

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

სადოქტორო პროგრამა „ქიმია“

დოქტორანტურის მე-3 სემესტრის სტუდენტი

ლია კარადურმუშ

დოქტორანტის სემინარი 2

თემაზე:

“გენმოდიფიცირებული ორგანიზმები“

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

გიორგი ჯიბუტი

თბილისი

ივლისი, 2020

ანოტაცია

გენმოდოფიცერული ორგანიზმი არის ისეთი ცოცხალი ორგანიზმი, რომლის გენეტიკური მასალა შეცვლილია თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის, გენური ინჟინერიის მეთოდების გამოყენების გზით (ანუ არაბუნებრივი მეთოდებით). გენური მოდიფიცირების შესაძლებლობა გასული საუკუნის 70-იან წლებში იქნა აღმოჩენილი და დღესდღეისობით ეს სფერო საკმაოდ განვითარებული და კარგად შესწავლილია. გენური მოდიფიცირება შესაძლოა განიცადოს ნებისმიერმა ცოცხალმა ორგანიზმმა, ეს იქნება მცენარე, ცხოველი თუ მიკროორგანიზმი. ბოლო წლებში შემუშავებული იქნა ე.წ „გენური თერაპია“, რომელიც მედიცინაში ადამიანთა გარკვეული გენეტიკური პათოლოგიების სამკურნალოდ გამოიყენება. გენურ ინჟინერიას ამ კუთხით თუ განვიხილავთ, გამოდის რომ მათ შორის ადამიანზეც დასაშვებია გენური ინჟინერიის განხორციელება.

გენური ინჟინერიის მიზანი არის, მოცემული ცოცხალი ორგანიზმისთვის რაიმე ახალი თვისების/ების მინიჭება ან პირიქით, რაიმე თვისების/ების დათრგუნვა, ბუნებრივია „გაუმჯობესების“ მოტივით. სწორედ ამიტომ გენეტიკურად მოდიფიცირებული ორგანიზმი განსხვავდება მისი ბუნებრივი (საწყისი) ანალოგისგან.

თავდაპირველად, პროდუქტის წარმოებას გენური ინჟინერიის გზით, მეტად ჰუმანური მიზნით ხსნიდნენ: -უნდა გადაჭრილიყო მსოფლიოში სურსათით უზრუნველყოფის საკითხი და დაძლეულიყო შიმშილი. მათი მასობრივი წარმოება დაიწყო გასული საუკუნის 90-იან წლებში, და აქტუალურ დროში მიიღო არნახული მასშტაბები. განვითარებულ ქვეყნებში მკაცრად კონტროლდება და იკრძალება გენმოდოფიცირებული პროდუქტის და მცენარის თესლის ბაზარზე მოხვედრა, რადგან მრავალმა კვლევამ აჩვენა, რომ გენმოდოფიცირებული პროდუქტების საკვებად გამოყენებამ შესაძლოა სერიოზული ზიანი მიაყენოს ადამიანის ჯანმრთელობას. თუმცა ამ კუთხით მეცნიერთა და მკვლევართა აზრი ორად იყოფა.

გენურ ინჟინერიას ჰყავს როგორც მოწინააღმდეგეები ასევე ბევრი მომხრეც.

Annotation

A genetically modified organism is any organism whose genetic material has been altered by the use of modern biotechnology, genetic engineering methods (i.e., unnatural methods). The possibility of genetic modification was discovered in the 70s of last century and today this field is quite developed and well-studied. Genetic modification can be experienced by any living organism, be it a plant, an animal or a microorganism. In recent years, the so-called "gene therapy" has been developed, which is used in medicine to treat certain genetic pathologies in humans. If we consider genetic engineering in this regard, then it means genetic modification is also possible for humans.

The goal of genetic engineering is to impart some new traits to a living organism or, conversely, to suppress certain traits, naturally with the motive of "improvement." This is why a genetically modified organism differs from its natural (initial) analogue.

Initially, the production of the product through genetic engineering was explained in a very humane way: - The issue of food security in the world had to be resolved. Their mass production began in the 1990s, and gained unprecedented scale in the current time.

Developed countries strictly control and prohibit the entry of genetically modified products and plant seeds into the market, as many studies have shown that the use of genetically modified products can cause serious harm to human health. However, the opinion of scientists and researchers in this regard is divided. Genetic engineering has both, opponents and proponents.

1. ზოგადი ინფორმაცია გენმოდულიზაციის ორგანიზმთა (გმო) შესახებ

გენმოდულიზაციის ორგანიზმი (გმო) არის ისეთი ცოცხალი ორგანიზმი, რომლის გენეტიკური მასალა (დნმ) შეცვლილია ლაბორატორიული (გენური ინჟინერიის) გზით. ერთ ორგანიზმში ჩაშენებულია სხვა ორგანიზმის გენი, რაც ბუნებრივ პირობებში შეუძლებელია. ასე მაგალითად, შესაძლებელია მცენარის გენში ცხოველის გენის (დნმ-ის) გადანერგვა, ან ერთი ცხოველის გენეტიკური მასალის გადანერგვა სხვა სახეობის ცხოველის უჯრედის ბირთვში. ეს პროცესი განსხვავდება მცენარეებისა და ცხოველების ახალი ჯიშების მისაღები - შერჩევითი გამოყვანისგან, რადგან, გენური ინჟინერიის დროს მოლეკულურ დონეზე ხდება გენში ჩარევა. ხოლო ახალი ჯიშების შერჩევითი გამოყვანა, ეს ხელვნურად ინიცირებული მაგრამ ბუნებრივად (თავისთავად) მიმდინარე პროცესია, ამ დროს შვილეული ორგანიზმი თანაბრად შეიცავს საწყის ორგანიზმთა დნმ-ს.

გენმოდულიზაციის ორგანიზმი თავისი საწყისისგან განსხვავდება გარკვეული თვისებით/თვისებებით. კონკრეტულად, გენის შეცვლის გამო შეძენილი აქვს ახალი თვისება/ები ან პირობით, რომელიმე ბუნებრივი (საწყისი) თვისება/ები აქვს დათრგუნული. სწორედ ეს არის გენური ინჟინერიის იდეა, რომ მოხდეს სასურველი ცვლილება თვისებების მხრივ. მარტივ მაგალითად განვიხილოთ გენმოდულიზაციის სიმინდი, ის უფრო მდგრადია მავნებელი მწერების მიმართ, ასევე მდგრადია ქარიანი და ცივი ამინდების მიმართ, უფრო პროდუქტიულია და ა.შ.

გენმოდულიზაციის პროდუქტები მრავალნაირია. ვინაიდან გენის მოდიფიცირება შესაძლებელია ნებისმიერ ცოცხალ ორგანიზმში, ეს იქნება ცხოველი, მცენარე თუ მიკროორგანიზმი, მათგან წარმოებული პროდუქტების სია კიდევ უფრო მრავალფეროვანია. მაგალითად საკვები პროდუქტები, სოფლის მეურნეობის პროდუქტები, წამლები, ვაქცინები და ა.შ. ბოლო დროს განვითარდა ე.წ. „გენური თერაპია“. ეს მეთოდი გამოიყენება ადამიანებში არსებული გენური პათოლოგიების სამკურნალოდ [1]. გენური თერაპიის დროსაც მოლეკულურ დონეზე ხდება ჩარევა, გენის „ამოკვეთა, შეცვლა, ჩანაცვლება. ასე, რომ ფაქტიურად გენური ინჟინერია

ვრცელდება არა მარტო ცხოველებზე, მცენარეებსა და მიკროორგანიზმებზე, არამედ მათ შორის ადამიანებზეც, უბრალოდ სხვა კუთხითა და სხვა მიზნებით.

გასული საუკუნის 90-იანი წლებიდან საკმაოდ აქტიურად და მასშტაბურად დაიწყო გმ-პროდუქტების* წარმოება, გავრცელება და გამოყენება [2]. მოგვიანებით ჩატარებულმა კვლევებმა დავის საგნად აქცია გენმოდირეცირებული პროდუქტების საკვებად გამოყენება. მეცნიერთა და მკვლევართა ერთი ნაწილის აზრით გმ-პროდუქტები უარყოფითად მოქმედებს ადამიანების ორგანიზმზე, საფრთხეს უქმნის ჩვენს ჯანმრთელობას, რადგან იწვევს ბევრ სხვადასხვა დაავადებას. ამ თვალსაზრისით განსაკუთრებულ სიფრთხილისკენ მოუწოდებენ ორსულებს, მეძუძურ დედებს და ჩვილ ბავშვებს. ამავდროულად, მეცნიერთა და მკვლევართა მეორე ნაწილი თვლის, რომ გმ-ორგანიზმები არ წარმოადგენს დამატებით საფრთხეს ადამიანის ჯანმრთელობისათვის.

დღესდღეისობისთ, გენმოდირეცირებული პროდუქტები არის გავრცელებული თითქმის ყველგან, მაგრამ განვითარებულ ქვეყნებში მკაცრად კონტროლირდება მათი შესაბამისობა საერთაშორისო სტანდარტებთან. თუკი პროდუქტი აკმაყოფილებს ამ სტანდარტებს, მაშინ ის დაიშვება გასაყიდად და მოსახმარად. სამწუხაროდ ზოგიერთ ქვეყნებში გმ-პროდუქტები კონტროლის გარეშეც ვრცელდება [3].

