

# О ПОСТУПЦИМА РЕПРОДУКТИВНОГ КЛОНИРАЊА – ТЕОРИЈА, МЕТОДЕ И ИСТОРИЈА

Љубомир Берберовић

Факултет криминалистичких наука, Сарајево, Бистрик 7

## *Abstract*

**BERBEROVIĆ, Lj.: REPRODUCTIVE CLONING TECHNIQUES – THEORY, METHODOLOGY, HISTORY.** *Skup 2: 3-14* [Faculty of Criminology, Sarajevo, 7 Bistrik Street].

The underlying theory, methodological basis and most important practical results of the experiments of reproductive (organismic) cloning are presented. Selected problems of classification and terminology are briefly discussed.

**Key words:** clone, clonal propagation, genetic engineering, genomic engineering, totipotency (omnipotency), enucleation, nuclear somatic transfer, reproductive cloning, reparative cloning.

## Сажетак

Приказани су теоријски принципи, методолошке основе и најважнији практични резултати експеримената репродуктивног (организмичког) клонирања. Назначена су поједина питања типологије експеримената, као и терминологије.

**Кључне ријечи:** клон(а), клонално размножавање, генетичко инжењерство, геномско инжењерство, тотипотентност (омнипотентност), енуклеација, трансфер соматског једра, репродуктивно клонирање, репаративно клонирање.

## УВОД

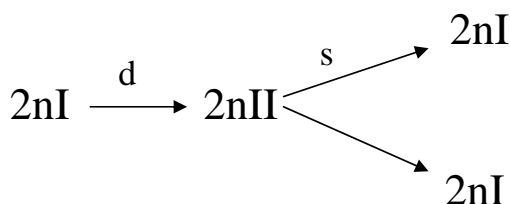
Посљедњих дана 2002. године објављено је да предстоји скоро рађање прве клониране људске бебе. Иако никад није потврђено да је стварно успјела клонална репродукција људских јединки (многи истакнути стручњаци озбиљно сумњају у такву могућност), јако је порасло занимање јавности за сам појам клонирања и његово значење, те за поступке клонирања и практичне могућности које отвара ова биотехнологија. Широј јавности није довољно познато да се ради о методама и резултатима за које већ одавно постоје неопходне научно-теоријске претпоставке и значајна експериментална искуства.

## КЛОНЕ И КЛОНИРАЊЕ

Термин «клон» или «клона» (*clone*) уведен је у науку почетком прошлог вијека (Webber 1903) и данас се употребљава у неколико донекле неједнаких значења. Литература на домаћем језику (неоправдано) даје предност првопоменутом облику имена. У савременом смислу ријечи, под клоном се првенствено подразумијева скупина генетички идентичних индивидуа (Bains 1998), тј. јединки са једнаким наслеђеним основама.

Умножавање клоналног типа у природи се одвија путем еквалне (еквационе, хомеотипске) ћелијске диобе–митозе. Одавно је закључено да суштину

еквипродуктивности ћелије, основног живог система, чини еквипродуктивност хромосома, надмолекуларних структура у којима је смјештена главнина наслједног материјала. Митоза подразумијева тачну дупликацију хромосома и гена и прецизну сепарацију продуката дупликације. Све соматске ћелије, без обзира на своју функционалну диференцијацију, увијек садрже једнаку, диплоидну хромосомску гарнитуру, а ова се састоји од  $n$  парова хомологих хромосома, или  $2n$  хромосома (схема 1). Митозом настају групе генетички идентичних биолошких система (ћелија или организама), који потичу од заједничког претка (King & Stansfield, 1997). И облици тзв. вегетативног размножавања, када се читави нови организми развијају из тјелесних дијелова, такође би се могли уврстити међу облике клонирања.



**Схема 1.** Митоза («еквална» ћелијска диоба).

d – дупликација хромосома

s – сепарација

Информацијске макромолекуле, прије свега дезоксирибо-нуклеинска киселина (ДНК) умножавају се клонирањем, слично биолошким системима. Способност за идентичну репродукцију (дупликацију) молекула ДНК представља основа еквипродуктивности надмолекуларних структура у свим биолошким системима, различитог нивоа организованости и сложености, од ћелија до организама. Идентична репродукција, било природна или вјештачка, почива на аутореplikативности (еквипродуктивности) молекула наслједности–молекула ДНК.

