

Қазақстан Республикасы білім және ғылым министрлігі  
Е. А. Букетов атындағы Қарағанды мемлекеттік университеті  
Биология-география факультеті  
Ботаника кафедрасы

# Микроағзалар генетикасы

---

**5В070100-Биотехнология мамандығы үшін.**

**КУРС: 4**

**СЕМЕСТР: 7**

**МАШЖАН АҚЖІГІТ СЕМБАЙҰЛЫ**

# № 1 дәріс

## Микроағзалар генетикасына кіріспе

---

### Жоспары

- I. Микроағзалар генетикасының ерекшеліктері.
- II. Микроағзаларды БТ қолдану артықшылықтары.
- III. Микроағзаларды БТ қолданатын салалары.

# I. Микроағзалар генетикасының ерекшеліктері.

---

Барлық организмдерде, сонымен қатар бактериялар мен вирустарда генетикалық қасиеттерді анықтайтын тұқымқуалаушылықтың материалдық негізі – ДНК болып табылады. Тек РНК-лы вирустарда генетикалық ақпарат РНК-да. Жалпы генетиканық заңдылықтарды зерттеу үшін, негізгі модельді жүйе ретінде, бактериялар мен вирустарды таңдаудың молекулалық генетиканың дамуында үлкен маңызы бар.

## II. Микроағзаларды БТ қолдану артықшылықтары.

---

1. Гаплоидтылық, яғни бір хромосоманың болуы, доминанттылық көрінісін болдырмайды.
2. Жоғары жылдамдықта көбею.
3. Бактериялар мен вирустарды генетикалық талдау тәсілдерінің жоғары мүмкіндігі – олардың мутанттарын жиілігі 10<sup>-9</sup> және одан төмен деңгейде анықтауға мүмкіндік береді.
4. Жыныстық дифференциация – сәйкес генетиканың ақпаратты беретін және қабылдау мүмкіндігі бар донорлық және реципиенттік бактерия жасушаларының болуына негізделген.
5. Бактерияларда ДНК-ның ерекше фрагменттері – плазмидалар, транспозондар және Is–тіркесімдер болады.
6. Қажетті заттарды синтездейді.
7. Арзан Қ. О өсіруге болады.

## **II. Микроағзаларды БТ қолдану артықшылықтары.**

---

Қазіргі молекулалық генетиканың жетістігі гендік инженерия тәсілдерінің жетілуімен байланысты – ол прокариоттар немесе эукариоттарға тасымалдау немесе оқшаулау болып табылады. Бұл бұрын белгісіз генотиптерді, әсіресе бактериялар мен вирустардың арасында алуға және жаңа биотехнологиялық әдіспен вакциналар, интерферондар, гормондар және т. б. биологиялық белсенді заттар өндіруге негіз болды.

### III. Микроағзаларды БТ қолданатын салалары.

---

- Медицина. (*Str. griseus*, *Bacillus brevis*)
- Ауыл шаруашылығы. (*Agrobacterium tumifaciens*, *Rizobium*, *Azotobacter*)
- Тағамдық өндіріс. (*Asperhillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*)
- Биоремидация. (*Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*)
- Тағамдық емес өндіріс. (*Pseudamonas compestis*)
- Химиялық қосылыстар алу үшін.
- Тау кен өндірісі. (*Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thooxidans*)
- Ғылыми зертеулер. (*Escherichia coli*)

## III. Микроағзаларды БТ қолданатын салалары.

---

Кейбір мысалдар:

Медицина тарихында ерекше орын алатын ол антибиотиктер. Е. Хаувинк 1984 биотехнологияның даму кезендерін анықтағанда, оның бір кезеңін антибиотиктер дәуірі деп атаған. Антибиотиктер – бұл антимикробтық биологиялық белсенділігі бар табиғи заттар. Олар микробтық клеткалардан, өсімдік және жануар тіндерінен бөлінеді; химиялық жолмен синтезделуі де мүмкін. Жалпы антибиотиктердің 9000 астам түрлері белгілі, олардың ішінде пенициллиндердің, цефалоспорииндердің, әсіресе олардың жартылай синтетикалық туындылары, аминогликозидтердің, макролидтердің, сонымен қатар синтетикалық препараттардың ішінде – фторхинолондардың өндірісі басым.

Тағам өнеркәсібі.

Ашыту кезінде биотехнологиялық өнім алынады. Клеткада энергетикалық зат алмасу және биосинтез бір мезгілде және аралық метаболиттер мен бір ферменттің қатысуы арқылы жүреді.

---

*Saccharomyces cerevisiae*-нің төменгі және жоғарғы ашыту рассаларын ажыратады. Төменгі ашыту рассасына көптеген шарап және сыра ашытқылары жатады, ал жоғарғы ашыту рассасына –спирттік, наубайханалық және кейбір сыра ашытқылары жатады.

*Kluuveromyces fragilis* – ашытқыларын сүт сарысуындағы лактозаны ашыту арқылы спирт алу кезінде қолданылады.

*Zimomonas mobilis* – глюкозаны этанолға дейін Энтнер-Дудоров жолы арқылы ашытады.

*Asperhillus niger* – лимон және глюкон қышқылы өндірісінде қолданады.



Биоремедация.

Ксенобиотиктердің биодеградациясы, оның ішінде жылдар бойы қоқыстарда, суда және топырақтарда жиналатын пестицидтер мен токсикалық қосылыстар, тағамдық және өндеу өнеркәсіптер қалдықтарының утилизациясы экологиялық бт негізгі міндеттеріне жатады. Биоремедация, яғни қоршаған ортаны ластайтын агенттерден тазарту биогеоценозда микроорганизмдердің күшеюімен немесе олардың интродукциясымен қамтамасыз етіледі.

Жиі қолданылатын галогенделген гербицид 2,4 – дихлорфеноксисірке қышқылы *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* және т.б. Активті ыдыратады.

Аллилді спирті бар пестицидтерді *Nocardia*, *Corallina*, *Trichoderma vulgaris*, *Azotobacter* және т.б. ыдыратады.

Фософоорганикалық қосылыстарды *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* ыдыратады.

## № 2 дәріс

# Бактерияларға ДНҚ-ны енгізу.

1. Микроағзаларда рекомбинация түрлері.
2. Трансформация арқылы тікелей енгізу.
3. Конъюгация арқылы енгізу.
4. Бактериофаг ДНҚ-сын енгізу және трансдукция.

# 1. Микроағзаларда рекомбинация түрлері.

---

Бактерия донордан, бактерия реципиентке тек бір бөлігі түседі (экзогенді ДНК) осы процестерді іске асыру үшін бактерияларда рестриктазалар мен лигазалар қолданылады.

Бактерияларда рекомбинацияның 3 түрін ажыратады.

1. Жалпы (Законная)
2. Заңды емес (Незаконная)
- 3 Сайт-арнайы (Сайт-специфическая)

# 1. Микроағзаларда рекомбинация түрлері.

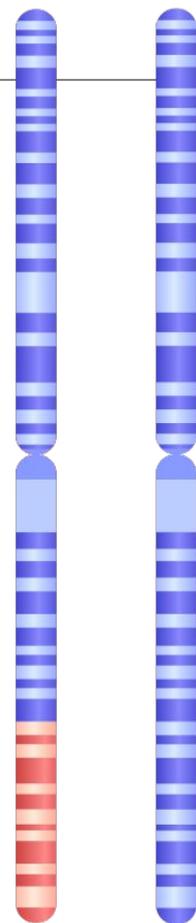
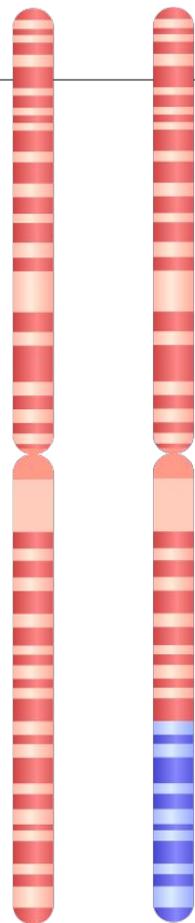
---

1. Жалпы немесе гомологиялық рекомбинация, әрекетесіп жатқан ДНҚ-дың бір-біріне гомологиялық үлескілері болса ғана генетикалық материалмен алмасу жүреді. Г.р. арнайы рекомбиназалар деген ферменттер қатысады. Г.р. тек жақын туыстас микроағзалар арасында жүреді.

гомологичные хромосомы

сестринские  
хроматиды

сестринские  
хроматиды



продукты обмена в ходе рекомбинации



# **1. Микроағзаларда рекомбинация түрлері.**

---

2. Заңды емес (Незаконная) рекомбинация ДНҚ-дың арасында гомолгиялық үлескілерді қажет етпейді. Заңды емес рекомбинация Is-элементтері (транспазондар) арқылы іс асады, оларда бактерия хромосмасына тез енуге мүмкіндік беретін жамысқақ ұштары бар.

3 Сайт-арнайы (Сайт-специфическая) рекомбинация кезінде спецификалық сайттар арасында ДНҚ үлекілерінің алмасуы жүреді. Табиғата көбіне осындай рекомбинация вирустың геномға интеграциясы кезінде байқауға болады.

## 2. Трансформация арқылы тікелей енгізу.

---

Трансформация бактерияларда табылған генетикалық алмасудың бірінші үдерісі болып есептеледі. 1928 ж Фредрик Гриффит капсуласы жоқ пневмококканың (*Streptococcus pneumoniae*) тірі жасушаларын және 65°C қыздырумен өлтірілген капсуласы бар пневмококк штамдарының жасушаларын тышқандарға енгізді, нәтижесінде капсуласы жоқ штамм капсуланы түзу қабілетіне ие болғаның анықтады. Осы қабілетті олар капсуласы бар штамнан алғаның байқады, яғни трансформация жүрді. Осыдан трансформация термині қалыптасты. Трансформация үдерісінің кемшілігі оның төмен тиімділігі болып табылады. ДНҚ-ның жүз мың молекуласынан жасушаға тек біреуі ғана енеді.