**გმ-პროდუქტები - ისეთი პროდუქტებია რომელთა წარმოებისთვისაც გამოყენებულია გმო.*

2. გმო-ს მოკლე ისტორია

გენის მოდიფიცირების ტექნიკები, აღმოჩენილ იქნა გასული საუკუნის (XX) 70-იან წლებში. პირველი გენური მოდიფიცირებია და ტრანსგენური ორგანიზმების პირველი პრაქტიკული გამოყენება განხორციელდა ბაქტერიების გამოყენებით, კონკრეტულად 1973 წელს, როდესაც ჰერბერთ ბოიერმა და სტენლი კოჰენმა შექმნეს

პირველი გენმოდიფიცირებული ორგანიზმი. ეს ანტიბიოტიკ კინამიცინის მიმართ რეზისტენტული ბაქტერია იყო. ბაქტერიები წარმოადგენენ ერთუჯრედიან ორგანიზმებს წრიული დნმ-ს ჩანართებით. რომელთაც პლაზმიდები ეწოდება. სწორედ პლაზმიდებში ხდება დნმ-ს ჩართვა სხვა ორგანიზმიდან სპეციფიკური ფერმენტების, რესტრიქციული ენდონუკლეაზების მეშვეობით. როდესაც დნმ რეპლიცირდება, ახალი ბაქტერია, რომელიც შეიცავს რეკომბინანტულ დნმ-ს, შეიძენს სასურველ ნიშან-თვისებას [2].

1974 წელს წარმატებით დასრულდა რუდოლფ იაენიშის მცდელობა შეექმნა გენმოდიფიცირებული თაგვი. ეს იყო პირველი გმ-ცხოველი. ტრანსგენული ტექნოლოგიები მუშავდებოდა და სრულყოფილი ხდებოდა ლაბორატორიულ თაგვებზე. 1980-იანი წლების დასაწყისიდან თაგვების სხვადასხვა ხაზში შეყვანილ იქნა ასობით გენი. ტრანსგენურმა თაგვებმა თავისი როლი ითამაშეს სამკურნალო ნივთიერებების მსხვილმასშტაბიანი შესაძლებლობების გამოკვლევაში, აგრეთვე ისეთი ტრანსგენური ხაზების შექმნაში, რომლებიც ადამიანის სხვადასხვა გენეტიკური დაავადების მოდელირების საშუალებას იძლეოდა.

გენური ინჟინერიის კიდევ ერთი პირველი გამოყენება ადამიანის ინსულინის წარმოება იყო (1978 წელს). ინსულინი წარმოიქმნება ადამიანის სხეულში და არეგულირებს ნახშირწყლების მეტაბოლიზმს. მისი უკმარისობის შედეგად ვითარდება დაავადება, რომელსაც დიაბეტი ეწოდება. დღესდღეისობით უამრავ ადამიანს აქვს ეს დაავადება, და მკურნალობის ჩატარებლობის შემთხვევაში იწვევს სიკვდილს ადრეულ ასაკშივე.

როდესაც ინსულინი პირველად აწარმოეს სამკურნალო პრეპარატის სახით, მისი მიღება განხორციელდა რქოსანი პირუტყვის პანკრეასიდან, მაგრამ ამ გზით მიღებული ინსულინის ოდენობა არ აკმაყოფილებდა მასზე მოთხოვნებს და აგრეთვე იყო მაღალი თვითღირებულების. გარდა ამისა, ამ გზით მიღებული ინსულინი არ იყო ადამიანის ინსულინის ზუსტი ანალოგი, რის გამოც მრავალ პაციენტს ჰქონდა მასზე ალერგია და უკუჩვენებები. გენების სპლაისინგის განვითარებასთან ერთად

მოგვარდა ცხოველური ინსულინის გამოყენებასთან დაკავშირებული პრობლემებიც. მეცნიერებმა მოახერხეს დნმ-ს თანმიმდევრობის გამოყოფა, რომელიც ადამიანის სხეულში ინსულინის წარმოქმნას არეგულირებდა. ამის შემდეგ მოახდინეს ამ სეგმენტის სპლაისინგი ბაქტერია E.coli-ს დნმ-ში. კონკრეტულად ამ ბაქტერიის შერჩევა იმან განაპირობა, რომ ის ფართოდაა გავრცელებული და ბინადრობს ადამიანის ნაწლავში. მეცნიერებმა, საჭირო გენთა თანმიმდევრობა ადამიანის დნმ-დან ამოიღეს და გადანერგეს ბაქტერიულ უჯრედში. ასეთი გენეტიკურად მოდიფიცირებული ბაქტერია გამრავლების შედეგად იძლევა ადამიანის ინსულინის შემცველ ბაქტერიებს. გმ-ბაქტერია უფრო სუსტია ვიდრე მისი ბუნებრივი ანალოგი, ამიტომ გასამრავლებლად იგი საჭიროებს განსაკუთრებულ, მუდმივ კონტროლირებად პირობებს. პროცესში, რომელსაც ეწოდება - ფერმენტაცია, ბაქტერიები წარმოიქმნება უამრავი რაოდენობით. ისინი მრავლდებიან და იზრდებიან ზუსტად განსაზღვრულ კვების პირობებსა და საარსებო გარემოში. გარკვეული დროის შემდეგ მოხდება ბაქტერიების შეგროვება ფერმენტატორებიდან და ინსულინის გასუფთავება. გმ-ბაქტერიების შენახვა უფრო იაფია, ვიდრე ინსულინის გამოყოფა ცხოველებისაგან. რაც მთავარია ამ გზით მიღებული ინსულინი სრულიად უზრუნველყოფს მასზე მთხოვნილებას.

1986 წელს, საფრანგეთსა და აშშ-ში მეცნიერები მუშაობდნენ პირველი გენმოდიფიცირებული მცენარის შექმნაზე, ეს იყო ჰერბიციდების მიმართ მედეგი თამბაქო. 1992 წელს კი ჩინეთმა პირველმა დაიწყო ვირუს-გამძლე თამბაქოს კომერციალიზაცია.

1994 წელს კალიფორნიულმა კომპანიამ „Calgene“-მ FDA-სგან (Food and Drug Administration) მიიღო უფლება გაყიდვაში გაეშვა პირველი გენმოდიფიცირებული პროდუქტი, ეს იყო გენმოდიფიცირებული პომიდორი, ე.წ. „FLavr Savr Tomato“, რომელიც უფრო დიდი ხანი ინახებოდა ვიდრე ჩვეულებრივი, ბუნებრივი პომიდორი.

3. დნმ

დნმ ანუ ვრცლად დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა ეს არის ბიოპოლიმერი, მაკრომოლეკულა, რომელიც უზრუნველყოფს ცოცხალი ორგანიზმების განვითარებისა და ფუნქციონირების გენეტიკური მასალის შენახვას, თაობიდან თაობაზე გადაცემასა და რეალიზებას. ცოცხალი ორგანიზმის უჯრედში, დნმ-ის გარდა კიდევ ორი მაკრომოლეკულაა, ერთი არის რნმ (რიბონუკლეინის მჟავა) და მეორეა ცილა. ანუ ჯამში სამი მაკრომოლეკულა. აქედან დნმ და რნმ არის ნუკლეინის მჟავები. (სურ.1) [4, 5]

დნმ შეიცავს ინფორმაციას რნმ და ცილების სხვადასხვა სტრუქტურების შესახებ. დნმ ცოცხალი ორგანიზმის გენეტიკური მასალის - ქრომოსომების ძირითადი შემადგენელი ნაწილია. ცხოველების, მცენარეების და სოკოების შემთხვევაში, დნმ მოთავსებულია უჯრედის ბირთვში.

ქიმიური თვალსაზრისით, დნმ (ასევე რნმ) ეს არის ბიოპოლიმერი (გრძელი მოლეკულა), რომელიც შედგება ნუკლეოტიდებისაგან. ანუ ნუკლეოტიდი მონომერია. თავის მხრივ, თითოეული ნუკლეოტიდი შედგება სამი ძირითადი კომპონენტისგან:

- 1) ხუთ ნახშირბადატომიანი შაქარი (დეზოქსირიბოზა - $C_5H_{10}O_5$);
- 2) ფოსფატური ჯგუფი;
- 3) აზოტოვანი ფუძე.

