ავთანდილ კორახაშვილი
მარიამ გაიდამაშვილი

აგრობიოტექნოლოგია

თბილისი
2012

წიგნი წარმოადგენს დამხმარე სახელმძღვანელოს ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა, აგრეთვე სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა ფაკულტეტების ბაკალავრიატის და მაგისტრატურის სტუდენტებისათვის, ასევე ბიოლოგიით დაინტერესებულ პირთათვის.

სამაგისტრო პროგრამა გამოყენებითი ბიომეცნიერებები

ტემპუსის პროექტი JEP-159340
www.biosciences-tempus.org

ავტორები:

ავთანდილ კორახაშვილი

მარიამ გაიდამაშვილი

რედაქტორი: ნანა დვალიშვილი

სტილისტ-კორექტორი: ლია კაჭარავა

პროექტი განხორციელდა ევროკომისიის ფინანსური მხარდაჭერით. პუბლიკაციის შინაარსზე პასუხს აგებენ მისი ავტორები და ის არ გამოხატავს ევროკომისიის მოსაზრებას

ISBN 978-9941-0-4291-1

სარჩევი

1. ბიოტექნოლოგიის განსაზღვრება (ა.კორახაშვილი)

რა არის ბიოტექნოლოგია?.....6
ისტორიული პერსპექტივები.....8
ბიოტექნოლოგია სოფლის მეურნეობაში.....8

2. ბიოტექნოლოგიის გამოყენება თანამედროვე სოფლის მეურნეობაში (ა.კორახაშვილი).10

მკვებავი აპკის მეთოდი.....11
პარკოსანი კულტურები და აზოტის ფიქსაცია სიმბიოზის დროს.....12
თანამედროვე ინოკულატები მყარ მატარებლებზე.....15
თესლის ინოკულაცია.....16
ამჟამად გამოყენებული ნიადაგის ინოკულატები.....16
პარკოსნებსა და Rhizobium–ს შორის სიმბიოზის გაუმჯობესება.....17
გენეტიკური ექსპერიმენტები აზოტფიქსირებად ორგანიზმებზე.....18
ბიოლოგიური კონტროლი.....18
მიკრობული ინსექტიციდები.....19
Bacillus thuringiensis-ის მიერ სინთეზირებული ტოქსინი მოქმედების მექანიზმი და გამოყენება.....20
ტოქსინების გენების იდენტიფიკაცია.....21
ბაკულოვირუსები როგორც ბიოკონტროლის ინსტრუმენტი.....23
ბიოკონტროლის გაძლიერება გენური ინჟინერიის მეშვეობით.....24

3. ორგანიზმებში გენების გადატანის პრინციპები გენეტიკური ტრანსფერის ფენომენი (მ.გაიდამაშვილი).**25**

დნმ.....26
გენები.....27
ქრომოსომები.....29
რნმ, ტრანსკრიპციის და ტრანსლაციის პროცესები.....29
გენური რუქები.....30

4. გენეტიკურად მოდიფიცირებული ორგანიზმების წარმოება (ა.კორახაშვილი, მ.გაიდამაშვილი).32

გენური ინჟინერიის პროცესი.....33
გენების სპლაისინგი მცენარეებში.....36
რეკომბინანტული დნმ და ვექტორები.....37
ტრანსფორმაციის მეთოდები.....40
გენების სპლაისინგი ცხოველებში.....43
ტრანსგენური ცხოველების შექმნის ტექნოლოგია.....44
ნოკაუტირებული ცხოველები.....45
ტრანსგენური თაგვები: მეთოდოლოგია.....48
რეტროვირუსული ვექტორების გამოყენება.....48
დნმ–ის მიკროინექციის მეთოდი.....49
მოდიფიცირებული ემბრიონული ღეროვანი უჯრედების გამოყენება.....50

კლონირება ბირთვის გადატანის მეშვეობით.....51
გენების გადატანა ხელოვნური საფუარის ქრომოსომების
მეშვეობით.....52
ტრანსგენური თაგვები: გამოყენება.....53
ტრანსგენური მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვი.....53
ტრანსგენური ცხვრები, თხები და ღორები.....56
ტრანსგენური ფრინველები.....58
ტრანსგენური თევზები.....60

5. მცენარეთა და ცხოველთა კლონირება კლონების შექმნის აუცილებლობა (მ.გაიდამაშვილი).60

ცხოველთა კლონირების პროცესი.....62
გენეტიკურად მოდიფიცირებული კლონები.....64
მცენარეთა კლონირების უპირატესობები.....64
მცენარეთა კლონირების მეთოდები.....66
სეპარაციის და გაყოფის გზით კლონირება.....68
კალმებით (აჭრით) კლონირება.....69
დაფენვა (layering).....70
კლონირება დამყნობით.....72
კლონირება ქსოვილთა კულტურების გამოყენებით.....73
პროტოპლასტები და უჯრედების შერწყმა.....75
გენეტიკურად მოდიფიცირებული მცენარეების კლონირება.....76

6. მცენარეთა ბიოტექნოლოგია (ა.კორახაშვილი)

მცენარეთა გენური ინჟინერია: მეთოდოლოგია.....76
ვექტორული სისტემები Ti–პლაზმიდების საფუძველზე.....77
მცენარეულ უჯრედში გენების გადატანის ფიზიკური მეთოდები..79
მიკრონაწილაკებით ბომბარდირება.....81
მარკერული გენების არშემცელი ტრანსგენური მცენარეების მიღება.83
მცენარეთა გენური ინჟინერია: გამოყენება.....84
მავნე მწერებისადმი მდგრადი მცენარეები.....84
ჰერბიციდებისადმი მდგრადი მცენარეები.....86
სოკოებისა და ბაქტერიებისადმი მდგრადი მცენარეები.....88
არახელსაყრელი ზემოქმედებისადმი და დაბერებისადმი მდგრადი
მცენარეების მიღება.....89
ჟანგვითი სტრესი.....89
მარილის სტრესი.....90
ნაყოფის მომწიფება.....91
ყვავილების ფერის შეცვლა.....92
მცენარეთა კვებითი ღირებულების შეცვლა.....94
ამინომჟავები.....94
ლიპიდები.....96
ნაყოფების გემოსა და გარეგნობის შეცვლა.....97
გემოს შეცვლა.....98
მცენარეები, როგორც ბიორეაქტორები.....99

ანტისხეულები.....100
პოლიმერები.....100
თესლში აკუმულირებული უცხო ცილები.....101

7. ცხოველთა ბიოტექნოლოგიური რეპროდუქცია (მ.გაიდამაშვილი).101

ხელოვნური განაყოფიერება.....102
ხელოვნური განაყოფიერების განვითარება.....104
სპერმის შეგროვება და დამუშავება.....105
ესტრუსის ციკლის კონტროლი.....107
ემბრიონის გადატანა.....107
ემბრიონის გადატანის პროცესი.....109
სქესის კონტროლი.....111

8. მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიები (ა.კორახაშვილი).113

აზოტის ფიქსაცია.....114
ნიტროგენაზა.....116
ნიტროგენაზის გენების კლასტერის გენური ინჟინერია.....117
ჰიდროგენაზა.....117
კოჟრების წარმოქმნა.....118
სიდეროფორები.....119
ანტიბიოტიკები.....120
ყინულის კრისტალების წარმოქმნა და ანტიფრიზული ცილები.....121
თავისუფლად მცხოვრები ბაქტერიების მიერ მცენარეთა ზრდის სტიმულაცია.....122
დასკვნა.....124

9. სოფლის მეურნეობის ნარჩენების გადამუშავება (ა.კორახაშვილი)

აერობულ პირობებში ნარჩენების გადამუშავების სისტემები.....126
წყალსატევი დაჟანგვისათვის.....127
კასკადური ავზები.....127
პასვირის არხი (Pasveer ditch).....128
სოფლის მეურნეობის ნარჩენების გადამუშავება ანაერობულ პირობებში.....128
სოფლის მეურნეობის ნარჩენების გადამუშავება.....129

10. ცილების სამრეწველო სინთეზი რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების მონაწილეობით (ა.კორახაშვილი).130

მიკროორგანიზმების ზრდა.....133
პერიოდული კულტურა.....133
პერიოდული კულტურა სუბსტრატის დამატებით.....134
ფერმენტაციის ტიპური მსხვილმასშტაბიანი სისტემები.....139

11. მიკრობული ცილის მიღების ტექნოლოგია (ა.კორახაშვილი).**139**

12. ბიოტექნოლოგიურ მრეწველობაში უსაფრთხოების ტექნიკის წესები და პროდუქციის კონტროლი (ა.კორახაშვილი).147

1. ბიოტექნოლოგიის განსაზღვრება

რა არის ბიოტექნოლოგია?

ბიოტექნოლოგია – ეს არ არის უბრალოდ ახალმოდური, თვალში საცემი სახელწოდება ადამიანის საქმიანობის ერთ–ერთი უძველესი სფეროსი; ასე შეიძლება მხოლოდ სკეპტიკოსებმა იფიქრონ. თვით ამ ტერმინის გამოჩენა ჩვენს ლექსიკონში ღრმად სიმბოლურია. იგი ასახავს ფართოდ გავრცელებულ, თუმცა არა ზოგადად მიღებულ მოსაზრებას: ითვლება, რომ ბიოლოგიური მასალებისა და პრინციპების გამოყენება უახლოესი ათი–ორმოცდაათი წლის განმავლობაში რადიკალურად შეცვლის მრეწველობის ბევრ დარგს და თვით ადამიანთა საზოგადოებას. ძნელი არ არის დავრწმუნდეთ, რომ ინტერესი ამ მეცნიერებისადმი და მისი განვითარების ტემპები ბოლო წლებში ძალზედ სწრაფად იზრდებოდა. ამაზე მოწმობს ბევრი რამ. ეს არის უამრავი მცირე კერძო ბიოტექნოლოგიური ფირმების წარმოშობა და სამთავრობო კომიტეტების შექმნა, რომელთა მოწოდება იყო ახალი მიმართულებების შესაძლებლობების შეფასება და მრავალ უნივერსიტეტში ბიოტექნოლოგიაში ლექციების წაკითხვა. განვითარებული ქვეყნების (ისევე როგორც განვითარებადი ქვეყნების უმეტესობის) მთავრობებმა უკვე დააბანდეს მნიშვნელოვანი სახსრები ბიოტექნოლოგიის განვითარებაში. ამ დაბანდებათა სიდიდე და მათი გამოყენების ეფექტიანობა ერთნაირი არ არის. ბიოტექნოლოგიის განვითარებაში ჩართული სპეციალისტები ერთმნიშვნელოვნად მიიჩნევენ, რომ ამ სფეროში სახელმწიფოს მასშტაბით წარმატებები შეიძლება მიღწეული იქნეს მხოლოდ სამთავრობო ორგანოების მონაწილეობით. მათი მხარდაჭერა ძალზე მნიშვნელოვანია ამ რთული დისციპლინათაშორისო ტექნოლოგიის განვითარებისათვის. ბიოტექნოლოგიის სხვადასხვა დარგში იდეის დაბადებიდან მის განხორციელებამდე დიდი გზა არის და ადეკვატური ეკონომიკური მექანიზმები დღეს მოქმედებს მხოლოდ ზოგიერთ ქვეყნებში, რომლებიც საფუძველს ქმნიან ამ ტექნოლოგიის ოპტიმალური განვითარებისათვის.

ადამიანი ოდითგანვე (უკვე მრავალი ათასი წელია) იყენებს ბიოტექნოლოგიას: ხალხი ლუდს ხარშავს, პურს აცხობს. ადამიანმა მოიგონა პროდუქტების შენახვისა და გადამუშავების ხერხები ფერმენტაციის გზით (ყველის, ძმრის, სოიას საწებელას წარმოება), ისწავლა ცხიმებისგან საპნის დამზადება, უმარტივესი წამლების მომზადება და ნარჩენების გადამუშავება. მაგრამ იმ „ბიოტექნოლოგიურ ბუმთან“, რომლის მოწმეებიც ჩვენ დღეს ვართ, მიგვიყვანა მხოლოდ გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდების შემუშავებამ,

რომლებიც დაფუძნებული იყო რეკომბინანტული დნმ–ის შექმნაზე. ეს მეთოდები არა მარტო ქმნიან უკვე ათვისებული პროცესებისა და პროდუქტების გაუმჯობესების შესაძლებლობებს, არამედ გვთავაზობენ ახალი, ადრე მიუწვდომელი ნივთიერებების მიღების სრულიად ორიგინალურ ხერხებს, იძლევიან ახალი პროცესების განხორციელების საშუალებას. თვით ამ მეცნიერების – გენეტიკური ინჟინერიის – ისტორია ნათელი მაგალითია იმისა, თუ რაოდენ რთულია ფუნდამენტური მეცნიერებების მიღწევათა პრაქტიკაში დანერგვის პროგნოზირება. რეკომბინანტული დნმ–ის ტექნოლოგიის შემუშავება არის უკანასკნელი ორმოცი წლის მანძილზე მოლეკულური ბიოლოგიის განვითარებაში მნიშვნელოვანი დაბანდებების შედეგი. დიდი დრო არ გასულა მას შემდეგ, რაც ბევრი ბიოლოგი უკმაყოფილებას გამოთქვამდა იმის გამო, რომ ძალზე დიდი ყურადღება ეთმობოდა ბიოლოგიისა და ქიმიის ამ პრესტიჟულ სფეროს, რომელიც არავითარ სარგებელს არ იძლეოდა. დღეს ჩვენთვის ცხადია, რომ მოლეკულური ბიოლოგიის აღმოჩენები ღრმა კვალს დატოვებს კაცობრიობის ბედზე.

ცხრილი 1.1. მეცნიერების დარგები, სადაც ახლახან იყო მიღებული ბიოტექნოლოგიის განვითარებისათვის მნიშვნელოვანი შედეგები

გენეტიკური ინჟინერია (რეკომბინანტული დნმ–ის ტექნოლოგია)

ფერმენტები (გამოყოფა, იმობილიზაცია, სტაბილიზაცია)

ბიოკატალიზი →

მიკროორგანიზმების უჯრედები და მაკრო-ორგანიზმების უჯრედები (იმობილიზაცია, სტაბილიზაცია)

იმუნოლოგია (განსაკუთრებით, მონოკლონური ანტისხეულები)

ფერმენტაციის ტექნოლოგია → წარმოება

→ ნარჩენების გადამუშავება

ბიოელექტროქიმია

მეცნიერული მიღწევების გამოყენება ბიოტექნოლოგიაში მჭიდრო კავშირშია ფუნდამენტალურ კვლევებთან და ხორციელდება თანამედროვე მეცნიერების ყველაზე მაღალ დონეზე. ბიოტექნოლოგიის განსაცვიფრებელი მეცნიერული მრავალსახეობა, რომელზეც ზემოთ ვსაუბრობდით, ნათლად ჩანს სურ. 1.1–ზე. იხ. გვ. 149

აქ ჩამოთვლილი მეცნიერებების თითოეულ დარგს, ცალკე აღებულს, არ შეაქვს თავისი წვლილი კონკრეტულ ბიოტექნოლოგიურ პროცესში, ან ამა თუ იმ პროდუქტის მიღებაში – როგორც წესი, ასეთი დარგი რამდენიმეა.

ჩვენს დროში განისაზღვრა ბიოტექნოლოგიის ზოგიერთი პერსპექტიული მიმართულების განვითარების ერთი მნიშვნელოვანი თავისებურება – სპეციალისტების, მეცნიერებისა და ტექნოლოგების მჭიდრო საერთაშორისო თანამშრომლობის აუცილებლობა.

ისტორიული პერსპექტივები

მანამდე, ვიდრე ყოვლისმომცველი ტერმინი „ბიოტექნოლოგია“ საყოველთაოდ მიღებული არ გახდა, ბიოლოგიასთან უფრო მჭიდრო კავშირში მყოფი სხვადასხვა ტექნოლოგიის აღსანიშნავად გამოიყენებოდა ისეთი სახელწოდებები, როგორიცაა გამოყენებითი მიკრობიოლოგია, გამოყენებითი ბიოქიმია, ფერმენტების ტექნოლოგია, ბიოინჟინერია, გამოყენებითი გენეტიკა და გამოყენებითი ბიოლოგია. თუ გამოვრიცხავთ საპნის წარმოებას, მაშინ ამდაგვარი „ტექნოლოგიების“ რიცხვიდან პირველივე გახდა გამოყენებითი მიკრობიოლოგიის წინამორბედი. ჩვენს წინაპრებს წარმოდგენა არ ჰქონდათ იმ პროცესებზე, რომლებიც საფუძვლად ედო ასეთ ტექნოლოგიებს. ისინი უფრო ინტუიციურად მოქმედებდნენ, მაგრამ ათასწლეულების მანძილზე წარმატებით იყენებდნენ მიკრობიოლოგიური ფერმენტაციის მეთოდს საკვების შენახვისათვის (მაგალითად, ყველის ან ძმრის მიღების დროს), გემოს გასაუმჯობესებლად (მაგალითად, პურის და სოიას საწებელას დასამზადებლად) და სპირტიანი სასმელების წარმოებისათვის. ლუდის ხარშვა აქამდე რჩება ბიოტექნოლოგიის ერთ–ერთ ყველაზე მნიშვნელოვან (ფულად განზომილებაში) დარგად. მთელ მსოფლიოში ყოველწლიურად აწარმოებენ დაახლოებით 1011 ლიტრ ლუდს, რომლის ღირებულება შეადგენს 100 მლნ გირვანქა სტერლინგს. მთელ ამ წარმოებას საფუძვლად უდევს ნივთიერებათა ცვლის რეაქციები, რომლებიც მიმდინარეობს ანაერობულ პირობებში ზოგიერთი მიკროორგანიზმების ზრდისა დ გამრავლების დროს.

ბიოტექნოლოგია სოფლის მეურნეობაში

ბიოტექნოლოგიისა და სოფლის მეურნეობის შეხების წერტილები ძალზე მრავალფეროვანია. სოფლის მეურნეობის პროდუქცია შეიძლება გამოიყენებოდეს მრეწველობაში, მაგალითად, დაბალხარისხიანი ჭარბი ღვინისაგან ეთილის სპირტის წარმოებისათვის. ასეთმა მიდგომამ შემდგომი განვითარება ჰპოვა: სპეციალურად დაიწყეს სპირტის მისაღებად სასოფლო–სამეურნეო კულტურების წარმოება. თანამედროვე სოფლის მეურნეობის პროდუქციის უმეტესობა

გამოიყენება ნედლეულად კვების მრეწველობის განვითარებისათვის. ნედლეულის სახით შეიძლება გამოიყენებოდეს სოფლის მეურნეობის ნარჩენებიც: კერძოდ, დიდი ყურადღება ექცევა საწვავი აირის მიღების შესაძლებლობას ნაკელიდან მისი, როგორც სასუქის, თვისებების შენარჩუნებით. ამ სფეროში პროცესების სრულყოფისათვის საჭიროა უფრო ნათელი წარმოდგენა გვქონდეს სხვადასხვა სუბსტრატის დაშლის სიჩქარეზე და მასში მოქმედი მიკროორგანიზმების როლზე.

ვეტერინარიაში ბიოტექნოლოგია გამოიყენება ვაქცინებისა და შრატების მისაღებად. როგორც მოსალოდნელია, თუ ვაქცინების მიღება მოსახერხებელია გენური ინჟინერიის მეთოდით მოდიფიცირებული მიკროორგანიზმების მეშვეობით. ჩვენ გავხდებით მოწმენი ისეთი საშიში დაავადებების აღმოფხვრისა, როგორიც არის თურქული და ძილგუდის დაავადება. ხორცის გამოსავლიანობის გასაზრდელად შეიძლება გამოყენებულ იქნეს ზრდის ჰორმონები. თანამედროვე ბიოტექნოლოგია გვაძლევს პირუტყვისათვის საკვებსაც, მაგალითად, ცილოვან–ვიტამინიზირებულ კონცენტრატს. თუმცა, ჯერ კიდევ დასასაბუთებელია მისი გამოყენების მიზანშეწონილობა ეკონომიკური თვალსაზრისით, ყოველ შემთხვევაში, ასეა მიღებული დასავლეთის ქვეყნებში.

ბიოტექნოლოგია გვეხმარება შევიმუშაოთ სასოფლო–სამეურნეო კულტურების გაუმჯობესების ხერხები როგორც მოსავლიანობის, ისე ხარისხის თვალსაზრისით. შეიძლება გამოვიყენოთ მისი მეშვეობით მიღებული ძვირადღირებული ქიმიური სასუქების ან პესტიციდების შემცვლელები. ასე მაგალითად, მოთხოვნილება აზოტზე შეიძლება დაკმაყოფი-ლებულ იქნეს აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაციის გზით, რომელიც დაფუძნებულია სიმბიოზზე, ხოლო მოთხოვნილება ფოსფორზე – მიკორიზებში მიმდინარე პროცესებში ჩარევის გზით. შორეული მომავლის ამოცანაა აზოტის ფიქსაციის უნარის გადაცემა უშუალოდ ცალკეულ სასოფლო–სამეურნეო კულტურებზე მათში ნიტროგენაზის გენის შეყვანის გზით. შედეგად, ეს მცენარეები შეიძენენ ისეთი ფერმენტის სინთეზის უნარს, რომელიც აკატალიზირებს აზოტის ფიქსაციის რეაქციას. ეს იძლევა იმ ენერგიის ეკონომიის საშუალებას, რომელიც იხარჯება ამიაკის ქიმიური სინთეზის დროს. იმედოვნებენ, რომ მომავალში პესტიციდების ნაცვლად ჩვენ შეგვეძლება როგორც ფართოდ ცნობილი, ისე ახალი, ბუნებრივი შენაერთე-ბის გამოყენებაზე დაფუძნებული ბიოლოგიური კონტროლის მეთოდების გამოყენება. ასე მაგალითად, მცენარეების ერთ–ერთ დაავადებასთან, გვირგვინიან გალთან ბრძოლაში შეიძლება დაგვეხმაროს ბაქტერიები; მავნებელ პეპლებთან ბრძოლა შეიძლება Bacillus thuringiensis–ის მეშვეობით. ასეთი მეთოდების შემუშავება არა მარტო სარგებელს მოუტანს სოფლის მეურნეობას, არამედ მნიშვნელოვან როლს შეასრულებს გარემო პირობების სათანადო დონეზე შენარჩუნების საქმეში.

საერთო მოსაზრების მიხედვით, ბიოტექნოლოგიის ყველაზე დიდი წვლილი სოფლის მეურნეობაში მოსალოდნელია თვით მცენარეთა თვისებების გაუმჯობესების ხარჯზე რეკომბინანტული დნმ–ის მეთოდებისა და მცენარეთა პროტოპლასტების გამოყენების გზით. პარკოსნებისა და მარცვლოვნების მიმართ ცალკეული უჯრედებისაგან მთელი მცენარეების რეგენერაციის მეთოდს ჯერ კიდევ არ გამოუღია რაიმე მნიშვნელოვანი შედეგი. თუმცა იონჯაზე წარმოებული სამუშაოები არ ყოფილა წარუმატებელი, რაც იმედს იძლევა, რომ ცდები პარკოსნებზე უფრო შედეგიანი იქნება კულტივირების უფრო სრულყოფილი პირობების შემუშავების შემდეგ. ამგვარი ტექნოლოგიის გამოყენებით შესაძლებელია მივაღწიოთ მარცვლოვნების ცილების მიღებასაც, რომლებიც შეიცავს ისეთ შეუცვლელ ამინომჟავებს, რომელთა გამომუშავება ამჟამად არ ხდება მათში.

2. ბიოტექნოლოგიის გამოყენება თანამედროვე სოფლის მეურნეობაში

თანამედროვე ბიოტექნოლოგების „წინაპრებად“ შეიძლება მივიჩ-ნიოთ ფერმერები, ვინაიდან ისინი მუდმივად აუმჯობესებდნენ ცხოველთა ჯიშებს. თუმცა იმის გამო, რომ ეს ძირითადად ემპირიულად კეთდებოდა, სწორი არ იქნება ფერმერებს ბიოტექნოლოგები ვუწოდოთ – ბიოტექნოლოგია ხომ ბიოლოგიური პროცესების მიზანმიმართული და მეცნიერულად დასაბუთებული გამოყენებაა ნედლეულის წარმოების, გადამუშავებისა და გამოყენების პროცესში. პრაქტიკაში ამ პროცესების უმეტესობა მიმდინარეობს მიკროორგანიზმების მონაწილეობით.

დღეს ფერმა – ეს არის საკვები ნედლეულის წარმოების ცენტრი მიწის რესურსების ხარჯზე, მაგრამ ადრე მისი ფუნქციები უფრო ფართო იყო, ვინაიდან აქ ხორციელდებოდა მისი გადამუშავებაც. პურის ცხობის, ლუდის ხარშვის, ყველისა და დუღილის პროდუქტების წარმოება იყო მარცვლეულის, ხორცისა და რძის წარმოების ბუნებრივი დანამატი. ეს ყველაფერი ადგილზევე კეთდებოდა, რათა არ დაეშვათ პროდუქტების გაფუჭება მიკრობების მოქმედებით. დღეს ბევრი ამ მეორადი წარმოებიდან, სადაც წამყვანი როლი შესაბამისი მიკროორგანიზმების ცხოველმყოფელობას ეკისრება, გადატანილია ფერმებიდან ქარხნებში (ყოველ შემთხვევაში, ასე არის განვითარებულ ქვეყნებში). აქ ისინი სრულყოფილი იქნა პროდუქციის ხარისხის ამაღლებისა და პროცესის ეფექტიანობის გაზრტდის მიზნით.

ხშირად ქარხნებში ხორციელდება კვების პროდუქტების უფრო სრულყოფილი გადამუშავებაც (ჩვეულებრივ, ფერმენტაციის გზით), როდესაც მათგან აწარმოებენ ნედლეულს ქიმიური მრეწველობისათვის. ამის კარგ მაგალითს წარმოადგენს ტექნიკური სპირტის წარმოება

დაბალხარისხიანი ჭარბი ღვინისაგან; ბევრმა არ იცის, რომ დიდი ოდენობით სპირტის მისაღებად გამოიყენება სპეციალურად ამ მიზნით წარმოებული კულტურები. სამრეწველო ბიოტექნოლოგია ფერმერს სხვაგვარ დახმარე-ბასაც უწევს, ამარაგებს რა მას ვაქცინებით და ანტიბიოტიკებით, აგრეთვე საკვების დანამატებით. ამრიგად, ურთიერთკავშირი სოფლის მეურნეობასა და ბიოტექნოლოგიას შორის საკმაოდ მრავალმხრივია. შესაძლოა, აზრს მოკლებული არ იყოს შემოვიფარგლოთ მხოლოდ იმის გარკვევით, თუ როგორ უწყობს ის ხელს ფერმერ–მიწათმოქმედს და მებაღეს მოსავლიანობის გაზრდისა და მცენარეთა ხარისხობრივი თავისებურებების გაუმჯობესების საქმეში.

სოფლის მეურნეობის პროდუქციის მოცულობისა და ხარისხის (საკვები ღირებულების და საბაზრო თვისებების) ამაღლების აუცილებლობა საყოველთაოდ ცნობილია. ამასთან, ეს უნდა ხორციელდებოდეს ეკონომიკურად მისაღები ხერხებით გარემოზე გავლენის გათვალისწინებით.

განვითარებულ ქვეყნებს აქვთ საშუალება დიდი მასშტაბებით გამოიყენონ მინერალური სასუქები, მაგრამ სხვა ქვეყნებისთვის ეს არ არის ხელმისაწვდომი და ისინი იძულებულნი არიან სხვა გზები ეძებონ. ზრდისათვის ძირითადი აუცილებელი ელემენტია აზოტი. ის არ მიეკუთვნება იშვიათ ელემენტთა რიცხვს, მაგრამ იმისათვის, რომ აზოტი გადავიყვანოთ მცენარეებისათვის ადვილად შესათვისებელ ფორმაში, საჭიროა მისი ფიქსირება. საბედნიეროდ, ევოლუციის მსვლელობაში გამომუშავდა აზოტის ფიქსაციის ბიოლოგიური მექანიზმი ს იმბიოზის გზით. მისი მსგავსია აგრეთვე აზოტის არასიმბიოტური ფიქსაციის პროცესიც, რომელიც ამჟამად აქტიურად შეისწავლება, მაგრამ პრაქტიკაში ჯერ შეზღუდული მასშტაბით გამოიყენება.

დიდი ყურადღება ეთმობა მცენარეთა ფოსფორით უზრუნველყოფის ბიოლოგიურ ტექნოლოგიებს, აგრეთვე მცენარეთა მავნებლებსა და დაავადებებზე კონტროლის ხერხებს. ამ სფეროში ნავარაუდევია ლაბორატორიული ექსპერიმენტებიდან პრაქტიკაზე გადასვლა. მუშავდება ძვირფასი კულტურების მოყვანის წესები კონტროლირებად პირობებში არის ახალი და მრავლის აღმთქმელი მიდგომა. სავარაუდოდ, ყველაზე დიდი წვლილი, რომელიც შეიძლება შეიტანოს ბიოტექნოლოგიამ სოფლის მეურნეობაში – ეს არის მცენარეთა ჯიშების გაუმჯობესება; აქ არსებითი პროგრესი მიღწეული იქნება გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებისა და პროტოპლასტების შერწყმის ტექნოლოგიების გამოყენებით.

მკვებავი აპკის მეთოდი

სრულფასოვანი ზრდისათვის მცენარეებს ესაჭიროება წყალი და ჟანგბადი, მაგრამ ეს სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვანი ელემენტები იშვიათად გვხვდება ოპტიმალური ოდენობით მცენარეთა მოყვანის დროს

ნიადაგში ან სხვა მყარ სივრცეში. ჭარბი წყალი ავსებს სივრცეს ნიადაგის ნაწილაკებს შორის და ფესვებს აკლდება ჟანგბადი. მეორე მხრივ, კარგი აერაცია მიიღწევა მხოლოდ წყლის უკმარისობის პირობებში. მკვებავი აპკის გამოყენებით შეიძლება თავიდან ავიცილოთ ეს დეფიციტი.

ამგვარი წესით მოყვანილ მცენარეებს ფესვები უვითარდებათ მუდმივად აღდგენადი საკვები ხსნარის თხელ ფენაში, რომელშიც ყველა საჭირო ნივთიერებაა. ხსნარის დონე დაცულია მკაცრად განსაზღვრულ სიმაღლეზე ისე, რომ ფესვების განვითარებადი ქვედა ნაწილი მუდმივად ხსნარშია, ხოლო ზედა ნაწილი მის ზემოთ არის განლაგებული და დაფარულია სითხის თხელი ფენით. ძალზე მნიშვნელოვანია, რომ ეს აპკი მუდმივად არსებობდეს. ფესვები მთლიანად თუ იქნება ხსნარში, მათ ჟანგბადი დააკლდებათ.

მკვებავი აპკის მეთოდის ძირითადი გამანსხვავებელი თავისებურება ის არის, რომ თითოეული მცენარის ფესვთა სისტემა იმდენად ინტენსიურად ვითარდება და ისე მჭიდროდ გადაიხლართება მეზობელი მცენარეების ფესვებთან, რომ მათ აღარ სჭირდებათ საყრდენი.

ამრიგად, მკვებავი აპკის მეთოდი ძირეულად განსხვავდება წყლის კულტურების მეთოდისაგან (ჰიდროპონიკისაგან), რომლის დროს წყალი და საკვები ნივთიერებები ჭარბად არის, მაგრამ ფესვთა სისტემის აერაცია, ჩვეულებრივ, არასაკმარისია. ამ მეთოდით მცენარეთა გაშენების დროს დამაგრების პრობლემა კვლავ რჩება იმ შემთხვევაშიც, როდესაც ფესვები ვითარდება არა წყლის სივრცეში, არამედ ინერტული მასალის (მაგალითად, ქვიშის, ხრეშის ან პემზის) სივრცეში, რომელიც ტენიანდება მკვებავი ხსნარით კაპილარული ძალების ხარჯზე. ამგვარი კულტივირებისას მოყვანის პირობები ძალზე მიახლოვებულია ასეთ ნიადაგებისათვის და გააჩნია მათთვის დამახასიათებელი ყველა ნაკლოვანება.

პარკოსანი კულტურები და აზოტის ფიქსაცია სიმბიოზის დროს

Legumes -ის ოჯახი შეიცავს 625–მდე გვარსა და 18 000–მდე სახეობას. ეს პარკოსანი მცენარეების ერთ–ერთი ყველაზე მრავალრიცხოვანი და ეკონომიკური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი ოჯახია. ამასთან, ის ძვირფასი ნედლეულია საკვებისა და სასურსათო პროდუქტების წარმოებისათვის. ზომიერი კლიმატის მცენარეებიდან შეიძლება დავასახელოთ მუხუდო, ბარდა და ლობიო. ტროპიკულ და სუბტროპიკულ ზონებში მოჰყავთ ყველაზე ნაირფეროვანი კულტურები (მათ შორისაა სოია, ჩინური ვიგნა, ოსპი და მიწისთხილი). ბევრი პარკოსანი ძვირფასი საძოვრული კულტურებია (მაგალითად, სამყურას სხვადასხვა სახეობა, Stylosanthes და სხვ.). ისინი შეიძლება მწვანე სასუქადაც გამოიყენებოდეს (მაგალითად, იონჯა); იძლევიან ტყის მასალას, ხილს, ბოსტნეულს, წებოვან ნივთიერებებს, ბოჭკოს, წამლებს და სუნელებს. პარკოსნების

როლი იმითაც განისაზღვრება, რომ მათ უნარი შესწევთ ფესვთა კოჟრებში დააფიქსირონ ატმოსფეროს აზოტი, რომელიც ჩამოყალიბდება ნიადაგის ბაქტერიების, Rhizobium-ის მონაწილეობით. მათში წარმოშობილი აზოტიანი ნივთიერებები საჭიროა მცენარეთა ზრდისათვის.

თუ კოჟრებიანი ბაქტერიების მონაწილეობაზე ატმოსფერული აზოტის სიმბიოგენურ ფიქსაციაზე შედარებით ახლახან (დაახლოებით 100 წლის წინ) გახდა ცნობილი, პარკოსანთა მოყვანის ბევრ უპირატესობაზე ხალხმა გაცილებით ადრე გაიგო (ორი ათასი წლის წინ). კულტურა, რომლისგანაც შეიძლება ცილებით მდიდარი კვების პროდუქტების მიღება და რომელიც არ საჭიროებს (ან ძალზე მცირე ოდენობით საჭიროებს) აზოტიან სასუქებს, უდავოდ მომგებიანია და გასაკვირი არ არის, რომ კოჟრების წარმომშობი პარკოსნები გახდა მნიშვნელოვანი სასოფლო–სამეურნეო კულტურები ევროპაში, ჩრდილო ამერიკაში და სხვა კონტინენტებზე.

დადგენილია, რომ იმ პარკოსნებს შორის, რომლებიც მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ სოფლის მეურნეობაში (ძირითადად Papilionoideae), სახეობების დაახლოებით 98%–ს შეუძლია კოჟრების წარმოქმნა. გარეულ სახეობებს შორის ისინი ყველაზე ხშირად ყალიბდება განსაკუთრებული ნაირფეროვანი ბაქტერიების–რიზობიუმების მონაწილეობით, რომლებიც მათ ბუნებრივ ადგილსამყოფელში არსებობენ. თუ პარკოსანთა რომელიმე სახეობა (გარეული ან კულტივირებული) დიდი ხნის მანძილზე იზრდება ერთსა და იმავე ადგილზე, ეს იწვევს მასთან თანამაცხოვრები სხვადასხვა რიზობიუმის თანდათანობით დაგროვებას ნიადაგში. მოსავალი, განსაკუთრებით თუ ნიადაგში აზოტიანი ნაერთების ნაკლებობაა, ხშირად დამოკიდებულია იმაზე, შეიქმნა თუ არა მოცემულ ადგილზე ეფექტური (ე.ი. აზოტის ფიქსაციის უნარის მქონე) ასოციაცია მცენარე–პატრონისა და Rhizobium–ის შესაბამისი ნაირსახეობისაგან (შტამისაგან). საჭირო შტამი ყოველთვის არ არის იმ ადგილზე, სადაც ნავარაუდევია მოცემული კულტურის მოყვანა და, ასეთ შემთხვევაში, საჭირო ხდება მისი დამატებით შეტანა ნიადაგში.

მას შემდეგ, რაც ცნობილი გახდა Rhizobium–ის ოჯახის ბაქტერიე-ბისა და პარკოსნების სიმბიოზის არსებობა, შემუშავდა ამ ბაქტერიების ნიადაგში შეტანის წესები კულტივირების პირობების გასაუმჯობესებლად. დაიწყეს მათი დამატება აგრეთვე თესლთანაც. ინოკულაციის ამ წესის დანერგვაზე გაწეული დანახარჯები დიდი არ არის; უმნიშვნელოა სატრანსპორტო ხარჯებიც, ხოლო თვით მეთოდები საკმაოდ მარტივია. ამიტომ მათი დანერგვა შესაძლებელია განვითარებადი ქვეყნების სოფლის მეურნეობაში, სადაც სასუქების მაღალი ღირებულება მძიმე ტვირთად აწვება ფერმერებს. პარკოსნების მოყვანა თესლის ინოკულაციის მეთოდის გამოყენებით ხშირად კარგ გავლენას ახდენს გარემოს მდგომარეობაზე: იგი ხელს უწყობს გაუდაბნოებასთან ბრძოლას, აადვილებს ნიადაგის ეროზიასთან ბრძოლას, ამცირებს ქარის მიერ ნიადაგის გადატანას და დიდი წარმატებით აღადგენს

გამოფიტულ მიწებს. კოჟრების წარმომქნელი პარკოსნების უმეტესობას შეუძლია სრულიად დააკმაყოფილოს მოთხოვნილება აზოტზე. ეს, რა თქმა უნდა, მხოლოდ მაშინ ხდება, როდესაც სხვა პირობებიც ხელს უწყობს მცენარეთა ზრდას, ანუ როდესაც მცენარეები იღებენ საკმარისი ოდენობის წყალს და საკვებ ნივთიერებებს.

ინოკულაციის ყველაზე მარტივი ხერხი დაფუძნებულია ისეთი ნიადაგის გამოყენებაზე, რომელიც აღებულია მინდვრებიდან, სადაც კარგად იზრდება პარკოსანი კულტურები. ეს ხერხი სავსებით გამოსადეგია და ფართოდ გამოიყენებოდა საუკუნის ბოლოს.

მისი ნაკლი კი იმაში მდგომარეობს, რომ ამ დროს საჭირო ხდება დიდი მოცულობის ნიადაგის გადატანა, ვინაიდან Rhizobium შეადგენს მიკროფლორის მხოლოდ მცირე ნაწილს და თვით ნიადაგის უმცირეს, უმნიშვნელო ნაწილს. ამერიკაში, ჩვეულებრივ, შეჰქონდათ 100–1000 კგ ნიადაგი 1 ჰა–ზე. ამ ნიადაგს იღებდნენ რომელიმე ახლომდებარე მინდვრიდან, სადაც მოდიოდა საჭირო პარკოსანი კულტურის კარგი მოსავალი. ამ მეთოდის კიდევ ერთი ნაკლია ნიადაგთან ერთად მცენარეთა დაავადებების გავრცელება.

გაცილებით ნაკლები ოდენობის ნიადაგის შეტანაა საჭირო სათესი მანქანების გამოყენებისას, როდესაც ბაქტერიები ხვდება პირდაპირ თესლთან, სადაც ისინი ყველაზე საჭიროა. ამ მარტივი ხერხის საფუძველზე შემუშავებულია თესლის პირდაპირი ინოკულაციის მეთოდი. თავდაპირველად გამოიყენებოდა დაქუცმაცებული ნიადაგი (სულ დაახლოებით 0,5 კგ 1 კგ თესლზე), შემდეგ კი დაიწყეს ისეთი მეთოდის გამოყენება, რომელიც დაფუძნებული იყო ბაქტერიების წმინდა კულტურების შეყვანაზე.

ამ მეთოდის არსი იმაში მდგომარეობს, რომ თესლზე გადააქვთ იმ Rhizobium–ის უჯრედების დიდი რაოდენობა, რომლებიც შეესაბამება პატრონ–მცენარის განსაზღვრულ სახეობას, რაც ღივებში ზრდის კოჟრების სწრაფად წარმოქმნის შესაძლებლობას მოცემული მიკროორგანიზმების მონაწილეობით. ამისათვის საჭიროა საკმაოდ ბევრი ბაქტერია, რომლებიც შეინარჩუნებენ სიცოცხლისუნარიანობას მანამდე, სანამ ნიადაგში ისინი არ მიაღწევენ ფესვთა ბუსუსებს.

თესლის პირდაპირი ინოკულაციისათვის გამოსადეგია Rhizobium–ის კულტურა, რომელიც გამოყვანილია სინჯარებში ან კოლბებში აგარიან არეში. ჩვეულებრივ, ბაქტერიების გამოზრდისათვის იყენებენ აგარიან არეს მანნიტოლით და საფუარის შემდეგი შემადგენლობის ექსტრაქტით: 0,5 გ K_2HPO_4, 0,2 გ $MgSO_4$ X 7 H_2O, 0,1 გ NaCl, 10 გ მანნიტოლი, 0,4 გ საფუარის ექსტრაქტი (მაგალითად, Difco, Oxoid), 15 გ აგარი, 1 ლ–მდე გამოხდილი წყალი (pH 6,8 – 7,0); ახდენენ არის ავტოკლავირებას 15 წუთით 121°C ტემპერატურაზე. ასეთი არის 10 მლ–ში შეიძლება მოთავსდეს რიზობიუმების 1010 უჯრედი. სიცივეში მათი შენახვა შეიძლება რამდენიმე კვირის განმავლობაში.

თანამედროვე ინოკულატები მყარ მატარებლებზე

აგარზე ან თხევად არეში მოყვანილი Rhizobium გაშრობის შემდეგ თესლის ზედაპირზე მალე კვდებიან, თვით მათი კულტურაც არ არის გამძლე. ეს ნაკლოვანებები არ გააჩნია ტორფის ინოკულატებს, რომლებიც შექმნილი იყო აშშ–ში, დღეს კი ყველგან გამოიყენება.

საჭირო შტამის კულტურის მიღებისას Rhizobium გამოყავთ ჩვეულებრივი წესით თხევად არეში (რომელიც შეიცავს, მაგალითად, მანნიტოლს და საფუარის ექსტრაქტს) ფერმენტორში, რომლის მოცულობა რამდენიმე ლიტრია. დანადგარი შეიძლება იყოს ძალზე მარტივი; მთავარია, რომ მისი მოწყობილობა უზრუნველყოფდეს დაცვას მიკრობული დაბინძურებისაგან. არის ტემპერატურა დაცულია 25–28°C–ის ფარგლებში და ხორციელდება ინტენსიური აერაცია სტერილური ჰაერით. pH–ზე კონტროლი საჭირო არ არის, განსაკუთრებით, თუ არეში დამატებულია ცოტაოდენი $CaCO_3$. სტერილურ ან არასტერილურ ტორფთან (მატარებელთან) შერევის მომენტისათვის კულტურის სიმჭიდროვე (სიმკვრივე) უნდა იყოს საკმაოდ მაღალი – 5 X 10^8 – 4 X 10^9 უჯრედი/მლ. ნელა მზარდი შტამების შემთხვევაში (მაგალითად, R. lupine), რომელთა უჯრედებს გაორმაგებისათვის საშუალოდ 10 სთ–იანი დროის პერიოდი სჭირდებათ, ჩვეულებრივ, რთული მისაღებია მაღალი სიმკვრივის მქონე კულტურა და ხშირად უფრო სწრაფად მზარდი შტამების (რომელთა გაორმაგების პერიოდი საშუალოდ 3 სთ–ია) გავრცელებაც კი ჩაიხშობა დამაბინძურებელი სახეობების მიერ. თხევად არეში კულტურის სწრაფი ზრდის უზრუნველსაყოფად სასარგებლოა ერთდროულად ბევრი ბაქტერიის შეტანა.

ტორფს აშრობენ ან ჩვეულებრივ ტემპერატურაზე, ან ფრთხილად გათბობით დაახლოებით 10% (მშრალ მასაზე) ტენიანობამდე. შემდეგ მას აქუცმაცებენ სპეციალური წისქვილით, აქცევენ ფხვნილად, რომელსაც ცრიან (200 მეშ) და დაიყვანენ pH–ს 6,5–7,0–მდე, თან უმატებენ წმინდად დაფქვილ $CaCO_3$–ს. ასეთი ტორფი შეიძლება გამოიყენებოდეს, როგორც სტერილური და არასტერილური მატარებელი. ტორფის პარტიის ვარგისიანობაზე Rhizobium ინოკულატების მისაღებად არ შეიძლება ვიმსჯელოთ მისი ზოგადი თვისებების მიხედვით და თითოეულ მათგანზე ახდენენ სწორედ იმ შტამების საცდელ გამოყვანას, რომლის გამოყენებასაც გეგმავენ. ტორფში ბაქტერიების ზრდა და გადარჩენადობა დამოკიდებულია მრავალ ფაქტორზე.

მომზადებულ დაქუცმაცებულ ტორფს უმატებენ 40%–მდე (მასის მიხედვით) თხევად კულტურას, ნარევს გულდასმით შეურევენ და დატოვებენ მას მომწიფებამდე მცირე სიმაღლის სინში. რამდენიმე დღის შემდეგ ნარევს კვლავ მოურევენ, შემდეგ დააფასოებენ ჩვეულებრივ, შედუღებულ პოლიეთილენის ტოპრაკებში (პარკებში, რომელთა

სისქეა 0,0375 მმ). ნარევის მომზადებიდან პირველ რამდენიმე კვირას Rhzobium–ის სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რიცხვი ჩვეულებრივ იზრდება 2–5–ჯერ. თუ დაფასოებულ პარკებს შევინახავთ დაბალ ტემპერატურაზე, ბაქტერიები დიდი ხნით ინარჩუნებენ სიცოცხლის უნარს. შენახვის სავარაუდო დროს შეაფასებენ გამომდინარე იმ პერიოდის ხანგრძლივობიდან, როდესაც იღუპება უჯრედების 90% (საწყისი რიცხოვნობის 1/10–მდე შემცირების დრო). ეს დრო ვარიირებს 90 კვირიდან (5°C–ზე) 8 კვირამდე (25°C–ზე). ხელსაყრელ პირობებში კულტურის შენახვა შეიძლება ერთ წლამდე (რიცხოვნობის შემცირების დრო 1/10–მდე, >16 კვირა), მაგრამ ეს ვადა გაცილებით ნაკლებია, როდესაც ისინი ინახება ოთახის ტემპერატურაზე. შენახვის შესაძლო ხანგრძლივობის განჭვრეტა შეუძლებელია და მისი განსაზღვრა საჭირო ხდება თითოეული პარტიისათვის.

თესლის ინოკულაცია

ამ ტექნოლოგიის მიზანია კოჟრების წარმოქმნის ინტენსიფიკაცია; ამასთან, ბაქტერიებთან ერთად პარკოსნების თესლს უმატებენ შედარებით ნაკლებადხსნად არაორგანულ ფხვნილოვან ნივთიერებებს (კალციუმის ფოსფატს, დაქუცმაცებულ კირქვას და ა.შ.). კარგი ეფექტი სამყურას კულტურის (Trifolium subterraneum) დანერგვისას ავსტრალიის მჟავე ნიადაგებზე მიღებულია კირის დრაჟირებით. თავდაპირველად თესლის კულტივაცია ხდებოდა წმინდად დაფქულ კირქვაში, შემდეგ უშუალოდ თესვის წინ შეერეოდა ინოკულატის შემცველ ნოტიო ტორფს. ასეთი წესი ხელს უწყობს უფრო მეტი ინოკულატის დადებას და, ამავდროულად, ზრდის თესლზე ბაქტერიების გადარჩენადობას. ინოკულატიან ტორფს ემატება გუმიარაბიკის ხსნარი (~40%) და ყოველივე ეს გულდასმით აირევა თესლთან (მაგალითად, მცირე ზომის, სუფთა ბეტონის ამრევში). ამით მიიღწევა მათი თანაბრად დაფარვა. შემდეგ უმატებენ საჭირო ოდენობით კალციუმის კარბონატს (ძალიან ძლიერ ტუტეს) და აგრძელებენ არევას მანამდე, ვიდრე ინოკულირებული თესლი არ დაიფარება თანაბარი ფენის კირქვის ფქვილით. დანამატების მოცულობა და დამუშავების დრო მკაცრად უნდა გაკონტროლდეს ისე, რომ წარმოიქმნას მკვრივი გრანულები, რომლებიც შეიცავს სიცოცხლისუნარიანი ბაქტერიების დიდ რიცხვს. დრაჟირების შემდეგ, თესლი უნდა დაითესოს რაც შეიძლება სწრაფად, სანამ მათზე სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რიცხვი მაქსიმალურია.

ამჟამად გამოყენებული ნიადაგის ინოკულატები

მიუხედავად იმისა, რომ დღეს ჩვენს განკარგულებაშია თესლების კარგი ინოკულატები, მათი გამოყენება ყოველთვის ვერ ხერხდება სრული ეფექტიანობით. საქმე იმაშია, რომ ხშირად თესლის დამუშავება

აუცილებელია ფუნგიციდებით და პესტიციდებით, რომელთაგან ზოგიერთი ლეტალურია Rhizobium–სათვის, ან არასასურველ ზემოქმედებას ახდენს მათზე. გარდა ამისა, ზოგიერთი პარკოსნის თესლის გარსი შეიცავს ბუნებრივ ანტიბიოტიკებს. პრობლემები ჩნდება აგრეთვე თესლის თესვისას გამთბარ მშრალ ნიადაგში: ამ დროს ბაქტერიები შეიძლება დაიღუპოს წვიმის მოსვლამდე და თესლის აღმოცენებამდე. ამიტომ უფრო გონივრულია ნიადაგში შეტანილ იქნეს Rhizobium ისე, რომ ისინი თესლთან ახლოს, განვითარებადი ფესვების სიახლოვეს აღმოჩნდეს, მაგრამ, ამავდროულად, განსაზღვრული მანძილით დაშორებული იყოს ფესვებიდან, რათა მინიმუმამდე იქნეს დაყვანილი თესლში არსებული ტოქსინების გავლენა. დღეს კვლავ იპყრობს ყურადღებას ნიადაგის (და არა თესლის) ინოკულაცია გაუმჯობესებული ინოკულატების გამოყენებით.

ასე მაგალითად, ძალზე მოსახერხებელია ფოროვანი გრანულების გამოყენება, რადგან რამდენიმეთვიანი შენახვის შემდეგაც კი მათში შენარჩუნებულია საკმაოდ ბევრი სიცოცხლისუნარიანი ბაქტერია. ასეთი გრანულების დამზადება შეიძლება ტენიანი თაბაშირისაგან 0,2% ნატრიუმის კარბოქსიმეთილცელულოზის დამატებით, რომელიც აფერხებს ჩაჭიდებას. ბაქტერიები გამოყავთ თხევად საკვებ არეში, რომელსაც ემატება ჩამოყალიბებული გრანულები, შემდეგ მათ აშრობენ ჰაერზე, აფასოებენ და ასეთი სახით ინახავენ.

შეიძლება დამზადდეს გრანულირებული ინოკულატი ტორფის საფუძველზეც, რომელშიც შექმნილია პირობები Rhizobium–ის გამრავლე-ბისათვის. მათი, ისევე როგორც თაბაშირის გრანულების, თესვა შეიძლება თესლთან ერთად ან ნიადაგში მათ ქვეშ მოთავსება, თუ საჭიროა ბაქტერიების დაცვა სიცხისა და გვალვის მავნე ზეგავლენისაგან.

პარკოსნებსა და Rhizobium–ს შორის სიმბიოზის გაუმჯობესება

სიმბიოტური ურთიერთობები, რომლებიც იწვევს აზოტის ფიქსა-ციას – ეს იმ ამიაკის ბიოლოგიური წარმოქმნის ყველაზე ეფექტიანი ხერხია, რომელიც მოიხმარება სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მიერ. მათზე ზეგავლენით ჩვენ შეგვიძლია მივაღწიოთ მნიშვნელოვან პროგრესს აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაციის გამოყენებაში საკვები პროდუქტების წარმოებისათვის. აზოტის ფიქსაციის სისტემის მასშტაბების გაფართოებისა და ეფექტიანობის ზრდისთვის საჭიროა ღრმად ჩავწვდეთ Rhizobium ბაქტერიების გენეტიკას, რათა ასე ძლიერ არ ვიყოთ დამოკიდებული სიმბიოზის ბუნებრივ სისტემებზე, არამედ შევძლოთ ჩამოვაყალიბოთ ისინი საკვებად გამოყენებული ნებისმიერი სასურველი მცენარისათვის.

გენეტიკური ექსპერიმენტები აზოტფიქსირებად ორგანიზმებზე

ბოლო ათი წლის განმავლობაში ბიოლოგიური აზოტფიქსაციის შესასწავლად დაიწყეს მიკრობების გენეტიკისა და მოლეკულარული ბიოლოგიის მეთოდების გამოყენება. ექსპერიმენტებმა ცხადყო, რომ კოლიფაგი P1 შეიძლება გამრავლდეს Klebsiella pneumoniae M5–ში (თავისუფლადმცხოვრებ აზოტმაფიქსირებელ ბაქტერიაში) და ტრანსდუცირებდეს მისი მეშვეობით nif-გენებს (აზოტფიქსაციის გენებს). გაჩნდა იმედი, რომ გენეტიკური მეთოდებით შესაძლებელი გახდება აზოტფიქსაციის უნარის ამაღლება და უკეთესი მოსავლის მიღება.

ცოტა ხნის წინ ჩვენ არცთუ ნათელი წარმოდგენა გვქონდა – სიმბიოტურ სისტემაში (Rhizobium – პარკოსანი) პარტნიორთაგან რომელი იყო nif-გენების მატარებელი, პასუხისმგებელი აზოტის ფიქსაციაზე. მაგრამ მეცნიერთა რამდენიმე ჯგუფმა აღმოაჩინა, რომ Rhizobium–ის ნელა მზარდ რამდენიმე ფორმას ახასიათებს ნიტროგენაზას აქტივობა. მათი გამოკვლევებიდან ნათელი გახდა, რომ nif-გენები არის ბაქტერიების და არა პატრონ–მცენარის გენომში. ამის დასადასტურებლად ნაჩვენები იყო, რომ პლაზმიდის მეშვეობით შესაძლებელია nif-გენების გადატანა R.trifolii–დან აზოტის ფიქსირების უნარმოკლებულ შტამზე – Klebsiella aerogenes–ზე. დადგენილ იქნა, რომ კოჟრების ჩამოყალიბებაზე და აზოტის ფიქსაციაზე პასუხისმგებელი გენების მატარებელი ზოგიერთი პლაზმიდი შედარებით ადვილად გადაეცემა Rhizobium–ის ერთი შტამიდან მეორეს კონიუგაციის დროს.

ბიოლოგიური კონტროლი

მიკრობიოლოგიის განვითარების უკვე დასაწყისშივე ცნობილი გახდა, რომ ერთი სახის მიკროორგანიზმებს შეუძლიათ სხვა მიკროორგანიზმების ზრდის ჩახშობა. ინტენსიური კვლევების ყველაზე მნიშვნელოვანი შედეგი ამ სფეროში, სავარაუდოდ, იყო ანტიბიოტიკების აღმოჩენა და კლინიკაში მათი გამოყენების წესების შემუშავება. დიდი ყურადღება მიიპყრო აგრეთვე მიკროორგანიზმების ერთი ჯგუფის გამოყენების შესაძლებლობამ მეორეთა პოპულაციის რიცხოვნობის დასარეგულირებლად ანტაგონისტური ან კონკურენტული მექანიზმების მოქმედების გამოისობით. სამწუხაროდ, ამ კვლევების პროცესში სოფლის მეურნეობისათვის მნიშვნელოვანი თითქმის არაფერი ყოფილა აღმოჩენილი. მიუხედავად ამისა, თვით იდეა ასეთი ფართომასშტაბიანი ბიოლოგიური კონტროლისა, კვლავ იპყრობს მეცნიერთა ყურადღებას.

ბიოლოგიური კონტროლი ხორციელდება ბუნებაში და ეხმარება მცენარეებში დაავადებათა აღმოფხვრას, მაგრამ ჩვენ ყოველთვის ცხადად

არ წარმოგვიდგენია თუ როგორია მისი მექანიზმი და როგორ შეიძლება მისი მართვა სოფლის მეურნეობის სასარგებლოდ. ძალზე უმნიშვნელოა წარმატებები კვლევების ამ გამოყენებით სფეროში, რაც უდავოდ იმითაა განპირობებული, რომ არასაკმარისი ძალისხმევით შეისწავლებოდა მიკროორგანიზმების შერეული პოპულაციების ქცევა ნიადაგში და მცენარის ზედაპირზე. თუმცა, არის კონტროლის სისტემების ისეთი მაგალითებიც, რომლებიც იმ დონემდეა დამუშავებული, რომ ისინი საფუძვლინად შეიძლება ჩაითვალოს ბიოლოგიურად.

მიკრობული ინსექტიციდები

ცხოველთა კლასებს შორის, მწერების კლასი ყველაზე მრავალ-რიცხოვანია: აღწერილი სახეების რიცხვი 1 მლნ–ს უახლოვდება. მწერებს შეუძლიათ დიდი ზარალის მიყენება სასოფლო–სამეურნეო კულტურების მოსავალზე, ხოლო ზოგიერთი მათგანი ადამიანისა და ცხოველთა დაავადებების გადამტანია.

სინთეზირებული იყო მრავალი ქიმიური ინსექტიციდი, რომლებიც ხელს უწყობდა მავნე მწერების პოპულაციის რიცხვის გაკონტროლებას. მათგან ყველაზე ცნობილი იყო დიქლორდიფენილტრიქლორეთანი (დუსტი). იგი მრავალ მავნე მწერთან ბრძოლის მაღალეფექტური საშუალება გამოდგა. ისევე როგორც სხვა ქლორორგანული ნაერთები, იგი მაპარალიზებლად მოქმედებდა მწერების ნერვულ სისტემაზე და კუნთოვან ქსოვილზე. ამჟამად სინთეზირებულია და ფართოდ გამოიყენება სხვა ქლორორგანული ნაერთები, როგორიცაა დილდრინი, ალდრინი, ქლორდანი, ლინდანი, ტოქსოფენი, ხოლო დუსტი ამოღებულია წარმოებიდან.

ქიმიური ინსექტიციდების კიდევ ერთი კლასია ფოსფორორგანული ნაერთები, რომლებიც შეიცავენ მალატიონს, პარატიონს და დიაზინონს. პირველი თაობის ფოსფორორგანული ინსექტიციდები შემუშავებული იყო როგორც საბრძოლო მომწამლავი ნივთიერებები. ამჟამად მათ იყენებენ მწერების რიცხოვნობის გასაკონტროლებლად. მათი მოქმედება დაფუძნებულია აცეტილქოლინესტერაზის ინჰიბირებაზე, რომელიც ნეირომედიატორ აცეტილქოლინის ჰიდროლიზებას ახდენს. ამ კლასის ინსექტიციდები არღვევენ მწერის ტვინის მოტონეირონებისა და ნეირონების ფუნქციონირებას.

დროთა განმავლობაში ძირითადი მავნებლები – მწერები სულ უფრო გამძლე ხდებოდა მრავალი ქიმიური ინსექტიციდის მიმართ და მათი რიცხოვნობის გასაკონტროლებლად საჭირო გახდა უფრო მაღალი კონცენტრაციის ინსექტიციდების გამოყენება. გარდა ამისა, აღმოჩნდა, რომ ქიმიური ინსექტიციდები არ მოქმედებდნენ შერჩევითად, ე.ი. მავნე მწერებთან ერთად ისინი ანადგურებდნენ სასარგებლო მწერებსაც, ზოგ შემთხვევაში კი უფრო ეფექტიანად ანადგურებდნენ მავნე მწერების

ბუნებრივ მტრებს, ვიდრე თვით მავნებლებს. ხშიად ეს იწვევდა საკმაოდ მოულოდნელ შედეგებს: დამუშავება იწვევდა მავნე მწერების რიცხოვნობის გაზრდას.

ამის გათვალისწინებით, ბოლო 20 წლის მანძილზე ინტენსიურად იძებნებოდა მავნე მწერების რიცხოვნობის კონტროლის ალტერნატული ხერხები. პირველ რიგში, მკვლევარებმა მიმართეს ბუნებრივ ინსექტიციდებს, რომლებიც სინთეზირებული იყო სხვადასხვა მიკროორგანიზმებისა და მცენარეების მიერ. საქმე იმაშია, რომ ეს ნაერთები, როგორც წესი, მაღალსპეციფიკურია და ექვემდებარება სწრაფ ბიოდეგრადაციას. ამიტომ მათდამი მდგრადობა გამომუშავდება შენელებულად. სამწუხაროდ, ისინი ძალიან ეფექტურნი არ არიან, ხოლო მათი მიღება ძალზე ძვირი ჯდება, რაც ზღუდავს მათი ფართო გამოყენების შესაძლებლობას. იმედია, რომ ყველა ეს პრობლემა გადაჭრილი იქნება რეკომბინანტული დნმ–ის ტექნოლოგიების მეშვეობით. ამჟამად მიკრობიოლოგიური ინსექტიციდების ეფექტიანობის გაზრდისთვის მკვლევარებს შეუძლიათ ჩაატარონ მანიპულაციები ისეთი გენებით, რომლებიც ახდენენ მათი ბიოსინთეზის კოდირებას. კერძოდ, საუბარი შეიძლება ეხებოდეს იმ ინსექტიციდების გენებს, რომლებიც გამომუშავდება ბაქტერია Bacillus thuringiensis-ის ან მწერების ბაკულოვირუსების მიერ. ეს ინსექტიციდები უსაფრთხოა, სპეციფიკური და მაღალეფექტური.

Bacillus thuringiensis-ის მიერ სინთეზირებული ტოქსინის მოქმედების მექანიზმი და გამოყენება

ცნება „მიკრობული ინსექტიციდის“ ქვეშ ზოგჯერ იგულისხმება მიკროორგანიზმი, რომელიც ისეთი ტოქსიკური ნივთიერების სინთეზირებას ახდენს, რომელიც შერჩევითად მოქმედებს განსაზღვრულ მწერებზე ან აინფიცირებს სამიზნე–მწერს და იწვევს მის სიკვდილს. ყველაზე უკეთ შესწავლილი, ეფექტიანი და ყველაზე ხშირად გამოყენებული მიკრობული ინსექტიციდია ბაქტერია B.thuringiensis. ის აერთიანებს მრავალ შტამსა და ქვესახეობას (subspecies). თითოეული მათგანი ახდენს განსაზღვრული მწერების მიმართ სპეციფიკური ტოქსინის სინთეზირებას. მაგალითად, B.thuringiensis subsp. kurstaki ტოქსიკურია ქერცლაფრთიანების მატლებისათვის (მათ შორის, ჩრჩილებისა და პეპლებისთვის), სქელთავას მატლებისათვის, მერმიტიდებისა და ფოთოლხვევია–კვირტიჭამიასათვის, ნაძვის მუხლუხოსათვის. B.thuringiensissubsp. israelensis ანადგურებს ორფრთიანებს – კოღოებსა და ქინქლებს. B.thuringiensissubsp. tenebrionis (ცნობილია აგრეთვე san diego–ს სახელწოდებით) ეფექტურია ხეშეშფრთიანების (მათ შორის, კოლორადოს ხოჭოს და ბამბის გრძელ-ცხვირას) მიმართ,. აღწერილია B.thuringiensis სხვა შტამებიც, რომელთაგან თითოეული ტოქსიკურია განსაზღვრული მწერებისათვის.

