

Жануарлар биотехнологиясындағы гендік инженерия, принциптері, әдістері

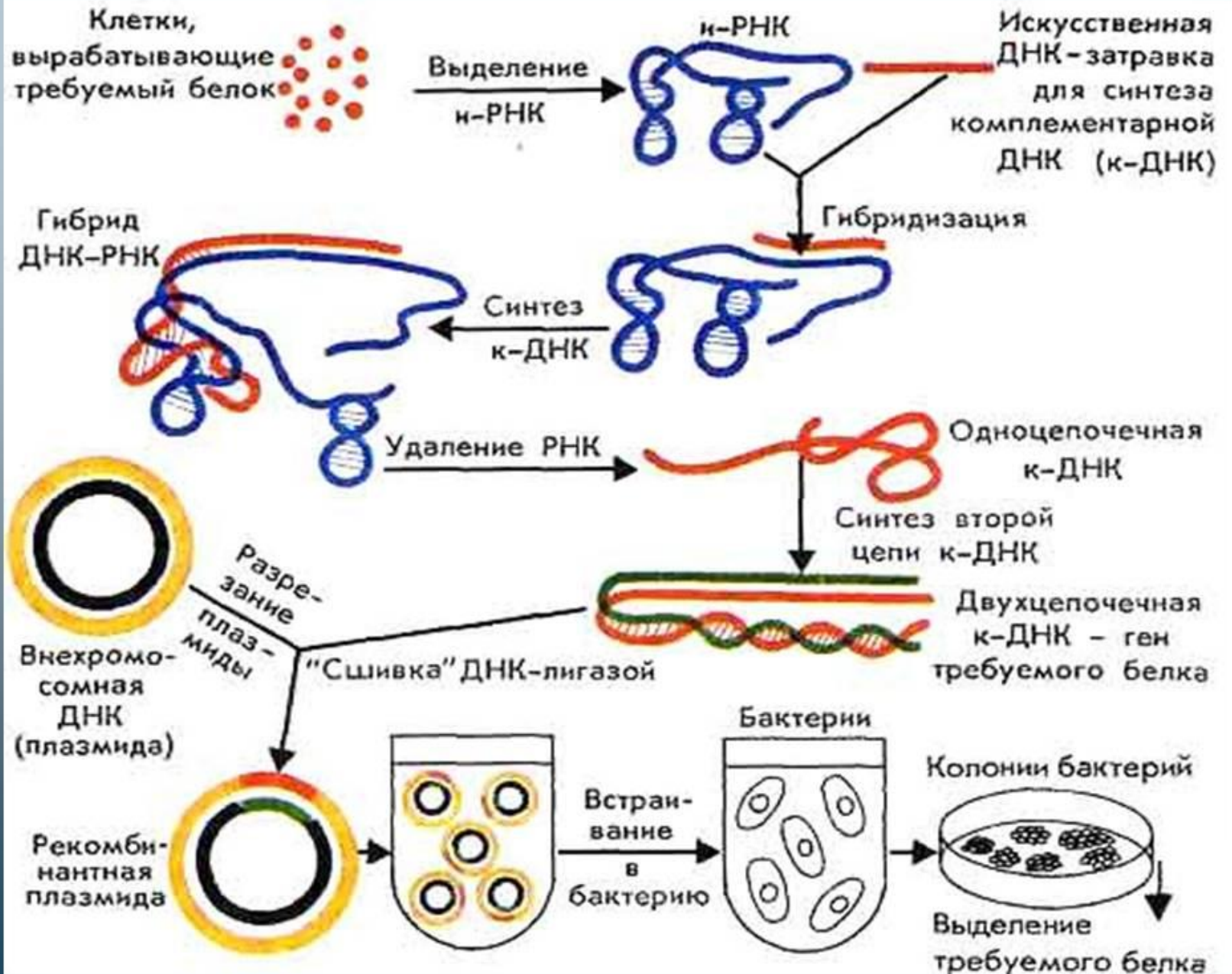


Гендік инженерия, генетикалық инженерия — генетикалық және биохимиялық әдістердің көмегімен тұраралық кедергілері жоқ, тұқым қуалайтын қасиеттері өзгеше, табиғатта кездеспейтін жаңа гендер алу; молек. биологияның бір саласы. Гендік инженерия әр түрлі организмдер геномының бөлігінен рекомбинатты ДНҚ құрастырумен қатар, ол рекомбинатты молекулаларды басқа ағза геномына енгізіп, жұмыс істеуін (экспрессиясын) қамтамасыз етеді. Гендік инженериядағы тұңғыш тәжірибені 1972 ж. американ биохимигі Т. Берг (Нобель сыйл. лауреаты) іске асырды. Ол маймылдың онноген вирусы SV-40-тың толық геномын, бактериофаг — L геномының бір бөлігін және E. Coli бактериясының галактоза генін біріктіру арқылы рекомбинантты (гибридті) ДНҚ алды. 1973 — 74 ж. Америка биохимиктері С. Коэн, Г. Бойер, т.б. түрлі ағзалардан бөліп алынған генді бактерия плазмидасының құрамына енгізді. Бұл тәжірибе басқа организмдер гендерінің жаңа ағза ішінде жұмыс істей алатынын дәлелдеді.

Жануарлар клеткаларымен жүргізілген тәжірибелерде бір клетканың ядросын екіншісімен алмастыруға, екі немесе бірнеше эмбриондарды қосып біріктіруге, оларды бірнеше бөлікке бөлшектеуге болатыны анықталды. Мыс., генотиптері