

Дәріс. Клеткалық селекция негізінде өсімдіктердің жаңа сорттарын шығару

Жоспар:

- **Өсімдіктердің гендік инженериясы.**
- **Гендік инженерияның мүмкіндіктері**
- **Өсімдіктердің стрестік факторларға төзімділігін арттыру әдістері**
- **Өсімдіктердің гербицидтерге төзімділігін арттыру әдістері.**

## " Өсімдіктердің гендік инженериясы. Гендік инженерияның мүмкіндіктері

- Трансгенді өсімдіктер алғаш рет **1983 жылы** (темекіге микроорганизм генін енгізу арқылы) алынды.
- **1986 жылы** АҚШ-та вирусты инфекцияға төзімді темекінің трансгенді түрі алынды.
- **1994 трансгенді** өсімдіктердің мутагендік, токсикалық, аллергенді т.б. қасиеттерін анықтау нәтижесінде, осы өсімдіктерден тағамдық өнімдер алына басталды.
- Мәселен, "Calgen" фирмасы *кеш пісетін қызанақты Flavr Savr* сортын шығарды,
- "Monsanto" серіктестігі гербицидке төзімді *қытай бұршағын* шығарды.
- Бір-екі жылдан кейін биотехнологиялық фирмалар саудаға ГМӨ (*қызанақ, бұршақ, картоп, темекі, қытай бұршағы, рапс, кәді (кабачки), шалған (редис), мақта*) ұсынды.

➤ Бүгінгі таңда дүние жүзінде ГМӨ алу және оларды зерттеу жұмыстарымен жүздеген коммерциялық фирмалар айналысады.

➤ Олардың жалпы капиталы жүз миллиард доллар құрайды.

➤ **1999 ж.** трансгенді өсімдіктер **40 млн. га егілді**, бұл **Ұлыбританияның** алып жатқан аймағынан да асып түседі.

➤ **АҚШ**-та генетикалық модификациялан өсімдіктер (**GM Crops**)

✓ жүгері мен қытай бұршағы егін алқаптарының **50 %**,

✓ **мақта** егін алқабының **30-40%** құрайды.

➤ Бұл өсімдіктердің гендік-инженерлік биотехнологиясы адам рестурстары мен финанстық ағымдарды қызықтыратын тағам өндірісінің маңызды саласының бірі болып табылатындығын дәлелдейді.

➤ Келешекте трансгенді өсімдіктердің егін алқаптары анағұрлым кеңейеді деген болжам бар.

- Трансгенді өсімдіктерді алудың

Бірінші толқыны  
өсімдіктердің әр  
түрлі ауруларға,  
гербицидтерге, түрлі  
стрестік факторларға  
төзімді және сақталу  
уақытын ұзарту т.б.  
қасиеттерін арттыру  
мақсатта жасалған.

Ал қазіргі  
трансгенді  
өсімдіктерді алудың  
екінші толқыны  
*"метаболиттік  
инженерия"* деп  
аталады.

- Метаболиттік инженерияның мақсаты мен міндеттеріне өсімдіктерде бар қасиеттерін жақсартумен қатар, **өсімдікте жоқ қасиеттерді**, мәселен медицинада, химиялық және т.б. өндіріс салаларында қолданылатын жаңа қосылыстарды синтездейтін трансгенді өсімдіктерді алу көзделген.

- Жаңа қосылыстарға:
  - ✓ ерекше май қышқылдары,
  - ✓ алмаспайтын амин қышқылдарға бай пайдалы белоктар,
  - ✓ модификацияланған полисахаридтер,
  - ✓ жеуге болатын вакциналар,
  - ✓ антиденелер,
  - ✓ интерферондар
  - ✓ т.б. "дәрілік" белоктар,
  - ✓ қоршаған ортаны ластамайтын жаңа полимерлер т.б. жатады.
- Трансгенді өсімдіктерді қолдану масштабты және арзан өндірісті дамытып, олардың қолданысын барынша арттыруға мүмкіндік тудырады.

