Министерство образования и науки Российской Федерации

Тульский государственный университет

Кафедра физики

РЕФЕРАТ

на тему: Генная инженерия

Тула 2004

ВВЕДЕНИЕ

Генная инженерия представляет собой то удивительное в науке, когда разработка новой методологии дает мощный импульс развитию нашего понимания окружающей природы, ее сокровенных глубин. Бурному прогрессу генной инженерии способствовало то, что уже в начале 70-х годов, сразу после первых, еще робких экспериментов, научной общественностью была осознана огромная важность и перспективность данной методологии. Это привлекло к ней широкие круги биохимиков, биологов, химиков и исследователей ряда других специальностей. Осуществление генно-инженерных экспериментов в большом числе лаборатории разных стран привело к такому фейерверку открытий, которого биологическая наука до сих пор не знала.

Генно-инженерные исследования вносят уникальный вклад в изучение структурно-функциональной организации геномов различных организмов. Методология генной инженерии постоянно совершенствуется и все больше исследователей использует ее при решении самых разных задач биологической науки.

Методами генной инженерии были получены штаммы бактерий, дрожжей, линии культурных клеток, с высокой эффективностью продуцирующих биологически активные белки человека и животных.

Генная инженерия - это новый раздел экспериментальной молекулярной биологии. Появление ее методологии стало возможным благодаря предшествующим работам многих исследователей в различных областях биохимии и молекулярной генетики. К основным достижениям, которые обусловили рождение и успешное развитие генной инженерии, можно отнести следующее:

. Доказательство в 1944 году Эйвери с соавторами роли (дезоксирибонуклеиновой кислоты) ДНК как носителя генетической информации и открытие в 1953 году Уотсоном и Криком структуры ДНК.

. Экспериментальное подтверждение универсальности генетического кода.

. Интенсивное развитие молекулярной генетики.

Генная инженерия значительно расширила экспериментальные границы молекулярной биологии, поскольку позволила вводить в различные типы клеток чужеродную ДНК и исследовать ее функционирование в гетерологическом окружении, что дало возможность выявлять общебиологические закономерности организации и выражения генетической информации в различных организмах. Данный подход открыл перспективы создания принципиально новых микробиологических продуцентов биологически активных веществ, а также животных и растений, несущих функционально активные чужеродные гены. Более того, появилась возможность искусственно создавать гены, обладающие свойствами двух или более природных белков. Все это удивительным образом революционировало биологическую науку и дало мощный импульс развитию биотехнологии.

Основы молекулярной биотехнологии

Молекулярная биотехнология - это увлекательнейшая область научных исследований, с появлением которой произошел настоящий переворот во взаимоотношениях человека с живой природой. В ее основе лежит перенос единиц наследственности (генов) из одного организма в другой, осуществляемый методами генной инженерии (технология рекомбинантных ДНК). В большинстве случаев целью такого переноса является создание нового продукта или уже известного продукта в промышленных масштабах.

Возникновение молекулярной биотехнологии

В начале 70-х годов традиционная биотехнология как научная дисциплина была не слишком известна; исследования в этой области в основном проводились в отделах инженерной химии и иногда в рамках социальных микробиологических программ. В широком смысле биотехнология занимается производством коммерческих продуктов, образуемых микроорганизмами в результате их жизнедеятельности. Более формально биотехнологию можно определить как «применение научных и инженерных принципов к переработке материалов живыми организмами с целью создания товаров и услуг». В историческом смысле биотехнология возникла тогда, когда дрожжи были впервые использованы при производстве пива, а бактерии - для получения йогурта.

Термин «биотехнология» был придуман в 1917 году венгерским инженером Карлом Эреки для описания процесса крупномасштабного выращивания свиней с использованием в качестве корма сахарной свеклы. По определения Эреки , биотехнология - это «все виды работ, при которых из сырьевых материалов с помощью живых организмов производятся те или иные продукты». Однако это совершенно точное определение не получило широкого распространения. Долгое время термин «биотехнология» относился к двум разным дисциплинам. С одной стороны, его употребляли, говоря о промышленной ферментации, с другой - применительно к той области, которая сейчас называется эргономикой. Такой двойственности пришел конец в 1961 году, когда шведский микробиолог Карл Гёрен Хеден порекомендовал изменить название научного журнала «Журнал микробиологической и химической инженерии и технологии», специализирующегося на публикации работ по прикладной микробиологии и промышленной ферментации, на «Биотехнология и биоинженерия». С этого момента биотехнология оказалась четко и необратимо связана с исследованиями в области «промышленного производства товаров и услуг при участии живых организмов, биологических систем и процессов» и встала на прочный фундамент микробиологии, биохимии и химической инженерии.

ГЕНЕТИКА И ПРОБЛЕМА ЧЕЛОВЕКА

Исследования по проблеме человека имеют два направления. Первое касается этапа от момента выделения первого предка человека из мира животных до появления вида человек разумный. Это было время быстрых преобразований телесной организации и мозга предков человека. Специфика этой эволюции состояла в том, что фактором прогресса предков человека были диалектика взаимодействия биологического и социального, они имели биологическую сущность. А. П. Окладников подчеркивает необходимость выяснить, «каковы чисто биологические предпосылки становления человека как принципиально нового существа на планете..., какие рычаги вывели его с животной орбиты на новую, человеческую, т. е. социальную». До появления вида Homo sapiens все предки человека обладали биологической сущностью.

Качественный скачок при появлении вида Homo sapiens состоял в приобретении им социальной сущности. Для него потеряли свое значение законы биологической эволюции, он вступил в эру социального прогресса, опираясь па тот уровень биологической организации телесных признаков, мозга, которые были получены им при происхождении вида человек разумный. В этом отношении человек разумный при своем появлении стал «готовым человеком» дли всей его последующей социальной истории. Все это не снимает значения биологического для жизни и развития каждого современного человека. Наследуемость и изменчивость биологических признаков людей, природа их биологической индивидуальности изучаются генетикой. Это вовлекает ее представителей в обсуждение вопроса о сущности человека, в разработку проблемы о социальном и биологическом в человеке. Однако разработка принципиальных путей в изучении роли биологического для формирования психики человека не может быть осуществлена без философского представления о человеке, в основе которого лежит понимание качественных отличий психики человека от психики животных.