әр түрлі тіндердің клеткаларын біріктіру арқылы тышқанның аллофенді особьтары (фенотипі әр түрлі дарабастар) алынды. Гендік инженерия-ның теориялық негізіне генетикалық кодтың әмбебаптылығы жатады. Бір ғана кодтың (триплиттің) әр түрлі ағзадағы белок молекулаларының құрамына енетін амин қышқылдарын бақылай алатындығына байланысты, ДНҚ молекуласының кез келген бөлігін басқа бөтен клеткаға апарып салу, яғни молек. деңгейде будандастырылу теориялық тұрғыдан алғанда мүмкін екені анықталды. Жануарлар, өсімдіктер және микроорганизмдер гендерінің қызметін қолдан басқаруға болатындығы дәлелденді. Ауыл шаруашылығында өсімдіктің атмосфералық азотты өзіне жинақтап алуы — үлкен мәселе. Осыған байланысты 1970 жылдары азотты фиксациялауға қабілеті жоқ пішен таяқшасына азотты жинақтай алатын, басқа бір бактерияның гені салынып, азотты жинақтау қасиетіне ие болды. Мед. саласында жаңа гендерді енгізу арқылы тұқым қуалайтын ауруларды емдеуге болады. Қазіргі кезде ауру адамдардан зат алмасудың 1000-нан аса әр түрлі тұқым қуалайтын өзгерістері табылған

Генетикалық инженерия кезеңдері.

- * Генді(ДНҚ фрагментін) алу
- * Рекомбинантты ДНҚ молекуласын құрастыру
- * Реципиент клеткасына р-ДНҚ молекуласын енгізу
- * Қажет рекомбинантты ДНҚ молекулалары бар клондарды ортадан табу



