, которые используют в качестве векторов.

3. **Микроинъекции ДНК.** Аналогичен методу микроинъекций животных клеток. Этот метод можно рассматривать как наиболее универсальный. Эффективность трансформации растительных клеток – 10-20% независимо от типа вектора.

4. **Электропорация.** Метод основан на повышении проницаемости биомембран за счет действия импульсов высокого напряжения. В результате молекулы ДНК проникают в клетки через поры в клеточной мембране.

5. **Упаковка в липосомы.** Это один из методов, позволяющих защитить экзогенный генетический материал от разрушения нуклеазами растительной клетки. Липосомы – сферические тельца, оболочки которых образованы фосфолипидами.

6. **Метод биологической баллистики.** Это один из самых эффективных методов трансформации однодольных растений. Метод основан на напылении ДНК-вектора на мельчайшие частички вольфрама, которыми затем бомбардируют клетки. Бомбардировка осуществляется с помощью баллистической пушки за счет перепада давления. Часть клеток гибнет, а выжившие клетки трансформируются, затем их культивируют и используют для регенерации растений.

Задание 1. Зарисовать схемы получения трансгенных животных (рисунки 7, 8 и 9).

Задание 2. Записать методику получения трансгенных животных (индивидуальные задания).

Задание 3. Просмотр видеofilьма «Трансгенные козы в Республике Беларусь». Решение кроссворда «Трансгенные животные».

Тема 6. ПОЛУЧЕНИЕ КЛОНИРОВАННЫХ И ХИМЕРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Цель занятия: изучить основные направления эмбриогенетической инженерии.

Время: 2 часа.

Литература: 3, 4, 5, 6, 7.

Контрольные вопросы:

1. Понятие об эмбриогенетической инженерии, ее основные направления.
2. Методы получения клонированных сельскохозяйственных животных.
3. Перспективы использования клонированных животных.
4. Понятие о химерных животных. Методы получения химер (агрегационный и инъекционный). Межвидовые и межпородные химеры.

Теоретическая часть

Клон – это группа генетически идентичных клеток или организмов, которые получены в результате деления одной клетки-предшественника.

Исследования по клонированию были начаты не так давно. Лишь несколько десятилетий назад ученые научились выращивать из одной взрослой растительной клетки целое растение. Первые клонированные амфибии появились в 70-х годах XX столетия. В практической ветеринарии уже несколько десятилетий проводится микрохирургическое разделение ранних эмбрионов с последующей пересадкой их реципиентам. Таким образом, получение клонов животных имеет достаточно длительную историю и разработанные технологии.

В настоящее время предложено два способа клонирования живых существ:

1. **Близнецовое деление.** Суть способа состоит в разделении **бластомер**, т.е. клеток первичного эмбриона, на ранней стадии его развития (2, 4 или более клеток), поскольку эти клетки являются **тотипотентными**, т.е. способными произвести все типы клеток организма с последующей пересадкой реципиенту. Этот тип клонирования похож на естественное образование однойцевых близнецов и широко используется в современном животноводстве.

2. **Пересадка клеточного ядра** (перенос ядра соматической клетки в безъядерную яйцеклетку). Значимость открытия **I. Wilmut** и **K. Campbell** состоит не в технологии получения овцы-близнеца (создание овечки Долли в 1997 году), а в доказательстве еще одной способности клетки, а именно возможности зрелой взрослой клетки развиваться до эмбриональной стадии и продуцировать новое живое существо с тем же генетическим набором, что и у исходной клетки (рисунок 10).

В эксперименте с овечкой Долли в 277 опытах удалось получить только 29 эмбрионов, выживших более 6 дней, а до дня рождения удалось дойти только Долли. У многих клонированных животных обнаружены пороки развития.

