

Тағам биотехнологиясының заманауи тенденциялары

Дәріс №9

**Тақырып: Генетикалық инженерия: бактериялар,
жоғары өсімдіктер және олардың қолдану салалары**

1. Нуклеин қышқылдары және тұқым қуалаушылық факторлары жануарлар ағзаларында.
2. Бактериялардағы генетикалық инженерия.
3. Өсімдіктердегі генетикалық инженерия.
4. Трансгенді өсімдіктерді алу.
5. Трансгенді жануарларды алу.

9.1 Нуклеин қышқылдары және тұқым қуалаушылық факторлары тірі ағзаларда

Барлық тірі ағзалардың маңызды компоненттері нуклеин қышқылдары болып табылады: рибонуклеин қышқылы (РНҚ) және дезоксирибонуклеин қышқылы (ДНҚ). Нуклеин қышқылдары моносахаридтерден (рибоза және дезоксирибоза) және пуринді (аденин, гуанин) мен пиримидинді (цитозин, урацил, тимин) азотты негіздерден тұрады. Рибонуклеин қышқылы рибозадан, адениннен, гуаниннен, цитозиннен және урацилден тұрады, ал дезоксирибонуклеин қышқылы дезоксирибозадан, адениннен, гуаниннен, цитозиннен және тиминнен тұрады. Нуклеин қышқылдары компоненттерден тұратын нуклеотидтерден қалыптасады. Әр нуклеотидте азотты негіз, моносахарид және фосфор қышқылы болады. Нуклеотидтер полинуклеотидті тізбек құрайды. Нуклеин қышқылдары (ДНҚ) бір және екі тізбекті болуы мүмкін. ДНҚ, сирек жағдайларды қоспағанда, екі тізбекті болып табылады. РНҚ, сирек жағдайларды қоспағанда, бір тізбекті болып келеді. Азотты негіздер спиральдің ішінде орналасқан және сутектік байланыстар арқылы арнайы жұптар түзеді:

А-Т, Г-Ц – ДНҚ үшін;

А-У, Г-Ц – РНҚ үшін.

РНҚ-ның негізгі функциясы – клеткадағы ақуыз синтезінің процесіне қатысу. ДНҚ-ның функциясы – спецификалықты анықтау және тұқым қуалаушылық бірліктерін беру. РНҚ ақпараттық (ДНҚ-ның ақуыздың алғашқы құрылымы туралы ақпаратты тасымалдайды), тасымалдық (аминқышқылдарын рибосомаларға жеткізеді), рибосомалық (рибосомаларды құрайды және ақуыздарды жинайды), ядролық (жалпы ДНҚ-ның 4-10% құрайды). ДНҚ-ның басым бөлігі ядроның ішінде орналасқан, ал эукариоттардың цитоплазмасында ДНҚ-ның 1% -нан азы орналасады. Эукариоттардың ДНҚ-сы негізінен ядролық хромосомаларда орналасқан, тек аз мөлшері митохондрияларда, ал өсімдіктерде плазмидаларда да болады. Хромосомалардың жиынтық материалы хроматин деп аталады. Әр хромосома орталық жіптен (хромонема) және оның бойында орналасқан хромомерадан тұрады. Хромосомалардың саны бірден жүзге дейін өзгеруі мүмкін, жиі 10-50 аралығында болады. Эукариоттарда хромосомалар әрқашан жұп болып келеді, әр түрден екі дана болады. Тұқым қуалаушылық факторлары немесе бірліктері хромосомаларда сызықтық тәртіпте орналасқан гендер болып табылады. Бір адам клеткасында 5 мыңнан 125 мыңға дейін гендер болуы мүмкін. Бактерияларда бір хромосома болады, ол екі тізбекті ДНҚ-дан тұратын сақиналы жіп түрінде болады және ядролық қабықшаға ие емес. Көптеген бактериялардың цитоплазмасында хромосомалық ДНҚ-

дан бөлек қосымша кішігірім сақина тәрізді ДНҚ бар, олардың болуы міндетті емес. Олар плазмидтер деп аталады. Плазмидтер 2-200 ақуыз үшін ақпаратты тасымалдайды. Плазмидтік ДНҚ бактериялардың хромосомалық ДНҚ-сының 1-15% құрайды. Плазмидтер автономды түрде көбейе алады және тұрақты түрде тұқым қуалаушылыққа ие. Кейбір плазмидтер бактериялардың хромосомаларына қосыла алады. Бір бактерия клеткасында кіші плазмидтер бірнеше ондаған болуы мүмкін, ал үлкендері бір немесе екі ғана болады.

9.2 Бактериялардағы генетикалық инженерия

Генетикалық рекомбинация екі хромосома арасында гендермен алмасу процесін білдіреді. Гендермен алмасу және басқа түрлердің гендерін клеткаға енгізу генетикалық рекомбинация арқылы жүзеге асады. Бұл әдіс бактерияларда, әсіресе ішек таяқшасында (*E. coli*) зерттеліп, жануарлар мен адамның гендерін клеткаларға енгізу және олардың репликациясын алу үшін қолданылды.

