

Самостійна робота №4

Тема: Гістотехнології, можливості та перспективи використання

2 години

Під час опрацювання даної теми самостійної роботи студенти повинні ознайомитись з досягненнями та перспективами використання сучасних цитотехнологій.

План

1. Стовбурові клітини.
2. Взаємодія клітин.
3. Гістотехнології.
4. Клонування живих організмів.

Література:

1. Задорожний К.М. Біологія 10 клас. Стандарт і академічний рівень. – Х.: Вид. група «Основа», 2010. – с.137; с.87.
2. Використані матеріали статті: Жуйкова А. Є., Веселовська Ю. С. Ділова стовбура — хто вона така? // Біологія. — 2009. — № 1.
3. Біологія: 10 кл.: Підруч. для загальноосвіт. навч. закл.: рівень стандарту, академічний рівень / П.Г. Балан, Ю.Г. Вервес, В.П. Поліщук. – К.: Генеза, 2010. – с. 174-175.
4. http://uk.wikipedia.org/wiki/Файл:Gap_cell_junction_uk.svg.

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Стовбурові клітини

Термін «стовбура клітина» (СК) був уведений у біологію О. О. Максимовим у 1908 р. Досліджуючи процеси кровотворення, Максимов дійшов висновку: у нашому організмі протягом усього життя зберігаються недиференційовані клітини, які можуть перетворюватися на лімфоцити та інші спеціалізовані клітини сполучної тканини й крові.

На ранніх стадіях розвитку ембріона клітини неспеціалізовані. Вони отримали назву стовбурових (СК), тому що розташовані біля основи уявного стовбура генеалогічного дерева клітин, яке вінчає корона з різних спеціалізованих клітин. На відміну від звичайних клітин, приречених

виконувати суворо визначені функції в організмі, СК у процесі розвитку мають можливість набувати спеціалізації.

ДНК у всіх клітинах одного організму (крім статевих), у тому числі й стовбурових, однакова. Клітини різних органів і тканин, наприклад клітини кістки й нервові клітини, відрізняються лише тим, які гени в них увімкнені, а які вимкнені, тобто регулюванням експресії генів, наприклад, з допомогою метилювання ДНК. Тобто геном у всіх клітин ідентичний, але режим роботи, у якому він перебуває, — різний.

Крім того, СК мають ще кілька відмітних властивостей. Вони неспеціалізовані, тобто не мають тканевоспецифічних структур, що дозволяють виконувати спеціалізовані функції. СК розмножуються шляхом поділу, як і всі інші клітини. Відмінність полягає в тому, що вони можуть ділитися необмежено, а зрілі клітини зазвичай мають обмежену кількість циклів поділу. Тож говорять, що СК здатна до проліферації, тобто до тривалого розмноження і репродукції великої кількості клітин.

Вони здатні до диференціювання — процесу необоротної спеціалізації клітин. Сили, що дають поштовх початку диференціювання, очевидно, можуть бути внутрішніми й зовнішніми. Внутрішні сигнали управляються генами клітини, а зовнішні — хімічними речовинами, які виділяють інші клітини, фізичним контактом із сусідніми клітинами, а також деякими молекулами навколишнього середовища. У всіх випадках ці впливи мають по суті інформаційний характер, а не фізичний, хімічний чи характер середовища.

Сьогодні вже немає жодних сумнівів, що всі тканини організму людини утворюються із СК різних клітинних ліній у результаті процесів проліферації, міграції, диференціювання й дозрівання. Однак ще донедавна вважалося, що СК у дорослому організмі є тканевоспецифічними, тобто здатними виробляти лінії спеціалізованих клітин лише тих тканин, у яких вони знаходяться. Це концептуальне положення було спростовано фактами трансформації гемопоетичних СК не лише в клітинні елементи периферичної

крові, але й в овальні клітини печінки. Крім того, і нейрональні СК виявилися здатними давати початок як нейронам і гліальним елементам, так і лініям клітин — попередників гемопоезу. У свою чергу, мезенхімальні стовбурові клітини, що зазвичай продукують клітинні елементи кісткової, хрящової та жирової тканин, здатні трансформуватися в нейрональні стовбурові клітини.