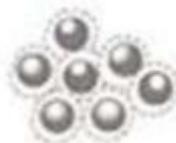
Бактерия  
колониясы



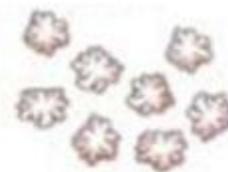
R штамм



S штамм



Өлі S штамм



Тірі R  
штамм



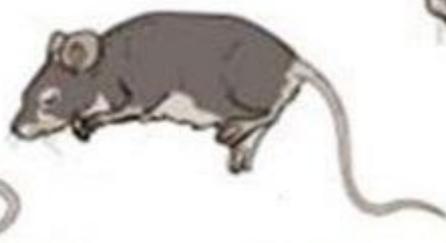
Өлі S  
штамм



Нәтиже



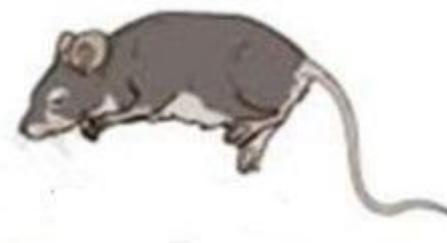
Тышқан тірі



Тышқан өлді



Тышқан тірі

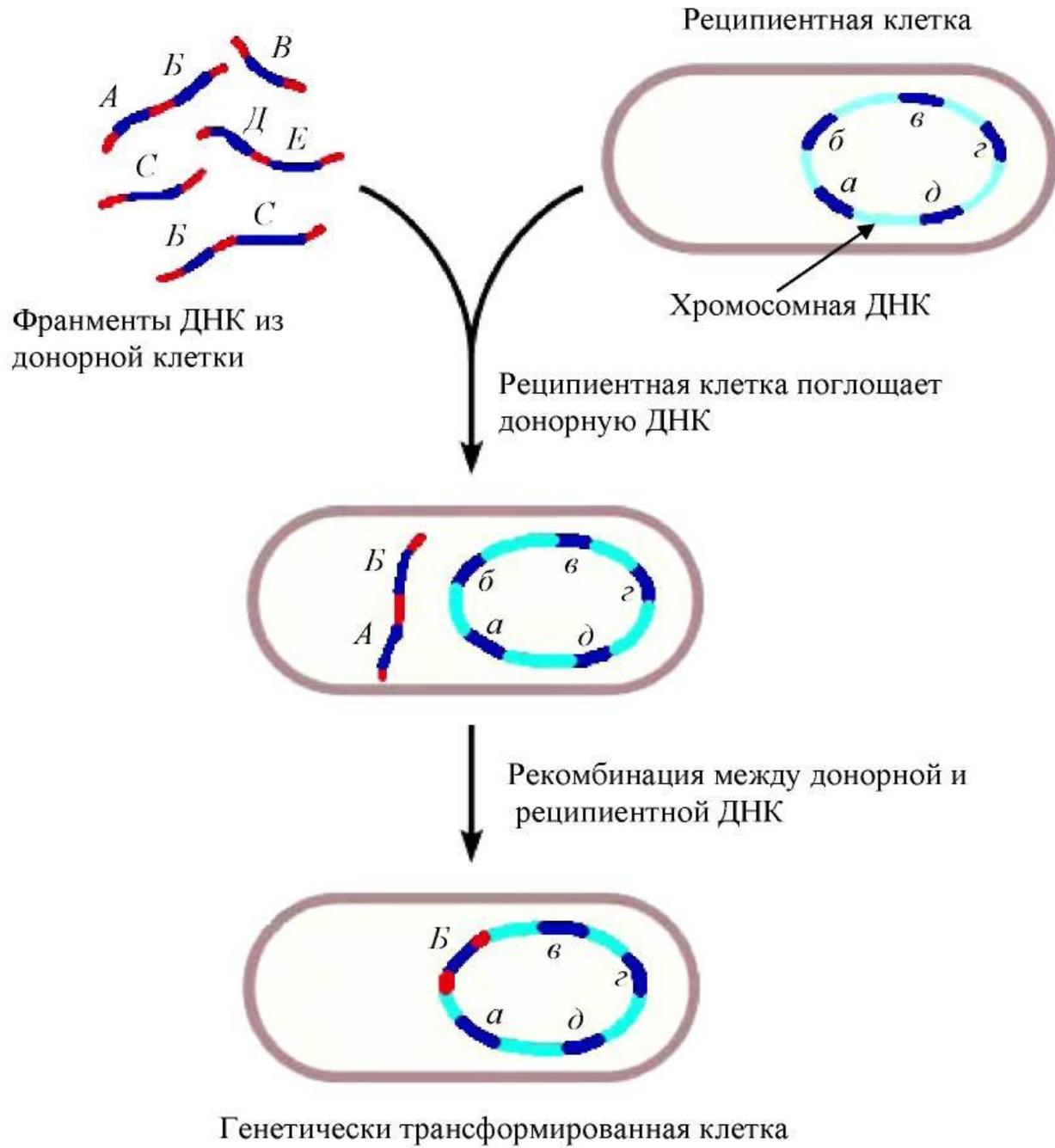


Тышқан өлді



Тышқан қанынан  
бөлінген тірі S штамм





Генетически трансформированная клетка

## 2. Трансформация арқылы тікелей енгізу.

1944 ж. Освалд Т. Эвери, Колин М. Маклеод және Маккарти әйгілі жұмыстарында трансформация үдерісінде генетикалық ақпаратты тасымалдайтын зат ДНҚ екені туралы жазды. Осы жаңалық заманауи молекулалық биологияның дамуына әкелді.

Қазіргі кезде біз пневмококк сияқты трансформацияға табиғи қабілеті бар бактериялардың бірнеше түрін білеміз.  
Мысалы:

*Basillus subtilis.*

*Neisseria gonorrhoeae.*

*Haemophilus influenza.*

## **2. Трансформация арқылы тікелей енгізу.**

---

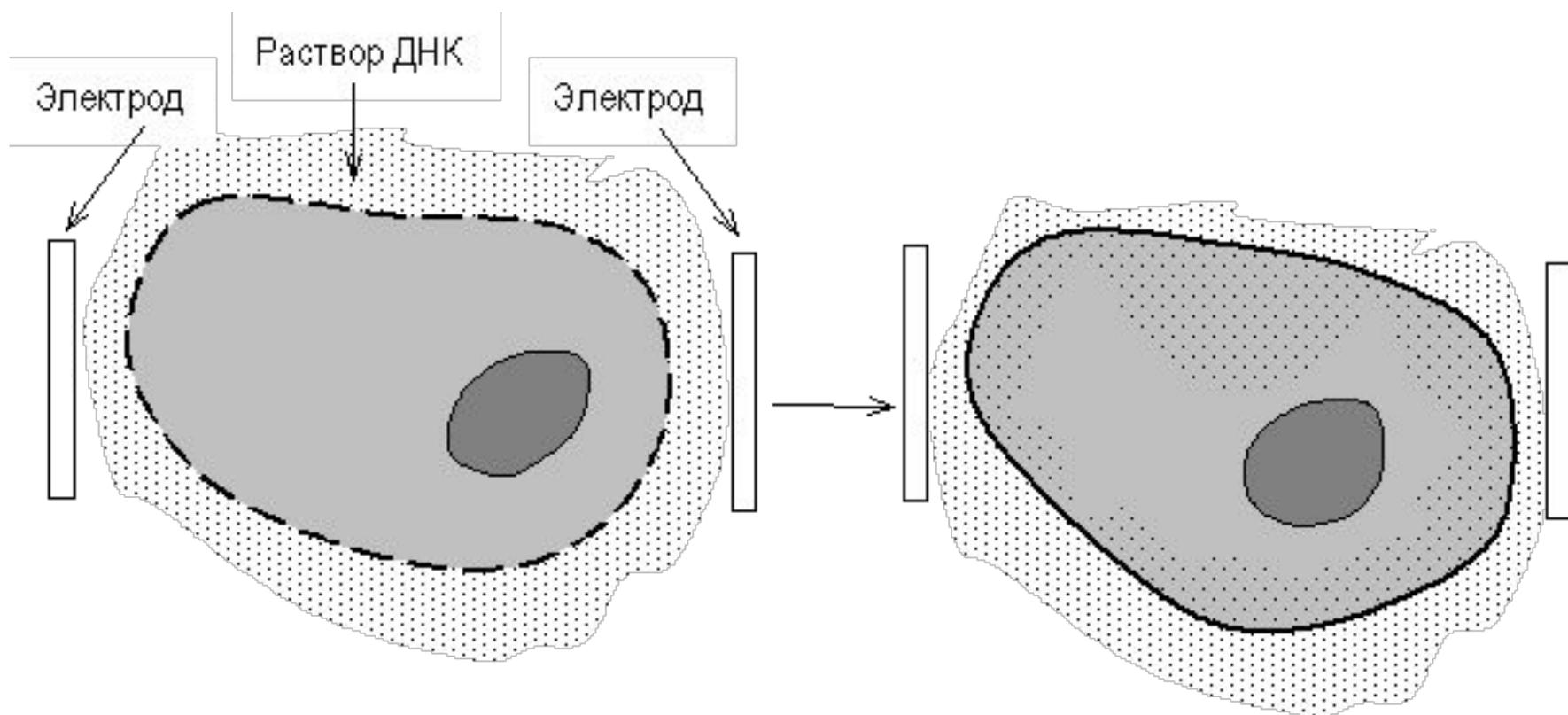
Құзыреттілік (компетентность) деп аталатын ДНҚ-ны сіңіру қабілеті әдетте белгілі бір жағдайларда пайда болады.

