

## **ТРАНСГЕННЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ: ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ**

И.П. ШЕЙКО, доктор сельскохозяйственных наук, профессор  
А.И. БУДЕВИЧ, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент  
РУП «Институт животноводства НАН Беларуси»

Концепцией развития науки в Республике Беларусь на период до 2015 г. определены перспективные, социально значимые направления, обеспечивающие поддержку национальных приоритетов в решении важнейших народнохозяйственных задач, в том числе биологические и генетические методы и технологии получения модифицированных биологических форм, разработка новых лечебных и лекарственных препаратов, а также молекулярно-биологических технологий. Причём государственные ресурсы, выделяемые в этом направлении, должны быть сконцентрированы на развитии биотехнологии и медицины с привлечением научных организаций различного профиля и ведомственной подчинённости с целью мобилизации всех заинтересованных структур на получение конечного продукта и его последующего промышленного освоения.

В связи с этим, применение трансгенных биотехнологий в животноводстве для различных потребностей человека, несомненно, является стратегически важным шагом в формировании инфраструктуры инновационной экономики в обществе и создании качественно новых ориентиров в поддержании продовольственной, экологической и экономической безопасности страны.

В настоящее время в мире сформировались основные направления в биотехнологии переноса генов сельскохозяйственным животным. Это получение особей с изменённым обменом веществ для регулирования их продуктивности, создание животных, устойчивых к заболеваниям различного рода (в том числе и инфекционным), животных-доноров органов, тканей и клеток для ксенотрансплантации, а также животных-продуцентов биологически активных веществ для фармацевтической и пищевой промышленности. Научные разработки ведутся с целью создания трансгенных индивидуумов по отдельным органам и тканям, получения вакцин для ветеринарии, рекомбинантных симбиотических микроорганизмов животных.

Таким образом, использование биотехнологических методов в животноводстве будет расширяться, и, несомненно, станет одной из основ для прогрессивного развития человечества всего мира.

Программа «Создание высокоэффективных и биологически без-

опасных лекарственных препаратов нового поколения на основе белков человека, получаемых из молока трансгенных животных» («БелРосТрансген») утверждена постановлением Совета Министров Союзного государства от 15 октября 2002 года № 34. Государственный заказчик-координатор – Федеральное агентство по науке и инновациям; государственные заказчики – Национальная академия наук Беларуси, Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации; головной исполнитель – Институт биологии гена Российской академии наук; исполнитель – Республиканское унитарное предприятие «Институт животноводства Национальной академии наук Беларуси». Срок выполнения программы – 2003-2006 годы.

Цель программы – создание научно-технической основы и технологической базы для организации в Союзном государстве современного конкурентоспособного фармакологического производства лекарственных препаратов нового поколения на основе белков человека с использованием в качестве биореакторов трансгенных сельскохозяйственных животных, продуцирующих с молоком биологически активные белки человека.

Одним из разрабатываемых лекарственных белков определён лактоферрин – белок женского молока, обладающий сильным детоксицирующим, антибактериальным и противовоспалительным действием.

Выполнение белорусской части работ по Программе осуществляется по двум основным направлениям:

1. Создание генной фермы коз и инфраструктуры, необходимой для выполнения комплекса биотехнологических работ по получению первичных трансгенных животных-продуцентов лекарственных белков человека.

2. Научно-исследовательские работы по подготовке к проведению совместных экспериментов при разработке биотехнологии получения трансгенных коз.

В 2003 г. хозрасчётным проектно-производственным архитектурно-планировочным бюро РУП «Институт животноводства НАН Беларуси» были собраны все исходные данные согласно требованиям на разработку проектно-сметной документации СНБ 1.03.02-96 с целью проведения проектно-изыскательских работ для реконструкции здания карантинника под здание для содержания коз в д. Будагово Смолевичского района Минской области с принятием технических решений, соответствующих требованиям санитарно-гигиенических, экологических, противопожарных и других действующих норм и правил, обеспечивающих безопасную для жизни и здоровья людей эксплуатацию объекта. В результате был оформлен строительный паспорт, а также разработана проектно-сметная документация, которая прошла строительную и экологическую экспертизу с получением положительных

заклучений и разрешением на проведение реконструкторских работ, начатых в осенний период года.

