

УДК 57.083

**Тоцький В. М.**, д-р біол. наук, проф., зав. каф.,**Гандірук Н. Г.**, канд. біол. наук, доц., **Січняк О. Л.**, канд. біол. наук, доц.Одеський національний університет, кафедра генетики та молекулярної біології,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

## ПРОБЛЕМИ КЛОНУВАННЯ В БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНІ

Наведено огляд літератури з проблем клонування генів, клітин та організмів. Показано біологічне значення клонування організмів у природі та сучасний стан технології клонування. Обговорено проблеми та перспективи біології, пов'язані з клонуванням тварин та людей. Наведена коротка хронологія наукових відкриттів та досягнень на шляху розвитку технології клонування.

**Ключові слова:** клонування, ядра соматичних клітин, енукейовані яйце-клітини, клони.

Клонування — процес отримання генетично ідентичних нащадків методом нестатевого розмноження. Клоном у біології називають групу генетично ідентичних організмів, що походять від спільного попередника. Так, наприклад, вірусний клон — це популяція вірусних часток, що утворюються внаслідок багаторазового подвоєння (реплікації) ДНК одного віріона [1]. Клітинний клон — це популяція клітин, отримана від однієї клітини шляхом її багаторазових поділів. Всі члени клону, як правило, генетично ідентичні один одному, а також тій батьківській формі, яка дала початок клону. Клони бактеріальних, а в останній час також рослинних і тваринних клітин отримують шляхом розрідженого висіву клітин-попередників на чашки Петрі [2].

Метод клонування давно використовується в молекулярній біології та генній інженерії з метою отримання і накопичення в необхідній кількості певних генів, фрагментів та молекул ДНК [3]. При цьому розмноження (клонування) генів та інших фрагментів ДНК здійснюють різними методами. Один із таких методів — ферментативний синтез фрагментів ДНК на матрицях їх продуктів, тобто РНК. Цей процес відомий як зворотна транскрипція, а фермент, що здійснює цей процес — РНК-залежна ДНК-полімераза. Саме цей фермент є основним у технології ферментативного синтезу копій генів та інших послідовностей ДНК методом зворотної транскрипції [4].

Ще більш зручним для клонування певних послідовностей ДНК є метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням особливої термостійкої ДНК-полімерази бактерій (Таг-полімерази). Цей метод дає можливість за короткий час отримувати мільйони копій певних послідовностей ДНК і в подальшому використовувати їх для генної інженерії, генної терапії та інших цілей [5].

Третій найбільш важливий метод клонування виділених із природних джерел та штучно синтезованих послідовностей ДНК — їх розмноження у складі плазмід бактерій, вірусних геномів та інших структур, здатних до автономної реплікації.

Зазначені методи молекулярного клонування використовуються для отримання будь-якої кількості копій, потрібних для дослідження фрагментів ДНК або окремих невеликих молекул ДНК [3].

Щодо клонування цілих організмів, то воно у деяких видів постійно здійснюється в природі і використовується людиною. Сказане відноситься до організмів, які розмножуються вегетативно. В першу чергу це організми, що належать до царств грибів та рослин. Клонування рослин живцями, бруньками чи бульбами людині відоме вже більше чотирьох тисячоліть.

Біологічне значення клонування рослинних організмів у природі та біотехнології полягає у можливості отримання значної кількості генетично ідентичних особин, добре пристосованих до конкретних умов середовища.

Нааявність тотипотентності у рослинних клітин використовується для швидкого мікроклонального розмноження різноманітних декоративних та сільськогосподарських рослин [6]. Практичне значення клонування полягає у збереженні та розмноженні генотипів з ознаками високої продуктивності.

