

**INSTYTUT ZOOTECHNIKI
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY**

**DZIAŁ BIOTECHNOLOGII
ROZRODU ZWIERZĄT**

BALICE

DZIAŁ BIOTECHNOLOGII ROZRODU ZWIERZĄT

- Kierownik Działu: Prof. dr hab. Zdzisław Smorąg
- 4 pracowników na stanowisku profesora IZ
- 8 adiunktów
- 10 pracowników inżynieryjno-technicznych

Podział proponowany przez EuropaBio (stowarzyszenie 24 biotechnologicznych organizacji narodowych):

- Biała – biotechnologia przemysłowa wykorzystująca systemy biologiczne w produkcji przemysłowej i ochronie środowiska. Opiera się ona na biokatalizie i bioprocessach.
- Czerwona - biotechnologia wykorzystywana w ochronie zdrowia, w szczególności w zakresie produkcji nowych biofarmaceutyków, rozwoju diagnostyki genetycznej, czy genoterapii i ksenotransplantologii.
- Zielona – biotechnologia związana z rolnictwem obejmująca stosowanie metod inżynierii genetycznej w celu doskonalenia produkcji roślinnej czy zwierzęcej.
- Fioletowa - związana z ustawodawstwem, które dotyczy biotechnologii (prawne i społeczne uwarunkowania)

Efektywność bioreaktorów (produkcja rekombinowanych białek)

	Bakterie	Drożdże	Grzyby	Rośliny	Kultury tkankowe	Zwierzęta
Szybkość	++++++	++++	+++++	++	+++	+
Koszt	++++	++	+++	+++++	+	+++++
Modyfikacje potranslacyjne	+	++	+++	++++	+++++	+++++
Skalowanie procesu	++++	++	+++	+++++	+	+++++
Przepisy	+++++	++++	+++	++	+++++	+

Obszar działalności DBRZ

- Klonowanie zwierząt (SCNT, klonowanie chimerowe, bisekcja, wykorzystanie komórek macierzystych szpiku kostnego).
 - Formowanie genotypów metodami laboratoryjnymi - transgeneza (metoda mikroiniekcji DNA, lipomikroiniekcja, elektroporacja, transfekcja plemników (AI, IUI, ICSI)
 - Pozaustrojowa produkcja zarodków zwierzęcych; podnoszenie wydajności rozrodczej samic (IVM, IFV).
 - Regulacja płci (seksowanie plemników na frakcje X i Y).
 - Badania dotyczące hodowli i konserwacji gamet oraz zarodków (witryfikacja, stres ciśnieniowy, bank rezerwy genetycznej).
 - Badania nad sterowaniem rozrodem samic.
 - Ocena nasienia, sortowanie, badanie zmian apoptotycznych)
 - Opracowywanie nowych rozcieńczalników do nasienia
-
- Gatunki zwierząt na których prowadzone są prace: królik (model i docelowo), owca, koza, świnia, bydło, (koń, kot)

Superowulacja, AI/IM/IVF

- Wypracowanie metod superowulacji samic – uzyskiwanie materiału do transfekcji i klonowania
- Opracowanie metody pobierania nasienia, konfekcjonowania i inseminacji królików
- Opracowanie protokołów IM oraz IVF dla bydła, owcy i kozy
- Prace nad laparoskopowym pozyskiwaniem zarodków i inseminacją domaciczną
- Wykorzystanie ICSI do produkcji zarodków
- Uzyskanie pierwszych w Polsce cieląt i jagniąt po kompleksowej metodzie *in vitro*
- Prowadzenie kursów z tego zakresu

Kriokonserwacja gamet i zarodków (witryfikacja)

- Opracowanie kriokonserwacji gamet i zarodków metodą witryfikacji dla królika, owcy, kozy, świni i bydła
- Bank gamet i zarodków na potrzeby prowadzonych projektów – rezerwa genetyczna – gamety i zarodki od osobników transgeniczných
- Uzyskanie pierwszych w Polsce prosiąt urodzonych z zarodków po witryfikacji

Ocena nasienia, seksowanie i sortowanie nasienia, sortowanie komórek, badanie apoptozy – cytometr przepływowy