Полученные из бюджета Союзного государства средства были использованы в соответствии с утверждёнными годовыми календарными планами и сметами расходов на приобретение специального научного и технологического оборудования для оснащения операционного зала, цитологического блока и подсобных помещений, а также на общехозяйственные расходы, покупку животных и кормов, служебные командировки, оплату труда и т. д.

Комплектование стада из улучшенных местных грубошерстных коз в количестве 21 головы (впоследствии размноженное до 36 голов) осуществлялось согласно ветеринарному законодательству Республики Беларусь с осуществлением карантинирования животных в отдельном приспособленном помещении. С целью предотвращения заноса инфекционных заболеваний животные были двукратно проверены на хламидиоз, эпидидимит, бруцеллёз, лептоспироз, листериоз. При серологическом исследовании сывороток крови на указанные выше болезни, проведённом в Минской областной ветеринарной лаборатории, были получены отрицательные результаты. Диагностирование животных на туберкулёз также дало отрицательные результаты. Проведена проверка животных на внутрипаразитарные болезни с осуществлением работ по дегельминтизации животных от нематодозов, трематодозов, цестодозов.

В результате проведения запланированных научно-исследовательских работ было установлено, что использование лиофилизированных гонадотропинов сыворотки жеребых кобыл (ГСЖК), прогестагенов, простагландинов, рилизинг-гормонов и их комплексов позволяет с высокой эффективностью осуществлять работы по синхронизации-стимуляции охоты у коз. Применение ГСЖК (фоллигон) 500 МЕ для индукции эструса явилось оптимальным для стимуляции половой охоты у животных. Комплексное использование прогестагена в дозе 50 мг с последующей инъекцией ГСЖК 500 МЕ позволило индуцировать эструс в течение 6 дней у 83,3 % коз. Введение эстрофана в дозе 200-300 мкг позволяет синхронизировать эструс в течение 6-9 дней у 75-100 % животных. Доза гонадотропин-рилизинг гормона сурфагона 15 мкг явилась оптимальной для использования: отмечены минимальные колебания в продолжительности охоты у коз (27-37 ч).

В 2004 г. продолжились реконструкторские работы: были забетонированы полы в помещениях для содержания животных, смонтированы изгороди, вентиляция и канализация, сварены коммуникации для отопления и водопровода, смонтировано электричество, установлена сантехника.

Постановлением Бюро Президиума Национальной академии наук

Беларуси от 1 октября 2004 года № 532 здание для содержания коз (Биотехнологический центр с опытным производством) было введено в эксплуатацию с организацией раздельного содержания животных, цитологического блока, операционного зала и укомплектовано поголовьем коз.

Проведены исследования согласно плановым мероприятиям программы по индукции множественной овуляции у коз-доноров с использованием фолликулостимулирующих гормонов ФСГ-супер (Россия) и фоллтропина (Канада) с целью определения времени наступления и продолжительности эструса у животных. Установлено, что как при обработке ФСГ-супер, так и фоллтропином основное количество животных проявило охоту в течение 19-25 ч после введения эстрофана (50,0 и 63,2 %, соответственно). Следует отметить снижение на 7,3 и 5,9 % числа доноров, пришедших в охоту в течение 12-18 и 26-32 часа, соответственно, при использовании фоллтропина.

Определены начало и продолжительность действия наркоза, клинические показания состояния животных при применении различных анестезирующих, успокаивающих и усыпляющих средств и их комплексов. Установлено, что комплексное использование 2%-го раствора рометара и 2%-го раствора новокаина позволяет индуцировать наркоз и проявление явной аналгезии у коз с сохранением клинических показателей состояния животных в пределах нормы с высокой степенью обезболивания.