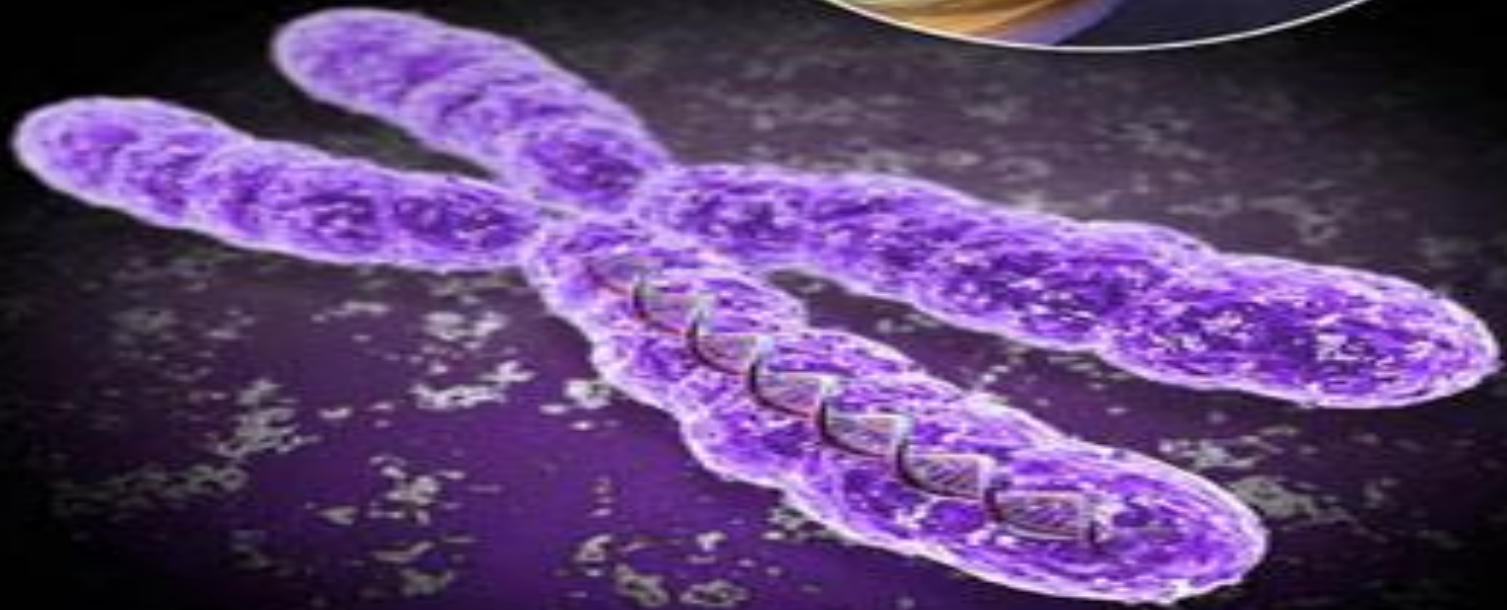
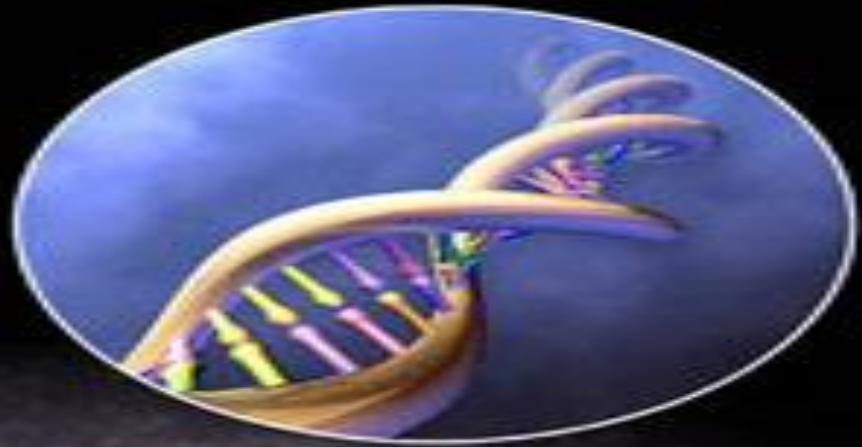
Генді алудың 3 түрі бар



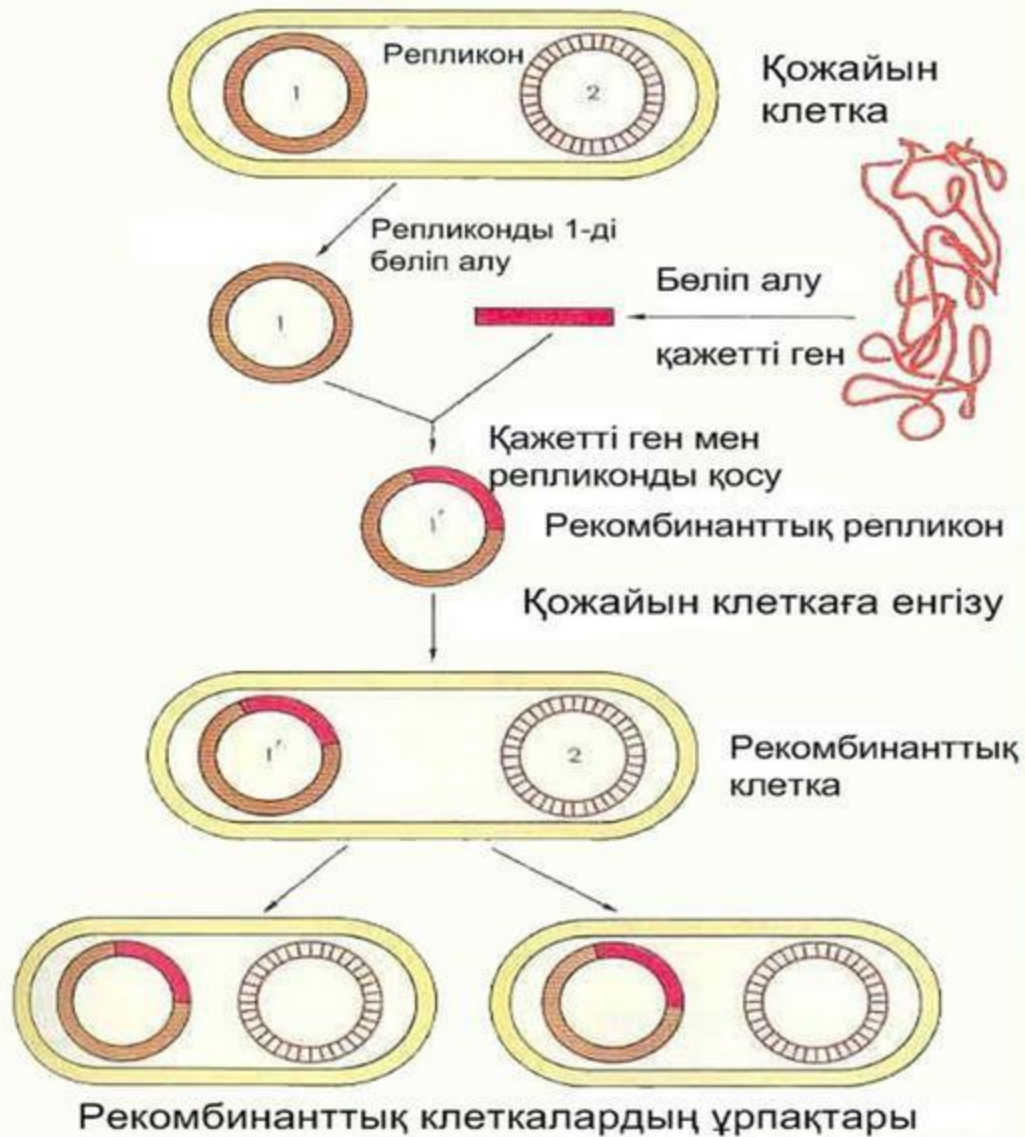
Бірінші әдіс ген инженериясының дамуының алғашқы кезеңінде қолданыла бастады. Белгілі организмнің ДНҚ-сын тугелімен әр түрлі рестриктазалармен үзіп, әр түрлі фрагменттер алады. Содан кейін оны клетка ішінде «аркалап» кіргізе алатын сақиналы (дөңгелек) плазмидалармен жалғайды, Ол үшін плазмиданы да рестриктазалармен үзеді, оған әлгі ДНҚ фрагменттерін қосып жалғап, қайтадан бүтін плазмидалар алады. Бұл плазмидалардың әрқайсысының құрамында бір немесе бірнеше бөтен ДНҚ фрагменті (гені) болады, Одан кейін ол плазмидаларды қайтадан бактерияға еңгізеді. Осының нәтижесінде бактерия клеткасының әрқайсысында басқа организм генінің, бір түрі болады, Осындай әртүрлі бөтен гендері бар бактерия клеткаларының жиынтығын немесе коллекциясын «гендер банкі» кейде «гендер кітапханасы» деп атайды. Зерттеушілер ол банкіден уақытында қажет белоктың генін жаңадан тауып алады. Осындай гендер банкі қазір Ресейде, Батыс Европада және АҚШ-та

Химиялық жолмен жасанды генді 1969 жылы Г. Корана синтездеген. Бірақ оған жалғасқан промотор тізбегі мен транскрипцияны аяқтайтын кодондар болмағандықтан, ол клетка ішінде ешбір қызмет көрсете алмады. Гендрді химиялық синтездеуге нуклеин қышқылдарындағы нуклеотидтердің орналасу тәртібін анықтау әдісін тапқаннан кейін ғана мүмкіндік туды. Бұл әдістерді тапқан Д. Джилберт пен Ф. Сэнгер. Ғалымдар генді белоктың құрамындағы амин қышқылдарына қарап отырып синтездеуді де үйренді, (3 нуклеотид – 1 кодон – 1 амин қышқылы деген заңдылық бойынша). Соның ішінде қолдан синтезделген ең ұзын ген, адамның самототропин (өсу) гені, ол 584 нуклеотидтен тұрады. Оны бактериядағы басқа геннің промоторына жалғастырып, плазмида арқылы бактерия клеткасына еңгізді. Соның нәтижесінде бактерияның бір клеткасы 3 млн-ға дейін адам самототропин молекуласын жасай алатын болды. Адам инсулині де химиялық жолмен синтезделіп, осы айтылған жолмен бактерияға еңгізілді. Инсулин генін 40 аса алты мүшелік олигонуклеотидтерден тұратын түрінде бөліп алып, кейін ДНҚ-лигазаның кемегімен біріктірген. Алынған ұзындығы 271 және 286 нб қос тізбекті полинуклеотидтер плазмидаға еңгізілді. Оған қоса бұдан молекулалардың экспрессиясын камтамасыз ететін, ДНҚ-ның реттеуші учаскелері де еңгізілді. Клонданған (өркендетілген) гендер проинсулиннің синтезін кодтады, ал оны қарапайым химиялық өңдеу арқылы қос А және В полипептидтік тізбектен тұратын, ұзындығы 21 және 30 амин қышқылдарының қалдықтарынан тұратын, өзара дисульфидтік байланыстары бар белсенді гормонға айналдыруға болады.

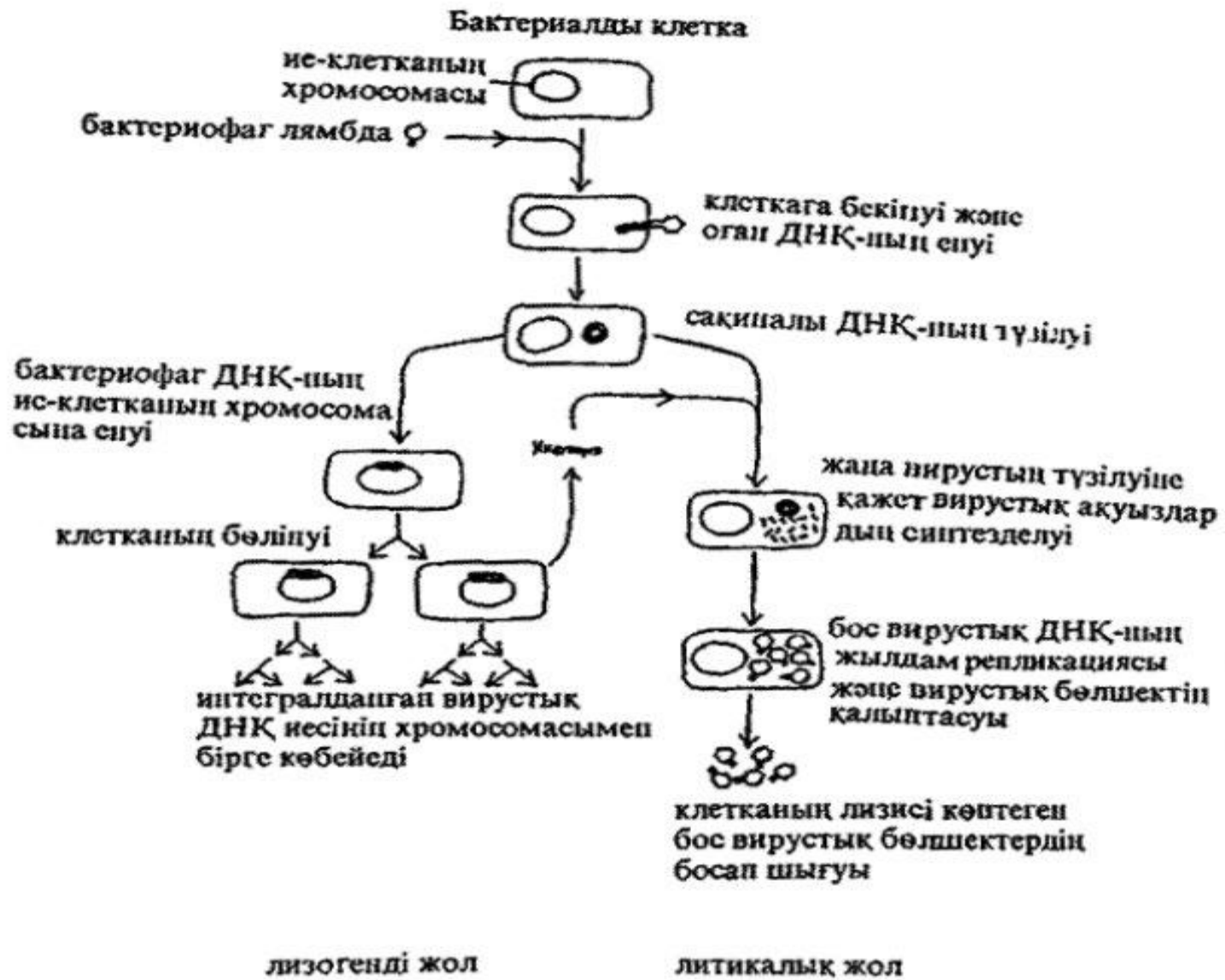
Жасанды әдіспен генді ферменттік синтезге сүйене отырып, кері транскрипция механизмнің көмегімен алуға да болады. Бұл механизм РНҚ-ға тәуелді ДНҚ-полимеразаның немесе кері транскриптазаның (ревертазалар) белсенділігіне байланысты. Бұл фермент ең алғаш он-когендік (залалды ісік) вирустарды зерттегенде табылған. Фермент әртүрлі РНҚ-ларда, синтетикалық полинуклеотидтерді қоса, ДНҚ-ның көшірмесін құра алатын қабілеті бар. Ревертазаның көмегімен, сәйкес иРНҚ-ның қатысуымен, іс жүзінде кез келген бөліп алуы жақсы игерілген генді алуға болады. Бұл әдісті белгілі бір тканьдарда өте қарқынды транскрипцияланатын гендерге қолдану тиімді.



Гендік инженерияда жасанды гендер ситездеумен қатар рекомбинантты молекуласын құрастыру үшін табиғи гендер де пайдаланылады. Ол гендерді векторлық ДНҚ молекуласына байланыстыру бактериялық ферменттер рестриктазалар арқылы іске асырылады. Бактерия клеткасындағы қорғанштық қызмет атқаратын рестриктазалар клеткаға енген бөтен ДНҚ-ны жою мақсатында оны бірнеше бөліктерге кесіп тастауға қабілетті келеді. Кесілген ДНҚ фрагменттері шамалы уақыттан кейін комплементарлық принцип бойынша лигаза ферментінің көмегімен қайта жалғанып, ДНҚ-ның сақина тәрізді пішіні қалпына келеді. Осы әдіспен түрлі клеткалардан немесе хромосома учаскелерінен алынған ДНҚ кесінділерін жалғастырып рекомбинантты ДНҚ молекуласын алуға мүмкіндік туды. Векторлар ретінде ДНҚ-дан басқа да фогтар, вирустар, пазмидтер, эписомдар қолданылады.



Гендік инженерия- функционалдык активті генетикалық құрылымдарды рекомбинанттық (будан) ДНК молекулалары түрінде қолдан құрастыру. Гендік инженерияның мәні жеке гендерді бір организмнен алып басқа организмге көшіріп орналастыру.



Генетикалық инженерияның алдына қойған мақсаты алуан түрлі, өйткені бұл әдісті пайдалану турлі деңгейде жүреді. Олар:

1. организмдік деңгей
2. клеткалық деңгей
3. гендік деңгей

Организмдік деңгейде генетикалық инженерияны қолданудың мысалы ретінде аллофендік жануарларды (тышқанды) алуға болады. Бірнеше аналық тышқанның жатырынан дамудың 8 бластомерлік кезеңіндегі ұрықтарды шығарып алып, түтікше ішінде ол бластомерлерді бір-бірінен ажыратады, Түрлі особьтардан алынған осы бластомерлерді араластырып түзілген қоспа бластуланы дамуының гаструлалық кезеңінде бір аналық тышқанның жатырына енгізіп дамуды жалғастырады. Дүниеге келген аллофенді тышқанның фенотипінде барлық ата-аналарна тән белгілер қайталанғанымен, бірқатар өзіндік жаңа қасиеттер де пайда болады. Ендеше, ересек жағдайда ұлпалары бір-біріне иммунологиялық жағынан сәйкес келмейтін особьтардың клеткаларынан осы жолмен қалыпты дамып жетіліп, тіршілік етуге қабілетті аллофендік ұрпақ алуға мүмкіндік туады.

Клеткалық деңгейде әр түрге жататын организмдердің сомалық клеткаларын будандастыру арқылы бірнеше генотиптен құралған будан клетка алынады. Мысалы «адам-тышқан» будандық клетканы алып, одан адам хромосомаларын біртіндеп шығарып тастайды, Жойылған қайсы бір хромосомадан кейнгі байқалатын клеткалық фенотиптік өзгерістерге қарай отырып адамның тіркесу топтарының гендік құрамын анықтайды.

Гендік децгейде — тұқым қуалаушылықты басқару жолы гендік инженерия деп аталады. Мұндағы мақсат қолдан жасанды гендер алып немесе даяр гендерді басқа организмдердің геномына енгізу арқылы олардың фенотиптерін қалаған бағытта өзгерту. Гендік инженерияның негізгі әдістері осы ғасырдың 60-70 жылдары қолданыла бастады.

Бұл әдіспен организмдердің генотиптері мен рекотиптерін өзгерту жұмыстары мынадай төрт кезеңнен тұрады:

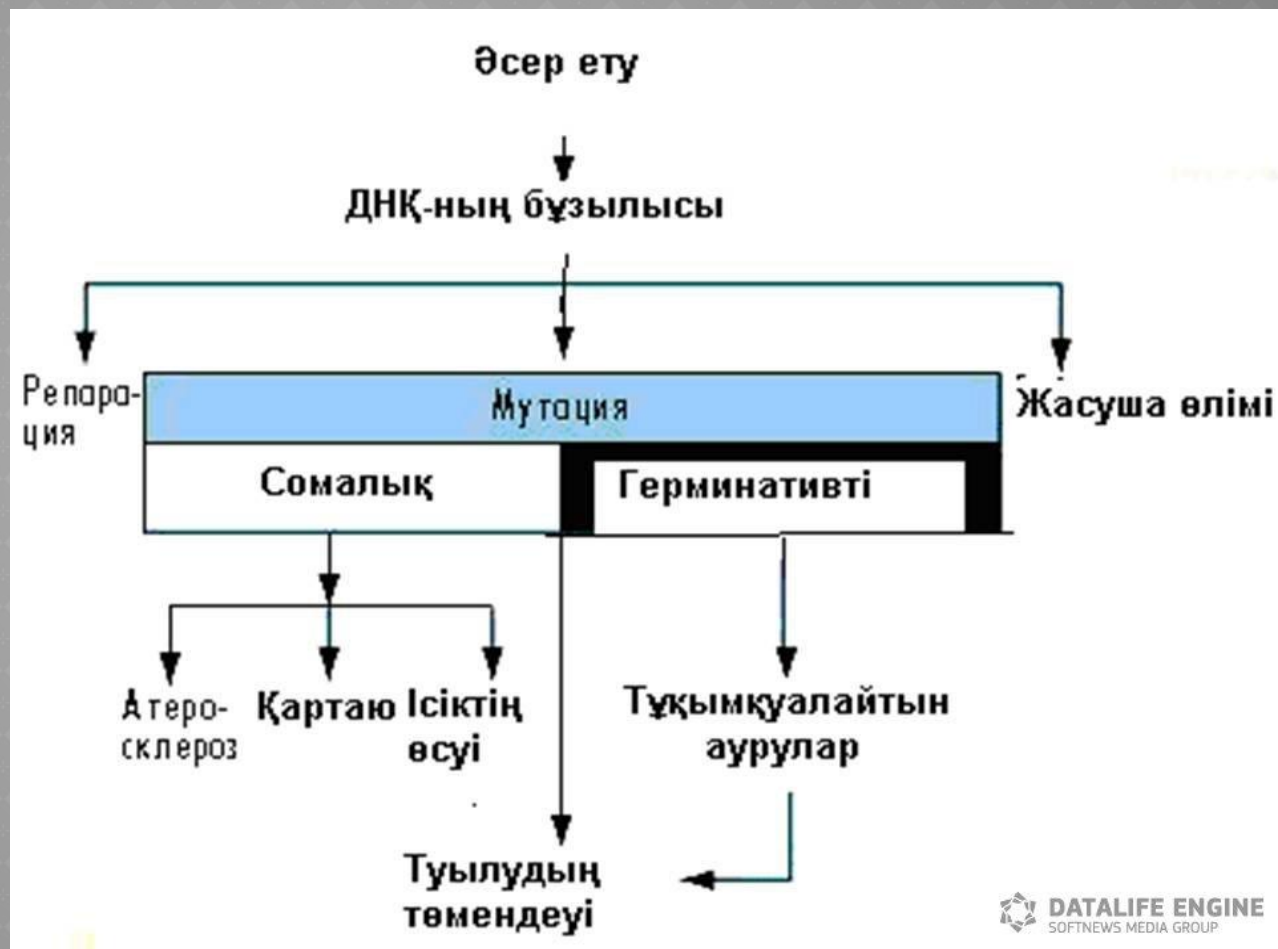
Қажетті генді донорлық клеткадан бөліп алу немесе жасанды түрде синтездеу;

Реципиент-клеткасына енгізуге қабілетті векторлық ДНҚ-ға осы генді байланыстыру;

Реципиент-клеткасының геномына генді енгізу. Гендердің экспериментальды түрде басқа геномға тасымалдануын трансгенез деп атайды;

Геннің жұмыс істеуіне сай транскрипция және трансляция нәтижесінде реципиент-клетканың фенотиптік өзгерістерін бақылау. Қазіргі генетикада генді организмнен тыс синтездеудің екі әдісі бар: химиялық және ферментативтік.

Гендік инженерияның аталған пайдалы жақарымен қатар бірқатар кемшіліктері де бар. Соның бірі



Гендік инженерия жетістіктерінің қолданылуы

Гендік инженерия жетістіктерін қазіргі кезде өкеркәсіптік көлемде жануарлар мен адамның антибиотиктерін, витаминдерін, гормондарын синтездейтін микроорганизмдердің жаңа штамдарын шығаруға пайдалануда. Соңдай-ақ, адамның көптеген ауруларына себепші болатын вирустың бөліп алынған гендері бактерия клеткасына енгізіліп жан-жақты зерттелуде. Олай болса, адамзатты бірқатар тұқым қуалайтын аурулардан арылтуда гендік: инженерияның болашағы зор деп есептеледі.