Генетичко-инжењерске методе омогућавају умјетно молекуларно клонирање, Циљане секвенције ДНК, односно тачне реплике одређених гена, праве се у произвољним количинама. Посебно је ефикасна технологија «ланчане реакције полимеразе» (PCR, Polymerase Chain Reaction), која је одмах након што је откривена (Mullis & Falcón 1987) ушла у широку лабораторијску примјену. Поступком PCR могу се за кратко вријеме добити милиони и милијарде копија одабраног сегмента ДНК, и то од минималних полазних количина (Mullis 1990). Под називом «клонирани ДНК» подразумијевају се фрагменти ДНК, који се пасивно умножавају у рецепторном систему, уграђени у неки вектор («putујућа ДНК», King & Stansfield 1997). Другим ријечима, биолошки системи могу мултиплицирати специфично обрађену страну ДНК, која је обично укључена у различите «ДНК-носаче» (векторе).

## ПРИРОДА И ТИПОВИ КЛОНИРАЊА

Термин клонирање је постао општеприхваћен заједнички назив за поступке вјештачке идентичне репродукције биолошких структура (система), од биолошких макромолекула, до надмолекуларних ћелијских структура, те ћелија у цјелини, ћелијских линија (ткива) и читавих организама. Савремена биолошка теорија обично разматра клонирање као грану генетичког инжењерства, научно-истраживачке области која се одликује захватима директног манипулисања наслједним материјалом

(Berberović 2001), тј. генима и биолошким структурама у чији састав гени улазе. Назив «генетичко инжењерство» није баш најсретније изабран, али је стекао статус техничког термина и прихваћен је у читавој литератури. Основни правци и облици генетичког инжењерства често се класификују према количини генетичког материјала, захваћеног манипулацијом (табела 1), аналогно једној класичној и стандардној класификацији мутација (A y a l a & K i g e r 1984).

**Табела 1.** Основна типологија генетичко-инжењерских захвата и поступака.

<b>ГЕНЕТИЧКО ИНЖЕЊЕРСТВО</b>	<b>ГЕНСКО ИНЖЕЊЕРСТВО</b>	Манипулација материјалом појединачних гена, тј. манипулација молекулама или дијеловима молекула нуклеинских киселина (ДНК, РНК).
	<b>ХРОМОСОМСКО ИНЖЕЊЕРСТВО</b>	Манипулација природним групама везаних гена, тј. манипулација дијеловима хромосома или цијелим појединачним хромосомима.
	<b>ГЕНОМСКО ИНЖЕЊЕРСТВО</b>	Манипулација комплетним наслеђним материјалом ћелијског једра, при чему су основни објект манипулације читаве хаплоидне гарнитуре хромосома (геноми), односно потпуни генски састави.

Клонирање ћелија и организама најтачније је одредити као подобласт геномског инжењерства. Геномско инжењерство обухвата операције цјеловитим хромосомским, односно генским гарнитурима. Геномском инжењерству припада неколико видова изравне манипулације читавим геномима (табела 2). Највише пажње и интересовања, нарочито у последње вријеме, привлачи сектор клонирања соматских генома (табела 3). У тај сектор улазе познате операције стварања читавих организама («организмичко клонирање») на бази генетичког материјала соматских ћелија, односно трансфером соматских једара (nuclear somatic transfer, NST) у репродуктивне ћелије.

**Табела 2.** Типологија главних облика геномског инжењерства.

<b>ГЕНОМСКО ИНЖЕЊЕРСТВО</b>	<b>ИНДУКЦИЈА ГЕНОМСКИХ МУТАЦИЈА</b>	Индукција хаплоидије
		Индукција полиплоидије
	<b>СОМАТСКА ХИБРИДИЗАЦИЈА</b>	Хомоспецифична
		Хетероспецифична
	<b>КЛОНИРАЊЕ СОМАТСКИХ ГЕНОМА</b>	Парасексуална репродукција
		Култура ембрионалних (и дефинитивних) ткива

**Табела 3.** Правци и облици клонирања генетичког материјала диплоидних ћелија.

<b>КЛОНИРАЊЕ СОМАТСКИХ ГЕНОМА</b>	<b>Целуларно (ћелијско)</b>	Идентична репродукција ћелија	Културе ћелијских линија
	<b>Организмичко</b>	«Пара-геномско- инжењерско» клонирање	«Ближњење» земака (Embryo-twinning)
			Раздвајање бластомера (Blastomere separation)
		«Геномско- инжењерско» клонирање	Пренос соматских једара (Nuclear somatic transfer, NST)