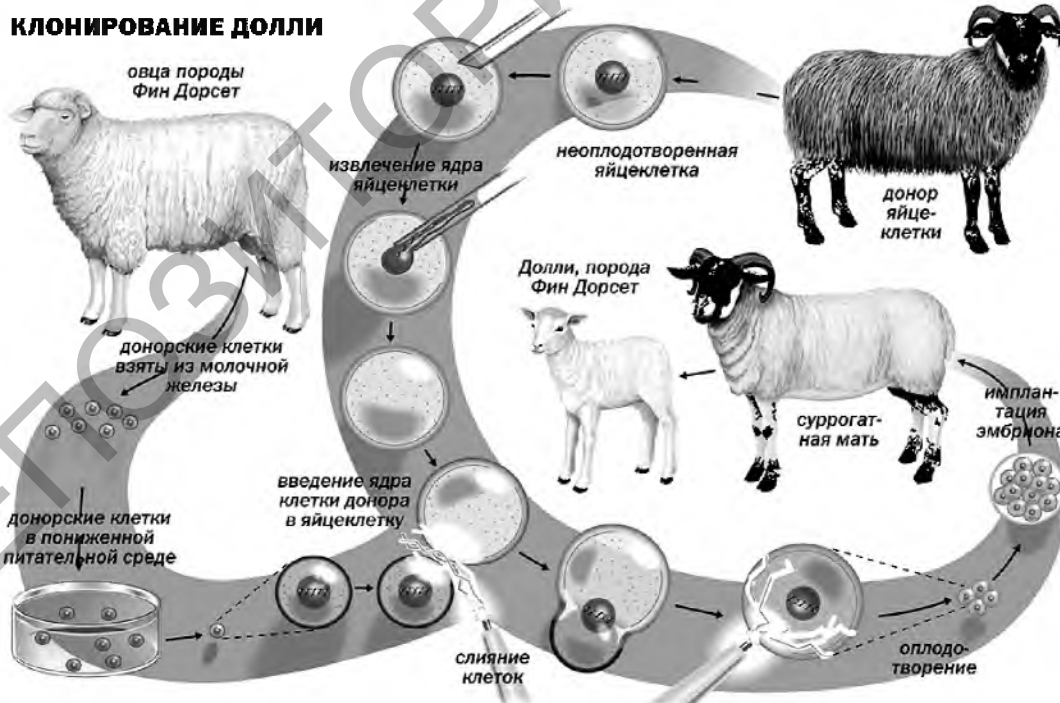


Рисунок 10 – Схема получения овцы Долли (по М. Жаровой)

В настоящее время этим методом получено достаточно большое количество клонов различных видов животных: **мыши, овцы, козы, свиньи, лошади, кошки** и др.

В организме существует множество дифференцированных тканей, которые для своего полного созревания требуют соблюдения условий, учитывающих влияние различных факторов на каждой стадии развития. Это значит, что можно легко размножить клетки одного органа или ткани. Но чтобы воспроизвести весь организм целиком, требуется учесть огромное количество факторов, чтобы не получить в результате какую-то химеру либо урода.

Работа по клонированию ведется по трем направлениям:

1. Пересадка ядер из соматических клеток в энуклеированную (безъядерную) яйцеклетку.

2. Получение гомозиготных диплоидных потомков. Если методом пересадки ядер из соматических клеток в энуклеированную зиготу получают гетерозиготных диплоидных потомков, то на основе удаления мужского или женского пронуклеуса из зиготы и последующей диплоидизации оставшегося пронуклеуса получают диплоидных потомков, полностью гомозиготных по всем генам одного из родителей.

3. Создание партеногенетических животных. Под **партеногенезом** понимают развитие эмбриона из женской гаметы без участия мужской половой клетки. Партеногенетические особи в хромосомах содержат только гены матери. Таким образом, партеногенез принимает форму бесполого размножения у животных с половым способом воспроизводства.

Химера (греч. *Chimaira*) означает составное животное. Животные-химеры несут в одном организме признаки обоих эмбрионов, отличающихся между собой разными генотипами. В животноводстве известны искусственные химеры как внутривидовые, так и межвидовые.

Методы получения химер:

1. Инъекционный (был предложен в 1968 году). Получение химерных животных путем объединения бластомеров из эмбрионов *одного вида*. С этой целью получают сложные химерные эмбрионы овец объединением 2-, 4-, 8-клеточных эмбрионов. Каждый сложный объединенный эмбрион состоит из равного числа бластомеров эмбрионов 2-8 родителей. Пересадку внутренней клеточной массы каждого донора (бластомеры) путем инъекции переносят внутрь бластоцисты реципиентов.

2. Агрегационный (был предложен в 1961-1962 годах). Слияние клеточной массы двух или нескольких эмбрионов внутри одной зоны пеллюцида. Метод состоит в том, что 8-клеточные эмбрионы инкубируют в среде с протеолитическим ферментом, переваривающим оболочки яйцеклетки. Освобожденные от оболочек эмбрионы соприкасаются между собой, в результате чего их клетки сливаются и перемешиваются. Получены агрегационные химерные животные после соединения половинок 5-6-дневных эмбрионов от коров-доноров швицкой и голштинской пород крупного рогатого скота, они сочетали в своем фенотипе характерную масть двух исходных пород – бурую и черно-пеструю. Получены химеры овец пород рамбулье и финский ландрас.