ჯაჭვში ნუკლეოტიდებს შორის ბმა წარმოიქმნება დეზოქსირიბოზას და ფოსფატური ჯგუფების ხარჯზე. უმეტეს შემთხვევაში დნმ მოლეკულა შედგება ორი ჯაჭვისაგან, რომლებიც ერთმანეთთან ორიენტირდებიან აზოტოვანი ფუძის მეშვეობით. ეს ორჯაჭვიანი მოლეკულა სპირალიზებულია. ასეთი სტრუქტურიდან გამომდინარე დნმ-მა მიიღო სახელწოდება „ორმაგი სპირალი“. (იხ. სურ. 1)

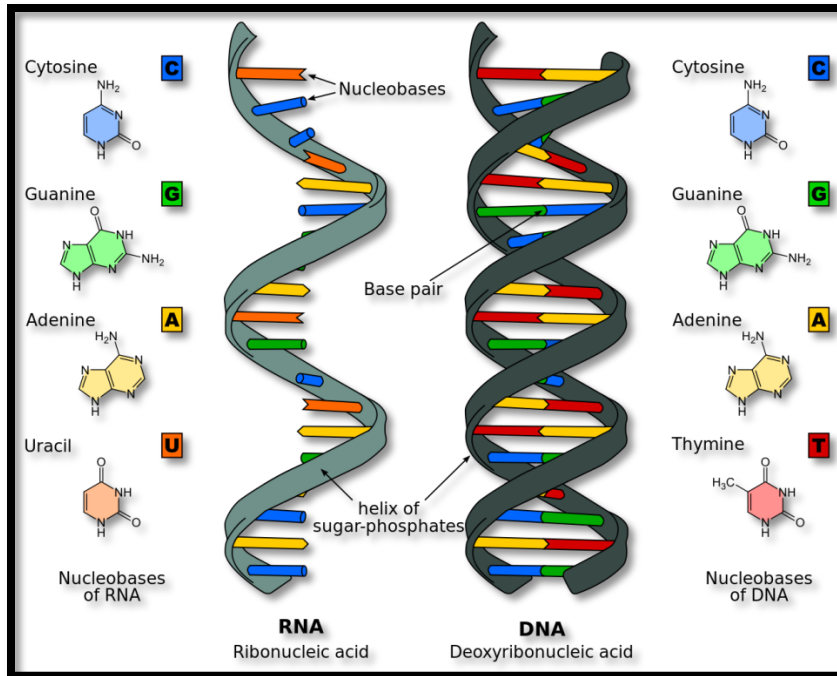
დნმ-ში გვხვდება აზოტოვანი ფუძეების ოთხი სახე: ადენინი, გუანინი, თიმინი და ციტოზინი. ერთი ჯაჭვის აზოტოვანი ფუძეები მეორე ჯაჭვის აზოტოვან ფუძეებთან დაკავშირებულია წყალბადური ბმებით. კომპლემენტარობის პრინციპის

მიხედვით.ადენინი უკავშირდება მხოლოდ თიმინს, ხოლო გუანინი მხოლოდ ციტოზინს.

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, დნმ-ს აქვს ორმაგი სპირალის სტრუქტურა. თითოეული სპირალი შედგება ნუკლეოტიდების სპეციფიკური თანმიმდევროებისაგან, რომელთა აზოტოვანი ფუძეები მოთავსებულია ცენტრში. სწორედ ნუკლეოტიდების თანმიმდევრობა განსაზღვრავს ორგანიზმში კონკრეტული ნიშან-თვისების გამოვლენას. თითოეულ ორგანიზმში წარმოდგენილია სხვადასხვა ზომის თანმიმდევრობები. ერთი თანმიმდევრობა შესაძლოა იყოს მოკლე და აკონტროლებდეს კონკრეტულ ნიშანს მეორე კი შესაძლოა იყოს უფრო გრძელი და განსაზღვრავდეს განსხვავებულ ნიშან-თვისებას. ცნობილია, რომ უმოკლესი დნმ-ს მოლეკულა ადამიანის ყველაზე მცირე ზომის (21-ე) ქრომოსომაში, დაახლოებით 50 მლნ ნუკლეოტიდს შეიცავს, ხოლო ყველაზე დიდი ზომის (1-ელ) ქრომოსომაში - დაახლოებით 250 მლნ ნუკლეოტიდს.

დნმ-ის სტრუქტურის გაშიფვრა (1953 წ) ბიოლოგიის ისტორიაში ერთ-ერთი გარდამტეხი მომენტი გახდა.ამ აღმოჩენაში შეტანილი მნიშვნელოვანი წვლილისათვის 1962 წელს ფრენსის კრიკს, ჯეიმს უოტსონსა და მორის უილკინსს გადაეცათ ნობელის პრემია ფიზიოლოგიის და მედიცინის დარგში.

რაც შეეხება ტერმინს გენი, იგი ნიშნავს ნუკლეოტიდების განსაზღვრულ თანმიმდევრობას, რომელიც აკონტროლებს ორგანიზმის ნიშან-თვისებას. მაგალითად, ერთი გენი შეიძლება აკონტროლებდეს ცხოველის თმის ფერს, მეორე გენი კი თმის სტრუქტურას. გენები აკონტროლებენ ყვავილების ფერს, ცილების ან ნახშირწყლების შემცველობას თესლში, ზრდასრული მცენარის სიმაღლეს და ა.შ. არ უნდა დაგვავიწყდეს, რომ თავის მხრივ ძალიან მნიშვნელოვანია გარემო ფაქტორებიც, რომლებიც ასევე დიდ როლს თამაშობენ ორგანიზმთა ნიშან-თვისებების ჩამოყალიბებაში. გარემო ფაქტორების გარდა მნიშვნელოვანი საკვები რაოდენობა და ხარისხი, ამინდი, საარსებო პირობები და ა.შ.



სურ. 1 დნმ და რნმ-ის სტრუქტურა

4. რეკომბინანტული დნმ

დნმ-ს რეკომბინაცია არის ერთი გენომის დნმ-ს ჩანაცვლება მეორე გენომის დნმ-ით. დნმ-ს რეკომბინაცია არ არის ახალი გამოგონება. სავარაუდოდ, ის ისეთივე ძველია როგორც თვითონ დნმ. თუმცა, ბუნებაში რეკომბინაცია ხდება მხოლოდ მკაცრად ჰომოლოგიურ დნმ-ს მოლეკულებს შორის და მხოლოდ მაშინ, როცა ეს მოლეკულები ერთსა და იმავე უჯრედში მოხვდებიან. ამიტომ, რომ ბუნებაში რეკომბინაციას ადგილი აქვს მხოლოდ მჭიდროდ დაკავშირებულ სახეობებს შორის და გენეტიკური ინფორმაციის დივერსიფიკაციაზე ზეგავლენა მინიმალურია.

ამის საპირისპიროდ, რეკომბინანტული დნმ-ს ინვიტრო ტექნოლოგია საშუალებას იძლევა გადაილახოს ბუნებრივი გენეტიკური ბარიერები და დნმ-ს რეკომბინაცია განხორციელდეს აბსოლუტურად განსხვავებულ სახეობებს შორის. მეტიც, ახალი დნმ-ს ან გენების თანმიმდევრობის მასპინძელ უჯრედში ჩანაცვლება

უფრო სწრაფია და უფრო ეფექტური, ვიდრე მცენარეთა გამრავლება ტრადიციული მეთოდების გზით (საუბარია შეჯვარებით ახალი ჯიშების გამოყვანაზე).

5. ცოცხალ ორგანიზმში გენის მოდიფიცირების სქემა

ცოცხალ ორგანიზმში გენის მოდიფიცირება საკმაოდ რთული და კომპლექსური პროცესია. ძირითადი სქემა შვიდ საფეხურიანია:

1. ამოცანის / ინტერესის შესაბამისი გენის პოვნა;
 2. ამ გენის „ამოკვეთა“, ანუ ცალკეული სახით გამოყოფა;
 3. მიღებული გენის კლონირება, ანუ მრავალი ასლის შექმნა;
 4. გენის გადატანა (ჩანერგვა) მასპინძელ ორგანიზმში;
 5. გენის ინტეგრაცია მასპინძელ გენომში;
 6. ახალი გენის თვისობრივი გამოვლინება მასპინძელ გენომში;
 7. გამოყვანილი გმო-ს გამრავლება ტრადიციული გზებით;
- (ვინაიდან ახალი გენის მემკვიდრეული გადაცემა მომდევნო თაობებში ჩვეულებრივად ხდება, საკმარისია მხოლოდ გმო-ს გამრავლება).

საკითხი უფრო მარტივად გასაგები რომ გახდეს, განვიხილოთ იგი ერთი კონკრეტული მაგალითის სახით. წარმოვიდგინოთ, რომ მკვლევართა მიზანს წარმოადგენს გენური ინჟინერიით ისეთი სიმინდის გამოყვანა, რომელიც გაუძლებს მავნებლებს [6]. სასურველი შედეგის მისაღწევად, მათ შემდეგი საფეხურები უნდა გაიარონ:

1. პირველ რიგში, მკვლევარებმა უნდა იპოვონ სასურველი თვისების მატარებელი ცოცხალი ორგანიზმი. ჩვენს მაგალითში სასურველი თვისებაა მავნებლებისადმი გამძლეობა. ასეთი თვისება აქვს, ნიადაგის *Bt-ბაქტერიას [7]. კონკრეტულად კი ამ ბაქტერიის პროტეინი, კლავს სიმინდის ხოჭოს მსგავს

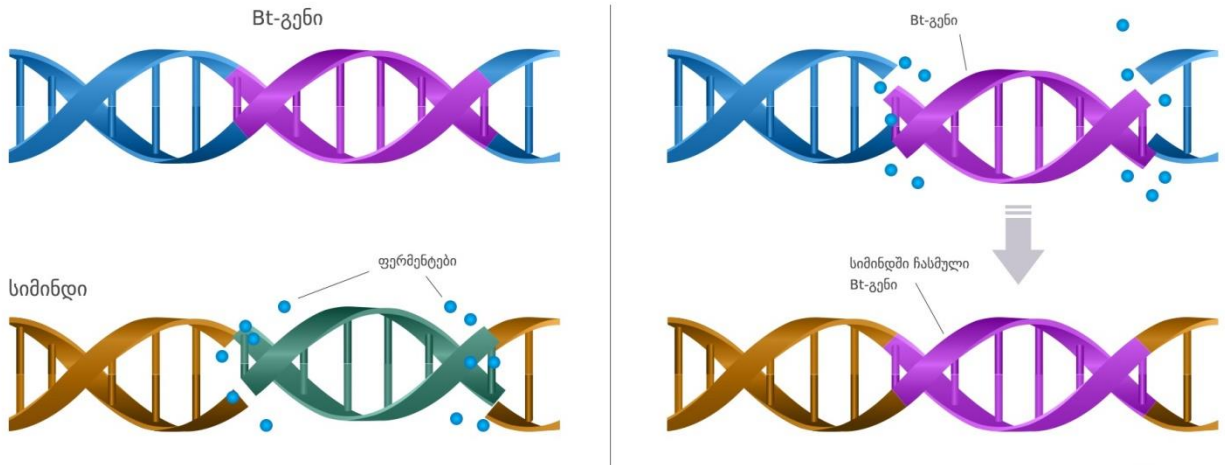
მავნებლებს და თანაც, ძუძუმწოვრებისთვის უსაფრთხოა.