- Seksowanie i sortowanie nasienia na potrzeby prowadzonych projektów
- Badanie zmian apoptotycznych w nasieniu transgenicznym samców
- Uzyskanie pierwszych w Polsce jałówek po inseminacji nasieniem seksowanym
- Kursy z tego zakresu

Klonowanie

- Prowadzenie prac z zakresu klonowania – m.in. na potrzeby ksenotransplantacji
- Uzyskanie transgenicznego królika w procesie klonowania chimerowego (WAP-hGH)
- Rozpoczęto prace nad wykorzystaniem komórek macierzystych szpiku kostnego w klonowaniu świń



Polski wkład w klonowanie

Transgeneza

- Badania nad uzyskiwaniem zwierząt transgenicznych prowadzone są od 1989 roku.
- Podstawową metodą stosowaną w tym obszarze jest mikroiniekcja DNA.
- Opracowano modyfikacje standardowej metody mikroiniekcji DNA: mikroiniekcja do GV niedojrzałych oocytów bydlęcych; lipomikroiniekcja; rozpoczęto prace nad elektroporacją.

Transgeneza

- Przez 12 lat (1990-2002) współpracowaliśmy z Ohio University, Athens, USA ● ●
- 4 lata (1995-1999) z Harvard Medical School, USA ●
- 5 lat (1990-1995) z INRA, Francja ●
- Od 1999 roku ściśle współpracujemy z grupą Prof. Ryszarda Słomskiego – UR Poznań i IGCz PAN, Poznań ●
- Od 2002 roku z WBBiB UJ (Zakład Biochemii Ogólnej) ●

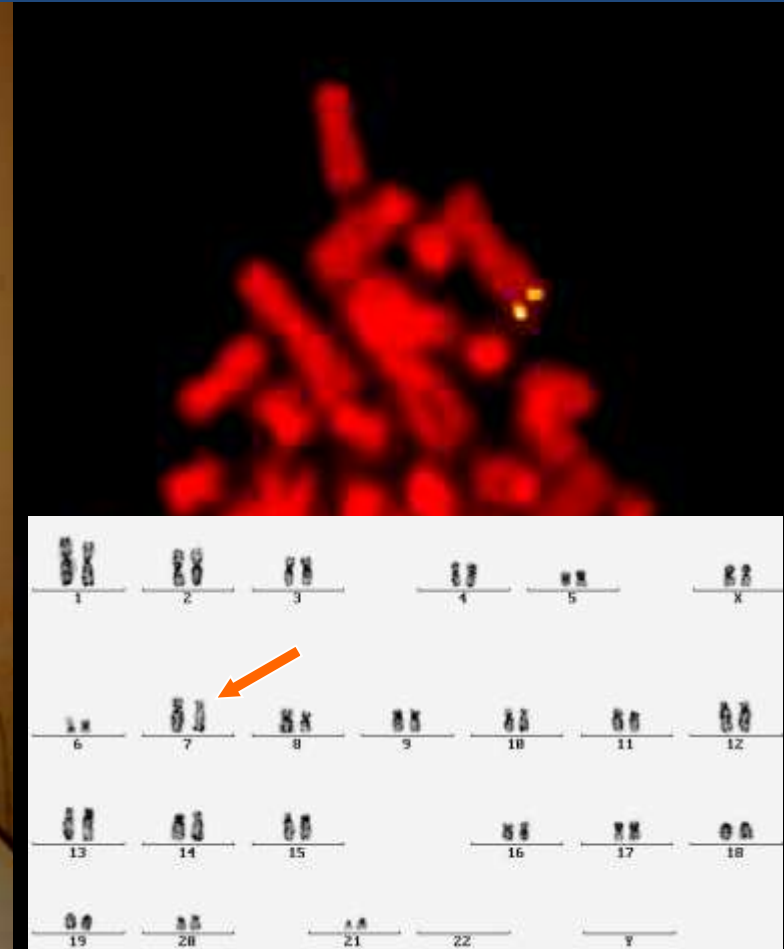
Transgeneza – rys historyczny

- Wprowadzane transgeny (od 1989r.)