Биотехнологи жетістіктеріне орай жақсы зерттелген *E. coli* бактериясы жасанды трансформация үдерісінде экзогенді ДНҚ-ны сіңіру қабілетіне ие болға, оған келесі әдістермен жетуге болады.

## 2. Трансформация арқылы тікелей енгізу.

---

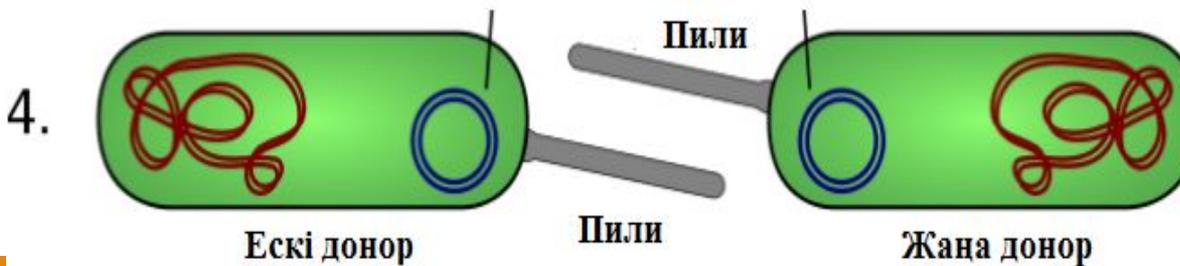
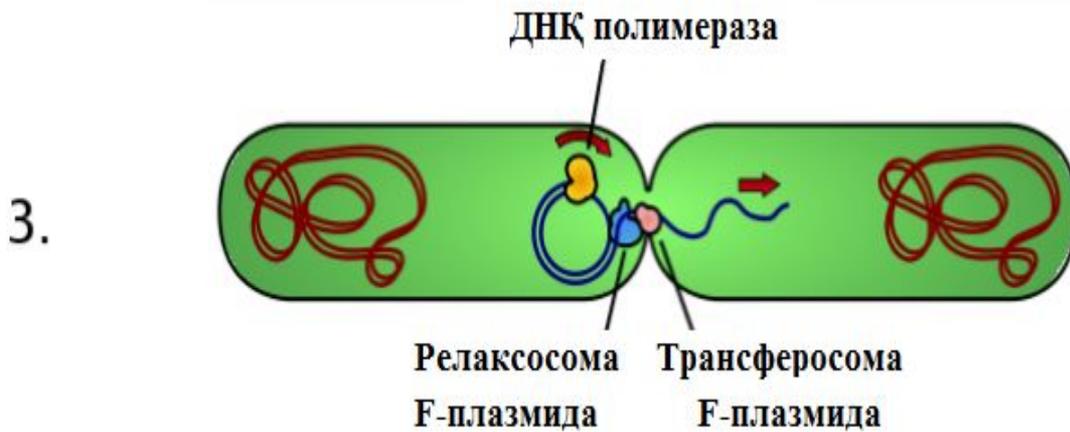
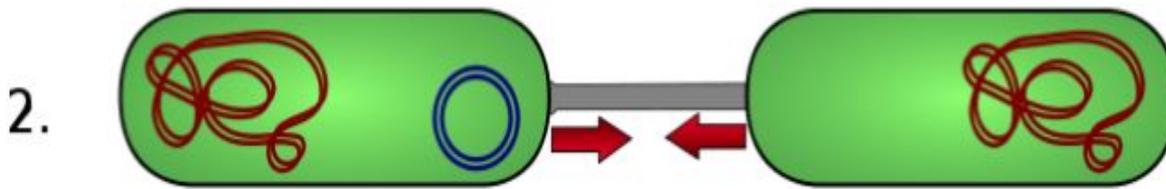
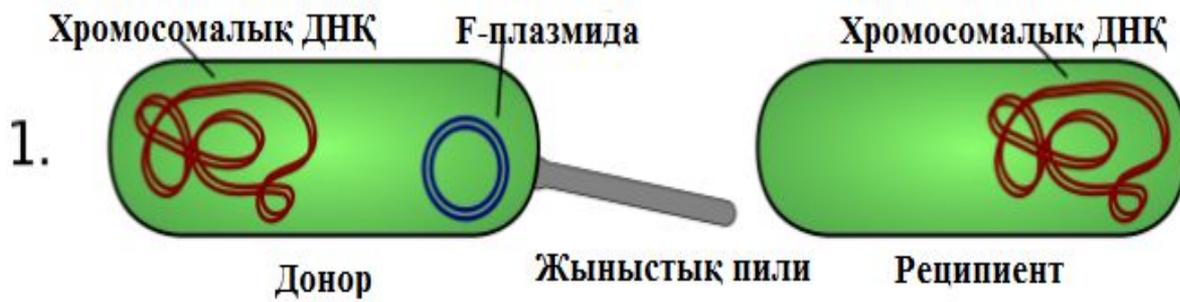
- Ішек таяқшасы жасушаларын ең бірінші  $0^{\circ}\text{C}$  температурасында  $\text{CaCl}_2$  өте жоғарғы концентрациясымен буферлі ерітінділерде ресуспензиялап, содан  $42^{\circ}\text{C}$  жылытып суытады да сол суспензияға ДНҚ-ны қосады нәтижесінде пайда болған мембаранадағы жарықтар арқылы ДНҚ цитоплазмаға түседі. құзыретті күйге айналдырады. Аналогиялық тәсілдер арқылы бактериялардың басқа кейбір түрлерінде трансформация жүргізуге болады, бірақ осы әдіс көптеген түрлер үшін жарамсыз.
- Ағзалардың көбіне қолдануға болатын әдістердің бірі – элетропорация. Осы үдерісте өте жоғарғы кернеудің қысқа электр импульстарын қолданады. Импульстар зарядталған топтары болатын жарғақшаның ассиметриялық компонентерін қайта бағыттандырып, жарғақшада өткізу тесітерін қалыптастырады.



# 3. Конъюгация арқылы енгізу.

---

1946 ж. Джошуа Ледерберг пен Эдвард Тайтэм бактериялар гендерінің конъюгациялық тасымалдауын ашты. Кейінгі зерттеулер жыныстық плазмида немесе F-плазмида бар жасушадан осындай плазмида болмайтын жасушаға тасымалдау бір бағытта жүретінін көрсетті. Тиімділігі 100 % болатын үдерісте жиі донордан реципиентке F-плазмида беріледі. Ода өзінің жеке репликация бастайтын нүктесі *oriV* және үзіліс нүктесі *oriT* бар. F-плазмидасы бар жасушаны F<sup>+</sup> белгілейді және оны ер (мужской) д.а. ол жасуша донор ретінде болады. F-плазмидасы жоқ жасуша F- деп белгіленеді және аналық (женской) д.а. және ол реципиент болады.



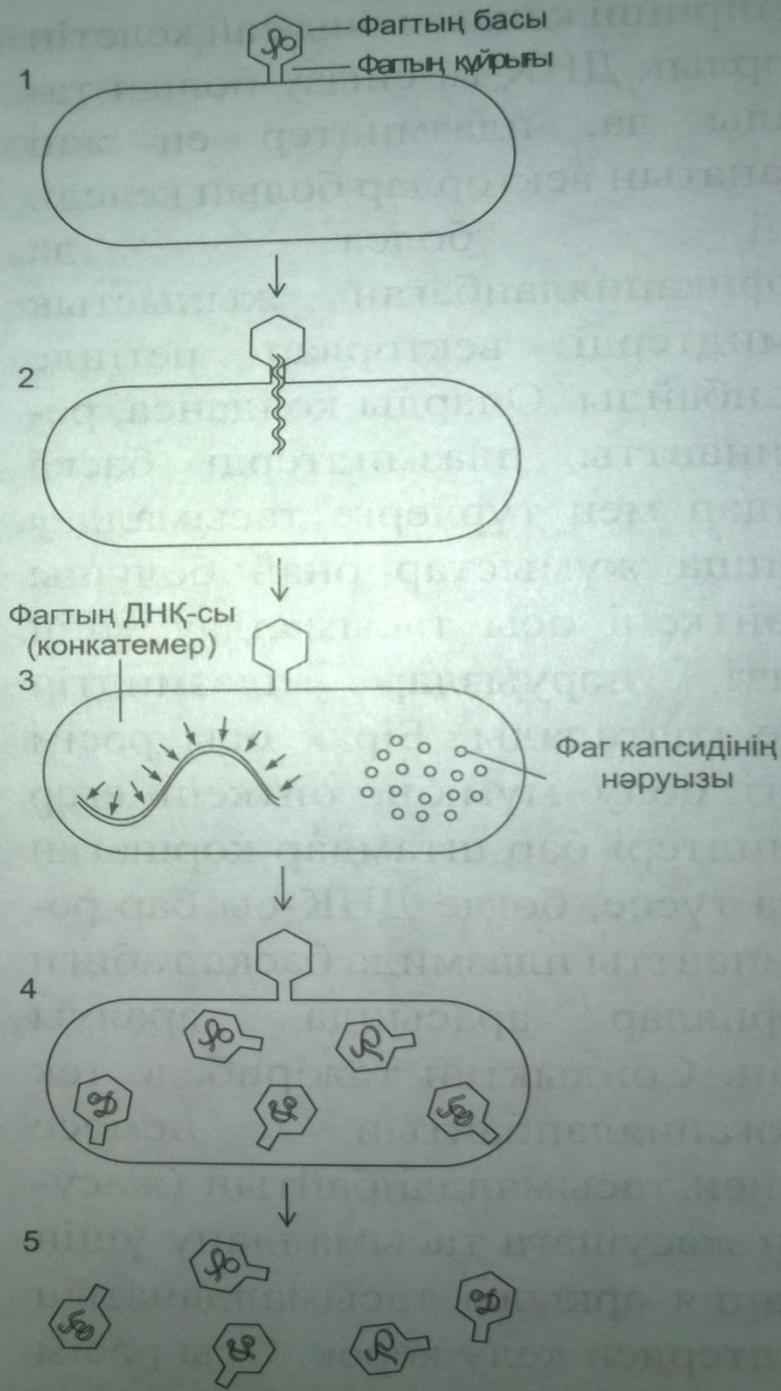
1. Донор клетка жыныстық пилиді шығарады.
2. Пили реципиент жасушаға бекінеді де екі жасушаны біріктіреді.
3. F-плазида жіпшелерінің белгілі бір нүктеде (OriT, тасымалдау басының нүктесі) кесіледі. Осы жіпше домалап жатқа сақина принципі бойынша репликацияланып 5' - шетімен біртіндеп ДНҚ реципиент клеткаға енеді.
4. Екі жасушада ДНҚ плазмиданың екінші тізбегін ары қарай синтездеп алады. Енді екі жасушада донор болды.

