Клонирование

По материалам статей: «ПостНаука»; «Sbio.info»; «Э Л Е М Е Н Т Ы»; «tinlib.ru».

**Актуальность**

XX век стал веком величайших открытий во всех областях естествознания, веком научно-технической революции, которая изменила и облик Земли, и облик ее обитателей. Но что если не все открытия не так безопасны и полезны, какими кажутся на первый взгляд? Одним из ярких примеров достижений ученых, с проблемностью которых человечеству ещё не раз придется столкнуться, является клонирование. Клонирование – это процесс, в ходе которого живое существо производится от единственной клетки, взятой от другого живого существа. *Путём клонирования можно создать любой живой организм или его часть, идентичный уже существующему или существовавшему, если сохранилась информация о его нуклеарных геномах.*

Клон – (от греч. сlon – отпрыск, ветвь) это группа клеток или организмов, происшедших от общего предка путём бесполого размножения и являющихся генетически идентичными. Примером клона можно назвать группу бактериальных клеток, образовавшихся в результате деления исходной клетки, потомков морской звезды, регенерировавших из частей разделённого материнского организма, а также все кусты или деревья, полученные путём вегетативного размножения. Однако млекопитающие не могут размножаться путём клонирования, в противном случае, они бы утратили способность давать начало новому организму. Но даже ядро дифференцированной клетки сохраняет способность давать начало новому организму.

Суть клонирования проста: требуется две клетки – одна, которая будет донором ядра и хозяин которой клонируется, и яйцеклетка, развитием которой и будет управлять подсаживаемое ядро.

**История**

1902 год – Ганс Шпеманн проделывает опыт по разделению раннего эмбриона саламандры. Обе части зародыша развиваются в нормальных животных. Опыт доказывает, что даже отдельные клетки содержат информацию, достаточную для формирования целого нового организма. В 1928 – Шпеманн производит первую пересадку клеточного ядра, тем самым закладывая основы метода, который будет ключевым в будущих экспериментах по клонированию. В 1952 – Бриггс и Кинг путём клонирования получают поколение головастиков, а уже в 1962 – Дж. Гердон получает клон лягушки, выращенный из дифференцированных клеток взрослого животного. В 1963 – Дж.Б.С. Холдейн вводит термин "клон". В 1984 – Стин Вилладсен сообщает, что ему удалось клонировать овцу из клеток недельного эмбриона путём так называемого "сдваивания". А в 1996, июле – произошло рождение овцы Долли, первого крупного животного, клонированного с использованием ДНК взрослого животного (клеток молочной железы). Опыт удался с 276 попытки. Официально это событие было освещено лишь в 23 февраля 1997. После Долли учёные шотландского Института Рослин (Roslin Institute) клонировали ещё 7 ягнят трёх различных пород. 1997 год, июль – команда учёных, клонировавших Долли, представляет Поли – клонированную овцу, содержащую человеческие гены. Развитие темы относительно получения необходимых человеку белков от клонированных животных в промышленном масштабе. В 2002 году, 27 декабря – Clonaid сообщает о рождении *первого клонированного ребёнка* (девочки Евы). По их словам, ребёнок, появившийся на свет путём кесарева сечения 26 декабря, при рождении имел вес около 3,1 кг и чувствует себя вполне нормально.

**Основная** **стратегия**

1. Помещение тканевых клеток донора в условия, где они не способны к росту и делению.
2. Извлечение из них ядра.
3. Извлечения неоплодотворенной яйцеклетки из другого донора.
4. Удаление из них ядра.
5. Введение ядра из тканевой клетки в неоплодотворенную яйцеклетку.
6. Рост эмбриона в течение 7-ми дней.
7. Вживление эмбриона суррогатной матери.
8. Рождение клонированного животного.