- Қор ретінде жинақталатын белоктардың сапасын арттыру.
- Негізгі мәденилендірілген өсімдіктердегі қор ретінде жинақталатын **белоктар туыстық жағынан жақын** гендермен кодталады.
- Дәндегі белоктардың жинақталуы-күрделі биосинтетездік процесс болып табылады.
- **1983 жылы** АҚШ-та Д.Кемп пен Т. Холл бір өсімдіктің қасиетін екінші өсімдіктің қор ретінде жинақталатын белок генін ендіру арқылы жақсарту мақсатында алғашқы ген-инженерлік ізденіс жұмыстарын жасады.

- Бұршақтың *фазеолин* генін Ті-плазмида арқылы күнбағыс геномына ендіріп, нәтижесінде химералы өсімдік *санбинді* алады.
- Санбин өсімдігінің клеткаларында иммунологиялық туыстық жағынан *фазеолинді полипепттер* табылған, бұл әр түрлі тұқымдастарға жататын өсімдіктерден өзара гендерін ендіруге болатындығын дәлелдеген.
- Кейінен *фазеолин* гені темекі геномына ендірілген, нәтижесінде регенерант - өсімдіктің барлық ұлпаларында аз мөлшерде геннің экспрессиялануы байқалған.



- Жоғарыда айтылған өсімдіктердегі *фазеолин* генінің экспрессиясы бұршақтың пісіп жетілген тұқым жарнағындағы *фазеолин* генінің экспрессиясынан төмен болды. Яғни, бұршақтың тұқым жарнағындағы *фазеолин* мөлшері жалпы белок мөлшерінің 25—50 % құрады.

- Бұл химералық өсімдіктерді құрастыру барысында **фазеолин** **генінің** экспрессиялануы, оның басқа да регуляторлық сигналдарының сақталуынан және өсімдіктің онтогенез процесіндегі гендердің экспрессиясының бақылануынан тәуелді екенін айқындайды.

- Жүгерідегі қор ретінде жинақталатын белок **зеиннің** генін Т-ДНҚ арқылы күнбағыс геномына ендірілген. Ол үшін агробактерия штаммын қолданған, оның Ті-плазмидасына зеин геномын ендіріп, күнбағыстың сабағына енгізіп ісік тудырған.
- Түзілген бірқатар ісікте жүгері генінен синтезделетін мРНҚ табылған, бұл дара жарнақты өсімдіктердің генінің транскрипциясы қос жарнақтыларда жүзеге асатындағын дәлелейді. Әйтсе де зеин белогы күнбағыс өсімдігінің ұлпаларында түзілмейтіні байқалған. Осыған байланысты гендік инженерияда белок құрамына кіретін амин қышқылдарының құрамын жақсарту мақсаты алға қойылған.

- Астық тұқымдастарының қор белоктарында - лизин, треонин, триптофан, ал бұршақ тұқымдастарының қор белоктарында - метионин мен цистеин жеткіліксіз болады. Белоктардың құрамын жеткіліксіз амин қышқылдарымен байыту амин қышқылдық дисбалансты жоюға мүмкіндік береді.
- Дәстүрлі әдістер арқылы астық тұқымдастардағы белоктарды **ЛИЗИНМЕН** байыту жүзеге асырылған. Бұл жағдайда проламиндерді (астық тұқымдастардың спиртке еритін белоктары) құрамы лизинге бай басқа белоктармен алмастырылған.
- Әйтсе де ондай өсімдіктердің дәндері майдаланып, түсімі төмендеген. Осыған орай, ғалымдар проламиндер дәннің дұрыс қалыптасуына қажет және оларды басқа белоктармен алмастыру, өсімдік түсіміне кері әсер ететін деген тұжырым жасаған.  
*Сондықтан, осы мәселелермен айналысатын ғалымдар қор ретінде жинақталатын белоктардың сапасын арттыру үшін құрамнда **лизин мен треониннің** жоғары мөлшерімен ерекшеленбейтін, бірақ дәндердің қалыптасуы кезінде проламиндерді жартылай алмастыра алатын белоктарды іздестіру көзделген.*