## 4. Бактериофаг ДНҚ-сын енгізу және трансдукция.

---

Бактериофагтар бактерия жасушаларын зақымдаған кезде әрбір вирус сезімтал жасуша-иесінде адсорбцияланып, өзінің вирус басындағы ДНҚ-сын өте жоғарғы тиімділікпен (100%-таяу) енгізеді. Жалпы айтқанда, трансдукция кезінде бактерия хромосоманың бір бөлігі бактериофаг көмегімен жасуша-реципиентке тасымалданады.





Бірінші бактериофаг жасушаның бетінде адсорбцияланады. Содан кейін фагтың ДНҚ-сы цитоплазмаға енеді.

Цитоплазмада фагтың ДНҚ-сы мен фаг капсидінің нәруыздары жеке синтезделеді. Фактардың көбінде ДНҚ көптеген геномды тізбектер бар конкатемер түрінде синтезделеді.

Соңында ДНҚ фагтың бір геномына сай келетін ұзындыққа кесіледі және фагтың басын қаптайды.

Содан кейін жасуша лизиске ұшырайды.

## 4. Бактериофаг ДНҚ-сын енгізу және трансдукция.

---

Фагтар бактерия жасушасында екі жолмен дамуы мүмкін:

Лизистік (литический) -Бактерияға фаг ДНҚ түскеннен кейін оның репликациясы басталып ақуыз синтезделіп көбейе бастайды, нәтижесінде клетка лизиске ұшырайды. Осы жолмен даймитын фагтар вирулентті деп атайды.

Лизогенді-Бактерияға фаг ДНҚ-сы түскеннен кейін ол хромосомаға еніп ішінде плазмида секілді өмір сүреді. Бактериофагтын бұл жағдайы профаг д.а. Фагтың репликация механизмі өзі синтездейтің репрессорлармен басылған. Репрессор коцентрациясы төмендеген кезде фагтар лизистік жолға түсуі мүмкін.

# № 3 дәріс

## Биопрепараттар өндірісі

---

1. Ішек микрофлорасы
2. Пробиотиктер
3. Пребиотиктер
4. Симбиотиктер
5. Пробиотиктер өндірісі.

# 1. Ішек микрофлорасы

---

Адам ішегінде 100 трилионға жуық микроорганизім өмір сүреді. Жалпы есепен алғанда 300 бен 1000 аралығына бактериялар түрі ішекте кездеседі.

Санырауқұлақтарда ішекте кездеседі, бірақ олардың активтілігі жәйлі ақпарат аз. Асқазанда қышқылдың әсерінен микробтар аз (лактобацилалар, стрептококалар, сарциналар). Аш ішектің дистальді бөлігінде 1мл шырында  $10^7-10^8$  шамасында аэробты және анаэробты микроб кездеседі. Тоқ ішектің дистальді бөлігінде  $10^9-10^{12}$  микроб кездеседі

# 1. Ішек микрофлорасы

---

Ішектегі микроорганизімдер түрі:

**анаэробты**

бактероидтар

бифидобактериялар

энтерококалар

кlostридиялар

эубактериялар

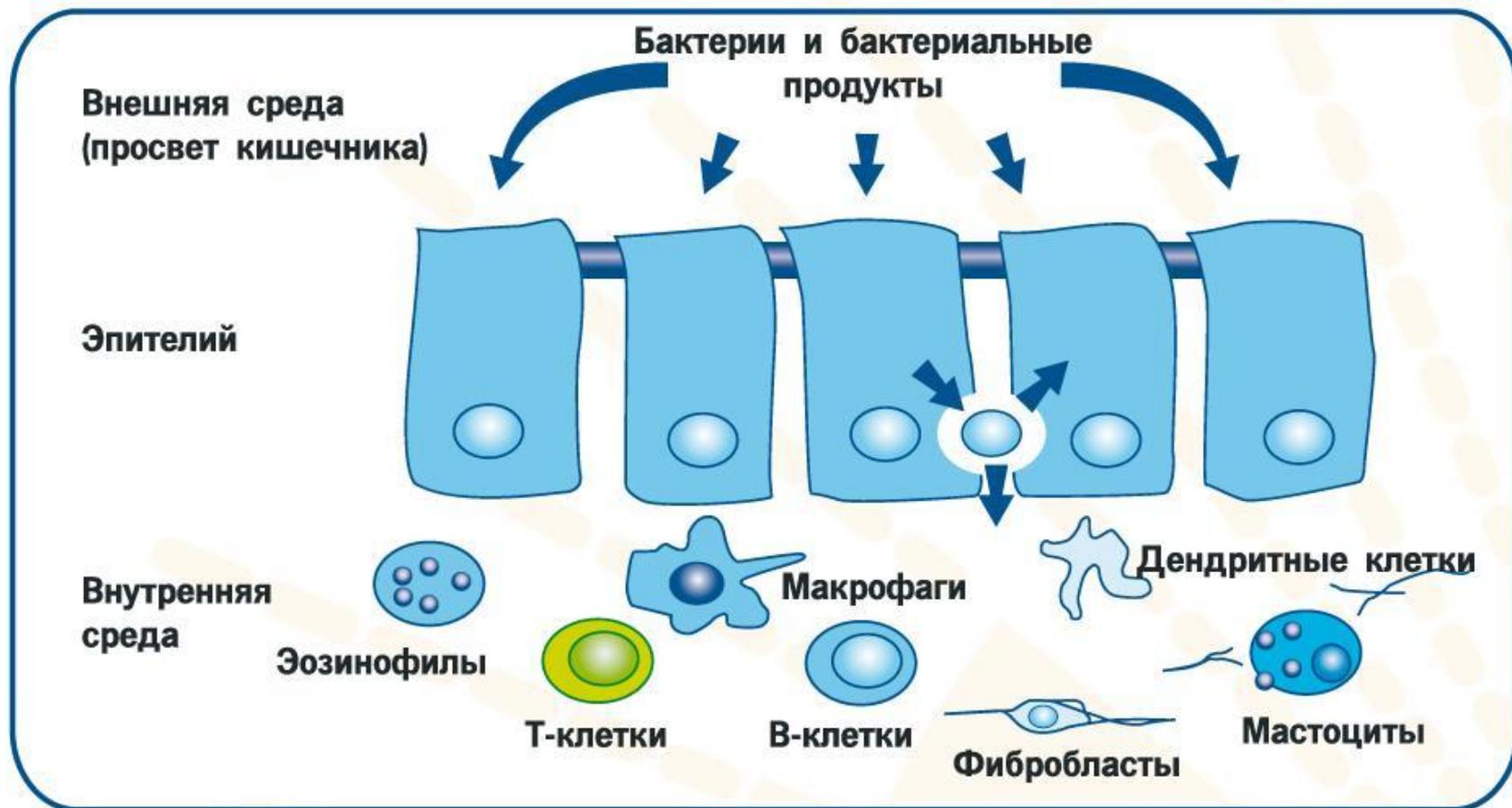
# 1. Ішек микрофлорасы

---

Ішек микроорганизімдерінің қызметі:

- Ыдырату: көмірсуларды, майларды, ақуызды ыдырату.
- Имундық: Имуноглобулиндердің түзілуіне маңызды заттар синтездеу. Адам ішегінде 70%-ке жуық имундық жасушалар бар.
- Метаболизмдық: Витамин, сутегі, метан, спирт, асқазан қышқылы, стероидтар (холостерол) синтезі.
- Қорғаныштық: Антоганистер.

# Ішектің астарында көптеген имундық жасушалар орналасқан (пейеровы бляшки)



# 1. Ішек микрофлорасы

---

Ішек микрофлорасын бұзатын факторлар:

- ❖ Антибиотиктер және басқада дәрі дәрмектер.
- ❖ Микробтық инфекциялар.
- ❖ Диета.
- ❖ Хроникалық диарея.
- ❖ Стресс.
- ❖ радиация және химиятерапия



# 1. Пробиотиктер

---

Пробиотиктер - дәрілік препараттар немесе тағамға биологиялық активті қоспалар ретінде қолданылады, құрамы тірі микроорганизмдерден тұратын адамның қалыпты микрофлорасының өкілдері болып табылады. Пробиотиктер жәйлі бірінші болып гипотиза ұсынған орыс ғалымы Илья Мечников.

# 1. Пробиотиктер

---

Пробиотиктер пайдасы:

- ✓ Сүт қышқылын өндіреді, ол өз кезегінде ішіктің рН деңгейін дұрыстайды. Патагенді бактерияларға ингибитор.
- ✓ Адам ағзасына токсикалық заттарды ыдырату.
- ✓ Минералдардың сінуіне көмек береді, әсіресе Са.
- ✓ В-D галоктоза ферменттерінің синтезі олар өз кезегінде лактозаны ыдыратады.
- ✓ Патогендерге қарсы ацидофилин және бактерицин синтезі.
- ✓ Витамин синтезі әсіресе В және К тобындағы.