Натуралистический подход к пониманию сущности и происхождения психики человека не учитывает, что психика и поведение животных детерминируются их эволюционно-генетическим положением и степенью адаптивной обучаемости, в то время как у человека биологическое развитие организма как такового не дает человеческого, оно возникает лишь в общественно-трудовой деятельности субъекта. Человек обладает сознанием, самосознанием, мышлением, речью, которые неотрывны от его целеполагающей деятельности. Восприятие и ощущение, внимание, память, способности - все психические человеческие качества не развиваются в нем, если ребенок после рождения не включается активно во взаимоотношения с людьми, не вступает в очеловеченный мир явлений и предметов. Если особи животных обладают биологической индивидуальностью, то люди в дифференциальном аспекте, кроме того, характеризуются наличием такого образования, как личность. Люди обладают способностями к разным формам собственно человеческой деятельности, свободной воли, творчеством, этикой, ответственностью, целенаправленным поведением, совестью, убеждениями, осознанной взаимопомощью и дисциплиной, ценностными критериями, патриотизмом, сознательностью поведения, мировоззрением. Индивидуальные комплексы этих черт, создаваемые в процессах деятельности, составляют ядро личности у людей. Участие социальных факторов в происхождении личности не вызывает сомнений, однако горячие споры идут по вопросу, в какой мере на формирование личности накладывают отпечаток биологические особенности человека как представителя вида Homo sapiens и индивидуальные биологические отличия отдельных людей.

Второе русло исследований по проблеме человека касается вида Homo sapiens.

Если предки человека эволюционировали па протяжении 14-20 млн. лет, то вид Homo sapiens существует всего лишь 40000 лет. Специфика этого вида состоит в том, что он выделился из мира животных по своей сущности. Для понимания сущности человека основополагающее значение имеет марксистское решение этого вопроса. В целом можно указать на три основных подхода к решению вопроса о сущности человека:

. Сущность человека социальна, является совокупностью всех общественных отношении. Она категория общечеловеческая; личность при этом выступает как индивидуальное преломление общечеловеческой сущности и конкретном субъекте. Биологическое как низшая форма движения материи имеет детерминирующее значение для развития организма и выступает в качестве предпосылок для качественно иной, надбиологической сферы явлений, которая, отражая развитие производительных сил и будучи продуктом истории, неотрывна от общественного бытия человека. Это показывает, что взаимодействие материального и надбиологического в человеке в основном идет путем передачи сигналов по информационным путям. В истории человеческой мысли заслуга открытия того, что человек обладает социальной сущностью, принадлежит марксизму. Именно марксизм, преодолев механистический и идеалистический подходы к пониманию сущности человека, открыл реальные перспективы для изучения его психики.

Философское решение социально-биологических проблем - это по существу раскрытие человеком реального конкретно-исторического пути его последовательного "очеловечения", пути сознательного овладения человеком законами социального наследования.

Взаимодействие социального и биологического в человеке подчиняется законам взаимодействия между высшими и низшими формами движения. Влияние материальной и духовной культуры общества преобразует биологическое в человеке. Это касается восприятия мира человеческими органами - глазами, ухом, всем настроем его органических сил, развивающихся при деятельном творческом включении человека в систему общественных отношений и форм деятельности в обществе. Очевидно, что нарушения в биологическом могут ставить преграды для развития надбиологического в человеке. Крайней формой здесь служат наследственно обусловленные заболевания психики.

Развернутая характеристика «социального» дана В. Г. Афанасьевым, который определяет его рядом сторон в организации общества: 1) компонентная; 2) структурная; 3) функциональная; 4) интегративная; 5) коммуникационная; 6) историческая.

По А. П. Белику, «появление человека... означало глубокую революцию, человек преодолел рамки биологических способов жизнедеятельности, стал на путь овладения решительно всеми способами изменения действительности...», и что в результате «возникновение человека означало раздвоение всей живой природы на два уровня: биологический и социальный».

. Сущность человека биологична: каждое человеческое свойство, в том числе и его психика, являются итогом эволюционно-генетического процесса. Поскольку среда накладывает свой отпечаток на развитие каждой особи, говорят, что человек - это биосоциальное существо. С этой точки зрения люди - поумневшие животные. За рубежом для этой концепции в 1975 г. было предложено название социобиологии. Согласно ее утверждениям, генетическая программа человека содержит в себе детерминанты для любой его психической и социальной деятельности. Роль социальной среды при этом выступает лишь как условие для реализации генетической программы. Социобиологи полагают, что история, культура, общественные отношения детерминируются особенностями генетической программы людей. Такая детерминация социального биологическим имеет место благодаря тому, что человек является «наиболее развитым биологическим видом, который показывает наивысшую степень биологического прогресса».

. Сущность человека интегральна; она есть неразрывное и взаимопроникающее единство социального и биологического. Такая связь между биологическим и социальным объявляется авторами этой концепции «диалектической». Признается, что «человек... имеет не двойную - биологическую и социальную природу, но интегральную социальную природу», и поэтому необходима специальная комплексная (пограничная) дисциплина - социальная биология.

Вопрос о сущности человека столь важен для философии, естествознания, социологии, педагогики, психологии, на него опираются научные и практические основы формирования нового человека в условиях развитого социализма, что здесь необходимо неуклонное принципиальное решение вопроса. К сожалению, этого нет и в высказываниях многих авторов философов, биологов, педагогов и психологов.

В идеях об интегральной сущности человека действительная диалектика заменяется эклектикой. Эта концепция пытается примирить, «интегрировать» принципиально несовместимые решения о биологической и о социальной сущности человека. Практически идея об интегральной сущности человека признает его двойственность и потому для ее авторов характерна двойственность утверждений (с одной стороны, с другой стороны...), а также неопределенность, расплывчатость формулировок, частные решения принимаются в чисто биологизаторском плане.