Примером получения межвидовых химер в животноводстве служат **овцекозы**, сочетающие признаки овцы и козы, которые были получены в 1994 году в

Англии и ФРГ (рисунок 11). Половым путем овцы и козы не скрещиваются, так как имеют разный набор хромосом: коза $2n = 60$, овца $2n = 54$.



Рисунок 11 – Химерное животное овце-коза (<http://docplayer.ru/>)

Химерные животные не передают потомству характерную для них генетическую мозаичность, у потомков происходит расщепление, в результате чего нарушаются ценные генетические комбинации.

Задание 1. Записать основные этапы получения клонированных животных.

Задание 2. Записать основные этапы получения химер.

Задание 3. Просмотр видеофильма «Клонированные животные».

Тема 7. ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ ФЕРМЕНТЫ: ИСТОЧНИКИ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Цель занятия: изучить основные носители для иммобилизованных ферментов, их свойства, методы иммобилизации ферментов.

Время: 2 часа.

Литература: 1, 2.

Контрольные вопросы:

1. Понятие об иммобилизованных ферментах.
2. Носители для иммобилизованных ферментов, их свойства.
3. Методы иммобилизации ферментов.
4. Применение иммобилизованных ферментов.

Теоретическая часть

В современной биотехнологии одно из видных мест принадлежит ферментам.

Ферменты – вещества белковой природы и поэтому неустойчивы при хранении, а также чувствительны к тепловым воздействиям. Кроме того, ферменты не могут быть использованы многократно из-за трудностей в отделении их от реагентов и продуктов реакции. Решить эти проблемы помогает создание иммобилизованных ферментов.

Впервые понятие об иммобилизованных ферментах возникло во второй половине 20-го века. Между тем, еще в 1916 г. Дж. Нельсон и Е. Гриффин адсорбировали на угле инвертазу и показали, что она сохраняет в таком виде каталитическую активность. В 1953 г. Д. Шлейт и Н. Грубхофер осуществили первые связывания пепсина, амилазы, карбоксипептидазы и РНКазы с нерастворимым носителем. Понятие иммобилизованных ферментов было узаконено в 1971 г.

Иммобилизованные ферменты – соединения, которые искусственно связываются с нерастворимым носителем. При этом они сохраняют свои каталитические свойства. В настоящее время этот процесс рассматривается в двух аспектах – в рамках частичной и полной ограниченности свободы перемещения белковых молекул.

Для получения иммобилизованных ферментов используются как органические, так и неорганические носители. К носителям предъявляются следующие требования (Дж. Порат, 1974):

1. Высокая химическая и биологическая стойкость.
2. Высокая химическая прочность.
3. Достаточная проницаемость для фермента и субстратов, пористость, большая удельная поверхность.
4. Возможность получения в виде удобных в технологическом отношении форм (гранул, мембран).
5. Легкая активация, высокая гидрофильность и невысокая стоимость.
6. Высокая гидрофильность, позволяющая проводить реакции связывания с ферментом в водной среде.
7. Невысокая стоимость.

Отсутствие в природе универсальных носителей, обладающих сразу всеми перечисленными свойствами, обуславливает широкий набор применяемых для иммобилизации ферментов материалов.

Используемые в настоящее время органические носители можно разделить на два типа: 1) **природные полимеры** и 2) **синтетические полимерные носители**. **Природные полимерные носители** по своей химической природе подразделяют на **белковые** (кератин, фиброин, коллаген, желатин), **полисахаридные** (целлюлоза, декстран, агароза, каррагинан, альгиновые кислоты и их соли, **аминополисахариды** – хитин и хитозан) и **липидные** (модель «фермент – липид» в виде монослоя – липосома), наиболее приближенные к естественным комплексам, существующим в клетке. **Синтетические полимерные носители** подразделяют на три группы – полиметиленовые, полиамидные и полиэфирные. Благодаря разнообразию, механической прочности и доступности, они широко используются для иммобилизации.