# 1. Пробиотиктер

---

Пробиотиктер құрамы:

*Lactobacillus* түрлері.

- *L. acidophilus*.
- *L. plantarum*.
- *L. casei*.
- *L. brevis*.
- *L. bulgaricus*.

*Bifidobacterium* түрлері.

# 1. Пробиотиктер

---

Құрғақ және сұйық пробиотиктер:

Құрғақ пробиотиктер – олар лиофилизацияланған микроорганизмдерден тұрады, ол ұнтақ, капсула немесе таблетка түрінде болады.

Сұйық пробиотиктер – олар лиофилизацияға ұшырамаған бастапқы пробиотиктер.

# 3. Пребиотиктер

---

Пребиотиктер - асқазан-ішек жолының жоғары бөліктерінде қорытылмайтын және сіңірілмейтін, бірақ адамның тоқ ішегінің пайдалы микрофлорасымен ферменттеліп, оның өсуін және өмір сүруін ынталандыратын тағам компоненттері. Г. Гибсон және М.Роберфройдтың классикалық анықтамасы бойынша пребиотиктерге көмірсулар жатады. Олар екі қасиетке ие: қорытылмайды және жоғарғы ас қорыту мүшелерде сіңбейді жуан ішектің микрофлорасымен селективті ферменттеледі, осыған орай пайдалы бактериялардың өсуін жылдамдатады

# 3. Пребиотиктер

---

Қызметі:

Олар жуан ішекте өмір сүретін бактериялардың топтарының метоболитикалық активтілігін, стимуляциялануына байланысты денсаулықты жақсартады. Ішектің эндогендік микрофлорасының өсуін реттейді.

Кездесуі:

Сүт тағамдарында, жүгеріде, нанда, пиязда, сарымсақта, фасольде, бұршақта, бананда және т.б тағамдарда кездеседі.

# 3. Пребиотиктер

---

**Пребиотиктер, пробиотиктерге қарағанда, микрофлораға артығырақ ықпал ете алады, себебі:**

асқазан-ішек жолында бұзылмайды және антибиотиктердің жою әсері мен асқазанның қышқыл ортасына тез берілмейді;

адамның көптеген пайдалы бактерияларының жеке штаммдарының өсуін және дамуын ынталандырады;

ағзаның қайталама иммундық жауабын туындатпайды, өйткені оның құрамында өзге текті гендер жоқ;

антибиотиктер резистенттілігінің (антибиотиктерге төзімділігінің) гендерінен тұрмайды.

# 3. Пребиотиктер

---

Қасиеттері	Пребиотик	Пробиотик
Әрекеті	Ішек жеке микрофлорасының өсуін ынталандыру	Ішек микрофлорасының сырттан орналасуы
Құрамы	Ішектегі пайдалы бактериялар үшін тағам болып табылатын заттар	Ішектің пайдалы микрофлорасының тірі жасушалары: лакто- және бифидобактериялар және т.б.
Ас қорыту органдары арқылы өтуі	Пребиотиктер АІЖ жоғарғы бөліктерінде қорытылмайды және 100% ішекке жетеді	Қабылданған пробиотиктердің 5-10% ғана ішекке жетеді
Тиімділігі	Пребиотиктер пайдалы бактериялардың барлық популяциясының өсуін ынталандырады	Пробиотик пайдалы бактериалардың 1-3 түрінен ғана тұрады



# 4. Симбиотиктер

---

Симбиотиктер – бұл пробиотиктердін және пребиотиктердің қосындысы.

Атауы	Саудалық атауы	Пробиотик	Пребиотик
	Бифидум – мульти 1	<i>Bifidobacterium infantis</i> 73-15, <i>B. infantis</i> 79-43, <i>B. breve</i> 79-119, <i>B. breve</i> 79-88, <i>B. bifidum</i> 1, <i>B. bifidum</i> 791	
Амфита	Бифидум – ульти 2	<i>Bifidobacterium breve</i> 79-88, <i>Bifidobacterium infantis</i> 79-43, <i>Bifidobacterium bifidum</i> 1, <i>Bifidobacterium bifidum</i> 791, <i>Bifidobacterium longum</i> B379M, <i>Bifidobacterium longum</i> Я-3.	пектин и порошок из клубней топинамбура
Бифиллю КС	Нормофлорин-Л	<i>L.acidophilus</i>	лактит
	Нормофлорин-Б	<i>B.bifidum</i> , <i>B.longum</i>	лактит
	Нормофлорин-Д	<i>L.casei</i> , <i>B.bifidum</i> и <i>B.longum</i>	лактит
Эвалар	Бифилар	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus acidophilu</i>	Фруктоолиго- сахариды

# 5. Пробиотиктер өндірісі.

---

**Ферментация:** қоректік орта + микроорганизм

**Филтрация:** қоректік органы.

**Лиофилизация:** бактерия  $-18-17^{\circ}\text{C}$  аралығында вакуум ішінде кептіріліп қатырылады.

**Ыдырату:** пудраға дейін.

**Тегістеу:** бір консистенция.

**Орау:** капсула, таблетка т.б.

# № 4 дәріс

## Микробты инсектицидтер

---

1. Пестицидтер тарихы.
2. Химиялық пестицидтерді қолданудың кемшіліктері.
3. Микробты инсектицидтер

# 1. Инсектицидтер тарихы.

---

Ауылшаруашылық дақылдар үшін адам мен бунақденелілердің арасындағы бәсекелестіктің тарихы ауылшаруашылық сияқты өте бұрыннан келе жатыр. Бунақденелілерге қарсы химиялық заттардың анағұрлым қысқа тарихы бар. Фермерлер зиянкестермен күресу үшін химиялық заттарды 1800 жылдардың ортасынан бастап қолданды. Алғашқы инсектицидтерге көбінесе мышьяқтың бейорганикалық және органикалық қосылыстары ғана жатқан, ал содан кейін хлорорганикалық қосылыстар, фосфаттар, карбаматтар, пиретроидтер және формамидиндер жататын болды. Олардың көбі әлі де қолданылады.

## 2. Химиялық пестицидтерді қолданудың кемшіліктері.

---

Химиялық пестицидтерді қолданудың келесі кемшіліктері бар:

- Бір химиялық қосылыстың кең қолданылуы, осы заттарға төзімділікке ие зиянкестердің ұрпаөтарының дамуына әкелді. (*Musca domestica*)
- Пестицидтер талдаулы әсер етпейді.
- Пайдалы бунақденелі-жыртқыштардың кездейсоқ жойылуы екінші реттік зиянкестердің жаппай көбеюіне әкеліп соқты.
- Көптеген пестицидтердің уыттылығы мен қоршаған ортада тұрақтылығы жоғары.

# 3. Микробты инсектицидтер

---

Жоғарыда көрсетілген кемшіліктердің бірігіп әсер етуі зиянкестермен күресудің жаңа баламалы амалдарын іздеуге күшті ықпал етті. Барлық тіршілік иелері сияқты бунақденелілер де патогендік мироағзалар мен вирустардың жұғуына сезімтал болып келеді.

Микробты инсектицидтердің артықшылықтары:

- Қоршаған ортаға зиянды емес.
- Пайдалы бунақденелілердің кездейсоқ жойылуына әкеліп соқпайды.
- Омыртқалы жануарлар үшін уытты емес.
- Тандаулы әсер етеді.

# 3. Микробты инсектицидтер

---

Осы пайдалы ерекшелікке қарамастан зиянкестермен күресудің микробты агенттері барлық сатылатын инсектицидтердің 1% - ынан азын құрайды.

*Bacillus thuringiensis* зиянкестермен күресу үшін 1920 жылдардан бастап қолданылды. Биологиялық агенттер көмегімен зиянкестермен күресу үшін сатылатын инсектицидтердің 90%-ынан астамы әлі де осы бактерия болып келеді. 1996 жылдан бастап *B. thuringiensis* инсектицидті нәруыздарын экспрессиялайтын ауылшаруашылық дақылдардың трансгендік өсімдіктері кең қолданылатын болды.



# № 5 дәріс

## *Bacillus thuringiensis*

---

1. *Bacillus thuringiensis* ашылу тарихы.
2. *Bacillus thuringiensis*-тің әсер ету механизымы.
3. *Bacillus thuringiensis* бөлетін  $\delta$ -эндотоксин түрлері.
4. *B. thuringiensis* В-экзотоксині.
5. *B. THURINGIENSIS ISRAELENENSIS* түршесі инсектицид ретінде.

# 1. *Bacillus thuringiensis* ашылу тарихы.

---

Шигатане Ишивате *B. thuringiensis* бактериясын ашты. Ол 1901 жылы Жапонияда фляшениямен ауыратын тұт жібек құрты (*Bombyx Mori*) дернәсілдерінен осы бактерияны бөліп алып, *Bacillu Sotto* деп атады. (*Sotto* – бұл жапондық сөз ақсау деген сөзге ұқсас) *B. thuringiensis* әсерінен дернәсілдер өледі, содан кейін жұмсарып , босайды және бос болып ақырында қараяды.

1911 ж Эрнст Берлинер осыған ұқсас бактерияны Жерорта теңізі үң күйе көбелегінің ауру дернәсілдерінен бөліп алды. Осы патогенді Тюринген провинциясында ашқандықтан, оны Берлинер *B. thuringiensis* деп аталы.

1976 жылға дейін *B. Thuringiensis*-тің тек қабыршақ қанаттыларға (көбелектер мен күйе көбелектерге) патогенді болатын штамдары белгілі болды. Бірақ кейінгі зерттеулер қос қанаттылар (шыбындар, шіркейлер мен масалар) мен қатқыл қанаттылар (қоңыздар) үшін патогенді болатын штамдардың бөлініп алуына әкеліп соқты.