В развитии учения о социальной сущности человека были выдвинуты идеи о социальном наследовании и о социальных программах. В последнее время эти представления критикуются некоторыми авторами. Так, в одной из публикаций, где говорится об отрицательных явлениях в подходах к проблеме человека, читаем: «Отрицательную роль здесь играют не только биологизаторские подходы, но и попытки представить человека как «сгусток социума», разорвать взаимодействие между социальными и биологическими факторами его становления и развития, как это имеет место, в частности, в представлениях о «двух программах» - социальной и биологической у человека, о «двух типах наследования» - социального и биологического». По этому поводу нужно отметить следующее. По отношению к сущности человека у нас действительно признается, что низшая биологическая форма движения материи в свойственной ей специфике не входит в содержание психики человека как социального по своей сути качества. При этом представления о «социальной наследственности» и «социальных программах» не отметают роль биологического в становлении психики человека, которая состоит, во-первых, в генетически детерминированной универсальности и исходной неопределенности мозга в отношении его будущих функциональных систем, а, во-вторых, в наличии полиморфизма по телесным нейрофизиологическим особенностям, которые могут опосредованно влиять на формирование психологических различии между людьми. Это показывает, что социальная сущность не оторвана от явления существования человека. Организм человека - это «социально-биологическая система», в котором, однако, имеется одна сущность (социальное), и его биологическое оказывается социально детерминированным.

Можно утверждать, что в представлениях о «социальных программах» и о «социальном наследовании» содержатся предпосылки действительно научного и методологически верного подхода к пониманию сущности психики человека. В частности, представления о «социальных программах» и о «социальном наследовании» не позволяют предполагать непосредственного воздействия генов на качество психических свойств человека. Это показывает, что надо искать новые пути для понимания роли биологического в становлении мозга и психики человека. Этого не понимают авторы, полагающие, что пата точка зрения отрывает в человеке биологическое от социального.

ПРИРОДА КОДА

Возможно, будет полезным охарактеризовать природу кода в общих чертах, подобно тому, как это было сделано Криком. Последовательность аминокислот представлена в ДНК кодонами - неперекрывающимися триплетами оснований, коллинеарными соответствующим аминокислотам. Порядок считывания определяется «стартовым сигналом», но пунктуация между кодонами отсутствует (код без запятых). Поскольку почти все аминокислоты кодируются более чем одним кодоном, код следует считать в значительной степени выраженным; однако вырожденность эта регулярна, т. е. она подчиняется определенному правилу. Два первых основания несут большую часть информации, причем каждой из аминокислот соответствует один или два таких начальных дуплета. Третье основание кодона несет меньше информации; считывающий механизм, как правило, не различает основания, занимающее третье положение. Из 64 возможных триплетов несколько триплетов не соответствуют ни одной из аминокислот. Они могут выполнять какие-нибудь другие функции, например, могут служить «знаками препинания» или указывать, с какого места начинается или где кончается образование полипептида. Код, видимо, одинаков для всех организмов, если не считать некоторых (немногих) исключений.

Доказательства, подтверждающие это краткое описание свойств кода, достаточно многочисленны и убедительны. Рассмотрим теперь, как возникла сама проблема кода.

История проблемы кода

Расшифровка биологического кода явилась кульминацией усилий, направленных на то, чтобы понять механизм действия гена и описать его на языке химии. Поэтому история интересующей нас проблемы - это история генетики и биохимии. Эту историю удобно разделить на две части: к первой относятся работы, результатом которых явилась сама мысль о существовании кода, ко второй - первые попытки его «расколоть».

Самым трудным в «проблеме кода» было понять, что код существует. На это потребовалось целое столетие. Когда это поняли, то для того чтобы разобраться в деталях, хватило каких-нибудь десяти лет. Конечно, причины столь медленного продвижения па первых этапах работы только отчасти лежали в области теории. Как всегда, развитие идей было связано с развитием методов исследования.

Если рассматривать ранние генетические и биохимические работы ретроспективно, то можно проследить, как постепенно зарождалась мысль о том, что свойства живого организма определяются линейной последовательностью аминокислот, которая в свою очередь определяется самовоспроизводящимся генетическим материалом, представляющим собой линейную последовательность нуклеотидов. Однако в таком виде эти работы предстают лишь ретроспективно. Еще сравнительно недавно исследования, приведшие в конечном итоге к возникновению указанной концепции, велись в двух различных направлениях: ими занимались генетики и биохимики, которые долгое время вообще не понимали, что между их дисциплинами может существовать тесная связь.

Важнейшим вкладом биохимии в разработку проблемы кода явилось выяснение структуры и функции белков. Из двух наиболее важных полимеров - белков и нуклеиновых кислот - именно белки были изучены первыми. Со времен Либиха считалось, что они каким-то образом таинственно связаны с жизненными свойствами. Примером тому может служить широко известное определение Энгельса: «Жизнь это способ существования белковых тел, и этот способ существования состоит по своему существу в постоянном самообновлении химических составных частей этих тел...». Эта концепция получала все более широкое распространение. Так, например, в 1916 г. Лёб, обсуждая вопрос о специфичности организмов, писал: «Учитывая наши современные знания, можно не сомневаться в том, что именно белки являются в большинстве случаев, а может быть, и всегда, носителями этой специфичности». Лилли также считал, что «специфические признаки животного или растения зависят в конечном счете от специфических свойств его структурных белков. Развивающийся зародыш или растущие организм синтезируют специфические белки, и эти последние, определяя структурные, а значит, и физиологические особенности организма, составляют основу тех признаков, от которых зависит принадлежность организма к данному биологическому виду. Следовательно, одна из важнейших проблем заключается в выяснении того, каким образом клетка строит белки своего, специфического, типа. Именно здесь фокусируются основные проблемы наследственности и размножения». Все эти высказывания звучат очень современно, однако из них отчетливо видно еще недостаточно ясное понимание основной роли белков как катализаторов или ферментов. Подчеркивается в основном структурная роль белков.

В то время биохимики, большинство из которых не считало себя биологами, были далеки от генетики и мало интересовались пропс хождением и структурой ферментов. Каталитическое действие принималось как нечто само собой разумеющееся. Такая точка зрения была тогда оправдана. Непосредственные практические задачи заключались в исследовании структуры и обмена соединений с малым молекулярным весом. Значительные успехи в этом направлении был достигнуты даже до того, как методы радиоактивных изотопов и хроматографии получили широкое распространение. Это можно видеть из вышедшей в 1948 г. книги Болдуина, по-видимому, последней в которой метод радиоактивных изотопов упомянут лишь вскользь. В итоге этих работ было установлено, что биохимические реакции протекают чаще всего в несколько стадий, причем каждая такая стадия катализируется ферментом, обладающим высокой специфичностью. Эти исследования имели фундаментальное значение не только сами по себе, но также еще и потому, что они привели к возникновению биохимической генетики.