Многобројне облике клонирања могуће је класификовати на различитим принципима и по различитим критеријумима. Сагласно подјели из табеле 3, могуће је разликовати ћелијско и организмичко клонирање. Међутим, треба имати на уму да се циљано репродукују и гени, односно молекуле ДНК; такви захвати могли би се означити као генско, односно молекулско клонирање. Након што је објављено да постоје изгледи за стварање клона од материјала хуманог поријекла, појавила се типологија с обзиром на циљеве појединих подухвата клонирања (табела 4). Репродуктивно или организмичко клонирање је захват с циљем стварања потпуних генетички идентичних јединки: оба термина се употребљавају у литератури, углавном, као еквивалентни. Репаративно (или терапијско) клонирање има за циљ идентичну репродукцију ћелија ради производње замјенских ткива и органа у медицинске сврхе (Cibelli et al. 2002).

**Табела 4.** Геномско-инжењерско клонирање хуманог материјала.

		<b>Циљ операције</b>
<b>Клонирање трансфером соматских једара</b>	Репаративно (терапијско)	Идентична репродукција ћелија, ткива
	Репродуктивно	Идентична репродукција јединки

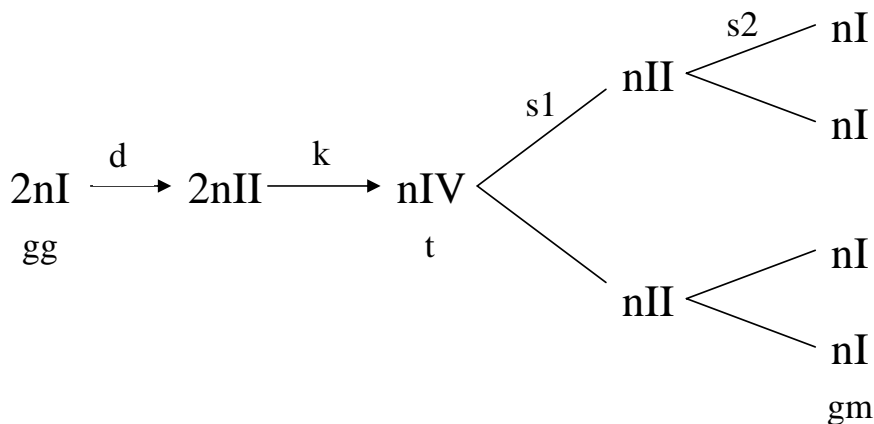
Операције клонирања чији је циљ стварање животно способних индивидуа представљају, заправо, један од начина парасексуалног размножавања. Посебну варијанту такве пропагације представља техника фрагментирања ембриона у раним фазама развића (обично на ступњу моруле). Ћелије земака имају тотипотентне генске гарнитуре и могу се подстакнути на развијање већег броја генетички подједнаких ембриона–монозиготних близанаца (Willandsen 1979). На овом принципу је заснована техника «трансфера ембриона», у одабране «замјенске (сурогатне) мајке» (Moses 1987), која се већ дуже вријеме примјењује у сточарству и у покусима оплемењивања домаћих животиња. Поједини елементи технике трансфера ембриона неопходни су у генетичко-инжењерским експериментима клонирања, али сама продукција јединки са једнаким насљедним основама путем одјелјивања појединих ембрионских ћелија, по дефиницији, не припада ужој области директне манипулације насљедним материјалом, односно организмичком клонирању као сектору геномског

инжењерства, него би прије спадала међу методе вегетативног умножавања («пара-геномско-инжењерско» клонирање, табела 3).

## БИОЛОШКА ОСНОВА РЕПРОДУКТИВНОГ КЛОНИРАЊА

Технологија идентичне репродукције биолошких система, ћелија и организама, заснива се на теорији о тотипотентности (омнипотентности) генетичког материјала соматских ћелија. Изузев релативно ријетке соматске мутације, соматски геноми остају тотипотентни у свим фазама онтогенезе (Wilmot et al., 1994). Процеси диференцијације у току индивидуалног развића одвијају се на основи селективне активације и дезактивације појединих гена или генских група. Теорија генетичке омнипотентности соматских ћелија добила је одлучујуће материјалне доказе захваљујући експериментима из касних педесетих година прошлог вијека, када су амерички истраживачи успјели произвести биљни организам од једне диплоидне ћелије (Steward et al. 1958a, 1958b).