Щодо переважної більшості видів тварин, то вони розмножуються статевим шляхом і не здатні клонуватися. Досить довго не було конкретних досягнень і у штучному клонуванні таких об'єктів. Хоча дослідження в цьому напрямі розпочалися ще у 50-ті роки ХХ сторіччя, лише успіхи клітинної технології і генної інженерії, в першу чергу розробка методів клонування генів та їх упровадження в клітину, способів пересадки ядер та зливання клітин, породили ідею про можливість клонування тваринних організмів [7, 8, 9].

Принципова схема експериментів по клонуванню тварин на перший погляд досить проста: із соматичної клітини вилучається ядро і переноситься у енуклеювану яйцеклітину. Ця процедура симулює процес запліднення і така "гібридна" яйцеклітина здатна трансформуватися у зародок, так само як і природна зигота. Під впливом хімічних компонентів цитоплазми яйцеклітини генетична інформація упровадженого соматичного ядра перепрограмується на ембріональний розвиток і стимулює ембріогенез. Подальший розвиток ембріона може здійснюватися (залежно від об'єкта клонування та мети дослідження) або в умовах *in vitro*, або у матці матері-реципієнта [10].

Ця теоретична ідея була блискуче реалізована в 1977 р. у дослідах Дж. Гордона, який довів, що можливий повний розвиток південноафриканської жаби *Xenopus laevis* на основі генетичної інформації ядра соматичної клітини. В цих дослідах власне ядро незаплідненої яйцеклітини руйнували ультрафіолетовим опроміненням, а потім вводили в таку яйцеклітину диференційоване ядро із клітин кишкового епітелію пуголовка. В окремих випадках з таких штучно сконструйованих клітин розвивалися дорослі жаби, фенотип яких був ідентичним фенотипу донора ядра.

Можливість клонувати за цією схемою теплокровних тварин була експериментально доведена значно пізніше.

Сучасні уявлення про можливість клонування людини склалися на підставі успішних дослідів із клонуванням тварин, а саме гризунів, великої і малої рогатої худоби тощо. Клонування ссавців можна успішно здійснювати двома шляхами — розщепленням та злиттям.

Метод розщеплення — це поділ зиготи чи зародка на дві рівні частини і отри-

мання з кожної окремої, але генетично ідентичної особини. Саме так із однієї зиготи виникають у природі однайцеві (або монозиготні) близнюки. Досягнення сучасної репродуктивної біології та зоотехніки дають можливість штучно здійснювати цей процес з метою отримання шляхом поділу зародків високопродуктивних ізогенних клонів сільськогосподарських тварин.

Клонування злиттям полягає в упродовженні ядра соматичної клітини в денуклейовану яйцеклітину. Суттєва відмінність цього методу від клонування розщепленням полягає в тому, що нащадок (клон) має лише одного попередника (донора ядра), а тому геном донора ядра і отриманого клону не відрізняються. В протилежність цьому, за клонування розщепленням генотипи нащадків, як і дітей від нормальної статевої репродукції, містять генетичний матеріал від обох батьків, донорів статевих клітин.

Клонувати сільськогосподарських тварин поділом зародків досить легко; селекціонери великої рогатої худоби роблять це вже давно. Що ж до отримання копій ссавців за рахунок інформації одного-єдиного соматичного ядра, то ця технологія виявилася набагато складнішою, ніж у випадку амфібій, незважаючи на чимало спільних технологічних процедур. Так, наприклад, клонування ссавців також передбачає перенос ядра соматичної клітини у енукейовану яйцеклітину. Для переносу використовують ядра клітин зародків та ядра зародкових клітин, яких культивують *in vitro*. Чимало клонів отримано з використанням ядер клітин плода, але найбільш відомі клони ссавців, яких отримали шляхом використання ядер соматичних клітин дорослих тварин. Саме так були отримані клони овець, мишей, корів та інших тварин [11, 12].