Каталитическая функция белков оставалась неизвестной до совсем недавнего времени. Пастер убедительно продемонстрировал каталитическое действие живых клеток, однако он полагал, что каталитическая активность должна утрачиваться при нарушении организации клетки. В 1897 г. Бюхнеру первому вопреки всеобщему скептицизму удалось показать, что каталитическим действием может обладать и клеточный экстракт. Спустя три десятка лет Самнер, получив кристаллы уреазы, обнаружил, что каталитическое или ферментативное действие является свойством белков.

Долгое время о химической структуре белков было известно очень немногое. Однако к 1913 г. Фишеру удалось доказать, что белки представляют собой цепи из аминокислот, соединенных амидной связью. Все двадцать аминокислот, входящих в состав белков, были в конце концов идентифицированы (даже без помощи хроматографии). После этого в результате трудоемких работ было показано, что белки различаются по своему аминокислотному составу. В связи с этим сразу же возник важный вопрос: является ли каждый белок группой молекул особого вида с четко определенной последовательностью аминокислот или это только определенная совокупность родственных молекул, сходных лишь по статистическому распределению аминокислотного состава? Хотя до работ Сэнгера, выяснившего структуру инсулина, на этот вопрос не было ясного ответа, некоторые косвенные данные, способные подсказать такой ответ, все же существовали. Можно, например, упомянуть прекрасную работу Рейхерта и Брауна, изучавших поведение кристаллов различных гемоглобинов. Эти авторы сумели доказать, что каждый гемоглобин имеет специфическую кристаллическую структуру, различную у разных видов животных. Отсюда следовало, что по крайней мере данный белок состоит из молекул определенного вида или из смеси молекул, очень близких друг другу. У каждого из вариантов гемоглобина молекулы должны иметь свою определенную конфигурацию и фиксированную последовательность аминокислотных остатков. Поскольку известные варианты гемоглобина видоспецифичны, конфигурация и последовательность аминокислот в молекулах каждого гемоглобина каким-то образом определяются наследственностью.

Однако быть может, в связи с тем, что дальнейшая проверка этой гипотезы в то время казалась невозможной, эти и подобные им данные не оказали существенного влияния па последующие работы. Более того, некоторые новые результаты, казалось, вообще не оставляли надежд на возможность точного определения структуры белков или хотя бы последовательности аминокислотных остатков. Анализ с применением различных физико-химических методов показал, что если молекулы таких белков, как цитохром с, сравнительно невелики, то молекулярные веса большей части других белков достигают порядка сотен тысяч и даже миллионов. Сомнительно было, чтобы вопрос: «Состоит ли белок из молекул какого-либо одного вида?»- вообще имел смысл в приложении к молекулам такого размера. Тогда не было, конечно, известно, что такие гигантские молекулы представляют собой агрегаты, состоящие из меньших полипептидных цепей строго определенного состава.

Итак, примерно к 1940 г. в результате биохимических исследований выяснилось, что биохимические реакции малых молекул осуществляются в несколько стадий, причем пути многих биохимических превращений были подробно изучены. Выяснялось также, что каждая отдельная стадия катализируется определенным ферментом; ферменты же - это белки, т. е. полимеры аминокислот. В то время, однако, казалось, что, поскольку молекулы белков столь велики, нет надежды узнать какие-либо подробности об их структуре в ближайшем будущем. Между тем значительных успехов достигла генетика. Ранние периоды ее истории, прекрасно описанные Стертевантом и другими авторами, достаточно хорошо известны, и поэтому нет необходимости останавливаться на них здесь. Основным достижением генетики была концепция о существовании дискретных факторов наследственности и о линейном расположении этих факторов в хромосоме. По мере того как развивалась эта наука, генетиков все более интересовал вопрос, в каком же месте биохимической схемы проявляют свое действие гены. К сожалению, большинство накопленных к тому времени данных имело мало отношения к этому вопросу. Дело в том, что «единичные признаки», которые обычно изучались генетиками, представляют собой конечный результат длинной цепи биохимических превращений. Генетиков интересовал в первую очередь механизм наследования и потому удобным для наблюдения «единичным признаком» в принципе мог быть для них любой фенотип - от способности сочинять музыку до цвета волос. Однако вскоре после вторичного открытия законов Менделя Гэррод обнаружил, что некоторые генетически четкие «единичные признаки» человека связаны с довольно простыми и легко выявляемыми биохимическими превращениями. В организме здоровых людей тирозин распадается через стадию образования гомогентизиновой кислоты до соединении, известного теперь как 4-фумарилацетоуксусная кислота. При особом заболевании, алкаптонурия, распад тирозина блокируется на стадии гомогентизиновой кислоты (последняя выводится с мочой и вызывает ее потемнение). Поскольку алкаптонурия наследуется как рецессивный единичный признак, Гэррод совершенно справедливо заключил, что, по крайней мере, некоторые гоны контролируют простые биохимические функции. Аналогичным образом, полагал он, обстоит дело с альбинизмом и цистинурией. Как это ни странно, но работа Гэррода не имела должного резонанса. В этом смысле она разделила судьбу работ Менделя по генетике или Цвета по хроматографии: ни те, ни другие почти не вызвали интереса у современников.

Тем не менее, новое направление, впоследствии названное «физиологической генетикой», все же родилось. Его основным выразителем был Гольдшмидт. Физиологическая генетика накопила значительное количество данных о связи между генетикой и процессами развития. Были также разработаны остроумные схемы, с помощью которых можно было объяснить ряд явлении, оперируя такими понятиями, как порог химической чувствительности, скорость реакции и тому подобное. Многие из этих работ до сих пор представляют большой интерес. Их главным недостатком было отсутствие доказательств реальности постулированных химических реакций. Реакции эти связывались, в довольно неопределенной форме, с действием гормонов, морфогенетическпх факторов и ферментов, однако без точного указания места действия гена. Этот недостаток настолько бросался в глаза, что были предприняты попытки его исправить.

