**ЛЕКЦИИ**

**МОДЕЛЬНЫЕ ОБЪЕКТЫ ГЕНЕТИКИ**

**Алматы**

**Лекция 1.**

**История модельных организмов. Модельные объекты генетики разного уровня организации (вирусы, бактерии, растения, животные).**

**Модельные объекты и их роль в генетическом анализе.**

**Цель:** ознакомить студентов с историей модельных организмов генетики.

**План занятия:**

1. История модельных организмов.
2. Модельные объекты генетики разного уровня организации (вирусы, бактерии, растения, животные).
3. Роль модельных объектов в генетике.

Особую роль в генетическом анализе играют так называемые модельные объекты, работая с которыми исследователь может значительно ускорить и облегчить процесс анализа. Модельным объектом обычно считают организмы, удовлетворяющие большинству требований экспериментатора при решении определенной генетической задачи, прежде всего обеспечивающие большую разрешающую способность анализа.

Модельные организмы — организмы, используемые в качестве моделей для изучения тех или иных свойств, процессов или явлений живой природы. Модельные организмы интенсивно изучаются, причем одна из причин этого — надежда на то, что открытые при их изучении закономерности окажутся свойственны и другим более или менее похожим организмам, в том числе и человеку. Часто модельные организмы используются в тех случаях, когда проведение соответствующих исследований на человеке невозможно по техническим или этическим причинам. Использование модельных организмов основано на том, что все живые организмы имеют общее происхождение и сохраняют много общего в механизмах хранения и реализации наследственной информации, метаболизме и др.

Впервые внимание к важности модельных объектов в генетических исследованиях привлек И. Г. Мендель. Он посвятил этому вопросу специальный раздел в работе "Опыты над растительными гибридами", так и назвав его: "Выбор подопытных растений". Он писал, что выбор растительной группы, которая будет служить опытам, должен быть сделан с наивозможной осторожностью, если мы не хотим подвергнуть риску самый успех опыта (1965). И далее перечислял качества, особенности растений, у добных для генетических опытов: наличие у них константных альтернативно проявляющихся признаков, хорошая плодовитость гибридов, простота постановки скрещиваний, сравнительно короткий период вегетации.

Со времен Менделя в практику генетических исследований введены многие модельные объекты, которые используются для решения различных генетических задач. Это дрозофила, кукуруза, мышь, арабидопсис, дрожжи, нейроспора, кишечная палочка (Е. coli) и др.

Модели — это организмы с большим количеством биологических данных, которые сделать их привлекательными для изучения в качестве примеров для других видов и/или природные явления, которые труднее изучать непосредственно. Непрерывные исследования этих организмов сосредоточены на широком спектре экспериментальные методы и цели из многих различных уровней биология - от экологии, поведения и биомеханики, вплоть до крошечный функциональный масштаб отдельных тканей, органелл и белков.

Запросы о ДНК организмов классифицируются как генетические модели. (с коротким временем генерации, такие как плодовая муха и нематода червь), экспериментальные модели и геномные модели, исследующие центральное место в эволюции. Исторически модельные организмы включают несколько видов с обширными данными геномных исследований. Следовательно, модельный организм — это нечеловеческий вид, который изучается с целью понимать конкретные биологические явления с расчетом что открытия, сделанные в модельных организмах, дадут понимание в работе других организмов.

В генетических исследованиях используются модельные организмы. Повторное открытие законов Менделя в 1900 г. при работе с разнообразными организмами подтвердило основные принципы наследования и их универсальность для растений и животных. Постепенно генетики сосредоточились на небольшом количестве модельных организмов, включая фруктовую муху (Drosophila melanogaster) и мышь (Mus musculus) (рис. 1.13). Для этого было две причины: во-первых, выяснилась общность генетических механизмов для большинства видов, во-вторых, эти модельные организмы оказались очень удобными для генетических исследований. Их легко разводить, жизненный цикл у них достаточно короткий, при этом они очень плодовиты, а генетический анализ этих организмов несложен. Со временем был создан огромный каталог мутантных линий этих организмов, а сами мутации досконально изучены, охарактеризованы и картированы. Эти виды стали модельными организмами и активно используются для исследования основных биологических процессов. В дальнейшем мы увидим, как исследование модельных организмов проясняет многие вопросы биологии, включая механизмы старения, опухолевого роста, работы иммунной системы и поведения.

***Модельные организмы в современной генетике.*** Постепенно генетики расширили список модельных организмов, включив в него вирусы, например, Т-фагов и фаг лямбда, и микроорганизмы – бактерию *Escherichia coli* и дрожжи *Saccharomyces cerevisae* (рис. 1.14).

Позже к этим видам присоединили другие организмы, три из них показаны на фотографии в начале этой главы. Исследование каждого из таких видов позволяет решать проблемы эмбрионального развития. На примере круглого червя *Caenorhabditis elegans* исследуются развитие и функции нервной системы, поскольку нервная система этой нематоды содержит лишь несколько сотен нервных клеток, судьбу которых, а также и всех других клеток тела, можно проследить. Небольшое растеньице *Arabidopsis thaliana* с коротким жизненном циклом стало моделью для изучения многих проблем биологии растений. Полосатая рыбка *Danio rerio* используется для исследования развития позвоночных, поскольку эти рыбки малы, быстро размножаются, а их икринки и личинки прозрачны.

**Модельные организмы** — это виды, которые широко используются в лабораторных исследованиях, так как их легко разводить и содержать. На их примере изучают поведение животных и генетику.

Модельные организмы, а именно плодовые мушки, помогли Томасу Ханту Моргану совершить революционное открытие: установить, что признаки наследуются при помощи хромосом. В начале 1900-х гг. Морган в своей лаборатории в Колумбийском университете, получившей прозвище «комната мух», несколько лет кряду разводил в сосудах дрозофил *Drosophila melanogaster.* Они были выбраны для генетических исследований потому, что быстро размножаются и часто дают мутации, что позволяет исследовать генетику в действии. Морган разводил особей с разным цветом глаз и формой крыльев и искал различия в их хромосомах.



*Рыжая, или амбарная, крыса — которая не всегда имеет такой цвет, — это модельное млекопитающее, с помощью которого изучают поведение, обучаемость и воздействие лекарств*

## Как выбирают модельные организмы?

В качестве модельных организмов в исследованиях обычно используют дрожжи, бактерии, кресс-салат, круглых червей, плодовых мушек, мышей, крыс, рыбок данио, морских свинок и кроликов. А потому разговоры о подопытных кроликах имеют под собой твердую почву. Эти виды легко содержать в лабораториях, и они быстро размножаются, поэтому за короткий период можно изучить несколько поколений. Опыты на подобных видах помогли нам понять, как работает наследственность, как растут и делятся клетки, как живые существа запасают и используют энергию. На модельных организмах также тестируют лекарства и новые методы в медицине.



*Генетические исследования часто проводят на плодовых мушках Drosophila, так как они часто демонстрируют мутации. Кроме того, хромосомы у этих мушек крупные, а потому их легко изучать*

## Успех модели

В конце 1800-х гг. опыты с морскими свинками позволили Эмилю фон Берингу разработать антитоксин для лечения дифтерии. В 1920-х гг. Фредерик Бантинг занимался исследованием собак, и это помогло создать инсулин для больных диабетом. Иногда в лабораторных тестах используют приматов, так как их физиология и поведенческие реакции похожи на человеческие. В 1940-х гг. усилиями Джонаса Солка была создана вакцина от полиомиелита, спасшая миллионы жизней, — он изучал макак-резусов.

Есть много модельных организмов. Одна из первых модельных систем для Молекулярной биологией была бактерия Escherichia coli (грамм отрицательный прокариотический модельный организм), который является распространенным. Состав пищеварительной системы человека. несколько из бактериальных вирусы (бактериофаги), инфицирующие кишечную палочку, также оказались очень полезными для изучения структуры генов и регуляции генов (например, фагов лямбда и Т4). Однако бактериофаги не являются организмами, потому что у них отсутствует метаболизм и они зависят от функций хозяина клетки для размножения.

У эукариот некоторые дрожжи, особенно *Saccharomyces cerevisiae* (пекарские или почковательные дрожжи) широко используются в генетике и клеточной биологии, в основном потому, что они быстро и легко выращивать. Клеточный цикл у простых дрожжей очень похож к клеточному циклу человека и регулируется гомологичными белки. Плодовые мушки, например, *Drosophila melanogaster* (один из самых известных моделей для экспериментов) изучается часто, потому что легко выращивается, имеет различные видимые врожденные черты и имеет политенную (гигантскую) хромосому в слюнных железах, которую можно исследовать под световым микроскопом.

Аскариды (нематоды), *Caenorhabditis elegans* изучаются, потому что они очень удобные модели развития, включающие фиксированное количество клеток, и это можно быстро проанализировать на аномалии.

**Контрольные вопросы:**

1. История модельных организмов.
2. Модельные объекты генетики разного уровня организации (вирусы, бактерии, растения, животные).
3. Роль модельных объектов в генетике.

**Лекция 2.**

**Выбор модельных организмов и их особенности.**

**Критерии отбора организмов в качестве модельных объектов.**

**Цель:** ознакомить студентов с критериями отбора организмов в качестве модельных объектов.

**План занятия:**

1. Модельные организмы и их особенности.
2. Критерии отбора организмов в качестве модельных объектов.

Модельный организм — это организм, используемый в качестве модели в исследованиях, направленных на то, чтобы изучить его свойства, его реакции на те или иные раздражители и перенести полученные результаты на свойства и реакции других организмов.Часто использование модельных организмов становится неизбежной необходимостью, когда речь идет об исследованиях на человеке, невозможных в силу этических или технических причин.

Следует, однако, подчеркнуть, что перенос свойств одного организма на другой не всегда является правомерным и результаты такого действия в основном носят вероятностный характер. Чтобы максимально приблизить степень этой вероятности к 100%, организм, претендующий на статус модельного, должен быть изучен как можно тщательнее. Еще одно требование к модельным организмам заключается в том, чтобы их можно было, если это возможно, легко содержать и разводить в лабораторных условиях. Для организмов, которые ученые используют в качестве модельных, характерна быстрая смена поколений. Также над этими организмами легко проводить генетические манипуляции.

Модельные организмы охватывают весь ряд организмов, существующих на Земле. Исторически сложилось, что модельные организмы стали первыми среди соответствующих групп организмами, геном которых был полностью секвенирован. В дальнейшем наличие полностью секвенированного и расшифрованного генома стало важным требованием для использования организма в качестве модельного в биохимии, генетике, молекулярной биологии и большинстве других областей. Самые известные из модельных организмов — кишечная палочка Escherichia coli, одноклеточная зеленая водоросль хламидомонада, плодовая мушка дрозофила, из множества модельных растений — тополь и рис, из животных — домашняя мышь, свинья и обезьяна. Модельными становятся организмы, по которым уже накоплено много научных данных. Обычно модельным организмом специально занимаются несколько лабораторий или исследовательских групп, а по результатам его изучения опубликовано от нескольких сотен до многих тысяч статей.

В качестве модельных выбирают обычно организмы, которых легко содержать и разводить в лабораторных условиях (Escherichia coli, Tetrahymena thermophila, Arabidopsis thaliana, Caenorhabditis elegans, Drosophila melanogaster, Mus musculus). Дополнительными преимуществами является короткое время генерации (быстрая смена поколений), возможность генетических манипуляций (наличие инбредных линий, в случае многоклеточных возможность получения стволовых клеток, разработанные методы генетической трансформации).

Дополнительными причинами для выбора данного объекта в качестве модельного может служить его положение на филогенетическом древе: например, макак-резус является важным модельным организмом для медицинских исследований из-за своего относительно близкого родства с человеком (по той же причине для полной расшифровки был выбран геном шимпанзе).

Наконец, для некоторых областей исследований выбор объекта в качестве модельного определяется прежде всего особенностями его строения. Так, при изучении «простых нервных систем» в качестве моделей используются такие организмы, у которых нейроны идентифицируемые, относительно немногочисленные и (желательно) крупные — например, аплизия.

Исторически сложилось, что модельные организмы (кишечная палочка, дрожжи, дрозофила) стали первыми среди соответствующих групп организмами, геном которых был полностью секвенирован. В дальнейшем наличие полностью секвенированного и расшифрованного генома стало важным требованием для использования организма в качестве модельного в биохимии, генетике, молекулярной биологии и большинстве других областей. По этой причине иногда выбор организма был обусловлен особенностями его генома: так, рыба-фугу Fugu rubripes была выбрана в качестве модели для изучения генома благодаря его малым размерам (низкий процент некодирующих последовательностей).

Ещё один критерий для выбора модельного организма — его экономическая значимость. Поэтому, например, кроме Arabidópsis thaliána в качестве модельных видов растений используются рис Oryza sativa L., люцерна Medicago truncatula и др. Модельные организмы широко используется для изучения потенциальных причин и методов лечения болезней человека, когда эксперименты на людях были бы невозможны или считались менее этический. Эта стратегия стала возможной благодаря общему происхождению всех живых организмов, сохранение метаболических и пути развития и генетический материал в течение эволюция.

Изучение модельных организмов может быть информативным, но необходимо соблюдать осторожность, взятых при обобщении от одного организма к другому. Часто, модельные организмы (животные и растения) выбираются исходя из того, что они поддаются экспериментальным манипуляциям. Обычно это включают такие характеристики, как короткий жизненный цикл, методы генетические манипуляции (инбредные штаммы, линии стволовых клеток и методы трансформация) и неспециализированные бытовые потребности. Иногда, расположение генома облегчает секвенирование модели геном организма, например, будучи очень компактным или имеющим низкий доля нежелательной ДНК (например, дрожжей, арабидопсиса или рыбы фугу).