**Основа** **клонирования**

Запускание в клетку «одинокой» вставки (то есть, гена самого по себе, безо всякого сопровождения) — дело бесперспективное. В клетке плавает множество расщепляющих ДНК ферментов (нуклеаз), которые набросятся на беззащитную вставку и разрежут ее на кусочки, в результате чего она исчезнет, не успев совершить ничего полезного, а клонирование провалится*. Поэтому, для защиты вставки, ее встраивают в специальное «транспортное средство» - вектор.* В самом элементарном случае вектор— это просто последовательность ДНК, в которую вшивается вставка, и которая помогает ей не пропасть в клетке, выполнить свое предназначение. Существует несколько видов векторов, но среди исследователей самые популярные — плазмиды. Плазмиды - это довольно короткие и обычно кольцевые молекулы ДНК, которые плавают в цитоплазме бактериальной клетки. Они не связаны с бактериальной хромосомой и могут реплицироваться независимо от нее. Могут «выплевываться» бактерией в окружающую среду или, наоборот, из этой окружающей среды «проглатываться». С помощью плазмид бактерии обмениваются друг с другом генетической информацией, — например, передают соседям устойчивость к какому-нибудь антибиотику. Для создания вектора из плазмид, она должна обладать следующими свойствами:

* Плазмида обязана в клетке размножаться, реплицироваться, потому что иначе она быстро подвергнется деградации, а вместе с ней исчезнет и ген-вставка. Для этого в ней должна быть специальная последовательность под названием «точка начала репликации», с которой и начинается удвоение ДНК.
* В ДНК плазмиды должны быть участки, в которых ее можно будет разрезать, чтобы вшить туда вставку.

Существуют так же другие вектора, они обычно используются для длинных вставок:

* Космида - гибрид плазмиды и фага (вируса, который заражает бактерии). По сути дела, это просто плазмида, в которую добавлены сайты для связывания с белками оболочки фага (они называются cos-сайтами, и именно благодаря им космиды получили свое название). Белковая оболочка делает космиду стабильнее, благодаря чему в нее можно загружать более длинные вставки.
* Искусственные хромосомы — это сложные и крупные конструкции, являющиеся, по сути, [микрохромосомами](http://en.wikipedia.org/wiki/Microchromosome). Они относительно стабильны и при этом обладают гигантской емкостью: в них можно вставлять сразу несколько генов. Однако из-за огромных размеров их гораздо труднее засунуть в клетку.
* Вирусные.

Вирусы — это молекулы ДНК или РНК, упакованные в белковую оболочку (а иногда завернутые в липидный слой со встроенными в него вирусными белками). Именно оболочка играет главную роль в проникновении вируса через клеточную мембрану, поэтому если засунуть в эту оболочку невирусную нуклеиновую кислоту, то она тоже сможет попасть в клетку. На этом принципе основано использование вирусных векторов. Пожалуй, вирус — это самое эффективное транспортное средство для доставки в клетку генетического материала. Чтобы сделать вирусный вектор, нужно для начала подобрать подходящий вирус. Идеальный кандидат:

1. Стабилен — то есть, не склонен к спонтанным геномным перестройкам;
2. Ёмок — то есть, может вместить в себя даже самую большую вставку;
3. Не влияет на жизнедеятельность клетки;
4. Не вызывает иммунного ответа;
5. Встраивает свой геном не в первое попавшееся место генома хозяина (это может привести к непредсказуемым последствиям и вообще «замылить» результаты экспериментов), а в какую-нибудь определенную точку (а еще лучше — в точку, заданную самим исследователем).

**Методы** **клонирования**

1. **Трансплантация ядер.** Протекает в два этапа: сначала тонкой микропипеткой прокалывают зоны пеллюцида и плазматической мембраны и извлекают пронуклеусы, а затем другой пипеткой, большего диаметра (12 мкм) в то же отверстие вводят диплоидное ядро донора. В этом случае меньше травмируется цитоплазма зиготы и транспортируемое ядро донора. Трансплантация ядер может осуществляться и другим способом, с использованием цитохалазинов (веществ, синтезируемых грибами).
2. **SLIC (Sequence and Ligation-Independent Cloning).** Метод является модификацией известного метода *LIC* (Ligation-Independent Cloning) - клонирования без использования лигазы (фермент, катализирующий соединение двух молекул с образованием новой химической связи). При вставлении фрагмента ДНК в вектор с помощью метода LIC, достаточно смешать вектор и вставку, на концах, которых расположены протяженные одноцепочечные участки, дополняющие друг друга. При этом вставка "прилипает" к вектору, образуя рекомбинантную плазмиду с никами в обеих цепях. Полученной плазмидой трансформируют Е.coli, система репарации, которой восстанавливает нормальную структуру плазмиды. В отличие от метода LIC, в методе SLIC: "слипание" вектора и вставки проводят в присутствии белка RecA. Это упрощает саму процедуру клонирования.
3. **Генетическое программирование клеток кожи.** Метод предполагает генетическое перепрограммирование клеток кожи, в результате которого они возвращаются в квазиэмбриональное состояние.