У процесе сполног размновања укључена је–мејоза (редукциона, хетеротипска диоба), специфичан тип ћелијске диобе, која се састоји од једне дупликације и двије сепарације генетичког материјала. Мејоза води стварању сполних ћелија, гамета, које садрже хаплоидну хромосомску гарнитуру, или  $n$  хромосома. Гамети настају од посебне линије соматских, диплоидних ћелија–гаметогонија. Важан моменат мејозе је феномен коњугације: парови хомологих хромосома из састава диплоидне гарнитуре међусобно се сљубљују и творе биваленте (тетраде). То је моменат када се хромосомски број преполовљава (редукција), тако да гамети, након двије узастопне подјеле тетрада, садрже једноструку, хаплоидну хромосомску гарнитуру (схема 2). Нормални зигот, прва диплоидна ћелија нове јединке, настаје стапањем два гамета при оплодњи. Низом еквалних диоба из зигота се развија читав вишећелијски организам.



**Схема 2.** Мејоза (“редукциона” ћелијска диоба).

d – дупликација

s1 – прва сепарација

s2 – друга сепарација

k – коњугација хомолога

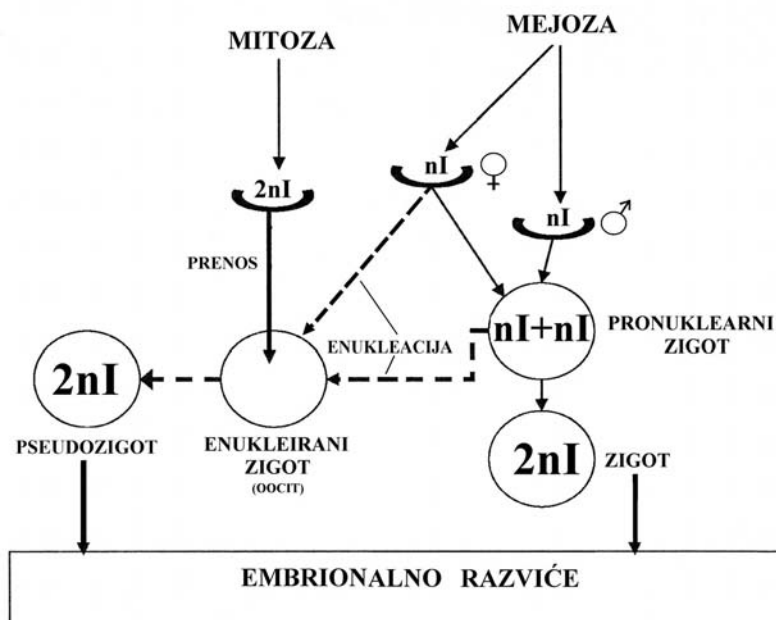
t – тетраде

gg – гаметогонијске ћелије (диплоидне)

gm – гамети (хаплоидни)

## ПОСТУПАК РЕПРОДУКТИВНОГ КЛОНИРАЊА

Полазна тачка свих до сад изведених експеримената репродуктивног клонирања виших животиња је одстрањивања ћелијског једра (односно хромосома и гена) из предвиђеног реципијентног система (енуклеација), а то је јајна ћелија, зигот или ћелија раног ембриона. Након енуклеације, примаоцу се имплантира екстирпирани генетички материјал донорске тјелесне ћелије. На тај начин, реципијентни систем остаје без своје насљедне супстанце, а прими у себе страни геном у потпуном саставу. Биолошко значење основних момената у процесима организмичког клонирања, са одговарајућим варијантама и терминологијом, приказан је на shemi 3.



**Схема 3.** Биолошке основе репродуктивног клонирања.

Идеја о енуклеацији као могућем начину доказивања теорије о онипотентности генетичког материјала сваке ћелије, саопштена је први пут врло давно (Sretnan 1938), али су тек молекуларно-генетичка истраживања разјаснила читав феномен. У педесетим и шездесетим годинама прошлог вијека, нарочито је продубљено знање о механизмима митозе и мејозе. Упоредо с тим, стално се повећавао број покуса клонирања, на биљкама и посебно на водоземцима; касније су експериментима обухваћени и сисари (табела 5).

Операција енуклеирања је заобиђена у класичном покусу клонирања виших биљних организама, када су појединачне читаве диплоидне ћелије, у специфичној вјештачкој средини и уз специфичну стимулацију, «привољене» на развој у потпуне јединке (Steward et al. 1958a, Steward et al. 1958b). Енуклеација је, у принципу, изводљива и на биљном материјалу, али није познато да су изведени такви експерименти.