Отже, останніми роками встановлено такі факти трансдиференціювання СК дорослого організму:

гематопоетичні СК можуть диференціюватися в нейрони та інші клітини мозку, м'язові клітини, клітини печінки;

стромальні клітини кісткового мозку можуть диференціюватися в клітини серцевого і скелетного м'язів;

- СК мозку можуть диференціюватися в клітини крові та скелетних м'язів.

Справа в тому, що в процесі дозрівання СК проходять кілька стадій. У результаті в організмі існує низка популяцій СК різного ступеня зрілості. У нормальному стані чим більш зрілою є клітина, тим менша ймовірність того, що вона зможе перетворитися на клітину іншого типу. У різних органах і тканинах дорослого організму існують такі частково дозрілі СК, готові швидко дозріти й перетворитися на клітини потрібного типу. Вони називаються бластними клітинами. Наприклад, частково дозрілі клітини мозку — це нейробласти, кістки — остеобласти і так далі. Диференціювання можуть запускати як внутрішні причини, так і зовнішні. Будь-яка клітина реагує на зовнішні подразники, у тому числі й на спеціальні сигнали — цитокіни. Наприклад, є сигнальна речовина, що служить ознакою перенаселеності. Якщо клітин стає забагато, то вона стримує поділ. У відповідь на сигнали, що надходять, клітина може регулювати експресію генів.

Однією з основних характеристик СК є здатність до асиметричного поділу. У результаті поділу спеціалізованих клітин утворюються пари таких самих клітин, абсолютно тотожних одна одній. А для СК це правило не

обов'язкове: вони діляться несиметрично — лише одна дочірня клітина ідентична батьківській і залишається стовбуровою, друга проходить низку перетворень і стає спеціалізованою. Клітина в проміжній стадії між стовбуровою і спеціалізованою називається камбіальною. Якби відбувалося інакше, організм швидко витратив би запас СК, і відновлення тканин стало б неможливим. Цей процес порушується з віком, у людей похилого віку менше СК, ніж у дітей і дорослих, але певна їх кількість зберігається до глибокої старості.

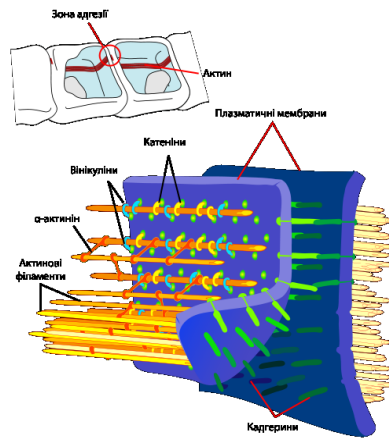
2. Взаємодія клітин

У вищих тварин та рослин клітини об'єднані в тканини та органи, у складі яких вони взаємодіють між собою, в тому числі і завдяки прямим фізичним контактам. У рослинних тканинах окремі клітини поєднані між собою за допомогою плазмодесм, а тваринні утворюють різні типи клітинних контактів.

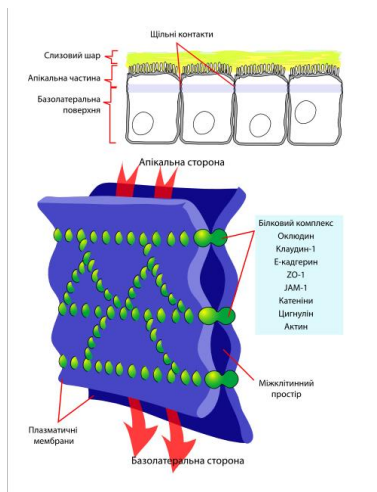
Плазмодесми рослин — це тонкі цитоплазматичні канали, що проходять через клітинні стінки сусідніх клітин, сполучаючи їх між собою. Порожнина плазмодесм вистелена плазмалемою. Сукупність всіх клітин, об'єднаних плазмодесмами називається симпластом, між ними можливий регульований транспорт речовин.