B.thuringiensis subsp. kurstaki და სხვა შტამების ინსექტიციდი (ცილის ტოქსინი) არსებობს უჯრედში ე.წ. პარასპორალური კრისტალის სტრუქ-ტურის სახით, რომელიც წარმოიქმნება ბაქტერიების სპორულაციის დროს. ეს სტრუქტურა არავითარი განსაკუთრებული ბიოლოგიური ფუნქციის მატარებელი არ არის. მის წილად მოდის სპორულირებული კულტურის მშრალი მასის 20–დან 30%–მდე და შედგება უმთავრესად ცილისაგან (დაახლოებით, 95%) და გარკვეული ოდენობით ნახშირწყალბადისაგან (~5%). კრისტალი – ეს არის ცილის აგრეგატი, რომელიც დისოცირებს სუბერთეულებად სუსტ ტუტე გარემოში.

მავნებელი მწერების რიცხოვნობის ბიოკონტროლისათვის აფრქვევენ 1,5 X 109 – 2,5 X 109 B.thuringiensissubsp. kurstaki–ის სპორებს დასამუშავებელი ნაკვეთის თითოეულ კვადრატულ მეტრზე. ამუშავებენ იმ პერიოდში, როდესაც მატლების რიცხვი სამიზნე მწერების პოპულაციაში მაქსიმა-ლურია, ვინაიდან პარასპორული კრისტალები მგრძნობიარეა მზის სინათლისადმი და სწრაფად იშლება ლაბორატორიულ პირობებში. სინათლეზე 24 საათში იშლება 60%–ზე მეტი ტრიფტოფანის ნარჩენები პარასპორალური კრისტალების ცილებში, ხოლო ბუნებრივ გარემოში, განათების ინტენსივობის მიხედვით, კრისტალები შეიძლება შენარჩუნე-ბულ იქნეს ერთი დღე–ღამიდან ერთ თვემდე. ინსექტიციდური პროტოქსინის ასეთი არასტაბილურობა იმის მანიშნებელია, რომ მისდამი მდგრადი მწერების გამოჩენა ნაკლებსავარაუდოა.

ტოქსინების გენების იდენტიფიკაცია

B.thuringiensis შტამების შესაქმნელად, რომლებიც უფრო ეფექტიანად ახდენენ ინსექტიციდების სინთეზირებას და გააჩნიათ პატრონების ფართო წრე, საჭირო იყო პროტოქსინის გენის(ების) იდენტიფიცირება, დახასიათება და, პირველ რიგში, იმის გარკვევა, სად არიან ისინი ლოკალიზებული – პლაზმიდაში თუ ქრომოსომულ დნმ–ში. იმისათვის, რომ შემოწმდეს პლაზმიდური ლოკალიზაციის ჰიპოთეზა, შტამი B.thuringiensis, რომელიც ახდენს ტოქსინის პროდუცირებას, შეიძლება კონიუგირებულ იქნეს შტამთან, რომელსაც არ გააჩნია ინსექტიციდური აქტივობა. კონიუგაციის დროს ქრომოსომული დნმ–ის გადაცემა ხდება ძალზე იშვიათად და თუ „დეფექტური“ შტამი იძენს უნარს მოახდინოს ინსექტიციდის სინთეზირება, მაშასადამე, ტოქსიკური გენები ლოკალიზებულია პლაზმიდში.

იმ გენის იდენტიფიკაციისათვის, რომელიც ახდენს პროტოქსინის კოდირებას, გამოიყენება ჩვეულებრივი, მარტივი მეთოდიკა. B.thuringiensis გამოყავთ კულტურაში და ლიზირებენ უჯრედებს. გამოყოფენ ჯამურ უჯრედულ დნმ–ს და ახდენენ მის ცენტრიფუგირებას CsCl–ის სიმკვრივის გრადიენტში, რათა ერთმანეთისაგან დააცალკევონ

პლაზმიდური და ქრომოსომული დნმ. თუ პროტოქსინების გენები შედიან გენომის შემადგენლობაში, ისინი ქმნიან ქრომოსომული დნმ–ის კლონების ბანკს; ხოლო თუ ისინი შედიან პლაზმიდაში, მაშინ საქაროზას სიმკვრივის გრადიენტში ცენტრიფუგირებისას პლაზმიდური დნმ ფრაქციონირდება ზომების მიხედვით. ეს ამდიდრებს იმ პლაზმიდურ ფრაქციას, რომელიც შემდგომში იქნება საწყისი მასალა პროტოქსინების გენების იდენტიფიკაციისათვის.

ინტექსიციდი, რომელიც პროდუცირდება B.thuringiensissubsp. israelensis–ი მიერ, ამჟღავნებს თავის ტოქსიკურ თვისებებს, თუკი ის მოხვდება კოღოს მატლების ნაწლავებში. ხოლო თუ ამ ტოქსინს, რომელიც პარასპორალური კრისტალების სახით არსებობს, დავაფრქვევთ წყალზე, მაშინ კრისტალები სწრაფად ჩაიძირება და ტოქსინი გამორიცხული იქნება კოღოს მატლების კვებითი ჯაჭვიდან. იმისათვის, რომ გადაიჭრას ეს პრობლემა, შესაძლებელია ტოქსინის გენი შეყვანილ იქნეს ორგანიზმში, რომელიც ითვლება საკვებად კოღოს მატლებისათვის. ეს შეიძლება იყოს, მაგალითად, ფოტომასინთეზირებელი ციანობაქტერიები Synechocystis და Synechococcus spp., რომლებიც მრავლდება წყლის ზედა ფენაში, სადაც საკმარისი მზის სინათლეა და სადაც, ჩვეულებრივ, მატლები სახლობენ.

სოფლის მეურნეობის ბევრი კულტურის მოსავალს ზიანს აყენებს ერთდროულად რამდენიმე სახის მწერი. ამიტომ ძალზე სასარგებლო იქნებოდა ისეთი მიკრობიოლოგიური ინსექტიციდების შექმნა, რომლებიც მიმართულია მავნე მწერების ფართო სპექტრის წინააღმდეგ. მოქმედების ფართო სპექტრის ტოქსინი შეიძლება მიღებულ იქნეს ორი გზით: 1) გარკვეული ტოქსინის (მაგალითად, ტოქსინის, რომელიც ეფექტურია ორფრთიანების მიმართ) გენის გადატანით B.thuringiensis–ის შტამში, რომელიც ახდენს რომელიმე სხვა სპეციფიკური ტოქსინის (რომელიც ეფეტურია, მაგალითად, ხეშეშფრთიანების მიმართ) სინთეზირებას; 2) სხვადასხვა სპეციფიკური ტოქსინის ორი გენის ნაწილების შეერთებით და ისეთი თანმიმდევრობის წარმოქმნით, რომელიც ახდენს ორმაგი მოქმედების უნიკალური ტოქსინის კოდირებას (ჰიბრიდული ტოქსინი).

იმისათვის, რომ შემოწმებულიყო ფართო სპექტრის მოქმედების ტოქსინის მიღების შესაძლებლობა, ტოქსინების B.thuringiensis subsp. aizawai და tenebrionis გენები ჩააშენეს ნავისებურ ვექტორებში, რომელთაც აქვთ რეპლიცირების უნარი B.thuringiensis და Escherichia coli-ში. შემდეგ ასეთი გენეტიკური კონსტრუქციები შეიყვანეს ელექტროპორაციის მეშვეობით B.thuringiensis subsp. aizawai–ში,kurstaki–ში, israelensis–ში და tenebrionis–ში. მიღებული ტრანსფორმირებული შტამების ტოქსიკურობა შემოწმდა მწერების სამი სახეობის მატლებზე.

ყველა შემთხვევაში ტოქსიკურობა, რომელიც განპირობებულია პატრონის ტოქსიკური გენით (ან გენებით), შენარჩუნებულ იქნა, ხოლო

უმეტეს შემთხვევაში შეყვანილი გენი განაპირობებდა ტოქსიკური მოქმედების სპეციფიკურობას, რომელიც დამახასიათებელია იმ შტამისათვის, საიდანაც ის იყო გამოყოფილი. გარდა ამისა, ერთ–ერთმა ექსპერიმენტმა გასაოცარი შედეგი მოგვცა: ტოქსინის B.thuringiensis subsp.tenebrionis–ის გენის შეყვანისას B.thuringiensis subsp.israelensis–ში მიღებული იქნა ტრანსფორმანტები, გარკვეული დონით ტოქსიკურები Pieris brassicae–სათვის (კომბოსტოს თეთრულასთვის), რომელზეც საწყისი გენების პროდუქტებიდან არცერთი არ მოქმედებდა.

ბაკულოვირუსები, როგორც ბიოკონტროლის ინსტრუმენტი

ბაკულოვირუსები ჩხირისებური ვირუსებია ორჯაჭვიანი დნმ–ს გენომით, რომლებიც აინფიცირებს ზოგიერთ უხერხემლოებს. მათი სხვადასხვა ქვეჯგუფი პათოგენურია მწერების ისეთი რიგებისათვის, როგორიცაა ქერცლფრთიანები, აპკისებრფრთიანები, ორფრთიანები, ბადეფრთიანები, ხეშეშფრთიანები და ტოლფრთიანები. ზოგიერთი მათგანი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს განსაზღვრული მავნე მწერების რიცხოვნობის კონტროლში ბუნებრივ პირობებში.

ბაკულოვირუსის ვირიონს აქვს ცილინდრისებური ნუკლეოკაპსიდი, რომელშიც მოთავსებულია მისი დნმ. მოხვდება რა დაინფიცირებული უჯრედის ბირთვში, ბაკულოვირუსული ნაწილაკები გაერთიანდება და ქმნის კომპაქტურ სტრუქტურას, მოთავსებულს კრისტალურ ცილოვან მატრიქსში. იგი ძირითადად შედგება ცილა პოლიედრინისაგან. დაინფიცირებული მწერების დაღუპვის შემდეგ არეში გამოდიან მილიონობით პოლიედრინული ნაწილაკები. მოხვდებიან რა სხვა მწერების ნაწლავებში, ისინი ექვემდებარებიან ტუტე არის მოქმედებას, მატრიქსი გაიხსნება და გამონთავისუფლდება ინფექციური ვირუსული ნაწილაკები. ისინი ხვდებიან მწერების ნაწლავების უჯრედებში, ციტოპლაზმიდან ხვდებიან ბირთვში, სადაც ნუკლეოკაპსიდის მოშორების შემდეგ ხდება ვირუსის რეპლიკაცია და ახალი ვირუსული ნაწილაკების წარმოქმნა. ზოგიერთი მათგანი მოხვდება მწერის სისხლის ნაკადში, შემდეგ კი სხვა ორგანოებშიც. ჩვეულებრივ მწერი იღუპება ვირუსის რეპლიკაციის 10 რაუნდის გასვლის შემდეგ, ე.ი. დაახლოებით ინფექციიდან 5–6 დღე–ღამეში, ამასთან მწერის მშრალი მასის 25%–მდე მოდის პოლიედრინის წილად.

ბაკულოვირუსების, როგორც მწერების რიცხოვნობის ბიო-კონტროლის ინსტრუმენტის ერთ–ერთი უპირატესობათაგანია მათი მოქმედების შერჩევითობა. ერთი მხრივ, ეს ნიშნავს, რომ მოცემული ბაკულოვირუსი შეიძლება გამოიყენებოდეს მხოლოდ განსაზღვრული მავნე მწერების რიცხოვნობის კონტროლისათვის. მაგრამ, მეორე მხრივ, იმის გამოისობით, რომ ბაკულოვირუსებმა განიცადეს ევოლუცია

მრავალი ათასი წლის მანძილზე თავის პატრონ–მწერებთან ერთად და ისწავლეს მათი დამცავი მექანიზმების გადალახვა, ამიტომ ამ ვირუსებისადმი მდგრადობა ვითარდება ძალზე იშვიათად – გაცილებით იშვიათად, ვიდრე B.thuringiensis. უფრო მეტიც, ბაკულოვირუსებისადმი მდგრადი მწერები სწრაფად კარგავენ ამ უნარს მას შემდეგ, რაც შეწყვეტენ ვირუსებთან ურთიერთმოქმედებას.

ფერმერები და მებაღეები უპირატესობას ანიჭებენ ერთი ინსექტიციდური აგენტის გამოყენებას, რომელიც მოქმედებს სხვადასხვა მავნე მწერებზე და არა მრავალი ინსექტიციდის გამოყენებას. ეს ნიშნავს, რომ ბაკულოვირუსების უფრო ფართო გამოყენებისათვის საჭიროა მათი პატრონების წრის გაფართოვება.

ბიოკონტროლის გაძლიერება გენური ინჟინერიის მეშვეობით

ბაკულოვირუსები სწრაფად არ მოქმედებენ. სხვადასხვა პირობებში დაინფიცირებული მწერი შეიძლება დაიღუპოს რამდენიმე დღიდან რამდენიმე კვირის პერიოდში. იმისათვის, რომ დაჩქარდეს ეს პროცესი, შეეცადნენ ბაკულოვირუსების ვირულენტობის გაზრდას მათში უცხო გე-ნების შეყვანით, რომელთა ექსპრესიის შედეგად მოხდება დაინფიცირებული მწერის დასუსტება ან სიკვდილი. ერთ–ერთ ექსპერიმენტში ნავარაუდევი იყო ისეთი გენის გამოყენება, რომლის ექსპრესია პატრონ–მწერის უჯრედებში დაარღვევდას ნორმალურ სასიცოცხლო ციკლს.

ცნობილია, რომ მატლებში იუვენილური ჰორმონის დონის შემცირება ახდენს ოკუკლივანიეს ინიცირებას და აჩერებს მათ აქტიურ კვებას. ეს შემცირება ხდება სპეციფიკური ესტერაზის შემცველობის ამაღლების გზით. აღნიშნული ფერმენტი ახდენს იუვენილური ჰორმონის რთული მეთილური ეთერის ბიოლოგიურად აქტიური ფორმის გარდაქმნას არააქტიურ მჟავე ფორმაში. ესტერაზის აქტივობის ინჰიბირება იწვევს in vivo აქტიური იუვენილური ჰორმონის დაგროვებას, მატლები უფრო ხანგრძლივად რჩებიან აქტიური კვების სტადიაში და ამის შედეგად აღწევენ გიგანტურ ზომებს. გონივრული იქნებოდა გვევარაუდა, რომ იუვენილური ჰორმონის – ესტერაზის დონის ხელოვნურად ამაღლების გზით მოხდება ენდოგე-ნურად აქტიური იუვენილური ჰორმონის დონის შემცირება და დროზე ადრე კვების შეწყვეტა. ამასთან, ცნობილი იყო, რომ მატლების აქტიური კვების პერიოდის შემცირების დროს მოსავალი ნაკლებად ზიანდება.

ბაკულოვირუსების ინსექტიციდური მოქმედების ეფექტიანობის ამაღლებისათვის სხვა მიდგომა დაფუძნებულია ვირუსულ გენომში ძლიერი მწერ–სპეციფიკური ტოქსინის გენის ჩართვაზე, რომელიც ექსპრესირდებავირუსულიინფექციისციკლისდროს.ბაკულოვირუსის

ერთ–ერთ შტამში შეიტანეს მწერსპეციფიკური ნეიროტოქსინის გენი, რომელსაც ატარებს ჩრდილო აფრიკის მორიელი – Androctonus australis Hector. ეს ნეიროტოქსინი, რომელიც არ მოქმედებს თაგვებზე, ნატრიუმის იონების ტრანსპორტის ბლოკირებას ახდენს მწერ–სამიზნის ნეირონებში, რაც იწვევს მათ პარალიზებას და სიკვდილს. იმ ბაკულოვირუსით ინფიცირებული მწერები, რომლებიც ატარებენ მორიელის ნეიროტოქსინის გენს, აზიანებდნენ საკონტროლო მცენარეთა ფოთლებს 50%–ით ნაკლები სიხშირით, ვიდრე მწერები, დაინფიცირებული ინტაქტური (ველური ტიპის) ბაკულოვირუსით.

3. ორგანიზმებში გენების გადატანის პრინციპები გენეტიკური ტრანსფერის ფენომენი

ცოცხალი ორგანიზმების მიერ ახალი, მშობლების მსგავსი ორგანიზმების წარმოქმნის უნარი ყველა დროისათვის უდიდესი მისტიკური პროცესია. ათასწლეულების მანძილზე ადამიანებმა იცოდნენ, რომ მცენარეებისა და ცხოველების შთამომავლები ახლო მსგავსებას ავლენდენენ მშობლიურ ფორმებთან. მიუხედავად იმისა, რომ ადამიანებმა არ იცოდნენ როგორ ვითარდებოდა ეს პროცესი, ისინი სელექციური მიზნით მაინც იყენებდენენ ამ ფენომენს. ისინი ამრავლებდნენ ისეთ მცენარეებს, რომლებსაც, მათი აზრით, ჰქონდათ ნიშან-თვისებრივი უპირატესობა სხვა მცენარეებთან შედარებით. ცხოველები, რომლებიც საუკეთესოდ პასუხობდნენ ადამიანთა მიზნებს გადაირჩეოდა შეჯვარებისთვის და გენეტიკური ტრანსფერის რამოდენიმე თაობის შემდგომ მიიღებოდა თვისობრივად გაუმჯობესებული ცხოველები.

მიუხედავად იმისა, რომ მშობლების ნიშან-თვისებები გადაეცემოდა მათ შთამომავლობას, ადამიანებმა შეამჩნიეს ფენომენი, რომლის მიხედვითაც ხშირად ახალი მცენარეები და ცხოველები არ ემსგავსებოდნენ თავიანთი მშობლებს. პირველი მეცნიერი, რომელმაც წამოიწყო სისტემური კვლევა ამ მოვლენისა, იყო ავსტრიელი ბერი გრეგორ მენდელი, რომელიც ცხოვრობდა მონასტერში 1800-იან წლებში. კვლევების შედეგად, მენდელმა შეიმუშავა დათიშვის კანონი. ამ კანონის მიხედვით, ფაქტორები, რომელთაც ალელები ეწოდებათ და განსზღვრავენ თაობებში ნიშან-თვისებების გადაცემას თითოეული მშობლიდან, ითიშებიან და შემდგომ, განაყოფიერების დროს, კომბინაციაში შედიან მეორე მშობლის ფაქტორებთან. სხვა სიტყვებით, თითოეული მშობელი უზრუნველყოფს ერთი კონკრეტული ნიშან–თვისების განმსაზღვრელი ორი ალელიდან ერთ-ერთის გადაცემას ახალი თაობისთვის. მენდელის ექსპერიმენტები სხვადასხვა ნიშნის ერთდროულ შესწავლაზე შემდგომში ჩამოყალიბდა დამოუკიდებელ განაწილების კანონის სახით. ეს კანონი გვამცნობს, რომ კონკრეტული

ნიშან-თვისების განმსაზღვრელი ფაქტორები (გენები) მშობლებიდან შემდგომ თაობებს გადაეცემა სხვა ნიშან-თვისებებისაგან დამოუკიდებლად. ამგვარი სეპარაცია წარმოშობს ორგანიზმებში აურაცხელი მრავალფეროვნების საშუალებას (მაგალითად, ორგანიზმთა ფერის, ზომის, ფორმის, ზრდისა და რეპროდუქციის უნარს). თითოეული ეს თვისება არის დამოუკიდებელი ნიშანი, რომელიც შემდგომ თაობებს გადაეცემა ნებისმიერი კომბინაციის სახით.

მიუხედავად მენდელის კანონების ავანგარდულობისა, იმ დროისათვის ვერავინ იგებდა თუ როგორ გადაეცემოდა ნიშან-თვისებები თაობიდან თაობას. მეოცე საუკუნის დასაწყისისათვის მეცნიერები ისევ მიუბრუნდნენ მენდელისეულ მემკვიდრეობის კანონებს. შესაბამისი კვლევებით დადგინდა, რომ გენეტიკური ტრანსფერი მიმდინარეობს ორგანიზმთა უჯრედებში. კვლევები ამ მიმართულებით მიმდინარეობდა დაახლოებით 25 წლის განმავლობაში და დაგროვილმა ცოდნამ მიგვიყვანა ქრომო-სომების არსებობის ფაქტის გამოვლენამდე. შემდგომი 25 წლის მანძილზე მეცნიერები მივიდნენ მემკვიდრეობითობის მოლეკულური საწყისის აღმიჩენამდე. ამ პერიოდში ორმა მეცნიერმა, ჯეიმს უოტსონმა და ფრენსის კრიკმა კემბრიჯის უნივერსიტეტის ლაბორატორიიდან, აღმოაჩინა, როგორ არის უჯრედში სტრუქტურულად ორგანიზებული გენეტიკური ტრანსფერის სამშენებლო ბლოკები ანუ დნმ (დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავები) და, აგრეთვე, ის პროცესი, რომლის მიხედვითაც ისინი განიცდიან რეპლიკაციას. მიუხედავად იმისა, რომ აღნიშნული სამშენებლო ბლოკების არსებობა უჯრედის ბირთვში ადრეც იყო ცნობილი, უოტსონის და კრიკის კვლევებმა საფუძველი ჩაუყარა უფრო სრულყოფილ წარმოდგენას იმის შესახებ, თუ როგორ გადაეცემოდა ნიშან-თვისებები მშობლებიდან შთამომავლებს.

მეოცე საუკუნის მეორე ნახევარში მეცნიერებმა გამოავლინეს მექანიზმები, რომელთა მეშვეობითაც ორგანიზმთა უჯრედებში ინფორმაცია კოდირდებოდა და დეკოდირდებოდა, რამაც, საბოლოო ჯამში, ნათელი მოჰფინა გენეტიკური ტრანსფერის ფუნქციონირებას ცოცხალ ორგანიზმებში. თუმცა, მიუხედავად ამ სფეროში მიღწეული უდავო წარმატებებისა, ითვლება, რომ დღეისათვის სრულყოფილად შესწავლილია გენეტიკური ტრანსფერის სრული პროცესების მხოლოდ 10 %.

დნმ

მაღალორგანიზებული ცხოველები და მცენარეები, რომლებსაც აწარმოებს სოფლის მეურნეობა, შედგება მილიარდი უჯრედისაგან. თითოეული ამ უჯრედის ბირთვული დნმ შეიცავს სრულ გენეტიკურ კოდს იდენტური ორგანიზმის შესაქმნელად. დნმ შედგება ერთეულებისაგან – ნუკლეოტიდებისაგან, რომლებიც შედგენილია შაქრის მოლეკულისაგან,

ფოსფორმჟავას ნაშთისაგან და აზოტოვანი ფუძისაგან. დნმ-ს მოლეკულები აწყობილია ძაფისებურად და ქმნის სპირალს, რომელიც წააგავს გრძელ, დახვეულ კიბეს. ჰელიქსის თითოეულ წერტილში, სადაც კიბის ორი ნახევარი ერთდება, სხვადასხვა აზოტშემცველი ფუძე - ადენინი (A), თიმინი (T), გუანინი (G), და ციტოზინი (C) არიან ურთიერთდაკავშირებული. ამასთან, აზოტოვანი ფუძეები განლაგებულია იმგვარად, რომ ადენინი (A) წყვილდება მხოლოდ თიმინთან (T), ხოლო ციტოზინი (C) – გუანინთან (G) (იხ გვ.149 სურ. 3-1).

თითოეული სპირალი შედგება ნუკლეოტიდების სპეციფიკური თანამიმდევრობებისაგან, რომელთა აზოტოვანი ფუძეები მოთავსებულია ცენტრში. სწორედ ნუკლეოტიდების თანამიმდევრობა განსაზღვრავს ორგანიზმში კონკრეტული ნიშან-თვისების გამოვლენას. თითოეულ ორგანიზმში წარმოდგენილია სხვადასხვა ზომის თანამიმდევრობები. ერთი თანამიმდევრობა შესაძლებელია იყოს შედარებით მოკლე და აკონტროლებდეს კონკრეტულ ნიშანს, მეორე კი შესაძლებელია იყოს უფრო გრძელი და განსაზღვრავდეს განსხვავებულ ნიშან–თვისებას. ცნობილია, რომ უმოკლესი დნმ–ს მოლეკულა ადამიანის ყველაზე მცირე ზომის (21–ე) ქრომოსომაში დაახლოებით 50 მილიონი ნუკლეოტიდის შემცველია, ხოლო ყველაზე დიდი ზომის (1–ელ) ქრომოსომაში – დაახლოებით 250 მილიონი ნუკლეოტიდი.

გენები

ნუკლეოტიდების განსაზღვრულ თანამიმდევრობას, რომელიც აკონტროლებს ორგანიზმის ნიშან–თვისებას, გენი ეწოდება. მაგალითად, ერთი გენი შეიძლება აკონტროლებდეს ცხოველის თმის ფერს, მეორე გენი კი – თმის სიგრძეს ან სტრუქტურას. გენები აკონტროლებენ ყვავილების ფერს, ცილების ან ნახშირწყლების შემცველობას თესლში, ზრდასრული მცენარის სიმაღლეს. ამავდროულად, რასაკვირველია, გარემო ფაქტორებიც მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ორგანიზმთა ნიშან-თვისებების ჩამოყალიბებაში.

საკვების ხარისხს და რაოდენობას ასევე შეუძლია არსებითი გავლენის მოხდენა ცხოველის ან მცენარის ზომაზე, კლიმატური პირობები კი გავლენას ახდენს ყველაფერზე – დაწყებული რეპროდუქციული პროცესებიდან, ორგანიზმის სიცოცხლის ხანგრძლივობით დამ-თავრებული. თუმცა, მიუხედავად გარემომცველი პირობების არაერთგავროვნებისა, ორგანიზმის მახასიათებლები შემოიფარგლება იმ გენების ნაკრებით, რომელსაც ფლობს ორგანიზმი. იმ გენეტიკური ნაკრების ექსპრესია, რომელსაც ფლობს ორგანიზმი, ცნობილია გენოტიპის სახელწოდებით, ხოლო ნიშან-თვისებები, რომელთაც განაპირობებს გარემო და გენეტიკური კოდი ერთობლიობაში, ეწოდება ფენოტიპი. სხვა სიტყვებით, ფენოტიპი განსაზღვრავს იმას, თუ როგორ

გამოიყურება ორგნიზმი გენების კომბინაციისა და იმ გარემოს გავლენის შედეგად სადაც ის ბინადრობს. გენოტიპი გენების ფაქტობრივი ნაკრებია ორგანიზმის უჯრედში. ყოველი გენი, რომელიც მოდის მამრიდან წყვილდება მდედრის იმავე ნიშნის განმსაზღველ ალელურ გენთან. მაგალითად, გენი, რომელიც აკონტროლებს მცენარის ფერს შედგენილია ფერის ალელური გენების წყვილისაგან. ამ წყვილის ერთი ნახევარი მოდის მამისგან, მეორე კი – დედის მხრიდან. როგორც ზემოთ აღინიშნა, გენების წყვილს, რომელიც განსაზღვრავს ერთ კონკრეტულ ნიშან-თვისებას, ალელები ეწოდება. თუ ალელებში ორივე გენი ერთნაირია, მაშინ ამბობენ, რომ გენები ჰომოზიგოტურია და ყვავილი იქნება იმ ფერის, რომელსაც ამ ნიშნის გენები ატარებენ. მაგალითად, თუ ორივე გენი ალელურ წყვილში განსაზღვრავს წითელ ფერს, ყვავილი იქნება წითელი. თუმცა, თუ წითელი და თეთრყვავილიანი მცენარეები შეჯვარდებიან, შთამომავლობის გენებს უწოდებენ ჰეტეროზიგოტურს და შთამომავლობის ყვავილის ფერი განისაზღვრება დომინანტური გენით. ეს ნიშნავს იმას, რომ ერთი გენის ეფექტი პრიორიტეტული იქნება მეორე გენის ეფექტზე. თუ თეთრი ფერი დომინანტურია, შთამომავლობის ყვავილები იქნება თეთრი ფერის მიუხედავად იმისა, რომ მცენარე შეიცავს ორივე – თეთრი და წითელი ფერის განმსაზღვრელ ალელურ გენებს. დომინირების კანონიდან არსებობს გარკვეული გადახრებიც: გენების ზოგიერთ წყვილში შეიძლება აღმოჩნდეს ალელური გენები, რომლებიც თანაბარი ძალისაა და მათ ეწოდება კოდომინანტური გენები. მაგალითად, წითელი და თეთრი ფერის განმსაზღვრელი ალელური გენებიდან შესაძლებელია არცერთი არ იყოს დომინანტური, მაგრამ იყოს კოდომინანტური. ეს ნიშნავს, რომ ვერცერთი ალელი, ნიშან-თვისების გამოვლენის თვალსაზრისით, ვერ გადაფარავს ერთმანეთს. ასეთ შემთხვევაში გამოვლინდება ფერთა აღრევა და ყვავილი შეიძლება გამოვიდეს ვარდისფერი.

ფერის კოდირება იმის კარგი მაგალითია, თუ როგორ ხდება ნიშან-თვისებათა გადაცემა გენების მიერ. იგივე ზოგადი პრინციპები შესაძლებელია მიესადაგოს სხვა ნიშან-თვისებას, როგორიცაა, მაგალითად, საქონლის რქიანობა და ურქობა, სიმაღლე და სიდაბლე და ა. შ. თუმცა, გენეტიკური ნაკრების მიერ ცხოველის ნიშან-თვისებათა განსაზღვრის პროცესი მთლიანობაში გაცილებით რთულია. მაგალითად, არაალელური გენები (შესატყვისი წყვილები, რომლებიც აკონტროლებენ ნიშან-თვისებას) შეიძლება შევიდეს ურთიერთქმედებაში და ექსპრესირდეს მაკოდირებელი გენებისაგან განსხვავებული სახით. ამ ურთიერთქმედებას უწოდებენ ეპისტაზს.

გენეტიკურ ტრანსფერში მეორე მნიშვნელოვანი ფაქტორი გენების დამატებითი (ადიტიური) ექსპრესიაა. ეს ნიშნავს, რომ სხვადასხვა გენის გარკვეული რიცხვი შეიძლება "შეიკრიბოს" და განსაზღვროს ცხოველის ერთი გარკვეული ნიშან-თვისება. მაგალითად, მდედრის მიერ

გამომუშავებული რძის რაოდენობა არ კონტროლდება ერთი გარკვეული გენის წყვილით, არამედ რამდენიმე წყვილით. მდედრის ზომა და სხეულის მოცულობა, განსაზღვრული რაოდენობით ჰორმონების წარმოქმნის უნარი, სარძევე ჯირკვლების ზომა და ფუნქციონირების უნარი კონტროლდება გენების სხვადასხვა წყვილით. თუმცა, ყველა ეს ფაქტორი ერთობლიობაში განსაზღვრავს მდედრის მიერ რძის გამომუშავების უნარს. იგივე შეიძლება ითქვას ცხოველების რეპროდუქციულ უნარზეც. რამდენიმე გენეტიკურად კონტროლირებადი ფაქტორი, როგორიცაა სხეულის ზომა და სტრუქტურა, გავლენას ახდენს ცხოველის ზრდის სისწრაფესა და ეფექტიანობაზე. მენჯის ზომა, გენიტალიების ფორმა, სასქესო ჰორმონების გამოსავალი/მოცულობა – ყველა ეს ნიშანი ისეთი ფაქტორებია, რომელთა კონტროლი ხორციელდება სხვადასხვა გენით და ერთობლიობაში ყველა ეს ფაქტორი განსაზღვრავს ცხოველის რეპროდუქციის ეფექტიანობას.

ქრომოსომები

ეუკარიოტული ორგანიზმის უჯრედის ბირთვში გენები დაჯგუფებულია მკვრივ სხეულებში, რომლებიც ქრომოსომების სახელწოდებითაა ცნობილი (იხ. გვ. 150 სურ 3-2).

ქრომოსომები გააჩნიათ პროკარიოტულ უჯრედებსაც, მაგრამ აქ ისინი ლოკალიზებული არ არიან ბირთვში. უმეტესი მცენარეების და ცხოველების ბირთვი შეიცავს ქრომოსომების ორ ნაკრებს, რომელიც მიღებული აქვს თითოეული მშობლისგან. ქრომოსომების ნაკრები იყოფა მეიოზის პროცესში, რის შედეგადაც წარმოიქმნება სპერმატოზოიდი ან კვერცხუჯრედი. როდესაც სპერმატოზოიდი და კვერცხუჯრედი ერწყმება ერთმანეთს, ქრომოსომები წყვილდებიან და ახალი ორგანიზმისათვის ფორმირდება ქრომოსომათა ახალი ნაკრები. ქრომოსომების ერთი წყვილი აკოდირებს ინფორმაციას სქესის შესახებ და განსაზღვრავს – ცხოველი მდედრი იქნება თუ მამრი. უმეტეს მაღალორგანიზებულ ცხოველებში მდედრი ცხოველები ატარებენ ე.წ. XX ქრომოსომებს, მამრები კი შეიცავენ ე.წ. XY ქრომოსომებს. როდესაც გამეტების ფორმირება ხდება, ქრომოსომები იყოფა. ამ დროს კვერცხუჯრედი შეიცავს მხოლოდ X ქრომოსომას, ხოლო სპერმატოზოიდი X ან Y ქრომოსომის მატარებელია. ქრომოსომების დაწყვილება შეჯვარებისას განსაზღვრავს ცხოველის სქესს.

რნმ, ტრანსკრიპციის და ტრანსლაციის პროცესები

როდესაც უჯრედები იყოფა, გენეტიკური მასალა მშობლიური უჯრედიდან უნდა გადაეცეს ახალ უჯრედებს. ეს მასალა მოიცავს გენეტიკურ კოდს, რომელიც ჩაწერილია ქრომოსომული დნმ-ს სახით ყველა უჯრედში. გენეტიკური მასალა კოპირდება რიბონუკლეინის

მჟავის (რნმ) სახით. ეუკარიოტული ორგანიზმის უჯრედის ბირთვში გენები დაჯგუფებულია მკვრივი სხეულების ანუ ქრომოსომების სახით. ყველა ცოცხალი უჯრედი ცილების სინთეზისათვის საჭირო გენეტიკური ინფორმაციის მატარებელია. მშობლიური უჯრედის ბირთვში გენეტიკური ინფორმაციის კოდი ტრანსკრიბირდება ე.წ. მესენჯერული რნმ-ს სახით (mRNA) პროცესი, რომელიც დნმ-ს რეპლიკაციის მსგავსია მიტოზის დროს. ეს პროცესი ცნობილია ტრანსკრიპციის სახელწოდებით. როდესაც რნმ–ის სახით შეიქმნება ინფორმაციის ასლი, ეს უკანასკნელი განიცდის შემდგომ ცვლილებას (პროცესინგს), დატოვებს ბირთვს და გადადის ციტოპლაზმაში. გენეტიკური კოდი განსაზღვრავს კონკრეტულ ამინომჟავას, რომელიც გამოიყენება ცილის ასაწყობად. უჯრედის ციტოპლაზმაში გენეტიკური ინფორმაცია "გადაითარგმნება" ამინომჟავების ენაზე ე.წ. სატრანსპირტო რნმ-ს მეშვეობით. ეს პროცესი, რომელსაც ტრანსლაცია ეწოდება, გულისხმობს ინფორმაციის დეკოდირებას მისი შემდგომი გამოყენების მიზნით. ეს ინფორმაცია მიემართება რიბოსომებში, სადაც რნმ-ს სხვა ტიპი, ე.წ. რიბოსომული რნმ (rRNA) ახორციელებს ამინომჟავებიდან ცილების სინთეზს.

ამინომჟავები ცილების სამშენებლო მასალაა, ორგანიზმების უმეტესობა კი ძირითადად ცილებისაგან შედგება. მაღალი ორგანიზაციის ცხოველებში ცილების დაახლოებით 100 000 ტიპი გვხვდება. თითოეული ამინომჟავის გენეტიკური კოდი შედგება სამი ნუკლეოტიდის ერთობლიობისაგან, რომელსაც კოდონი ეწოდება. გენი შეიძლება შეიცავდეს ათასობით ფუძეთა წყვილს (ნუკლეოტიდს) ან შეიძლება იყოს უფრო მოკლე, კოდონის შესაბამისად. კოდონების თანამიმდევრობას ეწოდება ეგზონები. გენების ნუკლეოტიდურ მიმდევრობებში გვხვდება უბნები, რომლებიც კოდს არ შეიცავენ. ასეთ თანამიმდევრობებს ეწოდება ინტრონები. არსებობს გენომის სხვა რეგიონებიც, რომლებიც არ შეიცავენ კოდირებულ ინფორმაციას. ამ რეგიონების ფუნქცია ჯერ კიდევ სრულყოფილად არ არის შეცნობილი.

გენური რუკები

ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების სერია, რომელიც განთავსებულია ქრომოსომებში, წარმოადგენს გენეტიკურ კოდს. ის განსაზღვრავს ორგანიზმის მახასიათებელ ნიშან–თვისებებს და გადაეცემა თაობიდან თაობას. 80-იან და 90-იან წლებში, მეცნიერების მიზანი იყო იმის შეცნობა, თუ მთლიანობაში როგორი სახით იყო ორგანიზებული დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობა სხვადასხვა ორგანიზმის ცალკეულ გენში, რომლებიც ქრომოსომათა განსაზღვრულ უბნებში იყო ლოკალიზებული. ამ ინტერესის საბოლოო სამიზნე კონკრეტული ნიშან–თვისებების მაკონტროლებელი მექანიზმების ჩართვის შესაძლებლობაა, რომელიც ხელმისაწვდომი გახდებოდა ნუკლეოტიდების ქრომოსომებში

განლაგების გაშიფრვის შემდეგ. მაგ. თუ გვეცოდინება ზუსტად ის გენი, რომელიც აკონტროლებს კონკრეტულ მემკვიდრულ დაავადებას ადამიანებში, შესაძლებელია აღნიშნული გენის "განკურნება" და დაავადების თავიდან აცილება. ფაქტიურად, მრავალი დაავადების მაკონტროლებელი გენები, როგორიცაა, მაგალითად, კისტური ფიბროზი, უკვე იდენტიფიცირებულია, თუმცა მეცნიერებს შვიდი წელი დასჭირდათ ამ გენის ადგილმდებარეობის დასადგენად.

ადამიანის გენომური რუკის შედგენა, ანუ ადამიანის დნმ-ს სრული სეკვე-ნირება, რომელიც გიგანტური პროექტის შედეგი იყო, დასრულდა 2003 წელს. სხვა, უფრო მარტივი ორგანიზმების, მაგალითად, ბევრი ბაქტერიის სრული სეკვენირება განხორციელდა უფრო ადრე. აღნიშნუ-ლი პროექტისათვის ადამიანის გენომი შეირჩა იმ უზარმაზარი პოტენცია-ლის გამო, რომელსაც შეიცავდა ადამიანის ყველა გენის ლოკალიზაციის შეცნობა. ითვლება, რომ ადამიანს აქვს დაახლოებით 25–35 ათასამდე გენი. მიუხედავად იმისა, რომ ეს ციფრი შთამბეჭდავად გამოიყურება, პროექტის დაწყებამდე ზოგიერთ მეცნიერს მიაჩნდა, რომ ადამიანის გენომის რუკა უნდა მოიცავდეს 150 000–მდე გენს. უფრო მცირე რიცხვი იწვევდა გაოცებას იმის გათვალისწინებით, რომ დაბალი ორგანიზაციის ჭიები შეიცავდნენ ადამიანის გენების რიცხვის დაახლოებით ნახევარს. სხვა გასაოცარი ფაქტი ის იყო, რომ ადამიანებს აღმოაჩნდათ ბაქტერიების მსგავსი ასობით გენი. ბუნებრივია, გაოცებას იწვევს ის ფაქტი, რომ ისეთი მაღალგანვითარებული ორგანიზმი, როგორიც ადამიანია, როგორ შეიძლება ფლობდეს ჭიებზე მხოლოდ ორჯერ მეტ გენებს, ან გააჩნდეს საერთო გენები ბაქტერიებთან? ამის ასახსნელად საუკეთესო გამოსავალია იმის მტკიცება, რომ ადამიანის გენები უფრო რთულია, ისინი ტრანსლაციის შედეგად წარმოქმნიან უფრო მრავალგვარი ტიპის ცილებს, ვიდრე დაბალგანვითარებული ორგანიზმთა გენები.

ადამიანის რასობრივი დიფერენციაციის შესახებ არსებული მითები გაიფანტა იმ ფაქტის აღმოჩენით, რომ ყველა ინდივიდს გენების 99.9% იდენტური აქვს და ფაქტობრივად, უფრო მეტი სხვაობები გვხვდება რასის შიგნით, ვიდრე რასებს შორის. ისმის კითხვა: თუ ჩვენ ასე ახლოს ვართ გენეტიკური წყობის მხრივ, რატომ არიან ინდივიდები ესოდენ განსხვავებულები? ფაქტია, რომ ყველა გენომის მსგავსად, ადამიანის გენომიც შედგება ნუკლეოტიდური ერთეულების თანამიმდევრობი-საგან, რომელიც ასახავს სხვადასხვა აზოტის შემცველ ფუძეთა ორგანიზაციას. ადამიანის მთლიან გენომში არის სამ მილიარდ ასეთ ერთეულზე მეტი. თუ ადამიანებს აქვთ 99.9% მსგავსი გენეტიკური მასალა, ეს ნიშნავს, რომ 0.1% განსხვავებულია, რაც წარმოადგენს სამ მილიონ ერთეულს. სწორედ ეს სამი მილიონი წარმოადგენს ერთ-ერთ მიზეზს, რაც განსაზღვრავს ადამიანებს შორის გენეტიკური ინფორმაციის მატარებლობის მხრივ სხვაობას და განაპირობებს ვარიაბელობას ინდივიდებს შორის.

სხვა გამოცანა ის, რომ ქრომოსომებში არსებობს არამაკოდირებელი გაცილებით დიდი არეალი (ინტრონების თანამიმდევრობა) (იხ. გვ. 150 სურ. 3-3).

ეს არის მიზეზი იმისა, რომ სამი მილიარდი ერთეული წარმოქმნის მხოლოდ 25–35 ათასამდე გენს, ნაცვლად მოსალოდნელი 100 000 ან 150 000 გენისა. უკანასკნელი მონაცემებით, უბნები, რომლებიც არ აკოდირებენ ცილებს თამაშობენ არსებით როლს გენეტიკური ტრანსფერის პროცესებში. მაგალითად, ზოგიერთი ეს თანამიმდევრობა მაკონტროლებელი თანამიმდევრობებია, რომლებიც მონაწილეობას იღებენ კონკრეტული გენების ჩართვა-გამორთვაში. ამ მაკონტროლებლების მეშვეობით ხდება გამრავლების შეჩერება, კონტროლდება ფერმენტების გამოთავისუფლება და სხვა მრავალი საკონტროლო მექანიზმების მოქმედების რეგულირება.

მიუხედავად ადამიანის და სხვა ორგანიზმების გენომის სრული კარტირებისა, დღეისათვის გამოყენებადი ინფორმაციის მოცულობა მაინც შეზღუდულია. გენომური რუკა მარტივად გვამცნობს ნუკლეოტიდების ლოკალიზაციის ადგილს ქრომოსომაში. თუმცა, ჯერ კიდევ ბევრი რამ რჩება გაურკვეველი, თუ როგორ აკონტროლებენ არსებული თანამიმდევრობები სპეციფიკურ გენებს და როგორ ხორციელდება სპეციფიკური ნიშან-თვისებების კონტროლი გენებით. მას შემდეგ, რაც განსაზღვრული იქნება კონკრეტული ნიშან-თვისების განმსაზღვრელი გენის მდებარეობა, შესაძლებელი გახდება მრავალი გენეტიკური დაავადების საიდუმლოს ამოცნობა და სხვადასხვა დარღვევის აღმოფხვრა.

4. გენეტიკურად მოდიფიცირებული ორგანიზმების წარმოება

მეცნიერების ისტორიაში იშვიათად დაუმსახურებია რომელიმე მოვლენას ისეთი აქტიური ინტერესი და გამოხმაურება, როგორც გენეტიკურად მოდიფიცირებული ორგანიზმების შექმნას. ათასწლეულების მანძილზე ადამიანები ახდენდნენ მცენარეების და ცხოველების გენეტიკურ რეკომბინაციას სელექციური შეჯვარების გზით. თავდაპირველად ეს პროცესი ატარებდა ექსპერიმენტულ ხასიათს. მაგრამ დროთა განმავლობაში პროცესი დაიხვეწა და მიიღო უფრო ზუსტი მეცნიერების სახე. დამტვერვის კონტროლის სისტემამ და მცენარეთა გამრავლებაში იზოლირების სისტემის გამოყენებამ არნახულად გაზარდა მცენარეთა გენეტიკური გაუმჯობესების შესაძლებლობები. ცხოველებში ისეთი მეთოდების დახვეწამ, როგორიცაა ხელოვნური განაყოფიერება და ემბრიონის გადატანა, შთამომავლობის მონაცემების კომპიუტერიზებული მანიპულაციების შესაძლებლობამ

დიდ წარმატებას მიაღწია ცხოველთა გენეტიკური გაუმჯობესების დარგში. მიუხედავად იმისა, რომ ზემოთ აღწერილი პროცესები უდავოდ გულისხმობს ორგანიზმთა გენეტიკური სტრუქტურის ცვლილებას, ტერმინი გენეტიკურად მოდიფიცირებული ორგანიზმები გაჩნდა იმ ორგანიზმების დასახასიათებლად, რომელთაც გენეტიკური მასალა აქვთ შეცვლილი ორგანიზმში, კონკრეტული ნიშან-თვისების „გაუმჯობესების“ მიზნით. ასეთი მცენარეები ან ცხოველები ცნობილია როგორც ტრანსფორმირებული მცენარეები და ცხოველები, თავად პროცესს კი ეწოდება გენების სპლაისინგი ან გენური ინჟინერია.

მრავალჯერადი სელექციური შეჯვარება ვერ უზრუნველყოფს ისეთი სწრაფი ცვლილებების მიღებას, როგორც გენეტიკური მასალის ამოღება ან ჩართვა ცოცხალ ორგანიზმებში. თეორიულად, ამგვარი ქმედებების პოტენციალი სასოფლო სამეურნეო დანიშნულების მცენარეებისა და ცხოველებისათვის არასასურველი მახასიათებლების მოცილება და სასურველი ნიშან-თვისებების დამატებაა. ფაქტობრივად, გენეტიკურად მოდიფიცირებული ორგანიზმების გამოყენება ფართოდ დამკვიდრდა სოფლის მეურნეობაში, მედიცინაში და სხვა სფეროებში.

ორგანიზმებს, რომლებიც შექმნილია სხვადასხვა ტიპის ორგანიზმებს შორის გენეტიკური მასალის ტრანსპლანტაციის გზით, ტრანსგენური ორგანიზმები ეწოდება. მაგალითად, ბაქტერიული გენები გადატანილია მცენარეებში, კერძოდ, სიმინდში და ბამბაში იმისათვის, რომ გახადონ ეს მცენარეები უფრო ნაკლებად მგრძნობიარე მავნებელი მწერების მიმართ. ადამიანის ზრდის ჰორმონი წარმატებულად ჩაინერგა თაგვსა და სხვა ცხოველებში. ეს ცხოველები იზრდებოდნენ და ზომით ორჯერ და მეტად აღემატებოდნენ ნორმალურ ცხოველებს. ადამიანის გენები ტრანსპლანტირებულია ღორში იმ ქსოვილების წარმოების მიზნით, რომელთა გადანერგვაც იგეგმება ადამიანის სხეულში. მიუხედავად იმისა, რომ აღნიშნული ტექნოლოგიები ჯერ კიდევ ექსპერიმენტულ სტადიაზეა, გენური ინჟინერიის გამოყენების შესაძლებელობები პრაქტიკულად უსაზღვროა.

გენური ინჟინერიის პროცესი

პირველი გენეტიკური სპლაისინგი და ტრანსგენური ორგანიზმების პირველი პრაქტიკული გამოყენება განხორციელდა ბაქტერიების გამოყენებით. 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. გენური ინჟინერიის ერთ-ერთი პირველი პრაქტიკული გამოყენება

ადამიანის ინსულინის წარმოებაა. ინსულინი წარმოიქმნება ადმიანის სხეულში და არეგულირებს ნახშირწყლების მეტა-ბოლიზმს. მისი უკმარისობის შედეგად ვითარდება დაავადება, რომელსაც დიაბეტი ეწოდება. დღეისათვის მილიონობით ადამიანს აქვს ჯანმრთელობის სერიოზული პრობლემები ინსულინის უკმარისობის გამო, რაც, შესაბამისი მკურნალობის ჩაუტარებლობის შემთხვევაში, იწვევს სიკვდილს ადრეულ ასაკშივე. როდესაც ინსულინი პირველად აწარმოეს სამკურნალო პრეპარატის სახით, მისი მიღება განხორციელდა რქოსანი პირუტყვის პანკრეასიდან. ამ გზით მიღებული ინსულინის ოდენობა არ აკმაყოფილებდა მასზე მოთხოვნილებებს და ამასთანავე, იყო მაღალი თვითღირებულების. გარდა ამისა, ამ გზით მიღებული ინსულინი არ იყო ადამიანის ინსულინის ზუსტი ასლი და მრავალი ადამიანს ჰქონდა მის მიმართ ალერგია.

გენების სპლაისინგის ტექნოლოგიების განვითარებასთან ერთად, მოგვარდა ცხოველური ინსულინის გამოყენებასთან დაკავშირებული პრობლემებიც. მეცნიერებმა მოახერხეს დნმ-ს თანამიმდევრობის გამოყოფა, რომელიც ადამიანის სხეულში ინსულინის წარმოქმნას არეგულირებდა. ამის შემდგომ მოახდინეს ამ სეგმენტის სპლაისინგი ბაქტერია E.coli–ს დნმ-ში (იხ. გვ. 151 სურ 4-1). ეს ბაქტერია შეირჩა იმის გამო, რომ ის ფართოდაა გავრცელებული და ბინადრობს ადამიანის ნაწლავში. თუკი, ამ ტექნიკის შესაბამისად, მოხდება ადამიანის დნმ-ს ექსტრაქცია და გადანერგვა ბაქტერიულ უჯრედში, ყველა გენეტიკურად მოდიფიცირებული ბაქტერიიდან რეპროდუცირებული ბაქტერია ინსულინის გენების მატარებელი იქნება. გენეტიკურად შეცვლილი ბაქტერიები უფრო სუსტია ნორმალურ ბაქტერიებთან შედარებით და ისინი კულტივირდება განსაკუთრებულ, კონტროლირებად პირობებში. პროცესში, რომელსაც ეწოდება ფერმენტაცია, ბაქტერიები წარმოიქმნება უამრავი რაოდენობით. ისინი მრავლდებიან და იზრდებიან ზუსტად განსაზღვრული კვების პირობებში და საარსებო გარემოში. გარკვეული დროის შემდეგ მოხდება ბაქტერიების შეგროვება ფერმენტატორებიდან და ინსულინის გასუფთავება. გენეტიკურად მოდიფიცირებული ბაქტერიების შენახვა გაცილებით იაფია, ვიდრე ინსულინის გამოყოფა ცხოველური ორგანიზმებიდან და სრულად უზრუნველყოფს იმ ადამიანების მოთხოვნილებებს, რომელთაც ამისი საჭიროება აქვთ.

გენეტიკურად მოდიფიცირებული ბაქტერიების გამოყენების სხვა შემთხვევაა ხბოს სომატოტროპინის (BST) გამომუშავება. BST ცილოვანი ჰორმონია, რომელიც გამომუშავდება რქოსანი პირუტყვის ჰიპოფიზის მიერ. ჰორმონი აკონტროლებს და არეგულირებს ცხოველებში რძის წარმოქმნას. მერძეულ ჯიშებში რძის მეტი რაოდენობით წარმოქმნის მიზეზი მათში სწორედ BST ჰორმონის მეტი ოდენობით სინთეზია. BST ჰორმონის გენების სპლაისინგით შესაძლებელი გახდა მისი

კომერციული მიზნით წარმოება E. coli ბაქტერიაში და საკვების დანამატის სახით შინაური პირუტყვის კვების რაციონში ჩართვა, რაც უზრუნველყოფს საქონლის მაღალ წველადობას.

ორგანიზმის გენეტიკური მოდიფიკაციის სრული პროცესი საკმაოდ რთულია და მოიცავს მრავალ საფეხურს. ამასთანავე, არსებობს სხვადასხვა ტექნოლოგია, რომლითაც ხდება დნმ-ს ერთი ორგანიზმიდან მეორეში გადატანა. ხშირად პროცესის წარმატებით დასრულებას წინ უამრავი მანიპულაცია უძღვის. უნდა აღინიშნოს, რომ ყველაზე მარტივი ცოცხალი ორგანიზმები სამართავად საკმაოდ რთულია და ისეთი მაღალორგანიზებული ორგანიზმები, როგორიცაა სასოფლო-სამეურნეო დანიშნულების მცენარეები და ცხოველები, უფრო ძნელად ექვემდებარებიან მსგავს ცვლილებებს. დღეისათვის გენური ინჟინერიის ერთ-ერთი რთული ამოცანა ასეულობით ათას გენს შორის განსაზღვრული ნიშნის მქონე გენის ადგილმდებარეობის დადგენაა.

განსაზღვრული ნიშნის მქონე გენის მოსაძებნად იყენებენ გენეტიკურ მარკერებს. მარკერები ზოგადად მოიაზრება, როგორც დნმ-ს შედარებადი უბნები დნმ-ს ფრაგმენტებში (იხ. გვ. 151 სურ 4-2). სასურველი ნიშნის მქონე და ამ ნიშნის არმქონე მსგავს ორგანიზმებში მოხდება დნმ-ს ფრაგმენტების შედარება. მაგალითისათვის, თუ მეცნიერს სურს სიმინდში იმ გენის ლოკალიზაციის დადგენა, რომელიც განაპირობებს მის მდგრადობას ვირუსების მიმართ, იგი შეადარებს რეზისტენტული მცენარის დნმ-ს ფრაგმენტს არარეზისტენტული მცენარის დნმ-ს ფრაგმენტთან. განსხვავებები დნმ-ს ფრაგმენტებს შორის გამოკვლეული და აღრიცხული იქნება. ეს განსხვავებები შესაძლებელია გამოყენებულ იქნეს მარკერების სახით სასურველი გენის მდებარეობის დასადგენად. ამ სახის შედარებები ცნობილია რესტრიქციული ანალიზის სახელწოდებით. რესტრიქციული ანალიზის მეთოდისაგან ოდნავ განსხვავებული მეთოდია რესტრიქციული ფრაგმენტის სიგრძის პოლიმორფიზმის (RFLP) კვლევა. ამ პროცესში ხდება დნმ-ს ფრაგმენტების დაჭრა რესტრიქციული ფერმენტების საშუალებით, რასაც თან სდევს მიღებული ფრაგმენტების ანალიზი ელექტროფორეზის მეთოდით (იხ. გვ. 152 სურ 4-3). მოლეკულური მასების საფუძველზე ფრაგმენტების სეპარაციის შემდეგ, დნმ-ს ორმაგი სპირალი იხლიჩება და თავსდება მემბრანაზე. მემბრანას ემატება რადიოაქტიური დნმ-ს ზონდი, რომელიც ადჰეზირდება კომპლემენტარულ დნმ-ს ფრაგმენტთან. ამის შემდგომ, დნმ-ს ფრაგმენტები, რომლებიც უკავშირდებიან რადიოაქტიურ დნმ-ს სინჯს, გამჟღავნდება ფოტოფირზე (იხ. გვ. 152 სურ 4-4).

დნმ-ს ორგანიზმში ჩართვისათვის საკმარისი არ არის მხოლოდ სპეციფიკური ნიშან-თვისების განმსაზღვრელი გენის პოვნა და გამოყოფა. გენის ექსპრესიაში არსებით როლს თამაშობს გენური

თანამიმდევრობები, რომლებიც ცნობილია მაკონტროლებელი გენების სახელწოდებით. აღნიშნული გენები ახორციელებენ გენების ჩართვა-გამორთვის ანუ, სხვა სიტყვებით რომ ვთქვათ, გენების აქტივაციისა და ინაქტივაციის რეგულაციას. მაგ, რძის გამომუშავების გენს აქვს პრომოტორი, რომელიც ამცნობს ლაქტაციის სისტემას თუ როდის უნდა გამომუშავდეს რძე და როდის უნდა შეწყდეს ლაქტაცია. აღნიშნული პრომოტორული თანამიმდევრობები ცხოველის მიერ გამომუშავებულ ჰორმონებთან ერთობლიობაში მოქმედებენ.

გენების სპლაისინგი მცენარეებში

მრავალი საკვები კულტურა, რომლის წარმოებასაც ეწევა თანა-მედროვე აგრარული ინდუსტრია, გენეტიკურად მოდიფიცირებულია. აგროკულტურებს ბევრი ფასეული თვისებები დაემატა გენური ინჟინერიის მეთოდებით. ამ კულტურების წარმოების პროცესი ბევრად უფრო ეფექტიანად მიმდინარეობს და მათი კვებითი ღირებულება უმეტეს შემთხვევებში გაცილებით მაღალია კლასიკურ საკვებ კულტურებთან შედარებით. გენური ინჟინერიის გზით, რიგ აგროკულტურებში დაინერგა ისეთი ნიშან-თვისებები, როგორიცაა მწერებისა და დაავადებების მიმართ რეზისტენტულობა, აგრეთვე გვალვაგამძლეობა. სიცივისა და მაღალი ტემპერატურისადმი ტოლერანტობის თვისებებით მოდიფიკაცია ასევე შევიდა კულტუ-რების გაუმჯობესების სათვალავში.

გენური ინჟინერიის გზით 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.

რეკომბინანტული დნმ და ვექტორები

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 ბუნებაში რეკომბინაციას ადგილი აქვს მხოლოდ მჭიდროდ დაკავშირებულ სახეობებს შორის და გენეტიკური ინფორმაციის დივერსიფიკაციაზე ზეგავლენა მინიმალურია. ამის საპირისპიროდ, რეკომბინანტული დნმ-ს ტექნოლოგია ხორციელდება რა ინვიტრო (in vitro), საშუალებას იძლევა გადაილახოს ბუნებრივი გენეტიკური ბარიერები და დნმ–ს რეკომბინაცია განხორციელდეს აბსოლუტურად განსხვავებულ სახეობებს შორის. მეტიც, ახალი დნმ-ს ან გენების თანმიმდევრობის მასპინძელში ჩანაცვლება უფრო სწრაფია და პოტენციურად გაცილებით უფრო ეფექტიანია, ვიდრე მცენარეთა გამრავლება კონვენციული (ტრადიციული) მეთოდის გზით. იმის გამო, რომ უცხო გენი ხელოვნურად ხვდება გენომში, ასეთი მანიპულირების შედეგად მიღებულ მცენარეს გენეტიკური ინჟინერიით მიღებულს უწოდებენ.

გენური ინჟინერიის პროცესში სამი ძირითადი კომპონენტი მონაწილეობს: 1) "უცხო" დნმ-ს წყარო, რომელიც სასურველ გენს შეიცავს; 2) ვექტორი, რომელიც სასურველ გენს ატარებს და 3) საშუალებები, რომელთა მეშვეობითაც ხდება ვექტორის გადატანა მასპინძელ მცენარეში.

არსებობს გენების გამოყოფის ორი ძირითადი მეთოდი. პირველი მეთოდის თანახმად, ჩვენთვის საინტერესო გენის შემცველი დნმ თავდაპირველად „იჭრება" პატარა ფრაგმენტებად (რესტრიქციის ფრაგმენტებად) რესტრიქციული ენდონუკლეაზით. რესტრიქციული ენდონუკლეაზები ბაქტერიული წარმოშობისაა. ისინი ახდენენ დნმ-ს დაჭრას სპეციფიკურ უბნებში. კერძოდ, ამ ფერმენტების მეშვეობით ხდება იმ ბმის გახლეჩა, რომელიც არსებობს ერთი ნუკლეოტიდის შედგენილობაში შემავალი შაქრის მესამე ნახშირბადის ატომთან დაკავშირებულ ჟანგბადის ატომსა და მეზობელი ნუკლეოტიდის შემადგენლობაში შემავალი შაქრის მეხუთე ნახშირბადის ატომთან დაკავშირებულ ფოსფატურ ჯგუფს შორის. რადგან ფერმენტები ამუშავებენ უჯრედის მთლიან გენომს, ამ მეთოდს აქვს დნმ-ს ფრაგმენტების დიდი რიცხვის წარმოქმნის პოტენციალი. მრავალ ამ ფრაგმენტს ექნება მხოლოდ გენის ან უბნების მხოლოდ ნაწილი, რაც, ჩვეულებრივ, არ ტრანსკრიბირდება. სხვადასხვა სახის ბაქტერიები სხვადასხვა სპეციფიკურობის მქონე რესტრიქციის ფერმენტებს აწარმოებენ, ამიტომ არაა რთული იმ ფერმენტის მოძიება, რომელიც

წარმოქმნის დნმ-ს იმ ფრაგმენტს, რომელიც შეიცავს ჩვენთვის საინტერესო სპეციფიკურ გენს. მეორე მეთოდის თანახმად, უჯრედიდან გამოყოფილი მატრიცული რნმ (mRNA) შეიძლება გამოვიყენოთ კომპლემენტალური დნმ-ს (cDNA) სინთეზისათვის. cDNA სინთეზდება mRNA-დან სპეციფიკური ფერმენტის – რევერსიული ტრანსკრიპტაზას მეშვეობით.

შემდგომი საფეხური ვექტორში სასურველი დნმ-ს ჩასმაა: ხშირად ორმაგჭიმიანი ბაქტერიული დნმ-ის მცირე, ცირკულარულ ნაწილში, რომელსაც პლაზმიდი ჰქვია. პლაზმიდის გახსნა ხდება იმავე ენდონუკლეაზით, რომელიც გამოიყენებოდა სასურველი გენის გამოსაყოფად. დნმ-ს ეს ბოლოები პლაზმიდის დნმ-ს ღია კიდეებში კომპლემენტარულად ჯდება, რაც დნმ-ს ორი მოლეკულის შერწყმისა და მათი კიდეების მიერთების საშუალებას იძლევა დნმ-ლიგაზის მეშვეობით.

სასურველი გენეტიკური მასალის მცენარეულ უჯრედში გადატანა ხორციელდება რამდენიმე ტიპის სატრანსპორტო მექანიზმით. მატარებელი, რომელსაც გადააქვს გენეტიკური მასალა მცენარეულ უჯრედში, ცნობილია ვექტორის სახელწოდებით. ვექტორის შესაქმნელად სამიზნე დნმ კომბინირდება სხვა წყაროდან მიღებულ დნმ–ს მოლეკულასთან. სხვადასხვა წყაროდან კომბინირებულ დნმ მოლეკულას რეკომბინანტული დნმ ეწოდება. ამგვარად, მიღებული პლაზმიდი რეკომბინანტულია, ის "უცხო" გენს შეიცავს და შეიძლება გადატანილ იქნეს მასპინძელ უჯრედში.

ვექტორს შეიძლება გააჩნდეს სხვადასხვა ფორმა. ვექტორების ერთ-ერთი ყველაზე ფართოდ გავრცელებული ფორმა პლაზმიდია. პლაზმიდები შეიძლება უშუალოდ იქნეს შეყვანილი მცენარეულ უჯრედ-ში. დნმ-ს მცენარეულ უჯრედში ტრანსპორტირებისათვის ვექტორებად ასევე ხშირად გამოიყენება ვირუსები. ყველაზე ხშირად გამოყენებული ბაქტერიული ვექტორი არის ბაქტერიული პათოგენის Agrobacterium tumefaciens Ti-პლაზმიდი, რომელიც იწვევს მცენარეთა სიმსივნურ დაავადებას - გვირგვინისებურ კოჟრიანობას (იხ. გვ. 152 სურ 4-5).

ეს ვექტორი საკმაოდ წარმატებულად მოქმედებს იმის გამო, რომ ბაქტერია ბუნებრივად ახორციელებს დნმ-ს ინექციას მცენარეულ უჯრედში და ასნებოვნებს მას სიმსივნით. ამ თვალსაზრისით, Agro-bacterium tumefaciens ბუნებრივი გენეტიკური ,,ინჟინერია". მისი Ti პლაზმიდი შეიცავს T-დნმ სახელით ცნობილ უბანს, რომელიც, ჩვეულებრივ, უერთდება მასპინძელი უჯრედის დნმ-ს დაინფიცი-რების დროს. T-დნმ შეიცავს სიმსივნის გამომწვევ გენს, რომელიც პასუხს აგებს ინფიცირე-ბული ქსოვილის სიმსივნურ კოჟრად ტრანსფორმაციაზე. იმისათვის, რომ Ti პლაზმიდი გამოყენებულ იქნეს ვექტორად, ჩვეულებრივ, ხდება პლაზმიდის "განიარაღება" სიმსივნის გამომწვევი გენების მოცილებით და მათი ჩანაცვლებით

კლონირებისთვის გამზადებული გენით. ეს აძლიერებს ბაქტერიის ავირულენტობას და არ აყენებს საფრთხის ქვეშ მის მიერ მასპინძელი მცენარის უჯრედების ინფიცირებისა და ტრანსფორმაციის უნარს. მის ადგილზე "ჩაეკერება" სასურველი ნიშან-თვისების მატარებელი გენი და აგრობაქტერიუმი გარდაიქმნება ვექტორად, რომელიც ახალ გენეტიკურ მასალას გადაიტანს მასპინძელ მცენარეში. ვექტორი, ასევე შეიცავს გენს, რომელიც განაპირობებს ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობას (ჩვეულებრივ, კანამიცინის მიმართ), რაც ტრანსფორმირებული უჯრედების სელექციის საშუალებას იძლევა.

მცენარეთა ტრანსფორმაცია Agrobacterium tumefaciens მეშვეობით შეიძლება მოხდეს პროტოპლასტებით თანაკულტივაციის ან ფოთლის დისკების ინფიცირების გზით. პირველ შემთხვევაში, კულტივირებული პროტოპლასტები, რომლებიც უჯრედის აქტიურ დაყოფას განიცდიან, "აიცრებიან" რეკომბინანტური პლაზმიდის მატარებელი ბაქტერიით. ორ-სამ დღეში ბაქტერიები იხოცებიან ანტიბიოტიკებით და პროტოპლასტების უჯრედების პატარა ჯგუფებს, რომელთაც მიკროკალუსები ეწოდება, ეძლევათ განვითარების საშუალება. შემდეგ მიკროკალუსები გადაიტანება ანტიბიოტიკის (მაგალითად, კანამიცინის) შემცველ არეში. მხოლოდ ტრანსფორმირებული უჯრედებიდან მიღებული კალუსები ატარებენ რეზისტენტულ გენს და გადარჩებიან ანტიბიოტიკის შემცველ გარემოში. ამის საპირისპიროდ, გასტერილებული ფოთლებიდან ამოჭრილ პატარა დისკებზე შეიძლება დავთესოთ Agrobacterium tumefaciens კულტურა, რაც ბაქტერიას აძლევს დაზიანებული ფოთლის ინფიცირების საშუალებას მოჭრილი დისკების კიდეებზე. ამის შემდეგ ბაქტერიებს ხოცავენ, ხოლო ტრანსფორმირებული უჯრედები შეირჩევა ანტიბიოტიკების მოქმედებით. ორივე შემთხვევაში, პროტოპლასტები იქნება ეს თუ ფოთლის დისკები, საბოლოო საფეხური გარემოს კვებითი და ჰორმონალური ბალანსით მანიპულირებაა, ფესვებისა და ყლორტების ჩამოყალიბების მიზნით. შედეგად, მიიღება ტრანსფორმირებული მცენარე, რომელიც ახალი გენის მატარებელია და მას შთამომავლობას გადასცემს ნორმალური სქესობრივი რეპროდუქციის გზით.

Agrobacterium tumefaciens, როგორც ტრანსფორმაციული ვექტორის, მთავარი ნაკლი მისი მასპინძელი მცენარეების შეზღუდული სპექტრია. მიუხედავად იმისა, რომ არსებობს გარკვეული ექსპერიმენტული წარმატებები ერთლებნიან მცენარეებთან მიმართებაში, დღეისთვის მხოლოდ ორლებნიანების გარკვეული ოჯახები არიან ეფექტიანად ტრანსფორმირებულები ამ მეთოდის მეშვეობით. საბედნიეროდ, არსებობს სხვა ხელმისაწვდომი მეთოდებიც მასპინძელ უჯრედებსა და ქსოვილებში გენების პირდაპირი გადაცემისათვის.

მიუხედავად ვექტორებად დნმ-ს ტრანსპორტირებისთვის ვირუსების გამოყენების შესაძლებლობისა, უფრო ხშირად ვირუსები

გენეტიკური ინსტრუქციების კოდირებისათვის გამოიყენება. გენეტიკური კოდის ტრანსკრიპცია ხორციელდება რიბონუკლეინის მჟავების, ანუ რნმ-ს 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.

ტრანსფორმაციის მეთოდები

მას შემდეგ, რაც რეკომბინანტული დნმ წარმატებით იქნება კომბინირებული ვექტორულ მოლეკულაში, იგი მზადაა მცენარეულ უჯრედში გადასატანად. არსებობს მცენარეული უჯრედების ტრანს-ფორმაციის რამდენიმე ხერხი. ერთ-ერთი გზაა ექსტრემალურად მცირე ზომის მინის ნემსის გამოყენება უჯრედის მემბრანაში მცირე ზომის ხვრელის გასაკეთებლად. ამ პროცედურის ჩატარებისას, ნემსის საშუალებით ახდენენ დნმ-ს ინექციას უშუალოდ მცენარეულ უჯრედში. ეს მეთოდი ცნობილია მიკროინექციის სახელწოდებით. მიკროინექცია გულისხმობს მიკრონემსის გამოყენებას მიკროსკოპულ დონეზე ცალკეულ ცოცხალ უჯრედში ნივთიერებების შესაყვანად. ესაა მარტივი მექანიკური პროცესი, რომლის დროსაც უკიდურესად ნატიფი ნემსით შედიან უჯრედის მემბრანაში (ზოგჯერ ბირთვის გარსშიც) და შეჰყავთ ნემსის შიგთავსი. მიკროინექცია, ჩვეულებრივ, ტარდება სპეციალიზებული ოპტიკური მიკროსკოპის – მიკრომანიპულატორის ქვეშ. ეს პროცესი ხშირად გამოიყენება როგორც ვექტორი გენურ ინჟინერიასა და ტრანსგენეტიკაში გენეტიკური მასალის ერთეულ ცოცხალ უჯრედში ჩასმის მიზნით. მიკროინექციებს იყენებენ კლონირების პროცესშიც. მიკროინექცია ძალიან შრომატევადი პროცესია და მცენარეთა ტრანსფორმაციაში იშვიათად გამოიყენება.

ელექტროფორაცია არის პროცესი, როდესაც უჯრედებისა და ვექტორული დნმ-ს ნარევს ხანმოკლე პერიოდით ათავსებენ მაღალი ელექტრული ძაბვის ზემოქმედების ქვეშ. ამის შედეგად, მასპინძელი უჯრედის (მცენარეული პროტოპლასტის) მემბრანა ხდება განვლადი, რაც უცხო დნმ-ს უჯრედში შეღწევის საშუალებას აძლევს. ზოგიერთ ამ უჯრედში ხდება ახალი დნმ-ს ჩართვა და შემდგომ, სასურველი გენის ექსპრესია. ელექტროფორაციის გზით დნმ-ის უშუალო ჩართვა

ერთლებნიანებში წარმატებით იქნა განხორციელებული. მიუხედავად ამისა, ამ მეთოდის გამოყენება შედარებით იშვიათად ხდება სხვა მეთოდებთან შედარებით. ასე, მაგალითად, Bt სიმინდის კონსტრუირება მოხდა ძირითადად ბალისტიკური მეთოდის გამოყენებით.

ელექტროფორაციის შედეგად ხდება უჯრედის პლაზმური მემბრანის ელექტრული გამტარობისა და შეღწევადობის მნიშვნელოვანი ზრდა, რაც გამოწვეულია გარედან მოდებული ელექტრული ველით. ეს პროცესი გამოიყენება მოლეკულურ ბიოლოგიაში ზოგიერთი ნივთიერების უჯრედში შეყვანის მიზნით, როგორიცაა, მაგალითად, მოლეკულური ზონდები, უჯრედის ფუნქციაზე მოქმედი წამლები ან მაკოდირებელი დნმ-ის ფრაგმენტი. ფორები წარმოიქმნება მაშინ, როდესაც პლაზმური მემბრანის გასწვრივ ძაბვა გადააჭარბებს მის დიელექტრულ წინაღობას. თუკი ელექტრული ველის ძალის სიდიდე და/ან მისი მოქმედების ხანგრძლივობა სწორადაა შერჩეული, ელექტრული იმპულსების ზემოქმედებით წარმოქმნილი ფორები კვლავ დაეხშობა დროის მოკლე პერიოდის შემდეგ, რომლის განმავლობაშიც ექსტრაუჯრედულ ნაერთებს უჯრედში შეღწევის შესაძლებლობა ეძლევა. თუმცა, საჭიროზე მეტი დროით ცოცხალი უჯრედების ელექტრულ ველში მოთავსებამ შეიძლება გამოიწვიოს აპოპტოზი და/ან ნეკროზი - პროცესები, რომლებიც უჯრედის სიკვდილით მთავრდება.

ელექტროფორაციის პროცესი ხშირად გამოიყენება ბაქტერიების, საფუვრების და მცენარეული პროტოპლასტების ტრანსფორმაციის მიზნით. ბაქტერიებს, ისევე როგორც მცენარეულ უჯრედებს, აქვთ უჯრედის კედელი, რომელიც შედგება ცელულოზისა და მისი წარმოებულებისაგან. ისინი ბუნებრივად ფოროვანია და წარმოადგენს მხოლოდ მტკიცე კარკასს, რომელიც იცავს ბაქტერიებს გარემოს არახელსაყრელი გავლენისაგან. თუ ბაქტერიებ-თან შერეული იქნება პლაზმიდები, ელექტროფორაციის შემდეგ პლაზმიდები შეიძლება აღმოჩნდეს ბაქტერიული უჯრედის შიგნით. ჩვეულებრივ, ამ პროცესისათვის ავითარებენ რამდენიმე ასეულ ვოლტ ძაბვას რამდენიმე მილიმეტრის მქონე მონაკვეთზე. შემდგომ ხდება უჯრედების გადარჩევა და ახალი უჯრედების წარმოქმნა, რომლებიც შეიცავენ რეპროდუცირებულ პლაზმიდებს. ეს პროცესი თითქმის ათჯერ უფრო ეფექტურია, ვიდრე ქიმიური ტრანსფორმაცია.

ელექტროფორაციის მეთოდი მაღალეფექტურია უცხო გენების ჩასართავად ქსოვილური კულტურების უჯრედებში, განსაკუთრებით, ძუძუმწოვართა უჯრედებში. მაგალითად, ის გამოიყენება ე.წ. ნოკაუტირებული (knockout) თაგვების მისაღებად, ასევე სიმსივნის მკურნალობისას, გენურ და უჯრედულ თერაპიაში. ეუკარიოტულ უჯრედებში უცხო დნმ-ს ჩართვას ტრანსფექციას უწოდებენ.

ელექტროფორაციისთვის გამოყენებულ ხელსაწყოს ელექტროფორატორი ეწოდება. ელექტროფორატორი წარმოქმნის ელექტრულ დენს და ატარებს მას უჯრედების შემცველ ხსნარში (ტიპურ შემთხვევაში ხსნარში არის ბაქტერული უჯრედები, მაგრამ ხანდახან იყენებენ სხვა ტიპის უჯრედებსაც). უჯრედების სუსპენზიას აწვეთებენ მინის ან პლასტიკურ კიუვეტაში, რომელსაც გვერდებზე აქვს ორი ალუმინის ელექტროდი (იხ. გვ. 153 სურ. 4-6). მაგალითად, ბაქტერიების ელექტროფორაციისთვის, ჩვეულებრივ, მზადდება დაახლოებით 50 მკლ სუსპენზია. ელექტროფორაციის წინ მას შეერევა პლაზმიდები, რომლითაც უნდა მოახდინონ ტრანსფორმაცია. ნარევს აწვეთებენ კიუვეტაში, ელექტროფორატორში არეგულირებენ ძაბვას და დგამენ მასში კიუვეტას. პროცესს რამდენიმე წამი სჭირდება. ელექტროფორაციის პროცესის დასრულებისთანავე, ბაქტერიებს უმატებენ 1 მლ თხევად არეს (კიუვეტაში ან ეპენდორფის სინჯარაში) და ახდენენ მათ ინკუბაციას ოპტიმალურ ტემპერატურაზე 1 საათით ან მეტი ხნის განმავლობაში. ამის შემდეგ ბაქტერიებს თესავენ აგარის ფირფიტებზე.

ელექტროფორაციის წარმატებით განხორციელება დიდად არის დამოკიდებული პლაზმიდების შემცველი ხსნარის სისუფთავეზე, განსაკუთრებით, მასში მარილების შემცველობაზე. „უსუფთაო“ ხსნარებმა შეიძლება გამოიწვიოს მოკლე ჩართვა (ელექტრული წრედის შეკვრა), რის შედეგადაც ბაქტერიები დაიღუპება და პროცესის განმეორება გახდება საჭირო. თუ ეს ხშირად ხდება, საჭიროა განხორციელდეს მინარევების გამოლექვა ელექტროფორაციამდე. გარდა ამისა, კიუვეტის ელექტროდები უნდა იყოს მშრალი და გულმოდგინედ გაირეცხოს ხელმეორედ გამოყენებამდე.

გაცილებით უფრო მარტივი პროცესი, რომელსაც ეწოდება ბიოლისტიკა, ასევე ფართოდ გამოიყენება მცენარეული უჯრედებისა და ქსოვილების ტრანსფორმაციისათვის. ამ ტექნოლოგიის მიხედვით, დნმ შეიტყორცნება (პირდაპირი მნიშვნელობით) უჯრედში წმინდა ნაწილაკების, ე.წ. ”ყუმბარების” გამოყენებით, რომელიც შედგება ვოლფრამისა და ოქროსაგან. უჯრედში გენეტიკური ინფორმაციის ასეთი გზით ინექციისათვის შეიქმნა ხელსაწყო, რომელსაც გენური ყუმბარმტყორცნი ეწოდება. ”ყუმბარა” მძიმე მეტალის ელემენტარული ნაწილაკია, დაფარული პლაზმიდური დნმ-ით. ამ ტექნოლოგიაში გამოყენებული ინსტრუმენტის ერთ-ერთ სახეობა ნაწილაკების გამშვები PDS 1000/He სისტემაა (იხ. გვ. 153 სურ. 4-7).

ამ ხელსაწყოს შეუძლია თითქმის ყველა ტიპის უჯრედების ტრანსფორმირება, იგი არ შემოიფარგლება მხოლოდ ბირთვით, მას შეუძლია ორგანელების, კერძოდ, პლასტიდების ტრანსფორმაციაც. ხელსაწყოში გამოიყენება ჰელიუმის საწვავი, მძიმე მეტალების - ვოლფრამის, ასევე ოქროსა და ვერცხლის ნაწილაკები. ოქროს უპირატესობას ანიჭებენ ვოლფრამთან შედარებით, რადგან იგი

მეტი ერთგვაროვნებით ხასიათდება და ნაკლებად ტოქსიკურია უჯრედებისათვის. თუმცა, ოქროს გამოყენება შეზღუდულია მისი ღირებულებისა და ნაკლებად ხელმისაწვდომობის გამო. გენური ყუმბარმტყორცნის პირველი გამომგონებლები არიან მცენარეთა გენეტიკოსები ჯონ სანფორდი და თეოდორ კლეინი. 1990 წელს აპარატის კომერციული გამოყენების უფლება შეისყიდა ამერიკულმა ქიმიურმა კომპანიამ DuPont.

ბიოლისტიკა ამჟამად ყველაზე ფართოდ არის გამოყენებული ტრანსგენური სიმინდის წარმოებაში. Bt გენის შემცველ დნმ-ს ფერავენ ოქროს/ვოლფრამის ნაწილაკებით და შემდეგ მიმდინარეობს კალუსის ქსოვილის "დაბომბვა". როდესაც უჯრედები აღიდგენენ ტრანსფორმაციის მსვლელობისას მიყენებულ ჭრილობებს, დნმ ინტეგრირდება მათ გენომში და მასპინძელ უჯრედებში იწყება Bt გენის ტრანსკრიპცია და ტრანსლაცია. ტრანსფორმაციის პროცესის დასრულების შემდეგ, ახდენენ Bt გენექსპრესირებადი უჯრედების გადარჩევას. ტრადიციულად, ეს პროცესი ხორციელდება სელექციის მარკერის შესაბამისად, რომელიც ჩასმული იყო დნმ-ვექტორში. ტრადიციულად გამოყენებული სელექციის მარკერები ტრანსფორ-მანტს ანიჭებენ ანტიბიოტიკურ ან ჰერბიციდულ მდგრადობას. ამჟამად, ყველაზე უფრო ხშირად გამოიყენება კანამიცინის მიმართ მდგრადობის მარკერი.

მას შემდეგ, რაც სამიზნე გენები ჩაერთვებიან მცენარეულ უჯრე-დებში, მოდიფიცირებული უჯრედები იზრდებიან ახალ მცენარეებად, რომელთაც აქვთ უცხო გენის ჩართვის შედეგად მიღებული სასურველი ნიშან-თვისება. ახლადშექნილი მცენარეული უჯრედები იზრდებიან კულტურებში ხელოვნურ საკვებ არეზე, სადაც მკაცრად კონტროლდება გარემო პირობები, კერძოდ, საკვები ნივთიერებებისა და ჰორმონების შემცველობა, ტემპერატურა და ტენიანობა. ეს პროცესი ცნობილია ქსოვილთა კულტურების სახელწოდებით. ზრდასრული მცენარეების ჩამოყალიბების შემდეგ, გენეტიკურად მოდიფიცირებული მცენარეები ბუნებრივი რეპროდუქციის გზით წარმოქმნიან ინტროდუცირებული გენის მატარებელ შთამომავლობას.

გენების სპლაისინგი ცხოველებში

აგრარული ინდუსტრიისათვის რქოსანი პირუტყვის გაუმჯობესება ტრანსგენური ცხოველების შექმნის გზით, უდიდესი პოტენციალის მატარებელია. იმის გამო, რომ ცხოველთა გენეტიკური ინჟინერიის პროცესი ჯერ კიდევ ახალია, ტექნოლოგიები, რომლებიც გამოიყენება ტრანსფორმირებული ცხოველების მისაღებად, ჯერ კიდევ შორსაა სრულყოფილებისაგან. ახალი გენეტიკური მასალა ცხოველებში უნდა გადავიტანოთ იმის გათვალისწინებით, რომ არ დაზიანდეს ცხოველის ძირითადი გენეტიკური პროგრამა. სხვა სიტყვებით, ჩართულმა გენეტიკურმა მასალამ უნდა მოიტანოს სარგებელი, რომე-

ლიც გამოვლინდება იმ გენების დაზიანების (ან მათზე რაიმე სახის უარყოფითი ზეგავლენის) გარეშე, რომლებიც აკონტროლებენ ცხოველის სხვა მახასიათებლებს. მეცნიერებმა უნდა გამოიჩინონ განსაკუთრებული სიფრთხილე უცხო დნმ-ს სელექციისას ცხოველის გენომში მის ჩასართავად.

უცხო გენეტიკური მასალა ჩართული უნდა იქნეს ცხოველის იმ უჯრედებში საიდანაც უზრუნველყოფილი იქნება სასურველი ნიშან-თვისების გადაცემა მომდევნო თაობებისათვის. ეს ნიშნავს, რომ ჩასართავი დნმ უნდა მოხვდეს სპერმატოზოიდებში, კვერცხუჯრედში ან ემბრიონის უჯრედებში მისი განვითარების ადრეულ სტადიებზე. მცენარეული უჯრედებისაგან განსხვავებით, ახალი ცხოველი ლაბორატორიული სინჯარის ნაცვლად ჯერ უნდა ინკუბირდეს დედის საშვილოსნოში. ამან შესაძლებელია გამოიწვიოს პრობლემები უცხო დნმ-ს შემცველ ემბრიონთან დაკავშირებით იმის გამო, რომ დედის რეპროდუქციული სისტემა არ მიიღებს ან გამოდევნის უცხო ნაყოფს. აქედან გამომდინარე, გენეტიკურად მოდიფიცირებული ცხოველების წარმოება მხოლოდ მრავალჯერადი მცდელობის შედეგად სრულდება წარმატებით.

დღეისათვის შექმილი ტრანსგენური ცხოველების უმეტესობა თაგვებია, ვინაიდან ისინი სწრაფად მრავლდებიან და მათი კონტროლი ლაბორატორიულ პირობებში უფრო ადვილია სხვა ცხოველებთან შედარებით. მიუხედავად ამისა, წარმატებებია მიღწეული გენეტიკურად მოდიფიცირებული ღორების და მსხვილფეხა პირუტყვის შექმნის ექსპერიმენტებშიც.

ტრანსგენური ცხოველების შექმნის ტექნოლოგია

ისევე როგორც მცენარეების შემთხვევაში, ცხოველების ტრანსფორმაცის პროცესშიც პირველი საფეხური სასურველი ნიშნის მატარებელი გენების სელექცია, ლოკალიზაციის განსაზღვრა და მომზადებაა. აქაც, მცენარეების შემთხვევის მსგავსად, ვექტორებად შეიძლება გამოყენებული იქნეს პლაზმიდები, ბაქტერიები ან ვირუსები. გენების გადატანის ტექნიკა ცხოველებში მცირედ განსხვავებულია მცენარეთა ტრანსფორმაციისაგან.

პირველი მეთოდი, რომელიც შემუშავდა უცხო გენეტიკური მასალის უჯრედში გადასატანად, ხორციელდებოდა მოდიფიცირებული ოპტიკური მიკროსკოპის ბაზაზე შექმნილი ხელსაწყოს საშუალებით, რომელსაც მიკრომანიპულატორი ეწოდება. ცხოველიდან მოცილებული ემბრიონი თავსდება მიკროსკოპის ქვეშ. მიკრომანიპულატორის დახმარებით გენეტიკური მასალა ნატიფი ნემსის მეშვეობით შეჰყავთ ემბრიონში (იხ. გვ. 153 სურ 4-8). დნმ-ს ინექცია ხდება ემბრიონის პრონუკლეუსში. პრონუკლეუსი სპერმატოზოიდის ან კვერცხუჯრედის ბირთვია, რომელშიც მოთავსებულია განაყოფიერებული კვერცხის ქრომოსომების ნახევარი. ამის შემდგომ, ემბრიონს ისევ აბრუნებენ დედის

სხეულში, სადაც სავარაუდოდ ტრანსგენური ცხოველი დაასრულებს თავისგანვითარებას. თუმცა, როგორცაღინიშნა, გენეტიკურადშეცვლილი ემბრიონის სრული განვითარება სიძნელეებთან არის დაკავშირებული. ამ მეთოდის გამოყენებით გენეტიკურად მოდიფიცირებული ემბრიონებიდან მხოლოდ 1-4% აღწევს ზრდასრულობამდე.

სხვა მეთოდი ასევე იყენებს მიკრომანიპულატორს, მაგრამ დნმ-ს პირდაპირ ბირთვში ინექციის ნაცვლად, გენეტიკური მასალა თავსდება ემბრიოგენულ ღეროვან უჯრედებში. ღეროვანი უჯრედები არიან ისეთი უჯრედები, რომელთაც უნარი შესწევთ წარმოქმნან ნებისმიერი ტიპის ქსოვილი ცხოველის სხეულში. ისინი მიიღებიან ემბრიონის განაყოფიერებიდან დაახლოებით შვიდი დღის შემდეგ. ემბრიონის ზრდის ამ სტადიას ეწოდება ბლასტულა. ამ ფაზაში უჯრედები მხოლოდ იყოფიან, მაგრამ არ დიფერენცირდებიან. ამ მეთოდის ერთ-ერთი უპირატესობა ისაა, რომ ემბრიოგენული უჯრედები შეიძლება მოდიფიცირდეს და კულტივირდეს ლაბორატორიულ პირობებში დიდ რაოდენობით გენეტიკურად მოდიფიცირებული ცხოველების წარმოების მიზნით.

მესამე მეთოდი, რომელსაც ეწოდება ტრანსგამეტული ტექნოლოგია, იყენებს ვირუსულ ვექტორს. ვირუსი წინასწარ დამუშავდება იმ მიზნით, რომ ავიცილოთ დამაზიანებელი ეფექტები და მასში ერთვება სასურველი გენი. ამის შემდგომ ხდება ვექტორის ინექცია გაუნაყოფიერებელ კვერცხუჯრედში. სიძნელე, რომელსაც ამ დროს აწყდებიან, არის კვერცხის მემბრანა, რომელიც დამცავი გარსის სახით გარს აკრავს დნმ-ს. ამ პრობლემის თავიდან აცილების მიზნით, უცხო დნმ-ს ჩართვას ახდენენ მემბრანის საბოლოო ჩამოყალიბებამდე. როდესაც მოხდება უცხო დნმ–ს ინტეგრირება კვერცხუჯრედში, ლაბორატორიულ პირობებში ახდენენ მის განაყოფიერებას (in vitro განაყოფიერება) და შემდეგ მიღებულ ემბრიონს გადაიტანენ დედის სხეულში. ჯანსაღი ემბრიონის წარმატებული გადანერგვა მდედრის რეპროდუქციულ ორგანოში საგრძნობლად ზრდის ემბრიონის სრულყოფილად განვითარების და დაბადების ალბათობას.

ნოკაუტირებული (Knok-out) ცხოველები

პირველი ტრანსგენული ცხოველების შექმნის მიზანი მათ გენომში სასურველი უცხო გენის ინკორპორაცია იყო, რომელიც ცხოველს შესძენდა სასარგებლო სპეციფიკურ ნიშან-თვისებას. თუმცა, მოგვიანებით მეორე დიდი უპირატესობა წარმოჩინდა - გენეტიკური კვლევა. ცხოველის გენომში საწყისი გენის ჩანაცვლება არააქტიური უცხო გენით იწვევდა ჩანაცვლებული გენის ამუშავებას (ფუნქციონირებას). ამგვარი გზით შესაძლებელი ხდება შეცვლილი ცხოველის თვისებების შედარება მსგავსი ცხოველების ნიშან-თვისებებთან, რომელთაც აქვთ ინტაქტური (საწყისი) გენეტიკური ნაკრები.

პრობლემა ისაა, რომ უცხო დნმ-ს ინკორპორაცია, ჩვეულებრივ, ხდება ქრომოსომის ნებისმიერ მონაკვეთში, შემთხვევითი წესით. პრობლემა გადაიჭრება, თუკი მოხდება ჰომოლოგიური რეკომბინაცია (ჰომოლოგიური ნიშნავს ერთსა და იმავე ადგილზე ან პოზიციაზე განლაგებას). სხვა სიტყვებით, კონკრეტული ნიშნის განმსაზღვრელი გენი ფლობს ქრომოსომაში კონკრეტულ ადგილს, ანუ პოზიციას. თუ ახალი, არააქტიური გენი მოერგება იმავე პოზიციას ქრომოსომაში, სადაც იმყოფებოდა საწყისი გენი, ახალი გენი უფუნქციო იქნება და საწყისი გენი ჩანაცვლდება. მაშასადამე, საწყისი გენი ეფექტურად ნოკაუტირდება. ასეთი ცხოველი ხშირად იწოდება ნოკაუტირებულ (knok-out) ცხოველად. ნოკაუტირებული ცხოველების შექმნა მეცნიერებს აძლევს იმის საშუალებას, რომ გამოიკვლიონ საწყისი გენების მოქმედების ეფექტი მსგავს ცხოველებში. აქედან გამომდინარე, ჰომოლოგიური რეკომბინაციის მოვლენა უდავოდ ატარებს უზარმაზარ პოტენციალს კონკრეტული გენების ფუნქციონირების შესწავლის თვალსაზრისით.

შინაური ცხოველებისა და ფრინველების გაუმჯობესებული ჯიშების (მაღალი წველადობის ძროხების, ხარისხიანი მატყლის მქონე ცხვრების, უფრო მაღალი კვერცხმდებლობის ნიშნის ქათმების) გამოსაყვანად ტარდება მრავლობითი შეჯვარებები და შერჩევა, რისთვისაც მწარმოებლების სახით ყოველთვის გამოიყენება საუკეთესო მახასიათებლების მქონე ცხოველები. შედეგად, დროთა განმავლობაში შეიძლება მიღებულ იქნეს ცხოველების მეტ–ნაკლებად მაღალპროდუქტიული ჯიშების წმინდა ხაზები. შეჯვარებისა და შერჩევის სტრატეგია, რომელიც მოითხოვს დიდ დროსა და მატერიალურ დანახარჯებს, მიუხედავად ყველაფრისა, ძალზე წარმატებული გამოდგა. მაგრამ იმის შემდეგ, რაც მიღებულ იქნება ეფექტური გენეტიკური ხაზი, შეჯვარებისა და შერჩევის მეთოდით ახალი ნიშნების შეყვანა სულ უფრო ძნელი ხდება. ასე მაგალითად, ხაზი ახალი „ღირებული“ გენით შეიძლება ატარებდეს ამავდროულად „მავნე“ გენებსაც, რის შედეგად შთამომავლობა შეიძლება ნაკლებპროდუქტიული აღმოჩნდეს. დარწმუნებული რომ ვიყოთ, რომ ახალი, გაუმჯობესებული ხაზი შეინარჩუნებს საწყის სასარგებლო ნიშნებს და შეიძენს ახალს, საჭიროა შემუშავდეს სრულიად ახალი სტრატეგია.

ძუძუმწოვრების უჯრედებში უცხო გენების შეყვანის წარმატებულმა ექსპერიმენტებმა და გენეტიკურად იდენტური ცხოველების შექმნის შესაძლებლობამ ემბრიონული უჯრედის ბირთვის ბირთვგამოცლილ კვერცხუჯრედში გადატანის გზით (ბირთვის გადატანა, კლონირება), შესაძლებელი გახადა უმაღლესი ცხოველების ქრომოსომულ დნმ–ში ჩაგვერთო ცალკეული ფუნქციონალური გენები ან მათი მთელი კლასტერები. გამოყენებული სტრატეგია შემდეგში მდგომარეობს:

- კლონირებული გენი შეყავთ განაყოფიერებული კვერცხუჯრედის ბირთვში.
- ხდება ინოკულირებული განაყოფიერებული კვერცხუჯრედების იმპლანტირება რეციპიენტ მდედრში (ვინაიდან ძუძუმწოვრების ემბრიონის წარმატებული განვითარების დასრულება სხვა პირობებში შეუძლებელია).
- შეირჩევა ის ფორმები, რომლებიც განვითარდნენ იმპლანტირებული კვერცხუჯრედებიდან და რომლებიც შეიცავენ კლონირებულ გენს ყველა უჯრედში.
- შეაჯვარებენ ცხოველებს, რომლებიც ატარებენ კლონირებულ გენს ჩანასახოვანი ხაზის უჯრედებში და მიიღებენ ახალ გენეტიკურ ხაზს.

ასეთ მიდგომას ბევრი პრაქტიკული თანმდევი შედეგი აქვს. მაგალითად, თუ შესაყვანი გენის პროდუქტი ასტიმულირებს ზრდას, მაშინ ტრანსფიცირებული ცხოველები უფრო სწრაფად გაიზრდება ნაკლები ოდენობის საკვების მიღებისას. საკვების ათვისების ეფექტიანობის სულ რამდენიმე პროცენტით გაზრდაც კი გამოიწვევს საბოლოო პროდუქტის (ძროხის ან ღორის ხორცის და ა.შ.) თვითღირებულების მნიშვნელოვან შემცირებას.

განაყოფიერებულ კვერცხუჯრედებში გენების შეყვანის გზით ცხოველების გენეტიკური შეცვლის იდეა პრაქტიკულად რეალიზებულ იქნა 1980–იან წლებში. ისევე, როგორც მეცნიერების სხვა ახალ სფეროებში, აქაც ინფორმაციის ურთიერთგაცვლის გამარტივებისათვის მეცნიერებმა შემოიღეს რიგი ახალი ტერმინებისა. ასე მაგალითად, ცხოველებს, რომელთა გენოტიპი შეცვლილი იყო უცხო (ეგზოგენური) დნმ–ის შეყვანის გზით, ეწოდა ტრანსგენური, შეყვანილ დნმ–ს – ტრანსგენი, ხოლო მთელ პროცესს – ტრანსგენური ტექნოლოგია, ანუ ტრანსგენოზი.

ტრანსგენების შეყვანის გზით მრავალუჯრედიანი ორგანიზმების გენეტიკურ მოდიფიკაციაში ჩატარებული ექსპერიმენტები მოითხოვდა დიდ დროს. და მაინც, ტრანსგენოზი გახდა მძლავრი ინსტრუმენტი ძუძუმწოვრების გენებისა და მათი განვითარების ექსპრესიის მოლეკულური საფუძვლების გამოსაკვლევად, სამოდელო სისტემების შესაქმნელად, რაც საშუალებას იძლევა შევისწავლოთ ადამიანის დაავადებები, აგრეთვე ცხოველთა სარძევე ჯირკვლების უჯრედების გენეტიკური მოდიფიკაციის შესაძლებლობა რძესთან ერთად მედიცინისათვის მნიშვნელოვანი ცილების მიღების მიზნით. შემოთავაზებული იყო ახალი ტერმინიც – „ფარმინგი“ – ტრანსგენური შინაური ცხოველების რძისაგან („pharm”) ადამიანის აუტენტური ცილების ან ფარმაცევტული პრეპარატების მიღების პროცესი. რძის გამოყენება იმიტომ არის მიზანშეწონილი, რომ იგი ცხოველის ორგანიზმში წარმოიქმნება დიდი ოდენობით და შეიძლება მისი გამოწველა ცხოველისათვის ზიანის მიუყენებლად. სარძევე ჯირკვლით გამომუშავებული და რძეში სეკრეტირებული ახალი ცილა არ უნდა

ახდენდეს არანაირ გვერდით ეფექტს ტრანსგენური ცხოველის ორგანიზმში მიმდინარე ნორმალურ ფიზიოლოგიურ პროცესებზე და ექვემდებარებოდეს პოსტტრანსლაციურ ცვლილებებს, რომლებიც ახლოს დგას ასეთებთან ადამიანის უჯრედებში. გარდა ამისა, მისი გამოყოფა რძისგან, რომელიც სხვა ცილებსაც შეიცავს, არ უნდა იყოს ძნელი.

ტრანსგენური თაგვები: მეთოდოლოგია

ტრანსგენური ტექნოლოგიები მუშავდებოდა და სრულყოფილი ხდებოდა ლაბორატორიულ თაგვებზე. 1980–იანი წლების დასაწყისიდან თაგვების სხვადასხვა ხაზში შეყვანილ იქნა ასობით გენი. ეს გამოკვლევები ხელს უწყობდა გენური რეგულაციის მექანიზმებისა და სიმსივნეების განვითარების, იმუნოლოგიური სპეციფიკურობის ბუნების, ზრდისა და განვითარების მოლეკულური გენეტიკის შესწავლას, აგრეთვე სხვა ფუნდამენტალური ბიოლოგიური პროცესების დადგენას. ტრანსგენურმა თაგვებმა თავისი როლი ითამაშეს სამკურნალო ნივთიერებების მსხვილმასშტაბიანი შესაძლებლობების გამოკვლევაში, აგრეთვე ისეთი ტრანსგენური ხაზების შექმნაში, რომლებიც ადამიანის სხვადასხვა გენეტიკური დაავადების მოდელირების საშუალებას იძლეოდა. თაგვებში უცხო დნმ–ის შეყვანა შეიძლება განხორციელდეს სხვადასხვა მეთოდით: 1) რეტროვირუსული ვექტორების მეშვეობით, რომლებიც აინფიცირებენ ემბრიონის უჯრედს განვითარების ადრეულ სტადიებზე მდედრ–რეციპიენტში ემბრიონის იმპლანტაციის წინ; 2) განაყოფიერებული კვერცხუჯრედის მამრობითი პრონუკლეუსის გადიდებულ ბირთვში მიკროინექციით; 3) გენეტიკურად მოდიფიცირებული ემბრიონული ღეროვანი უჯრედების შეყვანით ჯერ კიდევ არაიმპლანტირებულ ემბრიონში, განვითარების ადრეულ სტადიაზე.

რეტროვირუსული ვექტორების გამოყენება

რეტროვირუსული ვექტორების გამოყენებაზე დაფუძნებული მეთოდის უპირატესობა ტრანსგენოზის სხვა მეთოდებთან შედარებით მდგომარეობს მის მაღალეფექტიანობაში, მაგრამ ჩასამატებელი სტრუქტურის ზომა ამ შემთხვევაში იზღუდება 8 ათასი ნ.წ–ით. ამის გამო ტრანსგენს, შესაძლოა, არ გააჩნდეს მეზობელი რეგულატორული თანამიმდევრობები, რომლებიც საჭიროა მისი ექსპრესიისათვის.

რეტროვირუსული ვექტორების გამოყენებას აქვს კიდევ ერთი ნაკლი. თუმცა ეს ვექტორები ისე იქმნება, რომ ისინი დეფექტური იყოს რეპლიკაციის თვალსაზრისით, რეტროვირუსის (დამხმარე–ვირუსის) შტამის გენომი, რომელიც საჭიროა ვექტორული დნმ–ის დიდი ოდენობით მისაღებად, შეიძლება მოხვდეს იმავე ბირთვში, სადაც ტრანსგენი.

გატარებული ყველა ღონისძიების მიუხედავად, დამხმარე–ვირუსები შეიძლება რეპლიცირდეს ტრანსგენური ცხოველის ორგანიზმში, რაც სრულიად დაუშვებელია, თუკი ნავარაუდევია ამ ცხოველების საკვებად ან კომერციული პროდუქციის მისაღებ ინსტრუმენტად გამოყენება. ვინაიდან არსებობს ტრანსგენოზის ალტერნატული მეთოდები, რეტროვირუსული ვექტორებს იშვიათად იყენებენ კომერციული ღირებულების მქონე ტრანსგენური ცხოველების შესაქმნელად.

დნმ–ის მიკროინექციის მეთოდი

ამჟამად ტრანსგენური თაგვების შესაქმნელად ყველაზე ხშირად გამოიყენება დნმ–ის მიკროინექციის მეთოდი. იგი შემდეგში მდგომარეობს:

1. იმ კვერცხუჯრედების რიცხვის გაზრდა, რომლებშიც ინექცირებული იქნება უცხო დნმ მდედრ–დონორებში ჰიპეროვულაციის სტიმულაციის გზით. თავდაპირველად მდედრს შეუყვანენ მაკე ცხენის შრატს, ხოლო დაახლოებით 48 საათის შემდეგ – ადამიანის ქორიონულ გონადოტროპინს. ჰიპეროვულაციის შედეგად, წარმოიქმნება 35–მდე კვერცხუჯრედი, ჩვეულებრივ პირობებში წარმოქმნილი 5–10–ის ნაცვლად.
2. ჰიპეროვულაციის მქონე მდედრის შეჯვარება მამრთან და მათი კვდომა. კვერცხგამტარებიდან განაყოფიერებული კვერცხუჯრედების გამორეცხვა.
3. განაყოფიერებულ კვერცხუჯრედებში დნმ–ის მიკროინექცია – როგორც წესი, მაშინვე, გამოყოფის შემდეგ. ხშირად შეყვანილი ტრანსგენური კონსტრუქცია იმყოფება ხაზურ (წრფივ) ფორმაში და არ შეიცავს პროკარიოტიკულ ვექტორულ თანმიმდევრობებს.

ძუძუმწოვრებში კვერცხუჯრედში მოხვედრის შემდეგ მამრის პრონუკლე-უსის ბირთვი და კვერცხუჯრედის ბირთვი ცალ–ცალკე არსებობენ. იმის შემდეგ, რაც უკანასკნელი დაასრულებს მიტოზურ დაყოფას და გარდაიქმნება მდედრ პრონუკლეუსად, შეიძლება მოხდეს ბირთვების შერწყმა (კარიოგამია). ჩვეულებრივ, მამრობითი პრონუკლეუსი მდედრობითზე დიდია, ადვილია მისი ლოკალიზება სექციური მიკროსკოპით და მასში უცხო დნმ–ის შეყვანა. ამასთან, მიკროინექციის ჩატარების პროცესში კვერცხუჯრედი შეიძლება გადავაადგილოთ, მოვახდინოთ საჭიროებისამებრ მისი ორიენტირება და დაფიქსირება. გამოცდილ ექსპერიმენტატორს დღეში შეუძლია რამდენიმე ასეული კვერცხუჯრედის ინოკულირება.

დნმ–ის შეყვანის შემდეგ ახდენენ 25–დან 40–მდე კვერცხუჯრედის იმპლანტირებას მიკროქირურგიული გზით „სუროგატულ“ დედაში, რომელ-შიც იწვევენ ცრუ ორსულობას ვაზექტომირებულ მამრთან შეჯვარებით. თაგვებში შეწყვილება – ერთადერთი ცნობილი ხერხია

საშვილოსნოს მოსამზადებლად იმპლანტაციისათვის. ვინაიდან ვაზექტომირებული მამრი არ პროდუცირებს სპერმატოზოიდებს, „სუროგატული“ დედის არც ერთი კვერცხუჯრედი არ განაყოფიერდება. ემბრიონები ვითარდება მხოლოდ შეყვანილი კვერცხუჯრედებიდან და წრუწუნები იბადება იმპლანტაციიდან 3 კვირის შემდეგ.

ტრანსგენური ცხოველების იდენტიფიკაციისთვის დნმ–ს გამოყოფენ კუდის მცირე ქსოვილიდან და ახდენენ მის ტესტირებას ტრანსგენის არსებობაზე საუზერნის მიხედვით ბლოტ–ჰიბრიდიზაციის მეთოდით, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (პჯრ) გამოყენებით. იმისათვის, რომ დავადგინოთ, იმყოფება თუ არა ტრანსგენი ცხოველის ჩანასახოვანი ხაზის უჯრედებში, ტრანსგენურ თაგვს შეაჯვარებენ სხვა თაგვთან. შემდეგ შეიძლება ჩატარდეს შთამომავალთა შეჯვარება წმინდა (ჰომოზიგოტური) ტრანსგენური ხაზების მისაღებად.

მოდიფიცირებული ემბრიონული ღეროვანი უჯრედების გამოყენება

ბლასტოცისტის სტადიაზე თაგვების ემბრიონიდან გამოყოფილი უჯრედები შეიძლება პროლიფერირებდნენ კულტურაში. ისინი შეიძლება განვითარდნენ ნებისმიერი ტიპის უჯრედებად, მათ შორის, ჩანასახოვანი ხაზის უჯრედებად ბლასტოცისტის სტადიაზე სხვა ემბრიონში შეყვანისას. ასეთ უჯრედებს ეწოდებათ პლურიპოტენტური ემბრიონული ღეროვანი უჯრედები (ES). ES – უჯრედების კულტურაში მოდიფიცირება ადვილია გენური ინჟინერიის მეთოდებით მათი პლურიპოტენტურობის დარღვევის გარეშე. მაგალითად, ფუნქციურად ნაკლებმნიშვნელოვანი გენის განსაზღვრულ საიტში მათ გენომში შეიძლება ჩაშენდეს ფუნქციონალური ტრანსგენი. შემდეგ შეიძლება გამოვარჩიოთ შეცვლილი უჯრედები, მოვახდინოთ მათი კულტივირება და გამოვიყენოთ ისინი ტრანსგენური ცხოველების მისაღებად. ეს საშუალებას იძლევა თავიდან ავიცილოთ შემთხვევითი ჩაშენებები, რომლებიც დამახასიათებელია მიკროინექციის მეთოდისათვის და რეტროვირუსილი ვექტორული სისტემებისათვის.

ES – უჯრედების ტრანსფექციის დროს კულტურაში სპეციფიკურ ქრომოსომულ საიტში ინტეგრაციისათვის განკუთვნილი ვექტორით დნმ–ის ფრაგმენტი ზოგიერთ უჯრედში შემთხვევით ჩაშენდება, სხვებში კი ჩაშენება წარმოებს საჭირო საიტში, ხოლო ES–უჯრედების უმეტესობაში – ინტეგრაცია საერთოდ არ ხდება. პირველი ტიპის უჯრედების რიცხვის გაზრდისათვის გამოიყენება ე.წ. პოზიტიურ–ნეგატიური სელექცია. ეს სტრატეგია მდგომარეობს იმ უჯრედების პოზიტიურ სელექციაში, რომლებიც ატარებენ ვექტორულ დნმ–ს, ჩაშენებულს საჭირო საიტში და იმ ვექტორული დნმ–ის მქონე უჯრედების ნეგატიურ სელექციაში, რომლებიც ინტეგრირებულია შემთხვევით საიტში.

საიტი–სამიზნე უნდა იმყოფებოდეს გენომის დნმ–ის ისეთ არეში, რომელიც არ ახდენს მნიშვნელოვანი ცილების კოდირებას, რათა უცხო დნმ–ის ინტეგრაცია არ მოქმედებდეს განვითარების პროცესებზე ან უჯრედულ ფუნქციებზე. გარდა ამისა, მნიშვნელოვანია, რომ ტრანსგენის ჩაშენება არ ბლოკავდეს გენომის შესაბამისი მონაკვეთის ტრანსლაციას. ამგვარი საიტების ძიება მიმდინარეობს განუწყვეტლივ.

კლონირება ბირთვის გადატანის მეშვეობით

პლურიპოტენტურობა შეიძლება გამოვლინდეს, თუ ტესტირებული უჯრედის ბირთვს გადავიტანთ ბირთვგამოცლილ კვერცხუჯრედში და შემდეგ გამოვიკვლევთ უკანასკნელის უნარს – რამდენად შეუძლია მას სიცოცხლისუნარიანი შთამომავლობის წარმოქმნა და განვითარება. რამდენიმე ლაბორატორიაში რამდენადმე წარმატებულად განხორციელდა ემბრიონული უჯრედების ხაზების (ნაყოფისა და ზრდასრულის უჯრედების) პლურიპოტენტურობის კვლევა. ნაჩვენები იყო, რომ ემბრიონული უჯრედების ბირთვებს შესწევთ განვითარება, თუმცა დაბალი ეფექტიანობით. მაგალითად, ხანმოკლე დროში კულტივირებული მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვის ემბრიონული უჯრედების ბირთვების გადატანით მიღებული ცხოველმყოფელი ინდივიდი – ყველასათვის ცნობილი ცხვარი დოლი, კლონირებული იყო ზრდასრული ცხოველის სარძევე ჯირკვლის (ჯიქნის) უჯრედის ბირთვის გადატანით. ასე იყო პირველად დამტკიცებული დიფერენცირებული ზრდასრული უჯრედის ბირთვის პლურიპოტენტურობა. თუმცა, არ არის გამორიცხული, რომ სინამდვილეში დონორის ბირთვი გამოყოფილი იყო რომელიმე არადიფერენცირებული უჯრედიდან, რომელიც იყო დონორის ორგანიზმის სარძევე ჯირკვლის ეპითელიუმში.

დიფერენცირებული უჯრედის ბირთვიდან დოლისა და სხვა სამი ცხვრის ემბრიონული უჯრედების ბირთვიდან კლონირების განხორციელება მოხერხდა ბირთვების გამოყოფით ისეთი უჯრედებიდან, რომლებიც იმყოფებოდა მოსვენების სტადიაზე (C_0–ში). საქმე იმაშია, რომ ცხვრის ზიგოტას პირველი სამი დაყოფის განმავლობაში, რომელიც რამდენიმე დღე მიმდინარეობს, ხდება მხოლოდ დნმ–ის რეპლიკაცია, არცერთი გენის ექსპრესირება არ ხდება. ვარაუდობენ, რომ ამ დროს შეტანილი დნმ გამონთავისუფლდება უჯრედისათვის სპეციფიკური რეგულატორული ცილებისაგან, ხოლო ემბრიონული განვითარების შესაბამისი გენები შეკავშირდებიან ინიციატორულ ემბრიონულ ცილოვან ფაქტორებთან, რომლებსაც კვერცხუჯრედის ციტოპლაზმა შეიცავს.

ძირითადი პრობლემა, რომელიც უნდა გადაიჭრას იმისათვის, რათა ტრანსგენური ცხოველების შექმნა ბირთვების გადატანის მეთოდით რეალური გახდეს – ეს არის უწყვეტ კულტურაში უჯრედების

პლურიპოტენტურობის შენარჩუნება. თუკი ეს შესაძლებელი გახდება, მაშინ ამგვარი უჯრედების გენეტიკური ცვლილება და ტრანსგენური ორგანიზმების შექმნა გახდება თითქმის რუტინული პროცედურა. სახეობრივი განსხვავებების გამო, უჯრედების დაყოფა ემბრიოგენეზის ადრეულ სტადიებზე და ტრანსკრიპციის ინიციაცია ამ პერიოდში ჯერ კიდევ არ არის გარკვეული; შესაძლებელი გახდება თუ არა ბირთვის გადატანა სხვა რომელიმე შინაურ ცხოველში, გარდა ცხვრისა, თუ დონორის ბირთვი იმავე სტადიაზე იქნება, რომელზეც კვერცხუჯრედი.

გენების გადატანა ხელოვნური საფუარის ქრომოსომების მეშვეობით

ტრანსგენების უმეტესობა წარმოადგენს კ–დნმ–ს, მცირე ზომის გენებს (≤20 ათას ნ.წ.) ან გენების ფრაგმენტებს. ხშირად კ–დნმ ცუდად ექსპრესირდება ძუძუმწოვრების უჯრედებში, ხოლო როდესაც ტრანსგენი არის გენომური დნმ, მნიშვნელოვანი გენსპეციფიკური რეგულატორული თან მიმდევრობები, რომლებიც განლაგებულია გენ–სამიზნემდე და მის შემდეგ, ჩვეულებრივ, არ შედიან ჩასამატებელი ფრაგმენტის შემადგენლობაში. გარდა ამისა, სრულზომიანი გენები და მულტიგენური კომპლექსები (≥100 ათასი ნ.წ.) ძალზე დიდია ჩვეულებრივ ვექტორებში ჩასაშენებლად. ყოველივე ამის გათვალისწინებით, ტრანსგენოზისათვის დაიწყეს ხელოვნური საფუარის ქრომოსომების (YAC) გამოყენება, რომლებიც იტევდა გენომური დნმ–ის ფრაგმენტებს სიგრძით 100–დან >1000–მდე ათას ნ.წ.–ს.

ტრანსგენურ თაგვებს იღებდნენ მიკროინექციით განაყოფიერებული კვერცხუჯრედის პრონუკლეუსში ან ES–უჯრედების ტრანსფექციით YAC–ის მეშვეობით, რომლებიც ატარებენ რამდენიმე მონათესავე გენს და ერთ დიდ გენს. ტრანსგენური თაგვები, რომლებიც ატარებენ ადამიანის β–გლობინის ხუთი ფუნქციონალური გენისაგან შემდგარ კლასტერს, ჯამური სიგრძით დაახლოებით 250 ათასი ნ.წ., ექსპესირებდნენ ამ გენებს ქსოვილს სპეციფიკურად, საჭირო დროს – ზუსტად ისევე, როგორც ეს ხდება ადამიანში. ასეთი შესაბამისობა განპირობებულია მათი ფლანკირებული თანმიმდევრობებით, რომლებიც შეიცავენ პრომოტორს და სხვა მნიშვნელოვან რეგულატორულ ელემენტებს.

თაგვების შექმნა, რომლებიც ახდენდნენ მხოლოდ ადამიანის ანტისხეულების სინთეზირებას – ეს YAC–ის მეშვეობით ტრანსგენოზის კარგი მაგალითია. როგორც წინა თავში იყო აღნიშნული, მრავალკლონიანი ანტისხეულები შეიძლება გამოიყენებოდეს ადამიანის ზოგიერთი დაავადების სამკურნალოდ. მაგრამ ადამიანის მრავალკლონიანი ანტისხეულების მიღება პრაქტიკულად შეუძლებელია. სამწუხაროდ, მღრღნელების მრავალკლონიანი ანტისხეულები იმუნოგენურია ადამიანისათვის. იმისათვის, რომ „გავაადამიანუროთ“ მღრღნელების

მრავალკლონიანი ანტისხეულები, შემუშავებული იყო რთული სტრატეგიები რეკომბინანტული დნმ–ის გამოყენებით. ამ შრომატევადი პროცედურების შედეგად შესაძლებელი გახდა Fv- და Fab-ფრაგმენტების მიღება, რომლებიც ხშირად სპეციფიკური ანტიგენის მონათესავე აღმოჩნდა. შესაძლოა მიღწეულ იქნეს ტექნოლოგიური გარღვევა, თუ ადამიანის სრულზომიანი ანტისხეულების მისაღებად გამოვიყენებთ უფრო ხელმისაწვდომ მეთოდს ჰიბრიდების გამოყენებით.

ტრანსგენური თაგვები: გამოყენება

ტრანსგენური თაგვები შეიძლება გამოვიყენოთ მოდელურ სისტემებად ადამიანის დაავადებების შესწავლისათვის და ტესტ–სისტემებად პროდუქტების სინთეზის კვლევებში, რაც მედიცინისათვის საინტერესო სფეროს წარმოადგენს. ცხოველების გამოყენებით შეიძლება პათოლოგიური ცვლილებების წარმოშობისა და განვითარების მოდელირებაც. მაგრამ თაგვი ადამიანი არ არის, თუმცა ისიც ძუძუმწოვართა კლასს მიეკუთვნება, ამიტომ ტრანსგენურ მოდელებზე მიღებული მონაცემების ექსტრაპოლირება ყოველთვის არ შეიძლება ადამიანზე იმ თვალსაზრისით, რომელიც სამედიცინო ასპექტებს შეეხება. და მაინც, ზოგიერთ შემთხვევაში ამგვარი მიდგომა საშუალებას იძლევა გამოვავლინოთ რთული დაავადებების ეტიოლოგიის საკვანძო მომენტები. ყოველივე ამის გათვალისწინებით, მეცნიერებმა შეიმუშავეს „თაგვის“ მოდელები ადამიანის ისეთი გენეტი-კური დაავადებებისათვის, როგორიცაა ალცჰაიმერის დაავადება, ართრიტი, კუნთოვანი დისტროფია, სიმსივნეები, ჰიპერტონია, ნეიროდეგენერაციული დარღვევები, ენდოკრინული სისტემის დისფუნქცია, გულსისხლძარღვთა დაავადებები და მრავალი სხვა.

ალცჰაიმერის დაავადება – ეს არის დეგენერაციული პროცესი, რომელიც იწვევს თავის ტვინის სხვადასხვა ნაწილის დარღვევას. მის ადრეულ გამოვლინებად ითვლება მეხსიერების გაუარესება. ეს პროცესი პროგრესირებს, ამას ემატება აბსტრაქტული აზროვნების უნარის დაკარგვა, პიროვნების შეცვლა, მეტყველების დარღვევა, ფიზიკური სტატუსის დაქვეითება, პათოლოგია 60–დან 65 წლამდე ასაკობრივ ჯგუფის 1%–ში და 80 წელს ზემოთ ადამიანების 30%–ში გვხვდება. პათომორფოლოგიური გამოკვლევის დროს ნეირონების სხეულში (სომაში) აღმოჩენილია ნეიროფიბრილარული გორგლები, ხოლო სინაპტიკურ დაბოლოებებში – მკვრივი აგრეგატები; ტვინის სისხლძარღვებში აღმოჩენილია კონგლომერატები.

ტრანსგენური მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვი

თუ განვიზრახავთ სარძევე ჯირკვლის გამოყენებას „ბიორეაქტორად“, მაშინ ტრანსგენოზისათვის საუკეთესო ცხოველად ითვლება

მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვი, რომელიც ყოველწლიურად იძლევა 10 000 ლიტრამდე რძეს და რომელიც შეიცავს დაახლოებით 35 გ ცილას 1 ლ–ზე. თუ რძეში იქნება რეკომბინანტული ცილის ასეთი ოდენობა და მისი გაწმენდის ეფექტურობა შეადგენს 50%–ს, მაშინ 20 ტრანსგენური ძროხისაგან წელიწადში შეიძლება მივიღოთ დაახლოებით 100 კგ ასეთი ცილა. მაგალითისათვის, სწორედ ამდენი ცილა C არის საჭირო ყოველწლიურად თრომბწარმოქმნის ასაცილებლად. მეორე მხრივ, ერთი ტრანსგენური ძროხაც კი საკმარისია ყოველწლიურად საჭირო რაოდენობის ფაქტორ IX (ქრისტმასის ფაქტორის) სისხლის შედედების კასკადური მექანიზმის მისაღებად, რომელიც შეჰყავთ ჰემოფილიით დაავადებულ ავადმყოფებში სისხლის შედედების უნარის ასამაღლებლად.

ტრანსგენური ძროხების შესაქმნელად გამოიყენებოდა თაგვების ტრანსგენოზის მოდიფიცირებული სქემა დნმ–ის მიკროინექციის მეთოდით. პროცედურა მოიცავდა შემდეგ ძირითად ეტაპებს.

1. ბოინში დაკლული ძროხების ოოციტების შეგროვება.
2. in vitro ოოციტების მომწიფება.
3. in vitro განაყოფიერება ბუღის სპერმით.
4. განაყოფიერებული კვერცხუჯრედების ცენტრიფუგირება იმ „კვერცხის გულის“ კონცენტრირებისათვის, რომელიც ნორმალურ კვერცხუჯრედებში ხელს უშლის მამრობითი პრონუკლეუსის ვიზუალიზაციას სექციური მიკროსკოპის მეშვეობით.
5. მამრობით პრონუკლეუსში დნმ–ის მიკროინექცია.
6. in vitro ემბრიონების განვითარება.
7. რეციპიენტი მდედრისათვის ერთი ემბრიონის არაქირურგიული იმპლანტაცია ახურების დროს.
8. შთამომავლობაში დნმ–ის სკრინინგი ტრანსგენის არსებობაზე.

ტესტურ ექსპერიმენტებში, ჯამურად, 2470 ოოციტის მომცველი მასალიდან მიღებულ იქნა ორი ტრანსგენური ხბო. ეს შედეგი მიუთითებს აღწერილი მიდგომის შედეგიანობაზე, მაგრამ ასევე მის დაბალეფექტიანობაზეც. კვლევები ამ მიმართულებით გრძელდება და, იმედია, რომ ტრანსგენოზის მეთოდიკა დაიხვეწება და უფრო სრულყოფილი გახდება. მაგალითად, მალე შესაძლებელი იქნება განვითარებადი in vitro ემბრიონიდან შეირჩეს მცირერიცხოვანი უჯრედები და მოხდეს მათი ტესტირება ტრანსგენის არსებობაზე; ემბრიონის მიერ უჯრედების ასეთი დაკარგვა არ შეუშლის ხელს მის ნორმალურ განვითარებას. ეს ტესტი მხოლოდ ტრანსგენის მატარებელი ემბრიონების გადარჩევის და იმპლანტირების საშუალებას იძლევა.

მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვის ტრანსგენოზის ერთ–ერთი მიზანია რძეში სხვადასხვა კომპონენტის შემცველობის შეცვლა. ასე მაგალითად, ყველის ოდენობა, რომელიც მიიღება რძიდან,

პირდაპირპროპორციულია მასში k-კაზეინის შემცველობისა, ამიტომ ძალზე პერსპექტიულია სინთეზირებადი k-კაზეინის რაოდენობის გაზრდა ამ ცილის ტრანსგენის ჰიპერექსპრესიის მეშვეობით. შემდეგ, თუ უზრუნველყოფილი იქნება ლაქტაზას გენის ექსპრესია სარძევე ჯირკვლის უჯრედებში, მაშინ შესაძლებელი იქნება ისეთი რძის მიღება, რომელიც არ შეიცავს ლაქტოზას. ასეთი რძე შეუცვლელია ბევრი ადამიანისათვის, რომლებიც ვერ იტანენ ლაქტოზას; რძის ან რძის პროდუქტების მიღების შემდეგ მათ უჩნდებათ სერიოზული კუჭ–ნაწლავის პრობლემები. მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვის ტრანს-გენოზი – ეს არის ძალზე პერსპექტიული მიდგომა, მაგრამ ტრანსგენური ცხოველების დიდი რაოდენობით წარმოება მოითხოვს დროს – იმისათვის, რომ გამოვზარდოთ სქესობრივად მომწიფებული ცხოველი განაყოფიერებული კვერცხუჯრედიდან საჭიროა დაახლოებით 2 წელი.

ძალზე აქტუალურია ისეთი შინაური ცხოველების შექმნა, რომელთაც ექნებათ მემკვიდრეობითი მდგრადობა ბაქტერიული და ვირუსული ინფექციებისადმი, აგრეთვე პარაზიტული ინვაზიებისადმი. ცნობილია ჯიშები, რომელთაც ახასიათებთ მემკვიდრეობითი მდგრადობა ბაქტე-რიული ინფექციური დაავადებებისადმი – მასტიტის (ძროხებში), დიზენტერიის (ღორებში), ქოლერის (შინაურ ფრინველებში) მიმართ. თუ თითოეულ ამ ავადმყოფობისადმი მდგრადობას საფუძვლად ერთი გენი უდევს, შეიძლება შევეცადოთ შევქმნათ მისი მატარებელი ტრანსგენური ცხოველები. ამჟამად შინაური ცხოველების ინფექციურ დაავადებებთან ბრძოლისათვის გამოიყენება აცრები და სამკურნალო პრეპარატები. საჭიროა დაავადებული ცხოველების იზოლირება, ჯანმრთელებზე კი გულდასმით დაკვირვება. ყველა ამ ღონისძიების ღირებულება შეიძლება აღწევდეს საბოლოო პროდუქტის საერთო ღირებულების 20%–ს.

ინფექციების გამომწვევებისადმი მდგრადი ცხოველების ხაზების შესაქმნელად შეიძლება გამოიყენებოდეს სხვა მიდგომაც – მემკვიდრეობით მიღებული იმუნოლოგიური მექანიზმების ტრანსგენოზი. ამ თვალსაზრისით განიხილება სხვადასხვა გენი, რომლებიც პასუხისმგებელი არიან იმუნური სისტემის მუშაობაზე: ჰისტოშეთავსების ძირითადი კომპლექსის გენები, T-უჯრედული რეცეპტორები, ლიმფოკინები. ამჟამად ყველაზე იმედის მომცემია წინასწარი შედეგები, მიღებული თაგვებში, კურდღლებში და ღორებში ისეთი გენების შეყვანით, რომლებიც ახდენენ რომელიმე მონოკლონური ანტისხეულის H- და L- ჯაჭვების კოდირებას. ამ მიდგომის იდეა იმაში მდგომარეობს, რომ მოვამარაგოთ ტრანსგენური ცხოველი მემკვიდრეობით მიღებული დაცვის მექანიზმით, აცრების მეშვეობით.

რეციპიენტის ორგანიზმში ანტისხეულების გენების შეყვანას, რომლებიც უკავშირდებიან სპეციფიკურ ანტისხეულებს, ეწოდა იმუნიზაცია in vivo.

ტრანსგენური ცხვრები, თხები და ღორები

ცხვრებისა და თხების ტრანსგენოზის შემთხვევაში ცდები ძირითადად მიმართული იყო ამ ცხოველების სარძევე ჯირკვლების გარდაქმნისაკენ ერთგვარ ბიორეაქტორებად – ცილოვანი პროდუქტების მისაღებად, რომლებიც გამოიყენება მედიცინაში. მიუხედავად იმისა, რომ ცხვრებისა და თხების წველადობა ნაკლებია ვიდრე ძროხებისა, ისინი წელიწადში ასობით ლიტრ რძეს იძლევიან. ტრანსგენური თაგვებისა და სხვა ტრანსგენური კონსტრუქციების შესაქმნელად, რომლებიც შეიცავდნენ ადამიანის გენებს სარძევე ჯირკვლისათვის სპეციფიკური პრომოტორების კონტროლის ქვეშ, გამოყენებული მეთოდის ანალოგიურად, შექმნილ იქნა ტრანსგენური ცხვარი და თხა, რომელთა რძეში სეკრეტირდებოდა ადამიანის ცილები. ისინი იყო გლიკოლიზირებული და გააჩნდათ აქტივობა, რომელიც შეესაბამებოდა ადამიანისაგან გამოყოფილი ანალოგიური ცილების აქტივობას. მაგრამ, რომ დავრწმუნდეთ ამ ცილების სრულ ეკვივალენტურობაში, საჭიროა დამატებითი გამოკვლევები. ცხვრებისა და თხების სარძევე ჯირკვლების უჯრედებში ტრანსგენების ექსპრესია ლაქტაციის პერიოდში არანაირ გვერდით ეფექტს არ ახდენდა მდედრებზე და არც გამოსაკვებ შთამომავლობაზე. მათგან განსხვავებით, ღორებში ბუღის ზრდის ჰორმონის ტრანსგენის შეყვანისას მეტალლოთიონინის პრომოტორის კონტროლის ქვეშ შეიმჩნეოდა არასასურველი ეფექტები. ტრანსგენური ღორების ჯგუფში, სხვადასხვა ინდივიდში ჰორმონების რაოდენობა განსხვავდებოდა, მაგრამ მთლიანობაში მთელი ეს ჯგუფი წონაში სწრაფად იმატებდა. სამწუხაროდ, ეს დადებითი შედეგი ნაწილობრივ განპირობებული იყო სხვადასხვა პათოლოგიით: ცხოველებში აღინიშნებოდა კუჭის წყლული, ღვიძლის უკმარისობა, სიკოჭლე, პერიკარდიუმის ანთება, სახსრების მოძრაობის შეზღუდვა, პნევმონიისადმი მიდრეკილება. ამ სიმპტომების მიზეზები უცნობია. შესაძლოა, ისინი დაკავშირებულია ორგანიზმში ხანგრძლივი დროით ზრდის ჰორმონის არსებობასთან. ამ ექსპერიმენტებში ტრანსგენი სინთეზირებდა მეტ–ნაკლებად უწყვეტად. შექმნილი იყო აგრეთვე ტრანსგენური ცხვრები მატყლის დაჩქარებული ზრდის უნარით. ამისათვის კ–დნმ–ს ცხვრის ინსულინმაგვარი ზრდის ფაქტორი 1 მოთავსებული იქნა გოგირდის დიდი შემცველობის კერატინის გენის თაგვის პრომოტორის კონტროლის ქვეშ, რაც უზრუნველყოფდა კ–დნმ–ის ჰიპერექსპრესიას. ამასთან, ტრანსგენურ ცხვრებს, ღორებისგან განსხვავებით, არავითარი არასასურველი გვერდითი ეფექტები არ აღენიშნებოდათ.

დადებითი შედეგები იყო მიღებული ტრანსგენურ ღორებზე ჩატარებული ექსპერიმენტების მსვლელობაშიც. მაგალითად, შექმნილ იქნა ჯანმრთელი ტრანსგენური ღორები, რომელთა გენომში იყო

შემდეგი გენეტიკური კონსტრუქცია: ადამიანის β–გლობინის გენის რეგულატორული უბანი, ადამიანის α1-გლობინის ორი გენი და ადამიანის βA–გლობინის ერთი გენი. მათი ექსპრესიის შედეგად, ღორის სისხლის უჯრედებში სინთეზირდებოდა ადამიანის ჰემოგლობინი, ამასთან β–გლობინის გენის ადამიანის პრომოტორის ღორისათი შეცვლის შედეგად ადამიანის ჰემოგლობინი სინთეზირდა გაცილებით დიდი ოდენობით. ადამიანის ჰემოგლობინი, პროდუცირებული ტრანსგენური ღორებით, ხასიათდებოდა ისეთივე ქიმიური თვისებებით, როგორითაც ბუნებრივი, ადამიანური. შეიძლებოდა მისი გამოცალკევება ღორის ჰემოგლობინისაგან ჩვეულებრივი ქრომოტოგრაფიით.

ეს შედეგები მიუთითებენ ტრანსფუზიის დროს გამოყენებული სისხლის შეცვლის შესაძლებლობაზე ადამიანის ჰემოგლობინით, მიღებულით ტრანსგენოზის მეთოდით. მაგრამ იზოლირებულ ჰემოგლობინს არ გადააქვს ჟანგბადი ისე ეფექტურად, როგორც ჰემოგლობინს ერიტროციტების შემადგენლობაში. უფრო მეტიც, იგი სწრაფად იშლებოდა ცხოველების ორგანიზმში, რომელშიც იყო შეყვანილი, ხოლო მისი დაშლის პროდუქტები ტოქსიკურია თირკმელებისთვის. ამრიგად, ადამიანის სისხლის შემცვლელის მიღება ტრანსგენოზის მეშვეობით – ეს არის შორეული მომავლის პერსპექტივა.

ბოლო დროს დიდი ყურადღება ექცევა ცხოველების ორგანოების გამოყენებას ადამიანში ტრანსპლანტაციისათვის. სახეობათაშორისი ტრანსპლანტაციის ძირითადი პრობლემაა – ჰიპერმწვავე ჩამოშორება, რომელიც იწვევს პატრონ–ორგანიზმის ანტისხეულების შეკავშირებას ნახშირწყლის ანტიგენურ დეტერმინანტასთან გადანერგილი ორგანოს უჯრედების ზედაპირზე. შეკრული ანტისხეულები იწვევენ მწვავე ანთებით რეაქციას (კომპლემენტის კასკადის აქტივაციას), ხდება ანტისხეულების მატარებელი უჯრედების მასობრივი დაღუპვა და გადანერგილი ორგანოს სწრაფი დაკარგვა.

ბუნებრივ პირობებში ანთებითი რეაქცია იბლოკება განსაკუთრებული ცილებით იმ უჯრედების ზედაპირზე, რომლებითაც მოფენილია სისხლძარღვების კედლები. ეს ცილები – კომპლემენტის ინჰიბიტორები სახეობასპეციფიკურია. გამოთქმული იყო ვარაუდი: ცხოველი–დონორი რომ ატარებდეს ადამიანის ცილების ერთ ან რამდენიმე გენს, მაშინ გადანერგილი ორგანო დაცული იქნებოდა პირველადი ანთებითი რეაქციისაგან. ამ მიზნით მიღებული იყო ტრანსგენური ღორები, რომლებიც იყო კომპლემენტ–ინჰიბიტორის სხვადასხვა ადამიანური გენის მატარებელი. ერთ–ერთი ასეთი ცხოველის უჯრედები აღმოჩნდა სრულიად უგრძნობი კომპლემენტის კასკადის სისტემის კომპონენტებისადმი. წინასწარი ექსპერიმენტები ტრანსგენური ღორების ორგანოების პრიმატებში გადანერგვაზე გვიჩვენებს, რომ გადანერგილი ორგანოს ქსოვილები უფრო სუსტად ზიანდება, ხოლო თვით ორგანო უფრო დიდი ხნის განმავლობაში

არ ჩამოშორდება. შესაძლოა, ტრანსგენური ღორები, რომლებიც ატარებენ კომპლემენტის ინჰიბიტორის ადამიანისეულ გენს და არ გააჩნიათ ღორის უჯრედების მწვავე ჩამოშორების გამომწვევი ძირითადი ზედაპირული ცილა, გახდეს ადამიანისათვის ორგანოების ტრანსპლანტაციის წყარო.

ტრანსგენური ფრინველები

ფრინველის განაყოფიერებულ კვერცხუჯრედებში დნმ–ის მიკროინექცია ტრანსგენური ხაზების მიღების მიზნით – რთული პროცედურაა. ეს დაკავშირებულია ფრინველის კვლავწარმოებისა და განვითარების ზოგიერთ თავისებურებებთან. მაგალითად, ფრინველებში განაყოფიერების დროს კვერცხუჯრედში შეიძლება შეაღწიოს ერთდროულად რამდენიმე სპერმატოზოიდმა და არა ერთმა, როგორც ეს ჩვეულებრივ ხდება ძუძუმწოვრებში. იმ მამრის პრონუკლეუსის იდენტიფიცირება, რომელიც შეუერთდება მდედრისას, შეუძლებელი ხდება. ციტოპლაზმაში დნმ–ის მიკროინექციის მეთოდიც არ გამოდგება, ვინაიდან ამ შემთხვევაში დნმ არ ინტეგრირებს განაყოფიერებული კვერცხუჯრედის გენომში. და ბოლოს, ბირთვში დნმ–ის მიკროინექციის განხორციელება რომც მოხერხდეს, შემდგომი ოპერაციების განხორციელება ძნელი იქნება, ვინაიდან ფრინველებში კვერცხუჯრედი განაყოფიერების შემდეგ საკმაოდ სწრაფად შეიმოსება მაგარი (მყარი) მემბრანით, იფარება ალბუმინის ფენით და შიდა და გარე კირის გარსით.

მაგრამ ტრანსგენის შეყვანა შეიძლება კვერცხის გულში (ჩანასახის დისკოში), რომელიც შეიცავს მდედრ და მამრ პრონუკლეუსებს და წარმოიქმნება უფრო ადრე, ვიდრე ნაჭუჭი. დნმ–ის შეყვანის შემდეგ ხდება თითოეული კვერცხუჯრედის კულტივირება in vitro და როდესაც წარმოიქმნება ჩანასახი, მას ათავსებენ სუროგატულ კვერცხში, რათა მოახდინონ გამოჩეკვის იმიტირება. ასეთი სტრატეგიის მეშვეობით მიღებული იყო წიწილების ერთი ტრანსგენური ხაზი. მაგრამ ამჟამად ეს მეთოდი არ არის ეფექტური და ჩვეულებრივ პირობებში ტექნიკურად ძნელად შესასრულებელია.

იმ დროისათვის, როდესაც ფრინველების კვერცხუჯრედის გარე კირის გარსი გამაგრდება, ბლასტოდერმის სტადიაზე მყოფი ჩანასახი შედგება 40 000 და 80 000 უჯრედის ორი ფენისაგან. ჩატარებულია ექსპერიმენტები ასეთი ჩანასახის ინოკულაციაზე დარღვეული რეპლიკაციის მქონე ისეთი რეტროვირუსული ვექტორებით, რომლებიც ატარებენ ბაქტერიულ მარკერულ გენებს. შედეგად, მიღებულ იქნა ტრანსგენური წიწილები და ჩვეულებრივი მწყერები, რომლებიც უცხო გენების მატარებლები იყვნენ ჩანასახური ხაზის უჯრედებში. ჩვეულებრივ, ასეთი ფრინველები არ პროდუცირებენ თავისუფალ

ვირუსულ ნაწილაკებს. და მაინც, რეტროვირუსული ვექტორების გამოყენება მომავალში, საკვებად გამოყენებული ცხოველებისათვის უცხო გენების „მიმწოდებლებად“, უეჭველად იწვევს კითხვებს ასეთი მიდგომის უსაფრთხოების თაობაზე. გარდა ამისა, ტრანსგენის ზომა, რომელიც შეიძლება შეყვანილი იქნეს რეციპიენტის ორგანიზმში რეტროვირუსული ვექტორის შემადგენლობაში, არ აღემატება – 8 ათას ნ.წ.–ს, ხოლო ზოგიერთ შემთხვევაში საწყის საიტში ინტეგრაცია არასტაბილურია. ყოველივე ამან აიძულა მეცნიერები მოეძიათ ტრანსგენოზის ალტერნატული ხერხები.

ფრინველებისათვის არავითარი სპეციფიკური ES-უჯრედები არ იქნა აღმოჩენილი, ამიტომ მათ გამოყენებაზე დაფუძნებული მიდგომა ფრინველებში შეუძლებელია. შედარებით პერსპექტიულად გვესახება მეთოდი, დაფუძნებული რეკომბინანტული ემბრიონული უჯრედების გამოყენებაზე. ქათმის ემბრიონიდან გამოყოფენ ბლასტოდერმის უჯრედებს, ახდენენ მათ ტრანსფიცირებას ტრანსგენურ დნმ–თან (ლიპოსომური ტრანსფექცია) შეკავშირებული კატიონური ლიპიდების (ლიპოსომების) მეშვეობით და განმეორებით შეჰყავთ ახალდადებული კვერცხების ჩანასახისქვეშა არეში. შთამომავლობის ნაწილი იქნება მცირე რაოდენობით დონორის უჯრედების მატარებელი: ასეთ ცხოველებს ქიმერებს უწოდებენ. ზოგიერთ ქიმერას უჯრედებს, წარმოშობილს ტრანსფიცირებული უჯრედებიდან, შეიძლება წარმოექმნას ჩანასახური უჯრედების ხაზები და ასეთი ქიმერების შეჯვარების რამდენიმე რაუნდის შემდეგ შეიძლება მივიღოთ ტრანსგენური ცხოველური ხაზები. იმისათვის, რომ გავზარდოთ ჩანასახური ხაზის უჯრედებში უცხო გენების მატარებელი ქიმერების შექმნის ალბათობა, დონორის უჯრედების რაოდენობა ქიმერებში უნდა გაიზარდოს რეციპიენტის ემბრიონების დასხივებით მათში ტრანსფიცირებული უჯრედების შეყვანის წინ (540–660 რად 1 სთ–ის განმავლობაში). დასხივების მოქმედებით ბლასტოდერმის ზოგიერთი (და არა ყველა) უჯრედი დაიღუპება და შეფარდება ტრანსფიცირებულ უჯრედებსა და რეციპიენტის უჯრედებს შორის გაიზრდება პირველთა სასარგებლოდ. როგორც ჩანს, ამგვარად შეიძლება მივიღოთ ტრანსგენური წიწილები, თუმცა ნაკლები ეფექტურობით.

ტრანსგენური წიწილები შეიძლება გამოყენებული იქნეს უკვე არსებული ჯიშების გენოტიპის გასაუმჯობესებლად – ვირუსული ინფექციებისადმი და კოქციდიებით გამოწვეული დაავადებებისადმი მათთვის მდგრადობის მინიჭებით (in vivo), საკვების ათვისების ეფექტიანობის ამაღლებით, კვერცხებში ცხიმისა და ქოლესტერინის დონის შემცირებით, ხორცის ხარისხის ამაღლებით. შემოთავაზებული იყო აგრეთვე ცილის მაღალი შემცველობის კვერცხის გამოყენება ფარმაცევტულ მრეწველობაში გამოსაყენებელი ცილოვანი პრო-დუქტების წყაროდ. ტრანსგენის ექსპრესია ქათმის რეპროდუქციულ

უჯრედებში, სადაც სეკრეტირდება ოვალბუმი-ნის დიდი რაოდენობა, ხელს შეუწყობს კვერცხში შესაბამისი ცილოვანი პროდუქტის დაგროვებას, საიდანაც შემდეგ შეიძლება მისი გამოყოფა.

ტრანსგენური თევზები

ბუნებრივი თევზის მარაგების გამოფიტვის გამო დიდი როლი მიენიჭება ხელოვნურ პირობებში თევზის მოშენებას. ამ სფეროში გამოკვლევების ძირითადი მიზანია – ტრანსგენოზის გზით რეკომბინანტული თევზების შექმნა. დღევანდლამდე ტრანსგენები შეიყვანებოდა დნმ–ის მიკროინექციით ან სხვადასხვა სახის თევზების (კალმახი, ორაგული და ა.შ.) განაყოფიერებული კვერცხუჯრედების ელექტროპორაციით. ვინაიდან თევზებში პრონუკლეუსი განაყოფიერებულ კვერცხუჯრედში ცუდად ისინჯება ჩვეუებრივ მიკროსკოპშიც, ლინეარიზებული ტრანსგენური დნმ შეჰყავთ განაყოფიერებული კვერცხუჯრედების ან იმ ემბრიონების უჯრედების ციტოპლაზმაში, რომლებმაც მიაღწიეს ოთხი ბლასტომერის სტადიას. თევზებში ემბრიოგენეზი მიმდინარეობს წყალში, ორგანიზმის გარეთ, ამიტომ იმპლანტაცია არ არის საჭირო. ყველა შემდგომი პროცესი შეიძლება მიმდინარეობდეს რეგულირებადი ტემპერატურის მქონე რეზერვუარებში. თევზის ემბრიონების გადარჩენა მიკროინექციების შემდეგ საკმაოდ მაღალია, 35–დან 80%–მდე, ხოლო ტრანსგენური შთამომავლების წილი მერყეობს 10–დან 70%–მდე.

პირველი გამოკვლევების უმეტესობა ამ სფეროში მიმართული იყო ზრდის სიჩქარეზე ზრდის ჰორმონის ტრანსგენის გავლენის შესწავლისკენ. ვარაუდობენ, რომ მომავალში დაავადებებისადმი, სტრესულ ზემოქმედებისადმი მდგრადობის გენები და აგრეთვე გენები, რომლებიც განაპირობებენ სხვა ბიოლოგიურ თავისებურებებს, შეყვანილი იქნება სხვადასხვა სახეობის თევზებში.

5. მცენარეთა და ცხოველთა კლონირება
კლონების შექმნის აუცილებლობა

კლონირების პროცესი ფაქტიურად მუდმივად მიმდინარეობს ბუნებაში. ყველა ბუნებრივად დაბადებული იდენტური ტყუპები, ადამიანის ჩათვლით, წარმოადგენენ კლონებს, ვინაიდან მათ აქვთ ერთნაირი გენეტიკური კონსტიტუცია. რა არის განსაკუთრებული ერთნაირი გენეტიკური მასალის მქონე ცხოველების წამოებაში? არსებობს რამდენიმე ძალიან მოტივირებული არგუმენტი კლონირებული ცხოველების წარმოებაში ინვესტიციების ჩასადებად. კლონირებისადმი ინტერესის ერთ-ერთი ძირითადი მიზეზია გენეტიკური უპირატესობა. ხელოვნური განაყოფიერების და ემბრიონის ტრანსპლანტაციის

ტექნოლოგიების განვითარების მიუხედავად, ცხოველების გენეტიკური გაუმჯობესების პროცესი ძალზე ნელია. კლონირების გამოყენებით სუპერცხოველების ყოველი უჯრედიდან თეორიულად შესაძლებელია ახალი, იგივე გენეტიკური ნაკრების მქონე ცხოველის მიღება. თუ ეს უჯრედები შეგროვდება, ჩამოყალიბდება და გაიზრდება ემბრიონების სახით ლაბორატორიულ პირობებში, და შემდგომ მოხდება მათი ტრანსპლანტაცია სუროგატ დედებში, გენეტიკური გაუმჯობესება გაცილებით სწრაფად მოხდება. როგორც წინა თავებში აღინიშნა, დნმ-ს გადატანა ცხოველურ უჯრედებში საკმაოდ რთული და დროისმომცვე-ლი პროცესია. თუ ამას დაემატება გენეტიკურად მოდიფიცირებული ცხოველის კლონირება, მაშინ გენეტიკური გაუმჯობესების პროცესი კიდევ უფრო ეფექტიანი გახდება. სელექციური შეჯვარების ერთ-ერთი ნაკლი ისაა, რომ სასურველი ნიშნის პარალელურად, შესაძლებელია არასასურველი ნიშნების დამემკვიდრებაც. გენების ფრთხილი შერჩევით შესაძლებელია ამ პრობლემის გადაჭრა. თეორიულად, გენური ინჟინერიით შესაძლებელია ე.წ. "სუპერ კლონის" მიღება, რომელიც იდეალური აგრარული ცხოველია. ეს ცხოველი შემდგომ შეიძლება გამრავლდეს მრავალრიცხოვანი კლონების მიღების გზით.

ბევრი მეცნიერი მიიჩნევს, რომ კლონირება შეიძლება იყოს ცხოველების გადაშენების შეჩერების გზაც. მსოფლიოში ასეულობით ცხოველი დგას გადაშენების საფრთხის წინაშე. მიუხედავად გარემოს კონსერვაციის ინტენსიური მცდელობებისა, ცხოველთა მთელი რიგი სახეობები განაგრძობენ გაქრობას. თუკი ცხოველების რეპროდუქცია შესაძლებელი გახდება დარჩენილი მცირერიცხოვანი ინდივიდების ქსოვილებიდან, მაშინ გაქრობის საფრთხის წინაშე მყოფი მრავალი სახეობა შენარჩუნდება. ფაქტიურად, კონსერვირებული დნმ-ს კლონირების გზით, მეცნიერები ოცნებობენ დიდი ხნის წინ გადაშენებული სახეობების აღდგენაზეც. მაგალითად, არქტიკულ რეგიონებში პეიოდულად პოულობენ ათასწლეულების წინ გადაშენებული მამონტების და მასტოდონების გაყინულ ნარჩენებს. პრობლემაა ინტაქტური დნმ-ს მოძიება ამ ცხოველთა ნაშთებიდან, ასეთ შემთხვევაში თეორიულად შესაძლებელი იქნებოდა ამ ცხოველების ემბრიონის კლონირება და სპილოების გამოყენება სუროგატ დედებად. ამ მიმართულებით უკვე მიღწეულია გარკვეული წარმატებებიც. მაგალითად, აზიური ხარი, რომელიც ინდოეთისა და ბირმის ბინადარია, გადაშენების საფრთხის წინაშე დგას მონადირეთა აქტივობისა და დესტრუქციული ჰაბიტატის გამო. მკვდარი ხარის კანის უჯრედებიდან განხორციელდა დნმ-ს იმპლანტაცია ძროხის კვერცხუჯრედში, რომელსაც მოცილებული ჰქონდა ბირთვი და მიღებული ემბრიონი განვითარდა ძროხის რეპროდუქციულ ორგანოებში. სულ 42 ემბრიონი გადაინერგა 32 ძროხაში, თუმცა, შედეგად მხოლოდ ერთი, რეალურად კლონირებული ხარი, სახელად Noah, გადარჩა, რომელიც დაბადებიდან ორი თვის თავზე

დაიღუპა. მიუხედავად ლეტალური დასასრულისა, ამ ექსპერიმენტმა ცხადყო, რომ კლონირების პროცესი რეალურად განხორციელებადია.

კლონირებული ცხოველების წარმოება ასევე დიდი ინტერესის საგანია სამეცნიერო მიზნებისთვისაც. ამ ტიპის ცხოველებში გენეტიკური განსხვავებები ექსპერიმენტულ ცხოველთა ჯგუფებს შორის გამორიცხულია და მათზე ჩატარებული ექსპერიმენტების შედეგები უფრო სარწმუნოა.

ცხოველთა კლონირების პროცესი

მრავალი წლის მანძილზე მეცნიერებისთვის ცნობილია, რომ ცხოველის სხეულში ყველა უჯრედი შეიცავს მთლიანი ცხოველის გენეტიკურ კოდს. ეს კოდი იქმნება მაშინ, როდესაც კოდის ერთი ნახევარი გადაეცემა დედის, მეორე კი – მამის მხრიდან განაყოფიერების პროცესში სპერმატოზოიდის და კვერცხუჯრედის შერწყმის შედეგად. როდესაც კვერცხუჯრედი, ანუ ოოციტი, განაყოფიერდება, ის გარდაიქმნება ზიგოტად, რომელსაც აქვს სრული ინტაქტური გენეტიკური კოდი. ზიგოტა იწყებს დაყოფას იდენტურ უჯრედებად და უჯრედების დაყოფის პროცესი გრძელდება 10-12 დღე, რის შედეგადაც ჩამოყალიბდება სფეროსებური უჯრედების გროვა, რომელსაც მორულა ეწოდება. ამ სტადიაზე უჯრედები იწყებენ ცვლილებებს და ვითარდებიან სხვადასხვა ტიპის უჯრედებად. ეს უჯრედები შემდგომ იყოფა და ჩამოყალიბდება ძვლებად, კუნთებად, კანის უჯრედებად და ა.შ. უჯრედები, რომლიდანაც იწყება დიფერენცირება, ცნობილია ღეროვანი უჯრედების სახელწოდებით. როდესაც უჯრედები იწყებენ დიფერენცირებას, სხვა ქსოვილების განვითარების განმსაზღვრელი გენეტიკური კოდი იკეტება და ძვლოვანი უჯრედები წარმოქმნიან მხოლოდ ძვლებს (და სხვას არაფერს), კუნთოვანი უჯრედები წარმოქმნიან კუნთებს და ა. შ. თუმცა, ამის მიუხედავად, თითოეულ უჯრედში მთლიანი გენეტიკური პროგრამაა წარმოდგენილი. მრავალი წლის მანძილზე მეცნიერებს მიაჩნდათ, რომ უჯრედების დიფერენცირების დასრულების შემდგომ პროცესის შებრუნება ანუ არადიფერენცირებული უჯრედების წარმოქმნა შეუძლებელია. ამ შეხედულების საფუძველზე, პირველი კლონები შეიქმნა მსგავსად ჩვეულებრივი ტყუპებისა, რომლის დროსაც ზიგოტა ბუნებრივად იყოფოდა. დიდი ხნის განმავლობაში მეცნიერები ფიქრობდნენ, რომ ეს იყო კლონების შექმნის ერთადერთი საშუალება, ვინაიდან დიფერენციაციის პროცესის შებრუნება შეუძლებელი იყო.

დიფერენცირებული უჯრედებიდან ცხოველური კლონების მიღება პირველად შესაძლებელი გახდა 1962 წელს, როდესაც ჯონ გარდონმა ოქსფორდის უნივერსიტეტში შეიმუშავა ბირთვის გადატანის ანუ ბირთვული ტრანსფერის ტექნოლოგია. ბირთვული ტრანსფერი

ამჟამად კლონირების მეთოდია, მაგრამ მას გააჩნია გაცილებით ფართო პოტენცია ტრანსგენური ცხოველების განვითარების თვალსაზრისით. ბირთვული ტრანსფერის პროცესის პირველი ეტაპი მოიცავს კლონირებადი ცხოველის სომატური უჯრედიდან ბირთვის გამოყოფას. შემდეგი ეტაპი მოიცავს ნორმალური კვერცხუჯრედიდან ბირთვის მოცილებას და მის ჩანაცვლებას სომატური უჯრედიდან გამოყოფილი ბირთვით. ოოციტის პროვოცირება ხდება ელექტრული იმპულსით, რათა გამოიწვიონ უჯრედის დაყოფა და განვითარება. ამის შემდგომ ოოციტს ჩაუნერგავენ სუროგატ (შემცვლელ) დედას, სადაც მიმდინაროებს ნაყოფის საბოლოო ჩამოყალიბება. გარდონმა ამოიღო დნმ ზრდასრული აფრიკული ბაყაყის (Xenopus laevis) ნაწლავიდან და ეს გენეტიკური მასალა გამოიყენა ბაყაყის კლონის შესაქმნელად. მან მოაცილა ბაყაყის კვერცხუჯრედს ბირთვი და, შესაბამისად, "გაანთავისუფლა" დნმ–სგან. სხვა ბაყაყისგან აიღო ნაწლავის უჯრედები, მოაცილა ბირთვები და მოათავსა უბირთვო კვერცხუჯრედში. ბირთვული ტრანსფერის ამ პროცესში გარდონმა შექმნა მრავალი უჯრედი, რომელსაც გააჩნდა ახალი ბირთვი. მიუხედავად იმისა, რომ უჯრედების უმეტესობა დაიღუპა, ზოგიერთმა ტრანსფორმირებულმა უჯრედმა, განაყოფიერებული კვერცხუჯრედის მსგავსად, დაიწყო დაყოფა. უჯრედების დაყოფის შედეგდ გარკვეულ დროში განვითარდა მორულა. ამ სტრუქტურიდან უჯრედებმა განიცადეს დიფერენცირება და ჩამოყალიბდნენ თავკომბალებად. ამ ექსპერიმენტით პირველად მოხდა იმის დემონსტრირება, რომ უჯრედების დიფერენციაცია შექცევადია, თუმცა პროცესს თან ახლდა მრავალი პრობლემა. მიუხედავად იმისა, რომ თავკომბალები ნორმალურად გამოიყურებოდნენ, ისინი ვერასოდეს ვითარდებოდნენ ზრდასრულ ბაყაყებად. გარდონის ექსპერიმენტი არაერთმა მეცნიერმა გაიმეორა, თუმცა თავკომბალების ბაყაყებად განვითარების მცდელობა უშედეგოდ მთავრდებოდა. 80-იანი წლებისათვის მეცნიერებმა წარმატებით მიიღეს ცხვრის, რქოსანი პირუტყვის და კურდღლის კლონები, თუმცა აღნიშნული კლონები მიღებული იქნა ემბრიონის დაყოფის და არა ბირთვული ტრანსფერის ტექნოლოგიის გამოყენებით.

ბირთვული ტრანსფერის მსგავსი ტექნოლოგიით 1990-იან წლებში, შოტლანდიაში, როსლინის ინსტიტუტში შეიქმნა ცნობილი ცხვრის კლონი სახელწოდებით Dolly. მაკე ცხვრის სწრაფად დამყოფი სარძევე ჯირკვლებიდან მოახდინეს უჯრედების გამოყოფა და ლაბორატორიაში კულტივირება. უჯრედების ზრდა შეაჩერეს საკვების ხელონური დეფიციტის შექმნის გზით. ამავდროულად, დედალი ცხვრების ოოციტს მოაცილეს ბირთვი და სარძევე ჯირკვლიდან აღებული დნმ ელექტრული ძაბვის მეშვეობით შეიყვანეს ბირთვგამოცლილი ოოციტის ციტოპლაზმაში. ამის შემდგომ, მოხდა ემბრიონის დაყოფის პროვოცირება და მისი გადანერგვა ცხვრის რეპროდუქციულ სისტემაში.

რა თქმა უნდა, კლონირების ეს პროცესი არ იყო ერთჯერადი მცდელობის შედეგი. მეცნიერების მიერ მიღებული და გადანერგილი 277 ახალი ემბრიონიდან, მხოლოდ 29 განვითარდა იმ დონემდე, რომ შესაძლებელი ყოფილიყო მისი გადანერგვა 13 სუროგატი დედის ორგანიზმში და აქედან მხოლოდ ერთი ზრდასრული, ჯანმრთელი კრავი განვითარდა.

გენეტიკურად მოდიფიცირებული კლონები

მოგვიანებით როსლინის ინსტიტუტში შექმნეს კიდევ ორი კლონირებული კრავი, რომლებიც, იმავდროულად, გენეტიკურად მოდიფიცირებული იყვნენ. ცხოველებში გადანერგილ იქნა ადამიანის გენი, რომელიც განსაზღვრავდა სისხლის შედედების ხელშემწყობი ცილის - ფაქტორი IX–ს გამომუშავებას. აღნიშნული ცილა ფარმაკოლოგიური თვალსაზრისით ღირებული პროდუქტია ჰემოფილიით დაავადებული პაციენტების მკურნალობისათვის. თუკი გენმოდიფიცირებული ცხოველების მასობრივი წარმოება შესაძლებელი გახდებოდა კლონირების გზით, მაშინ ამ ფარმაკოლოგიური პროდუქტის კომერციული ღირებულება მნიშვნელოვნად შემცირდებოდა.

გენეტიკურად მოფიცირებული ხბოს კლონი პირველად 1998 წელს შეიქმნა. მოგვიანებით იყო მცდელობა, რომ კლონირების გზით გაემრავლებინათ ხბო, რომლის რძე შეიცავდა ადამიანის შრატის ალბუმინს. ყოველწლიურად, 440 ტონა ადამიანის შრატის ალბუმინი მოიხმარება საავადმყოფოებში პაციენტების სამკურნალოდ. ამ პროცესის კომერციალიზაცია გააიოლებდა მკურნალობის პროცესებს. ამასთანავე, გენმოდიფიცირებული ცხოველების კლონირება გზას გაუხსნიდა ბევრი ფარმაკოლოგიური ღირებულების მქონე პროდუქტის წარმოებას ამ ტექნოლოგიით. მიუხედავად იმისა, რომ ცხოველთა კლონირების ტექნოლოგიები ჯერ კიდევ შორსაა სრულყოფისაგან, გენეტიკოსებს მიაჩნიათ, რომ კლონირების პროცესის ტექნიკური მხარის სრულყოფა შესაძლებელია იმ დონემდე, რომ უახლოეს მომავალში სასოფლო-სამეურნეო დანიშნულების ცხოველებზე მანიპულირება ჩვეულებრივი მოვლენა გახდება. სოციალური ასპექტები კვლავაც რჩება კლონირების თანმდევ პრობლემად. უდავოა, რომ საზოგადოების აზრი კლონირებაზე არაერთგვაროვანია და ის მუდმივი განხილვის საგანია.

მცენარეთა კლონირების უპირატესობები

მცენარეთა კლონირება ბიოტექნოლოგიის ერთ-ერთი ძველი, ტრადიციული მაგალითია. ასეული წლების მანძილზე ადამიანები ახორ-ციელებდნენ მცენარეთა კლონირებას იმ თვალსაზრისით, რომ მცენარეებს ამრავლებდნენ საკვების წარმოების და დეკორატიული მიზნებით. ფაქტობრივად, უამრავი მცენარე მრავლდება კლონირების გზით იმ პროცესის მეშვეობით, რომელსაც ეწოდება არასქესობრივი

რეპროდუქცია ანუ ვეგეტატიური გამრავლება. მაგალითად, მარწყვი და სხვა მრავალი ბალახოვანი მცენარე მრავლდება პწკალების მეშვეობით, რომლებიც გამოიზრდება მშობელი მცენარიდან და ივითარებს ფესვებს ნიადაგში. ახალწარმოქმნილი მცენარე მშობელი მცენარის იდენტურია. არასქესობრივი რეპროდუქციის ბუნებრივ პროცესებზე დაკვირვებამ წარმოშვა აზრი იმის შესახებ, რომ შესაძლებელი იყო ამ პროცესის სრულყოფა და მცენარეების კომერციული წარმოება აგრარული და სხვა მოხმარებისათვის.

მცენარეთა კლონირება საკმაოდ გავრცელებული პროცესია, რომელსაც მრავალი უპირატესობა აქვს. ვინაიდან კლონირებული მცენარე გენეტიკურად მშობელი მცენარის იდენტურია, ნიშანთვისებ-რივი უპირატესობის მქონე მცენარის წარმოება შესაძლებელი ხდება მისი ხარისხობრივი მახასიათებლების დაკარგვის გარეშე. მაგალითად, თუ ვაშლის ახალი ჯიში ხასიათდება კარგი გემური თვისებებით და მაღალმოსავლიანობით, იმავე გემოსა და და პროდუქტიულობის მიღება ძნელია მისი თესლით გამრავლების შემთხვევაში. ამის მიზეზი ისაა, რომ გენების ნახევარი, როგორც წესი, მოდის სხვა მცენარიდან და ორივე მშობლის გენების კომბინაციამ შეიძლება შთამომავლობაში არ გამოავლინოს სასურველი ნიშნები. თუმცა, თუკი განხორციელდება ვაშლის გამრავლება კლონირების ანუ ვეგეტატიური გზით, მას ექნება იგივე გენეტიკური ნაკრები, რაც მშობელ მცენარეს და, შესაბამისად, იქნება იმავე გემოსა და პროდუქტიულობის ნიშნების მატარებელი.

მცენარეების მოშენება ვეგეტატიური გამრავლებით გაცილებით ეფექტიანია სქესობრივი რეპროდუქციის გზით გამრავლებასთან შედარებით. თესლის წარმოქმნისათვის მცენარემ უნდა განვლოს ყვავილობის, დამტვერვის, თესლის მომწიფების და აღმოცენების სრული ციკლი. უმეტეს შემთხვევებში, ციკლი მოიცავს მთლიან წელიწადს. თუ ახალი მცენარე იზრდება მშობელი მცენარის ნაწილიდან, მაშინ ამ ციკლის სრულად გავლა საჭირო აღარ არის. ეს კი იმას ნიშნავს, რომ მაღალი ხარისხის მქონე მცენარეების მიღება შეიძლება გაცილებით მოკლე დროში.

უახლეს ტექნოლოგიური მიღწევეა აგრარულ სფეროში უთესლო მცენარეების წარმოებაა. ბუნებრივად მცენარის ნაყოფი შეიცავს თესლს, რომელიც წარმოქმნის ახალი მცენარის შემდგომ თაობას. თუმცა, მომხმარებელი ხშირად უპირატესობას ანიჭებს უთესლო ნაყოფებს, მაგალითად ყურძენს წიბწების გარეშე ან უთესლო საზამთროს. შერჩევითი გამრავლების გამოყენებით სელექციონერებმა შეიმუშავეს უთესლო ყურძნის ჯიშების მიღების მეთოდები. უთესლო წარმოების აშკარა პრო-ბლემაა ახალი თაობის მიღება მშობელი მცენარეებიდან, რომელთაც არ აქვთ თესლი. ვეგეტატიური გზით კლონირების შედეგად შესაძლებელი გახდა ახალი ჯიშის ვაზის წარმოება, რომელიც ივითარებდა უთესლო ყურძენს.

ზოგიერთი მცენარეული სახეობა, უმეტესად ნაყოფმსხმოიარე ხეები, მოკლებულია უნიფიკაციას და ძლიერ ვარიირებს ხარისხობრივი თვალსაზრისით. კლონირების გზით შესაძლებელია ამ პრობლემის მოგვარება და უნიფიცირებული მცენარეების მიღება. დიდი ძალისხმევა დასჭირდა ხეების კლონირებას ხე-ტყის წარმოების მიზნით. მაღალი, სწორი ხეები კლონირებული იქნა ისეთი შთამომავლობის მიღების მიზნით, რომლიდანაც მაღალი ხარისხის მორების დამზადება იქნებოდა შესაძლებელი. ამ შემთხვევაში, ხეების კლონირებით გამრავლება გამორიცხავს თესლიდან მოშენებული ნარგავების თანმხლებ ხარისხობრივ წუნს.

მრავალი მცენარის სახეობას აქვს ორივე, მდედრობითი და მამრობითი სქესის ინდივიდები, რომელიც ერთმანეთისაგან საგრძნობლად განსხვავებულია. ჩვეულებრივ, მდედრობითი მცენარეები წარმოქმნიან ყვავილებს და ნაყოფს, რომლებსაც აქვთ კომერციული ღირებულება. თუმცა, ზოგიერთი მცენარეს, მაგალითად, სატაცურს აშენებენ მამრობითი მცენარეების მიღების მიზნით. ამ თვალსაზრისით, კლონირება ზრდის გამრავლების ეფექტიანობას, ვინაიდან იგი იძლევა მხოლოდ მდედრობითი ან მამრობითი მცენარეების კლონირების საშუალებას.

მცენარეთა კლონირების მეთოდები

მცენარის ქსოვილის კულტივირების მეთოდების სრულყოფამ შესაძლებელი გახადა მცენარეთა სახეობების ფართომასშტაბიანი კლონირება. შედარებით მცირე ინვესტიციით, ტექნიკური მხარდაჭერითა და მასალით შესაძლებელია მილიონობით მაღალხარისხოვანი, გენეტიკურად ერთგვაროვანი მცენარეების წარმოება. პროცესი ცნობილია მიკროგამრავლების (მიკროპროპაგაციის) სახელით. ყველაზე გავრცელებული მეთოდია „აღგზნებული“ მერისტემული ქსოვილის მოთავსება გარემოში, რომელიც ამცირებს აპიკალურ დომინირებას და ხელს უწყობს კვირტების განვითარებას. ახალი ყლორტები შეიძლება განცალკევდეს და ხელახლა იქნეს სუბკულტივირებული ყლორტების წარმოსაქმნელად ან მოთავსდეს გარემოში, რომელიც ხელს შეუწყობს ფესვების განვითარებას. ამის საპირისპიროდ, ქსოვილები შეიძლება გამოყენებული იქნეს კალუსური კულტურების ჩამოსაყალიბებლად, რომლებიც შემდგომში შეიძლება სტიმულირდეს ფესვებისა და ყლორტების წარმოსაქმნელად.

მიკროგამრავლება ასევე ეფექტური გზაა ვირუსებისა და სხვა პათოგენების ეფექტის შესამცირებლად და აპათოგენური ამონაყარების კომერციული რაოდენობის საწარმოებლად. პირველი მცენარეები, რომლებიც მასობრივად მიიღეს ქსოვილის კულტივირების გზით, იყო ვირუსისაგან თავისუფალი ორქიდეები (Cymbidiums). თუმცა, ამ მეთოდის აუცილებლობა გამოვლინდა ასევე კარტოფილში, შროშანებში,

ტიტებსა და სხვა სახეობებში, რომლებიც, ჩვეულებრივ, ვეგეტატიურად მრავლდებიან. მაგალითად, კარტოფილი ვეგეტატიურად მრავლდება ტუბერის კვირტებით ანუ სისტემით, რომლის მეშვეობითაც ვირუსები ადვილად გადაეცემა მომდევნო თაობებს. კარტოფილის მიკრო-გამრავლებამ მერისტემის კულტურებიდან დაამტკიცა, რომ ეს მეთოდი ვირუსისგან თავისუფალი მცენარეების მიღების ეფექტური გზაა.

მიკროგამრავლება ასევე ფართოდ გამოიყენება ტყის ხეების წარმოებაში. ამ შემთხვევაში ამონაყრები წარმოიქმნება პირდაპირ უბის და დანამატი კვირტების კულტურებიდან; იგივე მიდგომა წარმატებით გამოყენეს ვაშლის, ატმისა და მსხლის კულტივირების მიმართ. იმის გამო, რომ ზომიერი კლიმატის ხილის მცენარეების უმრავლესობა ძლიერ ჰეტეროზიგოტულია, ისინი მრავლდებიან არა თესლიდან, არამედ ვეგეტატიური კალმების (აჭრის) გზით. 1983 წლისთვის ნიდერლანდებში მებაღეები მიკროგამრავლების მეთოდის გამოყენებით 21 მილიონზე მეტ მცენარეს აწარმოებდნენ.

იმ ფაქტის მიუხედავად, რომ ქსოვილური კულტურიდან აღებული აღმონაცენების კლონირება სავარაუდოდ ხდება იდენტური სომატური (უსქესო) უჯრედებიდან, რეგენირებულ მცენარეებს,მორფოლოგიური და ფიზიოლოგიური თვალსაზრისით, შეუძლიათ გამოამჟღავნონ საგრძნობი მრავალფეროვნება. ეს მოვლენა ცნობილია სომაკლონური მრავალფეროვნების სახელით. სომაკლონური მრავალფეროვნების მიზეზი ნათელი არ არის, მაგრამ ის გულისხმობს თვითნებურ გენეტიკურ მრავალფეროვნებას კულტურის პირობების შესაბამისად. სომაკლონური მრავალფეროვნების ფასეულობა ისაა, რომ დროდადრო ვარიანტები ამჟღავნებენ დაავადებისადმი რეზისტენტულობას ან სხვა, აგრონომიული თვალსაზრისით, საჭირო ნიშან-თვისებებს.

მცენარეულ და ცხოველურ უჯრედებს შორის რამდენიმე მნიშვნელოვანი განსხვავებაა. მცენარეული უჯრედი შეიცავს დიდ ცენტრალურ ვაკუოლს, უჯრედის კედელსა და ორგანელებს, რომელთაც პლასტიდები ეწოდება. მცენარეულ უჯრედში არის პლასტიდების სამი ტიპი, ქლოროპლასტები, რომლებიც იყენებენ მზის ენერგიას ნახშირწყლების შესაქმნელად, ლეიკოპლასტები, რომლებიც სამარაგო ფუნქციისაა და ქრომოპლასტები, რომლებიც ანიჭებენ მცენარეს ფერს. მცენარეული და ცხოველური უჯრედების ეს განსხვავებები განაპირობებს მცენარეების იოლად კლონირების შესაძლებლობას ცხოველებთან შედარებით.

ცხოველთა კლონირების შესახებ თავში აღინიშნა, რომ იდენტური ტყუპები ბუნებრივი კლონებია. ბუნებრივი გზით კლონირება მცენარეებშიც ხდება, მაგრამ უფრო მაღალი სიხშირით. არსებობს მრავალი მცენარე, რომელიც ბუნებრივად მრავლდება არასქესობრივი გზით და არის ბუნებრივი კლონი. მეწარმეები მარტივად იყენებენ მცენარეთა ამ უპირატესობას და ხელოვნურად ზრდიან ამ პროცესების ეფექტიანობას.

სეპარაციის და გაყოფის გზით კლონირება

ორი მეთოდი, რომელიც გამოიყენება სპეციალიზებული მცენარეთა ნაწილებისგან ახალი მცენარეების მისაღებად არის დაყოფა და სეპარაცია. სეპარაციის დროს, მცენარეთა ნაწილები უბრალოდ დაცალკევდება – მცენარე ბუნებრივად ახდენს თავისი ნაწილების დაცალკევებას ახალი მცენარეების წარმოქმნის მიზნით. დაყოფის დროს მცენარის ნაწილები იჭრება მცირე სეგმენტებად და თითოეული განაყოფიდან ახალი მცენარე ვითარდება.

სეპარაცია და გაყოფა მოიცავს მცენარის სპეციალიზებულ ნაწილებს, როგორიცაა ბოლქვი, ტუბერი, რიზომები და პწკალი. პწკალი არის სპეციალური ღერო, რომელიც იზრდება ნიადაგის ზედაპირზე და გადაიჭიმება ჰორიზონტალურად. რიზომები სპეციალიზებული მიწისქვეშა ღეროებია, რომლებიც გაყოფით გამრავლებაში გამოიყენება. ისინი პწკალზე უფრო დიდი ზომისაა და შესაძლებელია მათი დაჭრა ან დანაწევრება ახალი მცენარის მისაღებად. მაგალითად, ზამბახი ადვილად მრავლდება რიზომებით. თესლიდან მიღებული ახალი მცენარეები სქესობრივი რეპროდუქციის შედეგია და შეიცავს ორი განსხვავებული მცენარის გენების კომბინაციას მაშინ, როცა რიზომებიდან მიღებული მცენარე გენეტიკურად მშობლის იდენტურია.

ხანდახან რიზომებმა ან ბწკალმა შეიძლება განივითაროს გამსხვილება, რომელსაც ტუბერი ეწოდება. ტუბერის ზედაპირზე რამდენიმე კვირტია, რომელსაც აქვს ახალი მცენარის ამოკალმვის უნარი. მიღებული მცენარე მშობელი მცენარის ზუსტი გენეტიკური ასლია.

მრავალი მცენარე მრავლდება ბოლქვებით. არსებობს ბოლქვების ორი სახე, გარსიანი და უგარსო ბოლქვები. გარსიან ბოლქვს აქვს მშრალი გარეთა შრე, რომელიც წინა წლის ზრდის შედეგია. ხახვი გარსიანი ბოლქვის საუკეთესო მაგალითია. გარსიანი ბოლქვები ბუნებრივად მრავლდებიან მცირე ბოლქვების წარმოქმნით ძირითადი ბოლქვის გარშემო. ვინაიდან თითოეული ამ ბოლქვთაგანი შესაძლებელია გაიზარდოს დამოუკიდებელ მცენარედ, მწარმოებლები პერიოდულად თხრიან მათ და ახლადწარმოქმნილ ბოლქვებს აცალკევებენ ახალი მცენარეების წარმოქმნის მიზნით. ბოლქვები ასევე შესაძლებელია დაიჭრას სეგმენტებად. თითოეული გადანაჭერი ინახება ერთი ან ორი კვირის განმავლობაში. ამის შემდგომ, ისინი დაირგვება და მათგან ახალი ბოლქვები მიიღება. უგარსო ბოლქვები ცნობილია ქერცლოვანი ტიპის ბოლქვების სახელწოდებით, ვინაიდან მათზე განლაგებულია ქერცლოვანი შრეები. გამრავლების მიზნით, ხდება ყოველი გარეთა ქერცლის სეპარაცია და დარგვა, საიდანაც განვითარდება ახალი მცენარე. უგარსო, ქერცლოვანი ტიპის ბოლქვების მაგალითი შროშანია.

კალმებით (აჭრით) კლონირება

მცენარეების გამრავლება შესაძლებელია სხვადასხვაგვარი ანაჭრების ანუ კალმების მეშვეობით. ეს მეთოდი საკმაოდ დიდი ხანია გამოიყენება მცენარეთა გამრავლებაში. მცენარის ტიპზე დამოკიდებულებით სხვადასხვა ნაწილიდან აღებული კალმები, როგორიცაა ფოთლები, ღეროები, ფესვები ან კვირტები, შესაძლებელია გამოყენებული იქნეს ახალი მცენარეების წარმოქმნაში. ამ თვალსაზრისით, ცალკეული ნაწილებიდან მთლიანი მცენარის რეგენერაციის უნარით მცენარეები სრულად განსხვავდებიან ცხოველებისაგან.

კალმების გამოყენებას აქვს რიგი უპირატესობები გამრავლების სხვა მეთოდებთან შედარებით. დიდი ზომის მცენარეების შემთხვევაში ახალი მცენარის მისაღებად გამოსაყენებელი მასალა საკმარისად დიდია. თუმცა, ზოგიერთ მცენარეში უმჯობესია კალმების აღება წელიწადის გარკვეულ დროს. მაგალითად, მცენარის მერქნიანი ნაწილები უმჯობესია ავიღოთ მოსვენების პერიოდში (იხ. გვ. 154 სურ 5-1). იმისათვის, რომ მცენარემ წარმატებით განიცადოს რეგენერაცია, მას უნდა შეექმნას შესაბამისი პირობები ფესვებისა და ღეროს განვითარებისათვის. იმასთან დაკავშირებით, რომ კალმებს ფესვები არ გააჩნია, ფესვის ჩამოყალიბებამდე საჭიროა ფოთლებისა და ღეროს განვითარებისათვის აუცილებელი პირობების უზრუნველყოფა. ეს პირობები ითვალისწინებს შესაბამის ტემპერატურას, ტენს, აერაციასა და განათებას.

ტემპერატურის შერჩევა მნიშვნელოვანია იმის გამო, რომ იგი ერთ-ერთი ფაქტორია, რომლითაც ხორციელდება ფოტოსინთეზის კონტროლი. ზოგადად, რაც უფრო მაღალია ტემპერატურა, მით მაღალია ფოტოსინთეზის ინტენსივობა. თუმცა კალმის დაფესვიანებისათვის მაღალი ინტენსივობის ფოტოსინთეზი შეიძლება არც იყოს საჭირო. პროცესი მცენარეში დაგროვილ ენერგიას ფოთლების და კვირტების წარმოქმნაში ეხმარება. ფოტოსინთეზის დაბალი ინტენსივობის დროს ენერგია შესაძლებელია გამოყენებული იქნეს ფესვების ზრდისათვის. ოპტიმალური ტემპერატურის მაჩვენებელი შესაძლებელია განსხვავებული იყოს სხვადასხვა სახის მცენარეთა გამრავლებისათვის, თუმცა ჩვეულებრივ, 21-26.5°C საუკეთესოა დღის განმავლობაში და 15.5-21°C – ღამით. ნიადაგის ტემპერატურა ოდნავ მაღალი უნდა იყოს. მაღალი ტემპერატურა ფესვებში იწვევს ცხიმოვანი მჟავების დაჟანგვას, რაც იწვევს სუბერინის სინთეზს, რომელიც ფარავს გადანაჭრებიდან მიღებული ჭრილობების ზედაპირს.

ტენის უზრუნველყოფა მნიშვნელოვანია ორივე, არისა და ჰაერის ტენიანობის თვალსაზრისით; არე მასალაა, რომელშიც თავსდება კალმები დაფესვიანების მიზნით. არე უნდა იყოს ტენიანი, მაგრამ არა სველი იმიტომ, რომ ზედმეტი ტენი ხელს შეუშლის ახლადწარმოქმნილ ფესვებს ჰაერის მიღებაში და გამოიწვევს კალმების ლპობას.

შედარებითი ტენიანობა გულისხმობს ტენის შემცველობას მცენარის გარემომცველ ჰაერში. ის იზომება ტენის პროცენტული შემცველობით ჰაერში კონდენსაციის დაწყებამდე. ფოთლები აუცილებლად უნდა ვითარდებოდეს ტენის პირობებში ნახშირწყლებისა და ჰორმონების (აუქსინის) წარმოქმნისათვის, რაც, თავის მხრივ, აუცილებელია ფესვებისა და მცენარის სხვა ნაწილების განვითარებისათვის. მიღებულია, რომ 60-80% ჰაერის ტენიანობა იდეალურია უმეტესობა მცენარეების კალმებით დაფესვიანებისათვის.

ფესვების ზრდისათვის ასევე აუცილებელი პირობაა ჟანგბადის არსებობა. ამიტომ, ნიადაგურ არეში აუცილებელია ჰაერის სათანადო ცირკულაციის უზრუნველყოფა, რათა ჟანგბადი საკმარისი რაოდენობით მიეწოდოს დასაფესვიანებელ კალმებს. ეს გულისხმობს, რომ ნიადაგური არე შესაბამისი კონსისტენციის უნდა იყოს და არა წყლით გაჯერებული.

ასევე მნიშვნელოვანია სინათლის ფაქტორი კალმის გადაჭრებიდან ახალი მცენარეების წარმოქმნისათვის, ვინაიდან სინათლეზეა დამოკიდებულია ფოტოსინთეზის პროცესების მიმდინარეობა. ტემპერატურული რეჟიმის მსგავსად, აქაც ჭარბი სინათლე მიმართულია ფოთლების განვითარებისაკენ და თრგუნავს ფესვების წარმოქმნას. ფესვების სწორი განვითარებისათვის მცენარე ზომიერად უნდა იყოს დაჩრდილული.

მცენარეთა რეპროდუქცია დიდად არის დამოკიდებული მცენარეული ზრდის რეგულატორებზე, ანუ ჰორმონებზე, რომელთაც აუქსინები ეწოდება. მცენარის გადანაჭერზე ფესვის განვითარების პროცესს ასტიმულირებენ ზრდის ჰორმონები. ზოგ მცენარეში ეს ჰორმონები ბუნებრივად გამომუშავდება და კალმებით გამრავლება ადვილად მიმდინარეობს. ზოგიერთი მცენარე საჭიროებს დამატებით ჰორმონებს, რომელიც მათ ხელოვნურად მიეწოდება პროპაგაციის პროცესში. ამისათვის კალმის გადანაჭერი ჩაიძირება ფესვის ზრდის მასტიმულირებელი ჰორმონების შემცველ ფხვნილში ან მოხდება მისი ჩალბობა ჰორმონის შემცველ ხსნარში.

დაფენვა (layering)

ზოგი მცენარე ძალიან ძნელად ფესვიანდება გადანაჭრებიდან. ეს მცენარეები ხშირად მრავლდებიან პროცესით, რომელსაც დაფენვა ეწოდება. დაფენვის არსი ისაა, რომ მცენარის ნაწილი იფარება ნიადაგით ან სხვა მასალით, რომელიც გამოიყენება მცენარის დაფესვიანებისათვის. ფესვების სტიმულირება ხდება იმ სტადიაში, სანამ იგი ჯერ კიდევ დედისეულ სხეულთაა დაკავშირებული. ეს მეთოდი გამოიყენება მაშინ, როდესაც სხვა მეთოდები მცენარის გასამრავლებლად გამოუსადეგარია. დაშრევების მეთოდს აქვს გარკვეული ნაკლი, რაც გამოიხატება მის მაღალ ღირებულებაში და პროცესის შრომატევადობაში. გარდა ამისა,

ამ მეთოდით გამრავლებული მცენარეების რაოდენობა საგრძნობლად მცირეა, კალმების მეთოდთან შედარებით.

მარტივი გადაფენვის (გადაწვენის) პროცესი გულისხმობს მცენარის ღეროზე ან ტოტზე ნაჭდევის გაკეთებას. ნაჭრილობევი ადგილი იფარება ნიადაგით ისე, რომ წვერის ნაწილი დარჩეს მიწის გარეთ, ჰაერში. ჭრილობა ასტიმულირებს მცენარეში არადიფერენცირებული უჯრედების ანუ კალუსის წარმოქმნას. ეს ნიშნავს, რომ უჯრედები არ არიან დაპროგრამებულნი რომელიმე კონკრეტულ ქსოვილად, მაგალითად, ღეროდ, ფესვად ან ფოთლად განვითარებისთვის. ნიადაგში ეს უჯრედები პროგრამდებიან ფესვის უჯრედებად გარდასაქმნელად. შესაბამისად, ვითარდება ახალი ფესვები და შემდგომ, ახალი მცენარე (იხ. გვ. 155 სურ 5-2). ახლად დაფესვიანებული ნაწილი გადაიჭრება და დაირგვება განცალკევებულად. ამ მეთოდით ამრავლებენ ფართოფოთლოვან მარადმწვანე ხე-მცენარეებს და ბუჩქებს როგორიცაა, როდოდენდრონი, დეკა და მაგნოლია.

მიწაყრილის ტიპის დაფენვის შემთხვევაში, მოსვენების პერიოდში მშობელი მცენარის უკანა ნაწილი გადაიჭრება მიწიდან დაახლოებით 2.5 სმ სიმაღლეზე. გვიან გაზაფხულზე, მოსვენებული კვირტები წარმოქმნიან ახალ ყლორტებს. ახლადაღმოცენებული ყლორტების გარშემო გაკეთდება მიწაყრილი ყლორტების ნაწილობრივი დაფარვით (იხ. გვ. 155 სურ 5-3). შემდეგი მოსვენების პერიოდის ბოლოს, მიწაყრილით დაფარული ყლორ-ტები განივითარებენ ახალ ფესვებს. ახლად დაფესვიანებულ აღმონაცენებს მოაცილებენ მშობელ მცენარეს და დამოუკიდებლად გადარგავენ. ამ გზით მრავლდება მოცხარი და ხურტკმელი.

კენწრული დაფენვა არის მეთოდი, რომლის დროსაც ახლადწარმოქმნილი (მიმდინარე სეზონის) ყლორტი თავსდება მიწაში 8-10 სმ სიღრმეზე. ახალი აღმონაცენი ზრდას განაგრძობს სიღმის მიმართულებით. ზრდასთან ერთად ფორმირდება ფესვები და ახალი ყლორტების ზრდა წარიმართება მიწიდან ზემოთ (იხ. გვ. 155 სურ 5-4). ახალ ყლორტებს მოაცილებენ დედა მცენარეს და ცალკე გადარგავენ. კენწრული დაფენვა გამოიყენება ისეთი მცენარეების გამრავლებაში, როგორიცაა, მაყვალი და ჟოლო.

თხრილისმიერი დაფენვა გამოიყენება მუსკატური ჯიშის ვაზის და ფილოდენდრონის გამრავლებისას. ეს მეთოდი მოიცავს მთლიანი ღეროს დაფარვას მიწით. მანამდე ღეროს კვანძებზე ხდება ნაჭდევების გაკეთება. ახალი ფესვების ფორმირება ხორციელდება ღეროს იმ ნაწილში, სადაც ნაჭდევები იქნა გაკეთებული (იხ. გვ. 156 სურ 5-5). ამ მეთოდის გამოყენებით ერთი რტოდან რამდენიმე ახალი მცენარის მიღება შეიძლება. მეთოდის ვარიაცია სერპანტინული დაფენვაა, რომლის დროსაც მხოლოდ კვანძების დაფანვა ხდება მიწით. ღეროს დანარჩენი ნაწილები კი ღიად რჩება.

დაფენვა ასევე შეიძლება განხორციელდეს მცენარეთა ნაწილების მიწით დაფანვის გარეშე. ამ მეთოდს ჰაეროვანი დაფენვა ეწოდება, ვინაიდან პროცესი მიწის მაგივრად, ჰაერში ხორციელდება. როდესაც ამ მეთოდით ახდენენ მერქნიანი მცენარეების გამრავლებას, არჩევენ ჯანმრთელ, სწრაფად მზარდ შტოებს, რომელსაც შემოაცლიან ქერქის ზოლს. ჭრილობას დაფანავენ სფაგნუმის ხავსით. ხავსი შეიფუთება პოლითილენის მასალით და ამ გზით დაცული იქნება ტენის დაკარგვისაგან (იხ. გვ. 156 სურ 5-6). რამდენიმე კვირის შემდეგ, ქერქის მოცილების ადგილას განვითარდება ფესვები. განტოტება მოსცილდება და ახალი მცენარე განცალკევებით გადაირგვება. ამ გზით მრავლდება ბალახოვანი მცენარეებიც. თუმცა, მერქნიანებისაგან განსხვა-ვებით, ქერქის მოცილების ნაცვლად შტოზე კეთდება ნაჭდევი და მასში თავსდება ჩხირი. ამის შემდგომ ხდება ჭრილობის დამუშავება ხემცენარეების მსგავსად. ჰაეროვანი დაფენვა გამოიყენება მრავალი ისეთი ოთახის მცენარის გასამრავლებლად, როგორიცაა ფიკუსი და ციტრუსის ზოგიერთი სახეობა.

კლონირება დამყნობით

კლონირების ერთ-ერთი მეთოდი, რომელიც მრავალი წლია გამოიყენება მცენარეების გამრავლებისათვის არის დამყნობა. ამ ტექნიკის არსი ისაა, რომ ხდება ორი სხვადასხვა მცენარის შეერთება ერთი მცენარის წარმოქმნის მიზნით. ეს მეთოდი გამოიყენება ისეთ მცენარეებისათვის, როგორიცაა ნუში და ვაშლი, რომელთა გამრავლება შეუძლებელია სხვა მეთოდების გამოყენებით (იხ. გვ.157 სურ 5-7).

მაგალითად, ჰიბრიდული ვაშლის ხის აღმოცენება თესლიდან ძნელია იმის გამო, რომ იგი განსხვავებული იქნება ორივე მშობლისაგან. თუ ახალგაზრდა ყლორტი სასურველი ხის ნაწილთან იქნება კომბინირებული, შედეგად განვითარდება ხე-მცენარე, რომელსაც ექნება სასურველი ხის მსგავსი ზრდა და მსხმოიარობა. აღნიშნული მეთოდი, ასევე გამოიყენება სპეციალური ხეების, მაგალითად, ჯუჯა ხეებისა და სპეციფიკური ხეხილის მოსაშენებლად, რომლებიც ისხამენ რამდენიმე სხვადასხვა სახის ნაყოფს. ჩვეულებრივ, ხემცენარეებს ამყნობენ საძირეზე, რომელიც უფრო ძლიერია ან მეტად შეეფერება არსებულ ნიადაგურ პირობებს.

დამყნობის პროცესი მოიცავს მცენარის (ჩვეულებრივ, ხემცენარის) ორ ნაწილად გაყოფას. ქვედა ნაწილს ეწოდება საძირე და ზედას სანამყენე. საძირე შეიძლება იყოს უფრო დიდი, ვიდრე სანამყენე, რაც იძლევა უფრო სწრაფი ზრდისა და ადრეული მომწიფების უპირატესობას.

მყნობის სწორი ტექნიკა გულისხმობს საძირისა და სანამყენის ისეთ განლაგებას, რომ მათი კამბიუმების შრეები ემთხვეოდეს ერთმანეთს (იხ. გვ. 158 სურ 5-8).

ჭრილობის შედეგად წარმოიქმნება კალუსის უჯრედები. საძირისა და სანამყენის კალუსის უჯრედები ერთმანეთს შეერევა და იწყებს ზრდას. შემდგომ, უჯრედები კომბინირდება და დიფერენცირდება ახალი კამბიუმის უჯრედების წარმოქმნით. ახალი კამბიუმის უჯრედები მოგვიანებით განვითარდება ქსილემად და ფლოემად, რომლის მეშვეობითაც ხდება წყლის და საკვები ნივთიერებების გადამოძრავება ფესვისა და მცენარის სხვა ნაწილებიდან.

სხვადასხვა მცენარის მოთხოვნილებებთან მისადაგების თვალსაზრისით, შემუშავდა დამყნობის სხვადასხვა სახე. დამყნობისათვის შეიძლება გამოვიყენოთ ღეროები, ფესვები ან კვირტები. თუმცა, ყველა ეს მეთოდი ეფუძნება ერთ საბაზისო ტექნიკას. საძირესა და სანამყენეს გადანაჭრები უნდა თანხვდებოდეს კამბიუმში. ისინი მჭიდროდ უნდა იქნეს ერთმანეთზე მიერთებული და დაფარული ცვილით ან სხვა მასალით, რომელიც ამ კონსტრუქციას დაიცავს გამოშრობისაგან.

კლონირება ქსოვილთა კულტურების გამოყენებით

ერთ-ერთი უახლესი ტექნოლოგია, რომელიც გამოიყენება მცენარეთა გამრავლებაში მცენარეულ ქსოვილთა კულტურებია. ქსოვილთა კულ-ტურა არის მცენარის ცალკეული ქსოვილის შენარჩუნების მეთოდი ხელოვნურ გარემოში. პროცესს საფუძველი ჩაეყარა ს აფრანგეთში 60-იანი წლების შუახანს, როდესაც ფრანგი მეცნიერი ჯორჯ მორელი შეეცადა დაუსნებოვნებელი ორქიდეების მიღებას. მან აღმოაჩინა, რომ შესაძლე-ბელი იყო მცენარის ძალიან მცირე ნაწილის გამოყენება ახალი მცენარის აღმოსაცენებლად (იხ. გვ.158 სურ 5-9). თუმცა მანამდე, 30-იან წლებში, ფილიპ უაითმა აჩვენა, რომ შესაძლებელი იყო მცენარის უჯრედების პატარა ჯგუფების გამოყოფა და მათი ცალ-ცალკე დიფერენცირებული კალუსის სახით შენარჩუნება ხელოვნურ კულტურაში. უჯრედების თითოეული საწყისი ჯგუფიდან აღებული კალუსი შეიძლება იქნეს სუბ-კულტივირებული და, უმეტეს შემთხვევაში, პროვოცირდეს ფესვებისა და ყლორტების ხელახალი დიფერენცირება. ამ პროცესის შედეგად სრულიად ჩამოყალიბებული მცენარეები ვითარდება. მოგვიანებით ქსოვილთა კულტურებით მცენარეთა გამრავლების პროცესი განვითარდა კომერციული მიმართულებით უვირუსო მცენარეების წარმოების მიზნით. ამ მეთოდს აქვს ორი დიდი უპირატესობა. პირველი, შესაძლებელია მცენარის ძალიან მცირე ნაწილის გამოყენება და გენეტიკურად იდენტური მცენარეების დიდი რაოდენობით წარმოება. მეორე, ახალი მცენარეები დაავადებისაგან სრულიად თავისუფალია.

გავიხსენოთ, რომ მცენარის თითოეული უჯრედი შეიცავს მთლიანი მცენარის გენეტიკურ ინფორმაციას. ეს ნიშნავს, რომ თეორიულად თითოეულმა უჯრედმა შეიძლება დასაბამი მისცეს ახალი მცენარის

ჩამოყალიბებას. ზრდის პროცესი მიმდინარეობს მერისტემული უჯრედების გამრავლების შედეგად. თითოეულ უჯრედში გენები დაპროგრამებულია დიფერენციაციისათვის. ეს ნიშნავს, რომ უჯრედები გადაიქცევა სხვადასხვა ქსოვილად და მცენარის ნაწილებად, მაგალითად, ღეროდ, ფოთლად ან ფესვის უჯრედებად. მერისტემულ ქსოვილებში უჯრედები ჯერ კიდევ არადიფერენცირებულია. ქსოვილთა კულტურების გამოყენების პროცესში ეს უჯრედები ამოიჭრება მცენარიდან მანამ, სანამ ისინი დაიწყებენ დიფერენცირებას. ამის შემდეგ, ისინი მოთავსდებიან გარემოში, სადაც განაგრძობენ ზრდას. გარკვეული დროის განმავლობაში უჯრედები მრავლდება და ჩამოყალიბდება მცენარის ნაწილებად.

უჯრედების დიფერენცირების სტიმულირებაზე გავლენას ახდენს რამდენიმე ფაქტორი. ესენია მცენარეული ჰორმონები, მცენარეში უჯრედების განლაგება, სინათლე, საკვები და ტემპერატურა. სავარაუდოდ, არსებოს კიდევ სხვა ფაქტორებიც, რომელთა ახსნა დღეისთვის მეცნიერებს არ შეუძლიათ.

ქსოვილთა კულტურებისათვის შეიძლება გამოვიყენოთ მცენარეთა უმეტესი ნაწილები; თუმცა, ჩვეულებრივ, ქსოვილის აღება ხდება ღეროს ან ფესვის კენწრული ნაწილიდან, რომელიც მოიცავს მერისტემულ უჯრედებს. ქსოვილს, რომლის აღებაც ხდება მცენარიდან ექსპლანტი ეწოდება. ძალზე მნიშვნელოვანია ექსპლანტის აღების ადგილი და რაოდენობა. ექსპლანტი სათანადოდ იწმინდება და სტერილდება. ამის შემდეგ კი დახურულ შუშის კონტეინერში თავსდება. ამ ტიპის კულტურას ინვიტრო (in vitro) კულტურა ეწოდება. ინვიტრო (In vitro) პირდაპირი მნიშვნელობით ნიშნავს ,,მინაში". მინის კონტეინერში მოთავსებულია სტერილური მინერალები, საკვები და ჰორმონები. იმის გამო, რომ ასეთი გარემო იდეალურია მიკრობების ზრდისათვის, ექსპლანტი, კონტეინერი და საკვები არე საგულდაგულოდ უნდა გასტერილდეს. ამას ერთვის ისიც, რომ მიღებული მცენარე უნდა იყოს დაუსნებოვნებელი. როგორც კი ახალი მცენარე დაიწყებს ზრდას, მოხდება მისი გადატანა სხვა საკვები არის შემცველ კონტეინერებში განვითარების სტადიების შესაბამისად, სადაც ის კვლავ გააგრძელებს ზრდას.

მიუხედავად იმისა, რომ მცენარის ქსოვილებს ხშირად მყარი აგარის შემცველ არეზე ზრდიან, მცენარეული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტივირება ასევე შესაძლებელია თხევად გარემოშიც. თუ კულტურები მექანიკური რხევის (როტაციის) პირობებშია, ზოგიერთი უჯრედი გამოეყოფა და იზრდება პატარა ჯგუფების ან ცალკეული უჯრედების სახით. კულტურების სინათლის, კვების და ჰორმონების მიხედვით შესაბამის პირობებში მოთავსებისას, ზოგიერთი უჯრედი დასაბამს აძლევს უჯრედების პატარა გროვას, რომლებიც მორფოლოგიურად ნორმალური მცენარის ჩანასახის ანალოგიურია. სომატური ჩანასახების სახელით ცნობილი ეს გროვები გაივლის განვითარების ჩვეულებრივ პროგრამას

და წარმოქმნის მცენარეებს, რომლებიც ნორმალური მცენარისაგან არ განსხვავდება. სომატური ჩანასახები პირველად, 1958 წელს, მიიღო სტიუარტმა თხევად კულტურაში სტაფილოს უჯრედების შესწავლისას. სომატურ ჩანასახებზე ლაბორატორიულმა დაკვირვებებმა ბევრი ფასეული მონაცემი მოგვაწოდა მცენარის განვითარების და რეგენერაციის მრავალ ასპექტში. სომატური ჩანასახების ხელმისაწვდომობამ, ასევე დასაბამი მისცა ხელოვნური თესლის იდეის განვითარებას. ხელოვნური თესლი ჟელესებურ მატრიქსში მოთავსებული სომატური ჩანასახისაგან შედგება. მიუხედავად იმისა, რომ ეს იდეა ჯერ არ არის კომერციულად სიცოცხლისუნარიანი, ხელოვნური თესლები ძვირფასი ჰიბრიდული მცენარეული კულტურებისა და დეკორა-ტიული მცენარეების დაბალ ფასად გავრცელების საშუალებას იძლევა.

ქსოვილთა კულტურების ახალი მეთოდების განვითარებასა და დახვეწასთან ერთად მცენარეთა გამრავლების ეს ხერხი დღითიდღე უფრო გავრცელებული ხდება. დღეისათვის მთელი რიგი დიდი საწარ-მოები იყენებენ ქსოვილთა კულტურებს მცენარეთა პროპაგაციისათვის. კიდევ ერთი მიზეზი, რომელიც ქსოვილთა კულტურების გზით მცენარეების გამრავლების უპირატესობას წარმოადგენს, არის ქვეყნებს შორის მცენარეული მასალის ტრანსპორტირების სიმარტივე მცენა-რეული დაავადებების გადატანა/გავრცელების გარეშე.

პროტოპლასტები და უჯრედების შერწყმა

პროტოპლასტები მცენარეული უჯრედებია, რომელთა უჯრედული კედელი მონელებულია ცელულაზისა და უჯრედის კედლის სხვა კედლის დამშლელი ფერმენტების მიერ. წარმოქმნილი უკედლო უჯრედი იღებს სფერულ ფორმას და დაკარგული აქვს მყარი უჯრედული კედლისმიერი დაცვა. ამ პირობებში იგი დაცული უნდა იყოს ლიზისისგან მაღალი კოსმოსური პოტენციალის შექმნით საარსებო გარემოში. ფაქტიურად, პროტოპლასტების გამოყოფა შეიძლება ნებისმიერი მცენარეული ქსოვილიდან. უმეტეს შემთხვევაში პროტოპლასტები ინარჩუნებენ უჯრედების უწყვეტი გაყოფის უნარს. მიუხედავად იმისა, რომ მიღებულია კედლის წარმოქმნისაგან დამცავი ზომები, მომნელებელი ფერმენტებით კედლის მოცილებიდან რამდენიმე საათში უჯრედის კედელს ხელახალი ფორმირების ტენდენცია აქვს. რეგენირებული უჯრედები იყოფა, ვითარდება კალუსები და, საბოლოოდ, შესაძლოა მისი სრული რეგენერაცია ნორმალურ მცენარედ. მცენარის იმ სახეობებს, რომლებიც მთლიანად აღდგება პროტოპლასტებიდან მიეკუთვნება კარტოფილი, თამბაქო, წიწაკა და პომიდორი. სამწუხაროდ, ერთლებნიანებს არ მიაკუთვნებენ პროტოპლასტების კულტურას და მნიშვნელოვანი მარცვლეული კულტურების სრული რეგენერაცია პროტოპლასტიდან ჯერ კიდევ არ არის მიღწეული.

უჯრედის კედლით განპირობებული შეზღუდვების მოხსნამ მცენარეული უჯრედის ბიოლოგიის მრავალი ფუნდამენტური სწავლების სტიმულირება გამოიწვია. პროტოპლასტის ყველაზე მნიშვნელოვან უნარს, შესაძლოა, პროტოპლასტის შერწყმის უნარი წარმოადგენს, ვინაიდან იგი აძლევს დასაბამს სომატური ჰიბრიდების განვითარებას. სომატურ ჰიბრიდებს აქვთ უფრო მეტი ვეგეტატიური უჯრედები, ვიდრე რეპროდუქტიული ან ჩანასახოვანი უჯრედები, რაც საშუალებას იძლევა გენეტიკურად შეუთავსებელ სახეობებს შორის ჰიბრიდების შექმნისა. უფრო მეტიც, მცენარეებს აქვთ ციტოპლაზმური (ქლოროპლასტისა და მიტოქონდრიის) გენომები, რომლებიც დედისეული ხაზით გადმოდის მემკვიდრეობაში. ამ გენთაგან ზოგს, რომლებიც, მაგალითად, პასუხს აგებენ ქლოროპლასტში ატრაზინის რეზისტენტობასა და მიტოქონდრიაში მამრობით ციტოპლაზმურ სტერილობაზე, აქვთ როგორც პრაქტიკული, ასევე თეორიული მნიშვნელობა. პროტოპლასტების შერწყმა ახალი ციტოპლაზმა-ბირთვის კომბინაციის წარმოქმნის საშუალებას იძლევა, ხანგრძლივი და ძვირადღირებული უკუშეჯვარების (backcrossing) გარეშე, რომელიც კონვერციული გამრავლებისთვისაა საჭირო. და ბოლოს, უჯრედის კედლის არარსებობა ხელს უწყობს მცენარის გენეტიკურ ტრანსფორმაციას მცენარეულ უჯრედებში გენების პირდაპირი გადატანის გზით.

გენეტიკურად მოდიფიცირებული მცენარეების კლონირება

შემდეგ ნაწილში განხილული იქნება გენეტიკურად მოდი-ფიცირებული მცენარეების გამოყენების ასპექტები სოფლის მეურნეობაში. ითვლება, რომ მომავალში ეს მცენარეები მოახდენენ რევოლუციას აგროინდუსტრიაში ე.წ. "სუპერმცენარეების" წარმოქმნით, რომლებიც იქნებიან უფრო პროდუქტიული და ფასეული დღევანდელ ტრადიციულ სასოფლო-სამეურნეო დანიშნულების კულტურებთან შედარებით.

6. მცენარეთა ბიოტექნოლოგია

მცენარეთა გენური ინჟინერია: მეთოდოლოგია

სელექციონერების ერთ–ერთი ძირითადი ამოცანა იყო მცენარეთა მაღალმოსავლიანი ჯიშების მიღება მაღალი საკვები ღირებულებით. ამ დროს ყველაზე მეტი ყურადღება ეთმობოდა ისეთ მარცვლეულ კულტურებს, როგორიცაა სიმინდი, ხორბალი, ბრინჯი, თუმცა განხორციელებული იყო სხვა სასოფლო სამეურნეო და მებაღეობის კულტურების შეჯვარების პროგრამები. მცენარეზე პირდაპირი

გენეტიკური ზემოქმედების მნიშვნე-ლოვან ინსტრუმენტად გამოიყენება რეკომბინანტული დნმ–ის ტექნოლოგია, რომელიც ფართოდაა დანერგილი მიკრობიოლოგიურ სისტემებში. დღეისათვის შემუშავებულია იმ დნმ–სა და მაექსპრესირებელი ვექტორების გადატანის რამდენიმე ეფექტური სისტემა, რომლებიც მუშაობენ მთელ რიგ მცენარეულ უჯრედებში. ამ უკანასკნელთა ერთ–ერთი ღირსებაა მათი ტოტიპოტენტურობა: ერთი უჯრედიდან შეიძლება მთელი მცენარის რეგენერირება, ისე რომ გენოინჟინერული მეთოდებით კონსტრუირებული უჯრედებიდან მივიღოთ ფერტილური მცენარეები, რომელთა ყველა უჯრედი ატარებს უცხო გენს(ებს) (ტრანსგენური მცენარეები); თუ ასეთი მცენარე ყვავის და იძლევა სიცოცხლისუნარიან თესლს, მაშინ სასურველი ნიშნები გადაეცემა შემდეგ თაობებს.

შეიძლება სამი ძირითადი არგუმენტის მოყვანა ტრანსგენური მცენარეების მიღების სასარგებლოდ. ჯერ–ერთი, გენის (გენების) შეყვანა ხშირად იწვევს სასოფლო სამეურნეო ღირებულებისა და კულტურულ მცენარეთა დეკორატიული თვისებების ამაღლებას. მეორეც, ტრანსგენური მცენარეები შეიძლება გამოიყენებოდეს როგორც ცოცხალი ბიორეაქტორები ეკონომიკურად მნიშვნელოვანი ცილებისა და მეტაბოლიტების მცირე დანახარჯიანი წარმოების დროს. მესამე, მცენარეთა გენეტიკური ტრანსფორმაცია (ტრანსგენოზი) გენების მოქმედების და სხვა ბიოლოგიური პროცესების შესწავლის საშუალებას იძლევა მცენარის განვითარების მსვლელობაში.

ზოგიერთი გენეტიკურად განპირობებული ნიშანი – ისეთები, როგორიცაა ინსექტიციდური აქტივობა, ვირუსული დაავადებებისადმი და ჰერბიციდებისადმი მდგრადობა, დაბერების შენელება, გარემოს არახელსაყრელი პირობებისადმი მდგრადობა, ყვავილების შეცვლილი შეფერილობა, თესლების ამაღლებული საკვები ღირებულება და თვით-შეუთავსებლობა – შეიძლება მცენარის მიერ შეძენილ იქნეს მასში ერთი ან რამდენიმე გენის შეყვანის დროს.

დღეისათვის უკვე მიღებულია მრავალრიცხოვანი ტრანსგენური მცენარეები როგორც კულტურული, ისე ველური სახეობების საფუძველზე. ბიოტექნოლოგია უდავოდ კორექტივებს შეიტანს მცენარეთა გამოყვანის ტრადიციულ პროგრამებში, რომლის ფარგლებში ახალი ჯიშის გამოსაყვანად საჭიროა 10–დან 15 წლამდე. მომავალში კი მისი მეშვეობით შეიძლება შეიქმნას სრულიად ახალი მახასიათებლების მქონე მცენარეები.

ვექტორული სისტემები Ti–პლაზმიდების საფუძველზე

Ti–პლაზმიდების მცენარეთა გენეტიკური ტრანსფორმაციისადმი ბუნებრივი უნარის გამოყენების ყველაზე მარტივი წესი გულისხმობს მკვლევარისათვის საინტერესო ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის

ჩაშენებას T–დნმ–ში, შემდეგ კი Ti–პლაზმიდებისა და A.tumefaciens–ის გამოყენებას კლონირებული გენის (გენების) მიწოდებისათვის და ჩაშენებისათვის კომპეტენტური მცენარეული უჯრედის გენომში. მაგრამ, მიუხედავად იმისა, რომ Ti–პლაზმიდები არის ეფექტური ბუნებრივი ვექტორები, კლონირებისათვის ვექტორებად მათ გამოსაყენებლად არის რიგი სერიოზული შეზღუდვები:

- ფიტოჰორმონები, რომლებიც სინთეზირებულია კულტურაში ტრანსფორმირებული უჯრედებით, ახშობენ ამ უჯრედებიდან მომწიფებული მცენარის რეგენერაციას. ამიტომ Ti–პლაზმიდის საფუძველზე ვექტორების კონსტრუირებისას აუქსინისა და ციტოკიტინის გენები მოშორებულ უნდა იქნეს.
- ტრანსგენური მცენარეებისათვის ოპინის გენი არსებითი არ არის, მაგრამ მისი არსებობისას შეიძლება შემცირდეს ბიომასის საბოლოო გამოსავალი, ვინაიდან რესურსების ნაწილი იხარჯება ოპინის სინთეზზე. მაშასადამე, ვექტორების შექმნისას ოპინის გენი აგრეთვე უნდა იყოს მოშორებული.
- Ti–პლაზმიდებს ძალიან დიდი ზომა აქვთ (200–დან 800 ტ.ბ.ნ.), ხოლო რეკომბინანტულ დნმ–ზე ექსპერიმენტებისათვის საჭიროა უფრო მცირე ზომის ვექტორები, ამიტომ მაკლონირებელი ვექტორისათვის არაარსებითი დნმ–ის ნაწილები მოშორებულ უნდა იქნეს.
- Ti–პლაზმიდები არ რეპლიცირდებიან Escerichia coli–ში, რაც გამორიცხავს მუშაობას რეკომბინანტულ Ti–პლაზმიდებთან ამ ბაქტერიებში. მაშასადამე, Ti–პლაზმიდების საფუძველზე ვექტორების კონსტრუირებისას საჭიროა მათში იმ რეპლიკაციის ინიციაციის საიტის შეყვანა, რომელიც უზრუნველყოფს მათ შენარჩუნებას E.coli–ში.
- მიუხედავად მთელი ამ სირთულეებისა, კონსტრუირებული იქნა რამდენიმე ვექტორი მცენარეული უჯრედებისათვის. Ti–პლაზმიდების საფუძველზე ყველა ვექტორი მსგავსადაა ორგანიზებული და გააჩნიათ შემდეგი ელემენტები:
- სელექციური მარკერული (მაგალითად, ნეომიცინფოსფოტტანსფერაზას გენი), რომელიც უზრუნველყოფს ტრანსფორმირებული მცენარეული უჯრედების მდგრადობას კანამიცინისადმი. ვინაიდან ეს გენი (ისევე როგორც სხვა მარკერული გენები, რომლებიც გამოიყენება მცენარეთა ტრანსფორმაციისას) თავისი ბუნებით პროკარიოტიკულია, საჭიროა მისი ტრანსკრიპციის რეგულაციის მცენარეული (ეუკარიოტიკული) სიგნალების (მათ შორის, პრომოტორისა და ტერმინაცია–პოლიადენილირების სიგნალის) გაკონტროლება. ეს უზრუნველყოფს გენის ეფექტურ ექსპრესიას ტრანსფორმირებულ მცენარეულ უჯრედებში.

- რეპლიკაციის ინიციალიზაციის საიტი, რომელიც პლაზმიდას E.coli–ში რეპლიცირების საშუალებას აძლევს. ზოგიერთი ვექტორი შეიცავს აგრეთვე A.tumefaciens–ის რეპლიკაციის ინიციალიზაციის საიტსაც.
- T–დნმ–ის სრული ფლანკირებადი თანმიმდევრობა. ეს ელემენტი აბსოლუტურად აუცილებელია T–დნმ–ის ინტეგრაციისათვის მცენარეთა უჯრედულ დნმ–ში. ხოლო ვექტორების უმრავლესობა შეიცავს როგორც მარჯვენა, ისე მარცხენა ფლანკირებად თანმიმდევრობებს.
- პოლილინკერი (კლონირების მრავლობითი საიტი) გენის ჩაშენებისათვის T–დნმ–ს საზღვრებს შორის ნაწილში.

მცენარეულ უჯრედებში გენების გადატანის ფიზიკური მეთოდები

A.tumefaciens–ის მეშვეობით გენების გადატანის სისტემა ეფექტურად მუშაობს მხოლოდ ზოგიერთი სახის მცენარეთა შემთხვევაში. კერძოდ, ერთლებნიანი მცენარეები, ძირითადი მარცვლეული კულტურების ჩათვლით (ბრინჯი, ხორბალი და სიმინდი) A.tumefaciens–ის მიერ პრაქტიკულად არ ტრანსფორმირდება. მიუხედავად ამისა, მეთოდიკების მოდიფიცირებით და პირობების გულდასმით გაკონტროლებით შესაძლებელი გახდა სიმინდისა და ბრინჯის ტრანსფორმირება A.tumefaciens–ის აგრობაქტერიებით, რომლებიც არის ვექტორების მატარებლები (Ti–პლაზმიდების წარმოებული). ასე მაგალითად, სიმინდის მოუმწიფებელ ჩანასახებს ათავსებდნენ რამდენიმე წუთით A.tumefaciens–ის უჯრედების სუსპენზიაში, შემდეგ კი ისინი რამდენიმე დღე ინკუბირდებოდა სელექციური ზეწოლის გარეშე. ამის შემდეგ ჩანასახები გადაჰქონდათ ანტიბიოტიკებიან არეში, სადაც შეეძლოთ ზრდა მხოლოდ ტრანსფორმირებულ მცენარეულ უჯრედებს. ეს უჯრედები სიბნელეში იმყოფებოდა რამდენიმე კვირის განმავლობაში, შემდეგ კი ტრანსფორმირებული მცენარეული უჯრედები გადაჰქონდათ სხვა საკვებ არეში და ხდებოდა მათი ინკუბირება სინათლეზე, რათა მომხდარიყო ტრანსგენური მცენარის მთლიანი რეგენერაცია.

ამჟამად დნმ–ის მიწოდებისათვის მცენარეთა უჯრედებში უპირატესობას ანიჭებენ Ti–პლაზმიდების საფუძველზე შექმნილი ვექტორების გამოყენებას, ან მიკრონაწილაკებით ბომბარდირებას (იხ. გვ. 80 ცხრ. 1)

ცხრილი 1. მცენარეთა უჯრედებში დნმ–ის შეყვანის მეთოდები

მეთოდი	**კომენტარი**
Ti–პლაზმიდების გამოყენება	მაღალეფექტური კარგი სისტემაა, მაგრამ ყველა სახის მცენარეებისათვის არ გამოდგება.
მიკრონაწილაკებით ბომბარდირება	გამოიყენება მცენარეებისა და ქსოვილების ფართო სპექტრისათვის; მარტივი და იაფი მეთოდი
ვირუსების საფუძველზე ვექტორების გამოყენება	მცენარეულ უჯრედებში დნმ–ის მიწოდების არაეფექტური ხერხი
მცენარეთა პროტოპლასტებში გენების პირდაპირი შეყვანა	შეიძლება გამოიყენებოდეს გენების შესაყვანად მხოლოდ მცენარეული უჯრედების იმ პროტოპლასტებში, რომელთაგანაც შეიძლება რეგენერირებული იქნეს სიცოცხლისუნარიანი მცენარეები
მიკროინექციები	გააჩნიათ შეზღუდული გამოყენება, ვინაიდან ერთდროულად ინექციის გაკეთება შეიძლება მხოლოდ ერთ უჯრედში; მანიპულაციის ჩატარება მხოლოდ სპეციალისტებს შეუძლიათ
ელექტროპორაცია	გამოიყენება გენების შესაყვანად მხოლოდ პროტოპლასტებში, რომელთაგანაც შეიძლება რეგენერირებულ იქნეს სიცოცხლისუნარიანი მცენარეები
ლიპოსომების შერწყმა	გამოიყენება გენების შესაყვანად მხოლოდ პროტოპლასტებში, რომელთაგანაც შეიძლება რეგენერირებულ იქნეს სიცოცხლისუნარიანი მცენარეები

ასეთი წესით გენეტიკურად ტრანსფორმირებულ იქნა 50–ზე მეტი სხვადასხვა სახეობის მცენარე (ცხრ. 2)

ცხრილი 2. გენეტიკურად ტრანსფორმირებული მცენარეები

ბადრიჯანი	მიწის თხილი	შვრია	შაქრის ჭარხალი
ბანანი	რაფსი	შვრიუკა მაღალი	შაქრის ლერწამი
ბატატი	კომბოსტო	შვრიუკა წითელი	სოია
ცერცვი	კარტოფილი	კიტრი	ძირტკბილა
ყურძენი	კივი	ორქიდეია	სორგო
მიხაკი	შტოში	პაპაია	სატაცური
ბარდა	სიმინდი	პეტუნია	თამბაქო
მსხალი	ღორის ქადასელი	პიონი	პომიდორი
სათითურა	ლილია	მრავალძარღვა	ალვის ხე
ნაძვი ევროპული	ლოტოსი	მზესუმზირა	ბამბა
ნაძვი კანადური	იონჯა	ხორბალი	ვაშლის ხე
ფეტვი	სტაფილო	ბრინჯი	ქერი
მარწყვი		ჭვავი	არაბულა

მიკრონაწილაკებით ბომბარდირება

მიკრონაწილაკებით ბომბარდირება, ანუ ბიოლისტიკა – ეს მცენარეულ უჯრედებში დნმ–ის შეყვანის საკმაოდ იმედმომცემი მეთოდია. ოქროს ან ვოლფრამის სფერული ნაწილაკებით (დიამეტრით 0,4–1,2 მკმ) ბომბარდირებისათვის, თავდაპირველად დნმ–ს ფარავენ $CaCl_2$-ით, სპერმიდინით ან პოლიეთილენგლიკოლით, და უჯრედებს „ესვრიან“ ამ ნაწილაკებს სპეციალური „თოფიდან“, რომელიც მოქმედებაში მოდის ტყვიის დაწვისას წარმოქმნილი აირებით, შეკუმშული ჰაერით ან ჰელიუმით. ნაწილაკები მოძრაობენ სიჩქარით 300–600 მ/წამში და არღვევენ უჯრედის კედელსა და მცენარის უჯრედის მემბრანებს. ამ დროს მათი სიმკვრივე ისეთია, რომ პრაქტიკულად უჯრედები არ ზიანდება.

მოხვდება რა უჯრედში, დნმ, რომელიც დაფარულია ნაწილაკებით, რაღაც გაურკვეველი წესით ახდენს ინტეგრირებას მცენარეულ დნმ–ში. მიკრონაწილაკებით ბომბარდირების მეთოდი სხვადასხვა სახის (მათ შორის, ერთლებნიანებისა და წიწვოვანი მცენარეების) ტრანსფორმირების საშუალებას იძლევა, რომლებშიც ვერ ხერხდება დნმ–ის შეყვანა Agrobacterium–ების მეშვეობით.

მიკრონაწილაკებით ბომბარდირების გამოყენება შეიძლება აგრეთვე უცხო დნმ–ის შეყვანისათვის მცენარეული უჯრედების სუსპენზიაში, უჯრედის კულტურებში, მერისტემულ ქსოვილებში, მოუმწიფებელ ჩანასახებში, პრო-ტოკორმებში, კოლეოპტილიებში და მცენარეთა ფართო წრის მტვრიანაში (იხ. გვ. 82 ცხრ. 3). გარდა ამისა, ამ მეთოდის მეშვეობით ტრანსპორტირებულ იქნა გენები ქლოროპლასტებში და მიტოქონდრიებში. მიკრონაწილაკების ზედაპირზე შეიძლება

დაილექოს ბუფერში გახსნილი პლაზმიდური დნმ. ეს ტრანსფორმაციის სიხშირის გადიდების საშუალებას იძლევა პლაზმიდური დნმ–ის რაოდენობის გაზრდის გზით; თუმცა, უნდა გავითვალისწინოთ, რომ მისი ძალზე დიდი რაოდენობები შეიძლება დამღუპველი აღმოჩნდეს უჯრედებისათვის.

ცხრილი 3. მიკრონაწილაკებით სხვადასხვა მცენარეთა უჯრედების ბომბარდირებით მიღებული ტრანსგენური მცენარეები

მცენარე (ები)	**უჯრედების წყარო**
. სიმინდი	• ჩანასახური უჯრედების სუსპენზია, მოუმწიფებელი ზიგოტური ჩანასახები
. ბრინჯი	• მოუმწიფებელი ზიგოტური ჩანასახები, ჩანასახური კალუსი
. ქერი	• უჯრედების სუსპენზია, მოუმწიფებელი ზიგოტური ჩანასახები
. ხორბალი	• მოუმწიფებელი ზიგოტური ჩანასახები
. კორდისწარმომქმნელი მარცვლოვნები	• ჩანასახური კალუსი
. ჭვავი	• მერისტემა
. სორგო	• მოუმწიფებელი ზიგოტური ჩანასახები
. ფეტვი	• მოუმწიფებელი ზიგოტური ჩანასახები
. ორქიდეა	• პროტოკორმები
. ბანანი	• ჩანასახური უჯრედების სუსპენზია
. ალვის ხე	• კალუსი
. ნაძვი ევროპული და კანადური	• სომატიკური ჩანასახები
. ბარდა	• ზიგოტური ჩანასახები
. კიტრი	• ჩანასახური კალუსი
. ბატატი	• კალუსი
. შტოში	• მიღებული ღეროს in vitro ნაწილები
. პიონი	• მტვრიანა
. იონჯა	• ჩანასახური კალუსი
. ცერცვი	• ზიგოტური ჩანასახები
. ბამბა	• ზიგოტური ჩანასახები
. ყურძენი	• ჩანასახური უჯრედების სუსპენზია
. მიწის თხილი (არაქისი)	• ჩანასახური კალუსი
. თამბაქო	• მტვრიანა

ასეთი წესით ტრანსფორმირებულ უჯრედებში (რომლებიც იდენ-ტიფიცირებულია მარკერული გენის ექსპრესიის მიხედვით) შეყვანილი დნმ ხშირად მხოლოდ ხანმოკლე დროით ექსპრესირდება. ვიდრე უცხო დნმ არ ჩაშენდება მცენარის გენომში, იგი მაღალი სიხშირით იკარგება ტრანსფორმირებული უჯრედების დაყოფის დროს.

უცხო გენების როგორც ინტეგრაცია, ასევე ექსპრესიაც, შეიძლება დამოკიდებული იყოს მათი შეყვანისათვის გამოყენებული ვექტორის კონფიგურაციაზე. მაგალითად, ტრანსფორმაციის სიხშირე მაღლდება, თუ გამოიყენება წრფივი და არა რგოლური დნმ. გარდა ამისა, მიკრონაწილაკებით ბომბარდირების დროს მაღალმოლეკულარული პლაზმიდები (>10 ათასი ნ.წ.) შეიძლება ფრაგმენტირებული იქნეს. ამიტომ უცხო გენების ექსპრესიის დონე უფრო დაბალი აღმოჩნდება, ვიდრე მცირე ზომის პლაზმიდების შემთხვევაში.

მარკერული გენების არშემცელი ტრანსგენური მცენარეების მიღება

ჩვეულებრივ, მცენარეში უცხო გენის შეყვანისას ერთდროულად შეიყვანება აგრეთვე სელექციური მარკერული გენიც. თუმცა აქამდე არავითარი მითითებები არ ყოფილა იმაზე, რომ რომელიმე ამ გენებიდან არახელსაყრელ ზემოქმედებას ახდენს ადამიანზე, ცხოველებზე ან გარემოზე, შედეგებმა, რომელსაც პრინციპში იწვევს მცენარეში სელექციური მარკერული გენების ჩართვა, საზოგადოების აღშფოთება გამოიწვია. მაგალითად, ზოგიერთი მარკერული გენების პროდუქტები შეიძლება აღმოჩნდეს ალერგენები ან ტოქსიკური ნივთიერებები, ხოლო ანტიბიოტიკებისადმი მდგრადი გენები შეიძლება მოხვდეს პათოგენურ ნიადაგურ მიკროორგანიზმებში. გარდა ამისა, სელექციური მარკერების არსებობა ტექნიკურად ართულებს ტრანსგენური მცენარეების ტრანსფორმაციას დამატებითი გენებით, ვინაიდან ერთი სელექციური მარკერი შეიძლება გამოყენებული იქნეს ორჯერ. საზოგადო-ების დასამშვიდებლად შემუშავებული იქნა ტრანსგენური მცენარეების მიღების მეთოდები მარკერული გენების გარეშე.

უმარკერო ტრანსგენური მცენარეების მიღების ერთ–ერთი ექსპერიმენტული მიდგომათაგანი შეიცავს მცენარეთა კონ-ტრანსფორმაციას ორი სხვადასხვა დნმ–ით, რომელთაგან ერთი არის მარკერული გენის, მეორე კი – მკვლევარისათვის საინტერესო უცხო გენის მატარებელი. ამ შემთხვევაში მცენარეთა 30–80% შეიცავს ორივე გენს, რომლებიც ინტეგრირებულია ქრომოსომული დნმ–ის სხვადასხვა საიტებში. ტრანსფორმანტების შერჩევის შემდეგ მარკერული გენი შეიძლება მოვაშოროთ ტრანსგენურ მცენარეს ჩვეულებრივი შეჯვარების მეშვეობით.

მეორე მიდგომის მიხედვით, სელექციური მარკერული გენი ჩაშენდება მცენარეულ მობილურ ელემენტებს (Ds-ელემენტებს) შორის

და ასეთი კონსტრუქცია შეჰყავთ T-დნმ–ში ტრანსპოზაზის გენთან ერთად, რომელიც ამოჭრის დნმ–ის მონაკვეთს Ds-ელემენტებს შორის და გადააადგილებს მას სხვა ქრომოსომულ საიტში. მცენარე–პატრონის დნმ–ში T-დნმ–ის ჩაშენების პროცესში, შემთხვევათა 90%–ში სელექციური მარკერი, რომელიც იმყოფება ორ Ds-ელემენტს შორის, აღმოჩნდება ქრომოსომული დნმ–ის სხვა საიტში, ამასთან, 50%–ის ალბათობით, ეს საიტი დაშორებულია საწყისი საიტიდან. ამრიგად, სელექციური მარკერული გენი შეიძლება გამოყენებულ იქნეს ტრანსფორმირებული მცენარეების იდენტიფიკაციისათვის, შემდეგ კი მოშორდეს შეჯვარების დროს.

მცენარეთა გენური ინჟინერია: გამოყენება

მცენარეებზე წარმოებული ბიოტექნოლოგიური ექსპერიმენტების ძირითადი მიზანია მცენარეთა ახალი კულტურული ჯიშების გამოყვანა. ადრეული კვლევების უმეტესობა მიმართული იყო მცენარეთა მაღალ-მოსავლიანი ჯიშების მიღებაზე მათი საკვები ღირებულების შეცვლის გარეშე. მცენარეებში შეჰყავდათ დაბერების პროცესის შემანელებელი გენები და გენები, რომლებიც უზრუნველყოფდნენ მცენარეთა მდგრადობას მავნე ფაქტორებისადმი – მწერებისადმი, ვირუსებისადმი, ჰერბიციდებისადმი, გარემოს არახელსაყრელი პირობებისადმი. გარდა ამისა, ექსპერიმენტები ტარდებოდა ფერებისა და მცენარეული პროდუქტების ხარისხის შეცვლის მიზნით, აგრეთვე მცენარეთა გამოყენებაზე „ბიორეაქტორებად“.

მავნე მწერებისადმი მდგრადი მცენარეები

გენური ინჟინერიის მეთოდებით რომ შეიძლებოდეს პურეული მარცვლეულის შეცვლა ისე, რომ ისინი ახდენდნენ ფუნქციონალური ინსექტიციდების პროდუცირებას, მაშინ ჩვენ მივიღებდით მავნე მწერებისადმი მდგრად კულტურებს, რომლებიც არ საჭიროებენ შესხურებას ძვირადღირებული და საშიში ქიმიური პესტიციდებით (ხშირად ასეთი შესხურების ჩატარება ვეგეტაციის პერიოდში უხდებათ 6–8–ჯერ). აქედან გამომდინარეობს, რომ მავნე მწერებისადმი მდგრადი მარცვლეულის მოყვანის თვითღირებულება უფრო დაბალი იქნებოდა, ვიდრე არამდგრადებისა. გარდა ამისა, ბიოლოგიური ინსექტიციდები ხშირად მოქმედებენ მწერების მხოლოდ მკაცრად განსაზღვრული სახეობების რიცხვზე და უვნებელია ადამიანისათვის და სხვა ცოცხალი არსებებისათვის.

გენური ინჟინერიის მეთოდის მეშვეობით მავნე მწერებისადმი მდგრადი მცენარეების შესაქმნელად შემუშავებულ იქნა სხვადასხვა სტრატეგია. ერთ შემთხვევაში გამოიყენებოდა ინსექტიციდური პროტოქსინის გენი, რომელიც პროდუცირებული იყო Bacillus thuring-

iensis–ის ერთ–ერთი ქვესახეობის მიერ. მეორეში – ამილაზის ან პროტეინაზის ინჰიბიტორების ტიპის მცენარეული ცილების გენები, რომლებიც ეფექტური იყო მწერების ფართო წრის მიმართ. მწერს, რომლის ორგანიზმში ხვდებოდა ერთ–ერთი ამ ინჰიბიტორთაგანი, უნარი აღარ ჰქონდა გადაემუშავებინა მცენარეული საკვები, იმიტომ რომ ინჰიბიტორები აფერხებდნენ სახამებლის ან მცენარეული ცილების ჰიდროლიზს.

B. thuringiensis–ის პროტოქსინი – ეს არის მცენარეთა დაცვის უვნებელი საშუალება: ხვდება რა გარემოში, იგი კარგავს აქტიურობას. სამწუხაროდ, პურეული მარცვლეულის მავნებლების უმეტესობა იკვებება მცენარის შიდა ქსოვილებით, ასე რომ B. thuringiensis–ის პრეპარატები, რომლებსაც ასხურებენ მცენარეების ზედაპირზე, ნაკლებად ეფექტურია. ამ პრობლემის გადაჭრა შეიძლება, თუ თვით მცენარეებში იქნება უზრუნველყოფილი ტოქსინების გენების ექსპრესია. ამ შემთხვევაში ინსექტიციდების შესხურება საჭირო აღარ იქნება და ტოქსინები არ მოხვდება გარემოში, გარდა ამისა, დაშლის შედეგად აღარ წარმოიქმნება მათი მოქმედების დროის შეზღუდვასთან დაკავშირებული პრობლემა. ბიოტექნოლოგების ამოცანა მდგომარეობს ტრანსგენური მცენარის შექმნაში, რომელიც მოახდენდა ბაქტერიალური ინსექტიციდის აქტიური ფორმის სინთეზირებას იმ რაოდენობით, რაც საკმარისი იქნებოდა მავნებლებისაგან მცენარის დაცვისათვის.

პროტოქსინის ძალზე შეცვლილი გენით ტრანსფორმირებული ტრანსგენური მცენარეები ახდენდნენ 100–ჯერ მეტი ტოქსინის სინთეზირებას, ვიდრე ველური ტიპის გენით ტრანსფორმირებული მცენარეები, ამასთან შეიმჩნეოდა პირდაპირი კორელაცია ინსექტიციდური აქტივობის გადიდებასთან. მიღებული მონაცემები საშუალებას იძლევა ვიმედოვნებდეთ, რომ ანალოგიურად შესაძლებელი გახდება მრავალი უცხო გენის შეყვანა მცენარეებში და ექსპრესიის დონის ამაღლება.

იყო მცდელობა გაეზარდათ მცენარეებში სინთეზირებული პროტოქსინის რაოდენობა პროტოქსინის „სრულად“ შეცვლილი გენის ექსპრესიის განხორციელებით რიბულოზობისფოსფატი–კარბოქსილაზის მცირე სუბერთეულის გენის პრომოტორის კონტროლის ქვეშ, რომელიც ამ ფერმენტის ქლოროპლასტური სიგნალური თანმიმდევრობის შემდეგ იყო მოთავსებული ისე, რომ ზეპროდუცირებული პროტოქსინი ლოკალიზებული იყო ქლოროპლასტებში. ამ სტრატეგიამ გამოიწვია პროტოქსინის გენის ექსპრესიის დონის რადიკალური ამაღლება ისე, რომ პროტოქსინის წილად მოდიოდა ფოთლის ყველა ცილის 1%–მდე. სხვა ექსპერიმენტში, პროტოქსინის გენი შეიყვანებოდა უშუალოდ მცენარე–პატრონის ქლოროპლასტურ დნმ–ში. ეს იძლევა შემდეგ უპირატესობებს.

ჯერერთი, შეყვანილი გენის მოდიფიცირება არ არის საჭირო, ვინაიდან ქლოროპლასტების ტრანსკრიფციული და ტრანსლაციური აპარატები მიეკუთნებიან პროკარიოტულ ტიპს. მეორეც, ერთ უჯრედზე მოდის ბევრი ქლოროპლასტი, ხოლო ერთ ქლოროპლასტზე – ქლოროპლასტური დნმ–ის ბევრი ასლი, ამიტომ პროტოქსინის გენი შეინიშნება მრავალ ასლში და მისი ექსპრესიის ეფექტურობა მაღლდება. მესამე, ქლოროპლასტები გადაეცემა მხოლოდ კვერცხუჯრედით, და არა მტვრიანათი, ისე რომ მცენარეები ქლოროპლასტურ დნმ–ს იღებენ შთამომავლობით დედის ხაზით და პროტოქსინის გენის მტვრიანათი სხვა მცენარეებზე არასასურველი გადატანის არავითარი რისკი არ არსებობს.

პროტოქსინის გენის ერთ–ერთი ფორმა უკვე შეყვანილია და ექსპრესირებულია ისეთ მცენარეებში, როგორიცაა პომიდორი, თამბაქო, კარტოფილი, ბრინჯი, სიმინდი. ვაშლის ხე, ბადრიჯანი, რაფსი, იონჯა, კაკალი, ალვის ხე, ნაძვი, შტოში და ბამბა. მცენარეთა დაცვის ამ მეთოდის გამოყენების პერსპექტივები საკმაოდ დამაიმედებლად გვესახება. ასე მაგალითად, კარტოფილის ტრანსგენურ მცენარეებში განხორციელებულია სინთეტიკური გენის ეფექტური ექსპრესია ინსექტიციდური ტოქსინის B. thuringiensis ssp. tenebrionis –ის გენის საფუძველზე კოდური „ლექსიკონით“, რომელიც გამოიყენება მცენარეების მიერ. მიღებული მცენარეები მაღალი მდგრადობისა აღმოჩნდა კარტოფილის ძირითადი მავნებლის – კოლორა-დოს ხოჭოს მიმართ. თუმცა, უნდა გვახსოვდეს მავნე მწერების პოპულაციაზე მუდმივი კონტროლის შესახებ, რათა დროულად გამოვავლინოთ მდგრადი ორგანიზმები. შესაძლოა, მომავალში ტრანსგენური კარტოფილის დასაცავად მოგვიხდეს უფრო ძლიერი პროტოქსინის B. thuringiensis–ის გამოყენება და, რაც უფრო მეტად სავარაუდოა, მოვახდინოთ მცენარეებში სხვა ინსექტიციდური გენების იდენტიფიცირება და კლონირება პროტოქსინების გენებთან ერთად.

ჰერბიციდებისადმი მდგრადი მცენარეები

მიუხედავად იმისა, რომ 100–ზე მეტი სხვადასხვა ქიმიური ჰერბიციდის წარმოებაზე მთელ მსოფლიოში იხარჯება 10 მლრდ დოლარი, მოსავლის დაახლოებით 10% იკარგება სარეველების დიდი რაოდენობის გამო. გარდა ამისა, ბევრი ჰერბიციდი ერთნაირად მოქმედებს სარეველებსა და სასოფლო სამეურნეო კულტურებზე; ხშირად მინდვრების დამუშავება უნდა ჩატარდეს სარეველების აღმოცენებამდე, ხოლო ზოგიერთი ჰერბიციდი გროვდება გარემოში. თუნდაც ზოგიერთი ამ ამოცანის გადაჭრისათვის, უნდა შევეცადოთ შევქმნათ ჰერბიციდებისადმი მდგრადი სასოფლო სამეურნეო კულტურები.

ამისათვის შეიძლება:

- შევამციროთ მცენარის მიერ ჰერბიციდის ათვისება (შთანთქმა);
- უზრუნველვყოთ ჰერბიციდისადმი მგრძნობიარე ცილის სინთეზი ისეთი ოდენობით, რომ იგი საკმარისი იყოს მისთვის დამახასიათებელი ფუნქციების შესასრულებლად ჰერბიციდების თანაობისას;
- შევამციროთ ჰერბიციდისადმი მგრძნობიარე ცილის მასთან შეკავშირების უნარი;
- უზრუნველვყოთ მცენარეში ჰერბიციდის ინაქტივაცია მეტაბოლიზმის მსვლელობაში.

მიღებული იყო მცენარეები, მდგრადი გლიფოსფატისადმი – ჰერბიციდისადმი, რომელიც სწრაფად იშლება ნიადაგში არატოქსიკურ შემადგენლებად და ამიტომ უსაფრთხოა გარემოსათვის. გლიფოსფატი არის 5 – ენოლპირუვილქიკიმატ – 3 – ფოსფატსინტაზის ინჰიბიტორი (EPSPS) – ფერმენტისა, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს არომატიზირებული ამინომჟავების სინთეზში როგორც ბაქტერიებში, ისე მცენარეებშიც. გლიფოსფატმდგრადი E.coli–ის შტამიდან გამოყოფილ იქნა გენი, რომელიც ახდენს EPSPS–ის კოდირებას. ის არის მცენარეული პრომოტორისა და ტერმინაციის ტრანსკრიპციის/ პოლიადენილირებისა კონტროლის ქვეშ და შეყვანილია მცენარეულ უჯრედებში. თამბაქოს, პეტუნიას, პომიდვრის, კარტოფილისა და ბამბის ტრანსგენური მცენარეები, რომლებიც ახდენენ EPSPS–ის სინთეზირებას იმ ოდენობით, რომელიც საკმარისია ჰერბიციდით ინჰიბირებული მცენარეული ფერმენტის შესაცვლელად, მდგრადი აღმოჩნდა გლიფოსფატისადმი და დამუშავების დროს, სარეველებისაგან განსხვავებით, ეს მცენარეები არ დაიღუპნენ.

მდგრადობის შეძენის სხვა ხერხი (ჰერბიციდის ინაქტივაციის გზით) გამოყენებულ იქნა ჰერბიციდ ბრომოქსინილის (3,5 – დიბრონ –4 – ჰიდროქსიბენზონიტრილის) მიმართ. ეს ჰერბიციდი ახდენს ფოტოსინთეზის ინჰიბირებას. მდგრად მცენარეებს ქმნიდნენ მათ გენომში ნიტრილაზას მაკოდირებელი ბაქტერიალური გენის შეყვანის გზით, რომელიც ინაქტივირებს ბრომოქსინილს ჯერ კიდევ მანამდე, ვიდრე ის ამოქმედდება. ნიადაგური ბაქტერიიდან Klebsiella ozaenae გამოყოფილი იყო ნიტრილაზის გენი, რომელიც არის სინათლისადმი მგრძნობიარე პრომოტორის გენის მცირე სუბერთეულის რიბულოზო–ბისფოსფატ–კარბოქსილაზის კონტროლის ქვეშ და ჩაშენებულია თამბაქოს გენომში. ტრანსგენურ მცენარეები ასინთეზირებდნენ აქტიურ ნიტრილაზას და გამოირჩეოდნენ ბრომოქსილინისადმი მდგრადობით.

სოკოებისა და ბაქტერიებისადმი მდგრადი მცენარეები

ფიტოპათოგენური სოკოები დიდ ზარალს აყენებენ სასოფლო სამეურნეო კულტურებს. შეფასებით, სამხრეთ–აღმოსავლეთ აზიის, იაპონიისა და ფილიპინების ფერმერებისათვის მიყენებული ზარალი სოკოთი დაზიანების შედეგად, რომელმაც გამოიწვია ბრინჯის პირიკულიარიოზი, შეადგენს დაახლოებით 5 მლრდ. აშშ დოლარს წელიწადში. ამჟამად ფიტოპათოგენურ სოკოებთან ბრძოლის ძირითადი ხერხი მდგომარეობს მცენარეთა ქიმიური ნივთიერებებით დამუშავებაში, რაც გროვდება გარემოში და საფრთხეს წარმოადგენს ცხოველებისათვის და ადამიანისათვისაც. ამიტომ ძალზე მნიშვნელოვანია შემუშავდეს სოფლის მეურნეობის კულტურების სოკოებისაგან დაცვის მარტივი, იაფი, ეფექტური და გარემოსათვის უსაფრთხო არაქიმიური მეთოდები.

ასეთ მცენარეთა შორის იყო ბრინჯი, თამბაქო და კარტოფილი. მცენარეულ გენომში შეყვანილი შესაბამისი გენები დაყენებული იყო ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის 35S-პრომოტორის კონტროლის ქვეშ. გარდა ამისა, შექმნილ იქნა თამბაქოს ტრანსგენური მცენარეები, რომლებიც კონსტიტუციურად ასინთეზირებდნენ არა მარტო ქიტინაზას, არამედ β–გლუკანაზასაც. ასეთი მცენარეები მიღებული იყო ერთი ტრანსგენური მცენარის (რომელიც ექსპრესირებს ქიტინაზის გენს) შეჯვარებით მეორესთან, რომელიც ექსპრესირებს β–გლუკანაზის გენს. ტრანსგენური მცენარეები, რომლებიც ახდენენ ქიტინაზას სინთეზს, აღმოჩნდნენ უფრო მდგრადი სოკოებისადმი, ვიდრე საკონტროლო ინტაქტური მცენარეები. ამასთან, უკანასკნელნი ასინთეზირებდნენ PR–ცილებს სოკოებით ინფიცირების საპასუხოდ. გარდა ამისა, სასარგებლო სოკოს Glomus mosseae–ს უნარი დამაგრდეს მცენარეთა ფესვებზე, არ ირღვევა. შესაძლოა, ეს დაკავშირებულია განსხვავებებთან, რომლებიც არსებობს აღნიშნული სოკოების უჯრედული კედლის შემადგენლობაში. არსებითია, რომ ტრანსგენური მცენარეები, რომლებიც კონსტიტუციურად ასინთეზირებენ ქიტინაზას, არ იყო დაავადებული სოკოებით საველე პირობებში. სავარაუდოდ, აღწერილი მიდგომა აღმოჩნდება პათოგენური სოკოებისაგან მცენარეთა დაცვის საკმაოდ ეფექტიანი ხერხი.

შეფასებებით, კარტოფილის მოსავლისათვის მიყენებული ზარალი ამ კულტურის დაზიანებისაგან პათოგენური ნიადაგური ბაქტერიით Ervinia carotovora, შეადგენს დაახლოებით 100 მლნ აშშ დოლარს წელიწადში. მდგომარეობა რთულდება იმით, რომ მცენარეებში არ იყო გამოვლენილი ამ ინფექციისაგან დაცვის ხერხები, რომელთა გამოყენებაც შეიძლებოდა მდგრადი კომერციული ჯიშების გამოსაყვანად. ამ პრობლემის გადასაჭრელად მკვლევართა ჯგუფმა გამოიყვანა კარტოფილის ტრანს-გენური მცენარეები, რომლებიც აქტიურად ექსპრესირებდნენ ბაქტერიო-ფაგი T4–ის ლიზოციმის გენს.

ამასთან ლიზოციმი ექსპრესირდებოდა აპოპლასტში (უჯრედშორისი სივრცე), კ ომპარტმენტში, რომელშიც აღწევს და ვრცელდება E. carotovora. სეკრეციის სპეციფიკურობის უზრუნველსაყოფად ფაგი T4–ის ლიზოციმის გენს „მიეკერა“ თანმიმდევრობა, რომელიც ახდენდა ქერის a–ამილაზის სასიგნალო პეპტიდის კოდირებას და გენი მოთავსდა ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის 35S-პრომოტორის, ტრანსკრიპციის ტერმინაციის სიგნალისა და პოლიადენილირების საიტის ტრანსკრიპციული კონტროლის ქვეშ. მიუხდავად იმისა, რომ ლიზოციმის გენი იმყოფებოდა ესოდენ ძლიერი პრომოტორის კონტროლის ქვეშ, სინთეზირებულ იქნა ლიზოციმის მხოლოდ ძალზე მცირე რაოდენობა. თუმცა ტრანსგენური მცენარეები, რომელთა გენომი შეიცავდა ასეთ კონსტრუქციას, აღმოჩნდა მდგრადი E. carotovora–ს დიდი რაოდენობისადმი ლაბორატორიულ პირობებში და სათბურში. ბუნებრივ პირობებში დაავადების გამომწვევი ეს ბაქტერიები გვხვდება გაცილებით ნაკლები რაოდენობით, ვიდრე ისინი, რომლებიც გამოიყენებოდა ლაბორატორიულ ცდებში. ასე რომ, ვიმედოვნებთ, ნახსენები გენეტიკური კონსტრუქცია შეძლებს მცენარეების საიმედო დაცვის უზრუნველყოფას. გარდა ამისა, ვინაიდან ლიზოციმი ლიზირებს გრამდადებით და გრამუარყოფით ბაქტერიებს, ეს მიდგომა შეიძლება გამოიყენებოდეს ყველაზე განსხვავე-ბული დაავადების გამომწვევი ბაქტერიებისაგან მცენარეთა დაცვისათვის.

არახელსაყრელი ზემოქმედებისადმი და დაბერებისადმი მდგრადი მცენარეების მიღება

ცხოველების უმეტესობისაგან განსხვავებით, მცენარეები ფიზიკურად თავს ვერ იცავენ გარემოს არახელსაყრელი ზემოქმედებისაგან: მაღალი განათებისაგან, ულტრაიისფერი დასხვივებისაგან, მაღალი ტემპერატურისა და მარილების კონცენტრაციისაგან და ა.შ. ამიტომ, ევოლუციის პროცესში მათ გამოუმუშავდათ ექსტრემალური პირობები-სადმი მდგრადობის ფიზიოლოგიური მექანიზმები. ფიზიოლოგიური სტრესის ერთ–ერთ არასასურველ შედეგს წარმოადგენს ჟანგბადის რადიკალების წარმოქმნა. გონივრული იქნებოდა გვევარაუდა, რომ თუ მოხერხდება ჟანგბადის რადიკალების დიდი კონცენტრაციისადმი ტოლერანტული მცენარეების შექმნა, მაშინ ასეთი მცენარეები შეძლებენ წინააღმდეგობის გაწევას სხვადასხვა არახელსაყრელი ზემოქმედებისადმი.

ჟანგვითი სტრესი

ჟანგბადის საკმაოდ გავრცელებული რადიკალი, რომელიც საფრთხეს წარმოადგენს მცენარეებისათვის, არის სუპეროქსიდანიონი. სუპეროქსიდ–დისმუტაზას ფერმენტი ანეიტრალებს ამ შენაერთს,

გადააქცევს მას წყალბადის პეროქსიდად, რომელიც, თავის მხრივ, გარდაიქმნება წყლად ნებისმიერი უჯრედოვანი პეროქსილაზის ან კატალაზის მიერ. ერთ–ერთ ექსპერიმენტში მიღებულ იქნა თამბაქოს ტრანსფორმირებული მცენარეები, რომლებიც ატარებდნენ სუპეროქსიდ–დისმუტაზის გენს ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის 35S-პრომოტორის კონტროლის ქვეშ. ისინი სინთეზირებდნენ სუპეროქსიდ–დისმუტაზას და იყვნენ მდგრადი ჟანგბადის რადიკალების დამაზიანებელი მოქმედებისადმი.

მცენარეებს აქვთ სუპეროქსიდ–დისმუტაზას რამდენიმე იზოფორმა. Cu/Zn (სპილენძ-თუთია) - სუპეროქსიდ – დისმუტაზები უმთავრესად არის ქლოროპლასტებში და მცირე რაოდენობით გვხვდება ციტოზოლში. Mn–სუპეროქსიდ–დისმუტაზები ლოკალიზდება მიტოქონდრიებში, ხოლო ზოგიერთი მცენარე ასინთეზირებს Fe-სუპეროქსიდ–დისმუტაზას. თამბაქოს ტრანსგენური მცენარეები, რომლებიც ატარებენ ქლოროპლასტური Cu/Zn-სუპეროქსიდ–დისმუტაზის კ–დნმ–ს ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის 35S-პრომოტორის კონტროლის ქვეშ, უფრო მდგრადი აღმოჩნდნენ კაშკაშა სინათლის მიმართ, ვიდრე არატრანსფორმირებული მცენარეები. აღმოჩნდა, რომ ტრანსგენურ მცენარეებში ფოტოსინთეზური აქტივობა შენარჩუნებული იყო 94%–ით იმ პირობებში, როდესაც არატრანსფორმირებული მცენარეები მას სრულად კარგავდნენ. ტრანსგენური მცენარეები, რომლებიც ასინთეზირებენ ქლოროპლასტებში აკუმულირებულ Mn–სუპეროქსიდ–დისმუტაზას, იყვნენ სამ–ოთხჯერ ნაკლებმგრძნობიარენი ოზონის დამაზიანებელი მოქმედების მიმართ, ვიდრე საკონტროლო არატრანსფორმირებული მცენარეები.

სუპეროქსიდ–დისმუტაზას დონის ამაღლება იძლევა კიდევ ერთ უპირატესობას: მცენარეები ხდებიან უფრო მდგრადი ჰერბიციდ მეთილ–ვიოლოგენისა და სინათლის ზემოქმედებისადმი. სუპეროქსიდ–დისმუტაზა ხელს უწყობს აგრეთვე მოჭრილი ყვავილების შენახვას ტრანსპორტირების დროს. მათი დაჭკნობა ხდება ჟანგბადის რადიკალების წარმოქმნის შედეგად. შესაძლებელი რომ ყოფილიყო სუპეროქსიდ–დისმუტაზას გენის შემცველი ტრანსგენური მცენარეების შექმნა, რომელიც იმყოფება ყვავილებისათვის სპეციფიკური პრომოტორის კონტროლის ქვეშ, მაშინ ეს გადაავადებდა მათ დაჭკნობას.

მარილის სტრესი

ბევრი მცენარე იზრდება რეგიონებში, სადაც ხშირი გვალვებია ან ძლიერ დამლაშებულია ნიადაგი. ამ პირობებთან შესაგუებლად ისინი ასინთეზირებენ დაბალმოლეკულურ არატოქსიკურ ნივთიერებებს – ოსმოპროტექტორებს. ეს ნივთიერებები ხელს უწყობს წყლის შთანთქმას და შეკავებას, აგრეთვე აბრკოლებს მცენარეთა უჯრედებში არსებული

მაკრომოლეკულების რღვევას მაღალი კონცენტრაციის მარილების ზემოქმედებით. ოსმოპროტექტორები არის კარგად ცნობილი ისეთი შენაერთები, როგორიცაა შაქარი, სპირტი, პროლინი და ამიაკის მეოთხეული შენაერთები. ერთ–ერთ მაღალაქტიურ ოსმოლიტიკად ითვლება ბეტაინი, რომელიც გროვდება ზოგიერთ მცენარეში გვალვის დროს ან მაღალი მლაშიანობის პირობებში.

ზოგიერთ მნიშვნელოვან სასოფლო სამეურნეო კულტურებს, მათ შორის კარტოფილს, ბრინჯს და პომიდორს ბეტაიმის დაგროვების უნარი არა აქვს. ასეთი მცენარეების დაცვა შესაძლებელია მათში ისეთი გენების შეყვანით, რომლებიც ახდენენ ბეტაინის ბიოსინთეზის ფერმენტების კოდირებას. როგორც მცენარეებში, ისე ბაქტერიებში, ბეტაინის სინთეზირება ხდება ქოლინიდან ორ სტადიად. ისეთ მცენარეებს, როგორიცაა ისპანახი, ქოლინის გარდაქმნა ბეტაინალდეჰიდად კატალიზირდება ქოლინმონოოქსიგენაზით, ხოლო შემდგომი გარდაქმნა ბეტანინად – ბეტაინალ–დეჰიდროგენაზით. E.coli–ის ტიპის ბაქტერიებში ორივე სტადია კატალიზირდება ერთი ფერმენტით – ქოლინდეჰიდროგენაზით. ამიტომ თამბაქოს მარილმდგრადი ჯიშების შექმნის დროს გამოყენებული იყო A. tumefaciens. მცენარეული უჯრედების ტრანსფორმაციისათვის Ti–პლაზმიდის საფუძველზე შეიქმნა ვექტორი, რომელიც ატარებს გენს betA E. coli–ს. ის ახდენს ქოლინდეჰიდროგენაზის კოდირებას. გენი იმყოფება ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის 35S-პრომოტორის კონტროლის ქვეშ. მცენარეები, რომლებშიც ექსპრესირებული იქნა გენი betA E. coli, 80%–ზე მეტად იყო მდგრადი მარილების მაღალი კონცენტრაციისადმი (დაახლოებით 300 მმ), ვიდრე არატრანსფორმირებული საკონტროლო მცენარეები. სავარაუდოდ, ოსმოდაცვა შეიძლება უფრო გაძლიერდეს, თუ გენის betA–ის ექსპრესიის კონტროლისათვის გამოვიყენებთ ქსოვილსპეციფიკურ პრომოტორს.

ნაყოფის მომწიფება

ხილისა და ბოსტნეულის ტრანსპორტირებისას სერიოზული პრობლემაა მათი დროზე ადრე (ნაადრევი) მომწიფება და დარბილება. დადგენილია, რომ ნაყოფის მომწიფებისას მცენარეებში აქტივირდება სპეციფიკური გენები, რომლებიც ახდენენ ცელულაზას ფერმენტებისა და პოლიგალაქტურონაზას კოდირებას. თუ ჩავახშობთ ერთი ან რამდენიმე მათგანის ექსპრესიას, მაშინ დამწიფება შეიძლება დაიწყოს უფრო გვიან. აღნიშნული გენების აქტივაციისათვის შექმნილ იქნა ტრანსგენური მცენარეები, რომლებშიც სინთეზირებული იყო ამ გენების ანტიაზრობრივი PHK–ვერსიები.

მცენარეთა ზრდის მარეგულირებელი ეთილენი ინიცირებს მრავალი იმ გენის ექსპრესიას, რომლებიც პასუხისმგებელნი

არიან ნაყოფის მომწიფებასა და დაბერებაზე. იგი სინთეზირდება S-ადენოზილმეტიონინიდან შუალედური პროდუქტის 1–ამინოციკლოპროპან–1–კარბონული მჟავას (ACC) წარმოქმნით. მცენარეთა დამუშავება ქიმიური პრეპარატებით, რომლებიც ახდენენ ეთილენის სინთეზის ბლოკირებას, აჩერებს ნაყოფის დამწიფებასაც და დაბერებასაც. ამრიგად, ნაყოფის დროზე ადრე დამწიფება შეიძლება შევაჩეროთ, თუ ჩავახშობთ მცენარის მიერ ეთილენის სინთეზირების უნარს. ამისათვის შეიძლება სხვადასხვა მიდგომების გამოყენება. ასე მაგალითად, შექმნილი იყო ტრანსგენური მცენარეები, რომლებიც ახდენდნენ იმ ი–რნმ–ს, ACC–სინტაზის, ან ACC–ოქსიდაზის ფერმენტების ანტიაზრობრივი ვერსიების სინთეზირებას, რომლებიც საჭირო იყო მცენარის მიერ ეთილენის სინთეზისათვის. ასეთ მცენარეებში ეთილენის დონე ნორმაზე გაცილებით დაბალი იყო, ამიტომაც ნაყოფი ხანგრძლივი დროით ინახებოდა.

გარდა ამისა, სკრინინგის მეშვეობით იდენტიფიცირებულ იქნა ნიადა-გური ბაქტერიების შტამების დიდი რაოდენობა, რომლებიც არღვევდნენ ACC–ს. ACC–დეზამინაზას ფერმენტის გენი, რომელიც გამოყოფილ იქნა ერთ–ერთი ასეთი შტამიდან, მოთავსებული იყო ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის 35S-პრომოტორის კონტროლის ქვეშ და ჩაშენებული პომიდვრის გენომში. მიღებული მცენარეები ასენთეზირებდნენ ნაკლებ ეთილენს, ვიდრე ნორმალურები, ხოლო მათი ნაყოფი გაცილებით ხანგრძლივი დროით ინახებოდა. ეთილენის შემცირებული შემცველობის ტრანსგენულ მცენარეთა გამოყვანასთან დაკავშირებულ სამუშაოთა უმეტესობა პომიდორს ეხებოდა, მაგრამ ცნობილია იგივე თვისებების მქონე ტრანსგენური მუსკუსური ნესვის შექმნის შესახებაც. ყველა ეს მონაცემი მეტყველებს იმაზე, რომ მოცემული მიდგომა შეიძლება იყოს ძალზე შედეგიანი სხვადასხვა ნაყოფმომცემი კულტურების მიმართაც.

ყვავილების ფერის შეცვლა

მეყვავილეები ყოველთვის ცდილობენ შექმნან მცენარეები, რომელთა ყვავილებს ექნება უფრო მიმზიდველი გარეგნობა და უკეთ შეინახება აჭრის შემდეგ. ტრადიციული შეჯვარების მეთოდების მეშვეობით მრავალი წლის მანძილზე გამოყვანილი იქნა ათასობით ახალი ჯიში, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდება ყვავილების ფერით და ფორმით. მაგრამ მცენარეთა შეჯვარება ძალზე შრომატევადი პროცედურაა, რომელიც მოითხოვს ბევრ დროს და გააჩნია თავისი შეზღუდვები, დაკავშირებული კონკრეტული სახის გენურ პულთან; ამიტომაც, მაგალითად, ვერავინ შეძლო ლურჯი ვარდის გამოყვანა. ალტერნატივის სახით, უჩვეულო ფერის ყვავილების გამოსაყვანად შეიძლება გამოყენებულ იქნეს ანტოციანინების ბიოსინთეზის

ფერმენტთა გენებთან მანიპულაციაზე დაფუძნებული მეთოდები. ანტოციანინები არის ფლავონოიდების კლასის შენაერთები, ყვავილების ყველაზე გავრცელებული პიგმენტები. ისინი სინთეზირდება ფენილალანინის ამინომჟავებიდან რამდენიმე ფერმენტული რეაქციის მსვლელობაში. ყვავილის შეფერილობა განისაზღვრება გვერდითი ჯაჭვის ქიმიური თვისებებით. ამასთან, ციანიდინის წარმოებულები პასუხისმგებელია წითელ ფერზე, ხოლო დელფინიდინის წარმოებულები – ლურჯ ფერზე.

პეტუნიას დიჰიდროფლავონოლ–4–რედუქტაზა ახდენს უფერული დიჰიდროკვერცეტინის გარდაქმნის კატალიზირებას ციანიდინ–3–გლუკოზიდში, წითელი ფერის შენაერთში, ხოლო უფერული დიჰიდრო-მირიცეტინისა – ლურჯ დელფინიდინ–3გლუკოზიდში, მაგრამ არ შეუძლია სუბსტრატის სახით უფერული დიჰიდროკემპფეროლის გამოყენება. თუმცა, პეტუნიას ტრანსფორმაციის შემდეგ სიმინდის დიჰიდროფლავონოლ–4–რედუქტაზას გენით, მისი ყვავილები იღებს აგურისფერ–წითელ შეფერილობას. ეს უჩვეულო ფერი, რომელიც პეტუნიებში ადრე არასდროს შეინიშნებოდა, განპირობებულია ტრანსგენულ მცენარეში პელარგონიდინ–3–გლუკოზიდის სინთეზით დიჰიდროკემპფეროლიდან.

მეყვავილეობის ინდუსტრიის დაახლოებით 70% მოდის ოთხი მცენარის – ვარდის, მიხაკის, ტიტას და ქრიზანთემას წილად. ამიტომ ყველა ძალისხმევა შეცვლილი შეფერილობის ყვავილების მქონე გენეტიკურად ტრანსფორმირებული მცენარეების მისაღებად, მიმართული იყო სწორედ ამ მცენარეებთან მუშაობაზე. მაგალითად, გამოყვანილი იყო ტრანსგენური ქრიზანთემები, რომლებიც ატარებდნენ ხალკონსინტაზას კ–დნმ–ის აზრობრივ და ანტიაზრობრივ კონსტრუქციას. ეს ფერმენტი აკატალიზებს ანტოციანინის ბიოსინთეზის პირველ სტადიას. მეცნიერები გამოდიოდნენ იქედან, რომ აზრობრივი და ანტიაზრობრივი კ–დნმ ჩაახშობს ტრანსგენურ მცენარეებში ხალკონსინტაზას გენის ექსპრესიას. „აზრობრივი სუპრესია“, რომელსაც ასევე „კოსუპრესია“ ეწოდება, იმაში მდგომარეობს, რომ ენდოგენური გენის დამატებითი ასლის თანაობისას ჩაიხშობა შესაბამისი ი–რნმ–ს დაგროვება. ამ მოვლენის მოლეკულური საფუძვლები დღევანდლამდე არ არის დადგენილი, ხოლო ხალკონსინ-ტაზას ანტიაზრობრივი რნმ ბლოკავს ენდოგენური ხალკონსინტაზური ი–რნმ–ს ტრანსლაციას.

აზრობრივი და ანტიაზრობრივი კონსტრუქციები, რომლებიც იმყოფება ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის 35S–პრომოტორის კონტროლის ქვეშ, ჩაშენებული იყო ბინარულ ვექტორში Ti–პლაზმიდების საფუძველზე და შემდეგ შეყვანილი მცენარეთა უჯრედებში. 133 „აზრობრივ“ ტრანსფორმანტებიდან სამს და 83 „ანტიაზრობრივ“ ტრანსფორმანტებიდან სამს ყვავილები თეთრი ჰქონდა, რაც მიუთითებდა ხალკონსინტაზას ენდოგენური გენის ექსპრესიის

ჩახშობაზე, ე.ი. ანტოციანინის სინთეზის ჩახშობაზე. თეთრყვავილიანი მცენარეები ვეგეტატურად მრავლდებოდა კალმებით საველე პირობებში და მათ 90–98%–ში კვლავ თეთრი (და არა ვარდისფერი ყვავილების) წარმოქმნა გრძელდებოდა. ეს სამუშაო მნიშვნელოვანი იყო უჩვეულო შეფერილობის ახალი ჯიშის ყვავილების გამოყვანისათვის, რაც კომერციულ ინტერესს წარმოადგენს.

მცენარეთა საკვები (კვებითი) ღირებულების შეცვლა

წლების მანძილზე აგრონომებმა და სელექციონერებმა დიდ წარმატებებს მიაღწიეს სხვადასხვა სახის სასოფლო სამეურნეო კულტურების ხარისხის გაუმჯობესებისა და მოსავლიანობის გადიდების საქმეში. მაგრამ მცენარეთა ახალი ჯიშების გამოყვანის ტრადიციული მეთოდები, რომლებიც დაფუძნებულია მათ შეჯვარებაზე, ძალზე შრომატევადია და მოითხოვს დიდ დროს, ხოლო მათი შესაძლებლობები შეზღუდულია შესაჯვარებელ ხაზებში გენების ნაკრების შეზღუდვის გამო. გენური ინჟინერიის მეთოდები საშუალებას იძლევა არა მარტო დაჩქარდეს გაუმჯობესებული თვისებების მქონე მცენარეების მიღების პროცესი, არამედ შეიქმნას ახალი ნიშნების მქონე ჯიშები, რომელთა მცენარეებზე გადაცემა შეუძლებელი იქნებოდა შეჯვარების ტრადიციული მეთოდებით. მაგალითად, ლაბორატორიულ პირობებში უკვე მიღებულია გაუმჯობესებული კვებითი თვისებების მქონე ისეთი კულტურები, როგორიცაა სიმინდი და ბარდა. ამასთან, შეცვლილი იყო მათი თესლის ზოგიერთი ცილების მარაგის ამინომჟავური შედგენილობა. გარდა ამისა, შექმნილია ზეთოვანი (როგორც საკვები, ისე არასაკვები) კულტურების ჯიშები ნაყოფების შეცვლილი ცხიმმჟავური (ერბომჟავური) შედგენილობით. აგრეთვე მცდელობა იყო გაეუმჯობესებინათ ხილის გემო მცენარეში ტკბილი გემოს მქონე მონელინის ცილის გენის შეყვანით.

ამინომჟავები

ცილების მარაგები, რომლებიც ითვლება გაღივებული თესლების ნახშირბადისა და აზოტის წყაროდ, შედგება ამინომჟავების შეზღუდული განმეორებადი ნაკრებისაგან. ამ ცილების კვებითი ღირებულება მაღალი არ არის, ვინაიდან მათში არ არის ერთი ან რამდენიმე შეუცვლელი ამინომჟავა (ჩვეულებრივ, ლიზინი ან მეთიონინი). თესლის ცილების მარაგის ამინომჟავური შედგენილობა შეიძლება ოდნავ შეიცვალოს ჩვეულებრივი შეჯვარებით, ხოლო ახლახან ამ მიზნებისათვის გამოყენებული იყო გენური ინჟინერიის მეთოდები.

ერთ–ერთ წინასწარ ექსპერიმენტში თამბაქოს მცენარეში ლობიოდან შეყვანილი იყო ფაზეოლინის გენი, რომელიც ახდენდა ცილის მარაგის კოდირებას და შედგებოდა სხვადასხვა ამინომჟავისაგან. გენი

ეფექტურად ექსპრესირდებოდა, ხოლო ცილის პროდუქტი მიეწოდებოდა საჭირო კომპარტმენტს. გარდა ამისა, თესლის ცილების მარაგის გენების in vitro თანმიმდევრობის სპეციფიკური შეცვლით, შეიძლებოდა საჭირო ამინომჟავური შემადგენლობის ცილის სინთეზირება. თუ ამინომჟავური შეცვლა ხდება მოლეკულის C–დაბოლოების მონაკვეთის ჰიპერვარიაბელური არის მახლობლად, მაშინ მისი სტრუქტურა არ ირღვევა.

ჯაჭვის სწორი ჩაწყობა რჩება თესლების გაღივების დროსაც.

იმისათვის, რომ თესლში გაეზარდათ ლიზინის შემცველობა, იყო მცდელობა დაერღვიათ მისი ბიოსინთეზის რეგულაცია. ამინომჟავები ლიზინი, ტრეონინი, მეთიონინი და იზოლეიცინი სინთეზირდება ასპარტატიდან რამდენიმე ეტაპად. პირველი ეტაპი მდგომარეობს ასპარტატკინაზათი (AK) ასპარტატის ფოსფორილირებაში β–ასპარტილფოსფატის წარმოქმნით. შემდგომ, ლიზინის ბიოსინთეზის დროს, ხდება ასპარგინული β–პოლუალდეჰიდის კონდენსაცია პიროყურძნის მჟავათი, რომელიც კატალიზირდება დიჰიდროდიპიკოლინის მჟავას (DNDPS) სინთაზათი. ორივე (AK და DNDPS) ფერმენტატული აქტივობების რეგულაცია ხორციელდება ლიზინის მეშვეობით უკუკავშირის პრინციპით, რომელიც უნდა გავწყვიტოთ, რათა ლიზინის სინთეზი არაფრით არ იყოს შეზღუდული. ამისათვის იყენებდნენ DNDPS–ს და AK–ს გენებს, რომლებიც არ არის მგრძნობიარე ლიზინით ინჰიბირებისადმი Corynebacterium–დან და E.coli–დან, შესაბამისად. თითოეულ ამ გენთაგანს „მიეკერებოდა“ ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა, რომელიც ახდენდა იმ ლიდერი პეპტიდის კოდირებას, რომელიც ცილების ტრანსპორტირებას ახდენდა ქლოროპლასტებში, ამარაგებდა თითოეულ გენს თესლსპეციფიკური პრომოტორით და შეჰყავდათ ისინი კანოლისა და სოიოს მცენარეების ბინარული ვექტორის შემადგენლობაში Ti–პლაზმიდების საფუძველზე. ტრანსგენური მცენარეების თესლში 100–ჯერ მეტი თავისუფალი ლიზინი იყო, ვიდრე ჩვეულებრივი მცენარეების თესლში; ამასთან ლიზინის შემცველობა კანოლის თესლის ყველა ცილაში ორჯერ მეტი იყო, ხოლო სოიას ცილებში – ხუთჯერ მეტი.

როდესაც სიმინდი გამოიყენება პირუტყვის საკვებად, მას ემატება სოიას ფქვილი და გაწმენდილი ლიზინი. მაგრამ, იმის ნაცვლად, რომ გამოიყენებოდეს ძვირადღირებული ლიზინი, შეიძლება სიმინდს დაემატოს იაფი სოიას ფქვილი, მიღებული სოიას ტრანსგენური მცენარეებიდან, რომლებიც ახდენენ დიდი ოდენობით ლიზინის სინთეზს. შესაძლოა, ამ მიდგომის გამოყენებით, რომელიც წარმატებით გამოიყენებოდა სოიაზე, მოხერხდეს სიმინდის ჯიშის გამოყვანა, რომლის თესლში იქნება ლიზინის მაღალი შემცველობა. ასეთ სიმინდს ექნებოდა დიდი კვებითი ღირებულება.

ლიპიდები

შეფასებების მიხედვით, 1995 წ. მთელ მსოფლიოში წარმოებული იყო დაახლოებით 45 მლრდ. აშშ დოლარის მცენარეული ზეთი, ხოლო 2010 წლისათვის იგი შეადგენდა 70 მლრდ. აშშ დოლარს. ზეთის 90%–ზე მეტი გამოიყენება მარგარინის, ცხიმების, სალათის ზეთების წარმოებისათვის. ზეთოვანი კულტურების დაახლოებით 75% მოდის სოიას, პალმის, რაფსის და მზესუმზირის წილად, ხოლო მათგან მიღებული ზეთები უმთავრესად შედგება შემდეგი მჟავებისაგან: პალმიტინის, სტეარინის, ოლეინის, ლინოლის და ლინოლენის იხ. ცხრილი 5.

გენურიინჟენერიისმეშვეობითშეიძლებაშეიცვალოსგაუჯერებლობის ხარისხი (ე.ი. ორმაგი კავშირების რიცხვი C=C) და ამ მჟავების ჯაჭვის სიგრძე. საველე პირობებში შექმნილი და შემოწმებული იყო კანოლას მრავალი ტრანსგენური ჯიში, რომლებიც ახდენდნენ ზეთების სინთეზირებას შეცვლილი ერბომჟავური შედგენილობით. თითოეული ტრანსგენური ჯიში შეიცავდა ერთ დამატებით გენს. მაგალითად, მცენარეები, რომლებიც ახდენდნენ დიდი რაოდენობით ატეარინის მჟავას სინთეზირებას, ატარებდნენ ატეარატდესატურაზის Brassica–ს ანტიაზრობრივი გენის ასლს; ამასთან, იხშობოდა რაფსის ნორმალური გენის ექსპრესია, რაც იწვევდა სტეარინის მჟავას დაგროვებას, რომელიც ჩვეულებრივ გარდაიქმნებოდა ოლეინის მჟავად. წარმატებები, რომელიც მიღწეული იქნა რაფსის ტრანსგენური ჯიშების

ცხრილი 5.ზოგიერთი მნიშვნელოვანი მცენარეული ცხიმოვანი მჟავები

ჩვეულებრივი სახელწოდება	შემოკლებული აღნიშვნა*
კაპრილის მჟავა	C8:0
კაპრინის მჟავა	C10:0
ლაურინის მჟავა	C12:0
მირისტინის მჟავა	C14:0
პალმიტინის მჟავა	C16:0
სტეარინის მჟავა	C18:0
პეტროზელინის მჟავა	Δ6C18:0
ოლეინის მჟავა	Δ9 C18:0
ლინოლეს მჟავა	Δ9,12C 18:2
ლინოლენის მჟავა	Δ9,12,15C18:3
რიცინოლეინის მჟავა	12OHΔ9C18:1
ერუკის მჟავა	Δ13C22:1

*ინდექსში C –სთან პირველი ციფრი ნიშნავს ნახშირბადის ატომების რიცხვს, მეორე გაუჯერებლობის ხარისხს, ე.ი. ორმაგი კავშირების რიცხვსC=C; ნიშანი Δ შემდეგი რიცხვით ნიშნავს იმ ნახშირბადის

პირველი ატომის ნომერს, რომელიც ქმნის კავშირს C=C; რიცხვი OH–ის წინ მიუთითებს გვერდითი ჰიდროქსილური ჯგუფის მდგომარეობას.

მიღებაში, იმედისმომცემია – მომავალში ეს მიდგომა ფართო გამოყენებას ჰპოვებს და საშუალებას მისცემს მკვლევარებს შექმნან ახალი ჯიშები, რომელთაც კომერციული ღირებულება ექნებათ.

ნაყოფების გემოსა და გარეგნობის შეცვლა

ხილისა და ბოსტნეულის ფერის შეცვლა სერიოზულ პრობლემებს ქმნის მათი რეალიზაციის დროს. კვების პროდუქტების გარეგნობის შეცვლასთან ბრძოლის ერთ–ერთი ხერხია სხვადასხვა საკვები დანამატის გამოყენება, ეს კი სხვა პრობლემებს ქმნის. ასე მაგალითად, ახლახან უსაფრთხოების თვალსაზრისით საეჭვოდ მიიჩნიეს ერთ–ერთი სახის დანამატი – სულფიტები.

ბოსტნეულისა და ხილის ფერის შეცვლა იწყება მონოფენოლებისა და o-დიფენოლების ჟანგვიდან o-ქინონებამდე. პროცესის კატალიზატორია პოლიფენოლოქსიდაზას ფერმენტები. მათი კოდირება ხდება ბირთვული დნმ–ით, აქვთ მოლეკულური მასა დაახლოებით 59 000 და ლოკალიზდება ქლოროპლასტებისა და მიტოქონდრიების მემბრანებში.

იმის ვარაუდი, რომ პოლიფენოლოქსიდაზას ინჰიბირება დაეხმარება ნაყოფის ფერის შეცვლის პრობლემის გადაჭრას, შემოწმებული იყო ტრანსგენურ კარტოფილზე, რომელიც ატარებდა პოლიფენოლოქსი-დაზას სხვადასხვა კ–დნმ–ის კონსტრუქციებს. შექმნილი იყო ვექტორები, რომლებიც შეიცავდა კარტოფილის ფრაგმენტს ან სრულზომიან პოლიფენოლოქსიდაზას კ–დნმ–ს „აზრობრივი“ ან „ანტიაზრობრივი“ ორიენტაციით, რომლებიც იმყოფებოდნენ სამი პრომოტორიდან ერთ–ერთის კონტროლის ქვეშ: ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის 35S-პრომოტორის, გრანულდაკავშირებული სახამებლის სინტაზის გენის პრომოტორის ან პატატინის გენის პრომოტორის კონტროლქვეშ. უკანასკნელი ორი პრომოტორი სპეციფიკურია კარტოფილის ტუბერებისათვის. კარტოფილის ორი კომერციული ჯიში, ტრანსფორმირებული ამ კონსტრუქციებით, იყო მაღალმდგრადი შავლაქიანობის მიმართ (ფერის ფერმენტატული შეცვლა), თანაც მდგრადობის დონე უფრო მაღალი იყო, ვიდრე ის, რომლის მიღწევაც შესაძლებელი იყო ჩვეულებრივი შეჯვარების პირობებში. ტრანსგენური მცენარეები, რომლებიც ატარებენ პოლიფენოლოქსიდაზას კ–დნმ–ს, განზრახ აზიანებდნენ, შემდეგ კი აფასებდნენ მათ მდგრადობას შავლაქიანობის მიმართ. ტრანსგენური მცენარეების უმეტესობა, რომელთა გენომში იყო პოლიფენოლოქსიდაზას გენის ანტიაზრობრივი ვარიანტი, რომელიც ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის 35S-პრომოტორის ან გრანულდაკავშირებული სახამებლის სინთეზის გენის პრომოტორის

კონტროლის ქვეშ იმყოფება,იყვნენ გაცილებით მდგრადი, ვიდრე არატრანსფორმირებულები. კარტოფილის ტუბერებში პატატინის გენის პრომოტორის აქტივობა, სავარაუდოდ, ვლინდებოდა მხოლოდ ნაწილობრივ და პოლიფენოლოქსიდაზას დაგროვება არ ბლოკირდებოდა. ყველა მცენარე, რომლებიც შეიცავდნენ აზრობრივ კონსტრუქციებს, ახდენდნენ დიდი რაოდენობით პოლიფენოლოქსიდაზას სინთეზირებას და უფრო მეტად იყვნენ დაზიანებული, ვიდრე საკონტროლო. თუმცა ეს შედეგები წინასწარი ხასიათისაა, აღწერილი მიდგომა შეიძლება აღმოჩნდეს სასარგებლო კომერციულად ძვირფასი სხვადასხვა მცენარის ნაყოფის ფერის ფერმენტატულ ცვლილებასთან ბრძოლისათვის.

გემოს შეცვლა

უგემური ხილი და ბოსტნეული საეჭვოა რომ სარგებლობდეს მომხმარებელთა მოთხოვნით, მაშინაც კი, თუ მათ გააჩნია მაღალი კვებითი ღირებულება. რა თქმა უნდა, კვების პროდუქტების გემო შეიძლება გაუმჯობესდეს მომზადების პროცესში მარილის, შაქრის, არომატიზატორების ან სხვა დანამატების დამატებით, მაგრამ ეკონომიკური თვალსაზრისით უკეთესი იქნებოდა, თუ კვების პროდუქტებს თავიდანვე ექნებოდათ საჭირო გემური თვისებები და უფრო მადისაღმძვრელად გამოიყურებოდნენ.

აფრიკული მცენარე Dioscorephyllum cumminsii Diels–ის ნაყოფი შეიცავს ცილა მონელინს, რომელიც დაახლოებით 100 000–ჯერ უფრო ტკბილია, ვიდრე საქაროზა ეკვიმოლარული დენობით. ამ ცილას სავსებით შეუძლია იყოს შაქრის შემცვლელი, რომელსაც ის უპირატესობაც გააჩნია, რომ არ არის ნახშირწყალი და არ უნდა მოახდინოს მავნე ზემოქმედება მეტაბოლიზმზე.

მონელინი – ეს არის ორჯაჭვიანი დიმერი; A – ჯაჭვი შედგება 45 ამინომჟავას (ურ) ნარჩენებისაგან, B – ჯაჭვი – 50–საგან. ჯაჭვები ერთმანეთთან დაკავშირებულია სუსტი არაკოვალენტური კავშირებით და ეს ზღუდავს მის, როგორც შემატკბობლის, გამოყენებას, ვინაიდან გათბობის დროს საკვების მომზადების პროცესში ან მჟავების მოქმედების ქვეშ (მაგალითად, ლიმონ – ან ძმარმჟავას) იგი ადვილად დისოციირებს და კარგავს თავის გემოვნურ თვისებებს. ისეთი ტრანსგენური მცენარეების ან მიკროორგანიზმების შექმნის ამოცანა, რომლებსაც უნარი აქვთ მოახდინონ მონელინის სინთეზირება, იმითაც რთულდება, რომ საჭიროა ორი ცალკე გენის კლონირება და კოორდინირებულად ექსპრესირება. იმისათვის, რომ გადაიჭრას ეს პრობლემა, ქიმიურად იქნა სინთეზირებული მონელინის გენი, რომელიც ახდენს A და B ჯაჭვების, როგორც ერთი პოლიპეპტიდის, კოდირებას. შექმნილი იყო პომიდვრისა და სალათის ტრანსგენური

მცენარეები, რომლებიც ასინთეზირებენ ქიმერულ ცილას. ამისათვის იყენებდნენ ორ სხვადასხვა პრომოტორს. პომიდვრის შემთხვევაში ეს იყო E8–პრომოტორი, რომელიც სპეციფიკურია ნაყოფებისათვის და აქტივირდება მათი მომწიფების დასაწყისშივე. სალათის მცენარეებში გენი იმყოფებოდა ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის 35S-პრომოტორის კონტროლის ქვეშ. ორივე შემთხვევაში გამოიყენებოდა ტრანსკრიპციის/პოლიადენილირების ნოპალინსინტაზას გენის ტერმინაციის საიტები Ti–პლაზმიდების შემადგენლობაში. მენელინის სინთეტიკური გენი შეყავდათ მცენარეულ უჯრედებში მათი A. tumefaciens–ით ინფიცირებით, რისთვისაც გამოიყენებოდა კოინგრატიული ვექტორული სისტემა Ti–პლაზმიდებების საფუძველზე. მონელინი აღმოჩენილი იყო სალათის მწიფე და ნაწილობრივ მწიფე ნაყოფსა და ფოთლებში, მაგრამ არა მწვანე პომიდორში, ამასთან მისი შემცველობა პომიდორში იზრდებოდა ეთილენის მცენარეული ჰორმონის კონცენტრაციის მკვეთრი ამაღლებით. ცნობები გენეტიკურად დამტკბარი კვების პროდუქტების გემოვნური თვისებების ყოველმხრივი კვლევების შესახებ ჯერჯერობით არ არის, მაგრამ თუ შედეგები დადებითი აღმოჩნდება, მაშინ ნაყოფების დატკბობის აღწერილი წესი შეიძლება გამოიყენებოდეს მრავალი კულტურისათვის.

მცენარეები, როგორც ბიორეაქტორები

მცენარეები დიდი რაოდენობის ბიომასას იძლევიან, მათი მოყვანა კი დიდ შრომას არ მოითხოვს, ამიტომ გონივრული იქნება შეიქმნას ტრანსგენური მცენარეები, რომელთაც ღირებული ცილებისა და ქიმიკატების სინთეზირების უნარი შესწევთ. რეკომბინანტული ბაქტერიებისაგან განსხვავებით, რომელთა კულტივირება საჭიროა დიდ ბიორეაქტორებში (ამ დროს საჭიროა მაღალკვალიფიციური პერსონალი და ძვირადღირებული დანადგარები), სოფლის მეურნეობის კულტურების მოსაყვანად არ არის საჭირო დიდი სახსრები და კვალიფიციური მუშაკები. ძირითადი პრობლემა, რომელიც შეიძლება წარმოიშვას ბიორეაქტორებად მცენარეთა გამოყენების დროს, დაკავშირებული იქნება მცენარეული ქსოვილის მასიდან შეყვანილი გენის პროდუქტის გამოყოფასთან და ტრანსგენური მცენარეებისა და მიკროორგანიზმების მეშვეობით საჭირო ცილის წარმოების შედარებით ღირებულებასთან. უკვე შექმნილია ექსპერიმენტალური დანადგარები მცენარეთა მეშვეობით მონოკლონური ანტისხეულების, ანტისხეულების ფუნქციონალური ფრაგმენტების და პოლი–β–ჰიდროქსიბუტირატის პოლიმერის მისაღებად, რომლისგანაც შეიძლება დამზადდეს ბიოდეგრადაციას დაქვემდებარებული მასალა.

ანტისხეულები

ანტისხეულებისა და მათი ფრაგმენტების წარმოებას ტრანსგენური მცენარეების მეშვეობით გააჩნია რიგი უპირატესობები რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების უჯრედებში მათი სინთეზთან შედარებით. მცენარეთა ტრანსფორმაცია ატარებს სტაბილურ ხასიათს, უცხო დნმ პრაქტიკულად ჩაშენდება მცენარეულ გენომში, მაშინ როდესაც მიკროორგანიზმების უმეტესობა ტრანსფორმირდება პლაზმიდებით, რომლებიც შეიძლება იკარგებოდეს ხანგრძლივი ან მსხვილმასშტაბიანი ფერმენტაციის მსვლელობაში. გარდა ამისა, მცენარეებში უცხო ცილების პროცესინგი და ჩაწყობა ისეთივეა, როგორც ცხოველურ უჯრედებში, იმ დროს, როდესაც ბაქტერიებში ეუკარიოტული ცილების პროცესინგი, ჩაწყობა და პოსტტრანსლაციური მოდიფიკაციები გაძნელებულია. გარდა ამისა, მცენარეთა მსხვილმასშტაბიანი გამოყვანა არ მოითხოვს დიდ დანახარჯებს და არ არის ლიმიტირებული ფერმენტაციის პროცესების შესაძლებლობებით. და ბოლოს, შეიძლება შეიქმნას პირობები, რომლის დროსაც უცხო ცილები სინთეზირებული იქნება თესლში, სადაც მათი მთლიანობა არ ირღვევა ხანგრძლივი დროის მანძილზე.

პოლიმერები

პოლი–β–ჰიდროქსიბუტირატის (პოლიმერის, რომლისგანაც მიიღება ბიოდეგრადაციას დაქვემდებარებული პლასტიკი) მსხვილმასშტაბიანი ბაქტერიული სინთეზი ძალზე ძვირი ჯდება. ამიტომ საინტერესოა გავარკვიოთ – შეიძლება თუ არა ამ პოლიმერის მიღება ტრანსგენური მცენარეების მეშვეობით. Alcaligenes eutrophus ტიპის ბაქტერიებში პოლი–β–ჰიდროქსიბუტირატი სინთეზირდება აცეტილ–CoA–დან იმ სამი ფერმენტით კატალიზირებად სამ სტადიაში, რომელთა გენები შედიან ერთ ოპერონში. მცენარეებს ერთზე მეტ გენთან ოპერონის ტრანსკრიპტის პროცესირების უნარი არ შესწევთ, ამიტომ თითოეული გენთაგანი ცალ–ცალკე იყო კლონირებული და ჩაშენებული მცენარე Arabidopsis thaliana-ს ქლოროპლასტურ დნმ–ში. ქლოროპლასტები იმიტომ იყო შერჩეული, რომ, როგორც ადრე ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა გვიჩვენა, ციტოპლაზმაში პოლიმერი სინთეზირდებოდა მცირე რაოდენობით, ამასთან მცენარეთა უმეტესობა სუსტი იყო. გარდა ამისა, ქლოროპლასტებში შეიძლება დაგროვდეს სხვა ბიოპოლიმერი – სახამებელი.

პოლი–β–ჰიდროქსიბუტირატის სამიდან თითოეულ გენთაგანს მიუერთეს დნმ–ის ფრაგმენტები, რომლებიც ახდენდნენ ბარდის რიბულოზობიოსფოსფატკარბოქსილაზას მცირე სუბერთეულის ქლოროპლასტურ სასიგნალო თანმიმდევრობის კოდირებას და თითოეული გენი მოთავსებულ იქნა ყვავილოვანი კომბოსტოს

მოზაიკის ვირუსის 35S-პრომოტორის კონტროლის ქვეშ. გენები შეიყვანეს მცენარე Arabidopsis thaliana-ში ბინარული ვექტორების შემადგენლობაში Ti–პლაზმიდების საფუძველზე. შეაჯვარეს ორი ტრანსგენური მცენარე, თითოეული თავისი უცხო გენით, რათა მიეღოთ ქლოროპლასტურ დნმ–ში ჩართული ორი უცხო გენის მქონე მცენარე. შემდეგ ორი უცხო გენის მქონე მცენარე შეაჯვარეს მესამე უცხო გენის მატარებელ მცენარესთან და აწარმოებდნენ იმ მცენარეების გადარჩევას, რომლებიც ატარებდნენ პოლი–β–ჰიდროქსიბუტირატის ყველა სამივე ბაქტერიულ გენს. ზოგიერთი ტრანსგენური მცენარის მომწიფებულ ფოთლებში, რომლებიც ექსპრესირებდნენ სამივე ბაქტერიულ გენს, სინთეზირდებოდა 1 მგ–ზე მეტი პოლი–β–ჰიდროქსიბუტირატი ფოთლის ნედლი ქსოვილის 1 გ–ზე. ეს სამუშაო შეიძლება ჩაითვალოს პირველ მნიშვნელოვან ნაბიჯად იმ სასოფლო–სამეურნეო კულტურების შექმნის საქმეში, რომელთა გამოყენებაც შეიძლება პოლი–β–ჰიდროქსიბუტირატის დიდი რაოდენობით მისაღებად.

თესლში აკუმულირებული უცხო ცილები

ოლეოზინები, ანუ ზეთოვანი ცილები, არის სხვადასხვა მცენარის თესლებში. ისინი ძალზე ჰიდროფობულებია და ასტაბილიზირებენ ზეთოვანებს როგორც დისკრეტულ სტრუქტურებს. ამასთან, მათი N– და C–დაბოლოების მონაკვეთები უფრო ჰიდროფობულებია, ვიდრე მოლეკულის შიდა არე და ექსპონირებულია წყლის გარემოცვაში. გენური ინჟინერიის გამოყენებით შეიძლება შევეცადოთ შევქმნათ რეკომბინანტული ცილები ოლეოზინებიდან და წყალხსნადი ცილებიდან; რეკომბინანტული ცილები აკუმულირებული იქნება ზეთოვან ტელცებში, რაც მათი შედარებით ადვილად გაწმენდის საშუალებას იძლევა. ამასთან წყალხსნადი ცილა ექსპონირებული იქნება წყლის გარემოცვაში და, საშიშროების შემთხვევაში, შესაძლებელი იქნება მისი გამოცალკევება. ეს საშუალებას იძლევა გაცილებით გავაიაფოთ მცენარეებით სინთეზირე-ბული ცილების გაწმენდის პროცედურა.

7. ცხოველთა ბიოტექნოლოგიური რეპროდუქცია

ადამიანებმა ცხოველების მოშენებაზე ზრუნვა მათი მოშინაუ-რებისთანავე დაიწყეს. მიუხედავად იმისა, რომ ადამიანებმა უკვე მაშინ დაიწყეს სასურველი ნიშან-თვისებების მქონე ინდივიდების შერჩევა გამრავლების და მოშენების მიზნით, ახლო წარსულამდე ისინი კონცეპტუალურად ვერ ერკვეოდნენ პროცესის მთელ სისრულეში. წლების მანძილზე ადამიანები მათ მიერ დაგროვილი ცოდნისა

და გამოცდილების შედეგად, უკეთ გაერკვნენ რეპროდუქციის პროცესების დეტალებში. ამ გარემოებამ სასურველი ტიპის ცხოველთა მოშენების პროცესები უფრო ეფექტიანი გახადა.

სასაქონლო ინდუსტრიის თითოეული ასპექტი პირდაპირ დამოკიდებულია ცხოველთა რეპროდუქციაზე. სასოფლო-სამეურნეო საქონლის ეფექტური რეპროდუქციის გარეშე ხორც-პროდუქტების წარმოება და ბაზარზე მიწოდება ყოვლად წარმოუდგენელი პროცესია. გაუმჯობესების ყოველი მცდელობა აღნიშნულ სფეროში გულისხმობს პროცესებში ბიოტექნოლოგიურ ჩარევას. კლონირების თანამედროვე ტექნოლოგიების გამოყენება ცხოველთა რეპროდუქციაში განიხილებოდა წინა თავებში. აქ შევეხებით ცხოველთა გამრავლების უფრო ტრადიციულ ბიოტექნოლოგიურ მეთოდებს.

ხელოვნური განაყოფიერება

ერთ-ერთი ყველაზე უფრო ფართოდ გამოყენებადი ტექნიკა ცხოველ-თა ბიოტექნოლოგიაში ხელოვნური განაყოფიერებაა. ეს პროცესი გულისხმობს მამრობითი ინდივიდის სპერმის გადატანას მდედრი ცხოველის რეპროდუქციულ ორგანოებში არა ბუნებრივი შეჯვარების გზით. აღნიშნული ტექნოლოგია ფართოდ გამოიყენება აგროინდუსტრიაში ცხოველთა მოშენების უმეტეს სეგმენტებში, რომელშიც ჩართულია სპერმის მიმწოდებებლი კომპანიები. მოშენებული ცხოველების უმრავლესობა სწორედ ხელოვნური განაყოფიერების გზით იწარმოება. ეს განსაკუთრებით ეხება რძის მწარმოებებლ კომპანიებს, რომელიც დაფუძნებულია ხელოვნური განაყოფიერების ტექნოლოგიების გამოყენებაზე.

ხელოვნურ განაყოფიერებას ბუნებრივ შეჯვარებასთან მიმართებაში აქვს რამდენიმე უპირატესობა:

1. როდესაც ცხოველი მრავლდება, მეწარმე ყოველთვის დაინტერესებულია ყველაზე მაღალი ხარისხის ცხოველის გამოყვანაში. მაღალი ხარისხის მამრები (მამა ცხოველები) თითქმის ყოველთვის ძვირია და უფრო მეტიც, ხშირად ისინი დეფიციტურია მათზე დადგენილი მაღალი ფასის მიუხედავად. სპერმის ფასი ხელოვნური განაყოფიერებისათვის კი ყოველთვის გაცილებით უფრო დაბალია სასურველი ნიშან-თვისებების მატარებელი მამრი ინდივიდის ყიდვასთან შედარებით;
2. იმ მამრებისათვის, რომელთაც აქვთ სასურველი ნიშან-თვისებები, ყოველთვის ინახება დეტალური ჩანაწერები მათი შთამომავლების შესახებ. ეს მონაცემები, რომელთაც მემკვიდრული მონაცემები ეწოდება, გამოიყენება მამრის ხარისხის დასადგენად. იმის გამო, რომ ერთმა ბუღამ შეიძლება წარმოქმნას რამდენიმე ათასი შთამომავალი, მემკვიდრული მონაცემების საფუძველზე შესაძლებებლია

შთამომავლობის სავარაუდო ვარგისიანობის გამოთვლა. ამერიკული მოშენების სერვისის ანგარიში ერთ-ერთმა მათმა საუკეთესო ხარმა იცოცხლა 12 წელი და წარმოქმნა 462 000 ამპულა თესლი. ამ ხარის მონაცემები საკმაოდ ექსტენსიური იყო და ძალიან დიდი სარგებელი მოიტანა სასურველი ნიშან-თვისებების მქონე მამრების შერჩევაში.

3. ცხოველების მოშენებისას მეწარმეებს აქვთ სხვადასხვა სურვილი და მოთხოვნა მას შემდეგ, რაც მწარმოებელი ზუსტად განსაზღვრავს მიზნებს, იწყება მდედრი და მამრი ცხოველების შერჩევა სასურველი შთამომავლობის მისაღებად. ხელოვნური განაყოფიერების პროცესი მეწარმეს აძლევს მდედრების განსაზღვრული ჯგუფისათვის მამრის სპეციფიკური ტიპის შერჩევის საშუალებას. მაგალითად, ღორის ხორცის მწარმოებელმა შესაძლოა მოისურვოს ცხოველის ზომების გადიდება. მამა ცხოველის მონაცემების გათვალისწინებით, შესაძლებელია ამა თუ იმ ნიშნის მქონე მამრების შერჩევა.
4. უმეტესი მამრობითი სქესის ცხოველები ბუნებრივად აგრესიულები არიან. ეს თვისება ცხოველებს ევოლუციურად ჩამოუყალიბდათ და უპირატეს ნიშნად განიხილება მდედრი ინდივიდებისათვის კონკურენციაში. თუმცა მეწარმეებისათვის, რომლების ინახავენ ასეთ მამრებს შეჯვარების მიზნით, შეიძლება შეექმნათ პრობლემები ცხოველის აგრესიულობასთან დაკავშირებით, რადგან ასეთი ცხოველები საშიშნი არიან. ხელოვნური განაყოფიერების პირობებში მეწარმეები არ არიან ვალდებული შეინახონ ასეთი ცხოველები.
5. ერთ-ერთი რეალური პრობლემა, რომლის წინაშეც მუდმივად დგას მწარმოებელი, არის ცხოველთა დაავადებები. დაავადებების გადაცემა მრავალი გზით არის შესაძლებელი, მათ შორის, სქესობრივი გზით. ბრუცელოზი, ლეპტოსპიროზი, და ვიბრიოზი წარმოადგენს ყველა იმ დაავადებას, რომლის გადაცემაც შესაძლებელია სქესობრივი კონტაქტით. ხელოვნური განაყოფიერების სწორი გამოყენება სრულიად იცავს ცხოველებს სქესობრივი გზით გავრცელებული დაავადებებისაგან.
6. ცხოველების მოშენება მთელი მსოფლიოს მასშტაბით მიმდინარეობს და სათესლე მამრები შეიძლება წარმოებული იქნეს გეოგრაფიულად ძლიერ დაშორებულ ქვეყნებში. ცხოველების ტრანსპორტირება ქვეყნის ფარგლებს გარეთ დაკავშირებულია კარანტინის პროცესებთან, რომელიც ითვალისწინებს ცხოველების იზოლაციაში ყოფნას იმ დრომდე, ვიდრე არ დადასტურდება მათ მიერ დაავადების გადატანის უსაფრთხოება. ეს პროცესი არა მხოლოდ ძალზე ძვირადღირებულია, არამედ ხშირად რამდენიმე თვესაც მოიცავს. გაყინული სპერმის ანუ გენეტიკური მასალის ტრანსპორტირება უსაფრთხო და მომგებიანია დაავადებების გადატანისა და ნაკლები თვითღირებულების თვალსაზრისით.

7. თუ მეწარმე ფლობს თავის საკუთარ მამალ ინდივიდებს, მათი ჩანაცვლების ხარჯები საკმაოდ არსებითია. თუკი მეწარმე კმაყოფილი არ არის არსებული მამრების შთამომავლობით, ძველი მამრი უნდა გაიყიდოს და შეძენილი იქნეს ახალი. ხელოვნური განაყოფიერების გამოყენებით მეწარმემ მხოლოდ უნდა შეუკვეთოს სხვადასხვა მამრის სპერმა და ამ გზით შეარჩიოს მდედრებისათვის სხვადასხვა მამრი.

ხელოვნური განაყოფიერების განვითარება

ისტორიული წყაროებით, ხელოვნური განაყოფიერების პროცესს დასაბამი ჩაუყარეს შუა საუკუნეებში არაბულმა ტომებმა (რომლებიც ჯიშიანი კვიცების მოშენებას მისდევდნენ) და შემდგომ ეს მეთოდი გამოიყენებოდა ასეული წლების მანძილზე.

პირველი მეცნიერული დოკუმენტაცია ხელოვნური განაყოფიერების წარმატებით გამოყენების შესახებ თარიღდება 1780 წლით, როდესაც იტალიელმამეცნიერმალაზაროსპალანზანიმწარმატებითგანახორციელა ძაღლების ხელოვნური განაყოფიერება. ამ მოვლენას ჰქონდა ძალიან შეზღუდული გამოყენება და დაბალი ეკონომიკური ღირებულება. ხელოვნური განაყოფიერების პირველი ფართომასშტაბიანი გამოყენება დაიწყეს პირველი მსოფლიო ომის დროს, როცა ევროპაში შეიქმნა ცხენების დეფიციტი საცხენოსნო ჯარების უზრუნველყოფაში. ომის პროცესში ცხენების უმეტესი ევროპული პოპულაციების განადგურების გამო და ათასობით ცხენზე მოთხოვნილების დასაკმაყოფილებლად, საუკეთესო ხვადებიდან ცხენების სწრაფად გასამრავლებლად რუსმა ფიზიოლოგმა ივანოვმა გამოიყენა ხელოვნური განაყოფიერება. იგივე ტექნოლოგია პრაქტიკაში იქნა გადატანილლი ძროხებისა და ცხვრების გასამრავლებლად XX საუკუნის 20-30-იან წლებში.

ხელოვნური განაყოფიერების უდიდეს პრობლემა ცოცხალი სპერმის შენახვაა. სპერმის სიცოცხლის ხანგრძლივობა 2-3 დღეა. ამრიგად, პრობლემა იყო სპერმის მიღება ზუსტად იმ პერიოდში, როდესაც მასზე საჭიროება (მოთხოვნა) იქმნებოდა. ხელოვნური განაყოფიერების მეთოდურ დახვეწასთან ერთად განვითარდა იდეა სპერმის გაყინვის შესახებ. თუმცა, პრობლემა იყო გაყინვის შემდგომ ცოცხალი სპერმის მცირე რაოდენობის გადარჩენა. მრავალი უშედეგო მცდელობის შემდეგ, 50-იან წლებში შეიმუშავეს წარმატებული ტექნიკა. ახალი ტექნოლოგიის მიხედვით, სპერმას გაყინვამდე გლიცერინის სახით ემატება პროტექტანტი. ნარევის ტემპერატურა მცირდება სპეციფიკური სქემით მანამდე, სანამ იგი არ მიაღწევს -195°C. ამ პირობებში გაყინული სპერმა ინახება მრავალი წლის განმავლობაში. ამ გზით, ხარის სპერმა წარმატებულად შეინახეს 30 წლის განმავლობაში. გაყინულ სპერმასთან შედარებით, ცოცხალი სპერმა უფრო მაღალი კონცენტრაციისაა, თუმცა, ამჟამად, გაყინული სპერმა კომერციულად უფრო ხელმისაწვდომია.

ხელოვნური განაყოფიერების ერთ-ერთი ნაკლი ისაა, რომ ის მეტად შრომატევადი პროცესია, ბუნებრივი განაყოფიერებასთან შედარებით. შეჯვარებისათვის მომწიფების პერიოდში მდედრები მკაცრად უნდა გაკონტროლდნენ. ამავდროულად, ამ პერიოდში უნდა მოხდეს მათი ხელოვნური განაყოფიერება. ამ თვალსაზრისით, მერძეული ძროხების ხელოვნური განაყოფიერება გაცილებით ადვილია. ისინი იწველებიან დღეში ორჯერ სპეციალურ დანადგარებში, რაც აიოლებს მათზე მონიტორინგს. ამის საპირისპიროდ, სახორცე ჯიშები საძოვრებზეა განფენილი და არ კონტროლირდება ყოველდღიურად. ეს გარემოება ართულებს მათ გამრავლებას ხელოვნური განაყოფიერების გზით.

სპერმის შეგროვება და დამუშავება

ხელოვნური განაყოფიერების სასტარტო პროცესი მოიცავს სპერმის შეგროვებას. ეს პროცესი მოითხოვს მცენარეთა ფიზიოლოგიის, ანატომიისა და ცხოველთა ქცევების დეტალურ ცოდნას. თესლის შეგროვება ხდება მაკეტური ცხოველისა და ხელოვნური ვაგინის გამოყენებით. ხელოვნური ვაგინა შედგება მყარი მილისაგან, რომელიც ამოფენილია თბილი წყლით ავსებული გლუვზედაპირიანი შრით. მილის ბოლოს განთავსებულია თესლის შესაგროვებელი სინჯარა. თესლის ეაკულაცია მიმდინარეობს ხელოვნურ ვაგინაში. ეაკულანტის რაოდენობა ვარირებს ცხოველის სახეობასთან დამოკიდებულებით.

ტექნიკური პერსონალი დარწმუნებული უნდა იყოს თესლის სიცოცხლისუნარიანობაში, რათა მან გაუძლოს შემდგომ გაყინვა-გალღო-ბის პროცესს. ამიტომ, თესლის შეგროვების შემდეგ ხდება მისი ლაბორატორიული ანალიზი. თესლი მოწმდება უცხო მინარევების შემცველობასა და ხარისხზე. ხარისხის განსაზღვრა ხდება ერთ მილი-ლიტრ სპერმაში სპერმატოზოიდების აქტივობისა (მობილობა) და სპერმის ფორმის განსაზღვრის მიხედვით. სპერმის მოძრაობის უნარს ძალზე დიდი მნიშვნელობა ენიჭება იმ მანძილის გამო, რომელიც სპერმულმა უჯრედებმა უნდა განვლონ მდედრის კვერცხუჯრედამდე მისაღწევად. სხვადასხვა სახეობიდან მიღებულ სპერმას აქვს განსხვავებული ფორმა. სპერმა მოწმდება იმაში დასარწმუნებლად, რომ მისი ფორმა ნორმალურია. არაბუნებრივი ფორმის სპერმატოზოიდის გამოყენება განაყოფიერები-სათვის სასურველი არ არის.

დეტალური შემოწმების შემდეგ ახდენენ სპერმის შემდგომ დამუშავე-ბას (პროცესინგს). პროცესი გულისხმობს ე.წ. გამახანგრძლივებლების დამატებას, როგორიცაა რძე, კვერცხის გული, გლიცერინი და/ან ანტიბიოტიკები. იმის გამო, რომ ერთი ეაკულაცია შეიძლება ითვლიდეს მილიარდამდე სიცოცხლისუნარიან სპერმას, გამახანგრძლივებელი აგენტების ერთ-ერთი დანიშნულება თესლის განზავებაა. ეაკულატში სპერმის რაოდენობიდან გამომდინარე, ერთი ხარის ეაკულაციის დროს

გამოთავისუფლებული თესლი შეიძლება დანაწევრდეს რამდენიმე დოზად. ამ მიდგომით, ერთი ეაკულაციით რამდენიმე მდედრის განაყოფიერებაა შესაძლებელი.

გამახანგრძლივებლების გამოყენების მეორე მიზეზი სპერმის დაცვაა მისი გაყინვის პროცესში. გარდა ამისა, რიგ შემთხვევაში, აღნიშნული დანამატების დანიშნულება სპერმული უჯრედების საკვებით უზრუნველყოფაც არის. გამახანგრძლივებლების დამატების შემდეგ სპერმას კვლავ ამოწმებენ იმაში დასარწმუნებლად, რომ მან მოძრაობის უნარი შეინარჩუნა. ამის შემდგომ, თესლი გადანაწილდება პატარა, ღრუიან სინჯარებში, რომელსაც 'ჩხირები' (straws) ეწოდება. ჭურჭელი იხუფება, დაედება ნიშანდებული, რომელზედაც აღნიშნულია მწარმოებელი, თარიღი და მამრის სახელი. თესლით სავსე ჭურჭელი იყინება სპეციალური წესით, დაახლოებით -195°C ტემპერატურულ პირობებში, რის შემდეგაც ინახება და ტრანსპორტირდება თხევადი აზოტის რეზერვუარებში.

თესლის გალღობა მიმდინარეობს მისი უშუალოდ მდედრის რეპრო-დუქციულ ტრაქტში მოთავსების წინ. როდესაც ტექნიკური პირობები ცხოველის ხელოვნური განაყოფიერებისათვის მომზადებულია, ჩხირები ფრთხილად ამოაქვთ თხევადი აზოტიდან. თესლის შემცველი სინჯარების გალღობა მიმდინარეობს განსაზღვრულ ტემპერატურულ პირობებში გარკვეული სიჩქარით. ხშირად ამ პროცესს ახორციელებენ სპეციალურ აპარატებში, რომელშიც წყალი თბება გარკვეულ ტემპერატურამდე. სხვა შემთხვევაში, ამ პროცესისთვის იყენებენ წყლით სავსე თერმოსის მაგვარ ჭურჭელს. სინჯარების გალღობა მიმდინარეობს 30 წამიდან 15 წუთამდე დროის ინტერვალში. სწორი გალღობისას სპერმა ჯანმრთელი და მოძრავი რჩება.

თესლის სრულიად გალღობის შემდეგ სპერმის შემცველი ჭურჭელი თავსდება მილისმაგვარ ინსტრუმენტში, რომელიც გამოიყენება თესლის გადასატანად მდედრის ტრაქტში. ამ პროცესს ახორციელებს ტექნიკური პერსონალი სწორ და მსხვილ ნაწლავებში ხელით მანიპულირების გზით საშვილოსნოს ყელის (cervix) მოსათავსებლად. ყელის მოთავსება მიმდინარეობს მდედრის ტრაქტის ჩაჭიდებით მსხვილი ნაწლავის კედლის მხრიდან. როდესაც ყელი მოთავსდება და დამაგრდება საჭირო ადგილას, ტექნიკური პერსონალი ყელში შეიყვანს "ჩხირებს" და მოახდენს სპერმის ინექციას (იხ. გვ.159 სურ. 7-1). მას შემდეგ, რაც სპერმა მოექცევა მდედრის ტრაქტში, განაყოფიერების შემდგომი პროცესი წარიმართება, ისე, როგორც ბუნებრივ პირობებში. ტექნიკური პერსონალი, რომელიც ახორციელებს ხელოვნურ განაყოფიერებას, გადის სპეციალურ მომზადებას, რაც უაღრესად მნიშვნელოვანია პროცესის სწორად ჩატარებისათვის.

ესტრუსის ციკლის კონტროლი

როგორც ზემოთ აღინიშნა, ხელოვნური განაყოფიერებაში ერთ-ერთი სიძნელე ესტრუსის (განაყოფიერებისათვის მზადყოფნის) პერიოდში მდედრი ცხოველების მონიტორინგია. სავარაუდოდ, თუკი მდედების მთელი ფარა ერთროულად მოვა ესტრუსის მდგომარეობაში, პროცესი ნაკლებად შრომატევადი და ძვირადღირებული გახდება. ბიოტექნოლოგიის მიღწევებმა სოფლის მეურნეობის დარგში შესაძლებელი გახადა აგრარული ცხოველების რეპროდუქციული ეფექტიანობის გაზრდა ესტრუსის კონტროლით. ესტრუსი დროის ის პერიოდა, როდესაც მდედრი იძლევა განაყოფიერების უფლებას. ეს მოვლენა კონტროლდება ჰორმონების სეკრეციით ზუსტად განსაზღვრულ დროს. ესტრუსის ციკლი მოვლენათა ჯაჭვია და ორგანიზმში თანამიმდევრულად მიმდინარეობს ჰორმონების გამოყოფის შესაბამისად. თუ მდედრში მოხვდება ჰორმონები გარე წყაროდან, ისინი ასევე გამოიწვევენ ცხოველში ბუნებრივი ჰორმონების მსგავს ეფექტს. მაგალითად, ფოლიკულ-მასტიმულირებელი ჰორმონი (FSH) ასტიმულირებს საკვერცხეში ფოლიკულის მომწიფებას. ფოლიკულიდან კი ვითარდება კვერცხუჯრედი. ცხოველებში აღნიშნული ჰორმონის ინექცია იწვევს კვერცხუჯრედის მომწიფების ციკლის დაწყებას და ვითარდება ესტრუსი. ამ გზით შესაძლებელია ერთდროულად ყველა მდედრის ესტრუსის გამოწვევა და ციკლის სინქრონიზაცია. პროცესის უპირატესობა ისაა, რომ ფარაში ყველა ცხოველის ხელოვნურად განაყოფიერების შესაძლებლობას იძლევა ერთსა და იმავე პერიოდში. ამ გზით ხდება რესურსების დაზოგვა არა მხოლოდ შეჯვარების პერიოდში, არამედ ნამატის მოცემის დროსაც. ამასთანავე, ახალგაზრდა ცხოველების ნაკრები ერთისა და იმავე ასაკის იქნება, რაც გააადვილებს მათი შემდგომი განვითარება/გამოყენების მენეჯმენტს.

ემბრიონის გადატანა

ხელოვნური განაყოფიერება იძლევა საუკეთესო ცხოველების გენეტიკურიმასალისფართოგამოყენებისსაშუალებას.შთამომავლობაში გამოვლენილი გენეტიკური თვისებების დაახლოებით ნახევარი მამრებში ვლინდება. ფაქტიურად, მამრებში გამოვლენილი ეფექტების რიცხვის გაზრდა შესაძლებელია იმის გათვალისწინებით, რომ მამრები ბუნებრივად წარმოქმნიან მილიონობით სპერმატოზოიდს ეს კი იძლევა ყოველწლიურად მილიონობით შთამომავალის მიღების საშუალებას. თუმცა, უმეტესი მდედრი ცხოველები, მაგალითად, ძროხა, წელის მანძილზე შობს მხოლოდ ერთ შთამომავალს. ღორები, ჩვეულებრივ, ორჯერ იძლევიან ნამატს წლის განმავლობაში. წლების მანძილზე მეცნიერები აქტიურად მუშაობდნენ ისეთი ბიოტექნოლოგიების

განვითარებაზე, რომელიც საუკეთესო ცხოველების გენეტიკური ექსპანსიის საშუალებას მოგვცემდა. დღეისათვის ემბრიონის გადატანა ერთი მდედრიდან მეორე მდედრში ჩვეულებრივი, ფართოდ გავრცელებული მოვლენაა. მთელი სიცოცხლის მანძილზე, მდედრი აწარმოებს უამრავ კვერცხუჯრედს, რომელთაგან მხოლოდ მცირე ნაწილი რეალიზდება შთამომავლობის სახით. თუკი საუკეთესო მდედრი ცხოველებისგან შეგროვდება კვერცხუჯრედები და იმპლანტირებული იქნება სხვა ცხოველში, საუკეთესო მდედრს წლის მანძილზე ექნება მრავალი შთამომავლის შობის უნარი.

ემბრიონის გადატანის ბიოტექნოლოგიას აქვს მრავალი უპირატესობა:

1. როგორც ითქვა, ემბრიონის გადატანა ხელს უწობს გენეტიკური მასალის სწარაფ რეალიზაციას მდედრი ცხოველიდან. ისევე, როგორც ხრლოვნური განაყოფიერება იძლევა საუკეთესო მამრიდან მრავალი შთამომავალის მიღების საშუალებას, ასევე ემბრიონის გადატანა იძლევა საუკეთესო მდედრიდან მრავალი შთამომავლის მიღების საშუალებას.
2. ემბრიონის გადატანა მდედრის შთამომავლობის ტესტირების საშუალებას იძლევა. შთამომავლობის ტესტირება გულისხმობს მემკვიდრული მონაცემების შეგროვებას კონკრეტული ცხოველი-სათვის. მონაცემების ანალიზის საფუძველზე განისაზღვრება, რამდენად ვარგისია მშობლად ესა თუ ის ცხოველი. ხელოვნური განაყოფიერების შემთხვევაში, მამრობითი ცხოველების შთამომავლობის ტესტირების განხორციელება შესაძლებელია მოკლე დროში, ვინაიდან ამ დროში მრავალი შთამომავ-ლის მიღებაა შესაძლებელი. მდედრების შთამომავლების ტესტირების პრობლემა იმ მემკვიდრეების გაცილებით მცირე რიცხვია, რომელთა მონაცემების შეგროვებაც იქნებოდა შესაძლებელი. ემბრიონის გადატანის ტექნოლოგიის გამოყენებით შედარებით მცირე პერიოდის განმავლობაში ერთი მდედრიდან მრავალი შთამომავლის მიღებაა შესაძლებელი, რაც იძლევა შთამომავალთა ტესტირების საშუალებას.
3. ისევე როგორც ხელოვნური განაყოფიერების შემთხვევაში, ემბრიონის გადატანა იძლევა საუკეთესო ნიშნის მატარებელი ცხოველების ექსპორტისა და იმპორტის შესაძლებლობას კარანტინის განსაკუთრებული წესების დაცვის გარეშე.
4. ემბრიონის გადატანა იძლევა ორმაგი წარმოების სისტემის განვითარების შესაძლებლობას. მაგალითად, მერძეული ჯიშის ცხოველების მოშენების მიზეზი მათ მიერ რძის წარმოქმნის უნარია. თუ ისინი მოშენდებიან ბუნებრივი ან ხელოვნური განაყოფიერების გზით, ხბოები იქნებიან სანახევროდ მერძეული ცხოველები. ემბრიონის გადატანის შემთხვევაში მერძეულმა ძროხებმა შეიძლება შვან ხბოები, რომლებიც სუფთა სახორცე ჯიშის იქნებიან.

5. რეციპიენტი მდედრის ორგანიზმში ორი ემბრიონის გადატანით შესაძლებელია ტყუპი შთამომავლის მიღება.
6. მეწარმეს შეუძლია სწარაფად გარდაქმნას თავისი ფერმა უბრალოდ ხარისხიანიდან წმინდა ჯიშის ფერმად. შერეული მდედრების წმინდა ჯიშის ემბრიონებით იმპლანტაცით მეწარმეს შეუძლია ფერმა ჩაანაცვლოს ცხოველებით, რომლებიც ერთდროულად მაღალი ხარისხის და წმინდა ჯიშის იქნება.

ზოგიერთი მოსაზრების თანახმად, ემბრიონის გადატანას თან ახლავს რიგი ნაკლოვანებები. მაგალითად, ხელოვნური განაყოფიერების და ემბრიონის გადატანის ტექნოლოგიების გამოყენებამ მრავალი წლის მანძილზე ზოგიერთი საჯიშე ცხოველის გენეტიკური საფუძველი შეავიწროვა. ეს ნიშნავს იმას, რომ გარკვეული დროის შემდეგ დარჩება იმ ცხოველების ძალზე მცირე რიცხვი, რომელთა გენეტიკური მასალის გამოყენება შესაძლებელი იქნება. საშიშროება ისაა, რომ მწარმოებლების მოთხოვნა საუკეთესო ცხოველების მხოლოდ ემბრიონებზე თანდათანობით გამოიწვევს, მათი თვალსაზრისით, უსარგებლო ცხოველების გაქრობას. თუ მხოლოდ არსებული ცხოველები განაშენიანდება, გაძლიერების ნაცვლად ეს ფაქტი გამოიწვევს ჯიშის დასუსტებას. თუმცა, ამ მოსაზრების კონტრარგუმენტად მოიაზრება ის ფაქტი, რომ მრავალფეროვანი გენეტიკური მასალის მსოფლიო მასშტაბით მიმოცვლა ხელს შეუშლის ვიწრო გენეტიკური ხაზების ჩამოყალიბების პროცესს.

ემბრიონის გადატანის პროცესი

ემბრიონის გადატანის პროცესი იწყება დონორი და რეციპიენტი ძროხების შერჩევის პროცესიდან. ძროხები, რომლებიც დონორებად შეირჩევიან, აკმაყოფილებენ უჩვეულო ტიპის მოსაშენებელი ცხოველების სტანდარტებს. ისინი ხასიათდებიან იმ საუკეთესო ნიშან-თვისებებით, რომლებიც უნდა გადაეცეს შთამომავლობას. ეს ნიშან-თვისებები შეიძლება იყოს გაზრდილი წველადობა, ზრდის უნარი, ძლიერი რეპროდუქციის უნარი. ან, სხვა შემთხვევაში, ცხოველები უნდა აკმაყოფილებდნენ საჩვენებელი ტიპის ცხოველების მოთხოვნილებებს. ყველა შემთხვევაში, დონორი ცხოველები განსაკუთრებით ფასეულნი არიან, რათა წლის მანძილზე მოგვცენ მხოლოდ ერთი შთამომავლობა.

მწარმოებელს შეუძლია იყიდოს გაყინული ემბრიონი იმ კომპანიებ-საგან, რომლებიც დასპეციალიზებული არიან გენეტიკურად უპირატესი ემბრიონების წარმოება-გაყიდვაში. ემბრიონის შერჩევა ხორციელდება დონორისა და მამა ცხოველის მონაცემების ანალიზის საფუძველზე. ჩვეულებრივ, ეს მონაცემები მოიცავს ცხოველის წინაპრებისა და მათი შთამომავლების რეპროდუქციის ამსახველ მასალებს. ამ მონაცემების საფუძველზე მწარმოებელი ირჩევს მისთვის სასურველ ნიშან-თვისების მატარებელ ემბრიონს. მეორე მხრივ, მიმღები (რეციპიენტი) ცხოველები

ჩვეულებრივი მონაცემების ძროხებია. თუმცა, მათი შერჩევაც დიდი ყურადღებით ხდება. ისინი არიან ჯანმრთელი ცხოველები, რომლებსაც შესწავთ ეფექტური გამრავლების უნარი. სხვა სიტყვებით, მათ უნდა შესძლონ მაკეობის შენარჩუნება და ჯანმრთელი, ზრდისუნარიანი ხბოს დაბადება. ზოგიერთი მწარმოებელი რეციპიენტად იყენებს მაღალი წველადობის ძროხებს, რათა მათ უზრუნველყონ ნაშიერის რძით გამოკვება.

მას შემდეგ, რაც დონორი და რეციპიენტი ცხოველები შეირჩევა, საჭიროა ორივე ჯგუფის ცხოველების სინქრონიზაცია, რათა ისინი აღმოჩნდნენ ესტრუსის ციკლის ერთსა და იმავე ფაზაში. ეს ფაქტი ხელს უწყობს ემბრიონის ეფექტურ გადანერგვას ერთი რეპროდუქციული სისტემიდან მეორეში. სინქრონიზაციის პროცესები მიმდინარეობს ზემოთ აღწერილი გზით. განსხვავება ისაა, რომ დონორი ცხოველები გადიან ე.წ. სუპეროვულაციის პროცესს, რომლის დროსაც დონორი ცხოველი გამოიმუშავებს ერთის ნაცვლად რამდენიმე კვერცხუჯრედს. ამ გზით, ერთი ოვულაციიდან შესაძლებელია 12-15 კვერცხუჯრედის შეგროვება. სუპეროვულაცია მიიღწევა დონორის ფოლიკულ-მასტიმულირებელი ჰორმონის ინექციით. ამ ჰორმონის გავლენით საკვერცხეში ერთის ნაცვლად, წარმოიქმნება რამდენიმე ფოლიკული. ორი ან სამი დღის შემდეგ ხდება მდედრის ინექცია პროსტაგლანდინით ესტრუსის მდგომარეობაში მის მოსაყვანად. 48 საათის შემდეგ მდედრი მოდის ესტრუსის მდგომარეობაში და ახდენენ ძროხების ხელოვნურ განაყოფიერებას ან ბუნებრივ შეჯვარებას. იმის გამო, რომ ხდება რამდენიმე კვერცხუჯრედის განაყოფიერება, საჭიროა სპერმის მეტი რაოდენობით გამოყენება, რეგულარულ ხელოვნურ განაყოფიერებასთან შედარებით.

განაყოფიერების შემდეგ, განაყოფიერებული კვერცხუჯრედი (ემბრიონი) განაგრძობს ზრდას დედის სხეულში დახლოებით ერთი კვირის განმავლობაში, მერე კი ხდება ემბრიონის შეგროვება. ემბრიონის გადატანის ტექნოლოგიის ადრეულ პერიოდში ემბრიონის მოცილება დედიდან ხდებოდა ქირურგიული ჩარევის გზით. ეს ქმნიდა რიგ პრობლემებს, ვინაიდან ზიანდებოდა დონორი მდედრის რეპროდუქციული ორგანოები. დღეისათვის, ემბრიონების მოცილება ხდება ე.წ. ჩამორეცხვით. ამ პროცესში გრძელი, თხელი რეზინის მილი, რომელსაც კათეტერი ეწოდება, შეყავთ საშვილოსნოს ყელში და საშვილოსნოს რქაში (იხ. გვ. 159 სურ. 7-2). კათეტერთან ასოცირებულია გასაბერი ბურთი, რომელიც ივსება ბალონის მსგავსად და აცობს საშვილოსნოს შესასვლელს. კათეტერით მიმდინარეობს ხსნარის შეყვანა ფალოპის მილაკებში. როდესაც ფალოპის მილაკები და საშვილოსნო სითხით აივსება, სხნარის ნაკადი შეჩერდება და სითხე გამოიტუმბება შესაგროვებელ ცილინდრში. განაყოფიერებული კვერცხუჯრედები (ემბრიონები) გამოყვება ხსნარს. თითოეულ გამორეცხვას, საშუალოდ,

ექვსი ემბრიონი მოჰყვება. როდესაც ყველა ემბრიონი გამოირეცხება, ინფიცირების თავიდან ასაცილების მიზნით საშვილოსნო აივსება სხვა ხსნარით, რომელიც გააუვნებელყოფს დარჩენილ, არგამორეცხილ ემბრიონებს. ემბრიონების შეგროვების შემდეგ, ხდება მათი ხსნარიდან გამოყოფა და ხარისხზე შემოწმება. გადანერგვისათვის გამოიყენება მხოლოდ ნორმალური და დაუზიანებელი ემბრიონები. ემბრიონების გადანერგვა რეციპიენტ ცხოველებში შესაძლებელია მაშინვე. ალტერნატიულ შემთხვევაში, ხდება ემბრიონის გაყინვა და შენახვა რეციპიენტ ცხოველში მის შემდგომ იმპლანტაციამდე.

რეციპიენტი ძროხა ასევე უნდა იქნეს მიყვანილი ესტრუსის მდგომარეობამდე პროსტაგლანდინების ინექციით. როდესაც ყვითელი სხეული (corpus luterum) მიაღწევს შესაბამის ეტაპს, რეციპიენტი ძროხის საშვილოსნოში ახდენენ ემბრიონის განთავსებას. მაკეობის პროცესი მიმდინარეობს ჩვეულებრივი, ნორმალური ჩასახვისშემდგომი პროცესების მსგავსად. კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ ემბრიონის გადატანით გამოწვეული მაკეობა ბუნებრივის მსგავსად, სრულყოფილი ციკლით მიმდინარეობს და მთავრდება ნორმალური ხბოების დაბადებით.

სქესის კონტროლი

იმ ტექნოლოგიების განვითარება, რომელიც იძლევა მხოლოდ მდედრობითი ან მამრობითი სქესის შთამომავლობის მიღების საშუალებას, დიდ სარგებელს აძლევს მწარმოებელს. ეს ფაქტი განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია აგროინდუსტრიის ზოგიერთი ასპექტისათვის. მაგალითად, რძის წარმოებისათვის გაცილებით მეტი მდედრია საჭირო ვიდრე მამარი, ვინაიდან რძეს მხოლოდ მდედრი ცხოველები გამოიმუშავებენ. ტრადიციული შეჯვარების დროს ხბოების დაახლოებით ნახევარი მამრობითი სქესისაა, რომელიც ხშირად სახორცე დანიშნულებით რეალიზდება. ამას თან ერთვის ისიც, რომ მდედრების მერძეული ნიშნით გამოყვანის გამო, მათგან მიღებული მამრი ინდივიდები სახორცე ღირებულებებით დიდად არ გამოირჩევა. აქედან გამომდინარე, მწარმოებელი მოტივირებულია მხოლოდ მდედრი ცხოველების მოშენებაზე.

მეღორეობაში ცხოველების მოშენება ხდება სახორცე ღირებულების გამო. ტახებიდან მიღებული ხორცი მძაფრი სუნით ხასიათდება, აღიქმება როგორც წუნდებული და ამგვარად, მიუღებელია მომხმარებლისათვის. ამ პრობლემის გადასაჭრელად ახდენენ ახალგაზრდა მამრი ღორების კასტრაციას მათ სქესობრივ მომწიფებამდე. ეს პრაქტიკა ძალზედ ეფექტურია, თუმცა შრომატევადია და, ამასთანავე, ჭრილობის მოშუშების პროცესში ცხოველები წონაში იკლებენ. პრობლემის საუკეთესო გადაჭრა იქნებოდა მხოლოდ დედალი ღორების წარმოება, რომელიც შეამცირებდა კასტრაციასთან დაკავშირებულ ხარჯებს და

წარმოების პროცესიც გაცილებით უფრო ეფექტური გახდებოდა. ამას ემატება ის გარემოებაც, რომ მდედრები უფრო სწრაფად იზრდებიან და მათი ხორცი გაცილებით უფრო მჭლეა, დაკოდილი მამრების ხორცთან შედარებით.

მესაქონლეებს, რომლებიც წმინდა ჯიშის ცხოველების მარკეტინგით არიან დაკავებულნი, აქვთ მხოლოდ მამრი ინდივიდების მოშენების ინტერესი. წმინდა ჯიშების გამოყვანის ინდუსტრიაში ხარები უფრო ძვირად ფასობს, ვიდრე მდედრი უშობლები, აქედან გამომდინარე, წარმოების ისეთი ორგანიზაცია, რომლის შედეგადაც განხორციელდება მხოლოდ ხარების გამოყვანა, მეწარმისათვის გაცილებით უფრო სარფიანი იქნება. ხოლო ის მამრები, რომელნიც მოკლებული არიან საუკეთესო სანაშენე ნიშნებს, სახორცედ გაიყიდება.

იგივე სურათია მეფრინველეობის ფერმებშიც, სადაც გამოჩეკილი წიწილების ნახევარი შეიძლება მამლები იყვნენ. ვინაიდან წიწილები უმეტესად სტელაჟის ტიპის გალიებში მოშენდება, ისინი ბროილერის მსგავს სახორცე ჯიშებად ვერ ვითარდებიან. შესაბამისად, მათი ფასიც დაბალია. ამიტომ ამ ტიპის მეფრინველეობაში ძირითად პრიორიტეტი ქათმების ანუ მდედრი ინდივიდების მოშენებაა.

გენეტიკის განყოფილებაში აღინიშნა, რომ ძუძუმწოვრების სქესი განისაზღვრება სასქესო ქრომოსომების კომბინაციით. მდედრებს აქვთ ორი X ქრომოსომა, ხოლო მამრებს – X და Y ქრომოსომა. როდესაც მამრის სათესლეებში სპერმა განვითარდება, მომწიფებული სპერმა შეიცავს X ან Y ქრომოსომას. ამის საპირისპიროდ, მდედრის ყველა კვერცხუჯრედი შეიცავს X ქრომოსომას. შეჯვარების პროცესში ხდება ცხოველის სქესის განსაზღვრა. ემბრიონები, რომელთაც ნაკრებში დაუწყვილდებათ X ქრომოსომები, განვითარდებიან მდედრ ინდივიდებად, ხოლო ემბრიონში XY ნაკრების მქონე ინდივიდი - მამრობითი სქესის ცხოველად ჩამოყალიბდება. ამრიგად, ცხოველის სქესს ფაქტიურად განსაზღვრავს სპერმა, რომელიც კვერცხუჯრედს ანაყოფიერებს.

მრავალი წლის მანძილზე მეცნიერები ცდილობდნენ სქესის მართვას და შესაბამისად, X და Y ქრომოსომების მატარებელი სპერმატოზოიდების დაცალკევებას. ამ მიზნით, გამოიყენეს მრავალი მეთოდი და შეხვდათ ბევრი წარუმატებლობა. 1989 წელს დააპატენტეს ორი ტიპის სპერმის განცალკევების მეთოდი. ეს პროცესი ცნობილია სქესის მართვის (sperm sexing) სახელწოდებით. მეთოდი იყენებს ფლუორესცენტულ საღებავს, რომელიც ადჰეზიას განიცდის სპერმის დნმ-თან. ვინაიდან მდედრი X ქრომოსომა შეიცავს 2.8-დან 7.5 %-მდე უფრო მეტ დნმ-ს ვიდრე მამრობითი Y ქრომოსომა, X ქრომოსომის შემცველ სპერმატოზოიდს მეტი საღებავი უკავშირდება. ამის შემდეგ, საღებავით დამუშავებული სპერმა თავსდება ლაზერის სხივის ქვეშ, რაც იწვევს

საღებავის ნათებას. მდედრი X ქრომოსომა იძლევა უფრო ინტენსიურ ნათებას და მისი გამორჩევა შესაძლებელია მამრი ქრომოსომებისაგან. ხელსაწყო, რომელსაც ციტომეტრი ეწოდება, ნათების ინტენსივობის საფუძველზე ახდენს უჯრედების დახარისხებას სხვადასხვა სინჯარაში. ამ სფეროში უკანასკნელმა მიღწევებმა მეცნიერებს მისცა ხარის თესლის 85-95% სიზუსტით განცალკევების საშუალება. ამ პროცედურის შედეგად მიღებული შთამომავლობა, ყველა თვალსაზრისით, ჯანმრთელი და ნორმალურია. აღნიშნული ტექნოლოგია ეკონომიურად სარწმუნოა და დიდ მოგებას ჰპირდება მეცხოველეობის ინდუსტრიას.

8. მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიები

მცენარეთა ზრდის სიჩქარე და მოსავლიანობა ბუნებრივ პირობებში დამოკიდებულია მათ გენოტიპზე, საკვები ნივთიერებების ხელმისაწვდომობაზე, ნიადაგში სასარგებლო მიკროორგანიზმების არსებობაზე და პათოგენურების (ე.წ. ფიტოპათოგენების, წარმოიშვა სიტყვიდან phyto - მცენარე) არარსებობაზე. სასარგებლო ბუნებრივი ნიადაგის ბაქტერიები და სოკოების ერთი სახეობები პირდაპირ მოქმედებენ, სხვები კი – ირიბად. პირველნი აწვდიან მცენარეებს მათი ზრდის მასტიმულირებელ შენაერთებს, მეორეები კი ახშობენ პათოგენური ნიადაგური მიკროორგანიზმების გამრავლებას, რითაც აფერხებენ მათ ნეგატიურ გავლენას მცენარეზე.

„პირდაპირი მოქმედების“ მიკროორგანიზმებით მცენარეთა ზრდის სტიმულაციის ძირითად მექანიზმებს მიეკუთვნება: 1) მცენარის მიერ შემდგომ გამოყენებული ატმოსფერული აზოტის ფიქსაცია; 2)რკინისა და ფოსფორის ადვილად შესათვისებელი ფორმების წარმოქმნა და/ან ამ სასარგებლო მინერალური ნივთიერებების ნიადაგიდან შთანთქმა და მცენარეებში მიწოდება; 3) მცენარის უჯრედების პროლიფერაციის გამომწვევი ფიტოჰორმონების სინთეზი. მცენარის ზრდის ირიბი სტიმულაცია სასარგებლო მიკროორგანიზმის რომელიმე შტამით გამოვლინდება ფიტოპათოგენური ნიადაგის მიკროორგანიზმის ზრდა–განვითარების შეზღუდვით. ასეთ მოქმედებას ეწოდება ანტიბიოზი და შეიძლება მდგომარეობდეს ან მალიმიტირებელი სუბსტრატის გამოფიტვაში სასარგებლო მიკროორგანიზმებითან იმ შენაერთის სინთეზსა და სეკრეციაში, რომელიც აბრკოლებს ფიტოპათოგენის ზრდას.

იმ მიკროორგანიზმების შტამების შექმნის უკანასკნელი გენეტიკური ექსპერიმენტები, რომლებსაც მცენარეთა უფრო ეფექ-ტურად ზრდის სტიმულირების უნარი შესწევთ, მიმართული იყო ძირითადად შემდეგი ოთხი პრობლემის გადაჭრისკენ.

- აზოტის ფიქსაციის მოლეკულარული მექანიზმები. ყველა კვლევის მიზანი იმაში მდგომარეობდა, რომ შეფასდეს მიკროორგანიზმებით აზოტის ფიქსაციის დონის ამაღლების შესაძლებლობები და, მაშასადამე, შემცირდეს ნიადაგში შესატანი ქიმიური სასუქების რაოდენობა.
- ფესვის კოჟრების წარმოქმნა სიმბიოტური ბაქტერიებით. ამ კვლევების მიზანი იყო იმ რეკომბინანტული ბაქტერიების შექმნა, რომელთაც სიმბიოტურ ბაქტერიებთან კონკურენციის უნარი შესწევთ.
- იმ ნივთიერებათა მიკრობიოლოგიური სინთეზი, რომლებიც ხელატირებენრკინას (სიდეროფორების) შეიცავენ. იმედოვნებენ, რომ შესაძლებელი გახდება მიკროორგანიზმების შტამების მიღება, რომლებიც ჩაახშობენ ფიტოპათოგენების ზრდას.
- ფიტოჰორმონების მიკრობიოლოგიური სინთეზი. ეს გამოკვლევები იმისათვის ტარდება, რათა შეიქმნას იმ ბაქტერიების შტამები, რომლებიც სინთეზირებენ და სეკრეტირებენ ფიტოჰორმონების განსაზღვრულ რაოდენობას, რომლებიც დააჩქარებდა მცენარეთა ზრდას.

გამოკვლევები ამ სფეროში უმთავრესად ტარდება ბაქტერიებზე და არა სოკოებზე. ნაწილობრივ ეს განპირობებულია იმით, რომ სასარგებლო სოკოების მოყვანა ვერ ხერხდება კულტურაში, ამიტომ მათთან მუშაობა ლაბორატორიულ პირობებში ძნელია. გარდა ამისა, შეუძლებელია ამ ორგანიზმების მიღება ინოკულაციისათვის საკმარისი რაოდენობით.

აზოტის ფიქსაცია

აზოტი (N_2) – არის აირი, მის წილად (მოცულობით) მოდის ჰაერის (რომლითაც ჩვენ ვსუნთქავთ) დახლოებით 80%. მცენარეები და ცხოველები ვერ იყენებენ მას მათთვის საჭირო ბიოლოგიური აზოტშემცველი ამინომჟავებისა და ნუკლეიდების ტიპის შენაერთების უშუალო სინთეზისათვის; წინასწარ აზოტი უნდა შევიდეს ამიაკის შემადგენლობაში (დაფიქსირდეს). ეს მოითხოვს დიდ ენერგეტიკულ დანახარჯებს, ვინაიდან სამმაგი კავშირი მოლეკულაში ძალზე მყარია (მაგარია) N_2 (N≡N) და საჭიროა წინასწარ გაწყდეს. აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაციისათვის ენერგია გამონთავისუფლდება ადენოზინტრიფოსფატის (ATP) დიდი რაოდენობების ჰიდროლიზის დროს. N_2–ის ქიმიური (სამრეწველო) გარდაქმნისათვის ამიაკად გამოიყენება მაღალი ტემპერატურა და წნევა.

კვების მრეწველობის მოთხოვნილებათა დასაკმაყოფილებლად სოფლის მეურნეობის პროდუქციაში ყოველწლიურად საჭიროა 100 მლნ ტონაზე მეტი შეკავშირებული აზოტი. ამ რაოდენობის დაახლოებით ნახევარს შეადგენს სინთეტიკური (ქიმიურად სინთეზირებული)

სასუქები, ხოლო მეორე ნახევრის უმეტესობას მცენარეები იღებენ აზოტფიქსირებული (დიაზოტროფული) Rhizobium, Frankia, Azospirillum, Azotobacter ტიპის ბაქტერიებისაგან და ციანობაქტერიებისაგან.

ქიმიური სასუქების გამოყენების წყალობით შესაძლებელი გახდა სასოფლო სამეურნეო კულტურების მოსავლიანობის მნიშვნელოვანი ამაღლება, მაგრამ მათი ხანგრძლივი გამოყენება იწვევს ნიადაგის დაბინძურებას და მასში საკვები ნივთიერებების მარაგების გამოფიტვას. ამასთან, ქიმიური სასუქები სულ უფრო ძვირი ხდება. ყოველივე ეს შეკავშირებული აზოტის ალტერნატული წყაროების მოძიების სტიმული გახდა, კერძოდ, დიაზოტროფული მიკროორგანიზმების შტამების შესაქმნელად, რომელთა გამოყენება შესაძლებელი იქნება „ბაქტერიული სასუქების“ სახით.

აზოტის ფიქსაციის უნარი გააჩნიათ სხვადასხვა სახის ბაქტერიებს და ბევრი მათგანი, ფაქტობრივად, შეიძლება გამოიყენებოდეს როგორც სასუქი. თუმცა მანამდე, ვიდრე არ გახდება ნათელი, რომ ბაქტერიული სასუქები ისეთივე ეფექტურია, როგორც ქიმიური, სავარაუდოდ, ძნელი გადასალახავი იქნება სასოფლო სამეურნეო პროდუქციის მწარმოებელთა კონსერვატიზმი და ამჟამად გამოყენებული მიდგომების შეცვლა. მაგალითად, სასოფლო–სამეურნეო კულტურა – სოია – აყალიბებს სიმბიოტურ დამოკიდებულებას ბაქტერიასთან Bradyrhizobium japonicum. ასეთი სიმბიოზის შედეგად ბაქტერიები უზრუნველყოფენ მცენარეს შეკავშირებული აზოტით, ხოლო თვითონ იღებენ მისგან ნახშირბადის ადვილად შესათვისებელ ფორმებს, რომლებიც წარმოიქმნება ფოტოსინთეზის დროს. B. japonicum–ის ზოგიერთი შტამების მიერ მცენარეთა ინოკულაციის შემდეგ მცენარეული ბიომასის საბოლოო გამოსავალი შეიძლება გაიზარდოს 25–50%–ით და უკვე აღარ იქნება საჭირო ქიმიურად შეკავშირებული აზოტის არავითარი დანამატი.

მიკროორგანიზმები, რომლებიც ამჟამად გამოიყენება სოფლის მეურნეობაში, ძირითადად ორი სახისაა –Rhizobium და Bradyrhizobium. ეს არის გრამუარყოფითი, ჩხირისებური ბაქტერიები, რომლებიც იმყოფებიან პარკოსნებთან სიმბიოზში.Rhizobium–ისა და Bradyrhizobium–ის თითოეული სახეობა სპეციფიკურია მცენარეთა მცირე რიცხვის სახეობათა მიმართ და არ ურთიერთმოქმედებენ მცენარეებთან, რომლებიც არ არის მათი ბუნებრივი პატრონი (იხ. გვ. 116 ცხრ. 6).

სიცოცხლის ციკლის განსაზღვრულ სტადიაზე Rhizobium აღწევს მცენარის ფესვის უჯრედებში და ცვლილებათა კომპლექსის ინიცირებას ახდენს. ეს იწვევს ფესვთა კოჟრების ჩამოყალიბებას. ფესვთა კოჟრების შიგნით ბაქტერიები სწრაფად პროლიფერირებენ და არიან ისეთი ფორმით, რომ არ გააჩნიათ უჯრედის კედელი.

ცხრილი. 6 Rhizobium–ისა და Bradyrhizobium–ის სახეობების სპეციფიკურობა სხვადასხვა მცენარეის მიმართ

ბაქტერიები	მცენარე–პატრონი
Bradyrhizobium japonicum	სოია
Rhizobium meliloti	იონჯა
Rhizobium leguminosarum bv. trifolii	სამყურა
Rhizobium leguminosarum bv. viciae	ბარდა, ლობიო
Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli	ლობიო ოქროსფერი
Rhizobium loti	ლოტოსი
Rhizobium huakuiiAstragalus sinicus	
Rhizobium ciceri	თურქული ბარდა
Rhizobium tropici	Leucaena spp., Macroptilium spp
Rhizobium galegae	Galega officialis, G.orientalis
Rhizobium fredii	სოია
Rhizobium sp. შტამმი NGR 234	ტროპიკული პარკოსნები
Rhizobium elti	ლობიო ჩვეულებრივი ლობიო ოქროსფერი
Bradyrhizobium elkanii	სოია

კოჟროვანი ბაქტერიები ატმოსფერულ აზოტს აკავშირებენ ფერმენტ ნიტროგენაზის მეშვეობით. სტრუქტურული და ბიოქიმიური ურთიერთქმედებები სიმბიონტებს – Rhizobium და პატრონ–მცენარეს შორის – საკმაოდ რთულია და ურთიერთსასარგებლო. კოჟრების შიგნით ნიტროგენაზა დაცულია ატმოსფერული ჟანგბადის ტოქსიკური მოქმედებისაგან ორი საშუალებით. ჯერერთი, ჟანგბადი პრაქტიკულად ვერ აღწევს კოჟრებში, მეორეც – ჟანგბადის შემცველობა კოჟრების შიგნით რეგულირდება ცილა ლეგჰემოგლობინით. ამ ჟანგბადდამაკავში-რებელი ცილის ჰემური კომპონენტი სინთეზირდება ბაქტერიით, ხოლო მოლეკულის გლობინური ნაწილი კოდირებულია მცენარის გენომით. მცენარე უზრუნველყოფს ბაქტერიებს ზრდისათვის საჭირო ნახშირბადის დამაკავშირებელი ფორმებით, რომლებიც წარმოიქმნება ფოტოსინთეზის დროს, ხოლო მცენარე სარგებლობს ამ სიმბიოტური დამოკიდებულებით და იღებს ბაქტერიისაგან შეკავშირებულ აზოტს.

ნიტროგენაზა

დიაზატროფებისადმი, როგორც ბიოლოგიური სასუქებისადმი, ინტერესი მას შემდეგ გაჩნდა, როდესაც შემუშავებული იქნა გენების გამოყოფისა და მოდიფიკაციის მეთოდები. ამან ახალი სტიმული მისცა აზოტის ფიქსაციის ბიოქიმიურ და მოლეკულურ–ბიოლოგიური მექანიზმების შესწავლას. მეცნიერები იმედოვნებდნენ, რომ ამ

გამოკვლევების მეშვეობით შესაძლებელი იქნებოდა უფრო ეფექტური აზოტდამაფიქსირებელი მიკროორგანიზმების შექმნა, რაც ხელს შეუწყობდა სასოფლო სამეურნეო კულტურების მოსავლიანობის ამაღლებას, ხოლო ზოგიერთი მკვლევარი ვარაუდობდა აზოტის ფიქსაციის ბაქტერიული გენების შეყვანას უშუალოდ მცენარეში, რათა ასეთ მცენარეებს შეძლებოდათ თვითონ დაეფიქსირებინათ აზოტი. თუმცა ამ ძალზედ თამამი გეგმების განხორციელება ვერ მოხერხდა, აზოტის ფიქსაციის პროცესი დეტალურად იქნა შესწავლილი ისე, რომ ზოგიერთი დიაზოტროფების გენურინჟინრული სრულყოფის შესაძლებლობა უფრო რეალური გახდა.

ნიტროგენაზის გენების კლასტერის გენური ინჟინერია

აზოტის ფიქსაცია ძალზედ რთული პროცესია, რომელიც მოითხოვს მრავალი სხვადასხვა ცილის შეთანხმებულ მოქმედებას. ამიტომ, სავარაუდოდ, შეუძლებელია მოველოდეთ, რომ მთელი გენეტიკური ინფორმაცია, რომელიც საჭიროა აზოტის ფიქსაციისათვის, განთავსებული იქნება დნმ–ის რომელიმე ერთ ფრაგმენტში, რომ შესაძლებელი იქნება ამ ფრაგმენტის გამოყოფა დიაზოტროფული მიკროორგანიზმის გენომიდან და არადიაზოტროფულ ორგანიზმში გადატანა. გასათვალისწინებელია აგრეთვე, რომ ფიზიოლოგიური პირობები რეციპიენტის ორგანიზმში უნდა იყოს მოსარგები აქტიური ნიტროგენაზის ფუნქციონირებისათვის. აზოტფიქსაციის გენების (nif-გენების) გამოყოფის უფრო მისაღები ხერხი იმაში მდგომარეობდა, რომ იდენტიფიცირებული და დახასიათებული ყოფილიყო ველური ტიპის დნმ–ის ბიბლიოთეკის ის კლონები, რომლებიც აღადგენენ მოცემული მიკროორგანიზმის სხვადასხვა მუტანტების უნარს დააფიქსირონ აზოტი. ასეთ მეთოდს ეწოდება გენეტიკური კომპლემენტაცია.

კომპლემენტაციის მეთოდით იდენტიფიცირებული პირველი nif-გენები გამოყოფილი იყო დიაზოტროფული ბაქტერიის Klebsiella pneumoniae-ის კლონების ბანკიდან. ეს არის კარგად შესწავლილი ენტერობაქტერია, რომელიც გამოვლენილია ნიადაგსა და წყალში, აგრეთვე ადამიანის ნაწლავებში.

ჰიდროგენაზა

აზოტის ფიქსაციის არასასურველი გვერდითი რეაქცია არის – H^+-ის აღდგენა ნიტროგენაზით H2-მდე (აირადი წყალბადი), რომლის მსვლელობაში ენერგია (ATP–ის ფორმით) იხარჯება წყალბადის წარმოქმნაზე, რომელიც საბოლოოდ უბრალოდ ორთქლდება. შედეგად, ნიტროგენაზის კომპლექსზე გამავალი ელექტრონების მთელი ნაკადის მხოლოდ 40–და 60%–მდე გადაეცემა N_2-ს, რაც მნიშვნელოვნად ამცირებს აზოტის ფიქსაციის პროცესის ეფექტურობას. ფაქტობრივად, H_2-ს რომ

შეძლებოდა კვლავ H^+-ში გარდაქმნა, ენერგიის დანაკარგები ნაკლები იქნებოდა და აზოტის ფიქსაციის პროცესი უფრო ეფექტური გახდებოდა. ამ გვერდითი რეაქციის აღმოფხვრა პირდაპირი გზით შეუძლებელია, ვინაიდან იგი განპირობებულია ნიტროგენაზის აქტიური ცენტრის ქიმიური აგებულების თავისებურებებით. თუ შევეცდებით მის ბლოკირებას ფერმენტის სტრუქტურის შეცვლით და მაშინ გარდუვალი იქნება ნიტროგენაზის აქტივობის შემცირებაც.

კოჟრების წარმოქმნა

სოფლის მეურნეობის ბიოტექნოლოგიის ერთ–ერთი ძირითადი ამოცანაა გენური ინჟინერიის მეშვეობით Rhizobium–ის შტამების შექმნა, რომლებიც გაზრდიდნენ მცენარეთა მოსავლიანობას უფრო ეფექტიანად, ვიდრე ბუნებრივი შტამები. ბაზარზე არსებული ბევრი შტამი – ინოკულატები, საუცხოო აზოტფიქსატორები – შეიქმნა მუტაგენეზისა და შემდგომი შერჩევის გზით, თუმცა ისინი არასაკმარისად სტიმულირებენ პატრონ–მცენარის ფესვებზე კოჟრების წარმოქმნას ნიადაგში უკვე არსებულ ბუნებრივ შტამებთან კონკურენციის პირობებში. ზოგჯერ ხდება პირიქით – ბევრი ბუნებრივი შტამი წარმატებით ართმევს თავს კონკურენციას ლაბორატორიულ შტამებთან, მაგრამ ნაკლებეფექტურნი არიან აზოტის ფიქსაციის მიმართ. მაშასადამე, იმისათვის, რომ შეიძლებოდეს ბაზარზე არსებული მაინოკულირებელი შტამების რეალურად გამოყენება, საჭიროა ან ავამაღლოთ კოჟრების წარმოქმნისადნი მათი უნარი, ან მოვაშოროთ მათ ბუნებრივი Rhizobium–ის შტამები.

კოჟრების წარმოქმნის გენების (nod–გენების) იდენტიფიკაციისათვის კვლავ იქნა გამოყენებული გენეტიკური კომპლემენტაცია. კოჟრების წარმოქმნის უუნარო (Nod-) მუტანტური შტამი R. meliloti ტრანსფორმირებულ იქნა ქრომოსომული დნმ–ის კლონების ბანკის მიერ ველური ტიპის R. meliloti და გამოყვეს კოლონიები, რომელთაც შესწევდათ უნარი იონჯას ფესვებზე წარმოექმნათ კოჟრები.

პათოგენური მიკროორგანიზმების ბიოკონტროლი

მცენარეების მასტიმულირებელ ბაქტერიებს შეუძლიათ იმოქმედონ პირდაპირ ან ირიბად. პირდაპირი სტიმულაცია ჩვეულებრივ მდგომარეობს მცენარისათვის ბაქტერიის მიერ სინთეზირებული რომელიმე შენაერთის (ეს შეიძლება იყოს, მაგალითად, შეკავშირებული აზოტი) ან მცენარეული ჰორმონის მიწოდებაში. გარდა ამისა, ბაქტერიებს შეუძლიათ გააადვილონ მცენარის მიერ გარემოდან ზოგიერთი ნივთიერების, მაგალითად, რკინის ან ფოსფორის შთანთქმა. ირიბი სტიმულაცია იმაში მდგომარეობს, რომ ბაქტერიები ამცირებენ ან აღმოფხვრიან ერთი ან რამდენიმე ფიტოპათოგენური ორგანიზმის

– სოკოებისა და ბაქტერიების მავნე გავლენას. ფიტოპათოგენებს შეუძლიათ სასოფლო სამეურნეო კულტურების მოსავლიანობის შემცირება 25–100%–ით, რაც დიდი ზარალის მომტანია. ჩვეულებრივ, მათთან ბრძოლისათვის გამოიყენება ქიმიკატები. სამწუხაროდ, უმეტეს შემთხვევაში მცენარეებში დაავადებების სიმპტომები საკმაოდ დიდხანს არ მჟღავნდება, მანამდე, სანამ გარემოში ცვლილებები არ გამოიწვევს ბაქტერიების პროლიფერაციას და დაავადების სწრაფ განვითარებას, შედეგად კი – მთელი მოსავლის დაკარგვას (დაღუპვას, განადგურებას). ასეთი გავრცელებული ეპიდემიების კონტროლი ძნელად განსა-ხორციელებელია და მოითხოვს დიდ ფულად დანახარჯებს.

ფიტოპათოგენებთან ბრძოლისათვის გამოყენებული ბევრი ქიმიკატი საფრთხეს წარმოადგენს ცხოველებისათვის და ადამიანისათვის; ისინი გროვდება ბუნებრივ ეკოსისტემებში და დიდხანს არის შენარჩუნებული იქ. ამიტომ მიზანშეწონილი იქნებოდა შეიცვალოს პათოგენური მიკროორგანიზმების მოსპობის ქიმიური წესები ბიოლოგიურით, რომელიც გარემოსთვის უფრო „ხელსაყრელია“. ფიტოპათოგენების კონტროლისადმი ერთ–ერთი ბიოლოგიური მეთოდთაგანი მდგომარეობს ტრანსგენური მცენარეების შექმნაში, რომლებიც მდგრადია ერთი ან რამდენიმე პათოგენური მიკროორგანიზმის მიმართ. იყო აგრეთვე მცდელობა გამოეყენებინათ ბიოკონტროლის ინსტრუმენტად მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიები. ასეთი ბაქტერიები სინთეზირებენ შენაერთებს, რომელთა გამოყენებაც შეიძლება ფიტოპათოგენების მიერ მცენარეებისათვის მიყენებული ზარალის შესამცირებლად. მათ რიცხვს მიეკუთვნება სიდეროფორები და ანტიბიოტიკები, აგრეთვე სხვადასხვა ფერმენტი. თუმცა, მიუხედავად ამ მიდგომის მთელი პერსპექტიულობისა, თითქმის ყველა გამოკვლევა ტარდებოდა ჯერ მხოლოდ ლაბორატორიულ პირობებში, ზრდის კამერებში ან სათბურებში. ამა თუ იმ სტრატეგიის სარგებლიანობის შესახებ საბოლოო დასკვნის გაკეთება, რომელიც დაფუძნებული იქნება რომელიმე კონკრეტული მექანიზმის გამოყენებაზე, შეიძლება მხოლოდ საველე ცდების ჩატარების შემდეგ.

სიდეროფორები

რკინა - ეს დედამიწაზე ერთ–ერთი ყველაზე უფრო გავრცელებული ელემენტია, რომელიც აუცილებელია ცოცხალი ორგანიზმებისათვის. მაგრამ იმ ფორმით, რომელშიც რკინა არის ნიადაგში, იგი პირდაპირ ვერ გამოიყენება მიკროორგანიზმების მიერ. საქმე იმაშია, რომ უმეტესი მისი ბუნებრივი ფორმაა სამვალენტიანი იონები. მათი ხსნადობა ძალზე დაბალია – pH –ის პირობებში იგი დაახლოებით 10–18 M ტოლია და ეს რაოდენობა სრულიად არასაკმარისია მიკროორგანიზმების ზრდისათვის. ამ პირობებში გადარჩენისათვის

ნიადაგის მიკროორგანიზმები სინთეზირებენ და სეკრეტირებენ მცირე დაბალმოლეკულურ რკინადამაკავშირებელ შენაერთებს, რომელთა მოლეკულური მასა დაახლოებით 400–1000–ია და ისინი ცნობილია სიდეროფორების სახელწოდებით. ისინი ეფექტურად იკავშირებენ Fe (III) და მის ტრანსპორტირებას ახდენენ მიკროორგანიზმების უჯრედებისაკენ, სადაც რკინა უკავშირდება უჯრედის რეცეპტორებს და ხვდება უჯრედების შიგნით. აქ რკინა გამონთავისუფლდება და შეიძლება გამოიყენებოდეს მიკროორგანიზმების მიერ.

მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიები ახშობენ ფიტოგენური სოკოების პოლიფერაციას, ასინთეზირებენ რა სიდეროფორებს, რომლებიც იკავშირებენ Fe (III)–ის უმეტეს ნაწილს, რაც იმყოფება უშუალოდ მცენარის ფესვთან არსებულ ნიადაგის ფენაში (რიზოსფეროში). ფიტოპათოგენური სოკოებიც ასინთეზირებენ სიდეროფორებს, მაგრამ ისინი ჩვეულებრივ რკინისადმი უფრო დაბალი მონათესავეობით ხასიათდებიან, ვიდრე სიდეროფორები, რომლებიც სინთეზირდება მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიებით. ეს ხელს უწყობს უკანასკნელებს უპირატესობა მოიპოვონ ფიტოპათოგენურ სოკოებთან არსებული რკინისათვის კონკურენტულ ბრძოლაში.

ფიტოპათოგენური მიკროორგანიზმებისაგან განსხვავებით, მცენარეები, როგორც წესი, არ „განიცდიან“ ნიადაგში რკინის ლოკალურ გამოფიტვას მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიების მიერ მისი შთანთქვის გამო. მცენარეთა უმეტესობას მიკროორგანიზმებთან შედარებით შეუძლია ზრდა–განვითარება რკინის გაცილებით ნაკლები კონცენტრაციის დროს. გარდა ამისა, არსებობს მონაცემები, რომ რკინა, დაკავშირებული ბაქტერიალური სიდეროფორებით, შეიძლება ასიმილირებული იქნეს მცენარეების მიერ და გამოიყენებოდეს მათ მიერ თავის საჭიროებისათვის.

ანტიბიოტიკები

მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიების მიერ ფიტოპათოგენების პოლიფერაციის ჩასახშობად გამოყენებული ერთ–ერთი ყველაზე ეფექტიანი მექანიზმია ანტიბიოტიკების სინთეზი.

მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიების უნარი – ჩაახშონ ფიტოპათოგენების პოლიფერაცია, შეიძლება ამაღლდეს, თუ ამ ბაქტერიებში შევიყვანთ გენებს, რომლებიც, ჩვეულებრივ, ახდენენ სხვა ბაქტერიების მიერ სინთეზირებული ანტიბიოტიკების ბიოსინთეზის კოდირებას. ეს საშუალებას იძლევა გავაფართოვოთ ფიტოპათოგენების სპექტრი, რომელთა ზრდის ჩახშობის უნარი აქვს ერთ ბაქტერიას. უფრო მეტიც, შევზღუდავთ რა სხვა ნიადაგური მიკროორგანიზმების გამრავლებას, მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელ ბაქტერიებს, რომლებიც სეკრეტირებენ ანტიბიოტიკს, უადვილდებათ პროლიფერაციას, ვინაიდან მათ უმცირდებათ შეზღუდული საკვები

რესურსებისათვის კონკურენტთა რიცხვი, ხოლო გენური ინჟინერიის მეთოდის მეშვეობით დროთა მანძილზე შეიძლება გაიზარდოს ბაქტერიული ანტიბიოტიკების გამოსავლიანობა.

სინთეზიუმეტესისოკოსაწინააღმდეგომეტაბოლიტებისა,რომლებიც პროდუცირდება ფსევდომონადებით, სავარაუოდ, კონტროლირდება ცილით, რომელიც მოქმედებს როგორც ტრანსკრიპციის საერთო მარეგულირებელი ფაქტორი; მაშასადამე, ანტიბიოტიკის სინთეზის დონე შეიძლება ავამაღლოთ საერთო რეგულაციით.

ფერმენტები

მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ზოგიერთი ბაქტერიები ასინთეზირებენ ისეთ ფერმენტებს, როგორიცაა ქიტინაზა, β–1, 3–გლუკანაზა, პროტეაზა და ლიპაზა, რომლებიც არღვევენ სოკოების უჯრედულის კედელს. ერთ–ერთ ექსპერიმენტში მოხერხდა ფიტოპათოგენური სოკოებით – Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii და Pythium ultimum გამოწვეული დაავადებების წარმოშობის სიხშირის შემცირება Pseudomonas cepacia შტამის მეშვეობით, რომელიც ფერმენტ β–1, 3–გლუკანაზას სინთეზირებას ახდენს, რომლებიც არღვევდნენ სოკოს მიცელიუმს. სხვა გამოკვლევებით აღმოჩნდა, რომ მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი სამი შტამის Enterobacter agglomerans სოკოსსაწინააღმდეგო აქტივობა განპირობებულია მათში ოთხი სხვადასხვა პოლიპეპტიდისაგან შემდგარი კომპლექსის არსებობით, რომლებიც ერთობლივი მოქმედებით, ყოფენ სოკოების უჯრედის (ოვანი) კედლის ქიტინს. ეს ბაქტერიები კარგად იცავდნენ ბამბის მცენარეს დაავადებისაგან (Rhizoctonia solani). ამავე დროს, Tn5-მუტანტებს E.agglomerans, რომლებიც არ პროდუცირებენ აქტიურ ქიტინაზას, უნარი არ შესწევდათ დაეცვათ მცენარეები პათოგენური სოკოებისაგან.

ყინულის კრისტალების წარმოქმნა და ანტიფრიზული ცილები

ფოთლების დამაზიანებელი ზოგიერთი Pseudomonas syringae ტიპის პათოგენური ბაქტერიები დაბალ ტემპერატურაზე სინთეზირებენ სპეციფიკურ ცილებს, რომლებიც ფოთლის ზედაპირზე ნულოვანი ტემპერატურის დროს არის ყინულის კრისტალების წარმოქმნის ცენტრები. თავისი ზრდის მიხედვით კრისტალები გაჩხვლეტენ მცენარის უჯრედებს და აზიანებენ მცენარეს, ხოლო ბაქტერიები იღებენ საკვებ ნივთიერებებს, რომლებიც გამონთავისუფლდა დაშლილი მცენარის უჯრედებიდან. თუ ცილები არის კრისტალიზაციის ცენტრები ფოთლის ზედაპირზე, მაშინ ხანმოკლე ღამის ყინვებმა შეიძლება არ დააზიანონ მცენარე, ვინაიდან მცენარის უჯრედის ციტოპლაზმაში ყინულის კრისტალების წარმოქმნა, ჩვეულებრივ, იწყება გაყინვის

წერტილზე რამდენიმე გრადუსით უფრო დაბალ ტემპერატურაზე(ე.ი. ხდება მისი წაყინვა). იმისათვის, რომ შევაფერხოთ კრისტალიზაცია ისეთი კულტურების ფოთლებზე, როგორიცაა მარწყვი, შეიძლება ყინვებამდე დავაფრქვიოთ მცენარეებს მუტანტური ბაქტერიები P. syringae, რომელთაც არ შესწევთ ცილების– კრისტალიზაციის ცენტრების სინთეზირების უნარი. ასეთი მუტანტური ფორმები შეიძლება შეიქმნას რეკომბინანტული დნმ–ის ტექნოლოგიის ან ჩვეულებრივი მუტაგენეზის მეშვეობით შემდგომი შერჩევით და ისინი საკმარისი კონცენტრაციის დროს განდევნიან ველური ტიპის ბაქტერიებს.

პათოგენური მიკროორგანიზმების ბიოკონტროლის ეფექტურობის ერთ–ერთი მნიშვნელოვანი პირობათაგანია მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიების მეშვეობით ბუნებრივ პირობებში ამ ბაქტერიების გავრცელების უნარი.

თავისუფლადმცხოვრები ბაქტერიების მიერ მცენარეთა ზრდის სტიმულაცია

მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიები თავის გავლენას ახდენენ რამდენიმე ხერხით: 1) აფიქსირებენ ატმოსფერულ აზოტს, რომელსაც შემდგომ მცენარე იყენებს; 2) ასინთეზირებენ სიდეროფორებს, რომლებიც სოლუბილიზირებენ და იკავშირებენ ნიადაგიდან რკინას, რითაც უზრუნველყოფენ მცენარეთა უჯრედებს; 3)ასინთეზირებენ ფიტო ჰორმო-ნებს, რომლებიც აჩქარებენ ზრდის სხვადასხვა სტადიას; 4) სოლუბილიზირებენ მინერალურ ნივთიერე-ბებს (ისეთებს, როგორიცაა ფოსფორი), რომლებიც შემდგომ მცენარის მიერ გამოიყენება; 5) ასინთეზირებენ ფერმენტებს, რომლებსაც მცენარეთა ჰორმონების დონის რეგულირების უნარი შესწევთ. მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელ თითოეულ ბაქტერიას შეუძლია ამ მექანიზმებიდან ერთის ან რამდენიმეს გამოყენება.

აზოტის ფიქსაციას სულ მცირე წვლილი შეაქვს იმ დადებით ეფექტში, რომელსაც იძლევიან მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიები. ამ ბაქტერიებიდან ყველა არ არის დიაზოტროფული, ბევრი მათგანი ითვისებს აზოტის მხოლოდ განსაზღვრულ რაოდენობას.

ნიადაგიდან რკინის შთანთქმისათვის ზოგიერთი მცენარე იყენებს ბაქტერიალურ კომპლექსებს რკინა – სიდეროფორი; უმეტეს შემთხვევაში ამის გარეშე მათი ზრდა ძალზე შენელებული იქნებოდა. თუმცა, მიუხედავად იმისა, რომ ბაქტერიალურ სიდეროფორებს უდავოდ შეაქვთ წვლილი მცენარეთა კვებაში და, მაშასადამე, მათ ზრდაში, ეს ეფექტი, როგორც წესი, ძალზე დიდი არ არის.

ბოლომდე არ არის დადგენილი, თუ როგორ უწყობენ ხელს მცენა-რეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიები მცენარის მიერ ისეთი

მინერალური ნივთიერებების შთანთქმას, როგორიცაა ფოსფორი. ვარაუდობდნენ, რომ მცენარეებს, რომლებიც დამუშავებული იყო მათი ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიებით, უკეთ უვითარდებათ ფესვთა სისტემა, ამიტომ ისინი უფრო ეფექტურად შთანთქავენ ნიადაგიდან მათთვის საჭირო ნივთიერებებს, ე.ი. ბაქტერიების გავლენას აქვს არაპირდაპირი ხასიათი. თუმცა, Aospirillum-თან ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა აჩვენა, რომ ეს ორგანიზმი აძლიერებს სწორედ მინერალური ნივთიერებების შთანთქმას, შესაძლოა, იმ ორგანული მჟავების სინთეზირებით და სეკრეტირებით, რომლებიც გახსნიან და აკავშირებენ ზოგიერთ ამ ნივთიერებათაგანს.

ძალზე ხშირად მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიების სხვადასხვა ეფექტს ხსნიან ფიტოჰორმონების სინთეზისადმი მათი უნარით. ამ სფეროში კვლევების უმეტესობა ეხება ფიტოჰორმონების ერთ–ერთი კლასის – აუქსინების – როლის დადგენას. ყველაზე გავრცელებული და ყველაზე კარგად დახასიათებული აუქსინია ინდოლილ – 3 – ძმარმჟავა. იგი ასტიმულირებს როგორც სწრაფ (მაგალითად, მცენარეთა უჯრედების დაგრძელება), ისე ხანგრძლივ (დაყოფისა და დიფერენცირების დაჩქარება) პასუხებს. მცენარეებსაც შეუძლიათ აუქსინის სინთეზირება. ხშირად ეს საშუალებას არ გვაძლევს განვსაზღვროთ, თუ ზუსტად რომელი აუქსინი იძლევა საჭირო ეფექტს: ბაქტერიული თუ მცენარეული. მიუხედავად ამისა, დარწმუნებით შეიძლება ითქვას, რომ მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიები ახდენენ თავის ზემოქმედებას მცენარეებში სწორედ ჰორმონალური ბალანსის ცვლილებით.

ახლახან აღმოაჩინეს, რომ მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბევრი ბაქტერია ასინთეზირებს ფერმენტს, რომელსაც უნარი შესწევს არეგულიროს მცენარეული ჰორმონის, ეთილენის დონე. ეს ფერმენტი, 1 – ამინოციკლოპროპანი – 1 – კარბოქსილატი(აცკ) – დეზამინაზა, აჰიდროლიზებს აცკ–ს, რომელიც ეთილენის უშუალო წინამორბედია მცენარეებში ბიოსინთეზის დროს. ამ ფერმენტის როლის ერთ–ერთი ახსნა მდგომარეობს შემდეგში: ბაქტერია უკავშირდება თესლის გარსს ან მცენარის ფესვებს, შემდეგ კი შთანთქავს და აჰიდროლიზებს აცკ–ს, რითაც ამცირებს ეთილენის კონცენტრაციას მცენარის ქსოვილში. ბევრ მცენარეში ეთილენი ასტიმულირებს თესლების გაღივებას და გამოჰყავს ისინი მოსვენების მდგომარეობიდან; თუმცა, თუ გაღივების შემდეგ ეთილენის დონე ძალზე მაღალი აღმოჩნდება, ფესვთა დაგრძელება შენელდება. ამრიგად, ბაქტერიული აცკ–დეზამინაზა აბრკოლებს ფესვთა ზრდის სიჩქარის შემცირებას და მცენარე უფრო სწრაფად ვითარდება. გარდა ამისა, მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბევრი ბაქტერია ასინთეზირებს ინდოლილ–3 – ძმარმჟავას, ხოლო მისი სიჭარბე, რომელიც არ დაიხარჯა მცენარეთა უჯრედების დაგრძელების

სტიმულირებაზე ან დაყოფის დაჩქარებაზე, ააქტივირებს აცკ–ს – სინთეზს, რასაც მოსდევს ეთილენის კონცენტრაციის ამაღლება. აქტიური აცკ–დეზამინაზას არსებობა აბრკოლებს აცკ–ს დაგროვებას ინდოლილ–3 – ძმარმჟავას მაღალი კონცენტრაციების დროსაც კი, ისე რომ ეთილენის კონცენტრაცია არ მაღლდება იმ დონემდე, რომლის დროსაც ნელდება მცენარის ზრდა. მექანიზმების დეტალური შესწავლის შემდეგ, რომელთა მეშვეობითაც მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიები ახდენენ თავის მოქმედებას, ჩნდება შესაძლებლობა იმ რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების შექმნისა, რომელთაც უნარი შესწევთ სხვადასხვა პირობებში ასტიმულირონ განსხვავებულ მცენარეთა ზრდა.

დასკვნა

ნიადაგის ბევრ მიკროორგანიზმს მცენარეთა ზრდის სტიმულირების უნარი შესწევს. გამოკვლეული იქნა მოლეკულური მიკროორგანიზმები, რომლებიც საფუძვლად დაედო ამ სტიმულაციას იმისათვის, რომ გაერკვიათ, შეიძლება თუ არა ნიადაგის სასარგებლო ბაქტერიების გამოყენება მინერალური სასუქების ნაცვლად. სასარგებლო ბაქტერიებს შეუძლიათ თავისი გავლენის მოხდენა უშუალოდ, მცენარისათვის ფიქსირებული აზოტის, ხელატირებული რკინის, ფიტოჰორმონების მიწოდებით ან მათ მიერ ფოსფორის შთანთქმის გაადვილებით. მაგრამ გავლენა შეიძლება იყოს არაპირდაპირიც – ფიტოპათოგენური მიკროორგანიზმების ჩახშობით.

მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელ და სოფლის მეურნეობაში უკვე გამოყენებულ ყველა ბაქტერიას შორის, ყველაზე დეტალურად არის შესწავლილი Rhizobium–ისა და Bradyrhizobium–ის ოჯახის წევრები. ეს მიკროორგანიზმები შედიან რთულ ობლიგატურ სიმბიოტიკურ ურთიერთობაში მკაცრად განსაზღვრულ მცენარეებთან.

აზოტის ფიქსაციის მოლეკულური საფუძვლები ყოველმხრივ იქნა გამოკვლეული K.pneumonia–ზე, რომელიც შეიძლება ჩაითვალოს სამოდელო სისტემად Rhizobium–ისა და Bradyrhizobium–ის ოჯახების სიმბიოტიკური ბაქტერიების შესასწავლად. დეტალურად არის დახასიათებული ნიტროგენაზა, აზოტფიქსირებადი ფერმენტი. მოლეკულურ–გენეტიკურმა გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ ბაქტერიების აზოტის ფიქსაცია – ეს არის რთული პროცესი; მასში მონაწილეობს შვიდი კოორდინირებულად რეგულირებადი ოპერონები, რომლითაც კოდირებულია საერთო ჯამში 20 სხვადასხვა ცილა. ეს ჯერ შეუძლებელს ხდის გენური ინჟინერიის მეთოდების მეშვეობით ისეთი მცენარის შექმნას, რომლებიც თვითონ შეძლებდნენ აზოტისა და სხვა აზოტფიქსირებადი ბაქტერიების ათვისებას.

აზოტფიქსირებადი ფერმენტი ნიტროგენაზა, გამოიყენებს რა ადენოზინტრიფოსფატის (ატპ) ჰიდროლიზის ენერგიას, აკატალიზირებს აირადი წყალბადის (H_2) წარმოქმნას. ზოგიერთი Rhizobium შტამები ასინთეზირებენ ფერმენტ ჰიდროგენაზას. იგი აკატალიზირებს in vivoH2–ის გარდაქმნასH$^+$–ად, რაც ზრდის აზოტის ფიქსაციის ეფექტიანობას. თუ შტამი შეიცავს არააქტიურ ჰიდროგენაზას, მისი აზოტის დაფიქსირებისა და მცენარის ზრდის მასტიმულირებელი უნარი მცირდება. ყოველივე ზემოთ აღნიშნულის გათვალისწინებით, იყო მცდელობა ჰიდროგენაზის კლონირებული გენები შეეყვანათ Rhizobium–ის შტამებში, რომლებიც შედიან სიმბიოტიკურ დამოკიდებულებაში (ურთიერთობაში) სასოფლო-სამეურნეო კულტურებთან. წინასწარი მონაცემებით, ჰიდროგენაზის გენების გენური ინჟინერიის მოდიფიკაციების ჩატარებით შეიძლება შეიქმნას Rhizobium–ის შტამები, რომელთაც მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი უფრო მაღალი უნარი ექნებათ.

შედიან რა მცენარეებთან სიმბიოტიკურ დამოკიდებულებაში (ურთიერთობაში), Rhizobium–ის შტამები სტიმულირებენ მათ ფესვებზე კოჟრების წარმოქმნას, სადაც ხდება ამ ბაქტერიების გამრავლება და აზოტის ფიქსაცია. გონივრული იქნებოდა გვევარაუდა, რომ, თუ გენური ინჟინერიის მეთოდის მეშვეობით შესაძლებელი გახდება ბაქტერიების შექმნა, რომლებიც ხელს შეუწყობენ დიდი რაოდენობით კოჟრების წარმოქმნას, Rhizobium–ის ინოკულირებადი შტამების კონკურენტუნარიანობა მცენარე–სიმბიონტების ფესვებზე ადგილის მოსაპოვებლად ბრძოლაში ამაღლდება ველური ტიპის შტამებთან შედარებით. სამწუხაროდ, აღმოჩნდა, რომ კოჟრების წარმოქმნაში მონაწილეობს მრავალი სხვადასხვა გენი და ეს ართულებს შესაბამისი მოლეკულურ-გენეტიკური ექსპერიმენტების ჩატარებას.

ბაქტერიებით მცენარეთა ზრდის არაპირდაპირი სტიმულაცია მდგომარეობს მცენარეთა დაცვაში დაზიანებისაგან, რომელიც გამოწვეულია ფიტოპათოგენური სოკოებით ან ბაქტერიებით. ასეთი დაცვა ხორციელდება იმ სპეციფიკური შენაერთების მონაწილეობით, რომლებიც სინთეზირებულია მცენარეთა ზრდის მასტიმულირებელი ბაქტერიების – სიდეროფორების, ანტიბიოტიკების, სხვა მცირე მოლეკულებისა და სხვადასხვა ფერმენტის მიერ. სინთეზის ზოგიერთი სხვა პროდუქტი, კერძოდ, ფიტოჰორმონები და აცკ–დეზამინაზა, უშუალოდ ახდენს გავლენას მცენარეთა ზრდაზე. იმედი გვაქვს, რომ უდესმე ყველა ჩამოთვლილი შენაერთების ბიოსინთეზის გენების გამოყენება შესაძლებელი იქნება მცენარეთა ზრდის უფრო ეფექტურად მასტიმულირებელი ბაქტერიების შესაქმნელად.