Когда исследователи ищут организм для использования в своих исследованиях в Молекулярная биология или биомедицинские исследования, они ищут несколько черты. Среди них размер, время генерации, доступность, манипулирование, генетика, консервация механизмов и потенциала экономическая выгода. Как сравнительная молекулярная биология стала более распространено, некоторые исследователи искали модельные организмы из более широкий ассортимент родословных на древе жизни.

**Контрольные вопросы:**

1. Модельные организмы и их особенности.
2. Критерии отбора организмов в качестве модельных объектов.

**Лекция 3.**

**Вирусы и прокариотические модельные объекты и их роль в генетических исследованиях.**

**Цель:** ознакомить студентов с прориотическими модельными объектами и их ролью в генетическом анализе.

**План занятия:**

1. Прокариотические модельные объекты.
2. Вирусы и бактерии и их роль в генетическом анализе.

Рассмотрим некоторые прокариотические объекты, наиболее широко используемые в генетике.

*Вирусы*

Вирусы: Фаг лямбда (Phage Lambda), вирус табачной мозаики (TMV) и

Phi X 174. Используется в качестве модельных объектов в молекулярной генетике.

Phi X174 — молекулярная генетика; первый полностью секвенированный геном (кольцевая ДНК, содержащая 11 генов, длиной 5386 н.п..

**Прокариоты**

*Бактерии*

К прокариотам относятся: *Escherichia coli* (*E. coli*) — грамотрицательная бактерия, организм, наиболее широко используемый в молекулярной генетике (один из основных объектов).

*Bacillus subtilis* (эндоспорообразующий граммположительная бактерия), используемая в молекулярной генетике для изучения споруляции и работы жгутиков.

*Caulobacter crescentus* (бактерия, делится на две отдельные клетки, используемые для изучения клеточной дифференцировки), *Mycoplasma genitalium* — «минимальный организм», имеет один из самых маленьких геномов среди всех клеточных организмов; в 2007 году близкий вид использован Крейгом Вентером для пересадки генома, в результате которой один вид бактерий был превращён в другой [1].

*Vibrio fischeri* (чувство кворума, биолюминесценция и животно-бактериальный симбиоз с гавайским кальмаром-бобтейлом), *Synechocystis* (фотосинтезирующий *Cyanobacterium*, широко используемая в исследованиях фотосинтеза) и *Pseudomonas fluorescens* (почвенная бактерия, которая легко диверсифицируется в различные штаммы в лаборатории).

*Salmonella typhimurium* — грамотрицательная бактерия, патогенная для мышей и других мелких грызунов, условно патогенна для человека, используется в исследовании мутагенного и канцерогенного эффекта различных химических веществ в тесте Эймса.

**Контрольные вопросы:**

1. Прокариотические модельные объекты.
2. Вирусы и бактерии и их роль в генетическом анализе.

**Лекция 4.**

**Эукариотические модельные объекты и их роль**

**в генетическом анализе.**

**Цель:** ознакомить студентов с эукариотическими модельными объектами и их ролью в генетическом анализе.

**План занятия:**

1. Эукариотические модельные объекты и их роль в генетическом анализе.
2. Протисты используемые для изучения фотосинтеза, подвижности и жгутиков, регуляции метаболизма и межклеточного взаимодействия.
3. Грибы как объект генетических исследований, таких как полярность и клеточный цикл.
4. Высшие растения в качестве модельных организмов.
5. Животные как объект генетики.

*Эукариоты*

К эукариотам относятся: простейшие, грибы, высшие растения и животные (беспозвоночные и позвоночные).

Некоторые из протистов - *Chlamydomonas reinhardtii*, *Dictyostelium discoideum*, *Emiliania huxleyi*, *Tetrahymena thermophila* и *Thalassiosira* *pseudonana,* *Chlamydomonas. reinhardtii* — **одноклеточные зеленые водоросли** используемые для изучения фотосинтеза, подвижности и жгутиков, регуляции метаболизма, межклеточного распознавания и адгезии, реакции на питательные вещества депривации и многие другие.

***Chlamydomonas reinhardtii***, хорошо изучена генетика со многими известными и картированными мутантами и экспрессия последовательностей, и используется для генетической трансформации и отбор генов. Секвенирование *C. reinhardtii* было сообщено в октябре 2007 г. Chlamydomonas легко выращивать на недорогой определенной среде.

***Dictyostelium discoideum*** используется в молекулярной биологии и генетике (его геном секвенирован) и изучается как пример клеточного взаимодействия, дифференцировки и программированной гибели клеток.

***Emiliania huxleyi*** — одноклеточная морская кокколитофорная водоросль, широко изучаемая в качестве модели видов фитопланктона.

***Tetrahymena thermophila*** – свободноживущие пресноводные реснитчатые простейшие.

***Thalassiosira pseudonana*** — одноклеточная морская диатомовая водоросль, широко изучаемая как модельная морская диатомовая водоросль с момента когда ее геном был опубликован в 2004 году.

**Грибы** Важными грибами являются ***Ashbya gossypii*** (патоген хлопка, объект генетических исследований, таких как полярность и клеточный цикл).

***Aspergillus nidulans*** - плесень, предмет генетических исследований,

***Coprinus cinereus*** - гриб (генетические исследования развития грибов и генетические исследования мейоза).

***Neurospora crassa*** (плесень апельсинового хлеба) используется для генетического исследования мейоза, регуляции метаболизма и циркадных ритмов.

***S. cerevisiae*** (пекарские дрожжи или почковавшиеся дрожжи, используемые в пивоварении и запекании).

***Schizophyllum commune*** (модель грибообразования),

***Schizosaccharomyces pombe*** (делящиеся дрожжи, используемые для изучения клеточных циклов, полярности клеток, РНК-интерференции, структуры и функции центромер, а также транскрипции) и ***Ustilago maydis*** (диморфный дрожжевой и фитопатоген кукурузы, используемый для изучения диморфизма, патогена растений и транскрипции).

**Растения.** Есть много растений (высшие растения), которые выбраны в качестве модельных организмов.

***Arabidopsis thaliana*** в настоящее время является самой популярным модельным растением. Это травянистое двудольное растение относится к семейству горчичных. Его небольшая высота и короткое время генерации способствуют быстрому проведению генетических исследований, и многие фенотипические и биохимические мутанты были нанесены на карту. Арабидопсис был первым растением, у которого был свой геном последовательно. Итак, это растение используется для опытов по физиология, биология развития растений и молекулярной генетике. Популяционная генетика, цитология и молекулярная биология.

***Selaginella moellendorffii*** является остатком древней линии сосудистых растений.и ключ к пониманию эволюции наземных растений. Он имеет небольшой размер генома и его последовательность были опубликованы Joint Genome Institute в начале 2008 г. эволюционной биологии и молекулярной Биология.

***Brachypodium distachyon*** — новая экспериментальная модельная трава, которая имеет много атрибутов, которые делают ее отличной моделью для зерновых умеренного пояса в агрономии, молекулярной биологии и Генетика. Lotus japonicus — образцовое бобовое растение, используемое для изучения симбиоз, ответственный за фиксацию азота в агрономии и Молекулярная биология. Lemna gibba — быстрорастущая водная однодольное, одно из самых маленьких цветковых растений. Анализы роста ряски используются для оценки токсичности химических веществ для растений вэкотоксикология. Поскольку его можно выращивать в чистой культуре, действия можно исключить. Ряска используется в качестве рекомбинантного система экспрессии для экономичного производства сложных биофармацевтические препараты. Он также используется в образовании для демонстрации кривые роста населения.

* ***травянистое, однодомное растение***
* ***огромное число мутаций***
* ***простота кастрации***
* ***большое количество органической массы***
* ***высокий коэффициент размножения***
* ***удобство в анализе расщеплений***
* ***открыты мобильные генетические элементы, эффекта гетерозиса , цитоплазматические***

***Zea mays*** (кукуруза) — зерновая культура. Это диплоидный однодольный с 10 большими парами хромосом, легко изучаемый с микроскопом. Его генетические особенности, включая многие известные и картированные фенотипические мутанты и большое количество потомства на перекрест (обычно 100-200) способствовал открытию транспозонов (прыгающие гены).Были картированы многие ДНК-маркеры.геном был секвенирован в области генетики, молекулярной Биология и агрономия.

***Medicago truncatula —*** образцовая бобовая культура, тесно связан с люцерной обыкновенной. Его довольно небольшой геном в настоящее время секвенируется. Используется для изучения симбиоза. отвечает за фиксацию азота в агрономии и молекулярной Предметы биологии.

***Mimulus*** (семейство Phrymaceae) является моделью организм, используемый в исследованиях эволюционного и функционального генома.

Клетки Tobacco BY-2 представляет собой суспензионную клеточную линию табака (***Nicotiana tabaccum***). Это полезно для цитологии, физиологии растений и Биотехнологические исследования. Его геном не будет секвенирован (по крайней мере, в ближайшее будущее).

***Oryza sativa*** (рис) используется в качестве модели для хлопьев.Биология или агрономия и молекулярная биология. Он имеет один изнаименьшие геномы любых видов злаков и секвенирование их геном закончен.

***Physcomitrella patens*** — мох, все чаще используется для изучения развития и молекулярной эволюции растений. Пока что это единственное несосудистое растение (и, следовательно, единственное «примитивное» растение). растение) с полностью секвенированным геномом6. Более того, это в настоящее время единственное наземное растение с эффективным нацеливанием генов, которое включает нокаут гена. Полученные нокаутирующие мхи хранятся и распространяется Международным центром запасов мхов для эксперименты/исследования физиологии растений, эволюционной биологии, Молекулярная генетика и молекулярная биология.

***Populus***— род, используемый как модель в генетике леса и изучении древесных растений. Он имеет неб ольшойразмера генома, очень быстро растет и легко трансформируется. То доступна последовательность генома последовательности *P. trichocarpa*.

**Беспозвоночные животные**

Многие беспозвоночные животные также используются в качестве модельных организмов в области молекулярной биологии или биомедицинских исследований/экспериментов.

***Amphimedon queenslandica*,** демогубка из типа Porifera используется в качестве модели для эволюционной биологии развития и сравнительная геномика.

***Arbacia punctulata*,** с фиолетовыми колючками морской еж, используется в качестве классического объекта эмбриологических исследований.

***Aplysia*** — морской слизень, чья реакция на высвобождение чернил служит моделью в нейробиологии, а конусы роста служат моделью цитоскелетные перестройки.

***Branchiostoma floridae*,** вид широко известный как амфиокс или ланцетник из подтипа Cephalochordata типа Chordata используется в качестве модели для понимание эволюции нехордовых вторичноротых, беспозвоночные хордовые и позвоночные .

***C. elegans***, нематода, отличная модель для понимания генетического контроля развития и физиологии. Это был первый многоклеточный организм чей геном был полностью секвенирован.

***Ciona intestinalis*** – это морская струя.

Дрозофила, обычно вид ***Drosophila melanogaster***, является разновидностью плодовой мухи, известной как объект генетических экспериментов Thomas Hunt Morgan и другие. Легко выращивается в лаборатории, быстро поколения и его мутации легко индуцируются, имея множество наблюдаемые мутации. В последнее время дрозофилы используются для нейрофармакологическое исследование. Так, дрозофила полезна в Молекулярная генетика, популяционная генетика и развитие Биология.

***Euprymna scolopes***, гавайский кальмар-куцехвост, является моделью для животно-бактериального симбиоза, биолюминесцентных вибрионов. Гидра род, книдарий, является модельным организмом для понимания процессы регенерации и морфогенеза, а также эволюция билатеральных планов тела.

***Loligo pealei***, кальмар, используется для изучить функцию нерва из-за его гигантского аксона (почти 1 мм диаметр, примерно в тысячу раз больше, чем у типичного млекопитающего аксоны).

***Macrostomum lignano*** — свободноживущий морской плоский червь. модельный организм для изучения стволовых клеток, регенерации, старения, Функция генов и эволюция пола. Легко выращивается в лаборатории, короткое время генерации, неопределенный рост и сложный поведение.

***Mnemiopsis leidyi*** из типа Ctenophora (гребенчатые желе) используется в качестве модели для эволюционной биологии развития и сравнительная геномика.

***Nematostella vectensis***, море анемон из типа Cnidaria, используется в качестве модели для Эволюционная биология развития и сравнительная геномика.

***Oikopleura dioica*** , аппендикулярия - свободно плавающая оболочник. (или урохордата).

***Oscarella carmela***, гомосклероморфная губка (филум Porifera), используется в качестве модели в Evolutionary Биология развития.

***Parhyale hawaiensis***, амфипод ракообразных, используется в исследованиях эволюционного развития, с обширный набор инструментов для генетических манипуляций.

***Pristionchus pacificus***, круглые черви, используемые в эволюционной биологии развития в сравнительном анализе с C. elegans.

***Schmidtea mediterranea*** - пресноводная планария, является образцом регенерации и развития тканей, таких как головной мозг и зародышевая линия. стоматогастральный ганглий различные виды членистоногих являются моделью генерации двигательных паттернов. видно во всех повторяющихся движениях.