Між клітинами хребетних тварин утворюються три основні типи контактів: якірні (англ. anchoring junctions), що включають адгезивні контакти та десмосоми, щільні або ізоляційні (англ. tight junction) та щілинні або комунікаційні (англ. gap junction). Основні характеристики міжклітинних контактів хребетних тварин.

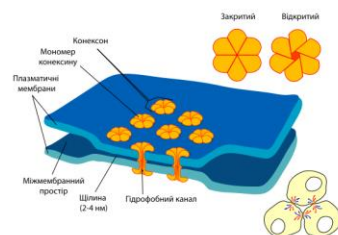
Якірні контакти



Щільні контакти



Щілинні контакти



Якірні контакти фізично з'єднують клітини між собою, вони забезпечують цілісність і міцність тканин, зокрема епітеліальних і м'язових. При утворенні контактів цього типу елементи цитоскелету сусідніх клітин ніби об'єднуються в єдину структуру: за допомогою спеціальних якірних

білків вони прикріплюються до внутрішньоклітинної частини білків кадгеринів, що проходять через плазматичну мембрану і в міжклітинному просторі прикріплюються до кадгеринів сусідніх клітин. Розрізняють два основні типи якріних контактів: адгезивні, що об'єднують мікрофіламенти сусідніх клітин; та десмосоми, в утворенні яких беруть участь проміжні філаменти. Щільні (ізоляційні) контакти забезпечують максимальне зближення мембран сусідніх клітин, між якими залишається проміжок у 2-3 нм. Цей тип контактів найчастіше виникає в епітелії. Щільні контакти утворюють неперервні пояски навколо кожної клітини міцно притискаючи їх одне до одної і запобігаючи протіканню міжклітинної рідини між ними. Такі контакти необхідні зокрема для забезпечення водонепроникності шкіри людини. У формуванні щільних контактів беруть участь білки оклюдини, клаудини та інші. Щілинні (комунікаційні) контакти — це невеликі ділянки, на яких плазмалема сусідніх клітин наближені одна до одної на відстань 2-4 нм, і пронизані білковими комплексами — конексонами. Кожен конексон складається із шести трансмембранних білків конексинів, що оточують невеликі гідрофільні пори діаметром у 1,5 нм. Через ці канали із клітину в клітину можуть проходити іони та інші невеликі гідрофільні молекули. Таким чином відбувається спілкування між сусідніми клітинами. Щілинні контакти характерні для більшості тканин тваринного організму (зокрема епітеліальної, сполучної, серцевого м'яза тощо).

3. Гістотехнології

До гістотехнологій зараз відносять технології, пов'язані з вирощуванням окремих тканин і цілих органів. Можна назвати три основні напрямки створення нових технологій на основі культивування клітин і тканин.

Перше — отримання промисловим шляхом цінних біологічно активних речовин. Так отримані мутантні клітинні лінії раувольфії змінної —

продуценту індольних алкалоїдів, які містять у 10 разів більше цінного для медицини анти-ритмічного алкалоїду — аймаліну.

Друге — використання тканинних і клітинних культур для швидкого клонального мікророзмноження та оздоровлення рослини. Мікроклональне розмноження добре ведеться з картоплею, капустою, часником, томатами, цукровим буряком.

Третю групу становлять технології, пов'язані з генетичними маніпуляціями на тканинах, клітинах, ізольованих протопластах. Тканинна інженерія подає надії на подолання чоловічого й жіночого безпліддя та розв'язання інших проблем, пов'язаних з функціональною діяльністю репродуктивної системи в людей.

4. Клонування живих організмів

Термін «клон» - грецьке слово (klon) означає гілочку, пагін, черешок. І вже більше 4 тисяч років людству відомий такий спосіб вегетативного розмноження рослин.

Про безстатеве розмноження, тобто клонування ссавців, стало відомо не так давно.

Народження в 1997 році клону ягнички за ім'ям Доллі в Інституті Рослінг у Великобританії в результаті використання донорського ядра клітини молочної залози дорослої вівці стало сенсацією. А незабаром заговорили й про клонування людини.