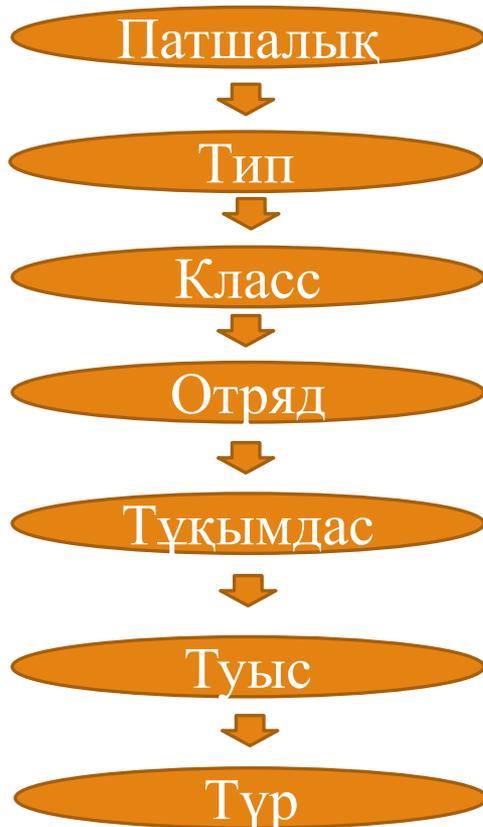
# 1. *Bacillus thuringiensis* ашылу тарихы.

Джо-эл Маргалит қос қанаттылардың бірінші патотипі *B. thuringiensis* var. *Israelensis*-тің ашылуы туралы қызықты әңгіме ұсынды.

1975-1976 жылдары Изральде Тахори мен Маргалит деген ғалымдар масалардың биобақылау агенттерін зерттеді. Негев шөлінде өзеннің арнасы кеуіп кеткен кішкентай тоғанды тапты. Осындай жағадайлар масалардың көбеюі үшін жағымды болып келді. Тек өлі және өлу халіндегі дернәсілдер эпизооттық жағдайда болды. Олар тоғандағы суды алып зертханада зерттеп *B. Thuringiensis*-ті бөліп алып оны *B. thuringiensis* var. *Israelensis* деп атады.

1983 ж *Coleoptera* қоңыздарының дернәсілдеріне қарсы тиімді болатын *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* патотипі ашылды. Оны АҚШ-та колорад қоңыздарына қарсы алғаш қолданды.

# Жіктелу және филогения



Жалпы келісім бойынша түр бойынша ғылыми атаулар қиғаш жасумен жазылады немесе асты сызылады.

Түр тармағының төменгі деңгейінің қосымша дәрежесі: Патотип, серотип және биотип деп қосылады, бұл қосымшалар штамм ерекше сипаттамаларға ие болып оларды сипаттаған кезде қажет.

**Патовар** рангі (немесе патотип) белгілі иесі немесе иелері үшін патогенді қасиеттерге ие ағзаға беріледі.

**Серовар** (немесе реотип) ерекшеленген антигендік қасиеттері бар ағзалар жатады.

**Биовар** (немесе биотип) ерекше биохимиялық немесе физиологиялық қасиеттері бар штамдарға қатысты қолданылады.

# Жіктелу және филогения

---

Санат

Патшалық

Тип

Класс

Отряд

Тұқымдас

Туыс

Түр

# 1. *Bacillus thuringiensis* ашылу тарихы.

*B. Thuringiensis* не өлі ағзалардың ыдыраған органикалық заттармен, не тірі бунақденелілердің ұлпаларымен қоректенетін грам-оң топырақ бактериясы.

*B. Thuringiensis* штамдары олардың инсектицидті диапазоны негізінде алты патотипке жіктеледі.

Иесі	Патотипі
Қабыршақ қанаттылар үшін	<i>B. T var berliner</i>
Қос қанаттылар үшін	<i>B. T var israelensis</i>
Қатқыл қанаттылар үшін	<i>B. T var tenebrionis</i>
Қабыршақ қанаттылар мен қос қанаттылар үшін	<i>B. T var aizawai</i>
Қабыршақ пен Қатқыл қанаттылар үшін	<i>B. T var thuringiensis</i>
Бунақденелілерде белгісіз уыттылығымен	<i>B. T var Dakota</i>

## 2. *Bacillus thuringiensis*-тің әсер ету механизімі.

---

1915 ж фляшениямен ауырған дернәсілдерін зерттегенде *B.t.* Споруляция кезінде уытты болып келетіндігі анықталды. Споруляция кезінде (споруляция 8 сағат алады) кристалдың екі түрі кездеседі:

1. Бипирамидалық кристал (үлкен)
2. Текше кристалдық (кіші)

Коммерциялық инсектицид Dipel ТМ *B. thuringiensis* инсектициді қалай әсер ететінін көрсетеді. Осы өнім *B. thuringiensis* var. *Krustaki* споруляцияланған жасушаларынан тұратын құрғақ ұнтақ болып табылады. Өсімдіктерді осы ұнтақты сеуіп өңдейді. Ұнтақ нәруызы бар үлкен кристалдық қосындылар және споралар белсенді ингредиенттер болып табылады. Өндегеннен кейін дернәсілдер осы жапырақтты жейді. Ұнтақ қосындыларында бес әртүрлі инсектицидтік кристалдық нәруыз бар. Кристалдар  $\delta$ -эндотоксиндер ретінде белгілі белсенді емес протоксинді молекулалардан тұрады.

## ***2. Bacillus thuringiensis*-тің әсер ету механизімі.**

---

Осы протоксин дернәсіл ішегіне түскеннен кейін олардын ішектің сілтілі сөл кристалдарды еріткеннен кейін ішектің протеазалары протоксинді ыдыратып белсенді ақуыздық токсиндерді түзеді. Бунақденелілерде ішегінде перитрофтық жарғақша болады ол ішекті ішінен қаптап қоректік заттарды ішек эпителиінен бөліп тұрады. Жетілген нәруыз токсиндері перитрофты жарғақшадан өтеді, диффузия арқылы эпители рецепторларымен байланысып диаметрі 10-20 А° кеуектерді қалыптастырып жасушаға өтеді. (сал ауруы п.б)

Иондық реттеудің бұзылуы ішек бұлшық еттерінің және ауыз апараттарының сал болуын тудырады, нәтижесінде осы дернәсілдер қоректен алмайды. Ішек эпителиндегі кеуектер арқылы споралар гемолимфаға түсіп көбейеді, үш күннен кейін бунақдененің өліміне әкеледі.



# 3. *Bacillus thuringiensis* бөлетін $\delta$ -эндотоксин түрлері.

---

*B. thuringiensis* кейбір штамдары тек қана бір  $\delta$ -эндотоксинді өндірсе, басқалары әртүрлі ерекшелігі болатын бірнеше  $\delta$ -эндотоксинді өндіреді. *B. thuringiensis* var. *Krustaki* HD-1 осы штамның 2-і кристалдық қосындыны өндіреді, біреуі **биперамидалы**, екіншісі **текше кристал** ол биперамидалық кристалдың үшінда орналасады. Осы биперамидалық кристалда қабыршақ қанаттыларға қарсы инсектицидті белсенділікке ие, оның салмағы 135-145 кДа бірнеше протаксин болады, ал текше кристалдар қабыршақ қанаттыларға қарсы салмағы 65-кДа 1 протоксин болады.

Салмағы 140 кДа нәруыздың гені мөлшері 67 м.н.ж плазмидте орналасады, ал салмағы 65 кДа нәруызды кодтайтын гендер мөлшері 174 м.н.ж плазмидте орналасады.

# 3. *Bacillus thuringiensis* бөлетін $\delta$ -эндотоксин түрлері.

---

Осы кристалдық нәруыздардың гендерің 2-і топқа жіктейді:

- Cry – ағза нысанаға улағыш әсер ететін параспоралық қосындылардың нәруызы. Cry – нәруыздары қабыршақ пен қатқыл қанаттыларға уытты.
- Cyt – нәруызы гемолиздік әрекетке ие болатын параспоралық қосындылар нәруызы. Cyt – нәруызы *B. T var israelensis* патотипі өндіреді. Cyt – нәруыздары безгек масалары шіркейлер сияқты қос қанаттыларға уытты болып келеді.

## 4. *B. thuringiensis* В-экзотоксині.

---

Вегетацияның белсенді кезеңінде *B. thuringiensis* кейбір штамдары  $\beta$ -экзотоксиндер деп аталатын төмен молекулалық термотұрақты токсиндерді өндіреді. Осы токсиндердің нуклеотид-тәрізді құрлымы болады және олар ДНҚ-ға тәуелді РНҚ-полимеразаның белсенділігін бактерияларда да, сүтқоректілер жасушаларында да ингибирлейді. Бұл токсиндер бунақденелілермен қоса сүтқоректілерге де әсер етеді, сол себепті С. Америка мен Б. Еуропада  $\beta$ -экзотоксині болатын құралдардың қолдануына тыйым салынды.

Ш. Еуропа мен Африканың кейбір бөліктерінде  $\beta$ -экзотоксинен жасалған құралдар шошқа қорасы, дәретханалар мен биодәретханаларда шыбындар дернәсілдерімен күресу үшін қолданылды. Осы инсектицидтер омыртқалы жануарларға әсер етпейтін дозада себілді.

## ***B. THURINGIENSIS ISRAELENISIS*** **түршесі инсектицид ретінде.**

---

*B. T* var *israelensis* (*Bti*) түршесінің параспоралық қосындыларында қос қанаттылардың дернәілдері үшін уытты болатын төрт нәруыз бар: Cry4A (128 кДа), Cry4B (134 кДа), Cry11A (72 кДа), δ-эндотоксиндері үш-домендік Cry нәруыздары тобының мүшелері болып табылады. Төртінші нәруыз цитоліздік Cyt1Aa1 (27 кДа) токсині болып келеді. Осы нәруыздардың төртеуі бірге болғанда жоғары уытты әсер етеді. Осы препарат масалар мен шіркейлер көбейетін жерлерде ларвицитті өндеу үшін қолданады. Сол үшін осы *Bti* бактериясы үлкен масштабта өсіріледі. *Bti* тек осы 4 нәруыздан тұрады, бұнда споралар жоқ.