Зокрема, вівцю Доллі клонували, використовуючи ядро клітини молочної залози, вискобленої з вимені шестирічної вівці-донора. Щоправда, успіху вдалося досягти лише в одній із 277-ми спроб [10]. Японські вчені запропонували більш безболісну технологію отримання донорного ядра з клітин молочної залози, які виявляються в жовтуватому молозиві корови після її отелення [13]. Французькі вчені отримували донорські клітини шляхом біопсії шкіри вуха 15-денного теляти [14]. Отримані клітини шкіри вирощували *in vitro* на середовищі ДМЕМ з додаванням 10% сироватки плода теляти. Клітини витримували 10 днів без субкультивування. Після трьох пасажів клітини заморожували. Перед пересадкою ядер клітини розморожували і культивували на тому ж середовищі протягом 20-30 днів, здійснюючи 6-10 пасажів. Реципієнтні ооцити підлягали попередньому дозріванню протягом 24-х годин *in vitro* і наступному 10-годинному старінню при 10°C у середовищі ТСМ-199 [15]. Після денуклеації ооцитів їх злиття з клітинами донора здійснювали шляхом електростимуляції двома імпульсами в 1,5 кВ/см в 0,3 моль/л розчині манітолу з 0,1 М  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Mg}^{2+}$ . Через годину отримані зародки переносили в мікрокаплі середовища В2 з добавкою 10% FCS і субкультивували з Vero-клітинами під шаром мінерального масла. На сьомий день отримані зародки (бластоцисти) були імплантовані в матки реципієнтних телиць. Із 175 перенесених донорних ядер отримали 6 бластоцист для імплантації. В результаті одна реципієнтка народила теля, генотип якого був ідентичним генотипу донора, що підтверджено мікросателітним аналізом ДНК.

Незважаючи на простоту загальної схеми процесу клонування тварин, його практичне використання дуже обмежене.

Однією з причин цього стану є дуже незначний вихід клонів. Клони тварин характеризуються високим ступенем пізньої абортації та ранньої постнатальної смерті. Про пренатальні та перинатальні втрати клонів сповіщалося за їх отримання при використанні клітин плода [16]. Особливо велика доля померлих на останніх строках вагітності та у перші дні після народження тварин виявляється в тих випадках, коли донором ядра слугує диференційована соматична клітина. Після того, як була отримана перша соматично клонована вівця, були опубліковані повідомлення японських [11] та американських [12] вчених про успішне клонування мишей і телят. Донорами ядер для пересадки в цих дослідках слугували диференційовані соматичні клітини. Деяко несподіваними і спочатку мало зрозумілими були повідомлення про велику частку клонів, які гинуть у пізні строки вагітності або в перші дні після народження. Така ж висока частота викиднів і смертей серед новонароджених тварин спостерігалась за використанням при клонуванні ядер клітин плода [16, 17].

Найкращий відсоток успішних дослідів по клонуванню тварин виявляється за умови, що донором ядра слугують недиференційовані зародкові клітини [18, 19, 20]. З'ясувалося, що такі клони мають перевагу і в тривалості життя, якщо порівнювати їх з клонами, отриманими на основі ядер диференційованих соматичних клітин [21, 22].

Крім типу клітин-донорів, на життєздатність клонів впливає також сам процес культивування зародків *in vitro* перед їх імплантацією [23]. Зокрема, отримане французькими вченими клоноване теля, зародок якого перед імплантацією інкубували протягом семи днів, померло на 51-й день після народження від сильної анемії, обумовленої гіпоплазією тимусу, селезінки та лімфатичних вузлів.

Причини летальності клонів та дефектів їх розвитку стануть зрозумілими лише за умови повного з'ясування механізмів формоутворення в ембріогенезі [24, 25]. На сьогодні механізми ембріонального розвитку тварин мало з'ясовані, тому здійснення регулюючих впливів на розвиток клонів ще не можливе [26].

Дуже цікавою і також не зовсім вирішеною проблемою є питання про роль обмеженості поділів клітин у визначенні тривалості життя отриманих клонів [27].