Существует два основных метода иммобилизации ферментов: физический и химический. **Физическая иммобилизация** ферментов представляет собой

включение фермента в такую среду, в которой для него доступной является лишь ограниченная часть общего объема. При физической иммобилизации фермент не связан с носителем ковалентными связями. Существует четыре типа связывания ферментов: 1) адсорбция на нерастворимых носителях, 2) включение в поры геля, 3) пространственное отделение фермента от остального объема реакционной системы с помощью полупроницаемой перегородки (мембраны), 4) включение в двухфазную среду, где фермент растворим и может находиться только в одной из фаз.

Главным отличительным признаком **химических методов** иммобилизации является то, что путем химического взаимодействия на структуру фермента в его молекуле создаются новые ковалентные связи, в частности между белком и носителем.

Применение иммобилизованных ферментов:

1. В **промышленности** – в качестве активных компонентов стиральных и моющих средств, в дубильных процессах, в пищевых производствах (**например**, при обработке мяса; в качестве катализаторов при проведении различных технологических процессов, для анализа различных веществ).

2. В **медицине** – в качестве противовоспалительных, тромболитических и фибринолитических препаратов.

3. В **фармации** – в медицинской диагностике при анализе лекарственных веществ белковой природы.

4. В качестве биокатализаторов в биотехнологических производствах.

Задание 1. Записать свойства иммобилизованных ферментов.

Задание 2. Изучить методы иммобилизации ферментов.

Тема 8. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ. БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И БИОЭТИКА БИОИНЖЕНЕРНЫХ РАБОТ

Цель занятия: изучить основные аспекты проблемы защиты окружающей среды.

Время: 2 часа.

Литература: 3, 4, 6, 7.

Контрольные вопросы:

1. Виды загрязнений, оказывающие различное воздействие на окружающую среду. Методы очистки сточных вод.

2. Основные направления государственного регулирования биобезопасности в системе международных отношений.

3. Государственное регулирование генно-инженерной деятельности в Республике Беларусь.

4. Обязанности Национального координационного центра биобезопасности.

5. Этапы оценки риска возможных неблагоприятных последствий использования ГИО (генно-инженерных организмов).

Теоретическая часть

В сложившейся ситуации человечество вынуждено принимать меры по снижению отрицательного влияния своей деятельности на окружающую среду. Разрабатываются новые методы очистки сточных вод и газовоздушных выбросов, экономичные способы утилизации промышленных, сельскохозяйственных и бытовых отходов. В решении экологических проблем все большее значение приобретают возможности биотехнологии. К настоящему времени сформировалось новое направление – экологическая биотехнология как специфическое использование биотехнологии в решении вопросов охраны окружающей среды.

Применение биотехнологических методов в экологии имеет ряд существенных преимуществ:

1. Высокие катаболические возможности микроорганизмов и, соответственно, широкий спектр удаляемых загрязнений. Методы генетического конструирования позволяют получать штаммы микроорганизмов с гораздо более широкими биосинтетическими и биодеструктивными возможностями, чем у природных культур.

2. Осуществление процессов в нормальных (природных) условиях. В отличие от других методов нет необходимости использовать высокие температуры и давление.

3. Отсутствие вторичного загрязнения окружающей среды. В большинстве случаев происходит деструкция загрязнений до простых соединений.

Виды загрязнений, оказывающие различное воздействие на окружающую среду:

1. Механическое – засорение веществами, не оказывающими физико-химического воздействия.

2. Химическое – изменение химических свойств среды, влияющее на экосистемы.

3. Физическое – трансформация физических параметров среды (повышение температуры вследствие выбросов нагретых газов и паров; нарушение естественной освещенности; увеличение интенсивности шума сверх природного уровня; изменение электромагнитных свойств среды; повышение уровня содержания радиоактивных веществ).

4. Биологическое – подавление развития и гибель отдельных видов, нарушение функционирования естественных биоценозов; распространение в экосистемах чуждых для них видов микроорганизмов, размножаемых в больших количествах в промышленных условиях; приобретение микроорганизмами патогенных свойств.

Методы очистки сточных вод:

1. **Механическая очистка сточных вод.** Механическая очистка применяется для выделения из сточных вод нерастворенных минеральных и органических примесей. Как правило, механическая очистка – предварительный этап перед другими видами очистки, реже – окончательный. Механическая очистка позволяет выделить до 90-95% взвешенных веществ и снизить значение $BPK_{полн}$ (биохимическая потребность в кислороде) сточной воды на 20-25%. На современных городских очистных сооружениях механическая очистка включает: пропускание через решетки, пескоулавливание, отстаивание.