- Өсімдіктер жануарлардың белоктарын синтездей алатын қасиетке ие. Мәселен *Arabidopsis thaliana* және *Brassica napus* өсімдіктердің геномдарына химералық генді (құрамы арабидопсистың қор белогының 25 — гені мен нейропептид — энкефалинді кодтайтын бөліктен тұрады) ендіру нәтижесінде химералық белок синтезі (1 г дәнде 200 нг) жүзеге асқан. Тізбектеліп байланысқан екі құрылымдық белоктың домендерін трипсин танитындықтан, энкефалинді таза күйінде тазартуға болатындығы іс жүзінде дәлелденген.

- Иммуноглобулин гамма-суббөлігінің гені бар трансгенді өсімдікті иммуноглобулин қаппа-суббөлігінің гені бар трансгенді өсімдікпен бұдандастыру нәтижесінде алынған ұрпақта бастапқы екі өсімдіктегі гендердің экспрессиялануы жүзеге асқандығын байқаған. Нәтижесінде өсімдікте *антидене* түзілген, оның мөлшері жапырақ белоктарының жалпы мөлшерінің 1,3% құраған.
- Сондай-ақ, темекі өсімдігінде функционалды секрециялық *моноклоналды иммуноглобулиндер* жинақталатыны айқындалған. Секрециялық иммуноглобулиндер әдетте адам және жануарлардың ауыз қуысы мен асқазанында бөлініп, ішек инфекцияларының алғашқы тосқауы болып табылады.

• Жоғарыда айтылған жұмыстардың нәтижесінде өсімдіктерден тіс жегін тудыратын *Streptococcus mutans* – бактериясына қарсы моноклоналды антиденелер алынған. Келешекте осындай трансгенді өсімдіктер түзетін моноклоналды антиденелерді қолдану арқылы тіс жегісіне қарсы тіс пасталарын алу өндірісі дамиды деген болжам бар. Медицинада қолданылатын басқа да жануарлардың белоктарын, мәселен  $\beta$ -интерферонды да трансгенді өсімдіктерден алу мүмкіндігі бар. Сондай-ақ, трансгенді өсімдіктер арқылы алынған бактериалық антигендерді вакциналар алуға қолдану жолы алға қойылған. Мәселен, тырысқақтың (холера) уыдты емес  $\beta$ -токсин суббөлігінің олигомерін синтездейтін картоп алынған. Оны тырысқақ ауруына қарсы арзан вакцина алуға қолдану мүмкіндігі зор.

- **Майлар.** Әр түрлі химиялық заттарды алуың маңызды шикі заттардың бірі өсімдік майының негізгі компоненті - ораганикалық май қышқылдары болып табылады. Олар түрлі физикалық және химиялық қасиеттерге ие, құрылымы жағынан ұзындығы мен көміртектік байланысының қаныққын дәрежесіне қарай көміртек тізбектерінен тұрады. Өсімдіктер құрамындағы органикалық май қышқылдарының құрамын өзгерту, жақсарту мақсатында көптеген ғылыми —зерттеу жұмыстары жүргізілуде. Оның айғағы ретінде төмендегі мысалды қарастыруға болады. болады.