Згідно з теорією маргіномотії [28], тривалість життя клітин (кількість її поділів) залежить від довжини теломер хромосом. За кожним поділом клітини теломери хромосом вкорочуються, клітина стає менш життєздатною, втрачає здатність до поділів і врешті гине. Вважають, що, починаючи з зиготи, клітини проходять 150 поділів, а соматичні клітини дорослого організму поділяються лише декілька разів.

З позиції цієї теорії стає зрозумілим швидке старіння окремих клонів. Англійські дослідники [29] вивчали стан теломер хромосом Доллі і двох інших клонованих овець і знайшли, що теломери у них були значно коротшими, ніж у овець того ж віку, народжених природно. Доллі, клонована із ядра шестирічного донора, мала найкоротші теломери з усіх трьох зазначених клонів. У двох інших овець, клонованих із зародків, стан теломер був кращим, однак їх довжина була значно меншою, ніж у ембріональних клітин.

Встановлено [10], що чим більше часу зародок клону знаходиться в пробірці перед імплантацією в матку, тим коротші його теломери.

У зв'язку з цими причинами клони старіють передчасно [30]. Детальне вивчення вкорочення теломер у процесі старіння привело до висновку, що довжину те-

ломер можна розглядати як певну генетичну програму тривалості життя клітин і організмів [31, 32]. Тільки пухлинні (ракові) клітини можуть ухилитися від цієї генетичної програми і поділятися необмежено довго. Прикладом можуть бути клітини HeLa, отримані в 1951 році від хворої раком матки. Ці клітини розмножуються в культурі й досі, в зв'язку з чим їх можна вважати безсмертними.

Сьогодні є докази [27], що довжина теломер ракових клітин постійно відновлюється завдяки наявності в цих клітинах активної теломерази — ферменту, здатного нарощувати довжину вкорочених теломер. В нормальних клітинах ген теломерази не функціонує, однак штучним переносом гена теломерази із ракових клітин в ізолюванні нормальні клітини американським вченим вдалося досягти безмежного поділу соматичних клітин без ознак старіння.

Не виключено, що саме цим шляхом у майбутньому вдасться запобігати ранньому старінню і високій смертності соматичних клонів тварин.

Клонування тварин у майбутньому може виявитися незамінним у справі отримання копій високопродуктивних генотипів, швидкої репродукції рідких і зникаючих видів, а також відновлення вимерлих. Щоправда, до вирішення цих проблем слід підходити з певною обережністю і здоровим глуздом.

Підсумовуючи накопичений досвід по клонуванню ссавців, слід зауважити, що сьогодні воно вже стало реальністю і що у ролі донорів ядер найкраще використовувати зародкові клітини, або клітини плода, яким властива висока тотипотентність та значний потенціал щодо кількості поділів. Другий важливий висновок полягає в тому, що рівень розвитку сучасної науки дає можливість клонувати людей.

Наукові розробки у цьому напрямі натикаються на ряд дуже серйозних етичних, моральних, юридичних та інших проблем [33, 34, 35, 36], але безперечно, що клонування людини є найважливішим досягненням сучасної біології і може принести людству велику користь. Розвиток та вдосконалення технології клонування людини має пряме відношення до розв'язання проблем безплідності, заміни дорогих передчасно померлих родичів (наприклад немовлят та дітей), отримання імуносумісних клітин та тканин для трансплантації, культур стовбурних клітин для генної інженерії, генної терапії і т. ін.

Клонування соматичних клітин людини може стати джерелом мультипотентних стовбурних клітин [37], які розглядаються як майбутні вектори для генної терапії. При цьому потрібний ген можна буде включати в такі клоновані клітини пацієнта, а потім ці клітини імплантувати пацієнту як вихідний матеріал для нової тканини чи органа, що не має генетичної аномалії. Слід зауважити, що ця процедура не пов'язана з обов'язковим продукуванням багатоклітинних зародків і не передбачає їх обов'язкової імплантації в матку [25]. Цей шлях розвитку генотерапії видається цілком реальним у зв'язку з повідомленням про успішну пересадку чужого гена одній із мавп.