ДНҚ фрагменттерін қажетті гендермен бөліп алу бактериялардың клеткаларында өндірілетін рестриктаз ферменттері арқылы жүзеге асырылады. Ішек таяқшасы және басқа бактерияларда вирустар мен басқа фагтардың ДНҚ-ларын кесетін ферменттер табылған. Рестриктазалар ДНҚ-дағы арнайы учаскелерді таниды және осы учаскелердің ортасында немесе сәл ығысуымен екі тізбекті кеседі. Бұл жағдайда жіңішке немесе жабық ұштармен кесілген фрагменттер қалыптасады. Мұндай ұштар комплементарлы болғандықтан, біріктірілуі мүмкін.

Липкі ұштарды ДНҚ-лигаза ферменті қосады, ол фосфодиэфирлік байланыстарды біріктіреді. Орташа ақуызды кодтау үшін 400 аминқышқылы қажет болса, ДНҚ ұзындығы 1200 нуклеотид жұбын қажет етеді. Ресейде және шетелде көптеген рестриктазалар табылған, олар ДНҚ-ны нақты жерлерде кеседі. Бұл рестриктазалар әртүрлі ДНҚ-ның липкі ұштарын үйлестіруге мүмкіндік береді. Қазіргі уақытта 500-ден астам рестриктаза белгілі, олар 120 түрлі тізбекті кесуге қабілетті. ДНҚ фрагменттерін электрофорез арқылы бөлу оңай, мұнда ДНҚ геледе электр өрісінің әсерінен қозғалады, қысқа фрагменттер ұзындарына қарағанда жылдам жүреді.

Гибридтік ДНҚ-ны функционалды белсенді және репликацияланатын күйге келтіру міндеті тұр. Ол үшін қызықты фрагментті векторға енгізеді, ол басқа ДНҚ-ны клеткаға тасымалдай алады және оның репликациясын қамтамасыз етеді. Вектор – клеткаға шеткі ДНҚ-ны тасымалдайтын және оны репликациялайтын молекула. Реципиент клеткалар вектор арқылы енгізілген гендерді алып, көбейеді. Вектор ретінде көбінесе бактериялық плазмидалар пайдаланылады, олар хромосомадан тәуелсіз репликациялана алады. Плазмидалардың ДНҚ-сы бактериялық хромосомадан 100 есе кіші, бірақ олардың ішінде жүздеген гендер болуы мүмкін.

Кейбір ұсақ плазмидалар бірнеше рестриктазаның учаскелерін қамтиды. Әр рестриктаза плазмиданы бірнеше кішкентай бөліктерге бөлмей, оны сызықты күйге келтіреді. Бұл бірінші рет 1974 жылы ағылшын ғалымы Стэнли Коуэнмен ашылды. Плазмидалар өздігінен көбейеді және липкі ұштары бар басқа ДНҚ фрагменттерімен қосыла алады. Плазмидаларға тетрациклинге төзімді гендер енгізіліп, антибактериалды ортада байқалады.

Келесі мәселе – клеткаларды рекомбинантты ДНҚ қабылдауға үйрету. Генная инженерияның алғашқы тәжірибелері ішек таяқшасы *E. coli* арқылы жүргізілді. Клеткаларды суықта кальций ерітіндісінде ұстап, «жылу соққысынан» өткізеді. Осыдан кейін клетканың мембранасы сыртқы ДНҚ молекулаларын қабылдай алады. Плазмидаға *E. coli* хромосомасынан триптофан аминқышқылын синтездеуге жауапты гендер енгізілді. Гибридтік ДНҚ енгізілген клеткалар триптофан өндірісінде жұмыс істейтін ферменттерді көптеп өндіре бастады.

Плазмидалардан басқа, бактерия клеткаларында көбейетін ДНҚ вирустары да вектор ретінде қолданылады. Гибридтік ДНҚ-ны алған клеткалар көбейгенде, олар клон қалыптастырады. Бұл түрлі ақуыздар, дәрі-дәрмектер, гормондар өндірісіне мүмкіндік береді, мысалы, шошқа ұйқы безінен алынған инсулин.