клетка ген молекулярный код

ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Долгое время медицинская генетика занималась одной проблемой: установлением генетических основ наследственных заболеваний человека. Были разработаны диагностические тесты для выявления ряда таких заболеваний у новорожденных или плода, и по их результатам проводилось генетическое консультирование семей, относящихся к группе риска. Это позволяло подготовить консультируемых к возможности проявления данного заболевания у их потомков. Кроме того, иногда удавалось смягчить негативные последствия генетического дефекта с помощью медикаментозной терапии, переливания крови или назначения диеты.

Нормальная работа организма обеспечивается функциями множества взаимосвязанных генов, и мутация даже в одном из них может иметь самые разные последствия. Так, мутация, в результате которой изменяется активность того или иного фермента, может приводить к накоплению токсичного субстрата или дефициту соединения, необходимого для нормального функционирования клетки, а мутация в гене, кодирующем структурный белок, - к серьезным нарушениям на уровне клеток, тканей или органов. Кроме того, мутация в гене, экспрессирующемся в одной ткани, может сказаться самым серьезным образом на совсем другой ткани и привести к появлению множества симптомов. Например, мутация в гене печеночного фермента фенилаланиндегидроксилазы, в результате которой блокируется превращение фенилаланина в тирозин, оказывает серьезное влияние на нервную систему. У индивидуума, гомозиготного по дефектному гену, этот фермент не вырабатывается вообще или вырабатывается в очень небольших количествах; это приводит к повышению уровня эндогенного фенилаланина в крови, к неправильному формированию миелиновой оболочки вокруг аксонов нервных клеток центральной нервной системы и как следствие - к тяжелой умственной отсталости. Это врожденное заболевание, называемое фенилкетонурией, встречается у европеоидов с частотой 1 на 10 000 новорожденных. В каждой ткани организма экспрессируется свой набор из всей совокупности генов, но есть мутации, которые приводят к болезням, затрагивающим буквально все органы и ткани: мышцы, глаза, печень, кости, почки, сердце, нервную систему, кожу, мозг, желудок, кишечник, систему кроветворения.

Конечной целью медико-генетических исследований является создание методов лечения всех наследственных заболеваний. Наследственные заболевания имеют сложные клинические проявления, и их лечение носит во многом симптоматический характер. Некоторые нарушения метаболизма корректируют назначением специальной диеты, что приводит к снижению уровня токсичных веществ в организме, накопление которых обусловливается мутациями в определенных генах. Так, при фенилкетонурии, которую выявляют у новорожденных с помощью специфического биохимического анализа крови, назначают безаланиновую диету. Для облегчения симптомов наследственных заболеваний, связанных с дефектом определенного белка, вводят внутривенно его функциональную форму, не вызывающую иммунной реакции. Такую «заместительную» терапию используют, например, для лечения гемофилии, тяжелого комбинированного иммунодефицита и болезни Гоше. Иногда для компенсации каких-то утраченных функций проводят трансплантацию костного мозга или других органов. К сожалению, нередко интенсивное лечение многих наследственных болезней начинают проводить только тогда, когда пациент находится в критическом состоянии и удается лишь ненамного продлить его жизнь. Поскольку генетические заболевания часто носят системный характер и постепенно приводят к ослаблению организма, разработка эффективных методов лечения представляет собой непростую задачу. Существующая терапия, как правило, малоэффективна, лишь немногие пациенты доживают до старости и могут иметь детей. В большинстве случаев лечение необходимо проводить многократно, оно очень дорогое и длительное. Поэтому разработка новых видов терапии очень актуальна.

После того как были установлены молекулярные основы трансформации бактерий (переноса генов из одного штамма в другой), ученых появилась надежда, что аналогичный механизм - введение нормальных генов в дефектные соматические клетки - можно будет использовать для лечения наследственных заболеваний человека. Перспективы генной коррекции соматических клеток стали более реальными в 1980-х гг.; к этому времени были разработаны методы получения изолированных генов, созданы эукариотические экспрессирующие векторы, стали рутинными эксперименты по переносу генов на мышах. В 1990 г. была предпринята первая попытка применения генотерапии для лечения тяжелого комбинированного иммунодефицита у двух девочек. Использовался следующий подход. Клонированную кДНК аденозиндезаминазы (АДА) ввели в лимфоциты, полученные от каждой из пациенток. Модифицированные клетки, синтезирующие АДА, культивировали и в течение двух лет с определенной периодичностью вводили девочкам. Через четыре года после начала лечения у обеих пациенток наблюдалась экспрессия гена АДА и отмечалось облегчение симптомов тяжелого комбинированного иммунодефицита. Однако истинная причина улучшения осталась не совсем ясной: был ли это эффект заместительной терапии (внутривенного введения защищенной формы АДА) или собственно генной терапии. Бесспорно одно: этот опыт показал безопасность генной терапии. Сходные результаты были получены и для других пациентов с диагнозом тяжелого комбинированного иммунодефицита, одновременно получавших оба вида лечения. Исследования были продолжены на большем числе больных.

В соответствии с законодательством США, прежде чем новый лекарственный препарат будет разрешен к применению, он должен пройти четыре строго оговоренных стадии проверки.

. Доклинические испытания, которые включают многочисленные эксперименты, проводимые на лабораторных животных.

. I фаза клинических испытаний проводится на небольшом числе (от 6 до 10) пациентов и часто имеет целью проверку безопасности препарата.

. II фаза клинических испытаний проводится на большем числе пациентов и имеет целью проверку эффективности действия препарата.

. III фаза клинических испытаний проводится с привлечением большого числа испытуемых и включает исчерпывающий анализ надежности и эффективности препарата, при этом используется информация, полученная на предыдущих этапах.

Прежде чем начать проверку препарата, необходимо, чтобы протокол его испытаний был одобрен и утвержден в соответствующих контролирующих инстанциях. С 1990 по 1992 г. было одобрено более десяти протоколов испытаний по генной терапии, находящихся в I фазе, а к 1997 г. более 200 протоколов испытаний по генной терапии разных видов злокачественных новообразований, гемофилии, СПИДа и др. Прежде чем приступать к I фазе клинических испытаний, необходимо учесть ряд важных моментов: предполагаемое исследование должно быть направлено на разработку методов лечения однозначно диагностируемой болезни, соответствовать существующим правилам проведения медико-биологических экспериментов и осуществляться с минимальным для пациента риском.