***Strongylocentrotus purpuratus*** - фиолетовый морской еж широко используется в биологии развития.

***Symsagittifera roscoffensis*** **-** плоский червь является предметом изучения двустороннего развития телосложения.

***Tribolium castaneum*** - небольшой жук, легко содержаемый жук-чернотелка, используется особенно в экспериментах по поведенческой экологии.

***Trichoplax adhaerens* -** очень простое свободноживущее животное из типа Placozoa, используется в качестве модели в эволюционной биологии развития и сравнительной геномике.

**Позвоночные животные**

Подобно беспозвоночным, многие позвоночные животные также используются в качестве модельных организмов для исследований/экспериментов.

***Cavia porcellus*** - морская свинка, использовалась Robert Koch и другими ранними бактериологами как носитель бактериальных инфекций; следовательно, поговорка для «лабораторное животное», хотя сегодня используется реже.

***Cricetus cricetus*** (хомяк) впервые был использован для изучения кала-азар (лейшманиоз Leishmaniasis).

***Mus musculus*** (мышь) – классическая модель позвоночных. Существует множество его инбредных штаммов, а также линий, отобранных по определенным признакам, часто в биомедицинских исследованиях, например, размер тела, ожирение, мускулистость и др.; столь полезные в Количественной генетике, Молекулярной эволюции и геномике.

***Rattus norvegicus*** или ***Rattus rattus*** (Крыса) особенно полезен как модель в фармакологии и токсикологии; также используется в качестве неврологической модели и источника первичных клеточных культур, благодаря большему размеру органов и суборганеллярных структур относительно мыши; используется в молекулярной эволюции и геномике.

***Canis lupus familiaris*** (собака) является важной моделью в исслелованиях респираторных и сердечно-сосудистой систем, также способствовал открытию классической обусловленности.

***Lepus cuniculus*** или ***Oryctolagus cuniculus*** (кролик) и ***Rana tigrina*** (лягушка) также используются в различных биологических или биомедицинских экспериментах.

Стандартные экспериментальные гепатотоксические модели были получены на мышах, крысах, кроликах и собаках. Точно так же модель рака была индуцирована экспериментально на крысах.

***Sigmodon hispidus*** (хлопковая крыса) ранее использовалась в исследованиях полиомиелита.

Используется ***Xenopus laevis*** (африканская когтистая лягушка) в биологии развития из-за его крупных эмбрионов и высокой толерантности к физическим и фармакологическим манипуляциям.

***Felis sylvestris*** catus или ***Felis domesticus*** (кошка) используется в нейрофизиологических исследованиях.

***Macaca mulatta*** или ***Rhesus macaque*** (Обезьяна или макака-резус) используется для изучения инфекционных заболеваний и познания.

***Gallus gallus domesticus*** (курица) используется для исследования развития, так как это амниота и отлично подходит для микроманипуляции (например, пересадка тканей) и гиперэкспрессии генных продуктов.

***Taeniopygia guttata*** (зебровый зяблик или каштановый зяблик) - finch, птица, используется при изучении песенного строя певчих птиц и слуховых систем не млекопитающих.

Широкий спектр экспериментов, таких как антибактериальные, противопаразитарные и анестетики, кроме фармакокинетических и фармакодинамические исследования проводились на различных видах рыбы. Несколько групп препаратов, таких как тетрациклины, пенициллины, макролиды, хинолоны, сульфаниламиды, иммуностимуляторы, противоопухолевые препараты, лекарственные травы и вакцины успешно экспериментировались на рыбе. Следовательно, рыба также используется в качестве важного модельного организма для различных биологических или биомедицинских исследований.

***Danio rerio*** (рыба данио, Zebrafish, пресноводная тропическая рыба) стала основным модельным организмом в генетике развития, нейрофизиологии или биомедицинских исследованиях. У этой рыбы почти прозрачное тело на ранней стадии развития, что обеспечивает уникальный визуальный доступ к внутреннему строению животного. Рыбки данио Zebrafish используются для изучения развития, токсикологии и токсикопатологии, функции специфических генов и роль сигнальных путей.

В 1960-х - середине 1970-х гг. виды рыб, используемые в качестве моделей для изучения канцерогенеза, были прежде всего рыбы данио и ***Poecilia reticulata***. Разновидности которые преобладали в последующие годы: радужная форель, ривулюс (***Rivulus marmoratus***), ***Poecilia reticulata***, овчарка (Cyprinodon variegatus) и медака (*Oryzias latipes*). Загрязнения ассоциированная неоплазия, в том числе индуцированная афлатоксином гепатоцеллюлярный рак у радужной форели *(Onchorynchus mykiss*), также привело к изучению рыб как альтернативных моделей канцерогенеза и биоанализа токсичности. Для исследования рака печени успешно зарекомендовали себя модели рыбок данио, которые в настоящее время все чаще используются в качестве многообещающей модели животных для исследования рака.

Следовательно, эти модели будут охарактеризованы, чтобы понять молекулярные и генетические механизмы канцерогенеза печени, а также в открытии противораковых лекарств. Таким образом, рыбка данио была признана самой подходящей моделью для различных экспериментальных исследований. Клетки костистых рыб линии используются в получении широкого спектра тканей, таких как яичник, плавник, плавательный пузырь, сердце, селезенка, печень, глазная мышца, позвонки, мозг и кожа. Сто двадцать четыре новых клеточных линии рыб из разных видов рыб, от морского окуня до угря были получены. В настоящее время получено около 283 клеточных линий из рыб по всему миру.

***Oryzias latipes*** (медака, японский рис рыба) является важной моделью в биологии развития и имеет преимущество в том, что он намного прочнее, чем традиционные рыбки данио.

***Takifugu rubripes*** (Takifugu, рыба-фугу) имеет небольшой геном с небольшой мусорной ДНК.

***Lamprey eels*** - миноги (хищное семейство бесчелюстных рыб) использовались в исследованиях спинного мозга.

Другие рыбы, которые использоваись в биомедицинских исследованиях, включают: ***Carassius auratus*** (золотая рыбка), ***Catla catla***, ***Catostomus commersoni*** (костная рыба),

***Channa punctatus*** (пятнистый змееголов), **Clarias gariepinus**, ***Labeo rohita*** (пресноводная рыба), ***Myoxocephalus scorpius*** (короткорогий бычок морская рыба), ***Oncorhynchus mykiss*** (радужная форель), ***Oreochromis mossambicus*** и ***O. niloticus*** (рыбы тилапии), ***Salmo trutta*** и **S. iredius** (форель).

***Модельные организмы в конкретных исследованиях*** *Callosobruchus maculatus* (жук-брухид), ***Chorthippus parallelus*** (луговой кузнечик), Coelopidae (морские мухи), Diopsidae (стебелькоглазые мухи), *Drosophila spp.* (дрозофилы), *Macrostomum lignano* (песчаный плоский червь), *Gryllus bimaculatus* (полевой сверчок) и *Scathophaga stercoraria* (желтая навозная муха) используются для исследований полового отбора и полового конфликта.

*Bombina bombina* и *variegate*, *Podisma spp.* (в Альпах) и *Caledia captiva* (восточная Австралия) используются для экспериментов/исследований, касающихся гибридных зон; в то время как *Daphnia pulex* (модельный организм - экологический индикатор) используется для исследований по экологической геномике.

Несколько экспериментов/исследований в области наук о жизни или биомедицинских областях проводились на различных видах растений и животных, которые теперь называются «модельными организмами». Эти модельные организмы широко используется для изучения потенциальных причин и методов лечения болезни человека и животных. Таким образом, модельные организмы богаты биологическими данными, которые делают их привлекательными для изучения в качестве образцов для других видов и/или природных явлений, которые более трудно изучать напрямую. Было исследовано множество модельных организмов вирусов, бактерий, водорослей, плесени, дрожжей, высших растений и животных (в том числе рыб). (*Pandey Govind* Model organisms used in molecular biology or medical research International research journal of pharmacy, 2011, 2 (11), 62-65)

**Контрольные вопросы:**

1. Эукариотические модельные объекты и их роль в генетическом анализе.
2. Протисты используемые для изучения фотосинтеза, подвижности и жгутиков, регуляции метаболизма и межклеточного взаимодействия.
3. Грибы как объект генетических исследований, таких как полярность и клеточный цикл.
4. Высшие растения в качестве модельных организмов.
5. Животные как объект генетики.

**Лекция 5**

**Генетические коллекции, их роль и использование**

**в генетическом анализе.**

**Цель:** ознакомить студентов с генетическими коллекциями модельных организмов и значением биологических особенностей объектов исследования.

**План занятия:**

1. Генетические коллекции.
2. Значение генетических коллекции в генетическом анализе.

2. Роль биологических особенностей объекта в генетическом анализе.

***Генетические коллекции.*** Генетический анализ может проводиться только при наличии наследственно различающихся форм и тем успешней, чем больше различных наследственных вариантов имеется у исследователя. Поэтому на первом этапе генетического анализа необходимо *создание генетических коллекций*, представляющих собой совокупность форм какоголибо вида, которые характеризуются наследственными различиями по одному или нескольким признакам. Генетические коллекции - основа наших знаний о наследственной изменчивости, норме реакции отдельных генотипов и т. д. *Образцы коллекций служат эталоном* при идентификации новых мутаций и источником ценного исходного материала для селекции. Частная генетика любого вида строится на изучении (и создании в процессе изучения) генетической коллекции.

***Значение генетических коллекций*** особенно возрастает в наше время в связи с тем, что современные селекционные программы основываются на использовании узкоспецифических сортов и пород, что уменьшает генетическую изменчивость культивируемых видов и ведет (а в ряде случаев уже привело!) к потере ценного генетического материала. Поэтому необходима консервация местных сортов и пород и сохранение диких видов животных и растений.

Методы создания и хранения коллекционного материала зависят от биологии размножения, жизненного цикла и других биологических особенностей вида. Среди растений по-разному создаются и хранятся ***коллекции однолетних и многолетних культур***.

В коллекциях **однолетних перекрестноопыляющихся растений** чаще всего собраны спонтанные мутанты, а также формы, выделенные из популяций при инбридинге. Индуцированный мутагенез у этих растений практически не используется, так как выделению мутантов и анализу их по потомству препятствуют существующие у них **генетические системы самонесовместимости**. ***У растений самоопылителей*** коллекции составляются из сортов, инбредных линий; для получения новых мутаций широко применяется индуцированный мутагенез.

Основным материалом для хранения в коллекциях являются семена, которые пересеваются с определенной периодичностью.

В генетических коллекциях **многолетних растений**, например плодовых культур, сохраняется живой материал - дикие формы и культурные сорта, подвои дикарей и т. п. Сложности создания и сохранения коллекционных образцов у многолетних культур связаны с большой продолжительностью их жизненного цикла, гетерозиготностью и полиплоидностью многих видов, склонностью их к апомиксису, низкой всхожестью семян и др.

**Коллекции животных** могут быть представлены породами, линиями, культурами тканей и клеток. Достаточно широко проводится также хранение спермы, ооцотов и эмбрионов.

**В коллекциях грибов и бактерий** сохраняют генетически маркированные штаммы (ауксотрофные мутанты, мутанты, дефектные по системам репарации, рекомбинации и пр.).

В коллекциях содержат формы, различающиеся или сходные фенотипически посамым разнообразным признакам, имеющие разное происхождение. Это могут быть генные, хромосомные или геномные мутации. Для решения специальных задач на основе коллекционного материала создаются и сохраняются особые ***тестерные формы, линии анализаторы*** с различными рецессивными или доминантными маркерами, с перестройками хромосом - делениями, инверсиями, транслокациями, перемещающимися генетическими элементами, препятствующими прохождению кроссин-говера, или меняющими локализацию и активность того или иного гена; серии моно-, три- и нуллисомиков по разным хромосомам и т. п.

Генетические коллекции создаются обычно на базе селекционно-генетических центров и институтов, а также в университетах.

Крупнейшим в мире центром по сохранению наследственного разнообразия многих культур растений является Всесоюзный институт растениеводства им. Н. И. Вавилова. Он имеет опорные пункты и опытные станции в разных регионах страны, где проводят исследования по выявлению нормы реакции тысяч образцов по каждой культуре.

Старейшей коллекцией среди растений следует называть **коллекцию кукурузы** в США. Она содержит разнообразные образцы с мутациями, контролирующими мутабильность и экспрессивность генов, поведение хромосом в мейозе и митозе; ферментные системы; структуру эндосперма; образование и распределение хлорофилла; структуру различных элементов генеративной системы; ядерные и неядерные мутанты и т. п. В этой коллекции собрано более 3 тыс. образцов, выявленных учеными Америки и других стран.

В университетах США есть также коллекции **ячменя, анеуплоидных пшениц** и других растений. В ФРГ создан центральный семенной банк арабидопсиса, содержащий 149 природных рас и более 500 мутантов. Подобные банки организованы и в других странах - США, Англии, Испании, Нидерландах и др.

В СССР, в ЛГУ, создана уникальная по объему и возможностям использования приизу чении генетики **озимой и яровой ржи коллекция**, которая содержит более 100 автостерильных форм, отличающихся от стандартного типа по одному или нескольким признакам, а также более 300 автофертильных линий, многие из которых также имеют генетические маркеры. Кроме того, ЛГУ имеет **коллекции земляники, редиса, ячменя**. В Молдавии находятся крупнейшие **коллекции томатов, кукурузы** и других культур. В Ленинграде Всесоюзный институт защиты растений собрал **коллекцию микологического гербария**, необходимую для изучения природы иммунитета у растений. Значимость этойколлекции трудно переоценить, так как ведущие сельскохозяйственные культуры в настоящее время поражаются более чем 1500 заболеваниями, возбудителями которых являются 50 тысяч видов грибов. При этом некоторые возбудители способны поражать несколько видов растений. В коллекции хранятся гербарные образцы пораженных растений с их патогеном и чистые культуры паразитов. В ней собрано около *150 тыс. образцов грибов*; более ***600 тыс. образцов патогенов*** находятся в соответствующих национальных коллекциях США.