Споріднена технологія — отримання тотипотентних стовбурних клітин, здатних розвиватися в мультипотентні клітини конкретної лінії і навіть у специфічну диференційовану тканину. В цьому випадку продукування органів людини включатиме ранні стадії репродуктивного клонування тотипотентних клітин з наступною диференціацією їх у конкретну тканину через деякий час. Тим самим відкривається шлях до штучного отримання імуносумісних органів і тканин, придатних для трансплантації без клонування самої людини [37].

В наші дні для трансплантації широко використовують тканини плода. Пересадка тимуса плода людині є стандартною операцією при тимусній аплазії або синдромі Ді Георга. Той же тимус разом із печінкою плода використовується для лікування імунodefіциту, а печінка плода і пуповина — для лікування гострої лейкемії та апластичної анемії [38]. Описано випадок, коли жінка з апластичною анемією отримала печінку від свого власного 22-тижневого плода [39]. Відомі випадки, коли для лікування людей використовували не тільки тканини плодів, але й дітей, спеціально народжених в якості донорів для трансплантації. Прикладом може бути випадок, наведений Айалою [цит. по 40], коли батьки заради життя хворої лейкемією доньки народили ще одну дитину, яка виявилася імуносумісним донором для пересадки хворій кісткового мозку. Пізніше стало відомо, що хворавилікувалася від лейкемії, а її молодша сестра — донор кісткового мозку — жива і здорова [41].

Цей приклад свідчить про те, що подібна допоміжна репродукція може і надалі використовуватися з метою отримання потрібних донорів. Слід, однак, зазначити, що клонування, яке не виходить за межі раннього ембріонального розвитку, більш прийнятливим для цієї мети, бо воно забезпечує гістосумісність у 100% випадків і не супроводжується народженням дитини.

Як уже зазначалося, клонування людини може мати і іншу благородну мету — побороти безпліддя, а також відновити рано загиблих родичів. Є повідомлення про те, що група американських вчених приступила до клонування десятимісячної дівчинки, яка загинула в лютому 2000 року внаслідок нещасного випадку. Планується із декількох клітин померлої дівчинки створити її точну генетичну копію. Для здійснення проекту використовується та сама методика, яка була застосована за клонування знаменитої Доллі.

Слід зазначити, що створення генетичної копії загиблої дівчинки, яке здійснюється за кошти батьків, ні в якому разі не гарантує відтворення всіх особливостей інтелекту і поведінки загиблої. Відомо, що ці особливості принаймні на 50% визначаються оточуючим середовищем і вихованням. Як вплине на функцію генотипу процедура самого клонування, можна лише гадати. За умов, коли механізми індивідуального розвитку мало з'ясовані, а вплив процедур клонування на функцію генотипу взагалі не відомий, подібні наукові проекти виглядають дуже передчасними і вкрай ризикованими.

Однак чиказький вчений Річард Сід [42] заявив про свою готовність перетворити технологію клонування людей на звичайну, широкомасштабну процедуру. Здійсненню таких намірів перешкоджає рішення урядів багатьох країн про заборону клонування людини.

Проте прогрес науки зупинити не можна, і людство в XXI сторіччі очікують непередбачені успіхи біології. Про бурхливий розвиток наукових подій на шляху клонування тварин та людей свідчить така хронологія:

1883 рік — відкриття яйцеклітини німецьким цитологом О. Гертвігом [43].

1938 рік — Г. Спімен запропонував клонувати ссавців шляхом пересадки ядра дорослої клітини в яйцеклітину [44].

1943 рік — успішне запліднення яйцеклітини в пробірці [45].

1952 рік — Р. Брігс і Т. Кінг розробили метод переносу ядра клітини в гігантські ікринки африканської шпорцевої жаби [46].

1977 рік — професор Дж. Гордон з Оксфордського університету здійснив клонування амфібій [47].