Поскольку генная терапия представляет собой новое направление, а заболевания, которые предполагают лечить с ее помощью, столь различны, рассматривают множество разных подходов. В настоящее время все исследования генной терапии направлены на коррекцию генетических дефектов соматических, а не половых (зародышевых) клеток. Это объясняется этическими и чисто техническими причинами, а так же соображениями безопасности: ведь ДНК, введенная в половые клетки человека, передавалась бы последующим поколениям.

В самом общем смысле под генной терапией соматических клеток человека понимают коррекцию специфического наследственного заболевания путем введения в клетку-мишень функционального экспрессирующегося гена. Однако за простым определением скрывается целый ряд проблем. Например, как получить доступ к клеткам, предназначенным для коррекции? Как осуществить доставку терапевтического гена? Какая доля клеток-мишеней должна получить такой ген, чтобы болезнь отступила? Необходим ли точный контроль транскрипции введенного гена для обеспечения ее эффективности? Не вызовет ли избыточная экспрессия введенного гена побочных эффектов? Будут ли модифицированные клетки поддерживаться бесконечно или потребуются повторные введения?

Хотя генная терапия соматических клеток делает только свои первые шаги, на ряд вопросов, касающихся некоторых наследственных заболеваний, уже получены ответы. Появляются все новые подходы к генной терапии соматических клеток. Разрабатывают и специфические лекарственные препараты на основе нуклеиновых кислот: антисмысловые олигонуклеотиды; РНК-ферменты, модифицированные с помощью генной инженерии.

ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ ЧЕЛОВЕКА

Генная терапия человека в широком смысле предусматривает введение в клетки функционально активного гена (генов) с целью исправления генетического дефекта. Существуют два возможных пути лечения наследственных болезней. В первом случае генетической трансформации подвергают соматические клетки (клетки, отличные от половых). При этом коррекция генетического дефекта ограничивается определенным органом или тканью. Во втором случае изменяют генотип клеток зародышевой линии (сперматозоидов или яйцеклеток) или оплодотворенных яйцеклеток (зигот), чтобы все клетки развившегося из них индивидуума имели «исправленные» гены. В результате генной терапии с использованием клеток зародышевой линии генетические изменения передаются из поколения в поколение.

Политика в области генной терапии соматических клеток

В 1980 г. представители католической, протестантской и иудейской общин США написали открытое письмо Президенту с изложением своих взглядов на использование генной инженерии применительно к человеку. Для оценки этических и социальных аспектов этой проблемы были созданы Президентская комиссия и комиссия Конгресса. Это были очень важные инициативы, поскольку в США введение в действие программ, затрагивающих интересы общества, часто осуществляется на основе рекомендаций подобных комиссий. В окончательных заключениях обеих комиссий проводилась четкая граница между генной терапией соматических клеток и генной терапией клеток зародышевой линии. Генная терапия соматических клеток была отнесена к стандартным методам медицинского вмешательства в организм, сходным с трансплантацией органов. В противоположность этому генная терапия клеток зародышевой линии была сочтена технологически очень сложной и проблематичной с точки зрения этики, чтобы безотлагательно начинать ее практическое применение. Был сделан вывод о необходимости выработки четких правил, регулирующих исследования в области генной терапии соматических клеток; разработка подобных документов применительно к генной терапии клеток зародышевой линии была сочтена преждевременной. Чтобы пресечь все незаконные действия, было решено прекратить все эксперименты в области генной терапии клеток зародышевой линии.

К 1985 г. разработали документ, озаглавленный «Положения о составлении и подаче заявок на проведение экспериментов в области генной терапии соматических клеток». В нем содержалась вся информация о том, какие данные должны быть представлены в заявке на разрешение испытаний в области генной терапии соматических клеток на человеке. За основу были взяты правила, регулирующие лабораторные исследования с рекомбинантными ДНК; они были лишь адаптированы применительно к биомедицинским целям.

Биомедицинское законодательство было пересмотрено и дополнено в 1970-х гг. в ответ на обнародование в 1972 г. результатов 40-летнего эксперимента, проводившегося Национальной службой здравоохранения США в Алабаме на группе из 400 неграмотных афроамериканцев, больных сифилисом. Эксперимент был поставлен для того, чтобы изучить естественное развитие указанного заболевания, передающегося половым путем, никакого лечения при этом не проводилось. Известие о таком чудовищном опыте на неинформированных о нем людях потрясло многих в США. Конгресс немедленно прекратил эксперимент и издал закон, запрещавший когда-либо впредь проведение подобных исследований.

Среди вопросов, адресуемых лицам, которые подавали ходатайство на разрешение экспериментов в области генной терапии соматических клеток, были следующие:

1. Что представляет собой заболевание, которое предполагается лечить?

2. Насколько оно серьезно?

. Существуют ли альтернативные методы лечения?

. Насколько опасно предполагаемое лечение для больных?

. Какова вероятность успеха лечения?

. Как будут отбираться больные для клинических испытаний?

. Будет ли этот отбор беспристрастным и репрезентативным?

. Как больные будут информироваться об испытаниях?

. Какого рода информацию следует им сообщать?

. Каким образом будет получено их согласие?

. Как будет гарантироваться конфиденциальность сведений о больных и проведении исследований?

Когда эксперименты в области генной терапии только начинались, большая часть заявок на клинические испытания вначале рассматривалась Комитетом по этике того учреждения, где предполагалось осуществлять исследования, и только потом они пересылались в Подкомитет по генной терапии человека. Последний оценивал заявки с точки зрения их научной и медицинской значимости, соответствия действующим правилам, убедительности доводов. Если заявка отклонялась, ее возвращали назад с необходимыми комментариями. Авторы заявки могли пересмотреть предложение и переработать его. Если заявка утверждалась, то Подкомитет по генной терапии обсуждал ее в публичных дискуссиях, используя те же самые критерии. После одобрения заявки на таком уровне директор Подкомитета утверждал ее и подписывал разрешение на клинические испытания, без которого они не могли быть начаты. В этом последнем случае особое внимание обращалось на способ получения продукта, методы качественного контроля его чистоты, а также на то, какие доклинические испытания были проведены, чтобы убедиться в безопасности продукта.