**Коллекции разновидностей мыши**, одного из наиболее изученных видов млекопитающих, собраны в Джексоновской лаборатории в США, в Институте цитологии и генетики СО АН СССР и в других странах. Эти коллекции, содержащие, помимо обычных морфологических и прочих мутантов набор линий, различающихся по генам тканевой совместимости (более 200), используются не только для решения задач генетики, но и в экспериментальной онкологии.

Крупнейшие **коллекции** одного из ведущих модельных объектов генетических исследований -**дрозофилы** - имеются в США, где создано два центра линий на базах университетов, есть Европейский центр линий в Швеции.

В ряде стран созданы **коллекции кур, пушных зверей** и др.

Существуют также **коллекции грибов и бактерий**, содержащих штаммы, различающиеся по морфологии колоний, биохимическим мутациям (ауксотрофы), устойчивые к антибиотикам и др.- в США, Японии, СССР.

**Банки клеточных культур человека и животных** приобретают в настоящее время большое значение в связи с возможностью сохранения в них гибридом, возникающих при слиянии нормальных клеток лимфоцитов с миеломными клетками, придающими гибридомам свойства миеломы - способности неограниченного роста. **Гибридомы** используются для получения моноклональных антител, т. е. антител, продуцируемых потомками одной клетки. Они обладают высокой специфичностью и направлены против одной антигенной детерминанты. Клеточные культуры применяют для получения биологически активных веществ высокой чистоты, для определения антигенов гистонесовместимости при трансплантации и пр. Среди банков клеточных культур, сохраняемых путем консервации в жидком азоте, можно назвать американскую коллекцию типовых культур; культуры клеток человека, полученные от нормальных и больных людей с наследственными патологиями, клеточные линии мышиных опухолей.

Наконец, благодаря развитию методов получения рекомбинантных молекул ДНК, создаются **банки генов**, которые представляют собой наборы клонов бактерий, содержащих рекомбинантные плазмиды или вирусы, несущие фрагменты генома определенного вида.

Сведения о коллекциях систематически публикуются в виде каталогов и служат в качестве справочников при подборе исходного материала для генетических исследований и в селекционной работе. В них дан перечень наименований и символов генов, описание типов их взаимодействия, характеристика плейотропного действия отдельных генов, жизнеспособности мутантов; приводятся генетические и цитологические карты, характеристика образцов и способов их размножения и поддержания в коллекции; список основных работ по генетике и цитогенетике объекта. Например, систематически издается каталог мировой коллекции ВИРа, опубликовано более 350 выпусков; публикуется ежегодник ассоциации генетиков по кукурузе "*Maize Genetic Cooperation Newletter*"; дважды в год издаются каталоги по мутантным и инбредным линиям мышей - *"Inbred strains of Mice"* в США и *"Mause New letter"* в Англии. Ежегодное издание бюллетеня DrosophilaInformationService (DIS) публикует списки генетических коллекций дрозофилы лабораторий всего мира и их адреса, списки генетиков, работающих с дрозофилой; сообщает сведения о новых мутациях, о текущих работах. Необходимые для работы образцы коллекции обычно выписываются исследователями из соответствующих центров и лабораторий.

***Роль биологических особенностей объекта в генетическом анализе.*** Биологические особенности объекта исследований лежат в основе планирования генетических экспериментов и выбора методов анализа.

Среди биологических характеристик, необходимых для грамотного проведения генетического анализа, важнейшими являются жизненный цикл, способ размножения, продолжительность жизни и репродуктивного периода, плодовитость. Кроме того, нужно знать условия нормального культивирования, реакцию на влияние средовых воздействий и т. д.

У эукариот (высших растений, животных, грибов, водорослей, простейших) различают две группы: одноклеточные и многоклеточные организмы. Чередование их поколений происходит при размножении, которое может осуществляться как половым, так и бесполым путем.

**Жизненные циклы**, т. е. чередование гапло- и диплофаз, у особей разных групп и разных таксонов отличаются в основном по продолжительности этих фаз. У ряда видов происходит чередование полового и бесполого типов размножения, у других, например у пчел и наездников, особи одного пола развиваются из неоплодотворенных яиц, их генеративные клетки гаплоидны и не претерпевают мейоза; особи другого пола развиваются из оплодотворенных яиц.

**При половом размножении** происходит смена поколений благодаря образованию гаплоидных гамет и развитию организмов из диплоидных зигот, возникающих при слиянии гамет. *Общая особенность полового размножения - наличие механизмов правильного распределения ядерного материала (хромосом) при смене фаз - митоза и мейоза*. Половое размножение обеспечивает возможность обмена наследственной и нформацией и адаптацию к изменяющимся условиям среды. *Жизненный цикл и способ размножения* определяют закономерности наследования признаков, тип зиготы, особенности рекомбинационных процессов, обеспечивают реализацию генетического определения пола, они обусловливают способ поддержания мутантов в генетических коллекциях.

**II.1. Жизненные циклы и способы размножения у животных**

У высших животных основная часть жизненного цикла проходит в диплофазе. Гаплофаза представлена гаметами. Первая является многоклеточной, вторая - одноклеточной (рис. II. 1).



Половые клетки возникают из недифференцированных соматических клеток. Процесс обособления зачатковых клеток и формирования из них половых желез и гамет называется зачатковым путем. Зачатковый путь закладывается у разных организмов на разных **стадиях онтогенеза**. Например, у аскариды уже при первом делении дробления из одного бластомера формируются клетки зачаткового пути, а из другого – соматические клетки. У насекомых, червей, ракообразных также наблюдается ранняя дифференцировка зачатковых клеток. У млекопитающих она осуществляется в процессе формирования эмбриона. **Образование мужских гамет** происходит в семенниках при **сперматогенезе**, затем на время прекращается после рождения и дальше идет в течение всего репродуктивного периода, продолжительность и время наступления которого у разных видов различны.

В процессе сперматогенеза из эмбриональных зародышевых диплоидных клеток путем многократного митотического деления образуются примордиальные половые клетки, превращающиеся после периода покоя в первичные сперматогонии, а из них – во вторичные сперматогонии (стадия размножения). После ряда митотических делений они начинают увеличиваться в размерах и превращаются в сперматоциты первого порядка - (стадия роста), которые вступают в мейоз. В результате первого деления мейоза из каждого сперматоцита I образуются две клетки с уменьшенным (редуцированным вдвое) набором хромосом - сперматоциты второго порядка - II (стадия созревания). После второго деления мейоза из каждого сперматоцита II образуются две гаплоидные клетки - сперматиды, которые превращаются в зрелые сперматозоиды в процессе спермиогенеза.

Таким образом, в процессе сперматогенеза из одной клетки сперматогония с диплоидным набором хромосом получается четыре гаплоидных сперматозоида (рис. II. 2, а).

Рис. II.2. Схема сперматогенеза (а) и овогенеза (б) у млекопитающих

**Образование женских гамет** происходит при овогенезе, который также идет в течение эмбриогенеза, а затем только в репродуктивный период, и протекает периодически. Он в основном сходен со сперматогенезом, однако имеет ряд отличий. Сначала так же, как в сперматогенезе, путем митотических делений возникают первичные (I) и вторичные (II) диплоидные оогонии (стадия размножения), затем формируется ооцит первого порядка, при\* чем эта стадия более продолжительна, чем стадия сперматоцита I; в этот период происходит накопление питательных веществ (стадия роста). После первого деления мейоза из каждого ооцита I получаются две гаплоидные клетки - ооцит II и первое полярное тельце. После второго деления мейоза из ооцита II возникают две гаплоидные оотиды, одна из них превращается в гаплоидную яйцеклетку, другая – во вторичное полярное тельце (стадия созревания). Первичное полярное тельце после второго деления мейоза образует два вторичных полярных тельца, все они абортивны.

Таким образом, *в процессе оогенеза из одной исходной диплоидной клетки (оогония) образуется лишь одна функционирующая женская гамета - яйцеклетка* (рис. II.2,б).

**При половом размножении** происходит процесс оплодотворения, который у животных начинается с активации яйца за счет соприкосновения головки сперматозоида с яйцом. Вторая фаза оплодотворения идет после проникновения в яйцо сперматозоида и его слияния с яйцеклеткой (сингамия). Проникновение сперматозоида может происходить на разных стадиях развития женской гаметы: на стадии ооцита I (губки, аскариды и др.), метафазы I (асцидии, двустворчатые моллюски и др.), ооцита II в стадиях мета- или анафазы II (бесчерепные и все позвоночные), зрелой яйцеклетки (иглокожие, кишечнополостные). После проникновения в яйцеклетку ядро сперматозоида постепенно набухает, становится похожим на интерфазное и превращается в семенное ядро или пронуклеус. В оплодотворении участвуют два пронуклеуса - яйцеклетки и сперматозоида, при слиянии которых (кариогамии) образуется диплоидная зигота.

Кроме нормального полового процесса у животных существуют так называемые **нерегулярные типы полового размножения** - партеногенез, гиногенез и андрогенез. При диплоидном соматическомпартеногенезе развитие осуществляется из нередуцированных яйцеклеток без оплодотворения; при гаплоидном или генеративном партеногенезе - из нормальной гаплоидной яйцеклетки. **Гиногенетическое развитие**, наблюдаемое у некоторых рыб, происходит с участием двух родителей, но без оплодотворения: сперматозоиды лишь стимулируют развитие яйцеклеток, причем активацию могут вызывать сперматозоиды других видов.

При **андрогенезе** развитие осуществляется без участия яйцеклетки за счет слияния пронуклеусов двух сперматозоидов. Он может происходить у видов, для которых характерна полиспермия - проникновение в яйцеклетку нескольких сперматозидов (иглокожие, моллюски, насекомые). Обычно пронуклеус одного сперматозоида сливается с пронуклеусом яйцеклетки, а все другие сперматозоиды дегенерируют. Андрогенез идет, если яйцеклетка по каким-либо причинам неспособна к оплодотворению.

Очевидно, что при нерегулярных типах полового размножения характер наследования признаков изменяется. Так, при диплоидном амейотическом партеногенезе и гиногенезе в потомстве возникают только самки, которые имеют генотип и фенотип матери. При андрогенезе образуются особи мужского пола, фенотип которых зависит от генотипа сперматозоидов. Изучение наследования с помощью метода гибридизации при этих; способах размножения становится практически невозможным. В то же время партеногенетические способы размножения позволяют сохранять нужные экспериментатору сочетания признаков и определенные хенотипы.

**Контрольные вопросы:**

1. Генетические коллекции.
2. Значение генетических коллекции в генетическом анализе.

2. Роль биологических особенностей объекта в генетическом анализе.

**Лекция 6**

**Характеристика широко используемых в научных исследованиях модельных организмов: Дрозофила (Drosophila melanogaster),**

**Кукуруза (Zea mays Z.), Дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) и Нейроспора (*Neurospora crassa*).**

**Цель:** ознакомить студентов с важными модельными объектами, используемыми в научных исследованиях.

**План занятия:**

1. Значение важных модельных объектов в генетических экспериментах.
2. Дрозофила (*Drosophila melanogaster*).

3. Кукуруза (Zea mays Z.).

4. Дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*).

5. Нейроспора (*Neurospora crassa*).

Некоторые эукариотические объекты, наиболее широко используемые в научных исследованиях и учебном процессе, и их возможности и вклад в решение основных задач генетического анализа.

**Дрозофила *(Drosophila melanogaster)***

Род Drosophila относится к семейству Drosophilidae отряда Diptera. К настоящему времени описано более тысячи видов, относящихся к этому роду. Генетически наиболее изучены *Dr. melanogaster, virilis, funebris*. Дрозофила - один из прекраснейших модельных объектов, обладающий всеми качествами, необходимыми для успешного проведения генетического анализа. С 1909 г. в генетических экспериментах широко используют Dr. melanogaster.

Рис. II.6. Жизненный цикл дрозофилы (*Drosophila melanogaster*)

Дрозофила - насекомое с полным превращением. В лаборатории при оптимальной температуре (24-25°С) цикл ее развития проходит за 9-10 дней. Продолжительность стадий в этих условиях: яйцо - 1 день, личинка - 4,5-5 дней, куколка - 3,5- 4,5 дней, имаго.