Работа проводилась с целью разработки комплексных схем вызывания суперовуляции и проведения полостных операций у доноров и реципиентов, применяемых в технологии трансплантации эмбрионов коз для получения датированных качественных зигот с их использованием в генно-инженерных работах по выполнению микроинъекций рекомбинантных ДНК.

К концу 2004 г. численность стада коз составила 63 головы. В 2005 г. проводилось размножение существующего поголовья животных с целью дальнейшего комплектования стада для проведения генно-инженерных работ, вследствие чего общая численность коз достигла 95 голов. С Управлением ветеринарии Комитета по сельскому хозяйству и продовольствию Минского облисполкома был согласован план проведения противозепизоотических мероприятий с поголовьем коз биотехнологического центра на 2005 г. с целью недопущения заноса и вспышки инфекционных и других заболеваний. Организован индивидуальный учёт с ведением записей половой цикличности коз.

Центр был укомплектован хозяйственным инвентарем, ветпрепаратами и реактивами, хирургическим инструментом и одеждой, осуществлена телефонизация. Изготовлен стол для проведения микроманипуляций с зиготами, камера для микроинъекций, установлен и запу-

щен CO<sub>2</sub>-инкубатор, приобретён аппарат для определения сукозности, инфракрасные излучатели для обогрева биотехнологического блока. Осуществлена установка и запуск автоклава и дистиллятора. Смонтированы выгула для животных. Смонтирован и проверен на работоспособность доильный зал для коз. Приобретено научное оборудование, а также реактивы и среды для проведения генно-инженерных работ.

В 2005 г. продолжились работы по созданию инфраструктуры для функционирования центра. Осуществлялось благоустройство территории, в зимне-стойловый период содержания животных в помещении было запущено и функционировало отопление. Осуществлен монтаж хранилища энергоносителей, помещения для хранения грубых кормов, душевой комнаты, а также закрытых навесов в выгулах. Запущен в эксплуатацию доильный зал для коз, который обеспечивает двукратное ежедневное доение животных. В летний период года осуществлена полная дезинфекция помещений для содержания коз.

Проведён первый совместный с российской стороной эксперимент по получению датированных зигот от коз-доноров. Апробированы схемы вызывания суперовуляции у животных, среды для культивирования клеток, настроено оборудование для изготовления инструментов и осуществления микроинъекций чужеродной ДНК. Освоены методики микроинъектирования генных конструкций в зиготы лабораторных животных. В ходе эксперимента установлено, что извлечение биоматериала у коз-доноров через 70-76 ч после удаления ушного импланта позволяет получать зиготы на стадии двух пронуклеусов, пригодных для микроинъекции ДНК-конструкций, а температура в пределах 38,5-39,0°C является оптимальной для поддержания жизнеспособности микроинъектированного эмбриоматериала перед трансплантацией реципиентам.

Продолжено комплектование центра поголовьем коз. Было приобретено 48 голов в возрасте 6-24 мес. После карантинирования и проведения соответствующих ветеринарных мероприятий животные переведены в основное стадо, общая численность которого на 31.12.2005 г. составила 144 головы.

Закончена организация пункта искусственного осеменения, а также манежа для взятия спермы у козлов-производителей. Смонтировано теплообеспечение, горячее водоснабжение и канализация. Установлены сушильный шкаф, термостат, мойки для инструментов. Закуплены материалы, оборудование и инструменты для искусственного воспроизводства. Начаты пробные эксперименты по взятию, оценке, разбавлению спермы, а также осеменению животных.

Началось осуществление второго основного эксперимента по получению трансгенных животных, отобраны животные для проведения опытов, уточнены схемы индукции суперовуляции у коз-доноров, а

также схемы синхронизации-стимуляции охоты у реципиентов.

В Министерство экономики был предоставлен отраслевой перечень имущества, созданного и приобретённого в 2003-2005 гг. за счёт средств бюджета Союзного государства в рамках реализации программы «БелРосТрансген».

Приказом Министерства сельского хозяйства и продовольствия РБ от 29 марта 2006 года № 102 здание Биотехнологического центра с опытным производством передано на баланс РУП «Институт животноводства НАН Беларуси».