1978 рік — в Англії народилася Луїза Браун, перша дитина “з пробірки” [48].

1981 рік — Л. Шетлз отримує три клонованих ембріони людини, але зупиняє їх розвиток.

1982 рік — К. Ілмензее з Женевського університету отримує клонованих мишей. Ядра з клітин ембріону сірого мишати були перенесені в яйцеклітини, отримані від чорної самиці. Ембріони були імплантовані в матки білих мишей. Отримано сірих нащадків.

1985 рік — в Англії перша в світі сурогатна мати місіс Коттон, якій була імплантована не її запліднена яйцеклітина, народжує дівчинку.

1987 рік — в університеті імені Дж. Вашингтона (США) ембріон людини був розділений на клітини, які клонували до стадії тридцяти двох бластомерів, після чого зародки знищили.

1997 рік — 7 лютого в Шотландії в інституті Рослін Я. Уїлмут отримав клоновану вівцю Доллі [10].

1997 рік — в грудні американські вчені отримали за рослінським методом шість клонованих овець. Три з них містили в своєму геномі людський ген антигеморагічного фактора IX [12].

1998 рік — японські та французькі вчені отримали клонованих телят [11, 16].

1998 рік — чиказький фізик Р. Сід інформує про створення лабораторії для клонування людей [42].

1999 рік — Т. Вакаяма і Р. Янагімахі клонували перших самців мишей з дорослих клітин [49].

2000 рік — група американських вчених приступила до реалізації проекту клонування 10-місячної дівчинки, що померла в лютому 2000 року від нещасного випадку.

Зважаючи на такий стрімкий розвиток подій у біотехнології, важко переоцінити можливості біології ХХІ століття. Будемо сподіватися, що всі наукові досягнення в майбутньому будуть використовуватись лише на користь людству.

## Література

1. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. — М.: Мир, 1998. — С. 202-204.
2. Льюин Б. Гены. — М.: Мир, 1987. — С. 242-243
3. Клонирование ДНК. Методы / Под ред. Д. Гловера. — М.: Мир, 1989. — С. 112-119.
4. Бекер М. Е., Лиупиньш Г. К., Райпулис Е. П. Биотехнология. — М.: Агропромиздат, 1990. — 334 с.
5. Loh E. Y., Elliott F., Cwirla S., Lanier L. L., Davis M. M. Polymerase Chain Reaction With a Single-Sided Specificity: Analysis of Cell Receptor Chain // Science. — 1985. — V. 243. — P. 217-220.
6. Катаева Н. В., Аветисов В. А. Клональное размножение растений в культуре ткани // Культура клеток растений. — М.: Наука, 1981. — С. 137-150
7. Тарантул В. З. Таргентинг генов как современная методология изучения их функций // Молекулярная генетика. — 1996. — № 2. — С. 3-13.
8. Danheiser S. L. Transgenic technology, although promising, not yet in clinical trials // Genet. Eng. News. — 1994. — V. 14, № 19. — P. 8-30.
9. Jaenish R. Transgenic animals // Science. — 1989. — V. 240, № 4858. — P. 1468-1474.
10. Wilmut I., Schnieke A. E., McWhir J., Kind A. J., Campbell K. H. S. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells // Nature. — 1997. — V. 385 — P. 810-813.