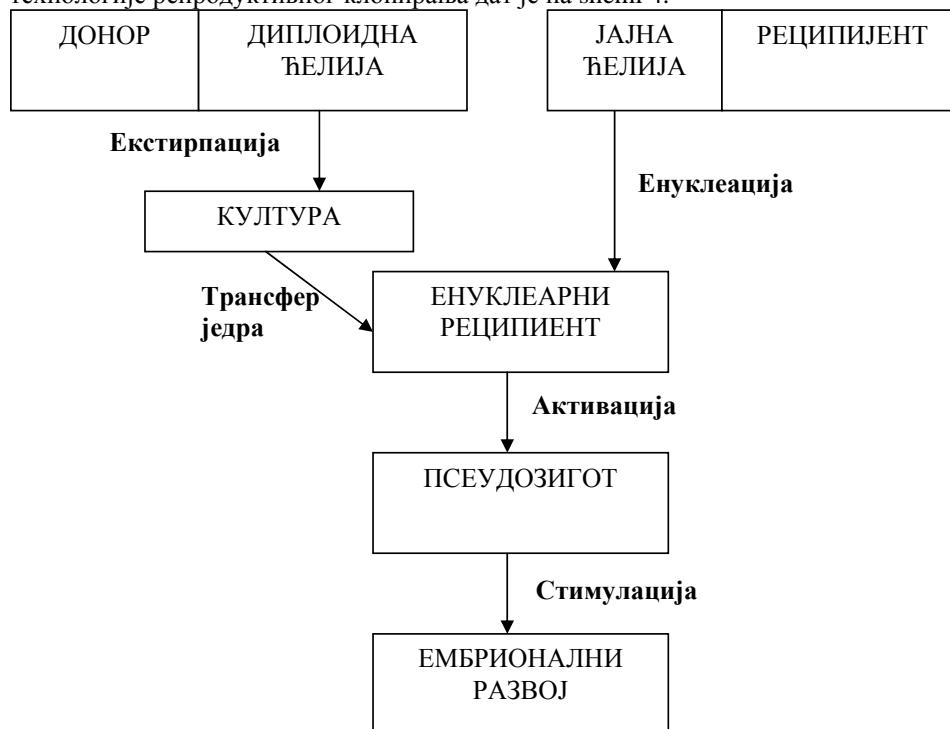
**Табела 5.** Хронологија развоја и успјеха организмичког клонирања (1938-2002).

ГОДИНА		АУТОР(И)
1938	Приједлог експеримента енуклеације јајне ћелије са трансфером диплоидног једра	Hans Spemann
1952	Успјешна механичка енуклеација јајне ћелије жабе ( <i>Rana pipiens</i> )	Robert Briggs & Thomas J. King
1955	Клонирани пуноглавци трансфером ембрионалних једара	Thomas J. King & Robert Briggs
1958	Клонирани нормални пуноглавци <i>Xenopus laevis</i>	M. Fishberg, J.B.Gurdon & T.R.Elsdale
1960	Енуклеација УВ зрачењем	T.R.Elsdale
1962	Серијска трансплантација клонираних ембрионалних и ларвалних ћелија	J.B.Gurdon
1966	Фертилна одрасла жаба произведена од ћелија пријевног епитела пуноглавца ( <i>Xenopus laevis</i> )	J.B.Gurdon & V.Uehlinger
1981	Трансфером једара ембрионалних ћелија у енуклеирану јајну ћелију клониран миш ( <i>Mus musculus</i> )	Karl Illmensee & Peter Hoppe
1995	Доказана могућност трансфера једара из културе ембрионалних ћелија (рођене овце Megan и Morag)	Ian Wilmut
1996	Фузијом соматске ћелије из културе ткива млијечне жлијезде са енуклеираном јајном ћелијом клонирана овца (Dolly)	K.H.S. Campbell, J.McWhir, W.A.Ritchie & I.Wilmut
1998, август	“Клонирање на траци” трансфером једара цумулус-ћелија	Teruhiko Wakayama & Tony Perry
1998, децембар	Клонирано домаће говедо ( <i>Bos</i> )	Y.Kato et al.
1999	Клонирана коза ( <i>Capra domestica</i> )	A.Baguise et al.
2000	Клонирана свиња ( <i>Sus scrofa domestica</i> )	Polejaeva et al.
2000, јули	Клонирана свиња ( <i>Sus scrofa domestica</i> )	A.Onishi et al.
2000, децембар	Клонирана мачка ( <i>Felis domestica</i> )	T.Shin et al.
2001, јануар	Клонирана угрожена врста гаур ( <i>Bos gaurus</i> )	Advanced Cell Technology
2001, октобар	Постигнут почетни развој човјечјег ембриона добијеног трансфером једра cumulus-ћелије	Hose B.Cibelli, Robert P.Lanza & M.D.West

Генетички материјал реципијента може се уклонити на разне начине, од којих су најпознатији одстрањење = механичким путем (микрохируршка интервенција) или радијацијом (UV зракама). Постоје изгледи и за примјену ласерске технологије у ову сврху. Сви познати експерименти клонирања сисара изведени су уз механичку енуклеацију реципијентног система, само у неким ранијим покушајима клонирања животиња (водоземци) за енуклеацију су примијењене UV зраке (Elsdale et al. 1960).