2. **Химическая очистка сточных вод.** Может применяться как самостоятельный метод перед подачей воды в систему оборотного водоснабжения либо перед спуском в городскую водоотводящую сеть или водоем. В ряде случаев используется перед биологической или физико-химической очисткой.

Здесь входит нейтрализация и окисление. **Нейтрализация.** Сточные воды некоторых технологических процессов содержат щелочи или кислоты, в кислых водах могут находиться соли тяжелых металлов. Чтобы предупредить коррозию материалов канализационных сооружений, нарушение биохимических процессов в сооружениях биологической очистки, а также для осаждения тяжелых металлов проводят нейтрализацию сточных вод. **Окисление.** Применяется для обезвреживания производственных сточных вод, содержащих токсичные примеси (**например**, цианиды окисляются до нетоксичных цианатов), соединения, которые невозможно или нецелесообразно извлекать другими методами (сероводород, сульфиды). Такие загрязнения содержатся в сточных водах машиностроительной, целлюлозно-бумажной, горнодобывающей, нефтехимической и других отраслей промышленности.

3. **Физико-химическая очистка сточных вод** (коагулирование, электролиз, окисление, адсорбция, экстракция, ионообменная хроматография, ультразвук, высокое давление) используется для удаления тонкодисперсных и растворенных неорганических примесей, а также разрушения органических и плохо окисляемых веществ.

4. **Биологическая очистка сточных вод.** Биологическая очистка сточных вод основана на способности микроорганизмов использовать в качестве питательных веществ многие органические и неорганические соединения, содержащиеся в сточных водах. Биологическая очистка может осуществляться в естественных условиях (в биопрудах, на полях фильтрации и орошения) и в искусственных очистных сооружениях. В этих сооружениях могут создаваться аэробные условия, в том числе с использованием технического кислорода, анаэробные условия, либо процесс проходит в несколько стадий с чередованием аэробных, анаэробных и аноксичных условий, когда кислород содержится только в связанном состоянии (**например**, в виде нитратов).

Государственное регулирование генно-инженерной деятельности в Республике Беларусь

В Беларуси создан Национальный координационный центр биобезопасности (Постановление Совета Министров Республики Беларусь № 963 от 19 июня 1998 г.). Центр успешно функционирует в качестве структурного подразделения Института генетики и цитологии НАН Беларуси с 1 января 1999 г.

Обязанности Национального координационного центра биобезопасности

1. Осуществление сбора, анализа и систематизации информации о законодательстве, научных исследованиях, полевых испытаниях, ввозе или вывозе, коммерческом использовании генно-инженерных организмов и продуктов на их основе в Беларуси. Учет лабораторий генетической инженерии.

2. Создание, поддержание и пополнение национальной базы данных по биобезопасности.

3. Предоставление информации по биобезопасности заинтересованным министерствам и другим органам государственного управления, средствам массовой информации.

4. Обмен информацией по биобезопасности с координационными центрами других стран, международными организациями.

5. Обеспечение проведения научной экспертизы безопасности ГИО, использование которых предполагается на территории Республики Беларусь.

6. Оказание консультативных услуг министерствам и другим республиканским органам государственного управления в разработке законодательных актов и руководств по биобезопасности.

7. Оказание консультативных услуг министерствам и другим республиканским органам государственного управления в подготовке предложений по заключению двусторонних и региональных соглашений, в разработке международных соглашений по биобезопасности.

Биобезопасность в системе международных отношений

В 2000 году странами – сторонами Конвенции о биологическом разнообразии (в т.ч. и Республика Беларусь) принят **Картахенский протокол по биобезопасности**.

Основная цель Картахенского протокола – содействие обеспечению надлежащего уровня защиты в области безопасной передачи, обращения и использования живых измененных организмов, являющихся результатом современной биотехнологии, способных оказывать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, с учетом также рисков для здоровья человека и с уделением особого внимания трансграничному перемещению (Картахенский протокол, ст. 1).

Основное положение Протокола состоит в требовании использовать процедуру заблаговременного обоснованного согласия до первого преднамеренного трансграничного перемещения генно-инженерных организмов (ГИО), предназначенных для преднамеренного высвобождения в окружающую среду стороны импорта.

Присоединение к Картахенскому протоколу какой-либо страны не только обеспечивает возможность урегулирования вопросов, связанных с экспортом и импортом ГИО, но и создает предпосылки для создания национальной системы биобезопасности, которая является важнейшим атрибутом эффективного и безопасного использования достижений современных биотехнологий, развития генетической инженерии как одного из наиболее перспективных научных направлений.