# № 6 дәріс

## Бунақденелілерге төзімді трансгендік дақылдар.

---

1. Кіріспе.

2. Бунақденелілерге төзімді өсімдіктер линияларының дамуы.

3. ГМ-Мақтасы 531 линиясының CRY1AC экспрессиясына сипаттама беру және дамуы.

# 1. Кіріспе.

---

Бүкіл әлемде 30 миллион акрдан көп жерде осы бунақденелерге төзімді дақылдар өсіріледі, осы дақылдарда Vt-дақылдары д.п аталады. Олар – жүгері, мақта, картоп, күріш (жақында қосылды.)

Vt-Cry токсиндеріне сезімтал жүгері, мақта мен картоп.

Дақыл	Зиянкес
Жүгері	Қара сүркөбелек. Жүгері айыркүйрығы. Қарапайым түнгі көбелектер. Жүгері жапырақты сүркөбелегі. Сотүстік жүгері қанкөбелегі. Жүгері қанкөбелегі.
Мақта	Мақта сүркөбелегі. Қызғылт сүркөбелек. Темекі сүркөбелек.
Картоп	Колорадо қоңызы.

## 2. Бунақденелілерге төзімді өсімдіктер линияларының дамуы.

---

Өсімдіктер жасушаларына бөгде ДНҚ енгізу үшін үш әдіс қолданылады:

- 1. Протопласттар электропорациясы.**
- 2. ДНҚ-мен қапталған бөлшектермен өзімдік жасушаларын мергенді антқылау.**
- 3. Ті-плазмидалары көмегімен трансформациялау.**

Vt дақылдары екінші және үшінші әдістері арқылы трансформацияланған жасушалық линиялары алынды.

## 2. Бунақденелілерге төзімді өсімдіктер линияларының дамуы.

Дақыл	Нәруыз	Қайнар көзі	Төзімділік көрсететін ағза
Мақта	Cry1Ac	<i>Bt subsp. kurstaki</i>	Мақта сүркөбелегіне, қызғылт қауашақ құртына, темекі жапырақ ширатқышына және жүгері шатырқанат көбелегіне төзімділік.
Мақта	Cry1Ab	<i>Bt subsp. kurstaki</i>	Жүгері шатырқанат көбелегіне төзімділік.
Жүгері	Cry9C	<i>Bt subsp. tolworthi</i>	Қабыршақ қанатты бунақденелілердің нақты түрлеріне төзімділік
Картоп	Cry3A	<i>Bt subsp. tenebrionis</i>	Колорадо қоңызына төзімділік



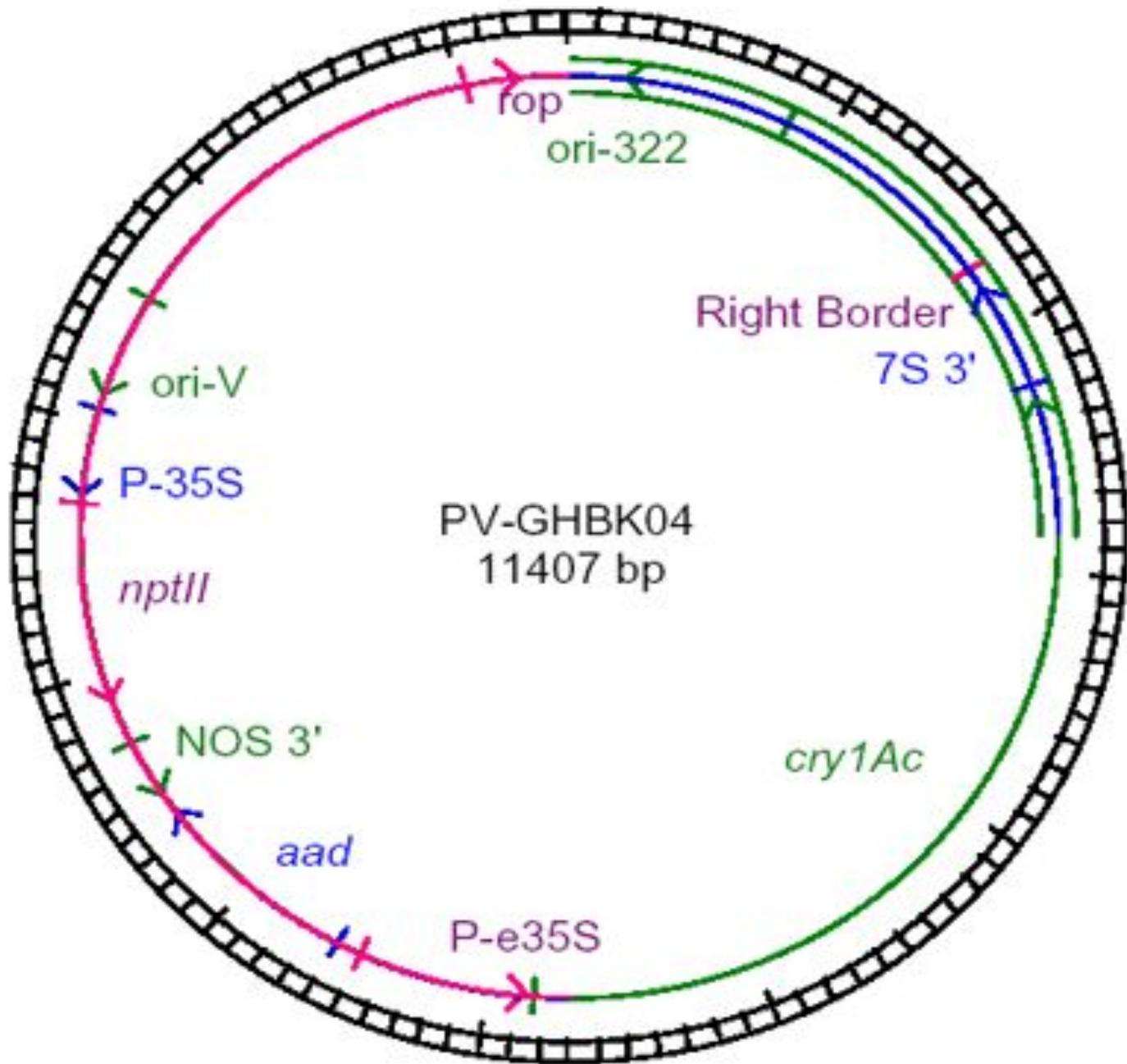
### **3. ГМ-Мақтасы 531 линиясының CRY1AC экспрессиясына сипаттама беру және дамуы.**

---

1992 жылы Монсанто қабыршақ қанатты бунақденелілердің негізгі зиянкестеріне төзімді ГМ-мақтаның сынақ тәжірибесін бастады. Monsanto Technology LLC Bollgard Cotton Event 531 деп белгіленген мақтаның бұл линиясы содан бергі уақыттан коммерциялық мақта линиясының кең түрде өсірілуіне ықпал етті. Бұл линия бір уақытта бунақденелілерге және гербицидтерге төзімді болып табылады.

531 линиясын дамыту *A. Tumefaciens*-тің модификацияланған Tі плазмидтерін бинарлы плазмидті вектормен мақта ұлпасына трансформация жасаумен басталған, оның PVGNBK04 векторының картасы көрсетілген, оның құраушы сайттарының рөлі сағат тіліне қарама-қарсы сипатталған.

# Plasmid map of PV-GHBK04



### 3. ГМ-Мақтасы 531 линиясының CRY1AC экспрессиясына сипаттама беру және дамуы.

---

**Ori322/rop сайты.** Инженерлік және PV-GHBK04 амплификациялық жұмыстың нысаны ішек таяқшасы болғандықтан Ori322 сайты pBR322 векторынан алынды. Бұл сайт ішек таяқшасында жеке репликация жайсай алады. Rop сайты репликацияның инициациясын реттеуге қатысатын кішкентай нәруызды кодтайды. Осы жерде тағы да oriT болады, ол *E. Coli*-ден *A. tumefaciens*-ке тасымалдау үшін қажет.

**OriV сайты** *A. tumefaciens*-те автономды репликациялана алады.

### 3. ГМ-Мақтасы 531 линиясының CRU1AC экспрессиясына сипаттама беру және дамуы.

---

*P-35S*, *nptII* және *NOS3*' осы үш элемент *nptII* генінің экспрессиясын іске асырады. *P-35S* сайты түрлітүсті орамжапырақтың мозаика вирусының *35S* промоторлық ауданы болып табылады. *nptII* гені каномицинге төзімділік беретін II типті неомицинофосфотрансферазаны кодтайды. Бұл генді *E. Coli*-дің Tn5 транспозонынан алынды. *nptII* генінің қызметі өсімдіктердің рекомбинатты жасушаларын сұрыптау үшін қажет. *NOS3*' тек *A. tumefaciens*-тен алынған, 3' трансляцияланбайтын облысының наполинсинтетаза (NOS) гені болып табылады. Бұл тізбек транскрипцияны терминациялайды.

### 3. ГМ-Мақтасы 531 линиясының CRU1Ac экспрессиясына сипаттама беру және дамуы.

---

**Aad** алтын түсті стафилококадан бөлініп алынған гені. Ол аминогликозид аденилил трансферазаны кодтайды. Бұл фермент спектиномицин мен трептомицин антибиотиктеріне төзімділік береді.

**P-e35S, cry1Ac және 7S 3'** бұл үш элемент модификацияланған **cry1Ac** генінің экспрессиялануы үшін қажет. **P-e35S** тізбегі CaMV дан алынған қайталанатын енхансері бар **35S** промоторының облысы болып табылады. **cry1Ac** гені *Bt. var krustaki* дан алынған модификацияланған нәруызды кодтайды.