ერთი ამოცანაა იპოვო ისეთი ორგანიზმი რომელიც სასურველი თვისების მატარებელია, მეორე ამოცანაა იპოვო ამ ორგანიზმის უჯრედში ის კონკრეტული გენი, რომელიც ამ თვისებაზე პასუხისმგებელი. რადგან მეცნიერებს მხოლოდ კონკრეტული თვისების მატარებელი გენი სჭირდებათ და არა მთელი გენოტიპი.

განსაზღვრული ნიშნის მქონე გენის მოსაძებნად იყენებენ გენეტიკურ მარკერებს.

2. მომდევნო საფეხურია Bt-ბაქტერიისგან დნმ-ის ამოღება. ამისი მრავალი მეთოდი არსებობს [8]. (ვრცლად იხ. მე- 6 თავი)
3. შემდეგი საფეხურია კონკრეტული გენის იზოლირება და მისი კლონირება, ანუ მრავალი ასლის შექმნა.
4. Bt- ბაქტერიის გენის „ჩანერგვა“ სიმინდის უჯრედებში. [9, 10];
5. Bt- ბაქტერიის გენის ინტეგრაცია სიმინდის გენომში;
6. სიმინდის ქსოვილში გადანერგილი Bt- ბაქტერიის გენის თვისობრივი გამოვლინება; ანუ მივიღეთ სიმინდი, რომელსაც მავნებლები არ ეკარებიან.
7. მიღებული ახალი ტიპის, გენმოდირიცირებული სიმინდის გამრავლება. გმო სიმინდი ამ თვისებას მემკვიდრეულად გადასცემს მომდევნო თაობებს, ამიტომ გმო ორგანიზმის გამრავლება უკვე ტრადიციული გამრავლების გზებით ხდება. ასეთი სიმინდის მარცვლების დათესვისას იგივე თვისების მატარებელი ანუ გენმოდირიცირებული სიმინდი გაიზრდება.

** Bt-ბაქტერია, ეს არის იგივე „Bacillus thuringiensis“, ნიადაგის ბაქტერია, რომელსაც იყენებენ როგორც ბიოლოგიურ პესტიციდს. ბუნებრივ პირობებში იგი გვხვდება პეპლების და მატლის საჭმლის მომნელები სისტემაში, ფოთლების ზედაპირზე, ცხოველის ფეკალიებში, მარცვლეულის შესახ ადგილებში, სხვა მწერების დიდი რაოდენობით არსებობის ადგილებსა და ნესტიან გარემოში.*



სურ.2 აქ, ილუსტრირებულია Bt-ბაქტერიის დნმ-დან გენის ამოკვეთა და შემდგომ მისი ჩაშენება სიმინდის დნმ-ში.

მას შემდეგ რაც გენური ინჟინერია იქნა აღმოჩენილი და შესწავლილი, უამრავი გენური მოდიფიკაცია იქნა ჩატარებული. ასე მაგალითად, ცხოველიდან მცენარეზე გენის გადატანა, ერთი ცხოველიდან მეორეზე, ცხოველიდან



სურ.3 ბიოლოგიური სისტემის ტაქსონომიური რანგები

6. დნმ-ის ექსტრაქციის მეთოდები

პირველად, დნმ-ის გამოყოფა ფრენდრიხ მიშერმა ჩაატარა. 1969 წელს.

დღესდღეისობით ეს საკითხი იმდენად კარგად არის შესწავლილი, რომ მოლეკულურ ბიოლოგიასა და კრიმინალისტიკაში (სასამართლო ექსპერტიზაში) დნმ-ის გამოყოფა ჩვეულებრივი რუტინაა [4].

არსებობს მრავალი ქიმიური მეთოდი, რომელიც უზრუნველყოფს დნმ-ის გამოყოფას [8, 11, 12].

- პირველ რიგში გროვდება ის უჯრედული მასალა, რომელიც უნდა იქნეს შესწავლილი ან რომელიც უნდა იქნას დამუშავებული. (ცოცხალი ორგანიზმის ქსოვილი, რომლიდანაც უნდა „ამოკვეთონ“ გენი.
- შემდგომ ხდება უჯრედული მემბრანის გარღვევა, რათა იქიდან დნმ-ის გამოყოფა მოხდეს ციტოპლაზმიდან. ამას უჯრედული ლიზისი ანუ დაშლა ჰქვია.

ახლა გადავიდეთ კონკრეტულ საფეხურებზე:

1. უჯრედული მემბრანისგან და უჯრედის ბირთვისგან ხდება ლიპიდების გამოყოფა, ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებების საშუალებით.
 2. პროტეინების დაშლა პროტეაზას საშუალებით.
 3. რნმ-ის (რიბონუკლეინის მჟავა) დაშლა, რიბონუკლეაზას საშუალებით.
- ამის შემდგომ, ხსნარი მუშავდება კონცენტრირებული ნატრიუმის ქლორიდის ხსნარით (ფიზიოლოგიური ხსნარით), რათა მოხდეს ლიპიდების, პროტეინების და რნმ-ის ცალკეული ნაწილების დაჯგუფება.
 - შემდგომი ეტაპია ცენტრიფუგირება, ამ დროს ხდება დნმ-ის განცალკევება (წინა ეტაპზე დაჯგუფებული) უჯრედის დანარჩენი კომპონენტებისაგან.

- და ბოლოს, დნმ-ის გასუფთავება სულ პირველ ეტაპზე, უჯრედის დაშლისთვის გამოყენებული ნივთიერებებისგან, შემდგომ ეტაპზე გამოყენებული ზედაპირულად აქტიური და გამრეცხი საშუალებებისგან, ცილებისგან და მარილებისგან.

დნმ-ის გასასუფთავებლად იყენებენ შემდეგ მეთოდებს:

1. ყინულოვანი ეთანოლის ან იზოპროპანოლის დამატების მეთოდი.

ეს მეთოდი გამოიყენება ნუკლეინის მჟავების (დნმ, რნმ) და პოლისაქარიდების (მაგ: პექტინი, ქსილოგლუკანი) გასასუფთავებლად ან დასაკონცენტრირებლად. საუბარია იმ შემთხვევაზე, როდესაც მოცემული ნივთიერებები უნდა გამოეყოს წყლიან ფაზას და ამ ფაზაში გახსნილ სხვა ნივთიერებებს.

ვინაიდან, ნუკლეინის მჟავები (დნმ, რნმ) არ იხნება ეთანოლსა და იზოპროპანოლში, იგი იწყებს შეჯგუფებას და ცენტრიფუგირებისას გამოიყოფა (ილექება) ცალკეულ გრანულებად. შედეგის ეფექტურობის გასაზრდელად, იყენებენ დამატებით ნატრიუმის აცეტატს, რომელიც ზრდის ხსნარის იონურ ძალას, რის შედეგადაც გრანულირება უფრო ეფექტურად ხდება.

2. ექსტრაქცია ფენოლ-ქლოროფორმით.

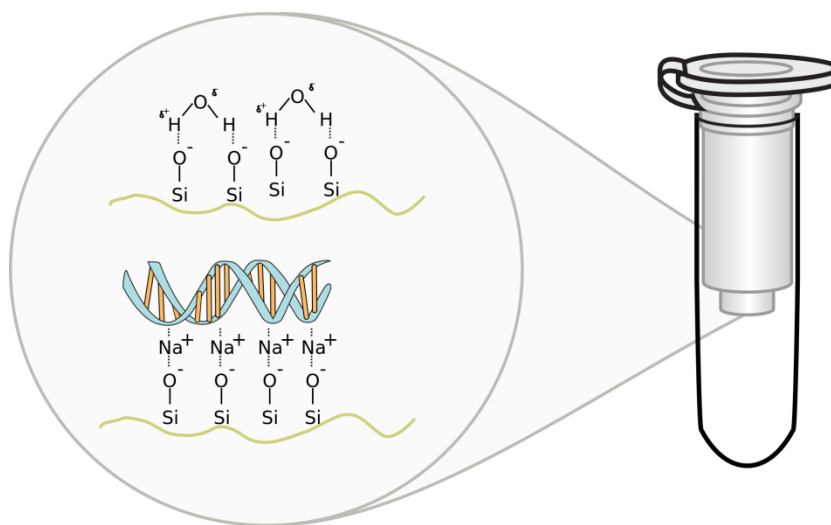
(სითხე-სითხე ექსტრაქციის სახე, რომელიც მოლეკულურ ბიოლოგიაში აქტიურად გამოიყენება ნუკლეინის მჟავების გამოსაყოფად ცილებისა და ლიპიდებისგან).

ფენოლი ცილების დენატურაციას უზრუნველყოფს. ცენტრიფუგირების დროს, დენატურირებული ცილა რჩება ორგანულ ფაზაში, ხოლო წყლიან ფაზაში დნმ. ბოლოს წყლიან ფაზას უმატებენ ქლოროფორმს, რათა ექსტრაქციის დროს, ნარჩენი ფენოლი მოშორდეს წყლის ფაზას

(გადავიდეს ქლოროფორმის ფაზაში).

3. გაწმენდა, ადსორბენტით შევსებული სვეტის მეშვეობით.

ეს მეთოდი ეყრდნობა იმ ფაქტს, რომ ნუკლეინის მჟავები (დნმ, რნმ) შესაძლოა შეკავდეს (ადსორბირდეს) ადსორბენტზე (მაგ. სილიციუმის დიოქსიდი ან სხვ.). შეკავება დამოკიდებულია pH-სა და მარილის კონცენტრაციაზე ბუფერულ ხსნარში. (სურ.4)



სურ.4 ადსორბენტით, სილიციუმის ოქსიდით შევსებული სვეტი, რომელზეც ხდება დნმ-ის გამოყოფა ნიმუშის დანარჩენი კომპონენტებისგან. ბუფერს კი დამატებული აქვს ნატრიუმის აცეტატი იონური ძალის გასაზრდელად.

უჯრედული ცილები, რომლებიც დაკავშირებულია დნმ-თან, შესაძლოა აგრეთვე მოცილებული იქნას:

1. პროტეაზას დამატებით.

პროტეაზა არის ფერმენტი, რომელიც აკატალიზებს ცილის დაშლას უფრო მცირე ზომის პოლიპეპტიდებად ან ცალკეულ ამინო მჟავებად.

2. ნატრიუმის (CH_3COONa) ან ამონიუმის აცეტატი ($\text{NH}_4\text{CH}_3\text{CO}_2$) დალექვით . ეს კომპონენტები ხსნარიდან ცილის დალექვას უწყობენ ხელს.

3. ის რაც ზემოთ უკვე ნახსენები იქნა, ექსტრაქცია ფენოლ-ქლოროფორმით.

მას შემდეგ რაც მოხდება დნმ-ის გამოცალკევება უჯრედის სხვა კომპონენტებისაგან, მას ხსნიან სუსტი ფუძე ბუნების ბუფერში, ან ულტრა სისუფთავის წყალში.

7. გენების გამოყოფის მეთოდები

ერთი საქმეა დნმ-ის გამოყოფა, მაგრამ ვინაიდან არაა საჭირო მთლიანი გენოტიპი, უნდა მოხდეს კონკრეტულ (ამოცანის მიხედვით საინტერესო და საჭირო) ნიშან-თვისებაზე პასუხისმგებელი გენის გამოყოფა. არსებობს გენების გამოყოფის ორი ძირითადი მეთოდი:

1. ჩვენთვის საინტერესო გენის შემცველი დნმ თავდაპირველად „იჭრება“ პატარა ფრაგმენტებად (რესტრიქციის ფრაგმენტებად) რესტრიქციული ენდონუკლეაზით. ეს უკანასკნელი ბაქტერიული წარმოშობისაა. ისინი ახდენენ დნმ-ს დაჭრას სპეციფიკურ უბნებში. კერძოდ ამ ფერმენტების მეშვეობით ხდება იმ ბმის გახლეჩვა, რომელიც არსებობს ერთი ნუკლეოტიდის შემადგენლობაში შემავალი შაქრის მესამე ნახშირბადის ატომთან დაკავშირებული ჟანგბადის ატომსა და მეზობელი ნუკლეოტიდის შემადგენლობაში შემავალი შაქრის მეხუთე ნახშირბადის ატომთან დაკავშირებულ ფოსფატურ ჯგუფს შორის. რადგანაც ფერმენტები ამუშავებენ უჯრედის მთელ გენომს, ამ მეთოდს აქვს დნმ-ს ფრაგმენტების დიდი რიცხვის წარმოქმნის პოტენციალი. წარმოქმნილ ფრაგმენტებს ექნება მხოლოდ გენის ან უბნების მხოლოდ ნაწილი, რაც, ჩვეულებრივ არ ტრანსკრიბირდება. ვინაიდან სხვადასხვა სახის ბაქტერიები სხვადასხვა სპეციფიკურობის მქონე რესტრიქციის ფერმენტებს აწარმოებენ, არაა რთული იმ ფერმენტის მოძიება რომელიც წარმოქმნის დნმ-ს იმ ფრაგმენტს, რომელიც შეიცავს ჩვენთვის საინტერესო სპეციფიკურ გენს.

2. მეორე მეთოდის თანახმად, უჯრედიდან გამოყოფილი მატრიცული რნმ (mRNA) შეიძლება გამოვიყენოთ კომპლემენტარული დნმ-ს (cDNA) სინთეზისათვის. cDNA სინთეზირდება mRNA-დან სპეციფიკური ფერმენტის - რევერსიული ტრანსკრიპტაზას მეშვეობით.

8. გენის ჩაშენება

გენის „ჩაშენება“ ნიშნავს უცხო გენის (დნმ ან რნმ) შეყვანას „მასპინძელი“ ცოცხალი ორგანიზმის უჯრედში (კონკრეტულად კი უჯრედის ბირთვში). გენმოდულირების პროცესის ეს კონკრეტული საფეხური ყველაზე რთულია.

თუკი უცხო გენი (დნმ ან რნმ) შეჰყავთ ბაქტერიის ან მცენარის უჯრედში (კონკრეტულად ბირთვში) ამ პროცესს ეწოდება **ტრანსფორმაცია**. ხოლო, თუკი საუბარია უცხო გენის შეყვანაზე ცხოველის უჯრედის ბირთვში, მაშინ ამას უწოდებენ ***ტრანსფექციას**. ეს ტერმინოლოგია ასე იმიტომ დაინერგა, რომ ტერმინი ტრანსფორმაცია, ცხოველებთან მიმართებაში ცოტა სხვა მნიშვნელობით გამოიყენება.

მას შემდეგ რაც მოხდება სასურველი გენის გამოყოფა და მისი მრავალი ასლის შექმნა (კლონირება), გენეტიკურმა მატერიალმა უნდა შეაღწიოს მასპინძელი უჯრედის ბირთვში რათა გამოიწვიოს გენების ექსპრესია. გენის წარმატებით ჩასაშენებლად, აუცილებელია რომ უცხო გენეტიკური მასალა იყოს სტაბილური მასპინძელ უჯრედში, შეძლოს ინტეგრირება გენომში ან შეძლოს რეპლიკაცია დამოუკიდებლად. გენის ექსპრესიაში არსებით როლს თამაშობს გენური თანმიმდევრობები, რომლებიც ცნობილია მაკონტროლებელი გენების სახელწოდებით. აღნიშნული გენები ახორციელებენ გენების ჩართვა-გამორთვის (აქტივაცია-ინაქტივაციის) რეგულაციას. მაგ. რძის გამომუშავების გენს აქვს ე.წ პრომოტორი, რომელიც ამცნობს ლაქტაციის სისტემას თუ როდის უნდა გამომუშავდეს რძე და როდის უნდა შეწყდეს ლაქტაცია. აღნიშნული პრომოტორული

თანმიმდევრობები ცხოველის მიერ გამომუშავებულ ჰორმონებთან ერთობლიობაში მოქმედებენ. გენის გადანერგვისას ამას აუცილებლად ითვალისწინებენ. შერჩეულ გენს უკავშირებენ მიკ მაკონტროლებელ პრომოტორს და ტერმინატორს.

გენის ჩაშენების პროცესში სამი ძირითადი კომპონენტი მონაწილეობს: 1) პირველი რა საკვირველია „უცხო“ გენი, 2) ე.წ. ვექტორი, რომელიც სასურველ გენს ატარებს, 3) მეთოდები, რომელთა მეშვეობითაც ხდება ვექტორის შეტანა მასპინძელ უჯრედში.

უჯრედის ბირთვიდან გამოყოფილი დნმ-დან კონკრეტული, ჩვენთვის საინტერესო გენის გამოყოფაზე უკვე იყო საუბარი წინა თავში. ამის შემდგომი საფეხურია ე.წ. ვექტორში სასურველი გენის ჩასმა. ვექტორი არის უცხო გენის მატარებელი სხვადასხვა ზომის, ფორმის და წარმოშობის ნაწილაკი. ვექტორის როლში ხშირად გვევლინება ორმაგჭიმიანი ბაქტერიული დნმ-ის მცირე, ცირკულარული ნაწილი, რომელსაც პლაზმიდი ეწოდება. პლაზმიდის გახსნა ხდება იმავე ენდონუკლეაზით, რომელიც გამოიყენება სასურველი გენის გამოსაყოფად. დნმ-ის ეს ბოლოები პლაზმიდის დნმ-ს ღია კიდევებში კომპლემენტარულად ჯდება, რაც დნმ-ს ორი მოლეკულის შერწყმისა და მათი კიდევების მიერთების საშუალებას იძლევა დნმ-ლიგაზას მეშვეობით. ვექტორის როლში ბაქტერიული პლაზმიდის გარდა კიდევ გვევლინება ვირუსი (ე.წ. ვირუსული ვექტორი), სხვადასხვა ნაწილაკები (ოქროს და ვოლფრამის ნაწილაკები), მიკრო (ორგანული და არაორგანული წარმოშობის მიკრონაწილაკები) და მაკრო ნაწილაკები (ლიპოსომები და პოლიმერები).