• HBS-Ag	- królik	int. (1.3%)
• XM-hGH	- królik	
• CMV-hGH	- królik	
• Mt-bGH	- królik, świnia, bydło	int./exp.(2.0-0.5%)
• WAP-bGH	-bydło	
• AMHD	- królik, świnia	int.(2.0-1.5%)
• WAP-hGH	- królik, świnia	int./exp.
• WAP-hGH6His	- królik, świnia	int./exp.(2.0-3.0%)
• WAP-INF	- królik, świnia	
• WAP-Fuc	-królik, świnia	int./exp.(4.0-2.0%)
• Mt-Desaturase	- świnia	int./(2.2%)
• ALR	- królik	int./exp.
• Ksenotransplantacja	- świnia	generacja linii homozygotycznej FUT/ linie CD46, Gal, HLAe/ podwójnie tg FUTxGal prace nad potrójnie tg
• Transfekcja plemników	- świnia	
• Modele zwierzęce		

Transgeniczny królik 61

WAP-hGH6His



Transgeniczny kozioł

WAP- Fuc bGH

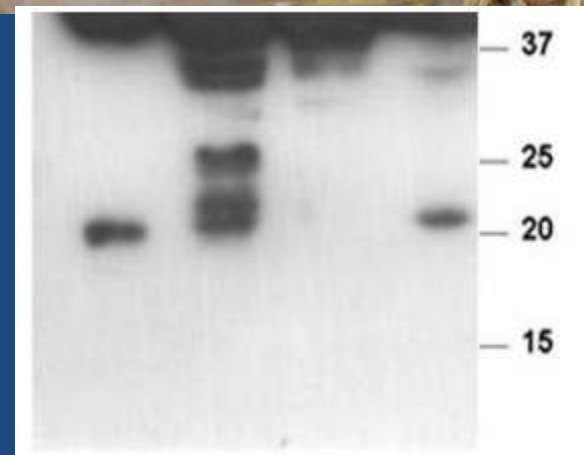
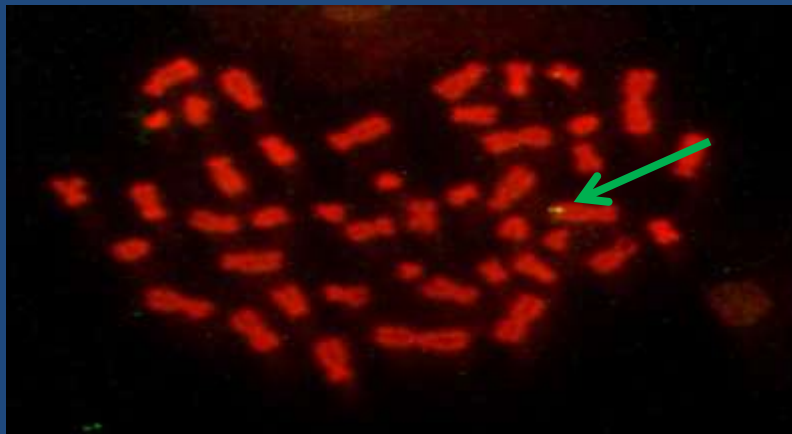