Личиночная стадия делится на три возраста - от линьки до линьки, перед окукливанием личинка теряет подвижность (рис. II.6). Вылупившиеся самки в течение 6-12 час не способны к спариванию и оплодотворению, примерно 67% самцов в первые сутки спаривания бывают стерильными. Установлено, что самцы и самки становятся половозрелыми на вторые сутки после вылупления и максимальная половая активность и плодовитость проявляется у 4-5-дневных мух. Для скрещивания используют только неоплодотзоренных (виргинных) самок, так как в семяприемнике оплодотворенной самки в течение нескольких суток (до 2-3 недель) может сохраняться сперма от предыдущей копуляции (длительность ее сохранения зависит от ее жизнеспособности и скорости расходования). Молодые самки и самцы в течение первых 3-4 час после вылета имеют более длинное светлое тело, еще не расправившиеся крылья, сложенные на спинке. В последующие часы девственные самки не отличаются от оплодотворенных. Отбор виргинных самок начинают обычно с первого дня вылета мух - сначала отбирают светлых виргинных самок, затем удаляют из пробирок всех вылетевших мух и дважды в день с интервалом около 10 час отбирают из культур всех вылетевших самок. Самки начинают откладывать яйца на 2-3-й день после вылупления. Число яиц в суточной кладке быстро увеличивается и достигает максимума на 4-5-й день (50-70 яиц в сутки), затем интенсивность кладки медленно уменьшается. Репродуктивный период у самцов продолжается 20-50 дней, у самок - 30-80 дней. За этот период самки способны спариваться до 10 раз, и количество потомков одной самки может достигать 1-3 тыс.

Плодовитость мух зависит от плотности популяции и температуры содержания имаго. При высокой плотности культуры отмечено уменьшение плодовитости, причем реакция самок на плотность популяции - генетически обусловленный и изменчивый признак. Максимальная плодовитость проявляется при температуре 24°С, максимум интенсивности откладки при 28°С. С понижением температуры развитие дрозофилы сильно замедляется, так при 10°С оно растягивается до 70 дней и больше. При повышении температуры развитие ускоряется. Однако следует помнить, что при температуре 31° самцы дрозофилы становятся стерильными из-за потери подвижности сперматозоидов, причем их фертильность восстанавливается при перенесении мух в нормальные условия.

Важно знать, что у самцов и самок дрозофилы имеются существенные различия в протекании мейоза. У самок зрелыйовоцит I находится на стадии метафазы I, второе деление мейоза осуществляется в оплодотворенном яйце. У самцов в профазе I отсутствуют стадии лептонемы, зигонемы, пахинемы, не образуется синаптонемный комплекс, отсутствуют хиазмы и не идет кроссинговер. Это приводит к тому, что мейотические мутации проявляют свое действие либо только у самцов, либо только у самок.

К несомненным достоинствам дрозофилы следует отнести наличие огромного числа разнообразных мутаций, большинство из которых хорошо проявляется фенотипически, малое число хромосом (2n = 8), простоту разведения.

Не удивительно, что в течение многих лет (примерно до 40-х гг.) дрозофила была основным объектом в теоретических исследованиях и в учебном процессе по генетике. Именно исследования на дрозофиле привели к разработке хромосомной теории наследственности, генетической теории определения пола, выяснению механизмов возникновения мутаций и разработке методов их количественной оценки, а также методов цитологического картирования на политенных хромосомах. На дрозофиле изучали действие радиации и других мутагенных факторов, проведены исследования в области популяционной и эволюционной генетики. Число исследований на дрозофиле вновь резко возросло в последние 10-20 лет в связи с разработкой новых подходов и использованием методов молекулярной биологии, биохимии и генетической инженерии. Это позволило проанализировать содержание и состав ДНК и РНК в метафазных и политенных хромосомах, структуру некоторых генов у дрозофилы. Политенные хромосомы используют для изучения процессов транскрипции и репликации ДНК, а также в филогенетических исследованиях разных видов Diptera. Применение методов фракционирования белков позволяет изучать генетику изоферментов у дрозофилы, на основе которой строятся биохимические карты, изучается регуляция активности генов, контролирующих изоферменты, а также генная активность в онтогенезе. Особый раздел работы на дрозофиле - культивирование эмбриональных клеток и имагинальных дисков - способствует решению проблемгенетики соматических клеток и генетики развития. Среди замечательных заслуг дрозофилы следует назвать открытие мобильных генетических элементов (МГЭ) и супермобильных локусов. Можно сказать, что по полноте информации о структуре генома среди высших эукариот дрозофила стоит на первом месте.

**Кукуруза (*Zea mays Z.)***

Кукуруза - один из основных объектов фундаментальных исследований в области генетики и селекции растений. Это раздельнополое однодомное растение из семейства *Graminaceae*. Ее диплоидный набор хромосом равен 20, хромосомы легко анализируется в световом микроскопе, т. е. удобны для цитогенетического анализа.

Простота кастрации (удаление мужских соцветий - метелок), наличие мутаций, вызывающих мужскую стерильность, возможность завязывания семян как при перекрестном опылении, так и при самоопылении, наличие огромного числа разнообразных мутаций облегчает работы по гибридизации. Кроме того, кукуруза имеет высокий коэффициент размножения: пыльцой одного мужского соцветия можно опылить более 100 женских соцветий и получить при этом до 50 тыс. семян; за один день можно осуществить до 100 скрещиваний. Именно поэтому она широко используется не только в научных исследованиях, но и в учебном процессе, так как на ее крупных женских соцветиях (початках) легко и просто проводить анализ расщеплений по признакам семян.

В настоящее время у кукурузы выявлены генные, хромосомные, геномные и цитоплазматические наследственные изменения; наилучшим образом изучены генные мутации. К 1980 г. описано до 450 генов, для 360 из них определены группы сцепления. Изучены и описаны гены, контролирующие поведение хромосом в митозе и мейозе, ферментные системы, образование хлорофилла и других пигментов; структуры и функции вегетативных органов; структуру и окраску эндосперма; регуляторные системы, ответственные за мутабильность и экспрессию других генов, за развитие разных элементов системы размножения, обусловливающих мужскую и женскую стерильность, избирательность оплодотворения и т. д. У кукурузы найдены спонтанные и получены индуцированные различные хромосомные перестройки: нехватки, транслокации, дупликации, инверсии. В последние годы на ней широко используются транслокации для определения групп сцепления. Получены полиплоидные формы кукурузы, и многие из них хорошо изучены. Эуплоидная серия включает гаплоиды, диплоиды, триплоиды, тетраплоиды и др. Встречаются у кукурузы и анеуплоиды - трисомики и моносомики.

На кукурузе впервые наряду с дрозофилой были получены цитологические доказательства кроссинговера и открыты мобильные генетические элементы (МакКлинток, 1938, 1950). На ней изучалось влияние длительного инбредирования и эффекты гетерозиса у растений и разрабатывались приемы гибридной селекции на основе получения и скрещивания чистых линий (межлинейные и двойные межлинейные гибриды); хорошо изучены цитоплазматические мутации, особенно мутации, связанные с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС), использование которой составляет одно из достижений генетики кукурузы и генетики растений в целом.

**Дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*)**

Дрожжи - одноклеточные грибы - относятся к классу Ascomycetes. Дрожжевая клетка содержит дискретное ядро, окруженное ядерной мембраной, и другие органеллы (например, митохондрии), а также два типа плазмид. Жизненный цикл включает гапло- и диплофазу. В зависимости от соотношения этих фаз различают гомоталличные дрожжи, у которых гаплоидны только аскоспоры, и гетероталличные с устойчивыми гапло- и диплофазами. Их вегетативные диплоидные клетки (2n = 34) образуются при копуляции гаплоидных клеток противоположных типов спаривания - а и α. Эти клетки неограниченно долго растут и образуют колонии, размножение которых осуществляется почкованием. Вегетативные гаплоидные клетки могут служить в качестве гамет. Для получения гибридов гаплоидные клетки а- и α-типов выращивают в жидкой среде в течение одних суток. Образовавшиеся при этом диплоидные зиготы изолируют из смеси родительских клеток либо микроманипулятором, либо с помощью генетических маркеров на селективных средах. Важно, что смена дипло- и гап-лофаз легко контролируется экспериментально путем переноса диплоидных зигот на бедную среду, содержащую только ацетат "атрия. В этих условиях диплоидная зигота вступает в мейоз, в результате которого образуется 4 гаплоидных аскоспоры, расположенных в сумке случайным образом. Слияние аскоспор противоположных типов спаривания вновь приводит к образованию-диплоидных клеток.

Для изучения мейотического расщепления выделяют аскоспоры, проращивают их и учитывают фенотипы развившихся от них культур, т. е. регистрация расщепления проводится на гаплоидном уровне. Расщепление анализируется либо на случайной выборке спор, либо методом тетрадного анализа (см. гл. III). Все штаммы *Saccharomyces cerevisiae* могут расти как в аэробных, так и в анаэробных условиях, что делает их хорошим объектом для изучения генетики митохондрий. К недостаткам дрожжей можно отнести очень мелкие, практически невидимые в световом микроскопе хромосомы, что исключает возможность проведения на них цитогенетических исследований.

Первые работы по генетике микроорганизмов связаны с дрожжами. Это изучение влияния рентгеновских лучей на изменчивость (Надсон, Филиппов, 1925). С 1937 г. начались систематические работы по гибридизации дрожжей. На них проведено изучение механизмов конверсии генов и разработаны модели рекомбинационного анализа; они используются почти во всех экспериментах по биохимической и молекулярной генетике.

**Нейроспора (*Neurospora crassa*)**

Нейроспора - хлебная плесень - многоклеточный гриб, его вегетативное тело состоит из нитей (гифов), переплетение которых образует мицелий. Клетки гриба многоядерны, и ядра гаплоидны, перегородки между стенками клеток мицелия имеют отверстия, так что цитоплазма гриба объединена. На гифах формируются вегетативные споры (конидии) с разным числом ядер: многоядерныемакроконидии или одноядерные микроконидии, при прорастании которых вновь образуется мицелий. Таким образом, бесполое размножение нейроспоры осуществляется прорастанием спор.

Мицелии диких штаммов способны к неограниченному росту. На соответствующих средах гриб образует плодовые тела, называемые перитециями. Для полового размножения необходимо участие двух плесеней противоположных типов спаривания А и а. Половой процесс, носящий название гаметангиомии, осуществляется с участием специализированных клеток - гаметангиев. Женский гаметангий состоит из двух частей - аскогона и тонких длинных волокон - трихогин (от греч.трихос - волос, гине - самка). В качестве мужского гаметангия выступают гаплоидные микроконидии. При оплодотворении конидия по трихогине попадает в аскогон. Гаплоидные ядра после плазмогонии объединяются попарно, образуя дикарион. Из аскогона вырастают аскогенные гифы, в которых ядра дикариона синхронно делятся. На аскогенных гифах в плодовых телах (перитециях) развиваются сумки (аски). После оплодотворения оба гаплоидных ядра существуют некоторое время раздельно и многократно делятся митотически, образуя множество аскогенных гиф. Спустя определенное время кончик каждой аскогенной гифы выпячивается и изгибается. Ядра в ней делятся митотически, и образуются четыре гаплоидных ядра. Затем возникают три клетки, две из них содержат по одному, и одна-два гаплоидных ядра, которые сливаются и образуют диплоидное ядро зиготы. Зигота делится мейотически, при этом в обоих делениях сохраняется ориентация веретена и споры располагаются в определенном (линейном) порядке. Четыре гаплоидные споры еще раз делятся митотически и образуется аск с 8 упорядоченными спорами, расположенными вдоль оси аска (рис. II. 8).

**Исследование иммунитета макак-резусов позволит улучшить вакцины от коронавируса**

Американские ученые обнаружили, что у макак-резусов, инфицированных коронавирусом SARS-CoV-2, развивается сильный иммунный ответ, который может быть воспроизведен с помощью вакцины. Результаты исследования предполагают, что наиболее эффективные препараты должны воздействовать на фолликулярные Т-хелперы и Т-хелперы 1. Статья опубликована в журнале Nature Communications.

Иммунный ответ на коронавирус играет решающую роль в выздоровлении, однако иногда сопровождающий его цитокиновый шторм может вызывать серьезные осложнения. Исследования на животных позволяют окончательно определить, какие именно иммунные клетки, активируемые введением вакцины, играют важнейшую роль. Ученые из Калифорнийского университета совместно с коллегами из Университета штата Луизиана исследовали иммунный ответ на новый коронавирус SARS-CoV-2 у макак-резусов.

Для этого авторы статьи заразили восемь обезьян и наблюдали за их иммунными реакциями в течение двух недель. Макаки демонстрировали либо легкое развитие заболевания, которое быстро проходило совсем, либо полное отсутствие внешних симптомов с ратковременным иммунным ответом. У животных проявлялись все признаки выработки эффективного иммунного ответа. В их крови, легких и лимфатических узлах увеличивалось число иммунных клеток типа Th1 — Т-хелперов 1, которые продуцировали антитела IgM и IgG с более высоким сродством, обеспечивающие долгосрочную иммунную защиту.

В лимфатических узлах также формировались герминативные или зародышевые центры, структуры, содержащие Т-фолликулярные клетки, Tfh, связанные с образованием клеток, которые остаются в организме в течение многих лет для выработки антител против патогенов, с которыми иммунная система встречалась раньше. Эти клетки позволяют иммунной системе «запоминать» и реагировать на инфекции. Результаты исследования предполагают, что вакцины, вызывающие ответы Th1 и Tfh, будут наиболее эффективными. https://indicator.ru/medicine/issledovanie-immuniteta-makak-rezusov-pozvolit-uluchshit-vakciny-ot-koronavirusa-22-01-2021.htm

**Контрольные вопросы:**

1. Значение важных модельных объектов в генетических экспериментах.
2. Дрозофила (*Drosophila melanogaster*).

3. Кукуруза (Zea mays Z.).

4. Дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*).

5. Нейроспора (*Neurospora crassa*).

**Лекция 7**

**Генетические исследования с помощью модельных объектов и возможность экстраполяции результатов на человека.**

**Цель:** ознакомить студентов с генетическими исследованиями проводимыми с помощью модельных объектов и возможностью экстраполяции результатов на человека.