Що необхідно для клонування людини:

- 1) жіноча яйцеклітина, з якої видаляється власне ядро;
- 2) клітина донора, що підлягає клонуванню. Ядро цієї клітини трансплантується в яйцеклітину;
- 3) отриманий у такий спосіб зародок впроваджується в матку сурогатної матері, тобто жінки, яка погодилася виносити цю вагітність.

Народжена у такий спосіб людина і є клоном. Він успадковує в повному обсязі генетичний код донора (генотип). Але справа в тому, що далеко не з

першої спроби вдається одержати зародок клону. Наприклад, у випадку з ягничкою Доллі це вийшло з 277 спроби. Виходить, заради цього загинуло 276 яйцеклітин. При клонуванні людини передбачається, що таких втрат буде набагато більше.

Свого часу Папа Римський Іоанн Павло II був дуже стурбований проблемою клонування людини, висловлювався проти цієї ідеї. За його переконаннями, наукові дослідження в цій галузі повинні бути обмежені базовими нормами етики.

Прихильники клонування людини вважають, що при розумному законодавчому регулюванні, переваги клонування перевищили б його недоліки. Клонування може вирішити проблему дітонародження в безплідних пар, а найголовніше, що їх надихає, це те, що можна поліпшити людське суспільство клонами видатних людей, таких як Ньютон, Ейнштейн, Рузвельт, Черчилль, Наполеон, видатними спортсменами, художниками і артистами.

Вони цілком припускають клонування із тканин давно померлих людей. Навіть фараона Єгипту Рамзеса II. Такий безглуздий оптимізм дивує. Де гарантія того, що клони успадкують духовні цінності цих людей? У релігії вважають, що в момент злиття яйцеклітини зі сперматозоїдом, Бог дає душу майбутній живій істоті.

А при клонуванні навіть немає сперматозоїдів. А що, якщо клон буде мати тільки тіло без людських думок і інших людських рис, що відрізняють його від тварини. Ця людиноподібна істота буде в найкращому випадку нагадувати оболонку людини.

Прийняти клонування людини важко не тільки з погляду етики, хоча це основна проблема, є серйозне занепокоєння й з технічної точки зору. При клонуванні тварин (пацюків, овець, свиней) було виявлено, що в них часто розвиваються фізичні дефекти або їх спіткає передчасна смерть.

Професор Ян Вілмут, «батько» клонованої ягнички Доллі, попереджає, що при клонуванні людини «існує ризик, що на пізній стадії вагітності в

багатьох випадках відбудеться викидень, або діти народяться з фізичними дефектами, або мертвими, перш ніж вийде вдалий клон».

Він підрахував, що 50% клонів помирає ще в утробі, ще 20% народжених помре в ранньому дитинстві. З огляду на все це, клонування людей повинне вважатися злочином. На сьогоднішній день так вважають більшість прогресивних вчених усього світу.

Ніхто не повинен прагнути мати сотні людських яєць або ембріонів, які потім опиняються перед небезпекою знищення. Більш того, діти, породжені шляхом таких технологій, після народження можуть зустрітися з багатьма кошмарами, такими як інформаційні перешкоди, різного роду деформації й нестерпний психологічний тиск суспільства.

Штовхнути людство на такий ризик буде найнеетичнішою справою в історії людської медицини. Саме тому в 1997 році ЮНЕСКО прийняла Загальну Декларацію, що забороняє клонування людини й пропонує суворий контроль держави над всіма дослідженнями в цьому напрямку.

На сьогоднішній день тільки декілька країн прийняли закони, що забороняють дублювання людини, включаючи Англію, Німеччину, Ізраїль. У США розробляється такий закон. Разом з тим, є чимало прихильників так званого «терапевтичного» клонування людських істот. Мова йде про створення ранніх ембріонів для одержання донорських тканин, призначених для лікування конкретних хворих людей.

Для цього використовуються стовбурні клітини, тобто клітини людських ембріонів раннього періоду розвитку. Здатність росту стовбурних клітин просто фантастична: трьохмільйонноклітинний організм новонародженої людини утвориться з однієї єдиної клітини всього за дев'ять місяців.