Но, поскольку число заявок со временем увеличивалось, а генная терапия становилась, по словам одного комментатора, «выигрышным билетом в медицине», принятая первоначально процедура утверждения заявок была признана неоправданно трудоемкой и избыточной. Соответственно после 1997 г. Подкомитет по генной терапии уже не входил в число учреждений, контролирующих исследования в области генной терапии человека. Если Подкомитет и будет существовать, то он, скорее всего, станет организатором форумов по обсуждению этических проблем, связанных с генной терапией человека. А пока требование, согласно которому все заявки в области генной терапии должны обсуждаться публично, снято. Учреждение, ответственное за контроль производства и использования биологических продуктов, проводит все необходимые оценки конфиденциально, чтобы гарантировать соблюдение права собственности разработчиков. В настоящее время генная терапия человека считается безопасной медицинской процедурой, хотя и не особенно эффективной. Высказывавшиеся ранее опасения рассеялись, и она стала одним из основных новых подходов к лечению заболеваний человека.

Большинство специалистов считают процедуру утверждения испытаний в области генной терапии соматических клеток человека в США вполне адекватной; она гарантирует беспристрастный отбор больных и их информированность, а также осуществление всех манипуляций должным образом, без причинения вреда, как конкретным больным, так и человеческой популяции в целом. В настоящее время в других странах тоже разрабатываются правила проведения испытаний в области генной терапии. В США это было сделано в результате тщательного взвешивания каждого предложения. Как сказал один из участников слушаний, организованных

Подкомитетов по генной терапии в январе 1989 г., доктор Уолтере: «Я не знаю никакой другой биомедицинской науки или технологии, которая бы подвергалась столь всесторонней проверке, как генная терапия».

Накопление дефектных генов в будущих поколениях

Существует мнение, что лечение генетических заболеваний с помощью генной терапии соматических клеток неизбежно приведет к ухудшению генофонда человеческой популяции. Оно основывается на представлении, что частота дефектного гена в популяции будет увеличиваться от поколения к поколению, поскольку генная терапия будет способствовать передаче мутантных генов следующему поколению от тех людей, которые до этого были неспособны произвести потомство или не могли дожить до половозрелого возраста. Однако эта гипотеза оказалась неверной. По данным популяционной генетики, для существенного повышения частоты вредного или летального гена в результате эффективного лечения требуются тысячи лет. Так, если какое-то редкое генетическое заболевание встречается у одного из 100 000 жизнеспособных новорожденных, то пройдет примерно 2000 лет после начала применения эффективной генной терапии, прежде чем частота указанного заболевания удвоится и составит 1 случай на 50 000.

Помимо того, что частота летального гена от поколения к поколению почти не повышается, в результате длительного лечения всех, кто в этом нуждается, генотип отдельных индивидуумов тоже остается неизменным. Это положение можно проиллюстрировать примером из истории эволюции. Приматы, в том числе и человек, неспособны синтезировать жизненно важный витамин С, они должны получать его из внешних источников. Таким образом, можно сказать, что мы все генетически дефектны по гену этого жизненно важного вещества. В противоположность этому амфибии, рептилии, птицы и млекопитающие, не относящиеся к приматам, синтезируют витамин С.

И тем не менее генетический дефект, обусловливающий неспособность к биосинтезу витамина С, не «помешал» успешной эволюции приматов на протяжении более миллионов лет.

Сходным образом, и коррекция других генетических дефектов не приведет к существенному накоплению «нездоровых» генов у будущих поколений.

Генная терапия клеток зародышевой линии

Эксперименты в области генной терапии клеток зародышевой линии человека сейчас строго запрещены, однако приходится признать, что некоторые генетические заболевания можно вылечить только таким путем. Методология генной терапии клеток зародышевой линии человека разработана пока недостаточно. Однако не вызывает сомнения, что с развитием методов генетического манипулирования на животных и диагностического тестирования преимплантационных эмбрионов этот пробел будет восполнен. Более того, поскольку генная терапия соматических клеток становится все более рутинной процедурой, это скажется и на отношении людей к генной терапии клеток зародышевой линии человека, и через некоторое время возникнет необходимость ее тестирования. Остается только надеяться, что к тому времени все проблемы, связанные с последствиями практического применения генной терапии клеток зародышевой линии человека, в том числе социальное и биологическое, будут урегулированы.

Считается, что генная терапия человека может помочь в лечении серьезных заболеваний. Действительно, она способна обеспечить коррекцию ряда физических и психических нарушений, хотя остается неясным, сочтет ли общество приемлемым такое применение генной терапии. Подобно любому другому новому медицинскому направлению, генная терапия клеток зародышевой линии человека вызывает многочисленные вопросы, а именно:

1. Какова стоимость разработки и внедрения методов генной терапии клеток зародышевой линии человека?

2. Должно ли правительство устанавливать приоритеты медицинских исследований?

. Не приведет ли приоритетное развитие генной терапии клеток зародышевой линии к свертыванию работ по поиску других способов лечения?

. Удастся ли охватить всех больных, которые в этом нуждаются?

. Сможет ли физическое лицо или компания получить исключительные права на проведение лечения конкретных болезней с помощью генной терапии?

Клонирование человека

Интерес общественности к возможности клонирования человека возник в 1960-х гг., после того как были проведены соответствующие эксперименты на лягушках и жабах. Эти исследования показали, что ядро оплодотворенной яйцеклетки можно заменить ядром недифференцированной клетки, и при этом эмбрион будет развиваться нормально. Таким образом, в принципе можно выделить ядра из недифференцированных клеток какого-либо организма, ввести их в оплодотворенные яйцеклетки того же самого организма и получить потомство с тем же генотипом, что и у родителя. Другими словами, каждый из организмов-потомков можно считать генетическим клоном исходного донорного организма. В 1960-е гг. казалось, что, несмотря на отсутствие технических возможностей, не составляет труда экстраполировать результаты клонирования лягушки на человека. В прессе появилось множество статей на эту тему, были даже написаны научно-фантастические произведения. Один из рассказов был посвящен клонированию вероломно убитого президента США Джона Ф. Кеннеди, однако более популярной темой было клонирование злодеев. Произведения о клонировании человека были не только неправдоподобными, но и пропагандировали ошибочную и весьма опасную идею, что личностные особенности, характер и другие качества человека обусловлены исключительно его генотипом. На самом же деле человек как личность формируется под влиянием, как своих генов, так и условий среды, в частности культурных традиций. Например, злостный расизм, который проповедовал Гитлер, - приобретенное поведенческое качество, не определяемое каким-то одним геном или их комбинацией. В другой среде с иными культурными особенностями из «клонированного Гитлера» не обязательно сформировался бы человек, подобный реально существовавшему Гитлеру. Сходным образом, из «клона матери Терезы» не обязательно «получилась» бы женщина, посвятившая свою жизнь помощи бедным и больным в Калькутте.