- 1995 жылы АҚШ федералдық билігі *май құрамы өзгертілген, құрамында лаурат май қышқылы бар трансгенді рапс өсімдігін* өсіруге және коммерциялық мақсатта пайдалануға ресми түрде рұқсат берген. Бүгінгі күні трансгенді рапстан алынатын май өндірісте (**жуғыш заттар, шаш майлар, косметика**) кеңінен қолданылады. Тәжірибелік жұмыстарда дәнінде 70% лаурат синтезделетін *Umbellularia californica* өсімдігінің тиоэстераза ферментінің генін қолданған.
- Осындай ізденіс жұмыстарының нәтижесінде келешекте өсімдіктерде органикалық май қышқылдарын жан-жақты зерттеп, олардың синтезін басқару нәтижесінде алынған шикі заттарды өндіріс саласында кеңінен қолдануға (детергенттер, косметика, кондитерлік өнімдер, майлағыш материалдар, дәрі –дәрмектер, полимерлер, дизель отыны, т.б. заттар)

**Полисахаридтер.** Бүгінгі таңда картоптың және басқа да крахмал жинақтаушы өсімдіктердің трансгенді түрлерін алу жұмыстары қарқынды жүзеге асырылуда.

Ондай трансгенді өсімдіктерде крахмал амилопектин (крахмалдың тарамдалған) түрінде жинақталады немесе амилаза (сызықты формалы) жинақталады.

Амилопектиннің судағы ерітіндісі **сұйық және мөлдір**, ал амилозаның судағы ерітіндісі қоймалжың гель түрінде болады. Осыған орай, қазіргі кезде тағам өндірісінде қолданылып жүрген модификацияланған крахмал орнына **амилопектин** түріндегі крахмал үлкен сұранысқа ие болады деген болжам бар. Пластидтер мен митохондрияларын да гендік модификациялауға болады.

• **Гербицидке төзімді өсімдіктер.** Гербицидтер арам шөптердің өсуін тежеумен қатар мәденилендірілген өсімдіктердің өсуін тежейтіні белгілі. Бүгінгі таңда қолданылатын жоғары эффективті гербицидтерге – глифосат және атразиндер жатады. Бүгінгі күні кеңінен қолданылатын атразинге төзімді өсімдіктердің биотиптері табылған.

• Олардың гербицидтерге төзімділік механизмдерін зерттеу арқылы гендік инженерия әдісінің негізінде мәденилендірілген өсімдіктердің гербицидтерге төзімді түрлерін шығару көзделіп отыр.

• Бұл зерттеулерге төмендегідей сатылар кіреді:

➤ өсімдік клеткасындағы гербицидтердің биологиялық нысандарын айқындау:

➤ гербицидтерге төзімді организмдерді сұрыптап алу және оларды гендер көзі ретінде пайдалану,

➤ гендерді клондау,

➤ оларды өсімдіктерге ендіру және олардың функционалдық қасиеттерін зерттеу.

- Өсімдіктердің гербицидтерге төзімділігін арттыратын 4 механизмі бар.
- Олар: транспорттық, элиминациялық, регуляциялық және байланыстық.
- **Транспорттық** - гербицидтің клеткаға ене алмау механизмі;
- **Элиминациялық** – клеткаға енген гербицид клетканың ішінде түзілетін факторлармен, яғни, деградациялаушы ферменттермен бұзылуы, сондай-ақ, клеткада гербицидтер модификацияланып қауіпсіз қосылысқа айналуы.
- **Регуляциялық** – клетканың резистентті белогы немесе ферменті гербицидтің әсерімен ырықтанып, көп мөлшерде синтезделіп, клеткадағы дефицитті метаболитты синтездеу.
- **Байланыстылық** механизмі гербицид нысанмен (белок или фермент), әрекеттескенде, соңғылардың құрылыстарының өзгеруі.