С учётом проведённых научных исследований в 2003-2005 гг. в процессе реализации программы опубликован ряд статей о результатах опытов и продвижении плановых мероприятий проекта. По телевидению и радио, а также в периодической печати постоянно освещался ход выполнения программы «БелРосТрансген». Принято участие в Российской национальной выставке и в I Белорусско-Российском экономическом форуме 6-9.09.05 гг. в Республике Беларусь (г. Минск, Национальный выставочный центр «БелЭкспо»). Программа «БелРосТрансген» была представлена экспозицией трёх стендовых материалов, отражающих значение проекта для развития нового, экологически чистого фармпроизводства и его роль в оздоровлении населения России и Белоруссии, показаны начало совместных работ по получению трансгенных животных и необходимость дальнейшего развития программы до 2015 г. Проведён ряд бесед с журналистами радио и телевидения. Данный проект поддержан делегацией Совета Министров Республики Беларусь, возглавляемой Дражиным В.Н., высоко оценено его значение для дальнейшего строительства Союзного государства.

Необходимо отметить заинтересованность представителей сельскохозяйственных предприятий, фермеров в плане развития козоводства на территории Союзного государства и создания рынка продуктов из козьего молока.

После завершения основных этапов программы «БелРосТрансген» остро встанут вопросы размножения и дальнейшего использования трансгенных животных, создания технологических линий, технологий изготовления и опытных образцов фармпрепаратов, лекарственных и пищевых средств. В этой связи решающее значение имеет продолжение развития программы с организацией на территории Союзного государства новых направлений использования козьего молока и продуктов его переработки с целью создания современных экологически чистых производств для оздоровления населения обоих государств.

За три года реализации программы «БелРосТрансген» выполнены следующие работы:

1. Завершена реконструкция Биотехнологического центра с опытным производством. Здание введено в эксплуатацию, подобран обслу-

живающий персонал, осуществлена постанова животных в помеще-ние, организовано их промышленное содержание, кормление и машинное доение с решением плановых внутривладельческих и ветеринарных вопросов.

2. Проведён первый совместный с российской стороной эксперимент по созданию трансгенных животных с получением положительных результатов по извлечению датированного по времени биоматериала и визуализации пронуклеусов. Начат второй основной этап биотехнологических работ по получению коз-продуцентов белков человека с молоком с организацией широкомасштабного использования животных в экспериментах.

3. Приобретено очередное необходимое научное, технологическое и лабораторное оборудование, которое позволит выполнить эксперименты на высоком методическом и визуально-техническом уровне.

4. Создано стадо из улучшенных местных грубошерстных коз в количестве 144 голов, укомплектованное согласно ветеринарному законодательству Республики Беларусь с осуществлением карантинирования животных в отдельном приспособленном помещении.

5. Разработаны комплексные схемы вызывания и синхронизации охоты у доноров и реципиентов, используемые в технологии трансплантации эмбрионов коз для получения качественных зародышей и проведения генно-инженерных работ. Отработаны методы потенцирования наркоза у коз с целью проведения полостных операций по получению датированных качественных зигот с их использованием в генно-инженерных работах по выполнению микроинъекций рекомбинантных ДНК. Усовершенствованы комплексные схемы вызывания суперовуляции у коз-доноров. Началось освоение технологии искусственного воспроизводства коз. Определены оптимальные биотехнологические параметры культивирования микроинъекцированного биоматериала вне организма.

6. Выполнение основных мероприятий программы параллельно повлекло за собой начало организации подотрасли козоводства в республике, включение положений о создании высокопродуктивных стад коз в комплексную программу по племенному делу в животноводстве с целью качественного улучшения популяции разводимых коз и получения экологически чистой и конкурентоспособной продукции из козьего молока.

Советом Министров Союзного государства принято решение (протокол заседания от 19 декабря 2005 г. № 3) о подготовке предложений по разработке новой программы, предусматривающей разработку технологий и организацию производства лекарственных препаратов нового поколения на основе белков человека, получаемых из молока трансгенных животных.