11. Kato Y., Tani T., Sotomaru Y. et al. Eight calves cloned from somatic cells of a single adult // *Science*. — 1998. — V. 282 — P. 2095-2098.
12. Wakayama T., Perry A. C. F., Zuccotti M., Johnson K. R., Yanagimachi R. Full term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei // *Nature* — 1998. — V. 394. — P. 369-374.
13. Golden F. Cloning around with mom's milk // *Time South Pacific* — 1999. — V. 19. — P. 59.
14. Renard J. -P., Chastant S., Chesne P. et al. Lymphoid hypoplasia and somatic cloning // *Lancet*. — 1999. — V. 353, is. 9163. — P. 1489-1491.
15. Chesne P., Heyman Y., Peynot N., Renard J. P. Nuclear transfer in cattle: birth of cloned cattle and estimation of blastomere totipotency in morulae used as source of nuclei // *CR Acad. Sci.* — 1993. — V. 316. — P. 487-491.
16. Cibelli J. B., Stice S. L., Golueke P. J. et al. Cloned transgenic calves produced from non-quiescent fetal fibroblasts // *Science*. — 1998. — V. 280. — P. 1256-1258.
17. VignonX., Chesne P., Le Bourhis D., Flechon J. F., Heyman Y., Renard J. P. Developmental potential of bovine embryos reconstructed from enucleated matured oocytes fused with cultured somatic cells // *CR Acad. Sci.* — 1998. — V. 321. — P. 735-745.
18. Campbell K. H. S., McWhir J., Ritchie W. A., Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line // *Nature*. — 1996. — V. 380 — P. 64-65.
19. Sims M., First N. L. Production of calves by transfer of nuclei from cultured inner cell mass cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1993. — V. 90. — P. 6143-6147.
20. Wells D. N., Misica P. M., Day A. M., Tervit H. R. Production of cloned lambs from an established embryonic cell line: a comparison between in-vivo and in-vitro-matured cytoplasts // *Biol. Reprod.* — 1997. — V. 57. — P. 385-393.
21. Prather R. S., Barnes F. L., Sims M. N., Robi J. M., Eyestone W. H., First N. L. Nuclear transplantation in the bovine embryo: assessment of donor nuclei and recipient oocyte // *Biol. Reprod.* — 1987. — V. 37. — P. 859-866.
22. Willadsen S. M. Nuclear transplantation in sheep embryos // *Nature*. — 1986. — V. 320. — P. 63-65.
23. Young L. E., Sinclair K. D., Wilmut I. Large offspring syndrome in cattle and sheep // *Reviews in Reproduction*. — 1998. — V. 3. — P. 155-163.
24. Gary F. B., Adams R., McCann J. P., Odde K. G. Postnatal characteristics of calves produced by nuclear transfer cloning // *Theriogenology*. — 1996 — V. 45. — P. 141-152.
25. Kruip T. A. M., Den Daas J. H. G. In vitro produced and cloned embryos: effects on pregnancy, parturition and offspring // *Theriogenology*. — 1997. — V. 47. — P. 43-52.
26. Hill J. R., Rousset A. J., Edwards J. F., Thompson J. A., Cibelli J. B. Clinical and pathologic features of cloned transgenic calves and fetuses (13 cases: 1997-1998). Proceedings of the annual meeting of the Society for Theriogenology. December 4-6, 1998 Baltimore, Maryland, USA.
27. Голубев А. Г. Биохимия пространства и времени (теломеры, теломеразы и длительность существования клеточных популяций и многоклеточных организмов) // *Биохимия*. — 1996. — Т. 61, вып. 11. — С. 2054-2059.
28. Оловников А. М. Молекулярный механизм морфогенеза: теория локационной ДНК // *Биохимия*. — 1996. — Т. 61, вып. 11. — С. 1948-1969.
29. Shiels P. G., Kind A. J., Campbell K. H. S. et al. Analysis of telomere lengths in cloned sheep // *Nature*. — 1999. — V. 399. — P. 316-317.
30. Heyman Y., Renard J. P. Cloning of domestic species // *Anim. Reprod. Sci.* — 1996. — V. 42. — P. 427-436.
31. Reik W., Romer I., Barton S. C., Surani M. A., Howlett S. K., Klose J. Adult phenotype in the mouse can be affected by epigenetic events in the early embryo // *Development*. — 1993. — V. 119. — P. 933-942.
32. Romer I., Reik W., Dean W., Klose J. Epigenetic inheritance in the mouse // *Curr. Biol.* — 1997 — V. 7. — P. 277-280.
33. Burley J., Harris J. Human cloning and child welfare // *Journal of Medical Ethics* // — 1999. — V. 25, is. 2. — P. 108-114.
34. Jones J. Cloning may cause health defects // *British Medical Journal*. — 1999. — Is. 7193. — P. 1230.
35. Kondro W. Canadian government will revisit human-cloning // *Lancet*. — 1999. — V. 353, is. 9164. — P. 1599.
36. Williamson R. Human reproductive cloning is unethical because it undermines autonomy: commentary on Saulescu // *Journal of Medical Ethics*. — 1999. — V. 25, is. 2. — P. 96-97.

