

indicators are expressed in percentages and analyzed. It was clearly established that all four samples can be used in the further food industry.

Keywords: methodology, wheat grain, batches, organoleptic.

УДК: 631:147

ТРАНСГЕННІ ТВАРИНИ-БІОРЕАКТОРИ

А. В. Шешунова, здобувачка вищої освіти (magіstr), sheshunovan@gmail.com

Науковий керівник - канд. с.-г. наук, доцент **Крамаренко О. С.**

Миколаївський національний аграрний університет

В статті розглядається актуальна проблема, методи і напрямки трансгенезу для отримання біологічно активних речовин за допомогою трансгенних тварин-біореакторів.

Ключові слова: тварини-біореактори, біологічно активні речовини, трансгенез, трансгенні тварини, генна інженерія.

Постановка проблеми.

Актуальність та сучасність запропонованої в даній статті теми обумовлено тим, що важливим є питання необхідності і можливості використання трансгенних тварин для вирішення продовольчих проблем людства та забезпечення населення планети якісними медичними препаратами. В цьому питанні генна інженерія грає основну роль, використовуючи метод трансгенезу для отримання тварин-продуцентів (біореакторів) біологічно активних речовин.

Дана тема є не лише актуальною, а й перспективною. Наукові дослідження та практична робота в цьому напрямку будуть сприяти збільшенню поголів'я трансгенних тварин, розширенню видів тварин-біореакторів, створенню нових поколінь біологічно активних речовин. Також можна говорити про персоналізацію виробництва та застосування БАР.

В умовах війни зростає попит на нові матеріали для виробництва біосумісних протезів, імплантантів, швів, новітніх видів ліків.

Аналіз останніх досліджень та публікацій.

Дослідженням та розробці трансгенних організмів присвячено чимало наукових робіт [1,2]. Але, головним чином, в наукових роботах досліджувалися окремі напрямки проблеми, серед яких можна виділити:

- способи вироблення біологічно активних речовин, в тому числі і за допомогою трансгенних тварин-біореакторів;
- методи трансгенезу;
- медичні аспекти застосування БАР;
- методи створення генетично модифікованих тварин тощо.

Аналіз наукової літератури дає підстави стверджувати, що запропонована тема не була об'єктом цілісного дослідження, робіт з даної проблеми бракує.

Порівнюючи ступінь розробки проблеми у вітчизняній та зарубіжній літературі, треба зауважити, що зарубіжні науковці приділяли цій темі більшу увагу.

Ці фактори також надають актуальності та перспективності запропонованій темі.

Постановка завдання.

Виходячи з актуальності теми, ступеню її наукової розробки в працях зарубіжних та вітчизняних науковців, було поставлено за мету зібрати, вивчити, проаналізувати та узагальнити розрізнений, окремий матеріал саме по цій темі для отримання більш цілісного бачення та розуміння цього напрямку наукових досліджень. У даній роботі було зроблено акцент на історичному контексті використання тварин людиною, проаналізовано сучасні підходи до отримання біологічно активних речовин за допомогою тварин-біореакторів, визначено методи трансгенезу, що використовуються для продукування терапевтичних білків у молоці тварин.

Матеріали і методика.

Для написання цієї статті було використано описовий та аналітичний методи. Достовірність матеріалу даної статті спирається на наукову базу, що включає наукові статті вітчизняних та зарубіжних авторів, інтернет-джерела. Також автор в даній роботі спирався на методичний матеріал за вказаною темою – було використано різноманітні методи для свого дослідження: для відбору матеріалу та його класифікації, аналізу і узагальнення, структурування відібраного матеріалу. За результатами свого дослідження були зроблені висновки.

Результати досліджень.

Роль тварин в житті людини від давнини до сучасності

Тварини ще в давнину відігравали важливу роль в житті людини. Спочатку тварин розглядали лише в ролі годувальників, оскільки на них полювали заради м'яса, а також отримували з них жир, шкури, кістки, бивні, котрі застосовувалися в побуті.

Після одомашнення, тварини стали виконувати роль не тільки годувальників, а й помічників, охоронців, компаньйонів. В часи, коли тварини були приручені, вони перевозили вантажі та людей, охороняли оселі та захищали господарів, брали участь у полюванні та війнах, слугували естетичним об'єктом. Тварин стали розводити та використовувати в товарообміні (в живому, а не забитому стані).