**План занятия:**

1. Одноклеточные организмы как модели для анализа функции генов, участвующих в заболеваниях человека.
2. Одноклеточные эукариотические системы дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) и слизевики (*Dictyostelium discoideum*).

***Одноклеточные организмы как модели. Функция эукариотической клетки.*** Все эукариотических организмах клетки состоят из функционально организованных отдельных, окруженных мембраной органелл, таких как ядро, митохондрии, эндоплазматический ретикулум/Гольджи и эндосомы. Кроме того, сходные механизмы контролируют клеточный цикл, клеточное деление, создание клеточной полярности (например, определение места почкования у дрожжей или полярность клеток) у хемотаксирующий *Dictyostelium*) и подвижность (Dictyostelium) как у одноклеточных, так и у многоклеточных эукариот. Многие основные молекулярно-биологические процессы также являюся общими для всех эукариот, включая биохимические пути, репликацию ДНК, репарацию ДНК, контроль транскрипции, процессинг РНК и деградация белков.

Наиболее изученными одноклеточными эукариотическими системами являются дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) и слизевики (*Dictyostelium discoideum*). Завершена расшифровка генома дрожжей (http://genome-www.stanford.edu/Saccharomyces/), и разрабатываются несколько дополнительных ресурсов в масштабе генома, таких как коллекции мутаций в каждом гене и комплексная двухгибридная коллекция, определяющая все двусторонние взаимодействие белков дрожжей. Последовательность генома диктиостелиумата кже почти завершена (http://glamdring.ucsd.edu/others/ dsmith/dictydb.html), и с помощью метода REMI можно эффективно нокаутировать определенные гены (Kuspa and Loomis, 1994).

Таким образом, оба организма представляют собой превосходные молекулярные системы. Кроме того, в этих организмах можно проводить схемы генетической селекции и скрининга, в которых может быть получено более миллиарда потомков и проверено. Генетические схемы такого рода эффективны для выделения потенциальных внутригенных супрессорных локусов второго сайта, а также для насыщения мутации второго сайта, которые модифицируют фенотип данного мутанта. Эти одноклеточные системы не имеют себе равных в построении сетей действия генов, участвующих в основных клеточных биологических процессах. Главное ограничение одноклеточных организмов как моделей для анализа функции генов, участвующих в заболеваниях человека, заключается в том, что патологии, поражающие определенные ткани, такие как нервная система или органы, или физиологические функции, которые возникают в результате взаимодействия между клетками не могут быть оценены на соответствующем уровне организма. Это ограничение не ограничивается генами болезней, которые не имеют очевидных гомологов в одноклеточных организмов, но также может относиться к генам, присутствующим в одноклеточные организмы, но требуются более строго в определенных тканях или экспрессируются в виде разных изоформ в разных типах клеток.

Например, дефекты ферментов, участвующих в энергетическом обмене, могут приводят к дефектам нервной системы или мышц (Blass et al., 2000;Darras and Friedman, 2000; Guertl et al., 2000; Palau, 2001).

**Контрольные вопросы:**

1. Одноклеточные организмы как модели для анализа функции генов, участвующих в заболеваниях человека.

2. Одноклеточные эукариотические системы дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) и слизевики (*Dictyostelium discoideum*).

**Лекция 8**

**Создание и использование трансгенных модельных организмов.**

**Цель:** ознакомить студентов с созданием и использованием трансгенных модельных организмов.

**План занятия:**

1. Модельные организмы и болезни человека.

2.Технология рекомбинантных ДНК позволило использовать трансгенные модели в исследованиях генетических и инфекционных заболеваний человека.

***Модельные организмы и болезни человека.*** У всех модельных организмов не только богатая история участия в научных исследованиях по генетике. Они внесли большой вклад в исследования генетических и инфекционных заболеваний человека. Однако, пока не достигнуто полное понимание того, как и когда можно использовать трансгенные модели с соблюдением всех норм безопасности и этики.

Изучение модельных организмов позволяет понять причины заболеваний и основы здоровья человека. Это направление генетики и биотехнологии быстро меняет нашу повседневную жизнь.

**Технология рекомбинантных ДНК** и последующее секвенирование генома подтвердили общность происхождения всего живого. Отсюда следует, что сходные по функции гены разных организмов близки или идентичны по структуре и нуклеотидным последовательностям. Поэтому большинство вопросов, изучаемых генетиками на модельных организмах, помогают понять причины развития заболеваний у человека. Созданию моделей человеческих болезней, например рака толстой кишки, способствовали трансгенные организмы, включая бактерии, грибы, растения и животных, полученных путем межвидового переноса генов.

Идея исследования рака толстой кишки с помощью E. сoli может показаться странной. Однако основные этапы репарации ДНК (дефектные при некоторых формах рака), а также вовлеченные в них гены у кишечной палочки и человека совпадают: например, гены mutL у E.coli и MLH1 у человека. Еще важнее то обстоятельство, что бактериальные клетки делятся очень быстро, каждые 20 минут. Поэтому ученые могутлегко моделировать и изучать мутации гена mutL для выяснения его функций. Эти знания способствовали созданию лекарственных препаратов и развитию методов лечения рака толстой кишки у человека.

Фруктовая муха *D. melanogaster* также используется для изучения заболеваний человека. У дрозофилы обнаружены мутации генов, обусловливающие аномалии нервной системы, включая структуру мозга и дегенеративные изменения нервной системы у взрослых насекомых. Геномное секвенирование показало, что почти все эти гены имеются у человека. Например, человеческие гены, отвечающие за сложное заболевание сетчатки глаза – пигментный ретинит – идентичны генам Drosophila, вовлеченным в дегенеративные изменения сетчатки. Изучение мутаций этих генов у мух позволяет проанализировать сложное заболевание человека для идентификации функций вовлеченных в него генов.

Другой подход при исследовании заболеваний нервной системы человека состоит в в переносе человеческих генов в клетки дрозофилы с помощью рекомбинантных ДНК. Трансгенные мухи служат для изучения мутаций в человеческих генах, ассоциированных с заболеванием, а также в генах, которые нарушают их экспрессию. Кроме того, на этой модели можно исследовать действие лекарственных препаратов на экспрессию генов – все, что трудно или невозможно изучать у человека напрямую. Подход с переносом генов активно используется для изучения многих нейродегенеративных заболеваний человека, включая болезнь Гентингтона, болезнь Мачадо–Джозефа, миотоническую дистрофию и болезнь Альцгеймера.

**Контрольные вопросы:**

1.Модельные организмы и болезни человека.

2.Технология рекомбинантных ДНК позволило использовать трансгенные модели в исследованиях генетических и инфекционных заболеваний человека.

**Лекция 9**

**Использование трансгенных животных для моделирования заболеваний человека и изучения функций генов.**

**Цель:** ознакомить студентов с использованием трансгенных животных для моделирования заболеваний человека и изучения функций генов.

**План занятия:**

1. Трансге́нный органи́зм.

2. Трансгенные животные в качестве биомоделей в медицинских исследованиях.

**Трансге́нный органи́зм** — живой организм, в геном которого искусственно[1] введен ген, который не может быть приобретен при естественном скрещивании. Первоначально под трансгенными организмами подразумевались любые организмы, в геном которых были при помощи методов генной инженерии введены отсутствующие там гены, однако в настоящее время организмы, в геном которых были введены гены организмов, одного с ними вида или видов, с которыми они скрещиваются в естественных условиях называются цисгенными (введён ген с «собственными» регуляторными участками) либо интрагенными (введён ген с регуляторными участками других генов)[2].

Ген вводится в геном хозяина в форме так называемой «генетической конструкции» — последовательности ДНК, несущей участок, кодирующий белок, и регуляторные элементы (промотор, энхансер и пр.), а также в некоторых случаях элементы, обеспечивающие специфическое встраивание в геном (например, т. н. «липкие концы»). Генетическая конструкция может нести несколько генов, часто она представляет собой бактериальную плазмиду или её фрагмент.

Целью создания трансгенных организмов является получение организма с новыми свойствами. Клетки трансгенного организма производят белок, ген которого был внедрен в геном. Новый белок могут производить все клетки организма (неспецифическая экспрессия нового гена), либо определенные клеточные типы (специфическая экспрессия нового гена).

Создание трансгенных организмов используют:

-в научном эксперименте для развития технологии создания трансгенных организмов, для изучения роли определенных генов и белков, для изучения многих биологических процессов; огромное значение в научном эксперименте получили трансгенные организмы с маркерными генами (продукты этих генов с легкостью определяются приборами, например, зелёный флуоресцентный белок визуализируют с помощью микроскопа, так легко можно определить происхождение клеток, их судьбу в организме и т. д.);

-в сельском хозяйстве для получения новых сортов растений и пород животных;

-в биотехнологическом производстве плазмид и белков.

В настоящее время получено большое количество штаммов трансгенных бактерий, линий трансгенных животных и растений. Близко по смыслу и значению к трансгенным организмам находятся трансгенные клеточные культуры. Ключевым этапом в технологии создания трансгенных организмов является трансфекция — внедрение ДНК в клетки будущего трансгенного организма. В настоящее время разработано большое количество методов трансфекции. В русской научной литературе существовали попытки ввести термины «трансгенез», «трансгеноз» и «трансгенология» для технологии создания трансгенных организмов и соответствующей области знания, но эти термины используются редко.

Близко по значению к термину «трансгенный организм» стоит термин «трансфицированный организм» — организм, в клетки которого был осуществлен перенос гена другого организма. Этот термин иногда используют, когда акт трансфекции осуществлен, но экспрессия нового гена отсутствует. Также этот термин используется для описания организма, в часть клеток которого введена генетическая конструкция (например, введение ДНК в один из органов взрослого животного, в этом случае новый ген не будет передан потомству, а его экспрессия зачастую носит временный характер). Близко по значению к термину «трансгенный организм» стоит термин «генетически модифицированный организм», однако последнее понятие шире и включает в себя не только трансгенные организмы, но и организмы с любыми искусственными изменениями генома.

**Трансгенные животные** используются в лабораториях **в качестве биомоделей в медицинских исследованиях.** Более 90 % из них — генетически модифицированные грызуны, преимущественно мыши (*Mus musculus*). Использование генетически модифицированных животных является важным инструментом для исследования заболеваний человека, они используются для понимания функции отдельных генов и геномов в контексте восприимчивости к разным заболеваниям, их причины и прогрессирования, а также для создания альтернативных подходов для лечения патологий. Рассмотрим ставшие классическими методы трансгенеза, так и новые подходы к получению трансгенных животных, которые наиболее часто используются в фундаментальной и прикладной медицине, а также некоторые патологии, где модифицированные животные — основной инструмент и ключ к понимаю молекулярных и клеточных аномалий, приводящих к заболеваниям позвоночных животных, включая человека.

**Контрольные вопросы:**

1.Трансге́нный органи́зм.

2. Трансгенные животные в качестве биомоделей в медицинских исследованиях.

**Лекция 10**

**Трансгенные животные для изучения атеросклероза**

**и дислипидемических расстройств.**

**Цель:** ознакомить студентов с использованием трансгенных животных для изучения атеросклероза и дислипидемических расстройств..

**План занятия:**

1. Трансге́нный органи́зм для биомедицинских и фармацевтических исследований.

2. Трансгенные животные для изучения атеросклероза и дислипидемических расстройств.

3. Современные генетические технологии для изучения нейрогенеза и нейродегенеративных заболеваний.

Идеальная модель дислипидемических расстройств и атеросклероза на животных для биомедицинских и фармацевтических исследований должна обладать соответствующим потенциалом для экстраполяции данных на человека. В основном, такие модели базируются на индукции и ускорении формирования атеросклеротической бляшки за счет применения специализированных диет, генетических манипуляций и средовых воздействиях.

В первой половине ХХ века применялись диет-индуцированные модели атеросклероза, преимущественно на кроликах. Было показано, что высоко холестериновая диета (HCD), а также диета с высоким содержанием животного белка приводят к атеросклерозу и гиперхолестеринемии.

С 1950-х по 1970-е годы на крысах и кроликах были разработаны и протестированы различные диеты, способные индуцировать гиперлипидемию. Исследования индуцируемого диетой атеросклероза внесли принципиальный вклад в понимание патогенеза этого состояния.

В 1970-х и 1980-х годах для исследования атеросклероза начали активно применять лабораторных мышей. Исследования в области метаболизма липопротеинов в плазме в 1980-х годах, в сочетании с появлением технологий трансгенеза в 1990-х годах, привели к появлению таких нокаутных линий мышей, как ApoE-/-, Ldlr-/-, PCSK9-/-. Кроме того, в 2002 году был секвенирован геном мышей линии C57BL/6, являющейся сравнительно чувствительной к моделированию метаболических нарушенийпосредством диеты. Показано, что модели атеросклероза на мышах в основном не демонстрируют нестабильность атерослеротической бляшки с последующим тромбозом, которые чаще всего являются факторами, связанным с клинически значимыми острыми сердечно-сосудистыми эпизодами [49]. Этиопатогенез образования нестабильной атеросклеротической бляшки включает в себя наличие факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, которые индуцируют эндотелиальную дисфункцию и повышают проницаемость сосудов, приводя к инфильтрации липидов и усиливая адгезию и трансмиграцию моноцитов. В интиме сосудов моноциты дифференцируются в макрофаги и поглощают измененные липиды, превращаясь в пенистые клетки. Одновременно на этом этапе гладкомышечные клетки сосудов мигрируют в интиму, где синтезируют внеклеточный матрикс и способствуют образованию фиброзной капсулы. По мере прогрессирования бляшки количество гладкомышечных клеток уменьшается, пенистые клетки подвергаются апоптозу, высвобождая активные металлопротеиназы, которые разрушают капсулу, повышая вероятность разрыва бляшки. Иммунная система принимает активное участие в этом процессе и играет ключевую роль в дестабилизации бляшек [50].