По мере развития методов репродуктивной биологии млекопитающих и создания различных трансгенных животных становилось все более очевидным, что клонирование человека - дело не столь отдаленного будущего. Предположение стало реальностью в 1997 г., когда была клонирована овечка, названная Долли. Для этого использовалось ядро дифференцированной клетки донорной суягной овцы. Методический подход, который использовался при «создании» Долли, в принципе пригоден для получения клонов любых млекопитающих, в том числе и человека. И даже если он не оправдает себя применительно к млекопитающим других видов, по-видимому, не потребуется слишком много экспериментов, чтобы разработать подходящий метод. В результате клонирование человека тотчас станет предметом любой дискуссии, затрагивающей этические проблемы генетики и биологической медицины.

Без сомнения, клонирование человека - сложная и противоречивая проблема. Для одних сама мысль о создании копии уже существующего индивидуума путем экспериментальных манипуляций представляется неприемлемой. Другие считают, что клонированный индивидуум - это то же самое, что и однояйцовый близнец, несмотря на разницу в возрасте, и, следовательно, клонирование по своей природе не злонамеренно, хотя, возможно, не так уж необходимо. Клонирование может дать положительный медицинский и социальный эффект, оправдывающий его проведение в исключительных случаях. Например, оно может оказаться жизненно важным для родителей больного ребенка. Ответственность за опыты по клонированию человека во многих странах регулируется законодательно, причем все исследования, связанные с клонированием человека, запрещены. Таких ограничений достаточно, чтобы исключить возможность клонирования людей. Однако вопрос о неизбежности клонирования человека обязательно возникнет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Революционные технологии, к которым относится и молекулярная биотехнология, редко встречают безоговорочную поддержку. Обеспокоенность общественности по поводу создания различных организмов методами генной инженерии имела серьезные последствия и привела к разработке строгих правил, регулирующих исследования в области рекомбинантных ДНК, и утверждению требований, которым должны удовлетворять биотехнологические продукты, поступающие на рынок. В этом реферате я попыталась рассмотреть различные аспекты регуляции исследований в области рекомбинантных ДНК, производства и потребления пищевых продуктов, полученных с помощью методов генной инженерии, высвобождения генетически модифицированных организмов в окружающую среду, экспериментов, связанных с генной терапией соматических клеток и клеток зародышевой линии, клонированием человека.

Правила, регламентирующие проведение экспериментов с рекомбинантными ДНК, были разработаны Национальными институтами здравоохранения США в конце 1970-х гг. и пересмотрены в начале 1980-х гг. Однако остались две неразрешенные проблемы. Во-первых, как регулировать производство и поступление на рынок продуктов, полученных с помощью генной инженерии? Во-вторых, как осуществлять контроль за высвобождением генетически модифицированных организмов в окружающую среду? Производители считают, что никакие специальные правила, регулирующие производство и поступление на рынок продуктов, полученных с помощью генно-инженерных технологий, не нужны и аргументируют свою точку зрения тем, что самое главное - природа продукта и его свойства, а не то, как он был получен. Такой подход используется в США для апробации фармацевтических препаратов. Однако по поводу пищевых добавок, полученных с помощью методов генной инженерии, возникают большие опасения. В целом учреждения США, которые несут ответственность за безопасность, как фармацевтических средств, так и пищевых компонентов, используют прецедентный подход для решения вопроса о безопасности пищевых продуктов, полученных с помощью методов генной инженерии. Каждый продукт должен пройти тестирование на соответствие ряду специфических критериев в зависимости от своей природы, прежде чем он будет разрешен к употреблению человеком.

Напротив, высвобождение организмов, полученных с помощью методов генной инженерии, в окружающую среду регулируется на основании общих правил. Сразу, после того как общественность узнала об экспериментах с рекомбинантными ДНК, возникли опасения, что ученые смогут получить - преднамеренно или случайно - организм, способный принести большой вред окружающей среде. В результате в США были разработаны специальные и достаточно жесткие правила, регламентирующие полевые испытания организмов, полученных с помощью методов генной инженерии.

Возможность генетического изменения человека всегда вызывала серьезные беспокойства. С методологической точки зрения генная инженерия человека подразделяется на генную терапию соматических клеток и генную терапию клеток зародышевой линии. Поскольку генная терапия клеток зародышевой линии может оказать нежелательное воздействие на последующие поколения, в настоящее время она запрещена. В то же время генная терапия соматических клеток становится все более важным методом лечения различных заболеваний человека. Разработанные в США правила, регламентирующие ее осуществление, включают нормы, регулирующие исследования в области рекомбинантных ДНК, и биомедицинские этические критерии, которым должны соответствовать все эксперименты, связанные с медициной.

После того как в 1997 г. удалось клонировать млекопитающее, овцу Долли, вопрос о клонировании человека привлек внимание общественности и вызвал бурные дискуссии. Сейчас все эксперименты по клонированию человека в большинстве стран запрещены. Однако вопрос о принципиальной возможности клонирования человека еще ждет своего решения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барбур И. Этика в век технологий. - М.: ББИ, 2001;

2. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология: Принципы и применение. - М.: Мир, 2002;

. Дженкинс М. 101 ключевая идея: Генетика. - М.:ФАИР-Пресс, 2002;

. Дубинин Н. П. Новое в современной генетике. - М.: Наука, 1986;

. Ичас М. Биологический код. - М.: Ми, 1971;

. Кольман Я. Наглядная биохимия. - М.: Мир, 2000;

. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия. - Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 1994.