37. *Saulescu J.* Should we clone human beings? Cloning as a source of tissue for transplantation // *Journal of Medical Ethics*. — 1999. — V. 25, is. 2. — P. 87-95.
38. *Vawter D. E., Kearney W., Gervaise K. G. et al.* The use of human fetal tissue: scientific, ethical and policy concerns. — Minnesota: University of Minnesota, 1990. — P. 38-41.
39. *Keleman E.* Recovery from chronic idiopathic bone marrow aplasia of a young mother after intravenous injection of unprocessed cells from the liver (and yolk sac) of her 22mm CR-length embryo. A preliminary report // *Scandinavian Journal of Haematology*. — 1973. — V. 10. — P. 305-308.
40. *Rachels J.* When philosophers shoot from the hip // *Bioethics*. — 1991. — № 5 — P. 66-71
41. *Note in Hastings Center Report*. — 1994. — May/June. — P. 2.
42. *Wadman M.* Seed sows further doubts on cloning // *Nature*. — 1998. — V. 391. — P. 218.
43. *Гермеус О.* Клетки и ткани. Основы общей анатомии и физиологии. — С.-Пб.: Риккард, 1894.
44. *Sinha G.* A clone of our own // *Popular Science*. — 2000. — V. 256, is. 1. — P. 58.
45. *Tanagamachi R.* Sperm-egg association in mammals // *Current Topic in Developmental Biology*. — New-York: Acad. Press, 1978. — V. 12. — P. 83-106.
46. *Briggs R., King T. J.* Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs' eggs // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 1952. — V. 38. — P. 455-463.
47. *Gurdon J. B.* Egg cytoplasm and gene control in development // *Proc. R. Soc. — London*. — 1977. — V. 198. — P. 211.
48. *Grobstein C.* Experimental human fertilization // *Sci. America*. — 1979. — V. 240. — P. 57-67.
49. *Wakayama T., Yanagimachi R.* Cloning of male mice from adult tail-tip cells // *Nature Genetics*. — 1999. — V. 22. — P. 127-128.

**Тоцкий В. Н., Гандирук Н. Г., Сечняк А. Л.**

Одесский национальный университет, кафедра генетики и молекулярной биологии,  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

#### ПРОБЛЕМЫ КЛОНИРОВАНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

##### Резюме

Приведен обзор литературы по проблеме клонирования генов, клеток и организмов. Показано биологическое значение клонирования организмов в природе и современное состояние технологии клонирования. Обсуждены проблемы и перспективы, связанные с клонированием животных и людей. Приведена краткая хронология научных открытий и достижений на пути развития технологии клонирования.

**Ключевые слова:** клонирование, ядра соматических клеток, энуклеированные яйцеклетки, клоны.

**Totzky V. N., Gandiruc N. G., Sechnyak A. L.**

Odessa national university, Department of genetics and molecular biology,  
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

#### THE PROBLEMS OF CLONING IN THE BIOLOGY AND MEDICINE

##### Summary

The literature review on the problems cloning of the genes, cells and organisms were brought. The biological significance of cloning the organisms in the nature and modern condition of the cloning technology showed. The problems and prospects, connected with cloning of animals and humans are discussed. The short chronology of scientific openings and achievements on the way of development of the cloning technology are brought.

**Keywords:** cloning, the somatic cell nuclei, enucleated ovules, clones.