### **3. ГМ-Мақтасы 531 линиясының CRY1AC экспрессиясына сипаттама беру және дамуы.**

---

7S3' – Бұл сайт cry1Ac генін экспрессиялайды.

**Оң шекара.** 24-н.ж. Бар ДНҚ тізбегінің оң жақ шекарасының нопалин типті Т-ДНҚ тізбегі рТіТ37 Ті-плазмидінен алынған, ол *A. tumefaciens*-тен өсімдік геномына Т-ДНҚ сының тасымалдануы үшін инициациялау нүктесі қызметін атқарады.

Зерттеушілер 531 мақта линиясын жасау үшін осы плазмиданы пайдаланды. Коекр 532 мақтаның сұрыпының гипокотиліне PVGNBK04 плазмидтік векторы бар Т-ДНҚ фрагментін енгізген. Трансформация жасалған өсімдіктер канамицині бар ортада сұрыбталып өсірілген.

# **№ 7 дәріс**

## **Агробактерия плазмидаларын вектор ретінде қолдану.**

---

- 1. Жалпы сипаттамасы.**
- 2. Зақымдау процесі.**

# 1. Жалпы сипаттамасы.

*Agrobacter* деген топырақта мекендейтін гарам теріс бактериялардың тобы. Олар өсімдіктерге жұғып тәж тәрізді гал, яғни ісікті пайда болғызады. Бұл бактерияларға қос жарнақты кең жапырақты өсімдіктердің барлығы дерлік сезімтал келеді, ал астық тұқымдастары мен басқа да даражарнақтыларға олар жұқпайды. Ісік ауруын ең оңай қоздыратын *Agrobacter tumefaciens*. Бұл бактерия өсімдіктің жарақаттанған ұлпасы арқылы кіргенде өзінің гендерін бірге ала келіп, өсімдік өсімдік геномына енгізеді. Соның салдарынан өсімдік жаңа белоктарды синтездеуге мәжбүр болады. Бұл процестерді *Agrobacter tumefaciens*-та іске асыратын арнайы плазмидалары бар, оны **Ті – плазмида** д.а (ағ. tumor inducing – ісік туғызатын).

Америка генетиктері 1977 ж. Анықтағандай тәж тәрізді ісіктер өсімдік хромосомасының құрамына **Ті**-плазмиданың белгілі бір бөлігін кіруі арқасында пайда болады. Бұл фрагментті **Т-ДНҚ** деп атайды, оның көлемі 12-24 м.н.ж аралығында.



# 1. Жалпы сипаттамасы.

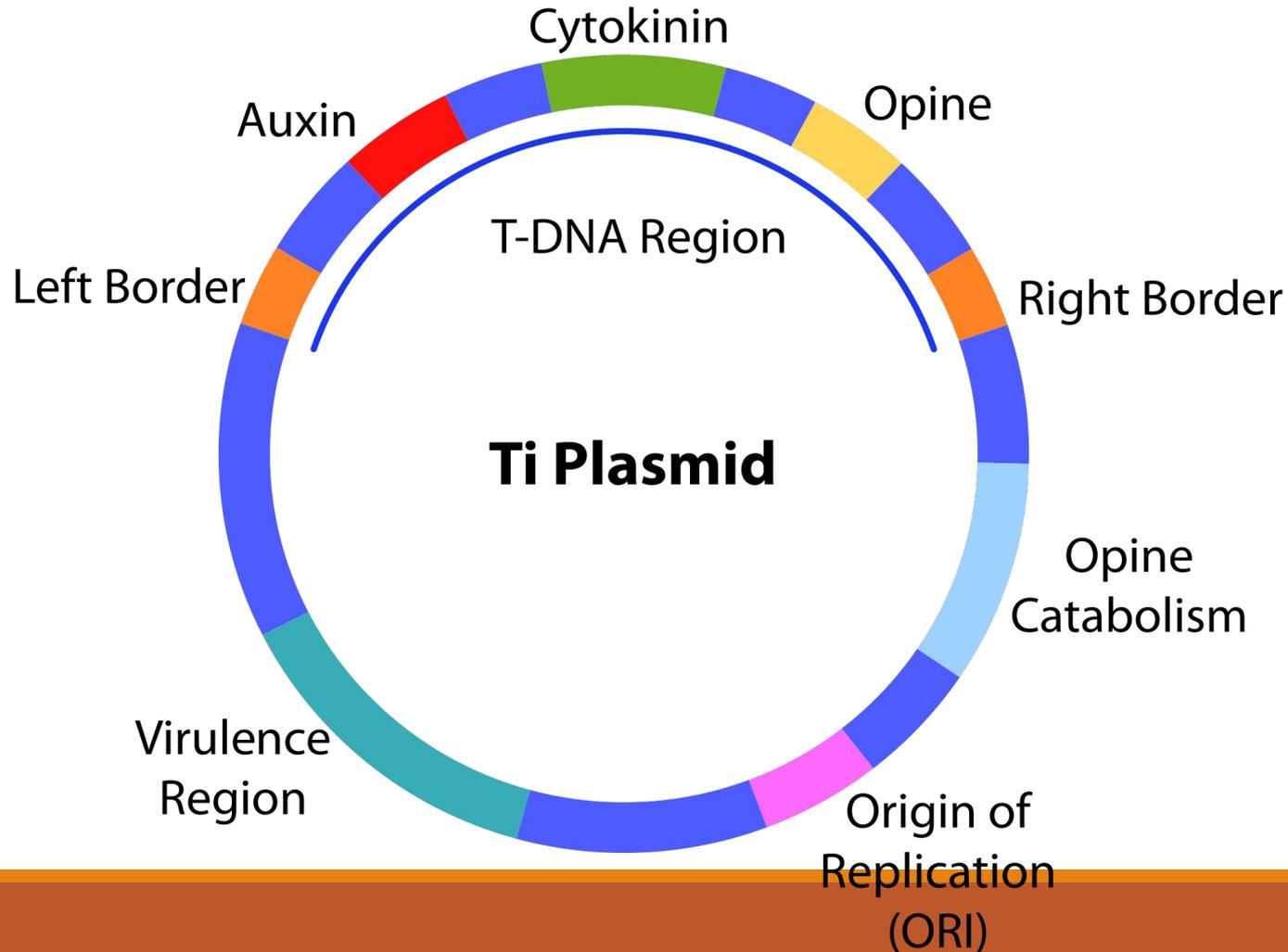
---

Ісік клеткаларында сау клеткалардан болмайтын опиндер деген жаңа класқа жататын химиялық заттар табылды. Опиндер ол аргинин амин қышқылының туындылары.

Жақсы зерттелгендер: **октапин**-аргинин мен пирожүзім органикалық қышқылының туындысы, **нопалин**-аргинин мен  $\alpha$ -кетоглутараттың туындысы. Ауру туғызатын бактерияның штаммына байланысты ісік клеткалары октопинді немесе нопалинді синтездейді. Бұл заттарды өсімдік клеткалары пайдаланбайды, ал бактериялар көміртегі мен азоттың көзі ретінде пайдаланады.

Ті плазмиданың генетикалық картасы:

Т-ДНК құрамына **ауксин**, **цитокинин** және **опин** гендері бар, олар тек өсімдік жасушаларында ғана транскрипцияланады және трансляцияланады. Т-ДНК шекарасынан тыс опин катоболизімінің ферментін кодтайтын **vir**-гендерінің кластері және **Ori** репликация инициация сайты орналасқан.



# 1. Жалпы сипаттамасы.

---

**Vir** гендері.

**Vir A** өсімдік заықмдалуына сезімтал. (Ацитсерингон)

**Vir B** Тасымалдау үшін құрылым.

**Vir G** Транскрипция белсендетуші.

**Vir C, Vir D** Эндонуклеазаларды кодтайды.

**Vir E** ДНҚ бекітуші.

## 2. Зақымдау процесі.

---

Зақымдалған өсімдік ұлпалары ацитосерингонды бөліп шығарады. Оны *A. tumefaciens* сигнал ретінде қабылдайды. Осы сигналды сезетін **Vir A** гені. **Vir A**, **Vir G** екеуі жарғақшада орналасады, қоршаған ортадағы өзгерістерді сезіп бейімдеушілік қызметін атқарады. **Vir A** **Vir G** – ге сигнал береді де **Vir G** өз кезегінде **Vir** аймағын активтендіреді яғни индуктор қызметін атқарады. Содан кейін **Vir D1**, **Vir D2** гендері белсендендіріледі олар Т-ДНК денатурациялап Т-ДНК бір тізбегін кесіп алады, сол себепті оларды шекаралық эндонуклиазалар д.а.

## 2. Зақымдау процесі.

---

Ары қарай Vir D1 кетіп Vir D2 қалып 5' ұшында пилот қызметін атқарады, яғни бекініп бағыт беруші. Vir B1 гені жасуша қабықшасында санылаулар жасайды. Vir B4 Vir B11 Vir D4 бәрі бірге тасымалдауға қуат береді. Vir B6, Vir B8, Vir B10 олар сыртқы жарғақшалардың ішкі беткейлеріне жетіп сол жерде транспорттық канал қалыптастырады. Vir B9 жарғақшада санылаулар қалыптастырады. Vir B2 Vir B5 конюгациялық пішінді қалыптастырады.

Осы кешен жасуша ядросына жету үшін Vir E2 және Vir D2 гендері көмек береді. Олар Т-ДНК ны ядро санылауларынан өткізіп ядроға жібереді. Осыдан кейін Т-ДНК гендері комплементарлы принципте синтезделіп Т-ДНК гендері экспресиялана бастайды. Осылай өсімдік зақымдалады.

# Зақымдау процесі.