Ще пізніше тварин використовували в медицині для вивчення фізіології та анатомії.

Приблизно у XV–XIX столітті, коли активно стала розвиватися наука, тварини стали незамінним об'єктом для біологічних досліджень, завдяки яким був зроблений прогрес у ветеринарії, медицині, фармакології, харчовій промисловості.

З настанням XX століття тварини відігравали одну з ключових ролей у вивченні імунології, генетики та біохімії. Дані дослідження дали базу для створення вакцин, гормональних препаратів, антибіотиків, розкрили механізми спадковості та розвитку хвороб.

На сучасному етапі тварини відіграють важливу роль у вирішенні світової продовольчої кризи. А також, завдяки генній інженерії, людство навчилося продукувати за допомогою трансгенних тварин фармацевтичні білки, гормони, антитіла та інші біологічно активні речовини (БАР), котрі неможливо отримати традиційними методами.

Біологічно активні речовини (БАР)

Біологічно активні речовини – сполуки органічного походження, котрі мають різну хімічну природу. Вони мають властивість впливати на метаболізм живих організмів та беруть участь у перетворенні енергії. Це молекули переважно білкової природи, але сюди належать також пептиди, ензими, гормони, деякі полісахариди та ліпіди. При потраплянні даних речовин в організм, змінюються фізіологічні або біохімічні процеси в ньому. Тобто, БАР потрібні для нормального функціонування всіх процесів в організмі та для здоров'я людини загалом.

До біологічно активних речовин належать:

- гормони;
- вітаміни;
- білки й пептиди;
- ферменти (ензими);
- нуклеїнові кислоти;
- амінокислоти;
- ліпіди та жирні кислоти;
- вуглеводи біологічної дії;
- вторинні метаболіти рослин;
- фактори згортання крові;
- вакцини та антитіла.

БАР потрапляють до організму кількома шляхами:

- перорально з їжею або препаратами через ротову порожнину, наприклад вітаміни, ферменти, амінокислоти;
- парентеральним способом через ін'єкції;
- трансдермально через шкіру (косметичні засоби);
- через легені;
- сублінгвально під язик;
- ректально;
- деякі речовини організм здатен синтезувати сам.

Біологічно активні речовини характеризуються:

- специфічною біологічною дією;
- фармакологічною активністю;
- складною тривимірною структурою;
- посттрансляційними модифікаціями;
- суворими вимогами до чистоти та стабільності.

Дані речовини класифікують стосовно застосування:

- терапевтичні, тобто ті, котрі застосовують для лікування пацієнтів;
- діагностичні;
- харчові біологічно активні добавки (БАД);

- промислові;
- косметичні.

Вимоги при виробництві БАР для медичного використання:

- повинні володіти високою біологічною активністю;
- мають бути біосумісними з організмом;
- імунна відповідь організму на такі речовини повинна бути відсутня, але якщо це вакцини, то імунна відповідь повинна бути контрольованою;
- коректне глікозилювання (перетворення еукаріотичних білків);
- суворе дотримання фармакопейних стандартів при виробництві та реалізації.

Перевагою тварин-біореакторів є те, що вони здатні до синтезу складних правильно модифікованих білків у великому масштабі при відносно невеликій вартості процесу.

Тварини – продуценти біологічно активних речовин

Біологічно активні речовини навчилися виробляти штучно декількома способами: мікробіологічний синтез; хімічний синтез; клітинні культури тварин; ферментативний синтез; комбіновані методи тощо.

Зараз популярності набуває синтез біологічно активних речовин з молока трансгенних тварин, котрих називають біореакторами. Цей метод синтезу, в порівнянні з іншими, має ряд переваг: трансгенні тварини володіють високою продуктивністю; здатні синтезувати білки ідентичні людським; в їх молоці міститься висока концентрація біологічно активних речовин (35 г. на 1 літр); продукують речовини, котрі неможливо отримати іншими методами. Речовини, продуковані цим методом, високоактивні, відносно недорогі, менш алергенні для людей [1].