У неким покусима клонирања изостављена је енуклеација и страно диплоидно једро пренесено је у јајну ћелију са недирнутим хаплоидним једром (Fischberg et al. 1958). Овом техником постигнути су извјесни успјеси, али се она ипак више не практикује.

Експлантација и трансфер соматског једра изводи се микрохируршким захватом помоћу микропипета, слично поступку механичке енуклеације јајета. Као извор материјала за пресађивање користе се ћелије-донори из различитих ткива, ембрионалних или адултних. У појединим покусима, у енуклеирану јајну ћелију имплантира се читава ћелија донорског организма. За овај алтернативни захват могу послужити ћелије изразито мањих димензија у односу на јајну. Сажет приказ основне технологије репродуктивног клонирања дат је на shemi 4.



**Схема 4.** Најважнији елементи поступка трансфера генетичког материјала соматске ћелије у енуклеирану јајну ћелију.

## ЕКСПЕРИМЕНТИ РЕПРОДУКТИВНОГ КЛОНИРАЊА

Током ранијих фаза развоја методологије клонирања, истраживања су вршена на водоземцима (жабама). За имплантацију је искориштен наслеђни материјал ембрионалних (ларвалних) ћелија (Briggs & King 1952, Fischberg et al. 1958). У наредним покусима, пресађивана су ћелијска једра све старијих ступњева ларвалног развића. Први довршен покус организмичког клонирања животиња од потпуно диференцираних ћелија, остварен је производњом одраслих фертилних жаба *Xenopus laevis* од ћелија цријевног епитела пуноглавца (табела 5, Gurdon & Uehlinger 1966).



**Табела 6.** Преглед развоја и резултата технике енуклеације у клонирању водоземаца (жабе).

ВРСТА	ЕКСПЕРИМЕНТ			АУТОРИ	
	ЋЕЛИЈА РЕЦИПИЈЕНТ	ЋЕЛИЈЕ ДОНОРИ	ИСХОД		
<i>Rana pipiens</i>	Механички енуклеирана јајна ћелија	Ембрионалне ћелије (бластула)	Ембриони до стадија неурале	Briggs & King 1952	
<i>Rana pipiens</i>	Исто	Ембрионалне ћелије (ступњеви до позне гастрале)	Ларве (већином абнормалне)	King & Briggs 1955	
<i>Xenopus laevis</i>	Јајна ћелија (без енуклеације)	Ембрионалне ћелије (ступњеви бластуле до гастрале)	Ембриони и ларве (7% нормалних)	Fischberg et al. 1958	
<i>Xenopus laevis</i>	Енуклеирана (UV зрачење) јајна ћелија	Ћелије цријева ларве		Elsdale et al. 1960	
<i>Xenopus laevis</i>	Енуклеиране јајне ћелије	Први трансфер	Цријевне ћелије ларве	Normalna imaginalna tkiva	Gurdon 1962
		Други (серијски) трансфер	Ћелије првог транспланта (бластула–неурула)		
<i>Xenopus laevis</i>	УВ зрачењем енуклеирана јајна ћелија	Ћелије цријевог епитела пуноглавца		<b>Фертилне одрасле жабе</b>	Gurdon & Uehlinger 1966
<i>Xenopus laevis</i>	Исто	<b>Адултни еритроцити и кератоцити</b>		Пуноглавац	Gurdon 1973