- *Гербицидке төзімділік қасиеті моногенді болып табылады, яғни бір генмен ғана орындалады.*
- Бұл гендік инженерия әдістері арқылы гербицидке төзімді өсімдіктерді алуға көптеген жеңілдіктер тудырады.
- Дәстүрлі селекциялық әдістермен гербицидтерге төзімді сорттарды алу өте ұзақ және оң нәтижелі бола бермейді.
- Шет елде гербицид *глифосат* (коммерциялық аталуы Roundup) кең қолданысқа ие. Глифосат 5-енолпирувилшикимат-3-фосфатсинтаза (EPSPС-синтаза) ферментіне әсер етіп маңызды ароматтық амин қышқылдарының синтезін тежейді. Глифосатқа төзімді өсімдіктерден EPSPС-синтаза гені бөлініп алынған және бірқатар өсімдіктердің (петунья, түсті қырық қабат) осы гербицидке төзімділігі арттырылған. Атразин – ФЖ II белоктарымен байланысып, электроандардың тасымалдануын тоқтатады, осының салдарынан өсімдіктің фотосинтезі тежеледі. Бұл гербицидке төзімді химералы өсімдіктер алынған.

- **Өсімдіктердің стрестік жағдайларға төзімділігін арттыру**
- Өсімдіктерге қоршаған ортаның қолайсыз жағдалары: жоғарғы және төмен температура, ылғалдың жетіспеушілігі, топырақтың тұздылығы, ортаның шектен тыс газдануы, топырақта кейбір минералды заттардың шектен тыс артуы т.б. толып жатқан факторлар әсер етеді. Өсімдіктердің осы факторлардың зиянды әсерлерінен түрлі физиологиялық қасиеттер мен құрылымдық бейімделуі арқылы қорғанады. Өсімдіктің белгілі бір қолайсыз факторға төзімділігі бірнеше гендер жиынтығымен басқарылады. Сондықтан бір өсімдіктен екінші өсімдікке ген инженериясы әдісімен генді ендіру арқылы оның қолайсыз факторларға бейімделу қасиетін арттыру, яғни толеранттық қасиетін толық арттыру мүмкін емес. Әйтсе де ген инженериясында өсімдіктің қолайсыз орталарға төзімділік қасиетін арттырудың белгілі бір мүмкіндіктері бар. Яғни, стрестік жағдайларда өсімдіктің метаболиттік жауап реакциясын бақылайтын жеке гендермен жұмыс жасау мүмкіндігін айтуға болады. Мысалы, *осмостық шок және топырақтың тұздануы жағдайында пролиннің көп мөлшерде синтезделуі, жылу шоғы кезінде ерекше белоктардың синтезі т.б.* Келешекте өсімдіктің қолайсыз орта факторларына жауап реакцияларының биохимиялық, физиологиялық және генетикалық негіздерін терең зерттеу нәтижесінде, гендік инженерия әдістерін қолданып төзімді өсімдіктер түрлерін құрастыру мүмкіндігі зор болады.

- Бүгінгі күні *Pseudomonas syringae* микроорганизмін қолдану арқылы **өсімдіктердің суыққы төзімді** түрлері алынған.
- *Pseudomonas syringae* микроорганизмі өсімдіктермен селбесіп өмір сүреді, ол өсімдіктерді ерте үсікке шалдықтырады.
- Микроорганизм клеткалары ерекше **белок синтездейді**, соңғылары өсімдік клеткаларының сырқы мембраналарында шоғырланып, мұздың кристаллдану орталығы болып табылады.
- Өсімдіктің түрлі мүшелерінде (жапырақ, сабақ, тамыр) мұздың кристаллдануын тудыратын белок ерте үсікке сезімтал өсімідік ұлпаларын зақымдайды.
- Зерттеу жұмыстары нәтижесінде, осы микрооргананаизмнен таза өсімдіктер  $-6-8^{\circ}\text{C}$  ерте үсікке шалдықпайтыны, ал микроорганизмі бар өсімдіктер  $-1,5-2^{\circ}\text{C}$  ертте үсікке шалдығатыны байқалған.
- Сондай-ақ, **мұз кристалдарын тудыратын белокты синтездеу қабілетінен айырылған *Pseudomonas syringae* бактерияларының мутанттарының микрофлорасы бар өсімдіктер үсікке төзімді келетіні** айқындалған.