Кроме этого, в отличие от людей, у мышей редко развивается атеросклероз в коронарных артериях, но легко развивается атеросклероз в корне аорты. Таким образом, распределение поражения тканей у мышей и человека не идентично.

На данный момент большой интерес в качестве биологической тест-системы для изучения атеросклероза и дислипидемических расстройств представляют рыбки Danio Rerio, что находит отражение в статистическом анализе публикаций, освещающих соответствующие модели [24, 51].

Danio Rerio анатомически схожи с более высокоорганизованными позвоночными. Патологические процессы в тканях могут быть изучены и экстраполированы для широкого спектра сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний у человека [52].

*Современные генетические технологии для изучения нейрогенеза и нейродегенеративных заболеваний.* Процесс развития нервной системы (нейрогенез) — это сложный многоступенчатый процесс формирования (специализации) нервных клеток, формирующих отделы нервной системы (центральный и периферический отделы) [61]. Безусловно, понимание молекулярных и клеточных механизмов развития нервной системы необходимо для расшифровки функционирования работы мозга и его пластичности у человека. К наиболее используемым методам изучения нейрогенеза относятся методы генетического трейсинга, позволяющие проследить за судьбами эмбриональных клеток и методы тканеспецифического нокаута (нокина), выявляющие роль одного или ансамбля генов в нейроразвитии или специализации отдельных нейронов или глии. Отслеживание иерархии клеток в развитии —это процесс, направленный на выявление потомства, которое происходит от одной клетки-предшественника (стволой клетки или предшественника, бластных клеток). Трейсинг может быть реализован разными стратегиями, основанными на генетически модифицированных организмах, с использованием генетических маркеров, трансфицированных вирусных векторов или конструкций ДНК и с помощью секвенирования клеток [62].

Трейсинг клеток-предшественников до состояния их конечной специализации и определения их судьбы во взрослом организме стал возможным благодаря разработке некоторых важных генетических инструментов, которые сделали возможным постоянное маркирование клеток. В частности, рекомбинационные системы Cre-loxP [63] и Flp-FRT [64] являются наиболее используемыми система в изучении клеточного трейсинга. Трансгенные линии мышей, которые восприимчивы к индуцибельной рекомбинации Cre под контролем специфических промоторов, могут вызывать экспрессию флуоресцентного репортера (флуоресцентного белка) для определения судьбы нейронных предшественников in vivo [65]. Это было достигнуто путем введения низких доз тамоксифена, и, в зависимости от интересующей линии, были созданы трансгенные мыши, кодирующие различные флуоресцентные белки под контролем специфическихпро моторов, проявляющие особые преимущества и недостатки [66].

**Контрольные вопросы:**

1. Трансге́нный органи́зм для биомедицинских и фармацевтических исследований.

2. Трансгенные животные для изучения атеросклероза и дислипидемических расстройств.

3. Современные генетические технологии для изучения нейрогенеза и нейродегенеративных заболеваний.

**Лекция 11**

**Данио (Danio rerio) — уникальная биомодель для изучения патологий.**

**Цель:** ознакомить студентов с использованием в качестве биомодели *Danio rerio* и органоидных моделей в биомедицинских исследованиях.

**План занятия:**

1. Данио (Danio rerio) — уникальная биомодель для изучения патологий.
2. Oрганоидные модели в биомедицинских исследованиях.
3. Двухмерные и трехмерные культуры клеток.

**Данио (Danio rerio) — уникальная биомодель для изучения патологий.** Модели на *Brachydanio rerio* экономически более выгодны, чем модели грызунов, ввиду меньшей стоимости содержания модельного организма. К преимуществам относится простота содержания и возможность получения большого числа эмбрионов за короткий промежуток времени. Жилищно-селекционные системы гораздо проще. Теоретически одна пара рыбок данио может производить тысячи генетически идентичных эмбрионов. Специфика воспроизводства позволяет исследовать редкие генетические события и проводить параллельное тестирование на большой гомогенной выборке [24].

Внешнее оплодотворение делает манипуляции с эмбрионами гораздо более доступными, чем у млекопитающих. Кроме того, прозрачность эмбрионов *Danio Rerio* позволяет исследовать органогенез прижизненно, в частности при использовании специфических линий и витальных красителей, включая флуоресцентную маркировку.

Кроме того, эмбрионы рыбок данио чрезвычайно быстро развиваются: к 24 часам после ферти лизации большинство этапов органогенеза завершается, что позволяет визуализировать в реальном времени все стадии развития организма [25, 26].

Важно отметить, что в дополнение к этому быстрому анатомическому развитию нейронные, гормональные и паракринные связи также устанавливаются и обеспечивают гомеостаз уже на ранних стадиях развития [27–29].

Небольшой размер эмбрионов рыбок данио и взрослых особей также может быть преимуществом в лабораторных условиях за счет снижения расхода ценных реагентов при проведении скрининговых исследований. Малый размер также облегчает whole-tissue [30], whole-organ и wholeorganism транскриптомный [31, 32], протеомный [33] и другие «омиксные» анализы [34], а также whole-organ клональный анализ [35] и cell-cell картирование [36].

Несмотря на то что общие предки рыб и человека разошлись около 450 млн лет назад, известно, что порядка 82 % генов, ответственных за генетические заболевания, представлены ортологичными генами у рыб данио [37]. Удобство редактирования генома и обилие генов-ортологов у этих животных позволили создать точные биомодели на данио.

Редактирование генома рыб с помощью программируемых нуклеаз позволяет вносить двуцепочечные разрывы в интересующем участке ДНК, что приводит к целевой мутации, приводящей к инактивации гена интереса или изменению его работы.

Исследования на рыбах играют центральную роль в развитии и применении технологий редактирования генома: первоначально редактирование генома рыбок проводили с помощью технологии ZFN (zink finger nuclesases)— специально сконструированных специфичных протеаз, которые можно нацелить на желаемый участок ДНК и с высокой точностью вносить изменения в геном.

**Oрганоидные модели в биомедицинских исследованиях.** Последние годы, в связи с развитием молекулярных методов в исследованиях, моделирование заболеваний человека на лабораторных животных нередко создает дополнительные вопросы по поводу патогенетических механизмов. Даже белки, кодируемые ортологами, не обязательно будут нести совершенно идентичные функции в организмах различных биологических видов. Применение гуманизированных животных также не всегда может дать ответ на все вопросы, модификация далеко не всегда будет затрагивать весь организм.

Для решения задач, связанных с изучением токсичности веществ и реактивности отдельных клеток, двухмерные клеточные культуры применяются уже достаточно давно. **Классические** **двухмерные культуры клеток** тем не менее имеют ряд ограничений, которые не позволяют этой технике применяться в качестве универсальной модели для персонализированной медицины. В монослое культуры может заметно меняться транскриптомный профиль клеток, что влечет за собой возможные изменения их свойств и чувствительности к воздействиям. Кроме того, отсутствие молекулярных сигналов от клеток других популяций также влияет на свойства клеток в культуре. Частично эта проблема решена путем кокультивирования разных видов клеток в одной культуре (макрофаги и фибробласты, эндотелий и клетки опухоли, мезенхимальные стволовые клетки и меланоциты и т. д.) [73–75].

**Органоидные модели — трехмерные клеточные системы** культивирования, которые в большей степени, чем двухмерные, позволяют моделировать как нормальные физиологические процессы, таки патологические состояния. Их возможно создавать из эмбриональных стволовых клеток, индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, а также клеток взрослых организмов, в том числе опухолевых. Они представляют собой относительно недорогие системы, способные к самообновлению и позволяют моделировать самые разные процессы путем воздействия на них различными биологически активными молекулами, физическими факторами, микроорганизмами. При этом сам органоид будет «отвечать» на воздействие сигнальными клеточными каскадами, характерными для того органа/ткани, который он моделирует. Так, органоиды головного мозга генерируют альфа-ритмы, характерные для мозга новорожденных [76].

Органоиды, полученные из новообразований пациентов, демонстрируют те же молекулярные характеристики, что и «материнская» опухоль, что позволяет in vitro наблюдать генетические изменения в их клетках, определять чувствительность к разным типам химиотерапевтических препаратов и предполагать с большой долей вероятности возможность метастазирования конкретного новообразования [77, 78].

В органоидных системах относительно просто можно осуществлять редактирование генома, что может быть полезным как при изучении патогенеза отдельных заболеваний, так и для тестирования определенных терапевтических подходов [79, 80].

**Контрольные вопросы:**

1. Данио (Danio rerio) — уникальная биомодель для изучения патологий.
2. Oрганоидные модели в биомедицинских исследованиях.
3. Двухмерные и трехмерные культуры клеток.

**Лекция 12**

**Лабораторные животные – биомодели и тест-системы в фундаментальных и доклинических экспериментах.**

**Цель:** ознакомить студентов с использованием модельных объектов в различных тест-системах в экспериментальной генетике.

**План занятия:**

1.Лабораторные животные – биомодели и тест-системы в фундаментальных и доклинических экспериментах.

2. Лабораторные животные (или тест-системы): рыбы, крысы и мыши.

Лабораторные животные (или тест-системы) являются ключевой позицией, так как именно их выбор, качество и соблюдение принципов биоэтики при их использовании влияют на корректность результата всех последующих этапов. Термин «лабораторные животные» при всей своей очевидности требует определения.

К лабораторным животным относят специально разводимые виды в лабораториях, вивариях и питомниках с целью дальнейшего их использования в экспериментах.

Следует признать, что в настоящее время не существует технологий, способных заменить тесты на животных. Значит, пока для ряда исследований замена животных на культуры клеток, тканей, органов невозможна. Замена в опыте, когда это возможно, высокоорганизованных лабораторных животных менее развитыми живыми объектами — более реальная задача.

Например, замена млекопитающих животных рыбами. Большое количество исследований выполняют сейчас с использованием рыб, в частности, аквариумных рыбок семейства карповых данио рерио (Danio rerio, английское название Zebrafish).

Данио рерио относится к так называемым модельным организмам биологии развития. Благодаря простоте содержания, размножения, высокой скорости развития эмбриона она стала своего рода лабораторной белой мышью для ихтиологии.

Информация о существующих альтернативных методах регулярно публикуется во многих международных журналах, наиболее популярным из которых признан ATLA (Alternatives To Laboratory Animals). В настоящее время ведутся работы по разработке методов исследований, заменяющих животных в эксперименте. Частичное замещение животных альтернативными моделями или полное исключение животных из экспериментов — вот суть периодически вспыхивающих в околонаучной среде дискуссий. Исследователи справедливо полагают, что не только исключение, но и простое ограничение использования лабораторных животных высокого качества (SPF, гнотобиоты) и необходимого разнообразия (инбредные, гетерогенные, трансгенные, нокаутные) не просто затормозит, но и попросту остановит прогресс в познании живых систем. Это создаст угрозу для безопасности человечества в условиях агрессии биологических, химических и физических факторов, ограничит возможности человека влиять на материальный мир.

Более того, принятый билль о безопасности лекарств [5] требует прямого сравнения безопасности лекарства в тестах на животных с батареями тестов, базирующихся на биологических основах человека.

Долгое время лабораторные крысы были одним из самых распространенных экспериментальных животных. Основанием является тот факт, что геном крысы имеет до 90% сходства с геномом *Homo sapiens*.

До сих пор существует мнение, что линии крыс с определёнными заболеваниями служат хорошими моделями для изучения механизма болезни, развития и тестирования новых лекарственных препаратов. Линии дали возможность проводить ряд прежде недоступных исследований. Для решения конкретных задач было выведено около двух сотен линий крыс. Например, линия крыс со спонтанной гипертонией (spontaneously hypertensive rats, SHR), известная с 1960-х гг., линия крыс-эпилептиков, животных, отличающихся повышенной возбудимостью нервной системы и слабой активностью тормозных нейронов. В попытках создать валидные модели для изучения различных патологических процессов было создано разнообразие линий крыс, поскольку в фундаментальных исследованиях важными являются проблемы валидности моделей. Крыса не является идеальным модельным организмом. У крыс гораздо сильнее, чем у человека развита система утилизации токсинов, защита организма от ядов. Эти животные часто нечувствительны к ядам и быстро развивают устойчивость к новым токсичным веществам. Именно поэтому лекарства, признанные безопасными в опытах на крысах, нуждаются в дальнейшем тестировании на других видах, а затем уже на человеке.

С середины 70-х гг. прошлого столетия популярность лабораторной крысы стала уступать место мышам.

Лабораторные мыши как объект существуют так же, как и крысы во множестве линий. Сегодня существует к тому же несколько сотен линий мышей, генетически модифицированных с использованием методики генетического нокаута, т.е. когда ген блокирован или вживлён новый ген. Так были получены АПП трансгенные мыши. Аббревиатура АПП происходит от «амилоидного предшественника протеина». Этот предшественник даёт начало белку, который служит причиной болезни Альцгеймера. АПП трансгенным мышам вживлёнген болезни Альцгеймера, полученный от шведской семьи, страдающей этим недугом. У трансгенных мышей этой линии нарушены нейрональные функции, животные страдают от недостатка пам яти,плохо приспосабливаются к новым условиям, зато служат хорошей моделью для изучения склероза и тестирования лекарств, укрепляющих память.