Transgeniczne króliki – rWAP-hALR

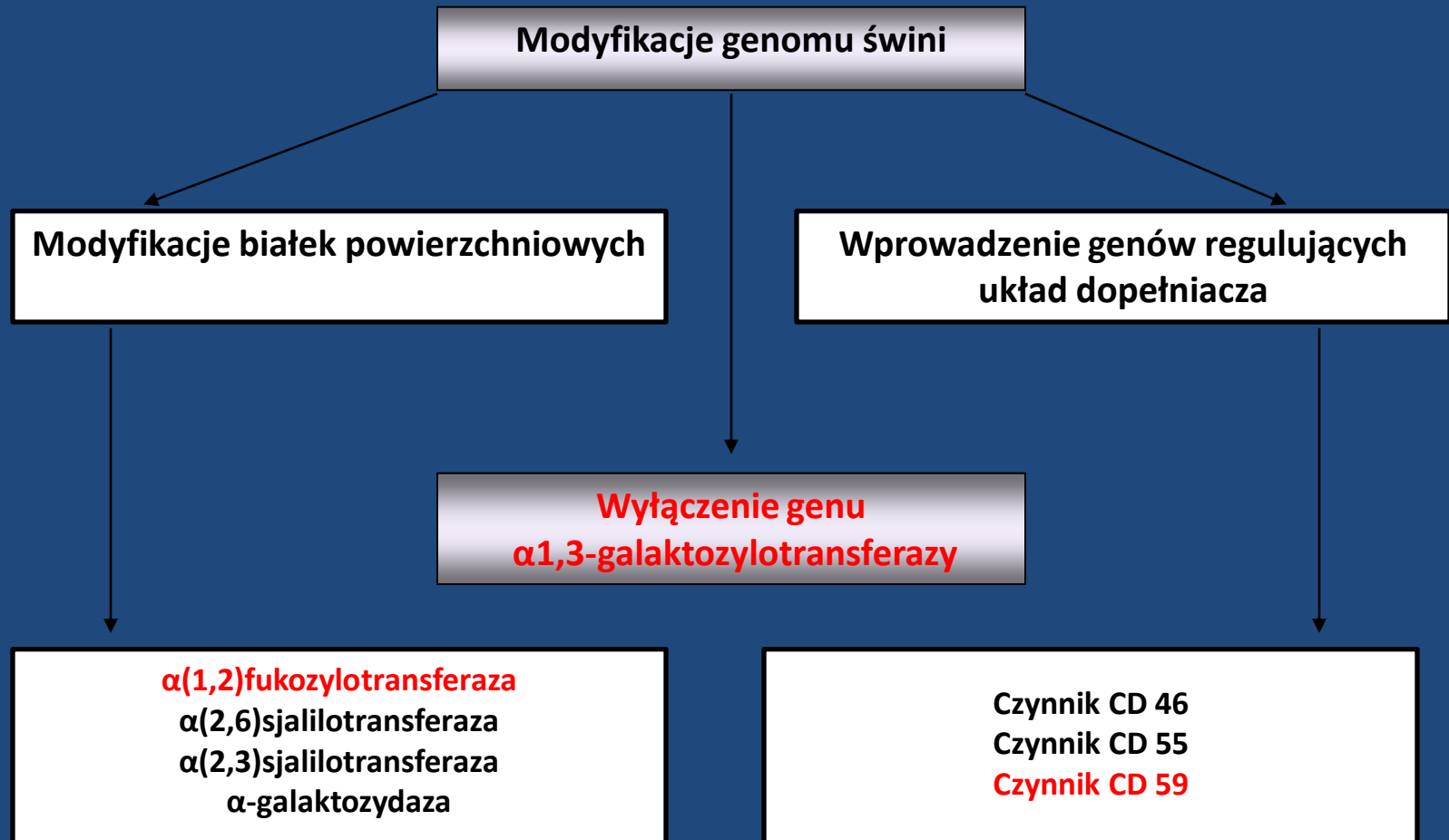
Transgeniczna samica A3



Pokolenie królików F1 transgenicznych
dla ALR



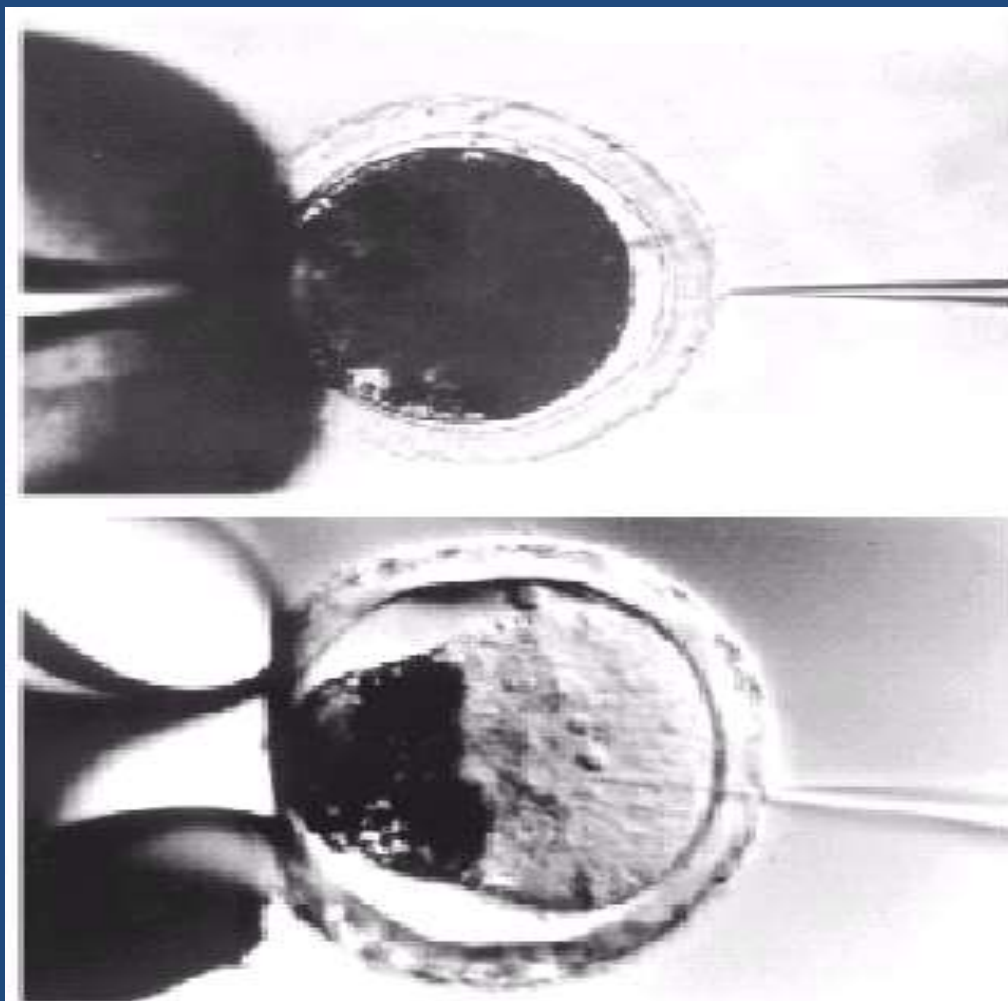
Modyfikacje genetyczne świni dla potrzeb ksenotransplantacji



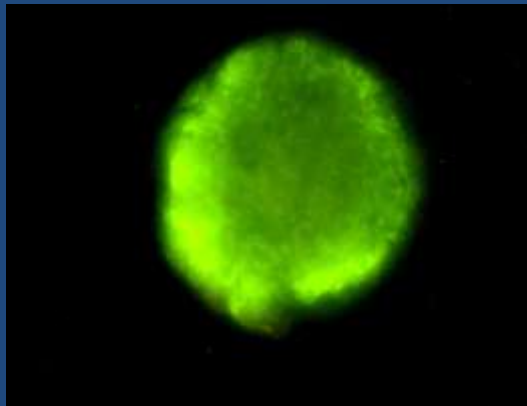
Strategia

- Uzyskiwanie transgeniczných świń na drodze:
 - Standardowej mikroiniekcji DNA