9.3 Өсімдіктердің гендік инженериясы

Ғалымдардың алдында жаңа міндет пайда болды: қажетті гендерді өсімдік клеткасына енгізу арқылы қажетті белгілері мен қасиеттері бар өсімдіктер алу. Осы мақсатта коронатты өсімдіктердің клеткалары пайдаланылды. Коронатты галлдар - өсімдіктердің сабақтарының түбіріне жақын бөлігінде немесе кесу жерлерінде пайда болатын ісіктер. Бұл ісіктер өсімдікте метастаздар тудыруы мүмкін және 600-ден астам екіжарнақты өсімдік түрлерін зақымдайды. Ауруның қоздырғышы 1897 жылы жүзім ісігінде табылған бактерия - *Agrobacterium tumefaciens* болып табылады. Бұл бактерия өсімдіктердің гендік инженериясының негізін қалаушы болып табылады. Егер бұл бактериялар сау, зақымданбаған өсімдіктерге енгізілсе, онда жара аймағында типтік коронатты галл пайда болады. Опухолеві клеткаларда фитогормондар қосылмай өседі. Бактерияның әсерімен нормалды клеткалар опухолеві клеткаларға айналады, бірақ бұл процесс қалай болатыны анықталмаған. 1974 жылы патогендік штаммдарда үлкен плазмидалар табылды. Бұл плазмидалар 30°C жоғары температурада жоғалады. Агробактериядағы опухольді пайда ететін фактор плазмидалармен байланысты. Плазмидалар арқылы опиндер синтезі жүзеге асырылады, олар бактерияларға қорек болады. Бұл механизм плазмидалық гендерді бактериялардан өсімдіктерге тасымалдау арқылы іске асырылады. Гендер жараланған өсімдіктерге түскеннен кейін, алғашқы екі сағатта целлюлоза синтезі басталады, ал төрт сағаттан кейін плазмидалар өсімдік клеткаларына беріледі. Бұл процесс бактериялардың қатысуынсыз жүреді. Онкогендер плазмидалар өсімдік ядросына кіріп, опухолеві трансформацияға әкеледі. Бұл интеграция матрицалық РНК арқылы жүзеге асады. Плазмидалық онкогендер фитогормондардың синтезін де кодтайды.

Өсімдіктерге енгізілетін гендер *E. coli* плазмидаларына енгізіледі, кейін гибридті ДНҚ агробактерияларға тасымалданады, және олар өсімдіктерге енгізіледі. Гендер агробактерияның плазмидаларындағы өсімдік клеткаларының ядросына енгізілуге арналған учаскелерге қосылады. Сонымен қатар, өсімдік вирустары, мысалы, қырыққабаттың бояу мозаикасы вирусы да гендерді тасымалдау үшін қолданылады. Вирустың өміріне қажетсіз гендер басқа гендермен ауыстырылады.

9.4 Трансгендік өсімдіктерді алу

Жоғарыда аталған әдістер арқылы жаңа гендер агробактериялар арқылы өсімдіктерге енгізіледі. Олардың **ең қарапайым әдісі** - жарақатталған өсімдіктерді коронатты галлдармен жұқтыру. Бірақ опухолеві клеткалар өсімдіктерді қайта қалпына келтіруге қабілетті емес. Кейбір агробактерия штамдарымен жұқтырғанда тератомалар - әртүрлі клеткалардан тұратын ісіктер пайда болады. Бұл уродцы сау тамырға отырғызылса, сыртқы гендері бар нормалды өсімдіктер алуға болады. Бірақ осындай өсімдіктердің ұрпақтары жаңа белгілерін жоғалтады. Онкогендермен енгізілген жаңа ген мейоз арқылы өтпейді, өйткені опухолеві гендерге қарсы қорғаныс бар. Онкогендерге зақым келгенде, енгізілген гендер бұзылмаған ДНҚ учаскаларымен ұрпақтарға беріледі. Онкогендерсіз t-ДНҚ өсімдіктің клеткаларын қайта қалпына келтіруге мүмкіндік береді және мейоз арқылы ұрпақтарға беріледі. Агробактериялармен гендерді тасымалдау үшін протопластармен уақытша сақтайды. Жалаң протопластар үлкен молекулаларды өткізуге қабілетті. Протопластардан басқа, жапырақтардың мезофилл клеткалары да пайдаланылады.

9.5 Трансгендік жануарларды алу

Жоғары организмдердің гендерін бөліп алу, бактериальды плазмидалармен рекомбинациялау, бактерияларда клонирлеу, олардың нуклеотидтер тізбегін анықтау, рекомбинантты ДНҚ-ны тірі клеткаға енгізу және шеткі гендердің экспрессиясы (көбейтілуі) трансгендік жануарлар жасау мүмкіндігін береді. Эксперименттер жоғары жануарлардың клеткалары жаңа тұқым қуалайтын қасиеттерді қабылдап, жаңа заттар өндіретінін көрсетті. Дегенмен, сүтқоректілер мен ауыл шаруашылық жануарлары үшін гендік инженерия әдістері әлі жеткіліксіз дамыған. Бұл әдістердің басты қиындықтарының бірі - тиімді және сенімді векторлар табу. **Басқа**

қиындықтар - жоғары жануарлардың клеткаларының терең дифференциациясы. Өсімдіктерден айырмашылығы, соматикалық клеткалардан толық многоклеткалық организм алу мүмкін емес. Жоғары жануарлардың геномын бағытты түрде өзгерту үшін, зигота немесе ерте эмбриондарға клонирленген эукариоттық гендер енгізіледі. Трансгендік жануарлар дегеніміз - геномына шеткі гендер интеграцияланған жануарлар.

(Клонирлеу - бұл бактериалды клеткада рекомбинантты ДНҚ молекулаларын көбейту процесі.)

Өзін-өзі тексеру сұрақтары:

1. Нуклеин қышқылдары дегеніміз не және олардың функциялары қандай?
2. Рестриктаза, ДНҚ-лигаза, вектор, реципиент, плазмида дегеніміз не?
3. Трансгендік өсімдіктер мен жануарларды алу технологиялары қандай?