**Контрольные вопросы:**

1.Лабораторные животные – биомодели и тест-системы в фундаментальных и доклинических экспериментах.

2. Лабораторные животные (или тест-системы): рыбы, крысы и мыши.

**Лекция 13**

**Особенности применения модельных организмов в тестах на мутагенность химических соединений.**

**Цель:** ознакомить студентов с особенностями применения модельных организмов в тестах на мутагенность химических соединений.

**План занятия:**

1. Особенности применения модельных организмов в тестах на мутагенность химических соединений.

2. Дрозофила как первый детектор мутагенеза.

3. Альтернативные модели для изучения мутагенеза.

При рассмотрении плана эксперимента по выявлению мутагенных свойств одним из главных вопросов является выбор организма, способного служить адекватной моделью.

Известно, что мутагенный эффект существенно зависит от особенностей подвергаемого воздействию организма. Одни и те же мутагены в одинаковых дозах влияют по-разному на геном про- и эукариотов, на простейших и многоклеточных, на растения и животных. Интенсивность мутагенного эффекта значительно зависит от возраста объекта, от стадии жизненного цикла, от того, подвергается ли воздействию весь организм или конкретный орган.

***Дрозофила как первый детектор мутагенеза.*** Первые результаты опытов по применению химических веществ с целью ускорения мутационного процесса у *Drosophila melanogaster* опубликованы исследователями Института экспериментальной биологии под руководством Н. К. Кольцова.

Первым веществом, примененным в качестве химического мутагена, был 10%-й раствор йода.

В серии опытов 1932 г. В. В. Сахаров обнаружил и описал новые сцепленные с полом мутации дрозофилы [4]. В 1934 г. М. Е. Лобашев и Ф. А. Смирнов публикуют результаты применения уксусной кислоты и аммиака в качестве мутагенов, хотя констатируют, что мутационный эффект слабый: 0,090 % в опыте против 0,086 % в контроле.

Как самостоятельное направление генетической науки химический мутагенез сформировался в 1946 г., когда одновременно выходят две работы, посвященные открытию «сверхмутагенов», приближающихся по количеству индуцируемых ими мутаций к рентгеновскому излучению. Автором первой: «Карбонильные соединения и химический мутагенез», является выдающийся советский генетик И. А. Рапопорт [5].

Идея проверить иприт на мутагенную активность возникла у Робсона в начале Второй мировой войны. Робсон, изучая воздействие иприта на влагалищный эпителий мышей, обнаружил, что иприт оказывает действие, аналогичное рентгеновским лучам, подавляя митотическую активность клеток [5].

**Альтернативные модели**. Следует отметить, что в том же 1946 г. Нобелевская премия по биологии и медицине была присуждена Г. Д. Меллеру за открытие в 1927 г. мутационного процесса под воздействием рентгеновского излучения [13]. Известно, что аналогичный эксперимент годом ранее был произведен советскими генетиками Г. А. Надсоном и Г. С. Филипповым на низших грибах рода Mucoraceae, с получением новых стойких рас микроорганизмов после воздействия рентгеновских лучей.

Результаты эксперимента были опубликованы в журнале «Вестник рентгенологии и радиологии» № 3 за 1925 г. Эта работа не получила широкой известности из-за отсутствия строгого количественного учета полученных мутаций, а также, вероятно, по причине нестандартного выбора объекта испытаний.

Несмотря на верность генетиков дрозофиле, альтернативные объекты мутагенеза все-таки применялись ввиду их бóльшей утилитарности.

Американские генетики Д. У. Бидл и Э. Л. Тэйтума, проводили опыты по наследованию мутаций, вызванных рентгеновским излучением, как на дрозофиле, так и на других объектах: кукуруза и плесневом грибке нейроспора густая (Neurospora crassa). Выбор нейроспоры в качестве модельного организма оказался удачным – это быстро размножающийся, неприхотливый к условиям культивирования аскомицет. Клетки гиф одноядерные, в асках образуется ровно восемь спор, расположенных линейно, что облегчает визуальную интерпретацию культуры. Геном гаплоидный, преобладает бесполое спороношение, что позволяет возникшим мутациям сразу же проявляться в фенотипе.

Пекарские дрожжи как объект изучения мутагенеза несколько уступают нейроспоре. Сложный жизненный цикл со сменой диплоидной и гаплоидной стадий делают дрожжи хорошим инструментом для изучения рекомбинации признаков, нежели для детекции мутагенеза.

Г. Д. Меллер в статье, опубликованной в Science, также указывает, что в качестве объекта радиационного мутационного он использовал дрозофилу, однако по другим источникам известно, что он также экспериментировал с осами и кукурузой [5]. Кукуруза была одной из любимых, но второстепенных моделей у американских генетиков. Так, в работе Б. Маклинток 1950 г., сообщающей об открытии «мутабельных локусов» (транспозонов) в геноме кукурузы, автор несколько раз проводит ассоциативные параллели с дрозофилой, не являвшейся объектом этого исследования [12].

Современный уровень развития биологического знания, прежде всего о тонкой структуре

генома, предоставляет исследователю практически неограниченный выбор биологических моделей для изучения химического мутагенеза на современном уровне. Модель подбирается в зависимости от состава пробы, генетического механизма мутации, статистических требований к массиву первичных данных, затрат времени и др.

Свойства объектов могут варьировать вплоть до применения моделей с уникальными параметрами: от использования в тесте Эймса на мутагенность морской воды Vibrio harveyi, который лучше энтеробактерий переносит соленость среды [10] до простейших демонстрационных опытов для студентов на одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris* из-за наглядности мутаций утраты хлорофилла [7].

В генетической токсикологии правильно выбранный объект, соответствующий схеме эксперимента, может стать биологическим детектором мутагенеза с достаточно высоким прогностическим потенциалом.

Если в области поиска эффективных лекарств исследователь сначала моделирует молекулу in silico, имея возможность манипулировать потенциальной биологической активностью вещества без особых затрат [1], то на следующем этапе при тестировании потенциальной токсичности, затратность резко возрастает. Фармакологу необходимо подтвердить безопасность вещества по каждому виду токсичности, для чего применяются целые батареи тестов по каждому виду потенциальных рисков.

Правильно выбранный модельный организм, способный стать эффективным биологическим детектором выявления генной и других видов токсичности, представляет собой перспективу оптимизации времени и затрат доклинического этапа испытаний лекарственных средств.

**Контрольные вопросы:**

1. Особенности применения модельных организмов в тестах на мутагенность химических соединений.

2. Дрозофила как первый детектор мутагенеза.

3. Альтернативные модели для изучения мутагенеза.

**Лекция 14**

**База данных модельных объектов генетики.**

**Цель:** ознакомить студентов с использованием базы данных модельных объектов генетики.

**План занятия:**

1. Использование базы данных модельных объектов генетики для выявления новых генов у людей, участвующих в болезненных состояниях.

2. Веб-сайты генома модельных организмов.

***Использование базы данных модельных объектов генетики для выявления новых генов у людей, участвующих в болезненных состояниях.*** Учитывая, что три четверти всех известных генов, вызывающих заболевания при мутациях у людей, имеют аналоги в модельных системах, таких как дрозофила, кажется весьма вероятным, что эти гены часто выполнять сходные функции в контексте сходных молекулярных путей или белковых комплексов в модельных организмах и людях. Эти глубокие гомологии между генетическими базами данных можно использовать для понимания функция генов, которые могут вызывать заболевания у людей при изменении и может быть очень полезным для выявления новых генов у людей, участвующих в болезненных состояниях.

С завершением проекта генома человека и открытием многих наиболее важных генов, участвующих в наследственных заболеваниях, основной акцент в генетике человека смещается на понимание функции этих генов болезней. Модельные организмы ранжируются от дрожжей до мышей предлагают явные преимущества для кросс-геномного анализа различных аспектов функции генов болезней человека. Если одноклеточный организмы, такие как дрожжи и слизевики, имеют тесно связанные последовательности с интересующим геном данного человеческого заболевания, эти мощные модельные системы идеально подходящие для проведения систематических скринингов новых генов, которые взаимодействуют с геном вызывающим болезни как часть общего эукариотического пути или клеточного процесса. Поскольку нарушения развития по определению включают взаимодействие между клетками в многоклеточных организмах, существует также потребность в модельных генетических системах, таких как Drosophila и *C. elegans*, которые могут определять гены, действующие на уровне организма. Большим преимуществом, предлагаемым этими модельными генетическими системами, является возможность разработки скрининга модификаторов второго сайта для идентификации новых генов, участвующих в данном процессе или пути развития. Это не обязательно, чтобы эти модельные организмы имитировали болезни человека до тех пор, пока генетический скрининг успешно идентифицирует белки, которые функционируют как часть законсервированного молекулярного устройства. Ну наконец то, модельные системы позвоночных, такие как мыши или рыбки данио, необходимы за предоставление точных моделей болезненного состояния человека.

По мере того как кросс-геномные подходы становятся рутинным компонентом анализа функций болезней человека, интересная и важная задача будет состоять в том, чтобы интегрировать исследования различных систем в дополнительные сравнительные программы. Критический элемент этой интеграции будет использование вычислительных методов для поиска в больших наборах данных о фенотипе и экспрессии генов для извлечения скрытых взаимосвязей между отдельными генами и генетическими базами. Следующее десятилетие должен оказаться очень плодотворным периодом для создания этой новой области сравнительной функциональной геномики.

***Веб-сайты генома модельных организмов:***

Yeast: http://genome-www.stanford.edu/Saccharomyces/

Slime mold: http://glamdring.ucsd.edu/others/dsmith/dictydb.html

Fly: http://flybase.bio.indiana.edu:82/

Worm: http://www.expasy.ch/cgi-bin/lists?celegans.txt

Zebrafish: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/D\_rerio.html

Mouse: http://www.informatics.jax.org/

Human disease genes (OMIM): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/>

**Контрольные вопросы:**

1. Использование базы данных модельных объектов генетики для выявления новых генов у людей, участвующих в болезненных состояниях.

2. Веб-сайты генома модельных организмов.

**Лекция 15**

**Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных работ в биологии и медицине.**

**Цель:** ознакомить студентов с этическими и правовыми аспектами проведения экспериментальных работ в биологии и медицине.

**План занятия:**

1. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных работ в биологии и медицине.

Современные исследователи отмечают, что сегодня в науке сложилось два ключевых императива, между которыми наблюдается конфликт: с одной стороны, свобода научного поиска, с другой – необходимость ограничения этой свободы в интересах человека [10]. Поэтому этичность опытов на животных остаётся предметом многочисленных, длительно продолжающихся дебатов не только в научном мире, но и среди обывателей, которые неравнодушны к подобному обращению с животными (Всемирное общество защиты животных, ВОЗЖ (World Animal Protection, англ.), Международный фонд защиты животных (International Fund for Animal Welfare, англ.), Центр защиты прав животных «Вита» (VITA – Animal Rights Center, англ., от лат. Vita – «жизнь»). В том числе и эти аспекты послужили причинами возникновения и развития такой науки как биоэтика (Поттер В.Р., 1971) [11].

Основываясь на потребностях и соответствии экспериментального исследования международным требованиям работы с животными, включаяэтические проблемы этих требований, с одной стороны, и на тех этических парадигмах, которые превалируют в обществе на настоящий момент его развития, с другой стороны, определены наиболее важные подходы к практике использования животных в эксперименте.

Важнейшим этапом эксперимента in vivo является выбор и подготовка животных к проведению эксперимента и оценка адекватности биомодели целям и задачам эксперимента.

Согласно современным требованиям, до эксперимента животные должны содержаться в питомниках, которые зарегистрированы в таких системах, как World Cat Federation (WCF) – Всемирная федерация кошек, Federation Internationale Feline (FIFE) – Международная федерация кошек, The International Cat Association (TICA) – Международная ассоциация кошек, Российской Ассоциации заводчиков и любителей морских свинок (РАМС), Санкт-Петербургский Клуб Декоративного Крысоводства (КДК СПб). Данные системы появились ещё в первой половине XX в. как сообщества по проведению выставок домашних питомцев, позднее они стали организациями со своими уставами и правилами [20].

Клонирование заинтересовало не только исследователей, но и промышленную и сельскохозяйственные сферы (в животноводстве с помощью клонирования могут быть созданы «копии» животных, обладающих уникальным сочетанием генетического материала, повторение которого невозможно при естественном воспроизводстве). Но клонирование животных не имеет широкого распространения, в первую очередь из-за низкого выхода здорового молодняка (в среднем около 9% у крупного рогатого скота). Из общей структуры генетических технологий стоит выделить выращивание генно-модифицированных культур, которое в РФ законодательно не запрещено, но согласно статье 50 Федерального закона №7-ФЗ от 10.01.2002 «Об охране окружающей среды»: …производство, разведение и использование растений, животных и других организмов, созданных искусственным путем, запрещено без получения положительного заключения государственной экологической экспертизы. В свою очередь, она не может быть осуществлена на практике, т.к. на сегодняшний день еще не утверждены необходимые подзаконные акты, регулирующие ее организацию и проведение [28].

**Контрольные вопросы:**

1. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных работ в биологии и медицине.