Але ще більш вражає здатність диференціації: та ж сама стовбурна клітина може перетворюватися в будь-яку клітину будь-якого людського органу, будь то нервова, печінкова, серцева, імунна й т.д. Для медицини це безцінний матеріал.

Це означає, що можна в лабораторних умовах вирощувати попередників найрізноманітніших клітин і потім трансплантувати їх важкохворим людям замість донорських органів. Але й у цьому випадку існує ключова морально-етична проблема - статус ембріона. З якого моменту його варто розглядати як істоту, яка має право на життя. Чи правомірна загибель однієї істоти заради життя іншої?

Ватикан знову засудив клонування людини в медичних цілях. Однак багато вчених вважають, що можна вирішити ці проблеми вузько законодавчим шляхом. Але разом з тим життя показує, що аморальним людям закон не вказівка, як у бразильському телесеріалі «Клон». Це, звичайно вигаданий герой, але на сьогоднішній день дуже активно діє, фінансуючи клонування, секта «Раелітів».

Засновник і глава цієї секти, канадець Клод Ворільон, у минулому спортивний репортер, нині відомий як Раель, у лютому 2002 року заявив, що дослідження компанії «Клонейд» тривають у секретних лабораторіях. І на початку 2003 Раелейм заявив, що перший клон людини з'явився на світ. Але більше ніяких подробиць і звісток у засоби масової інформації не надходило.

Отже, клонування - добре це або погано? Є давньоіндійська мудрість: «З великими зусиллями піднімаємо ми камінь на гору, а донизу він падає миттєво, так само тягнуть нас нагору чесноти, а донизу - пороки».

ХРОНІКА ЕКСПЕРИМЕНТІВ З КЛОНУВАННЯ ЛЮДИНИ

У Південній Кореї людину клонували у травні 2002 року. Представники Міністерства охорони здоров'я Південної Кореї заявили, що розпочали розслідування діяльності медичної компанії BioFusion Tech, яка оголосила про те, що клонувала людину. Про це повідомило BBC. Представник компанії повідомив, що клонований ембріон імплантували в матку жінки ще у травні цього року. Операцію провели за межами республіки, тому її не можуть переслідувати за корейськими законами, заявили в BioFusion Tech. Проте у Міністерстві охорони здоров'я вважають, що клонування людини без

відповідної ліцензії держави повинне переслідуватися як кримінальний злочин, оскільки це «суперечить медичній етиці». Місцевий парламент сьогодні розглядає законопроект про заборону експериментів з клонування людини.

У програмі Панайотіса Завоса — фахівця з клонування людини — бере участь подружня пара зі США, пише Sunday Herald 22 липня цього року. Газета умовно називає їх Біллом і Кеті. Найближчими тижнями їх викличуть до засекреченої клініки, де лікарі спробують клонувати Кеті, використовуючи при цьому ту ж саму технологію, що дозволила створити овечку Доллі. Майбутній ембріон повинен містити мінімум генів донора яйцеклітини, але переважно в ньому будуть гени матері.

У інтерв'ю Sunday Herald Білл і Кеті розповіли, що протягом 9 років намагалися стати батьками, але після низки безуспішних спроб лікарі заявили, що у них немає шансів народити власних дітей. Білл сказав: «Ми віруємо, але вважаємо, що безплідні пари можуть мати дітей у такий спосіб. Можна розглядати це не як клонування, а як ускладнений спосіб запліднення у пробірці».

Італійський лікар Северіно Антінорі заявив про вдале клонування людини в рамках програми, в якій беруть участь 5000 безплідних пар. Зі слів Антінорі, одна з жінок, які беруть участь у проекті, нині знаходиться на 8-му тижні вагітності. З якої країни ця жінка, лікар не повідомив. Про це Антінорі заявив в ОАЕ на конференції «Майбутнє генетичних технологій і проблеми світових програм клонування», повідомляє Gulf News 5 квітня.