Основные направления государственного регулирования биобезопасности в системе международных отношений

1. Работы по созданию, испытанию и использованию генно-инженерных организмов (далее ГИО) в закрытых (изолированных) системах.

2. Высвобождение ГИО в окружающую среду с целью испытания.

3. Экспорт и импорт ГИО.

4. Использование ГИО в хозяйственной деятельности.

Этапы оценки риска возможных неблагоприятных последствий использования ГИО

1. Выявление любых новых генотипических и фенотипических практик, связанных с присутствием трансгенов, которые могут оказать неблагоприятное воздействие ГИО на здоровье человека и окружающую среду.
2. Оценка вероятности возникновения неблагоприятных последствий, исходя из интенсивности и характера воздействия ГИО на потенциальную принимающую среду.
3. Оценка последствий в том случае, если такое неблагоприятное воздействие действительно будет иметь место.
4. Оценка совокупного риска, вызываемого ГИО, на основе оценки вероятности возникновения.
5. Вынесение рекомендации относительно того, являются ли риски приемлемыми или регулируемыми, включая, если это необходимо, определение стратегий для регулирования таких рисков.

Задание 1. Переписать основные методы очистки сточных вод.

Задание 2. Изучить этапы оценки риска возможных неблагоприятных последствий использования ГИО.

Задание 3. Изучить основные аспекты государственного регулирования генно-инженерной деятельности в Республике Беларусь.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная литература

1. Белясова, Н. А. Биохимия и молекулярная биология [Текст] : пособие для студентов вузов по специальности «Биотехнология», «Биохимия», «Микробиология» / Н. А. Белясова. – Минск : Книжный Дом, 2004. – 416 с : ил.
2. Бокуть, С. Б. Молекулярная биология. Молекулярные механизмы хранения, воспроизведения и реализации генетической информации [Текст] : учебное пособие для студентов вузов по спец. «Радиология и радиобиология» / С. Б. Бокуть, Н. В. Герасимович, А. А. Милютин. – Минск : Вышэйшая школа, 2005. – 463 с. : ил, табл.
3. Гончаренко, Г. Г. Основы генетической инженерии [Текст] : учебное пособие для студентов биологических специальностей вузов / Г. Г. Гончаренко; ред. Л. В. Хотылева. – Минск : Вышэйшая школа, 2005. – 183 с. : ил.
4. Основы генетической инженерии и биотехнологии [Текст] : учебник для студентов учреждений высшего образования по специальности «Зоотехния» / Ю. А. Горбунов [и др.] ; ред. Ю. А. Горбунов. – Минск : ИВЦ Минфина, 2016. – 344 с.

Дополнительная литература

5. Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение [электронный ресурс] / Б. Глик, Дж. Пастернак; пер. с англ.; ред. Н. К. Янковский. – Москва, 2002.
6. Егорова Т. А. Основы биотехнологии [электронный ресурс] : учебное пособие для студентов вузов / Т. А. Егорова, С. М. Клунова, Е. А. Живухина. – Москва, 2003.
7. Рыбчин, В. Н. Основы генетической инженерии [Электронный ресурс] : учебник для студентов биологических специальностей вузов / В. Н. Рыбчин ; Санкт-Петербургский государственный технический университет. – 2-е изд., перераб. и доп. – Санкт-Петербург : Издательство СПбГТУ, 2002. – 522 с. : ил., табл.

Учебное издание

Базылев Сергей Евгеньевич,
Карпеня Снежанна Леонидовна,
Коробко Александр Викентьевич и др.

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ

Учебно-методическое пособие

Ответственный за выпуск А. В. Вишневец
Технический редактор Е. А. Алисейко
Компьютерный набор А. В. Коробко
Компьютерная верстка
и корректор Е. В. Морозова

Подписано в печать 14.02.2018. Формат 60×84 1/16. Бумага офсетная.
Печать ризографическая. Усл. п. л. 2,0. Уч.-изд. л. 1,44.
Тираж 300 экз. Заказ 1758.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной медицины».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/362 от 13.06.2014.

ЛП №: 02330/470 от 01.10.2014 г.
Ул. 1-я Доватора, 7/11, 210026, г. Витебск.
Тел.: (0212) 51-75-71.
E-mail: rio_vsavm@tut.by
<http://www.vsavm.by>