 - Metodami zmodyfikowanymi: lipomikroiniekcja, elektroporacja
 - Z wykorzystaniem transfekowanych plemników (AI/ IUI/ ICSI)
 - Klonowanie (SCNT / TGIC)
 - Uzyskiwanie linii i krzyżówek ze świnią wietnamską
 - Transgeneza piętrowa
 - Gromadzenie rezerwy genetycznej – nasienie, zarodki od transgeniczných osobników
 - Monitoring PERV

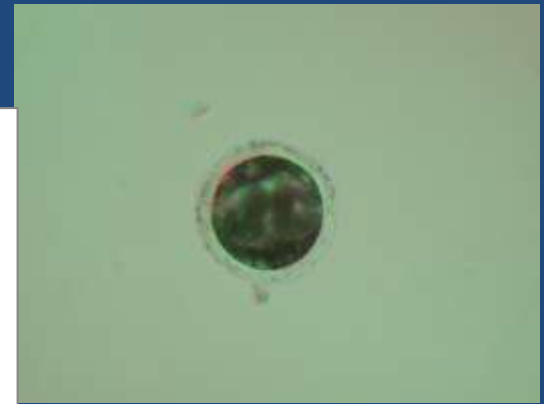
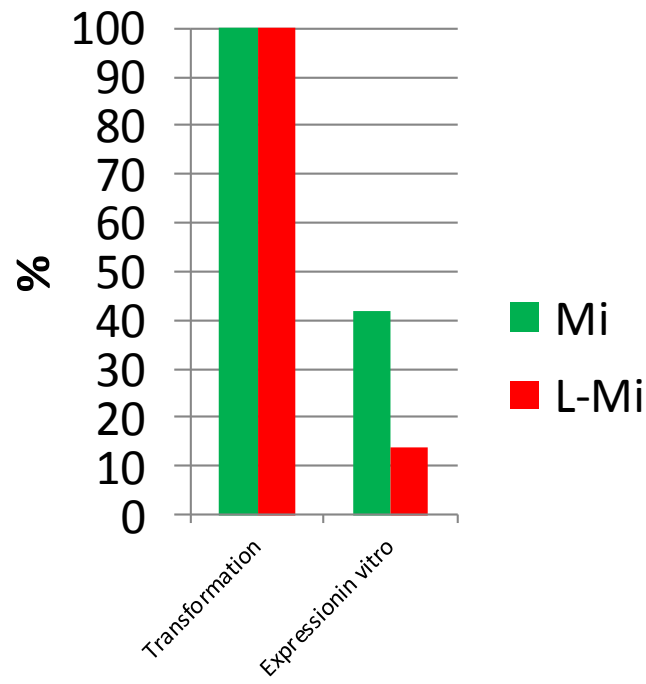
Mikroiniekcja DNA