Проект доктора Антінорі, відомого як «батька неможливих дітей», і лікаря Завоса включає в себе перенесення ДНК з ядра живої соматичної клітини в яйцеклітину жінки та ініціацію поділу. Потім ембріон вміщується в матку. Антінорі спитали про ризик передчасного старіння клону, оскільки клонована овечка Доллі, як з'ясувалося, страждає від проблем, викликаних передчасним старінням. На це Антінорі відповів, що передчасне старіння — доля клонів тварин, а також клонів, отриманих у лабораторіях із поганим

обладнанням, і що різні види дають різні результати при клонуванні. З його слів, рівень успіху експериментів з клонування овець надзвичайно низький порівняно з іншими видами. Лікар наполягає на необхідності клонування людини як дуже перспективного напрямку науки і медицини. Антінорі заявив, що перед введенням клонованого ембріона в клітину вчені виключили будь-яку можливість його мутації та деформації.

Через три тижні Северіно Антінорі повідомив, що вже три жінки виношують клонованих дітей. При цьому, як повідомляє Інтерфакс, учений сказав в інтерв'ю італійському телебаченню, що дві жінки живуть у Росії, а третя — в одній із ісламських держав. Строк їхньої вагітності — від шести до дев'яти тижнів. При цьому Антінорі заперечує свою пряму причетність до штучного запліднення цих жінок і спростував повідомлення преси про те, що він особисто провів ці операції за допомогою техніки клонування.

Та через кілька днів після останньої заяви Антінорі колишній його партнер Панайотіс Завос звинуватив лікаря в обмані. Про це повідомило агентство AP. Зі слів Завоса, у лікаря Антінорі немає ні лабораторії, ні помічників, ні навіть пацієнтів, з якими він міг би працювати, щоб клонувати людину. Як заявив Завос, він був єдиним, з ким працював Антінорі. Він також підкреслив, що список людей, які готові брати участь в експерименті з клонування людини, знаходиться у нього. Антінорі поки що відмовляється коментувати висловлювання свого колишнього партнера.

Держдума прийняла у другому читанні законопроект «Про тимчасову заборону на клонування людини», передає РІА «Новости» 10 квітня. Новий закон передбачає введення 5-річного мораторію на досліді з репродуктивного клонування людини.

Президент США Джордж Буш закликав Сенат заборонити всі форми людського клонування, включаючи терапевтичне, повідомляє AP. У липні 2001 року Сенат заборонив клонування людини з метою репродукції. У серпні Буш закликав припинити фінансування дослідів з клонування. 10 квітня 2002 року президент закликав Сенат прийняти законопроект, поданий

сенатором-республіканцем від штату Канзас Семом Браунбеком, про повну заборону клонування людських ембріонів.

Буш розпочав свій виступ твердженням: «У наших спробах покращити життя людини ми не повинні зневажати людську гідність. Отже, ми повинні заборонити людське клонування раніше, ніж його почнуть застосовувати». Президент висловив побоювання, що незабаром людей створюватимуть «для виробництва запчастин» чи за спецзамовленням — із заздалегідь заданими властивостями. «Єдине справедливе рішення з цього питання з погляду етики — повна заборона», — сказав Буш.

«Експерименти з терапевтичного клонування порушують найважливіший постулат лікарської етики: не можна рятувати хворого за рахунок здоров'я чи життя іншої людини», — заявив Джордж Буш і пояснив, що стовбурні клітини отримують, вбиваючи вже зароджений ембріон. Другим аргументом Буша на користь заборони терапевтичного клонування стали «сумніви в його успішності при лікуванні», а третім — неможливість контролювати долі всіх ембріонів, які клонуватимуть нібито з терапевтичною метою.

«Незважаючи на те, що заклик заборонити клонування налаштує проти мене більшість діячів науки, які вважають клонування корисним і необхідним, мої людські позиції мені дорожчі», — додав Буш.

40 нобелівських лауреатів написали сенаторам листа із закликом підтримати альтернативний законопроект, що допускає терапевтичне клонування.

Запитання для самоконтролю:

1. Хто відкрив стовбурові клітини?
2. Навіщо організму потрібні стовбурові клітини?
3. Чим стовбурові клітини відрізняються від інших клітин організму?
4. Що таке гістотехнології?
5. Назвіть основні напрямки створення нових технологій.
6. Що таке клон?
7. Як здійснюють клонування організму в лабораторних умовах?