За допомогою трансгенезу з тваринним молоком отримують досить широкий спектр біологічно активних речовин:

- людські терапевтичні білки та коагулянти. До них належать гормони (інсуліноподібні фактори, фактори росту), фактори згортання крові та антитромботичні білки. Їх застосовують для замісної терапії, лікуванні кровотеч, генетичних дефіцитів (порушеннях);
- антитіла та рекомбінантні моноклональні антитіла. Це імуноглобулін IgG, Fab-фрагменти. Ці речовини потрібні для терапії раку, автоімунних захворювань та діагностики;
- ферменти і метаболічні білки. Їх застосовують при дефіциті ферментів в організмі, а також в фармацевтичній та харчовій промисловості;
- білки з біологічною або структурною функцією. Сюди відносяться колаген, еластиноподібні білки, фактори росту, котрі додають до доглядових та лікувальних косметичних засобів;
- вакцинні білки та вірусоподібні частини. До них входять рекомбінантні антигени для вакцин, VLP (virus-like particle) для безпечного індукування імунної відповіді;
- проконверсійні чи модифіковані молекули з поліпшеною стабільністю. Глікопротеїни з модифікаціями глікозилювання, що підвищують період напіврозпаду в крові;

- глікопротеїни з модифікаціями глікозилування, що підвищують період напіврозпаду в крові. Білки для імуноаналізів, реактиви з великим обсягом виробництва.

Одними з перших тварин, котрі зазнали генетичних модифікацій заради продукування корисних для людини речовин, стали миші. Використання цих тварин для трансгенезу пов'язано з тим, що ці тварини зручні та дешеві в утриманні, швидко розмножуються, добре вивчені в генетичному плані, близькі до людини (понад 85% генів мишей гомологічні людським).

У 1987 році науковці з США створили трансгенних мишей, в молоці котрих містився активатор плазміногену tPA, котрий розсмоктував тромби в крові хворих людей [2].

Після досліджень на мишах вчені перейшли до експериментів на більш крупних та продуктивних тваринах. Так у 1988 році були створені трансгенні вівці, котрі з молоком продукували фактори зсідання крові за допомогою яких лікували гемофілію. Переважно, в цьому напрямку в якості трансгенних тварин –біореакторів використовують велику та малу рогату худобу [3].

Вилучення біологічно активних речовин з молока

Після вилучення молока, котре містить біологічно активні речовини, його піддають очистці та фармацевтичній обробці. Це потрібно для того, щоб надати отриманим БАР кінцеву товарну форму, зробити їх безпечними для споживання. Попередня обробка такого молока включає процедуру фільтрації, знежирення, виділення казеїну, пастеризації. Після цього слідує видалення білків та інших речовин з молока за допомогою методів осадження, фільтрації, хроматографії, ультрацентрифугування, діалізу. Отримані речовини піддаються високому очищенню, перевіряються на стерильність, відсутність алергенів, вірусів та бактерій. Після попередніх маніпуляцій, отриманим речовинам надають товарну форму. Для цього їх сушать ліофільним методом, додають стабілізатори та фасують у флакони, ампули, шприц-ручки, капсули тощо.

Методи створення трансгенних тварин-біореакторів

Саме по собі молоко тварин не містить потрібних БАР, тому організм тварини необхідно генетично модифікувати. Створення генетично модифікованих організмів стало можливим завдяки трансгенезу.

У даному випадку отримання БАР, трансгенез спрямований на молочну залозу самиць тварин, оскільки це ефективно, високопродуктивно та зручно. Молочна залоза здатна до синтезу великої кількості білків, дає можливість легко зібрати та підготувати кінцевий продукт до споживання, забезпечує правильні посттрансляційні модифікації. Завдяки цьому тварина лишається неушкодженою та не зазнає травм (вироблення в крові або печінці потребує медичного втручання), це гуманний спосіб вилучення.

Для трансгенезу ген, котрий відповідає за синтез потрібної речовини, необхідно вбудувати в геном тварини, щоб він експресувався в молочній залозі й БАР утворювалися в молоці.

Існує кілька методів перенесення генів, котрі застосовуються для створення тварин-біореакторів:

- перенесення чужорідних генів за допомогою ретровірусів;

- мікроін'єкції ДНК в ядро зиготи;
- клітинна інженерія ембріональних клітин та клонування;
- редагування геному (новітній метод) [3], [4] .

Модифіковані тварини дають потомство, котре володіє такими ж властивостями, як і батьківські особини, тобто також здатні до синтезу біологічно активних речовин.