Експерименти организмичког клонирања сисара изведени су знатно касније. Први сисар клониран из адултне ћелије била је чувена овца «Dolly», рођена јула 1996, жртвована фебруара 2003 (због тешке плућне болести). Овом успјеху је, изгледа, битно допринио прогрес у теоријском заснивању експеримената клонирања. У поступак је, наиме, укључено «успављивање» ћелија чији се генетички материјал предвиђа за имплантацији, вјештачким продужењем G<sub>1</sub> фазе у интерфази ћелијског циклуса (Campbell et al. 1997); ову иновацију су успјешно примијенили многи настављачи експерименталне праксе клонирања сисара. «Успављивање» (ућуткивање, quiescence) се постиже смањењем концентрације храњивих твари у подлози на којој се култивира донорска ћелија. То је једна врста «изгладњивања», чији је циљ да се снизи општи интензитет синтезе информацијских РНК (Wilmot 1998). Карактеристично је, међутим, да готово сваки успјех у организмичком клонирању животиња прати и одређено иновирање методике рада («технологије»). У неким каснијим покусима, успјеси су постигнути и без примјене метода «успављивања» (Cibelli et al. 1998). Према расположивим подацима, до краја 2002. године клониране су јединке неких десетак сисарских врста (табела 7).

**Табела 7.** Преглед успјелих покуса клонирања сисарских врста. Статистика нуклеарних трансфера, фузија и имплантација није потпуна; наведена је ради назначавања ступња успјешности покуса.

ВРСТА И ИЗВОР	ПОДАЦИ О ЕКСПЕРИМЕНТУ		
	ГЕНЕТИЧКИ МАТЕРИЈАЛ (ДОНОР)	ДИМЕНЗИЈЕ ПОКУСА	ВРИЈЕМЕ И НАЧИН РОЂЕЊА
<i>Ovis aries</i> (Campbell et al. 1997)	Култура ћелија млијечне жлијезде	277 ембриона →29 имплантација (електропулсација) →13 трудноћа	5 јули 1996., вагинално (“Dolly”)
<i>Mus musculus</i> (Wakayama et al. 1998)	Једра култивираних ћелија оофорне гомилице	Већи број имплантација («клонирање на траци»)	Преко 2% успјелих трудноћа, око 50 клонираних мишева, јули 1998
<i>Bos taurus</i> (Kato et al. 1998)	Култивиране ћелије оофорне гомилице и епителне ћелије јајовода	125 фузија (оба типа донора) → 38 (18+20) бластоциста → 10 имплантација у пет сурогат-мајки	Јули 1998. - 8 вагинално донесене телад, од оба типа соматских ћелија (4 преживјела)
<i>Capra hircus</i> (Baguisi et al. 1999)	Једра феталних соматских ћелија	Енуклеирани ооцити ИИ реда или зрели, → 85 ембриона, → 29 сурогата → 2 трудноће	Обје процедуре дале три (трансгене) јединке
<i>Sus scrofa domestica</i> (Polejaeva et al. 2000)	Ћелија гранулозног омотача ооцита, једра убачена у енуклеирани М2 ооцит, па пребачена у енуклеирани пронуклеарни зигот	586 секундарних трансфера у енуклеирани зигот →10 сурогата → 2 трудноће (1 успјела)	Рођено 5 прасади, царским резом
<i>Sus scrofa domestica</i> (Onishi et al. 2000)	Једра фибробласта 24-дневног фетуса (примарна култура)	210 електрофузија, енуклеирано јаје →110 ембриона →4 сурогата	2. јули 2000. (“Hena”)
<i>Bos gaurus</i> (Vogel 2001.)	Епителска ћелија одраслог мужјака	44 ембриона →32 сурогата →8 трудноћа	Јануар 2001, царски рез (“Noah”) + 2 вјештачка побачаја
<i>Felis domestica</i> (Shin et al. 2002)	Једра ћелија оофорне гомилице (примарна култура)	87 ембриона →8 сурогата →2 трудноће	22. децембар 2001. царски рез

У неким експериментима клонирања мишева, уведен је метод имплантација читавих цумулус-ћелија (ћелије оофорне гомилице) у јајну ћелију, чиме је заобиђена операција експлантације донорског једра и знатно побољшана ефикасност клонирања сисара («клонирање на траци», Wakayama et al. 1998). Послије су сличне поступке

примијенили и многи други истраживачи, па тако и приликом почетних успјеха у покусима клонирања људског материјала (Cibelli et al. 2002). Релативно добри резултати у производњи сисарских клонова постигнути су и двојним трансфером генетичког материјала донора у ооците различите фазе зрења (Полејева et al. 2000 и други аутори). Уопштено говорећи, постоје бројне варијације експерименталне технике организмичког клонирања (Berberović 2003).