Lipomikroiniekcja

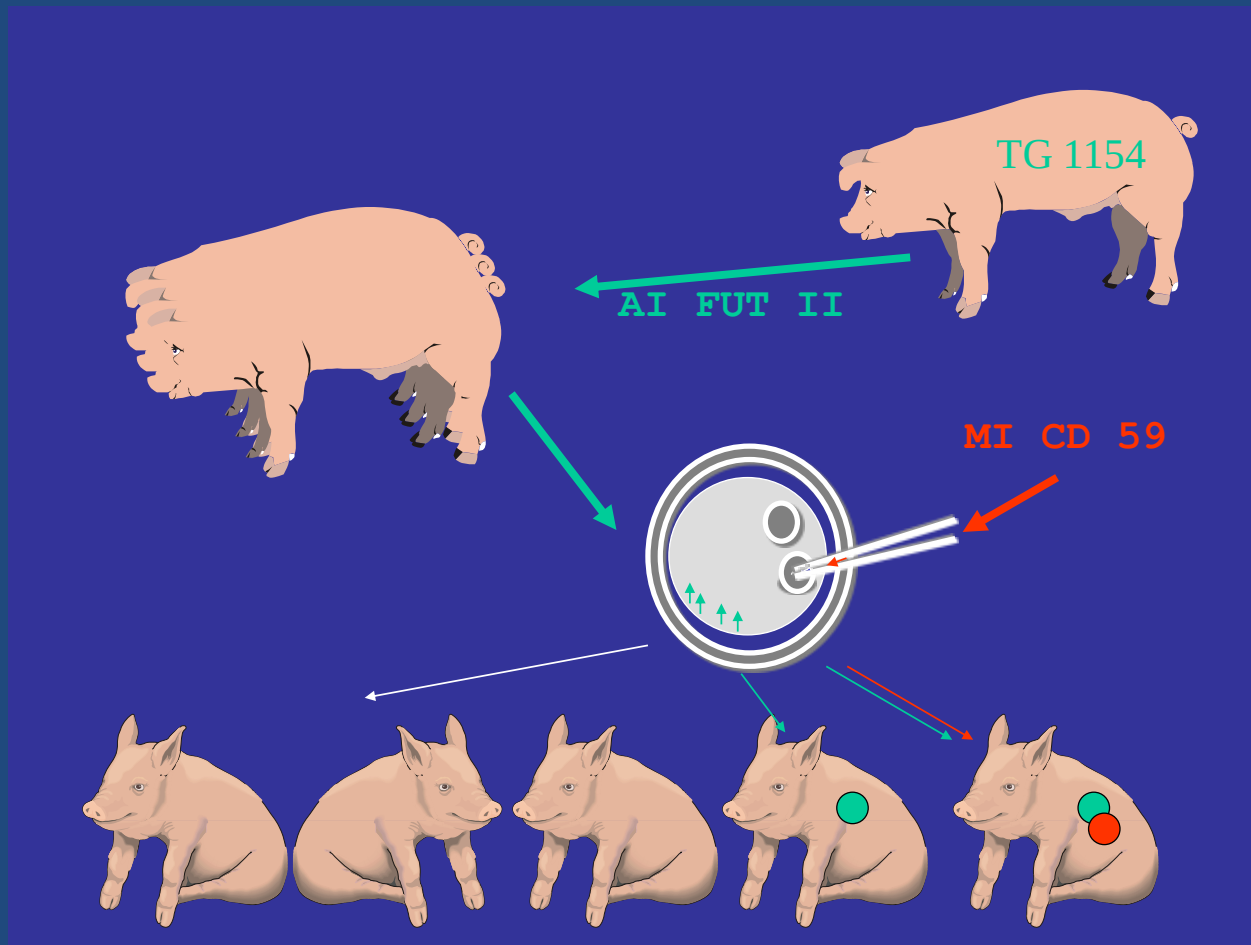


MIKROINJEKCJA(eGFP)



LIPOMIKROINIEKCJA (RFP)

Transgeneza „piętrowa”



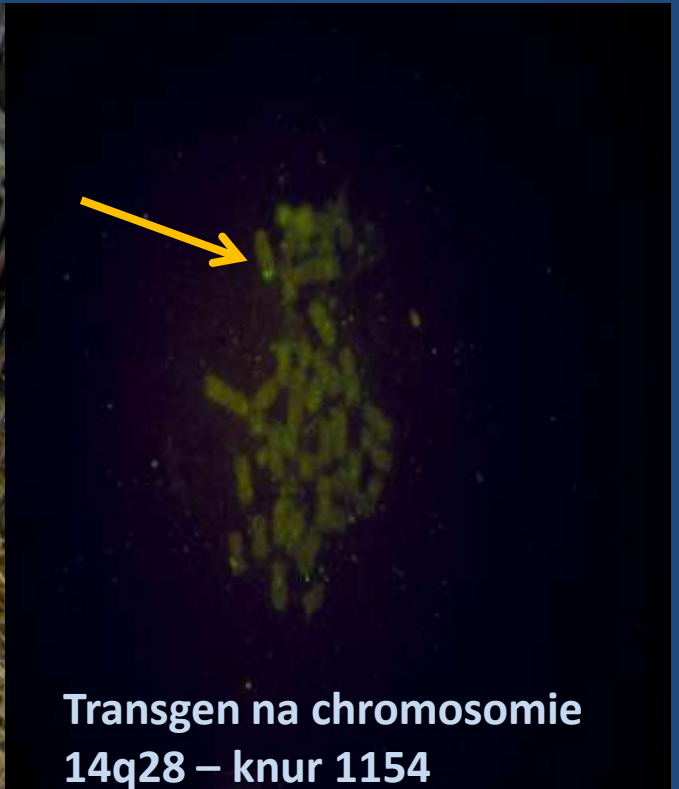
Ksenotransplantacja - rezultaty

- ✓ Obecnie dysponujemy: linią FUT (homozygoty), HLAe, α Gal, CD59 oraz FUTx α Gal; transgenicznymi świniami wietnamskimi FUT.
- ✓ Prace prowadzane są w kierunku uzyskania potrójnie transgenicznych świń FUTx α Gal x CD59
- ✓ Prowadzone są prace z wykorzystaniem „palca cynkowego” w metodzie mikroiniekcji DNA (podwójnie transgeniczne).

Ksenotransplantacja



Transgeniczny knur 1154 CMV-Fut II



Transgen na chromosomie
14q28 – knur 1154

Linie transgenicznych świń

Zakład Doświadczalny IZ PIB Żerniki Wielkie Sp. z o.o.



Praktyczne wykorzystanie wyników badań

- Zastosowanie skóry transgenicznych świń w leczeniu oparzeń – Siemianowice Śląskie, CM UJ
- Zastosowanie zastawek transgenicznych świń jako bazy do produkcji zastawek ludzkich/zastępowanie - FRK Zabrze
- Wykorzystanie elementów chrzęstnych i kostnych transgenicznych świń do rekonstrukcji czaszki człowieka
- Odtruwanie/ odciążenie wątroby ludzkiej – transgeniczna świnia jako „detoksykator”
- Badania nad wykorzystaniem nerek i serca transgenicznych świń do ksenotransplantacji – badania na zwierzętach
- Wykonano perfuzję krwią obwodową ludzką serca transgenicznej świni

Dziękuję za uwagę!