Загальний процес створення трансгенних тварин-біореакторів

Технологія створення трансгенних тварин-біореакторів являє собою процес введення в геном тварини генів іншого організму для подальшого синтезу корисних речовин.

Оскільки процес довготривалий, він складається з кількох послідовних етапів.

Підготовчі етапи включають:

- вибір відповідного гену. На початку слід визначити, яка саме речовина (білок) повинна отримуватися в результаті синтезу і відбирається відповідний ген, котрий кодує цей білок;
- створення генетичної конструкції. Ген поєднують зі спеціальними регуляторними елементами, які «покажуть» організму, де саме потрібно виробляти білок – найчастіше в молочних залозах, щоб він синтезувався у молоці;

Основні етапи:

- введення гена в клітину або ембріон (трансгенез). Є кілька способів «вбудувати» новий ген у організм тварини: мікроін'єкція в яйцеклітину або ембріон під мікроскопом; вірусні вектори (віруси як «транспортери» генетичного матеріалу); метод CRISPR/Cas9 – точне редагування ДНК; клонування (SCNT) – спочатку змінюють ДНК клітини, а потім її ядро переносять в яйцеклітину.

Фінальні етапи:

- розвиток ембріона та народження тварини. Оброблений ембріон переносять в матку сурогатної матері. Якщо все пройшло успішно, народжується трансгенна тварина – носій нового гена;
- Перевірка генетичної модифікації. Після народження тварину обов'язково досліджують: чи вставився ген у ДНК правильно; чи працює він; чи виробляється потрібний білок (наприклад, у молоці). Це роблять лабораторними методами (PCR, аналіз білків тощо).
- Розмноження тварин. Якщо результат задовільний – таких тварин розводять, щоб створити ціле стадо/лінію.
- Отримання цільового продукту. Білок (лікарський препарат) виділяють із молока, яєць або іншого біоматеріалу, очищають, контролюють якість, використовують у медицині.

Висновки і перспектива подальших досліджень.

- Тварини грають велику роль в повсякденному житті людини.
- Особливе місце на сучасному етапі займають трансгенні тварини-біореактори.

- Тварини-біореактори продукують біологічно активні речовини, котрі необхідні для здоров'я та нормального функціонування організму людини.
- Основним методом створення трансгенних тварин є трансгенез.
- Існує кілька напрямів трансгенезу, для перенесення чужорідних генів.
- Проблема охоплює цілий спектр напрямків наукової діяльності в галузях біотехнології, генетики, медицини, фармакології, фармацевтики, сільського господарства тощо і носить перспективний характер;
- В сучасній науковій літературі, особливо вітчизняного характеру, бракує досліджень за визначеною темою.

Список використаних джерел

1. Шигимага В. О. Біоінженерні методи отримання і застосування трансгенних тварин. Методичні вказівки до виконання практичної роботи. URL: <https://repo.btu.kharkiv.ua/server/api/core/bitstreams/821ed8aa-9f3a-4b48-bb39-fl921ae596cd/content#:~:text=Важливою%20віхою%20в%20історії%20застосування%20трансгенних%20тварин,став%20рекомбінантний%20анти тромбін%20III%20з%20комерційною%20назвою>
2. Gordon K., Lee E., Vitale J. A., Smith A. E., Westphal H., Hennighausen L. Production of human tissue plasminogen activator in transgenic mouse milk. 1987 Nature Publishing Group. URL: <https://scispace.com/pdf/production-of-human-tissue-plasminogen-activator-in-1b7sn6v714.pdf>
3. Матіюк В. В., Шаферівський Б. С. Трансгенез, як напрямок генної інженерії. URL: share.google/F8kYCPtQ18oe5IWKk
4. Федоренко О., Стойка Р. Із спостережень над трансгенезом у тварин. Наукове товариство ім. Шевченка – Онлайн-журнал Товариства. URL: <http://ntsh.org/content/iz-sposterezhen-nad-transgenezom-u-tvarin>

Sheshunova A. TRANSGENIC ANIMALS-BIOREACTORS

The article considers the current problem, methods and directions of transgenesis for obtaining biologically active substances using transgenic animals-bioreactors.

Key words: animals-bioreactors, biologically active substances, transgenesis, transgenic animals, genetic engineering.