**Задачи** **клонирования**

1. Клонирование органов и тканей.
2. Возможность бездетным людям иметь детей.
3. Возможность генетических исследований.
4. Клонирование выдающихся личностей.
5. Клонирование «терапевтических белков» в с/х животных.

**Клонирование человека**

Клонирование человека — это создание его генетической копии. Если создается эмбрион, стволовые клетки которого будут позже использованы в медицинских целях — речь идет о терапевтическом клонировании. Рост и превращение эмбриона в готового человека называется репродуктивным клонированием. Важно понимать, что хотя генотип наследуется идентичный, фенотип будет, конечно же, разный. Механизмклонирования сводится к технологии переноса ядра. Сначала изымается яйцеклетка (ооцит), у которой удаляется “родное” ядро (вся генетическая информация) и заменяется ядром или ДНК будущего клона. Через 5-6 суток из этой клетки образуется бластоциста (первая стадия эмбриона), которая несет в себе эмбриональные стволовые клетки. Преимущество последних заключается в том, что такие клетки тотипотентны, то есть могут путем деления превращаться в любые типы клеток организма.

Вполне логично, что история клонирования человека началась с опытов над животными. Все слышали об овце Долли появившейся на свет в 1996 году в ходе эксперимента по клонированию под руководством Яна Вилмута и Кейта Кэмпбелла. В 277 яйцеклеток были перенесены ядра из ткани вымени шестилетней овцы-донора. Было образовано 29 эмбрионов, из которых выжил всего один. Следует обратить внимание на тот факт, что всего лишь через год после рождения Долли, в Европе был принят дополнительный *протокол о запрете клонирования человека* 1998 г. к Конвенции Совета Европы о правах человека в биомедицине 1996 г. Причиной такого запрета были проблемы как этического (примерка роли Бога для создания жизни, правовой статус будущих клонов, отношение в обществе и т.д.), так и технического характера (маленький процент удачных клонирований, непредсказуемое развитие и рост клонов, сопровождающееся болезнями и телесными дефектами). Тем не менее, сейчас повсеместно запрещено только репродуктивное клонирование человека, терапевтическое напротив разрешено в ряде стран, в виду своего колоссального значения в сфере спасения жизней. Впрочем, и тут есть ярые противники, особенно в вопросе о том, является ли 6-дневный эмбрион человеком или нет.

Можно сказать наверняка, что на современном уровне развития технологий, перспективы терапевтического клонирования выглядят куда радужнее репродуктивного. Исследования в области эмбриональных стволовых клеток помогут найти лекарства от неизлечимых болезней, а также значительно продлить срок жизни человека путем трансплантации “изношенных” органов. Репродуктивное клонирование человека в этом плане пока что отстает. Связано это в первую очередь с несовершенством текущей технологии (малый процент успешных клонирований среди животных, генный брак, высокая смертность и т.д.). Но даже если решить технологические изъяны, какой толк от клона, имеющего совершенно иной фенотип и жизненный опыт. Пока мы не научимся загружать воспоминания в новое тело и мозг в частности, разработки в этой сфере будут находиться под юридическим запретом во всех странах мира. Что, впрочем, не помешает секретным лабораториям исправно поставлять на черный рынок клонов всемирных селебрити для индивидуального пользования.

**Возможные риски**:

1. Вероятная угроза индивидуальности.
2. Потеря генетической вариативности.
3. Риск появления "черного рынка" плодов, когда люди захотят клонировать себя.
4. Клоны будут считаться "второсортными" людьми.
5. Неизвестный психосоциальный вред, который повлияет на семью и общество.

!ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ!