

Тема: «ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДІВ ГЕННОЇ ТА КЛІТИННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ В СУЧАСНІЙ СЕЛЕКЦІЇ»

ПЛАН

1. Значення генної інженерії
2. Основні методи генетичної інженерії
3. Успіхи генної інженерії на сучасному етапі
4. Значення клітинної інженерії. Основні методи клітинної інженерії
5. Химерні і трансгенні організми



1. Значення генної інженерії

Генна інженерія – це галузь молекулярної біології, яка розробляє методи перебудови геномів організмів вилученням або введенням генів чи їхніх груп.

Генна інженерія є біотехнологічним прийомом спрямованого конструювання рекомбінантних молекул ДНК на основі ДНК, взятої з різних джерел. Генна інженерія ґрунтується на молекулярній біології, яка дає можливість вносити зміни в молекулярну взаємодію основних біологічних молекул у клітині та поза нею. Біологи оволоділи методами, які дають можливість маніпулювати біологічними молекулами, досліджувати і змінювати їх структуру. За рахунок змін в основних біологічних молекулах ДНК є можливість створювати варіанти живих систем, які не виникають у результаті природної еволюції. Технології одержання рекомбінантних молекул ДНК і клонування (розмноження) генів передували методи, за допомогою яких молекулу ДНК розщеплюють на фрагменти, модифікують і знову реконструюють в одне ціле. При цьому мають багато копій цієї молекули. Потім, використовуючи цю рекомбінантну молекулу, можна синтезувати молекули РНК і одержати білок з певними якостями і властивостями. Для отримання генів, їх поєднань з векторними молекулами в генетичній інженерії використовують специфічні ферменти:

- ✓ **ревертази** – ферменти, які каталізують синтез нитки ДНК на матриці іРНК;

- ✓ **рестриктази** – ферменти, які розрізають нуклеотидні послідовності;
- ✓ **лігази** – ферменти, які поєднують (зшивають) нуклеотидні послідовності.

Поняття "**генетична**" та "**генна**" інженерія часто вживаються як синоніми, хоч перший із них є ширшим і передбачає способи маніпуляцій не тільки з окремими генами, а й з більш значними фрагментами геному, включаючи цілі хромосоми.

2. Основні методи генетичної інженерії були розроблені у 60-70-х роках ХХ століття. Вони включають три основні етапи: отримання генетичного матеріалу, копіювання і розмноження генів, перенесення і включення генетичного матеріалу в геном.

Отримання генетичного матеріалу

- *Метод хімічного синтезу генів поза організмом.*
- *Метод ферментативного синтезу генів поза організмом .*
- *Метод виділення природних генів з геному організмів .*

Копіювання і розмноження генів

- *Метод клонування генів .*
- *Метод молекулярного клонування в складі плазмідних векторів (розмноження молекул ДНК у складі плазмід).*
- *Метод молекулярного клонування в складі вірусних векторів (розмноження фрагментів ДНК у складі молекул ДНК вірусів та бактеріофагів).*

Перенесення і включення генетичного матеріалу в геном

- *Методи трансформації (для перенесення плазмідних векторів).*
- *Методи трансдукції (для перенесення вірусних векторів).*
- *Методи трансфекції(для адресного перенесення і включення молекул ДНК в клітини за допомогою ліпосом).*
- *Методи перенесення метафазних хромосом.*

3. Успіхи генної інженерії на сучасному етапі

- Отримують високопродуктивні штами мікроорганізмів, які синтезують *інсулін, інтерферони, гормон росту, ферменти, вітаміни В2, В12 соматостатин, вакцини, антитіла* та ін.
- Існують сорти пшениць, стійких до листової іржі, борошнистої роси, які виведені завдяки тому, що деякі хромосоми у вихідних пшениць були замінені хромосомами диких видів пшениці, пирію, жита.
- Створюються **банки генів** – колекції генів різних організмів, що є необхідним для подальших досліджень і розвитку генетичної інженерії.
- Розвивається **генотерапія** – лікування спадкових, онкологічних, деяких вірусних захворювань шляхом введення генів у клітини

пацієнтів з метою спрямованої зміни генних дефектів або надання клітинам нових функцій.

В генотерапії виділяють такі види:

- а) зародкова – введення генів у гамети або клітини зародка;
- б) соматична – введення генів у соматичні клітини пацієнта;
- в) позаорганізмova – введення генів у культивовані клітини і пересадка цих клітин пацієнтам.

4. Клітинна інженерія

Клітинна інженерія – це галузь біотехнології, у якій застосовують методи виділення клітин з організму і перенесення їх на поживні середовища, де вони продовжують жити та розмножуватися. **Основними методами клітинної інженерії є:**

- ✓ **метод культури клітин (тканин)** – виділення соматичних клітин з організму, перенесення їх на поживні середовища;
- ✓ **метод гібридизації соматичних клітин** – поєднання соматичних клітин різних тканин або організмів для отримання нових комбінацій ознак;
- ✓ **метод клонування** – отримання культур (клонів), що складаються з генетично однорідних клітин (клонування ДНК, генів, клітин, організмів). **Клон – це сукупність клітин або особин, які виникли від спільного предка нестатевим способом.** При клонуванні з незаплідненої яйцеклітини видаляють ядро і пересаджують у неї ядро нестатевої клітини іншої особини. Таку штучну зиготу пересаджують у матку самки, де зародок і розвивається. Ця методика дає можливість одержати від цінних за своїми якостями плідників необмежену кількість нащадків, які є їх точною генетичною копією.

Виділяють декілька напрямків створення нових технологій на основі культивування клітин і тканин рослин:

- 1) отримання промисловим шляхом цінних біологічно активних речовин рослинного походження (наприклад, отримано генетично змінений штам рути пахучої, який містить в декілька сот разів більше алкалоїду рутакридона, ніж сама рослина);
- 2) використання тканинних і клітинних культур для швидкого клонального мікророзмноження та оздоровлення рослини (розсаду квітів і овочів вирощують методом культури клітин (тканини) і доставляють фермерам у розсадних горщиках).

5. Химерні та трансгенні організми

Химери - організми або їх частини, що складаються з генетично різнорідних тканин. Уперше цей термін застосував німецький ботанік Г. Вінклер (1907) для форм рослин, отриманих у результаті зрощення пасльону й томату. Надалі (1909) Е. Баур, вивчаючи пеларгонію ряболисту, з'ясував природу химер.



Мал. 2 Химерні організми.

Химери – організми, у яких тканини складаються зі спадково неоднакових клітин або клітинних систем. У природі химерні організми зазвичай виникають унаслідок спонтанного мутагенезу, порушення закономірностей мітозу та соматичної редукції кількості хромосом (природні химери). Штучні химери отримують при тканинній трансплантації або щепленні (наприклад, при щепленні живців пасльону на помідор, появляються химерні пагони, які схожі на щось середнє між пасльоном і помідором).



Трансгенні організми (генетично модифіковані організми) – організми, які мають у складі свого геному чужорідні гени інших організмів. Трансгенні організми стали реальністю ще з кінця 70-х років ХХ ст., коли

з'явилися перші бактерії з вбудованими генами *інсуліну*, *інтерферону*, *соматотропіну*.

У різних галузях господарської діяльності людини використовуються трансгенні бактерії.

- створено бактерії, які переробляють нафту після техногенних катастроф;
 - реконструйовано бактерії для бактеріального синтезу речовин (для виробництва амінокислоти фенілаланіну);
 - використовуються бактерії для захисту рослин від морозів (бактерії, що живуть у рослинах, реконструйовано для запобігання утворенню кришталіків льоду).
- Мал.1 Трансгенні рослини**



Розробляються *трансгенні* рослини, які б;

- мали задані властивості – високу пристосованість до умов зовнішнього середовища; вміст більшої кількості необхідних для людини поживних речовин; здатність тривалий час зберігатися без псування (вченими США ген ендотоксину введений у рослини картоплі, що дало можливість отримати трансгенні рослини, які не поїдаються колорадським жуком);

- здатні продукувати в інтересах людини хімічні речовини й ліки (реконструйовано картоплю для продукування альбуміну людини).

Швидкими темпами розвивається біоінженерія створення *трансгенних тварин*, які б:

- виробляли продукти медичного значення (трансгенні корови для отримання молока із вмістом певних лікувальних речовин);
- давали важливу інформацію при плануванні генної терапії у людини (трансгенні миші при вивченні пухлинних хвороб) та ін.

Нині в Україні випробовуються трансгенні сорти кукурудзи, цукрових буряків і ріпаку, стійкі роди гербіцидів; кукурудзи, стійкої проти кукурудзяного метелика, а також картоплі, стійкої проти колорадського жука. Створено систему органів, які із залученням спеціалістів (генетиків, селекціонерів, генних інженерів, екологів, медиків, токсикологів) оцінюють трансгенні сорти для визначення потенційного впливу на людину, тварин і навколишнє середовище. Лише після таких експертиз сорт допускається до випробування з дотриманням усіх відповідних вимог, прийнятих у Європейському Союзі.

Від трансгенних (трансформованих, генетично модифікованих) рослин, тварин, бактерій нині отримують генетично модифіковані продукти (ГМП). Гарантією проти небажаних наслідків генетичної модифікації рослин є законодавче регулювання поширення генетично модифікованих продуктів та розроблення пов'язаних з цим методів оцінки екологічного ризику. Крім того, значна увага приділяється достатній інформованості агрономів, селекціонерів, насінневодів, потенційних покупців щодо особливостей продуктів із генетично модифікованих рослин. В Україні та ряді інших країн прийняті закони, які попереджують несанкціоноване розповсюдження трансгенного насінневого матеріалу, що забезпечує моніторинг у посівах, а також маркування харчових товарів, виготовлених із ГМП або з їх додаванням.

Запитання для самоконтролю:

1. Що таке клітинна інженерія?
2. Які успіхи генної інженерії і на сучасному етапі?
3. Що таке трансгенні та химерні організми?
4. Які сучасні методи генної інженерії?
5. Які сучасні методи клітинної інженерії?
6. Що таке генетична інженерія?
7. Назвіть основні методи генної та клітинної інженерії.
8. Що таке клон?
9. Що таке клонування?
10. Що таке трансгенні тварини?
11. Наведіть приклади застосування генної інженерії у медицині.
12. Що таке генотерапія?