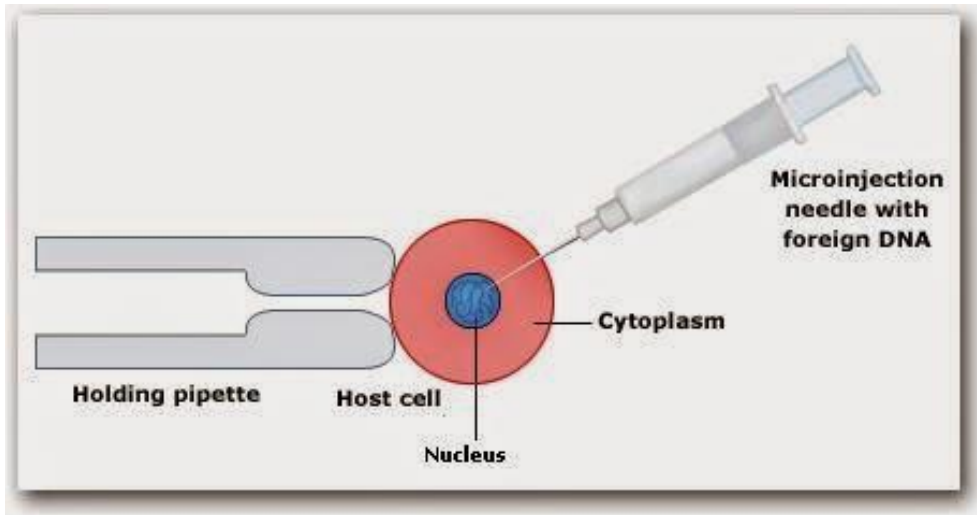
გადავიდეთ უშუალოდ იმ მეთოდებზე, რომელთა მეშვეობითაც ხდება უცხო გენის „ჩაშენება“ მასპინძელი უჯრედის ბირთვში.

1. ზოგიერთ ბაქტერიას შეუძლია **ბუნებრივი გზით** (ყოველგვარი ძალისხმევის გარეშე, ანუ თავისთავად) მიიღოს უცხო გენეტიკური მასალა.
2. ზოგიერთ ბაქტერიაში კი ეს თვისება შეიძლება ინიცირებული იქნას მარტივად, მაგალითად **თერმული ან ელექტრული შოკით**. ამგვარი გარეგანი

ჩარევის მიზანია რომ დნმ-სთვის უფრო შეღწევადი გახადოს ბაქტერიული უჯრედის მემბრანა.

3. **კალციუმის ფოსფატის მეთოდი** - მარტივ მეთოდებს მიეკუთვნება. ამ შემთხვევაში დნმ-ის დაკავშირება ხდება კალციუმის ფოსფატის ხსნარის გამოყენებით.
4. **ლიპოსომები და პოლიმერები** - შეიძლება გამოყენებულ იქნას როგორც ვექტორები რომელთაც აქვთ დნმ-ის გადატანის უნარი. დადებითად დამუხტული ლიპოსომები და/ან პოლიმერები უკავშირდება უარყოფითად დამუხტულ დნმ-ს. ჯამში, ისინი წარმოქმნიან კომპლექსებს, სახელად ლოპოპლექსები (კათიონური ლიპიდი / დნმ) და პოლიპლექსები (კათიონური პოლიმერი / დნმ) შესაბამისად. ეს კომპლექსები ხვდება უჯრედში და შეაქვს უცხო დნმ მასპინძელი უჯრედის ბირთვში.
5. **ნანონაწილაკების მეთოდი** - ეს მეთოდი მიეკუთვნება არავირუსულ ვექტორთა მეთოდს (non-viral). გამოიყენება სხვადასხვა ორგანული და არაორგანული წარმოშობის ნანონაწილაკები - რომელთა მეშვეობითაც ხდება სამიზნე უჯრედში ახალი გენის ჩანერგვა. (ანუ, მარტივად რომ ვთქვათ, ნანონაწილაკები უცხო დნმ-ის მატარებელი ვექტორებია).
6. **მიკრო ინექციის მეთოდი.** მასპინძელ უჯრედში უცხო დნმ-ის ჩასასმელად ერთ-ერთი ყველაზე პირველი და ხშირად გამოყენებული მეთოდია. ამ დროს დნმ პირდაპირ ხვდება მასპინძელი უჯრედის ბირთვში, ანუ ყოველგვარი ვექტორის გარეშე. საჭირო ხელსაწყოებია: 1) მოდიფიცირებული ოპტიკური მიკროსკოპის ბაზაზე შექმნილი ხელსაწყო, ე.წ მიკრომანიპულატორი, 2) ნატიფი ნემსი 0.5 – 5 მკმ დიამეტრის, 3) დამჭერი მიკროპიპეტი. სამიზნე (მასპინძელი) უჯრედი მიკროსკოპის ქვეშ თავსდება, საიდანაც პროცესზე ხდება დაკვირვება ხოლო მიკროკაპილარული ნატიფი ნემსით უჯრედულ და ბირთვულ მემბრანაში ხდება შეღწევა და იქ უცხო გენის მატარებელი ნაწილაკის შეტანა. მეთოდი გამოიყენება არა მარტო უცხო დნმ-ს

შეყვანისათვის მასპინძელ უჯრედის ბირთვში, არამედ კლონირების პროცესისთვის, ემბრიონში ღეროვანი უჯრედების ინექციისთვის და სხვა. ეს მეთოდი განსაკუთრებით აქტუალურია ცხოველებზე გენური მანიპულაციების განხორციელების დროს [13]. სურ.5



სურ.5 მიკროინექციის მეთოდით, უცხო გენის შეტანა მასპინძელ უჯრედში.

7. აგრობაქტერიუმის მეთოდი - (*Agrobacterium tumefaciens*)

ეს მეთოდი ყველაზე ხშირად გამოიყენება მასპინძელი მცენარის უჯრედში უცხო გენის ჩასაშენებლად. ფაქტიურად, უცხო გენის გადამტანის როლში გამოდის ბაქტერიული ვექტორი. ყველაზე ხშირად გამოყენებული ბაქტერიული ვექტორი არის ბაქტერიული პათოგენის *Agrobacterium tumefaciens* Ti-პლაზმიდი, რომელიც იწვევს მცენარის სიმსივნურ დაავადებას - გვირგვინისებურ კოჟრიანობას. ეს ვექტორი საკმაოდ წარმატებულად მოქმედებს იმის გამო, რომ ბაქტერია ბუნებრივად ახორციელებს დნმ-ს ინექციას მცენარეულ უჯრედში და ასნეზობენ მას სიმსივნით. ამ თვალსაზრისით, *Agrobacterium tumefaciens* ბუნებრივი გენეტიკური „ინჟინერია“ [14]. მისი Ti-პლაზმიდი შეიცავს T-დნმ სახელით ცნობილ უბანს, რომელიც ჩვეულებრივ უერთდება მასპინძელი უჯრედის დნმ-ს დაინფიცირების დროს. T-დნმ შეიცავს სიმსივნის გამომწვევ გენს, რომელიც

პასუხს აგებს ინფიცირებული ქსოვილის სიმსივნურ კოჟრად გადაქცევაზე. იმისათვის რომ Ti-პლაზმიდი გამოყენებულ იქნას ვექტორად, ხდება პლაზმიდის „განთავსება“ სიმსივნის გამომწვევი გენების მოცილებით და მათი ჩანაცვლებით კლონირებისათვის გამზადებული გენით. ეს აძლიერებს ავირულენტობას და არ აყენებს საფრთხის ქვეშ მის მიერ მასპინძელი მცენარის უჯრედების ინფიცირებისა და ტრანსფორმაციის უნარს. მის ადგილას მოხდება სასურველი ნიშან-თვისების მატარებელი გენის „ჩაკერება“ და აგრობაქტერიუმი გარდაიქმნება ვექტორად, რომელიც ახალ გენეტიკურ მასალას გადაიტანს მასპინძელ მცენარეში. *Agrobacterium tumefaciens*, როგორც ტრანსფორმაციული ვექტორის, მთავარი ნაკლია მისი მასპინძელი მცენარეების შეზღუდული სპექტრი (ძირითადად ორლებნიანების გარკვეული ოჯახების ტრანსფორმაციისთვის გამოიყენება ეს ხერხი). [15, 16]

8. **ბიოლისტიკა** (ან მეორენაირად **ბიოხალისტიკა**)- უჯრედში გენური ინფორმაციის შეყვანის ხერხი, გენური ყუმბარმტყორნების გამოყენებით. ეს მეთოდი ძირითადად მცენარეთა გენომდიფიცირებაში გამოიყენება, განსაკუთრებით მაშინ, როდესაც აგრობაქტერიუმის მეთოდის გამოყენება სხვადასხვა მიზეზთა გამო ვერ ხერხდება. გადასანერგად გამზადებულ დნმ-ს აფენენ ოქროს ან ვოლფრამის ნაწილაკებზე, რომლებიც „ყუმბარას“ როლს თამაშობენ მეთოდში. შემდეგ ამ ნაწილაკებს გენსატყორცნით ახვედრებენ ახალგაზრდა მცენარის უჯრედში ან მცენარის ჩანასახის უჯრედში. უცხო დნმ ფაქტიურად შეიტყორცნება მასპინძელი უჯრედის ბირთვში. მაგ: ზემოთ ხსენებული Bt-სიმინდის შემთხვევაში, გენის ჩასმა მოხდა ამ მეთოდის გამოყენებით. Bt-გენის შემცველ დნმ-ს აფენენ ოქროს ან ვოლფრამის (მეტწილად ოქროს იყენებენ) ნაწილაკებზე და შემდეგ ახდენენ კალუსის ქსოვილის „დაბომბვას“. ამ გზით დნმ ხვდება უჯრედში. როდესაც „დაბომბილი“ უჯრედები აღიდგენენ ტრანსფორმაციის პროცესში მიღებულ ჭროლობებს, დნმ ინტეგრირდება მათ გენომში და მასპინძელ უჯრედებში

იწყება Bt-გენის ტრანსკრიფცია და ტრანსლაცია. გენის ჩაშენების პროცესი დასრულები შემდეგ გადაარჩევენ უჯრედებს. ტრადიციულად გადარჩევის პროცესი ხორციელდება სელექციის მარკერის შესაბამისად, რომელიც თავიდანვე ჩასმული იყო დნმ-ვექტორში.