Према досадашњим искуствима, трансфер соматских једара има сразмјерно слаб укупни учинак, када се ради о сисарском материјалу. Ако се ефективност дефинише као однос између броја живорођених јединки и броја активираних псеудозигота, просјечна успјешност експеримента репродуктивног клонирања креће се око 1% (Вугне & Gurdon 2002). Један од узрока ниског процента је висока инциденција конгениталних поремећаја (Wilmut 2001). Неједнаки резултати појединих покуса, у том погледу, нису сасвим разјашњени.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, J. D. Watson (1994). *Molecular Biology of The Cell* (Third Edition). Garland Publishing Inc., New York.
2. Ayala, F. J., J. A. Jr. Kiger (1984). *Modern Genetics* (Second edition). The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc., Menlo Park (Cal.)-Reading (Mass.)-London-Amsterdam-Don Mills-Ontario-Sydney.
3. Bains W. (1998). *Biotechnology – From A to Z* (Second edition). Oxford University Press, Oxford-New York-Tokyo.
4. Berberović, Lj. (2001). Pravci i oblici genetičkoinženjerskih istraživanja. *Naša škola*, 5. 47:55-64.
5. Berberović, Lj. (2003). Artificial creation of genetically identical individuals – Reproductive cloning. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 3:5-17.
6. Briggs, R., T. King (1952). Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs eggs. *Proceedings Nat. Acad. Sci. USA*, 38:455-463.
7. Campbell, K. H. S., J. McWhir, W. A. Ritchie, I. Wilmut (1997). Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*, 385:810-813.
8. Cibelli, J. B., S. L. Stice, P. J. Golueke, J. J. Kane, J. Jerry, C. Blackwell, F. A. Ponce de Leon, J. M. Robl (1998). Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts. *Science* 280:1256-1258.
9. Cibelli, J. B., R. P. Lanza, M. D. West, C. Ezzell (2002). The first human cloned embryo. *Scientific American* 286(1):44-51.
10. Colman, A. (2000). Somatic cell nuclear transfer in mammals: Progress and applications. *Cloning* 1(4):185-200.
11. Elsdale, T. R., J. B. Gurdon, M. Fischberg (1960). A description of the technique for nuclear transplantation in *Xenopus laevis*. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 8:437.
12. Fischberg, M., J. B. Gurdon, T. R. Elsdale (1958). Nuclear transplantation in *Xenopus laevis*. *Nature* 181(4606):424.
13. Gurdon, J. B., V. Uehlinger (1966). «Fertile» intestine nuclei. *Nature* 210(5042):1240-1241.
14. King, T. J., R. Briggs (1955). Changes in the nuclei of differentiating gastrula cells as demonstrated by nuclear transplantation. *Proceedings Nat. Acad. Sci. USA* 41(2):321-325.
15. King, R. C., W. D. Stansfield (1997). *A Dictionary of Genetics* (Fifth edition). Oxford University Press, New York-Oxford.
16. Moses, P. B. (1987). Gene transfer methods applicable to agricultural organisms (In – «Agricultural Biotechnology Strategies for National Competitiveness, pp 149-192). National Academy Press, Washington D.C.

18. Mullis, K. B. (1990). The unusual origin of the Polymerase Chain Reaction. *Scientific American* 262(4):56-65.
19. Mullis, K. B., F. Falcon (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase chain reaction. *Methods in Enzymology* 155:335-350.
20. Polejaeva, I. A., S. Chen, T. D. Vaught, R. L. Page, J. Mullins, S. Ball, Y. Dai, J. Boone, S. Walker, D. L. Ayares, A. Colman, K. H. S. Campbell (2000). Cloned pigs produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Nature* 407(6800):86-90.
21. Spemann, H. (1938). Embryonic Development and Induction. Hafner, New York.
22. Steward, F. C., M. O. Mapes, K. Mears (1958b). Growth and organized development of culture cells. II – Organization in cultures grown from freely suspended cells. *American Journal of Botany* 45:709.
23. Steward, F. C., M. O. Mapes, J. Smith (1958a). Growth and organized development of cultured cells. I – Growth and division of freely suspended cells. *American Journal of Botany* 45:693.
24. Wakayama, T., A. C. Perry, M. Zuccotti, K. R. Johnson, R. Yanagimachi (1998). Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature* 394(6691):369-374.
25. Webber, H. J. (1903). New horticultural and agricultural terms. *Science*, 18:501-510.
26. Willandsen, S. M. (1979). A method for culture of micromanipulated sheep embryos and its use to produce monozygotic twins. *Nature*, 277:298-300.
27. Wilmut, I. (1998). Cloning for medicine. *Scientific American*, 279(6):30-35.

Примљено: 10.11.2005.

Одобрено: 10.7.2006.