მას შემდეგ რაც სამიზნე გენები ჩაერთვებიან მცენარეულ უჯრედებში, მოდიფიცირებული უჯრედები იზრდებიან და მრავლდებიან, შედეგად მიიღება ახალი მცენარე რომელსაც შეტანილი ახალი გენების შესაბამისი ნიშან-თვისებები გააჩნია. ახლადშექმნილი მცენარეული უჯრედები იზრდებიან მკაცრად კონტროლირებად და განსაზღვრულ გარემოში. მას შემდეგ რაც მოხდება მათი ზრდასრულ მცენარის სახემდე მიყვანა, ამის შემდეგ, გენეტიკურად მოდიფიცირებული მცენარეები ბუნებრივი რეპროდუქციის გზით წარმოქმნიან ახალი (ჩაშენებული) გენის მატარებელ შთამომავლობას [14].

9. **ელექტროფორაცია** - ეს არის პროცესი, როდესაც უჯრედებისა და ვექტორული დნმ-ის ნარევეს ხანმოკლე პერიოდით ათავსებენ მაღალი ელექტრული ძაბვის ზემოქმედების ქვეშ. ამის შედეგად, მასპინძელი უჯრედის (მცენარეული პროტოპლასტის) მემბრანა ხდება მარტივად განვლადი, რაც უცხო დნმ-ს უჯრედში შეღწევის საშუალებას აძლევს. ზოგიერთ ამ უჯრედში ხდება ახალი დნმ-ის ჩართვა და შემდგომ, სასურველი გენის ექსპრესია. ელექტროფორაციის გზით, დნმ-ის უშუალო ჩართვა ერთლებნიანებში წარმატებით იქნა განხორციელებული, მიუხედავად ამისა, მცენარეებზე მუშაობის შემთხვევაში ამ მეთოდის გამოყენება შედარებით იშვიათად ხდება სხვა მეთოდებთან შედარებით.

ელექტროფორაციის მეთოდი მაღალეფექტურია უცხო გენების ჩასართავად ქსოვილური კულტურების უჯრედებში, განსაკუთრებით ძუძუმწოვართა უჯრედებში. მაგალითად მეთოდი გამოიყენება ე.წ. ნოკაუტირებული (knockout) თაგვების მისაღებად, ასევე სიმსივნის მკურნალობისას, გენურ და

უჯრედულ თერაპიაში [14].

ელექტროფორაციისთვის გამოყენებულ ხელსაწყოს ელექტროფორატორი ეწოდება. ელექტროფორატორი წარმოქმნის ელექტრულ დენს და მას ატარებს უჯრედების შემცველ ხნარში (სტანდარტულად ხსნარში არის ბაქტერიული უჯრედები, თუმცა ზოგჯერ სხვა ტიპის უჯრედებსაც იყენებენ). უჯრედების სუსპენზიას აწვეთებენ მინის ან პლასტიკურ კიუვეტაში, რომელსაც გვერდით აქვს ორი ალუმინის ელექტროდი. ელექტროფორაციის წინ მას შეერევა პლაზმიდები, რომლითაც უნდა მოახდინონ გენის გადატანა (ტრანსფორმაცია, ტრანსფექცია). ნარევს აწვეთებენ კიუვეტაში, ელექტროფორატორში არეგულირებენ ძაბვას და დგამენ მასში გამზადებულ კიუვეტას. პროცესს რამდენიმე წამი სჭირდება. ელექტროფორაციის პროცესის დასრულებისთანავე, ბაქტერიებს უმატებენ 1მლ თხევად არეს და ახდენენ მათ ინკუბაციას ოპტიმალურ ტემპერატურაზე 1 საათით ან მეტი ხნის განმავლობაში. ამის შემდეგ ბაქტერიებს თესავენ აგარის ფირფიტებზე (გამრავლებისთვის).

ეს პროცესი თითქმის ათჯერ უფრო ეფექტურია ვიდრე ქიმიური ტრანსფორმაცია.

10. **ვირუსული ვექტორები** - არსებობს რნმ-ზე დაფუძნებული და დნმ-ზე დაფუძნებული ვირუსული ვექტორი (ანუ ამ შემთხვევაში უცხო გენის მატარებელია ვირუსული ვექტორი). ისინი უფრო ხშირად გამოიყენება გენეტიკური ინსტრუქციების კოდირებისათვის. გენეტიკური კოდის ტრანსკრიფცია ხორციელდება რნმ-ის მეშვეობით. გენურ ინჟინერიაში გამოიყენება ვირუსული რნმ, მაგალითად თამბაქოს მოზაიკური ვირუსის რნმ. პირველ ეტაპზე მიმდინარეობს ვირუსული დნმ-ს უკუტრანსკრიპცია. დნმ-ს რეპლიკაციის შემდეგ ხდება მისი მოდიფიკაცია სასურველი გენეტიკური მასალის დამატებით. ამის შემდგომ, გენეტიკურად მოდიფიცირებული ვირუსული დნმ აკოდირებს რნმ-ს, რომელიც, თავის მხრივ, წარმოქმნის ახალ

ვირუსს შეცვლილი რნმ-ით. ამის შემდგომ, ხდება ვირუსის ინექცია მცენარეში, სადაც ვირუსი წარმოქმნის სასურველ ცილებს მცენარის გენეტიკური მასალის ცვლილების გარეშე. ამ მეთოდის მეშვეობით ხდება მცენარეებში ისეთი ბიოტექნოლოგიური პროდუქტების გამომუშავება, როგორიცაა ვაქცინები და ანტიბიოტიკები [17].

11. **სონოფორაცია** - ეს მეთოდი გულისხმობს ბგერითი ტალღების გამოყენებას უჯრედულ მემბრანაში ფორების წარმოსაქმნელად. ეს ფორები შემდგომში გამოიყენება უცხო გენეტიკური მასალის შესატანად მასპინძელ უჯრედში.
12. **ფოტოფორაცია** - ეს მეთოდი გულისხმობს ლაზერული პულსის გამოყენებით მასპინძელი უჯრედის მემბრანაში ფორების წარმოქმნას. წარმოქმნილი ფორები უზრუნველყოფს ამ უჯრედში უცხო გენეტიკური მასალის შესვლას.
13. **ჰიდროფორაცია** - ამ მეთოდში, ჰიდროდინამიკური კაპილარული ეფექტი გამოიყენება უჯრედის მემბრანის შეღწევადობის გასაზრდელად.
14. **მაგნიტოფექცია** - ამ მეთოდში მაგნიტური ბუნების ნაწილაკი დაკავშირებული დნმ-თან, გარე მაგნიტური ველი ზემოქმედებით მიმართავს ნუკლეინის მჟავას სამიზნე უჯრედისკენ.

ყურადღება უნდა გავამახვილოთ იმაზე, რომ ცხოველებსა და მცენარეებში გენური ინჟინერიის პროცესი, განსაკუთრებით კი გენის გადატანის (გენის ჩაშენების) საფეხური განსხვავებული მეთოდითა და პრინციპებით მიმდინარეობს.

ა) მცენარეები: გენური ინჟინერიის გზით მცენარეული კულტურების მიღების პირველი ეტაპი სასურველი ნიშან-თვისების განმაპირობებელი გენის ან გენების იდენტიფიკაცია და ლოკალიზაციის დადგენაა. როდესაც მოხდება სამიზნე დნმ-ს სეგმენტის იდენტიფიკაცია, აღნიშნული გენეტიკური მასალა უნდა გადავიდეს მასპინძელ მცენარეულ უჯრედში. ამ პროცესს წინ უძღვის უჯრედების მომზადება. მცენარეული უჯრედი გარშემორტყმულია უჯრედის კედლით, რომელიც შედგება ცელულოზისაგან. მცენარეულ უჯრედში გენეტიკური მასალის ჩასართავად საჭიროა უჯრედის კედლის მოცილება. ზოგადად, უჯრედის კედლის მოცილება ხდება

ცელულოზას დამშლელი ფერმენტების მეშვეობით. უჯრედის კედლის მოცილების შემდგომ, მცენარეული უჯრედი, ანუ პროტოპლასტი, შემოსაზღვრული რჩება მხოლოდ შიდა მემბრანით, რომლიც უნდა გაიხსნას იმისათვის, რომ მასში მოხდეს გენეტიკური მასალის შეღწევა. არსებობს მემბრანული ფორების გახსნის რამდენიმე მეთოდი და სხვადასხვა ხერხი დნმ-ს უჯრედში გადასატანად. მცენარეების შემთხვევაში გენის გადასატანად ყველაზე ხშირად გამოიყენება აგრობაქტერიუმის მეთოდი, მიკროინექციის მეთოდი, ელექტროფორაცია, ბიოლისტიკა და ვირუსული ვექტორები.

ბ) ცხოველები: რაც შეეხება ცხოველების გენმოდირეგულირების თემას, აქ საქმე კიდევ უფრო რთულადაა, ვიდრე მცენარეების შემთხვევაში. ცხოველებზე გენური მანიპულაციების შესრულებისას გათვალისწინებულ უნდა იქნას, რომ ახალმა გენმა არ უნდა დააზიანოს ცხოველის ძირითადი გენეტიკური პროგრამა. სხვა სიტყვებით, ჩართულმა გენეტიკურმა მასალამ უნდა მოიტანოს სარგებელი, რომელიც გამოვლინდება იმ გენების დაზიანების (ან მათზე რაიმე სახის უარყოფითი ზეგავლენის) გარეშე, რომლებიც აკონტროლებენ ცხოველის სხვა მახასიათებლებს. ცხოველების შემთხვევაში, მეტად მნიშვნელოვანია ის თუ კონკრეტულად რომელი უჯრედებში მოხდება უცხო გენის ჩაშენება. ნებისმიერ უჯრედში გენის „ჩაშენება“ სასურველ შედეგს არ მოიცემა. როგორც წესი უცხო გენს ახვედრებენ ან სპერმატოზოიდებში, ან კვერცხუჯრედებში ან ემბრიონის უჯრედებში მისი განვითარების ადრეულ სტადიებზე. გენმოდირეგულირებული მცენარეული უჯრედისგან განსხვავებით, „ახალი“ ცხოველი ლაბორატორიული სინჯარის ნაცვლად ჯერ უნდა ინკუბირდეს დედის საშვილოსნოში. ამას შესაძლოა მოჰყვეს პრობლემები უცხო დნმ-ის შემცველ ემბრიონთან დაკავშირებით იმის გამო, რომ დედის რეპროდუქციული სისტემა არ მიიღებს ან გამოდევნის უცხო ნაყოფს. ამიტომ ძალიან ბევრი მცდელობაა საჭირო იმისათვის რომ ერთი წარმატებული შედეგი გამოვიდეს. დღეისათვის საკმაოდ ბევრი სახეობის ცხოველის გენმოდირეგულირება იქნა მიღწეული. ყველა სხვადასხვა მიზნისთვის. მაგალითად გენმოდირეგულირებული

თავებს ლაბორატორიული კვლევებისთვის იყენებენ. თავებზე მანიპულაცია უფრო მარტივია, და თან ისინი მალე მრავლდებიან. რაც შეეხება ღორებს, რქოსან შინაურ ცხოველებს, თევზებს, მათი გენური მოდიფიცირება აგრარული ინდუსტრიისთვის განხორციელდა.

ცხოველების გენმოდიფიცირების შემთხვევაში, უცხო გენის შესატანად მასპინძელ ორგანიზმში, ძირითადად იყენებენ მიკროინექციის მეთოდს. ცხოველიდან მოცილებული ემბრიონი თავსდება მიკროსკოპის ქვეშ. მიკრომანიპულატორის დახმარებით გენეტიკური მასალა ნატიფი ნემსის მეშვეობით შეჰყავთ ემბრიონში. დნმ-ს ინექცია ხდება ემბრიონის პრონუკლეუსში. პრონუკლეუსი სპერმატოზოიდის ან კვერცხუჯრედის ბირთვია, რომელშიც მოთავსებულია განაყოფიერებული კვერცხის ქრომოსომების ნახევარი. ამის შემდეგ ემბრიონს ისევ აბრუნებენ დედის სხეულში, სადაც სავარაუდოდ ტრანსგენური ცხოველი დაასრულებს თავის სანვითარებას. ეს საკმაოდ დიდ სირთულეებთანაა დაკავშირებული, რადგან დედის ორგანიზმმა შესაძლოა არ მიიღოს იგი. ამ მეთოდის გამოყენებით გენეტიკურად მოდიფიცირებული ემბრიონებიდან მხოლოდ 1-4% აღწევს ზრდასრულობამდე [14].

მეორე მეთოდი, რომელიც გამოიყენება ცხოველების გენმოდიფიცირებისათვის, ისევ მიკრომანიპულატორის გამოყენებით ხორციელდება, მაგრამ დნმ-ს პირდაპირ ბირთვში ინექციის ნაცვლად, გენეტიკური მასალა თავსდება ემბრიოგენულ ღეროვან უჯრედებში. ამ მეთოდის უპირატესობა ისაა, რომ ემბრიოგენული უჯრედები შეიძლება მოდიფიცირდეს და კულტივირდეს ლაბორატორიულ პირობებში (დიდი რაოდენობით გენეტიკურად მოდიფიცირებული ცხოველების წარმოების მიზნით).

მესამე მეთოდი, ეს არის ვირუსული ვექტორები, ე.წ ტრანსგამეტული ტექნოლოგია. ვირუსი წინასწარ მუშავდება, იმისათვის რომ თავიდან იქნეს აცილებული ცხოველის გენომის ან გენოტიპის დაზიანება. ვირუსში რთავენ სასურველ გადასატანად გამზადებულ გენს. ამის შემდეგ ხდება ვექტორის ინექცია

განაყოფიერებელ კვერცხუჯრედებში. მეთოდის გამოყენების სიძნელეს განაპირობებს კვერცხუჯრედის მემბრანა, რომელიც დამცავი გარსის სახით გარს აკრავს დნმ-ს. სწორედ ამის გამო, უცხო დნმ-ს ჩართვას ახდენენ კვერცხუჯრედის მემბრანის საბოლოო ჩამოყალიბებამდე. მაშინ, როდესაც უცხო დნმ ინტეგრირდება კვერცხუჯრედში, ლაბორატორიულ პირობებში ახდენენ მის განაყოფიერებას და შემდეგ მიღებულ ემბრიონს გადაიტანენ დედის სხეულში [14].

ცხოველების შემთხვევაში, იშვიათად მაგრამ მაინც, გამოიყენება ელექტროფორაციის მეთოდი.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Mali, S., *Delivery systems for gene therapy*. Indian J Hum Genet, 2013. **19**(1): p. 3-8.
2. Zhang, C., R. Wohlueter, and H. Zhang, *Genetically modified foods: A critical review of their promise and problems*. Food Science and Human Wellness, 2016. **5**(3): p. 116-123.
3. Damien Plan, G.V.d.E., *The EU Legislation on GMOs*. 2010.
4. Dahm, R., *Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research*. Hum Genet, 2008. **122**(6): p. 565-81.
5. Tadic, A., et al., *Association analysis between gene variants of the tyrosine hydroxylase and the serotonin transporter in borderline personality disorder*. World J Biol Psychiatry, 2010. **11**(1): p. 45-58.
6. Pellegrino, E., et al., *Impact of genetically engineered maize on agronomic, environmental and toxicological traits: a meta-analysis of 21 years of field data*. Sci Rep, 2018. **8**(1): p. 3113.
7. Kumar, P.A., R.P. Sharma, and V.S. Malik, *The Insecticidal Proteins of Bacillus thuringiensis*, in *Advances in Applied Microbiology Volume 42*. 1996. p. 1-43.
8. Miller, D.N., et al., *Evaluation and optimization of DNA extraction and purification procedures for soil and sediment samples*. Applied and Environmental Microbiology, 1999. **65**(11): p. 4715-4724.
9. Kamimura, K., et al., *Advances in Gene Delivery Systems*. Pharmaceut Med, 2011. **25**(5): p. 293-306.
10. DAVID A. JACKSON*, R.H.S., AND PAUL BERG, *Biochemical Method for Inserting New Genetic Information into DNA of Simian Virus 40: Circular SV40 DNA Molecules Containing Lambda Phage Genes and the Galactose Operon of Escherichia coli*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, No. 10, pp. 2904-2909, October 1972. **69**.
11. Salvà Serra, F., et al., *A protocol for extraction and purification of high-quality and quantity bacterial DNA applicable for genome sequencing: a modified version of the Marmur procedure*. Protocol Exchange, 2018.
12. Yoshikawa, H., et al., *Evaluation of DNA extraction kits for molecular diagnosis of human Blastocystis subtypes from fecal samples*. Parasitol Res, 2011. **109**(4): p. 1045-50.
13. Jones, C.H., et al., *Overcoming nonviral gene delivery barriers: perspective and future*. Mol Pharm, 2013. **10**(11): p. 4082-98.
14. მ. გაიდამაშვილი, ა.კორახაშვილი. *აგრობიოტექნოლოგია*. თბილისი 2012.
15. Gelvin, S.B., *Agrobacterium-mediated plant transformation: the biology behind the "gene-jockeying" tool*. Microbiol Mol Biol Rev, 2003. **67**(1): p. 16-37, table of contents.
16. Hwang, H.H., M. Yu, and E.M. Lai, *Agrobacterium-mediated plant transformation: biology and applications*. Arabidopsis Book, 2017. **15**: p. e0186.
17. Nayerossadat, N., T. Maedeh, and P.A. Ali, *Viral and nonviral delivery systems for gene delivery*. Adv Biomed Res, 2012. **1**: p. 27.