9. სოფლის მეურნეობის ნარჩენების გადამუშავება

აერობულ პირობებში ნარჩენების გადამუშავების სისტემები

თუ სოფლის მეურნეობას უძღვებიან ტრადიციულად, მეცხოველეობის ნარჩენები ბევრი არ არის და ახლომდებარე სახნავ მიწებზე სასუქებად მათი გამოყენება რთული არ არის. დღეს, როდესაც მეცხოველეობაში გამოიყენება ინტენსიური ტექნოლოგია, თხევადი და მყარი ნარჩენები დიდი რაოდენობით გროვდება და მათი გამოყენებისათვის ახლომდებარე მიწების ფართობი შეიძლება საკმარისი არ იყოს. ასეთი ნარჩენების შენახვა და გადამუშავება ადვილი არ არის. გარდა ამისა, ბოლო დროს მეცხოველეობის ნარჩენების გამოყენების პრობლემები იპყრობს გარემოს დაცვისა და ჯანდაცვის ორგანოების სპეციალისტთა დიდ ყურადღებას, რომელთაც აღელვებთ წყალსაცავების დაბინძურების შესაძლებლობა და, შედეგად, დაავადებათა გავრცელება. საჭიროა ვისწავლოთ ნარჩენების იმ ნაწილის უფრო სრულად და ეკონომიურად გამოყენება, რომელიც შეიძლება მოხმარდეს სოფლის მეურნეობას სასუქის სახით და, ამავე დროს, გადაიჭრას პრობლემები, დაკავშირებული ნარჩენების დიდი რაოდენობით გამოწვეული გარემოს შესაძლო დაბინძურებით. ამოცანის დიდი მნიშვნელობა მოითხოვს ნარჩენების გადამუშავების სხვადასხვა სისტემის შემუშავებასა და დანერგვას.

განმასხვავებელი თავისებურება აერობული ბიოლოგიური სისტემისა, რომელიც ესოდენ წარმატებით გამოიყენება საყოფაცხოვრებო გამდინარე წყლების გადამუშავებისათვის, არის ჰაერის თავისუფალი მიწოდება მიკროორგანიზმებისათვის, რომლებიც მონაწილეობენ ნარჩენებში არსებულ სხვადასხვა ნივთიერებათა გარდაქმნაში შედარებით სტაბილურ საბოლოო პროდუქტებად. ნაჩვენები იყო, რომ სოფლის მეურნეობის ნარჩენების კონტროლირებადი გადამუშავება აერობულ პირობებში სავსებით შესაძლებელია. ევროპასა და ჩრდილო ამერიკაში რიგმა სამეცნიერო ცენტრებმა მონაწილეობა მიიღეს კვლევებში და გადამუშავების სხვადასხვა სისტემების გამოყენების პროგრამათა შემუშავებაში. ფერმებში გამოყენებული სისტე-მების მთავარი თავისებურებები უნდა იყოს გრძელვადიანობა, სიმარტივე ექსპლუატაციაში და, სასურველია, ყველა პროცესების ავტომატიზაცია. დღეს უკვე შემოთავაზებულია რამდენიმე ასეთი მცირემასშტაბური სისტემები.

მყარი ნარჩენების გადამუშავებისათვის საჭიროა დიდი დრო და სახსრები, ამიტომ ინტენსიური ტექნოლოგიის მქონე ფერმებში ამისათვის ფართოდ გამოიყენება წყალი. მიღებულ მასას ათავსებენ გადამუშავების სისტემებში.

წყალსატევი დაჟანგვისათვის

ეს ყველაზე მარტივი მოწყობილობაა, რომელიც წარმოადგენს არცთუ ისე ღრმა (არაუმეტეს 150 სმ–ის) მოცულობის სათავსოს, შევსებულს ნარჩენებით და გააჩნია ზედაპირის საკმარისი ფართობი აერაციის უზრუნველსაყოფად. ამ წყალსატევის ზედაპირზე იზრდება ფოტოსინთეზის მწარმოებელი წყლის მცენარეები, რომლებიც ზრდიან სისტემის ეფექტიანობას ჟანგბადის გამოყოფის გზით. ნარჩენების მოწოდების სიჩქარე ძალზე მაღალი არ უნდა იყოს. ამ მოწყობილობების ნაკლი ის არის, რომ: 1) ნარჩენების გადამუშავება მოითხოვს დიდ დროს; თუ ნარჩენების მოცულობა დიდია, საჭიროა დიდი ფართობის წყალსატევი 2) გროვდება მყარი ნარჩენები, რომლებიც ანაერობულ პირობებში იშლება; 3) იქმნება პირობები მწერების გასამრავლებლად. მაგრამ არის ორი უპირატესობაც: არ არის საჭირო მექანიზაცია და მომსახურე პერსონალი.

აერირებადი წყალსატევი დაჟანგვისათვის მოწყობილი წყალ-სატევის მსგავსია და განსხვავდება მხოლოდ იმით, რომ მასში დაყენებულია მექანიკური მოწყობილობა აერაციის გასაძლიერებლად, მყარი ნაწილაკების ასარევად და შესანახად სუსპენდირებულ მდგომარეობაში. ერთნაირ ჩატვირთვისას ასეთი წყალსატევი შეიძლება ნაკლები იყოს ფართობის მიხედვით და უფრო ღრმა, ვიდრე წყალსატევიდაჟანგვისათვის. მისთვის უფრო მარტივია გადამუშავების დროისა და ჩადინების ხარისხის შეფასება.

ასეთი სისტემები განსაკუთრებით მოსახერხებელია ნარჩენების შესაგროვებლად და გადასამუშავებლად, როდესაც სითხე არ შეიძლება ჩაედინებოდეს ბუნებრივ წყალსატევებში, აგრეთვე წყლის შესანახად ირიგაციისათვის.

კასკადური ავზები (ბასეინები)

კასკადური ავზები – ესეც მარტივი არამექანიზირებული სისტემაა. დაჟან-გვისათვის გამიზნული წყალსატევებისაგან განსხვავებით, ნარჩენები მასში მუდმივად მიედინება და სისტემაში მათი შენახვის დრო ხანმოკლეა. ისინი შეიცავენ პირველად სალექარს (სასურველია დეფლექტორებით, რომლებიც ხელს უწყობენ გადინების სიჩქარის გაკონტროლებას), სადაც ილექება მსხვილი ნაწილაკები, აგრეთვე წვრილ (მცირე ზომის) ავზების კასკადს, რომლებიც დაყოფილია ტიხრებით ან კაშხალებით, რომელზეც გადაედინება წყალი. წყალი ავზიდან ავზში გადადინებისას აერირდება. თუ შეყოვნების დრო სწორად არის შერჩეული, მაშინ გადამუშავების სიღრმე ნაკლები არ არის, ვიდრე დაჟანგვისათვის მოწყობილ წყალსატევებში. ისევე როგორც არააერირებად წყალსატევებში, აქაც ცუდად ხდება ნალექის არევა, ხოლო მიკროორგანიზმების აქტივობა შეიძლება ჩაიხშოს ჟანგბადის უკმარისობის ან გაცვლის საბოლოო პროდუქტების ძალზე ნელი დიფუზიის გამო.

პასვირის არხი (Pasveer ditch)

ნარჩენების დაჟანგვისათვის ეს სისტემა არის მოდიფიკაცია დანადგარისა აქტიური ლამით და წარმოადგენს ერთ უწყვეტ, სიგრძეში გაჭიმულ მოცულობას, რომელიც ხშირად მოთავსებულია იმ ბოსლის იატაკის ქვეშ, საიდანაც მიიღება (შემოდის) ნარჩენები; ისინი მასშივე იჟანგება, სითხე (ფენის სისქეა 0,3–0,6 მ) აერირდება და შეირევა მოცულობაში როტორის მეშვეობით. გამოიყენება აგრეთვე სპეციალური მოწყობილობა ნარჩენების ახალი პორციის დასამატებლად და დამუშავებული სითხის მოსაშორებლად. ეს, და რიგი სხვა სისტემებისა, რომლებიც დაფუძნებულია ხელოვნურ („ნაძალადევ“) აერაციაზე, ძალიან ჰგავს უწყვეტი მოქმედების რეაქტორს, სადაც ვითარდება სუბსტრატის მეტაბოლიზირებადი განსაკუთრებული მიკროფლორა (ისინი აქტიური ლამის ფიფქების ანალოგიურია). მსგავსება იმაშია, რომ ნარჩენები (სუბსტრატი) მიედინება მოცულობაში, რომელიც შედარებით მცირეა, ვიდრე მათი საერთო მოცულობა, რომელიც გადამუშავდება რეაქტორში. გადამამუშავებელი მოწყობილობის ეს ტიპი აქტიურად შეისწავლებოდა კონტროლირებად პირობებში მეცხოველეობის ნარჩენების გადამუშავებისათვის მისი ვარგისიანობის გასარკვევად.

ყველა ამ სისტემის ძირითადი ნაკლია ჟანგბადის მიწოდებისა და მოხმარების შეკავშირების შესაძლებლობა. მათი ეფექტიანობის ამაღლება შესაძლებელია, თუ ზუსტად შეფასდება სხვადასხვა სუბსტრატის დაყოფის სიჩქარე და უკეთ შეისწავლება პროცესში მონაწილე მიკროორგანიზმები.

სოფლის მეურნეობის ნარჩენების გადამუშავება ანაერობულ პირობებში

ანაერობულ პირობებში ორგანული ნარჩენების გადამუშავების დროს წარმოიქმნება საწვავი აირი (რომელიც 60%–ით შედგება მეთანისაგან) და მყარი ნარჩენი, რომელიც შეიცავს მთლიან (ან თითქმის მთლიან) აზოტს და სხვა ძირითად საკვებ ნივთიერებებს, რაც შედის საწყის მცენარეულ მასალაში. ბუნებაში ასეთი პროცესი ვითარდება ჟანგბადის უკმარისობის დროს იმ ადგილებში, სადაც გროვდება მცენარეული ან ცხოველური წარმოშობის ნივთიერებები: ჭაობებში, ტბების ფსკერზე, აგრეთვე მცოხნავ ცხოველთა კუჭში. იგი შეიძლება მიმდინარეობდეს დახურულ სისტემაში, რომელიც ავსებულია შესაბამისი ორგანული ნივთიერებებით და სადაც არ აღწევს ჰაერი. მეთანწარმომქნელი ბაქტერიები და ზოგიერთი სხვა მიკროორგანიზმები, რომლებიც პროდუცირებენ ამ ბაქტერიებისათვის საჭირო სუბსტრატს, აყალიბებენ ასეთ პირობებში მყარ სიმბიოტურ ურთიერთობათა სისტემას, რომელიც შეიძლება ფუნქციონირებდეს განუსაზღვრელად დიდხანს, თუ მასში საჭირო ოდენობით შედის ნარჩენების ახალ–ახალი პორციები.

ტემპერატურის ოპტიმუმი მერყეობს 30–35°C ინტერვალში და მისი შენარჩუნებისათვის საჭიროა შეთბობა. ამ პროცესის შესწავლა დაიწყეს ჯერ კიდევ პასტერის დროიდან; მას მიეძღვნა მრავალი ნაშრომი, ხოლო თვით პროცესი მნიშვნელოვნად იქნა მოდიფიცირებული, კერძოდ, გამდინარე წყლების გაწმენდის მიზნით. ეს მოქმედი ბიოტექნოლოგიის ძალზე წარმატებული მაგალითია, ვინაიდან მისი გამოყენება შეიძლება დიდი მასშტაბებით, რაც ამართლებს კაპიტალდაბანდებებს და დანერგვის მიმდინარე ხარჯებს.

სოფლის მეურნეობის ნარჩენების გადამუშავება

ჯერ კიდევ საუკუნის დასაწყისში, გამოვლენილ იქნა, რომ ნაკელიდან შეიძლება საწვავი აირის მიღება, ხოლო ნარჩენები შეიძლება გამოყენებული იქნეს სასუქად. იყო მცდელობა ამ პროცესის პრაქტიკული გამოყენებისა, მაგრამ ინტერესი მისდამი დიდი არ იყო მანამდე, ვიდრე საწვავის უკმარისობამ ომის დროს არ მიიპყრო სპეციალისტთა ყურადღება. მას შემდეგ კონსტრუირებულ იქნა მრავალნაირი დანადგარი მეთანის წარმოებისათვის, მაგრამ ყველა მათგანს გააჩნდა ორი ძირითადი ნაწილი: 1) ჰერმეტული ტენკი ანუ რეაქტორი, რომელშიც ხორციელდებოდა ფერმენტაცია; 2) სათავსო აირისათვის, ჩვეულებრივ დამგროვებელი, რომელიც რეაქტორის სათავსოსთან ახლოსაა განთავსებული.

ნავთობზე ფასების მკვეთრმა ზრდამ საუკუნის დასაწყისში უბიძგა ფერმერებს ყაირათიანობისაკენ (ეკონომიისაკენ) და გასაკვირი არ არის, რომ ამ დროს კვლავ გაჩნდა ინტერესი მეთანის გენერატორებისა და ნაკელის გადამუშავების ეფექტიანი მეთოდების მიმართ. ნავთობის კრიზისი იყო ბიძგი იმისაკენ, რომ პოპულარულ პრესაში მრავლად გაჩნდა სტატიები, რომელთა ავტორები ყველას მოუწოდებდნენ ეწარმოებინათ მეთანი მთელი ქვეყნის მასშტაბით, თითოეულ ფერმაში, თითოეულ სახლში. ასეთი წინადადებები ხშირად უაზრობა იყო და მიუთითებდა საქმის არსის არასწორ გაგებაზე. ამ პრობლემისადმი ინტერესი დღემდე რჩება და მეთანოგენური ფერმენტაციის სფეროში მიღწეულ იქნა სერიოზული წარმატებები. მეთანწარმომქმნელი ბაქტერიები არის ძლიერი ანაერობები და მათი გამოკვლევის დროს მეცნიერები რიგ პრობლემებს წააწყდნენ. უწინარეს ყოვლისა ეს ეხებოდა მათ გამოყოფას, მაგრამ დღეს ეს ამოცანა გაადვილებულია იმის გამო, რომ კონსტრუირებულია მოსახერხებელი დანადგარები, სადაც შექმნილია ანაერობული პირობები. ამჟამად შესწავლილია მრავალი ასეთი ბაქტერია და ჩვენ ბევრი რამ გავიგეთ მათი მეტაბოლიზმის თავისებურებების შესახებ.

ფერმენტაციის პროცესის პირველ სტადიაზე მცენარეული და ფეკალური მასიდან წარმოიქმნება მქროლავი ცხიმოვანი მჟავები,

ძმარმჟავა, ერბომჟავა). ამ დროს მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ კლოსტრიდიები. მჟავები (ძმარმჟავას გარდა) გვევლინება შემდგომ სუბსტრატად ძმარმჟავას ბაქტერიების ჯგუფისათვის. საბოლოო ჯამში ბაქტერიების ამ ჯგუფის ერთობლივი მოქმედების შედეგად წარმოიქმნება ძმარმჟავა, წყალბადი და ნახშირორჟანგი, რომლებიც კარგი სუბსტრატიამეთანწარმომქმნელი ბაქტერიებისათვის. ეს ბაქტერიები მიეკუთვნება ან აცეტოკლასტიკებს (მაგალითად, Methansacna barkeri),რომლებიც გარდაქმნიან ძმარმჟავას მეთანად და CO_2–ად), ან ბაქტერიების ჯგუფს, რომლებიც იყენებენ წყალბადს (მაგალითად, Methanospirillum hungatei, რომელიც ასინთეზირებს მეთანს წყალბადისადა CO_2–გან).

ფერმებში, სადაც ბევრი პირუტყვი ჰყავთ, წარმოშობილი ძირითადი პრობლემა მდგომარეობს ნაკელის შენახვაში და მისი უფრო სარგებლიანად გამოყენებაში. თუ ამასთან თანმდევ პროდუქტად მიიღება მეთანი და ნაკელის შენახვის ხარჯები არ გაიზრდება, მაშინ ფერმერები, ასეთ შესაძლებლობას უპირობოდ დადებითად შეაფასებენ. თუმცა, ამ შესაძლებლობის განხორციელება პრაქტიკულად სავარაუდოდ ვერ მოხერხდება, ვინაიდან ეფექტური მექანიზირებული დანადგარები, რომლებიც განკუთვნილია განვითარებულ სოფლის მეურნეობაში გამოსაყენებლად, საკმაოდ ძვირია. ინგლისში დღეს უშვებენ გაუმჯობესებული კონსტრუქციის რეაქტორებს ფერმების ნარჩენების გადასამუშავებლად, მაგრამ მათზე გაწეული ხარჯების კომპენსირება შესაძლოა ვერ მოხერხდეს მეთანის წარმოებიდან მიღებული შემოსავლებით. სამრეწველო ნარჩენების გადამუშავებისათვის აგრეთვე კონსტრუირებულია რამდენიმე საინტერესო ახალი ტიპის ანაერობული რეაქტორი, რომელშიც გამოიყენება ფენის ფსევდოგათხევადების პრინციპი, მაგრამ აქ ძირითადი მიზანი მდგომარეობს ჩანადენების გაწმენდაში და არა საწვავი აირის მიღებაში. თუმცა, ძნელი შესაფასებელია, რამდენად სასარგებლონია ისინი და რამდენ ხანს შეიძლება მათი გამოყენება.

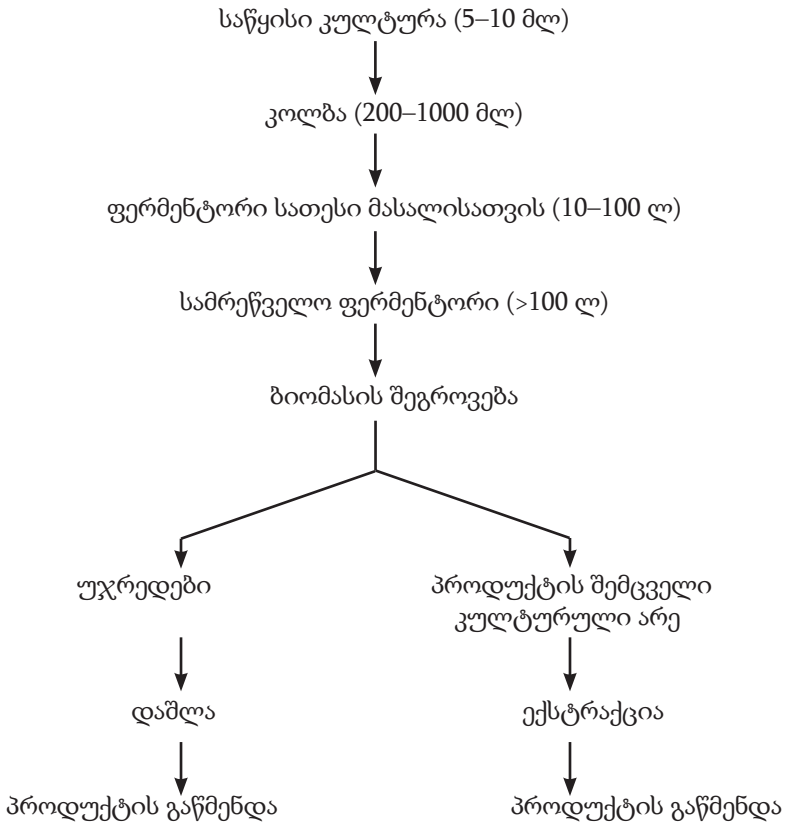
10. ცილების სამრეწველო სინთეზი რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების მონაწილეობით

რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების მეშვეობით კომერციული პროდუქტების მისაღებად საჭიროა ორი სფეროს სპეციალისტების: მოლეკულური ბიოლოგებისა და ბიოტექნოლოგების თანამშრომლობა. მოლეკულური ბიოლოგების ამოცანა მდგომარეობს საჭირო გენების იდენტიფიკაციაში, თვისებების შესწავლაში, მოდიფიკაციასა და მათი

ექსპრესიის ეფექტური სისტემების შექმნაში იმ მიკროორგანიზმების უჯრედებში, რომელთა გამოყენება შეიძლება შესაბამისი პროდუქტის სამრეწველო სინთეზისათვის; ხოლო ბიოტექნოლოგების ამოცანაა – უზრუნველყონ საჭირო რეკომბინანტული მიკროორგანიზმის ოპტიმალური ზრდის პირობები დიდი გამოსავლის მქონე პროდუქტის მიღების მიზნით. მოლეკულური ბიოტექნოლოგიის განვითარების დასაწყისში მეცნიერები გულუბრყვილოდ ვარაუდობდნენ, რომ ლაბორატორიული სინთეზიდან საწარმოოზე გადასვლა – ეს არის უბრალოდ მასშტაბის გაზრდის საკითხი, ე.ი. მცირე მოცულობებისათვის ოპტიმალური პირობები ასევე ოპტიმალური იქნება დიდი მოცულობებისთვისაც. ასე რომ, ერთი შეხედვით, საკმარისია მხოლოდ დიდი რეაქტორის აგება და, შესაბამისად, კულტურალური არის დიდი მოცულობის მიწოდება.

ასეთი გამარტივებული წარმოდგენა არ შეესაბამება სინამდვილეს. მაგალითად, აერობული მიკროორგანიზმები კარგად იზრდება ჩვეულებრივ 20 მლ–იან კოლბაში მისი შემადგენლობის აერაციისას 300 ვტ–იანი შემრევის მეშვეობით. თუ მხოლოდ გავზრდით „კოლბის“ მოცულობას 10 000 ლიტრამდე, მაშინ საჭირო იქნება ასარევი სიმძლავრით 15 მ ვტ, რომლის ძრავა იქნება სახლის ტოლი, ხოლო არევის დროს გამოიყოფა იმდენი სითბო, რომ მიკროორგანიზმები, უბრალოდ, მოიხარშებიან. ეს მარტივი მაგალითი შესაძლოა არასაკმარისი გამოდგეს ბიოტექნოლოგების ყველაფერში დასარწმუნებლად, თუმცა ბიოტექნოლოგებმა ზუსტად იციან, რომ მიკროორგანიზმების სამრეწველო კულტივირების პრობლემა მხოლოდ ლაბორატორიული ექსპერიმენტის მასშტაბის პროპორციული გადიდება არ არის. ცხადია, საჭიროა რეაქტორის (ბიორეაქტორის, ფერმენტორის) ზომის გადიდება, ვინაიდან 10 000 ლ უჯრედის სუსპენზიის მისაღებად აზრი არა აქვს 200 მლ–იანი 50 000 ცალკეული კოლბის გამოყენებას. ამასთან, მაქსიმალური გამოსავლიანობისთვის, როგორც მცირე (1–დან 10 ლ–მდე), ისე დიდ (>1000 ლ) ბიორეაქტორებში საჭიროა მრავალი პარამეტრის ოპტიმიზირება: ტემპერატურის, pH–ის, ინტენსიურობისა და კულტურის არევის წესის, აერობული ორგანიზმების შემთხვევაში – ჟანგბადის კონცენტრაციის. ამასთან, გასათვალისწინებელია, რომ, როგორც წესი, ოპტიმალური პირობები იცვლება ბიორეაქტორის მოცულობის ყოველი ათჯერადი გადიდებისას.

როგორც წესი, პროდუქტის სამრეწველო ფერმენტაცია და გაწმენდა – მრავალსაფეხურიანი პროცესებია (იხ. ქვემოთმოყვანილი სქემა). (იხ. გვ.132 სურ.10.1)



სურ. 10.1. სამრეწველო ფერმენტაციის პროცესის განზოგადებული სქემა. გამოყოფილი პროდუქტი იმყოფება ან უჯრედებში, ან კულტურულ არეში, მაგრამ არა ორივე ფრაქციაში ერთდროულად, ისე რომ შემდგომ მანიპულაციებს აწარმოებენ ერთ–ერთ ამ ფრაქციასთან.

არსებობს აგრეთვე სხვა ძალზე მნიშვნელოვანი მოსაზრებებიც. რეაქტორში შენარჩუნებული უნდა იქნეს სტერილურობის საკმარისი დონე და, გარდა ამისა, საჭიროა შეიქმნას პირობები, რომლებიც აღმოფხვრის გენეტიკურად შეცვლილი მიკროორგანიზმების გადინებას. ფერმენტაციის მსვლელობაში სწრაფად და ადვილად რომ შეგვეძლოს პირობების შეცვლა, რეაქტორი აღჭურვილი უნდა იყოს საზომ–გამკონტროლებელი აპარატურით, რომლითაც შეიძლება უწყვეტად ვადევნოთ თვალყური რაც შეიძლება ბევრი პარამეტრის მნიშვნელობებს. ვინაიდან სტერილიზაციის დროს შეიძლება შეიცვალოს არის შედგენილობა (მაგალითად, შეიძლება დაიშალოს ვიტამინები), მნიშვნელოვანია დავრწმუნდეთ იმაში, რომ იგი დარჩა ოპტიმალური საჭირო მიკროორგანიზმების ზრდისათვის.

ჩვეულებრივ, პროცედურა იწყება კულტურული არის და მოწყობილობის მომზადებითა და სტერილიზაციით. თავდაპირველად მოჰყავთ საწყისი კულტურა (5–10 მლ), შემდეგ მას აინკუბირებენ კოლბაში (200–1000 მლ), რის შემდეგაც გადააქვთ ფერმენტორში სათესი მასალისათვის (10–100 ლ) და ბოლოს – სამრეწველო ფერმენტორში (1000–100 000 ლ). ფერმენტაციის დასრულებისთანავე უჯრედებს გამოყოფენ კულტურული არედან ცენტრიფუგირებით ან ფილტრაციით. თუ პროდუქტი ლოკალიზებულია უჯრედების შიგნით, უკანასკნელებს შლიან, აშორებენ უჯრედის ნარჩენებს და გამოყოფენ პროდუქტს განზავებული არიდან. სეკრეტირებული პროდუქტი გამოიყოფა უშუალოდ არიდან.

მიკროორგანიზმების ზრდა

მიკროორგანიზმების მოყვანა შეიძლება პერიოდული მოქმედების ფერმენტორში უწყვეტ კულტურაში სუბსტრატის დამატებით. პირველ შემთხვევაში მიკროორგანიზმები მოყავთ სტერილურ პირობებში ფერმენტაციის მსვლელობაში ახალი კულტურული არის დამატების გარეშე. მეორე შემთხვევაში ფერმენტაციის მსვლელობისას კულტურას პერიოდულად უმატებენ საკვები ნივთიერებების მზარდ რაოდენობას, ამასთან კულტურულ არეს პროცესის დასრულებამდე არ მოაშორებენ. უწყვეტი ფერმენტაციის დროს ახალი კულტურული არე მიედინება ფერმენტორშო უწყვეტად, და პარალელურად გადის უჯრედის სუსპენზიის ისეთივე რაოდენობა. ყველა შემთხვევაში არეზე საჭიროების შემთხვევაში ჩაბერავენ ჟანგბადს (ჩვეულებრივ სტერილური ჰაერის სახით), უმატებენ ქაფითჩამქრობს და (თუ საჭიროა) მჟავას ან ფუძეს.

პერიოდული კულტურა

პერიოდული ფერმენტაციის მსვლელობაში კულტურული არის შედგენილობა, მიკროორგანიზმების კონცენტრაცია (ბიომასის კონცენტრაცია), უჯრედების ქიმიური შემადგენლობა და ცილოვანი პროდუქტის რაოდენობა ანუ მეტაბოლიტი დამოკიდებულია ზრდის ფაზაზე, უჯრედოვან მეტაბოლიზმზე და საკვები ნივთიერებების არსებობაზე. განასხვავებენ ზრდის ექვს ძირითად ფაზას: ლაგ–ფაზა, დაჩქარების ფაზა ლოგარითმული (log), ანუ ექსპონენციალური ფაზა, შენელების ფაზა, სტაციონარული ფაზა და კვდომის ფაზა.

ჩვეულებრივ სტერილური კულტურული არის ინოკულაციის შემდეგ არ შეინიშნება უჯრედების რიცხვის სწრაფი ზრდა. დროის რაღაც პერიოდის მანძილზე, რომელსაც ლაგ–ფაზა ეწოდება, უჯრედები განიცდიან ადაპტაციას ახალი პირობებისადმი: ეგუებიან სხვა pH–ს ან საკვები ნივთიერებების კონცენტრაციას. ასეთი ადაპტაციის მსვლელობაში შეიძლება მოხდეს მეტაბოლიზმის რაღაც ახალი, ადრე არ გამოვლენილი გზების ჩართვა. ლაგ–ფაზა შეინიშნება ყოველთვის,

როდესაც სათესი მასალა მიღებულია კულტურიდან, რომლის ზრდა შეწყდა სუბსტრატის ამოწურვის ან პროდუქტით ინჰიბირების შედეგად (ე.ი. კულტურების სტაციონარულ ფაზაში). ლაგ–ფაზის ხანგრძლივობა დამოკიდებულია იმ დროის პერიოდზე, რომლის განმავლობაშიც სათესი მასალის უჯრედები იმყოფებიან სტაციონარულ ფაზაში და კიდევ იმაზე, თუ რამდენად ძლიერ განსხვავდებიან ერთმანეთისგან არე, სადაც იზრდებოდა კულტურა, და ახალი კულტურალური არე. ხოლო თუ სათეს მასალად გამოიყენება კულტურა, რომელიც იმყოფება ექსპონენციალურ ფაზაში, მაშინ ლაგ–ფაზა შეიძლება არ იყოს გამოხატული და ზრდა იწყება მაშინვე ინოკულაციის შემდეგ. ლაგ– და ექსპონენციალურ ფაზებს შორის არის მოკლე პერიოდი, ე.წ. დაჩქარების ფაზა, როდესაც უჯრედების ზრდის სიჩქარე მატულობს მუდმივი სიდიდის მიღწევამდე.

ექსპონენციალური ფაზის მიმდინარეობისას უჯრედები განიცდიან რამდენიმე დაყოფას, ხოლო ზრდის ხვედრითი სიჩქარე მუდმივი რჩება. სუბსტრატის (საკვები ნივთიერებების) სიჭარბის დროს და კულტურულ არეში მყოფ რომელიმე შენაერთით ზრდის ინჰიბირების არარსებობისას, ზრდის ხვედრითი სიჩქარე არ არის დამოკიდებული სუბსტრატის კონცენტრაციაზე. ზრდის მრუდი ასეთ პირობებში შეიძლება აღვწეროთ მათემატიკურად, რაც ბიოტექნოლოგებს პროცესის მოდელირების საშუალებას აძლევს, შემდეგ კი მოვახდინთ მისი მასშტაბირება.

მალიმიტერებელი სუბსტრატის (მაგალითად, ნახშირბადის წყაროს) გამოფიტვის ან ზრდის შემნელებელი მეტაბოლიზმის პროდუქტების დაგროვების შედეგად, უჯრედების რიცხვის ზრდა თანდათანობით შეწყდება და კულტურა გადადის სტაციონარულ ფაზაში. ამ დროს ბიომასა მუდმივი რჩება, თუმცა მეტაბოლიზმი ხშირად განიცდის კარდინალურ ცვლილებებს. სწორედ ამ პერიოდში ხშირად სინთეზირდება შენაერთები (მეორადი მეტაბოლიტები), რომლებიც კომერციულ ინტერესს წარმოადგენენ, მაგალითად, ანტიბიოტიკები. სტაციონარული ფაზის ხანგრძლივობა დამოკიდებულია კონკრეტულ ორგანიზმზე და ზრდის პირობებზე.

კვდომის ფაზაში უჯრედების ენერგეტიკული მარაგები ამოიწურება და მეტაბოლიზმი შეწყდება. სამრეწველო პროცესების უმეტესობაში ფერმენტაციას აჩერებენ და უჯრედებს აგროვებენ კვდომის ფაზაში.

პერიოდული კულტურა სუბსტრატის დამატებით

ამ შემთხვევაში ფერმენტორში პერიოდულად უმატებენ სუბსტრატს, ხოლო საბოლოო პროდუქტს აგროვებენ პროცესის დასრულებისთანავე. სუბსტრატის დამატება იწვევს ექსპონენციალური და სტაციონარული ფაზების გაგრძელებას და ბიომასის და სტაციონარული ფაზის დროს სინთეზირებული მეტაბოლიტების (მაგალითად, ანტიბიოტიკების) რაოდენობის გადიდებას. მაგრამ სტაციონარულ ფაზაში

მიკროორგანიზმები ხშირად ახდენენ პროტეოლიტური ფერმენტების (პროტეინაზის) სინთეზირებას, რომლებიც ანადგურებენ მათ მიერ წარმოებულ ცილებს. ამიტომ, თუ ფერმენტაციის მიზანია ცილოვანი პროდუქტების მიღება, მაშინ პროცესი უნდა შეჩერდეს მის ამ ფაზაში გადასვლამდე. ფერმენტაციის მსვლელობაში სუბსტრატის კონცენტრაციის პირდაპირი გაზომვა ხშირად გაძნელებულია, და იმისათვის, რომ განვსაზღვროთ, თუ რომელ მომენტში უნდა დავუმატოთ სუბსტრატის მორიგი პორცია, საჭირო ხდება სხვა მაჩვენებლების გამოყენება, რომლებიც კორელირებს მის ხარჯვასთან, მაგალითად, სინთეზირებული ორგანული მჟავების რაოდენობა, pH–ის მნიშვნელობა ან CO_2–ის წარმოქმნილი რაოდენობა. საერთოდ, პერიოდული მოქმედების ფერმენტები სუბსტრატის დამატებით მოითხოვს მუდმივ და უფრო გულმოდგინე კონტროლს, ვიდრე პერიოდული მოქმედების მარტივი ფერმენტები და ამიტომაც უფრო იშვიათად გამოიყენება. მაგრამ მათ გააჩნიათ რიგი უპირატესობებისა, თუ საუბარია რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების მეშვეობით ცილების მიღების სისტემების შემუშავებაზე, ამიტომ, ამ მიზნით გამოსაყენებლად ისინი სულ უფრო პოპულარული ხდება.

რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების მზარდ კულტურაზე სუბსტრა-ტის პერიოდული დამატება ახანგრძლივებს ექსპონენციალურ ფაზას და გადაავადებს სტაციონარული ფაზის დადგომას, რომლის დროსაც ინიცირებულია უჯრედული პასუხები სტრესულ ზემოქმედებებზე, ხდება პროტეინაზების სინთეზი და მეტაბოლიზმის სხვა ცვლილებები, რომლებიც ამცირებენ რეკომბინანტული ცილის გამოსავლიანობას. პატრონი–უჯრედის მეტაბოლიზმის შესანარჩუნებლად საჭიროა მუდმივად იზრდებოდეს დასამატებელი სუბსტრატის რაოდენობა. რეკომბინანტული ცილისა და მისი სტაბილურობის უწყვეტი სინთეზის უზრუნველსაყოფად საჭიროა პროცესის გულდასმით გაკონტროლება და სუბსტრატის (მიკროელემენტებთან ერთად ნახშირბადისა და აზოტის წყაროს) მაშინვე დამატება, როგორც კი ამის საჭიროება შეიქმნება. მიკროორგანიზმის გენოტიპისა და რეკომბინანტული ცილის ბუნების მიხედვით პერიოდული ფერმენტაციის დროს სუბსტრატის დამატებით პროდუქტის გამოსავლიანობა მარტივ პერიოდულ ფერმენტა-ციასთან შედარებით შეიძლება გაიზარდოს 25–1000%–ით.

პერიოდული ფერმენტაცია სუბსტრატის დამატებით შეიძლება გა-მოვიყენოთ არა მარტო მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის, არამედ ძუძუმწოვრებისა და მწერების უჯრედებისათვისაც. ეს ძალზედ მნიშვნელოვანია, ვინაიდან: 1) ასეთი კულტურები სულ უფრო ფართოდ გამოიყენება სამედიცინო დანიშნულების მქონე ცილოვანი პროდუქტების მისაღებად; 2) სუბსტრატის პერიოდული დამატების გარეშე ცხოველური უჯრედები ეფექტურად არ ახდენენ უცხო ცილების სინთეზირებას.

სამრეწველო ფერმენტაციის მნიშვნელოვანი ამოცანაა პროდუქტის მაქსიმალური რაოდენობის მიღება მინიმალური დანახარჯებით. ამ ამოცანის გადაჭრა შესაძლებელია, თუ თითოეული კონკრეტული პროცესისათვის შემუშავებული იქნება ფერმენტორის თავისი, უფრო ეფექტური კონსტრუქცია. საერთოდ უწყვეტი ფერმენტაცია არცთუ ისე ხშირად გამოიყენება სამრეწველო მიზნებისათვის, უპირველეს ყოვლისა იმის გამო, რომ მეცნიერებმა დააგროვეს დიდი გამოცდილება პერიოდულ კულტურებთან მუშაობაში. ამასთან უწყვეტი მოქმედების ფერმენტორში მოცემული რაოდენობის ბიომასის მიღების ღირებულება გაცილებით უფრო ნაკლებია, ვიდრე პერიოდულ რეჟიმში მომუშავე ფერმენტორში. ასეთი გაიაფება განპირობებულია შემდეგი ფაქტორებით:

- უწყვეტი ფერმენტაციის მეშვეობით მოცემული რაოდენობის პროდუქტის მისაღებად საჭიროა უფრო მცირე ბიორეაქტორები, ვიდრე პერიოდულის შემთხვევაში.
- პერიოდული ფერმენტაციის დროს უჯრედების შესაგროვებლად, მათ დასაშლელად და მიკროორგანიზმებით სინთეზირებული ცილოვანი პროდუქტის ან მეტაბოლიტის შემდგომი გაწმენდისა-თვის საჭიროა მსხვილგაბარიტიანი მოწყობილობა. ამავე დროს უწყვეტი მოქმედების ფერმენტორში სინთეზი ნელ–ნელა მიმდინარეობს, ისე რომ მოწყობილობაც შეიძლება არ იყოს დიდი.
- უწყვეტ რეჟიმში მომუშავე ფერმენტორი უქმად არ დგას ისე, როგორც პერიოდული მოქმედების ფერმენტორი, რომელიც დროდადრო უნდა გადმოიტვირთოს და მომზადდეს ხელახალი გამოყენებისათვის. ბიორეაქტორის მოცდენა რემონტთან, გაწმენდასთან ან სტერილიზაციასთან დაკავშირებით არის პროცესის ეფექტურობის შემცირების ძირითადი მიზეზი. უწყვეტი ფერმენტაციის დროს ეს მოცდენა გაცილებით ნაკლებია.
- უწყვეტი ფერმენტაციის პროცესში უჯრედების უმეტესობის ფიზიოლოგიური სტატუსი ერთნაირია, ამიტომ სინთეზი წარიმართება უფრო შეთანხმებულად. ხოლო პერიოდული ფერმენტაციისას მცირე განსხვავებებმა უჯრედების შეგროვების დროში, რომელიც იწყება ექსპონენციალური ფაზის შუა სტადიიდან და მთავრდება მისი გვიანი ეტაპით, შეიძლება გამოიწვიოს მნიშვნელოვანი შეუთავსებლობა.
- უწყვეტი ფერმენტაცია უკვე გამოიყენებოდა ერთუჯრედიანი მოკროორგანიზმების, ანტიბიოტიკებისა და ორგანული გამხსნელების სამრეწველო მიღებისათვის. თუმცა, ამ ხერხს აქვს თავისი ნაკლოვანებებიც:
- უწყვეტ რეჟიმში ფერმენტაციის დროის ხანგრძლივობა შეადგენს 500 – 1000 სთ–ს, ამასთან უჯრედთა ნაწილმა შეიძლება დაკარგოს რეკომბინანტული პლაზმიდები. უჯრედები, რომლებიც არ არის პლაზმიდის მატარებლები, ჩვეულებრივ, ხარჯავენ ნაკლებ ენერგიას და იყოფიან უფრო სწრაფად, ვიდრე ისინი, რომლებიც შეიცავენ

პლაზმიდას, ამიტომ დროთა განმავლობაში პროდუქტის გამოსავალი შეიძლება შემცირდეს იმ უჯრედების რიცხვის შემცირების გამო, რომელთაც სინთეზირების უნარი აქვთ. ამ პრობლემის გადაჭრა შესაძლებელი იქნებოდა, თუ მოხდებოდა პატრონის ორგანიზმის გენომში კლონირებული გენის ინტეგრირება.

- ძალზე ძნელია სტერილური პირობების დაცვა სამრეწველო დანადგარებში ხანგრძლივი დროის განმავლობაში. გარდა ამისა, უწყვეტი პროცესებისათვის საჭიროა სტერილური სარეზერვო დანადგარები, რაც მნიშვნელოვნად ზრდის ძირითად დანახარჯებს.
- იმ კულტურალური გარემოს (არის) კომპონენტების ხარისხს, რომელიც გამოიყენება მსხვილმასშტაბიანი ფერმენტაციის დროს, არ წაეყენება ისეთი მაღალი მოთხოვნები, როგორც კომპონენტების არეს ლაბორატორიულ პირობებში ფერმენტაციის დროს.ერთი პროცესი შეიძლება იცვლებოდეს მეორით, რაც შეიძლება იწვევდეს უჯრედების ფიზიოლოგიური მახასიათებლების შეცვლას და მწარმოებლურობის შემცირებას.

პერიოდული ფერმენტაციის, როგორც ძალზე საიმედო სისტემის, რეპუტაცია აფერხებს ფერმენტაციის ნებისმიერ სხვა ტიპზე გადასვლას, მიუხედავად იმისა, რომ მუშაობის უწყვეტი რეჟიმი უფრო ეფექტურია. ...და მაინც, ახლახან შეიქმნა რამდენიმე დანადგარი – ლაბორატორიული (10 ლ–მდე) და პილოტური (1000 ლ–მდე) – უწყვეტი და პერიოდული ფერმენტაციისათვის სუბსტრატის დამატებით, რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების მეშვეობით ცილების მიღების მიზნით. ეს იმაზე მეტყველებს, რომ სუბსტრატის დამატებით უწყვეტი ფერმენტორებისა და პერიოდული ფერმენტორების უფრო ფართო გამოყენება მრეწველობაში – მხოლოდ დროის საკითხია.

მიკროორგანიზმების უმეტესობა ყველაზე კარგად იზრდება 5,5–დან 8,5–მდე pH–ის პირობებში. გასათვალისწინებელია, რომ უჯრედულ მეტაბოლიტებს, მოხვდებიან რა კულტურალურ არეში, შეუძლიათ შეცვალონ მისი pH. ამრიგად, საჭიროა pH–ის გულდასმით გაკონტროლება ფერმენტაციის მსვლელობაში და საჭიროების შემთხვევაში, ფერმენტორში მჟავის ან ტუტის დამატება. ამასთან, ეს უკანასკნელნი კარგად უნდა იქნეს შერეული არესთან და თანაბრად განაწილებული მთელ მოცულობაზე.

კიდევ ერთი პარამეტრი, რომელზეც დამოკიდებულია ფერმენტაციის წარმატება, არის ტემპერატურა. თუ ის ოპტიმალურზე დაბალია, მაშინ მიკროორგანიზმების ზრდა შენელდება და მეტაბოლიზმის ინტენსიურობა მცირდება. ხოლო თუ პირიქით, ტემპერატურა ძალზე მაღალია, მაშინ შეიძლება მოხდეს ცილის სინთეზის დროზე ადრე (ნაადრევი) ინდუქცია(თუ ის იმყოფება ტემპერატურა მგრძნობიარე რეპრესორის კონტროლის ქვეშ), ან სითბური შოკის ცილების ინდუქცია, რაც ახდენს უჯრედული პროტეინაზების აქტივირებას და შეამცირებს ცილოვანი პროდუქტის გამოსავალს.

კულტურის გულმოდგინე არევა საჭიროა, ჯერ ერთი, უჯრედებისთვის საკვები ნივთიერებების თანაბარი მიწოდებისათვის და, მეორეც, მეტაბოლიზმის გვერდითი, ტოქსიკური პროდუქტების დაგროვების აღმოსაფხვრელად ბიორეაქტორის რომელიმე მცირე ნაწილში. ეფექტიანი მორევა შედარებით ადვილად შეიძლება იქნეს უზრუნველყოფილი მცირე მოცულობით კულტივირების დროს, ხოლო მსხვილმასშტაბიანი კულტივირების დროს კი ჰომოგენური კულტურალური არის შენარჩუნება ერთ–ერთი მთავარი პრობლემა ხდება.

კულტურალური არის შერევა გავლენას ახდენს სხვა პარამეტრებზეც: ჟანგბადის გადატანის სიჩქარე აირის ბუშტუკებიდან თხევად არეში, ხოლო შემდეგ არიდან – უჯრედებში; თბოგადაცემის ეფექტურობა; მეტაბოლიტების კონცენტრაციის გაზომვის სიზუსტე კულტურალურ სითხეში; დასამატებელი რეაგენტების (მჟავების, ფუძეების, საკვები ნივთიერებების და ა.შ.) დისპერგირების ეფექტურობა. ყოველივე აქედან გამომდინარე, შეიძლებოდა გვევარაუდა, რომ, რაც უფრო ინტენსიურად აირევა კულტურა, მით უკეთ გაიზრდება იგი. მაგრამ არის ზედმეტი არევის დროს მასში შეიძლება წარმოიშვას ჰიდრომექანიკური ეფექტები, რომლებიც დამღუპველია ბაქტერიალური უჯრედებისათვის და ძუძუმწოვართა უჯრედებისათვის, ან შეიძლება აიწიოს ტემპერატურა, რომელიც ასევე იმოქმედებს მათ სიცოცხლისუნარიანობაზე. ამრიგად, როგორც ყოველთვის, საჭიროა დაცული იქნეს ბალანსი არის გულდასმით არევის საჭიროებასა და უჯრედების მთლიანობის შენარჩუნებისკენ სწრაფვას შორის.

არსებობს კიდევ ერთი ფაქტორი, რომელიც ეხება მსხვილმასშტაბიან ფერმენტაციას და რომელსაც არაფერი საერთო არა აქვს პროცესის ტექნიკურ მხარესთან. ის შეეხება ამ პროცესში რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების გამოყენება–არგამოყენების საკითხს. ქვეყნების უმეტესობაში რეკომბინანტული მიკროორგანიზმების მსხვილმასშტაბიანი კულტივირება დაკავშირებულია განსაზღვრული წესებისა და ინსტრუქციების დაცვის აუცილებლობასთან. თუმცა რეკომბინანტული მიკროორგანიზმები არავითარ საფრთხეს არ წარმოადგენენ, მნიშვნელოვანია არ დავუშვათ მათი მოხვედრა არეში. ამისათვის გამოიყენება საიმედო სისტემები, რომლებიც აღმოფხვრის ცოცხალი რეკომბინანტული ორგანიზმების გადინებას ან ზღუდავს მათ გავრცელებას, თუ გადინება უკვე მოხდა. გარდა ამისა, დანადგარიდან საბოლოო მოშორების წინ, ყველა რეკომბინანტული მიკროორგანიზმი უნდა იქნეს ინაქტივირებული განსაზღვრული ინსტრუქციების შესაბამისად. გამოყენებული კულტურალური არე საჭიროა აგრეთვე შემოწმდეს მასში სიცოცხლისუნარიანი მიკროორგანიზმების არსებობაზე, რათა გამოირიცხოს მათი მოხვედრა გარემოში.

ფერმენტაციის ტიპური მსხვილმასშტაბიანი სისტემები

რეკომბინანტული მიკროორგანიზმები ფართოდ გამოიყენება მედიცინაში სხვადასხვა სახის ცილოვანი პროდუქტების (მაგალითად, ინსულინის)მისაღებად, აგრეთვე ე.წ. „ფაბრიკების“ სახით კომერციული ღირებულების მქონე მეტაბოლიტების (მაგალითად, ანტიბიოტიკების) წარმოებისათვის. შედარებით უფრო ინტენსიურად ხდება ცილების სინთეზირება შუა ექსპონენციალური ფაზიდან მის დასრულებამდე დროის პერიოდში, ხოლო მეტაბოლიტებისა – ზრდის შენელების პერიოდში და სტაციონარულ ფაზაში. ყოველივე ეს გათვალისწინებული უნდა იქნეს ფერმენტაციის მსხვილმასშტაბიანი პროცესების პარამეტრების შერჩევისას.

საჭირო პროდუქტის სინთეზის ოპტიმიზაცია – ეს სერიოზული მეცნიერული პრობლემაა. თუ საუბარია ცილებზე, მაშინ მის გადასაჭრელად, ჩვეულებრივ, გამოიყენება კლონირებული გენები, რომლებიც იმყოფება ძლიერი რეგილირებადი პრომოტორების კონტროლის ქვეშ. თავდაპირველად ვარაუდობდნენ, რომ საჭირო რაოდენობის პროდუქტის მისაღებად საკმარისი იქნებოდა კლონირებული გენის კონსტიტუციური ექსპრესია. მაგრამ ცდამ აჩვენა, რომ კლონირებული გენის უწყვეტი ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის დროს გამოიფიტება უჯრედის ყველა ენერგეტიკული რესურსი და მისი ზრდა შენელებულია. იმისათვის რომ მივუსადაგოთ კლონირებული გენის ექსპრესია ზრდის განსაზღვრულ ფაზას, შეიძლება გამოვიყენოთ ინდუქციის მექანიზმი. ამისათვის თავდაპირველად გამოყავთ უჯრედები ოპტიმალურ პირობებში შედარებით მაღალ სიმჭიდროვემდე, შემდეგ კი ახდენენ ტრანსკრიპციის ინდუცირებას ტემპერატურის შეცვლით, ან არეში ამა თუ იმ ქიმიური პროდუქტის დამატებით პრომოტორის ბუნებიდან გამომდინარე (მაგალითად, იზოპროპილ–β–ტიოგალაქტოპირანოზიდის დამატებით).

11. მიკრობული ცილის მიღების ტექნოლოგია

მიკრობული ცილის წარმოებისათვის ნედლეულის მნიშვნელოვანი სახეებია მოპოვებული (ქვანახშირი, ნავთობი, ბუნებრივი აირი) და მცენარეთა ფოტოსინთეზის მოქმედებით მიღებული საწვავი. ქვანახშირი შეიძლება გარდაიქმნასაირად ან თხევად ნახშირწყალბადად. საფუარებით სწრაფი კონვერსიისათვის მიზანშეწონილია ნავთობის ნახშირწყალბადები 10–20 ნახშირბადის ატომებით. ნავთობი შეიცავს ამ შენაერთების დაახლოებით 2%–ს და ნახშირწყალბადის ფრაქციის უტილიზაციამ ყოველწლიური მოპოვებიდან შეიძლება უზრუნველყოს 20 მლნ ტ საფუარის ცილის მიღება. ცილის გამოსავლიანობა თხევადის შემთხვევაში 2–ჯერ მეტია ვიდრე ნახშირწყლების სუბსტრატებთან შედარებით. წარმოების მასშტაბებში 100 ტ ნახშირწყალბადიდან

წარმოიქმნება 100 ტ საფუარი, რომელიც შეიცავს 50% ცილას. ბაქტერიებს და სოკოებსაც შეუძლიათ ამ სუბსტრატზე გაზრდა. აქტიური ზრდის შესანარჩუნებლად საფუარის უჯრედები და წყალში გაუხსნელი ნახშირწყალბადები გულდასმით დისპერგირებენ კულტურალურ წყლის გარემოში, ჟანგბადი მიეწოდება უფრო მეტი რაოდენობით, ვიდრე ეს საჭიროა ნახშირწყლების სუბსტრატებზე ზრდისათვის, ხოლო ნავთობში პოტენციურად ტოქსიკური არომატული ნაერთების არსებობა მოითხოვს მათგან ნახშირწყალბადის გაწმენდას ყველა ნარჩენი ნახშირწყალბადის გამოყენებამდე ან ექსტრაქციამდე გამოზრდილი უჯრედებიდან.

ნავთობპროდუქტებისაგან ცილების მიღების ტექნოლოგია გამოსადეგია ცილების წარმოებისათვის ეთილისა და მეთილის სპირტისაგან. ნახშირწყალბადებისაგან განსხვავებით, სპირტი სრულად აირევა წყალში, რაც აადვილებს გარემოს მომზადებას და ამცირებს შერევაზე გაწეულ ხარჯებს; სპირტის უტილიზაციის დროს ჟანგბადზე მოთხოვნა ნაკლებია, ვიდრე მეთანისა და n–პარაფინების გამოყენების დროს; სპირტიან არეში კულტურების ზრდის პროცესში გამოიყოფა შედარებით მცირე ოდენობის სითბო, რის მეშვეობითაც წყლის ხარჯი ფერმენტების გასაგრილებლად მცირეა; სპირტების მიღების წესი გამორიცხავს კონცეროგენული პოლიციკლური ნახშირწყალბადების არსებობას.

დიდი რაოდენობით ეთილის სპირტის წარმოება შეიძლება ეთილენის კატალიზური ჰიდრატაციის გზითაც. ამასთან, ყოველი 740 კგ ეთილენი იძლევა 1 ტ ეთილის სპირტს. ეთანოლი მიიღება აგრეთვე ხის გადამამუშავებელი და ცელულოზა–ქაღალდის მრეწველობის ნარჩენების ჰიდროლიზატებისაგან დუღილის მეთოდით. 1 ტ მშრალი მერქნისაგან მიიღება 170–200 ლ ეთანოლი. 1 ტ ეთანოლის თვითღირებულება შეადგენს 140 აშშ დოლარს, თუმცა პირდაპირი ჰიდრატაციის საამქროებში იგი საშუალოდარგობრივ მაჩვენებელზე დაბალია. სინთეტიკური ეთანოლისაგან ცილის მიღების თვითღირებულება 20–25%–ით ნაკლებია, ვიდრე თხევადი პარაფინების გამოყენების დროს.

მიცელიუმიანი სოკოების მოყვანისას 1 ტ ეთილის სპირტისაგან შეიძლება მიღებული იქნეს 0,3–0,8 ტ სოკოს ბიომასა, რომელიც შეიცავს 60–65% ცილას, ანუ 0,1–0,4 ტ ცილას.

ბუნებაში აღმოჩენილია მიკროორგანიზმების დიდი რაოდენობა, რომლებიც უტილიზირებენ მეთანოლს. მეთილოტროპული ბაქტერიები ორი ტიპისაა: ობლიგატური, რომელთაც შესწევთ მეთანის, მეთანოლისა და სხვა C_1–შენაერთების ასიმილირების უნარი და ფაკულტატური, რომელთაც გააჩნიათ არამარტო C_1–შენაერთების, არამედ სხვა ნახშირშემცველი ნივთიერებების ასიმილირების უნარიც.

პროდუცენტების სახით საფუარებისა და სხვა სოკოების გამოყენების დროს მეთანოლის ბიოკონვერსიის ეფექტიანობა აღწევს ნახშირწყლების სუბსტრატების ბიოკონვერსიის ეფექტიანობას – 1 ტ

მეთილის სპირტისაგან (ზრდის ფაქტორების დამატების შემთხვევაში) წარმოიქმნება 0,40–0,45 ტ ბიომასა, ანუ 0,18–0,25 ტ ცილა.

ნახშირწყალბადების გაძვირებამ გამოიწვია მსოფლიოში სხვა პროდუქტების გაძვირების ჯაჭვული რეაქცია. ნავთობის ფასის ზრდასთან ერთად, გაიზარდა ფასები ბენზინზე, თითქმის ყველა სამრეწველო საქონელზე და სასოფლო–სამეურნეო პროდუქციაზე. ნავთობზე უწყვეტი მოთხოვნა სტიმულირებს მისი მოპოვების გაზრდას. ამჟამად უკვემსოფლიოში ყოველწლიურად მოიპოვება 3 მლრდ ტ ნავთობზე მეტი და, პროგნოზის მიხედვით, 30–35 წლის შემდეგ მისი მარაგები სულ ამოიწურება. იგივე ეხება ბუნებრივ აირსაც.

აღნიშნული მიზეზების გამო ნავთობის თხევადი პარაფინი და ბუნებრივი აირი სულ უფრო იშვიათად განიხილება როგორც პერსპექტიული ნედლეული მიკრობიოლოგიური მრეწველობისათვის. დგება დრო, როდესაც ორგანული და მიკრობიოლოგიური სინთეზის მრეწველობა სრულად ამოწურავს დღევანდელ ნედლეულის ბაზას.

მცენარეული ბიომასის ერთ–ერთი მთავარი უპირატესობა ორგანული ნედლეულის სხვა წყაროებთან შედარებით, არის მისი მუდმივი განახლება ფოტოსინთეზის პროცესში. მზის ენერგიის ფიქსაციის შედეგად დედამიწაზე ყოველწლიურად იქმნება 1,8 X 10^{12} მცენარეული ბიომასა, რაც 20–ჯერ და მეტადაც აღემატება ქვანახშირის, ნავთობისა და ბუნებრივი აირის ჯამურ მოპოვებას. მცენარეული ბიომასის ყველა სახეებიდან სამრეწველო გადამუშავებისათვის მნიშვნელოვანია მერქანი. მსოფლიო მასშტაბით მოხმარებული მერქნის საერთო მოცულობა წელიწადში შეადგენს დაახლოებით 2 მილიარდი $მ^3$, მაგრამ ქიმიური გადამუშავებისათვის, უმთავრესად ცელულოზა–ქაღალდის წარმოებისათვის, გამოიყენება ამ მოცულობის მხოლოდ 15%.

საფუარის, სპირტ–საფუარის, ფურფულორული–საფუარისა და ქსილოზური–საფუარის წარმოების საფუძველს წარმოადგენს მერქნის მჟავური პერკოლაციური ჰიდროლიზი, სადაც კატალიზატორად გამოიყენება გოგირდმჟავა. მჟავური კატალიზატორის შერჩევა განპირობებულია მისი შედარებით დაბალი ღირებულებით და შაქრების მაღალი გამოსავლით, რაც მერქნის ზოგიერთი სახეებისათვის აღწევს 60%–ს, თეორიულად გათვლილი 81%–ის დროს.

მიუხედავად იმისა, რომ ეფექტიანობითა და ძირითადი ეკონომიკური მაჩვენებლებით მცენარეული მასალების ჰიდროლიზი გოგირდმჟავით რჩება უფრო პერსპექტიულ პროცესად, მას ახასიათებს სერიოზული ნაკლოვანებებიც, რაც ზღუდავს მის გამოყენებას. ესენია: მაღალი ენერგოტევადობა; კატალიზატორის მნიშვნელოვანი ხარჯვა; ლიგნოცელულოზური მასალების დეპოლიმერიზაციის გზით კონდენსირებული პროდუქტების წარმოშობა, რაც აისახება შაქრების გამოსავალზე; წყლის ფაზის სიდიდის შეფარდება მერქნისასთან (მოდული)არ იძლევა შაქრების კონცენტრირებული ხსნარების ამოღების საშუალებას;მცენარეული ნედლეულის

მჟავური ჰიდროლიზი იძლევა ძნელადუტილიზირებადი ნარჩენების მნიშვნელოვან ოდენობას; ტოქსიკური კომპონენტები, რომლებიც ამცირებენ შაქრის ღირებულებას (ფურფუროლი, ოქსიმეთილფურფუროლი, ლევულინისა და ჭიანჭველის მჟავები, ფორმალდეჰიდი, არომატული შენაერთები და ლიგნინი). ეს უკანასკნელები მიიღება კონდენსირებული სახით, ამიტომ ძნელად ექვემდებარება ქიმიურ და ბიოლოგიურ გადამუშავებას.

ამ ახალ ჰიდროლიზურ პროცესთან დაკავშირებით წამოყენებულია შემდეგი მოთხოვნები: ენერგოდანახარჯების შემცირება, უნარჩენო წარმოება, აპარატურული გაფორმების სიმარტივე, ავტომატიზაციის შესაძლებლობა. ამ ამოცანების გადაჭრის ძიებაში მეცნიერების მიერ მჟავურ ჰიდროლიზთან ერთად შემოთავაზებულია ლიგნოცელულოზის გადამუშავების ისეთი წესები, როგორიცაა თერმოლიზი, ავტოჰიდროლიზი – ექსტრაქცია, აფეთქება, რადიოლიზი, CO_2–ის რადიოლიზი ატმოსფეროში, პრედჰიდროლიზი CO_2–ის ორთქლში, ტუტის დელიგნიფიკაცია, ჰიდროლიზი CO_2–ის ორთქლში, ორგანულ გამხსნელებში, მაღალტემპერატურული, პირდაპირი და არაპირდაპირი (ირიბი) ფერმენტატული ჰიდროლიზი.

თითოეულ ჩამოთვლილ პროცესთაგანს ახასიათებს თავისი უპირატესობები (ღირსებები) და ნაკლოვანებები. ზოგიერთი სპეციალისტი თვლის, რომ განხილული პროცესების მხოლოდ კომბინაციას შეიძლება ჰქონდეს სამრეწველო გამოყენება, მაგალითად, ავტოჰიდროლიზი – ექსტრაქცია–აფეთქება ან ჰიდროლიზის მჟავური და ფერმენტატული ტიპების შერწყმა.

პერსპექტიულად ითვლება ლიგნოცელულოზური მასალების (ჰემიცელულოზის, ცელულოზის და ლიგნინის) წინასწარი დაყოფა, რაც ხელს შეუწყობს მთავარი ნაკლოვანების პოლიმერების რთულ ნაერთში ჰიდროლიზის აღმოფხვრას, აგრეთვე შექმნის წინაპირობას სამი ძირითადი ნივთიერების ნაკადის კომპლექსური გადამუშავებისათვის.

მცენარეული ნედლეულის ჰიდროლიზატორებისაგან მიღებული საკვები არის ბიოლოგიური ხარისხიანობა ერთნაირი არ არის. იგი უპირატესად დამოკიდებულია მერქნისა და სასოფლო–სამეურნეო მცენარეთა ჯიშზე, ხარშვის რეჟიმებზე, მომზადების წესებზე. ასე მაგალითად, წიწვოვანი მერქნის ჰიდროლიზატორები შეიცავენ ნაკლებ პენტოზებს, ვიდრე ფოთლოვანი მერქნისაგან და სასოფლო–სამეურნეო ნარჩენებისაგან მიღებული ჰიდროლიზატორები. ჰექსოზების წილად მოდის წიწვოვანი მერქნის ჰიდროლიზატებში არსებული შაქრების საერთო რაოდენობის 90%, მაშინ როდესაც ფოთლოვანი მერქნის ჰიდროლიზატებში ჰექსოზები შეადგენს მთელი შაქრების 60–65%–ს.

ზედა ფენის ნაკლებდაშლილი ტორფისაგან მიღებული ჰიდროლიზატები ასევე მაღალეფექტიანი სუბსტრატია საფუარებისა და ამინომჟავების პროდუცენტების, ლიპიდების და კაროტინოიდების წარმოებისათვის.

გაირკვა, რომ ტორფის ჰიდროლიზატებზე მოყვანილი საფუარების ცილის ამინომჟავური შედგენილობა რაოდენობითა და ხარისხით არ ჩამოუვარდება თავისი შედგენილობით ამავე საფუარების ცილის ამინომჟავებს, რომელიც მოყვანილია ალაოს ტკბილზე, ამავე დროს მეთიონინის რაოდენობა მათში ორჯერ მეტია, ხოლო შეუცვლელი ამინომჟავების – ლიზინის, ტრეონინის, ვალინის, ლეიცინის არსებობა – მოწმობს ამ საფუარების ცილის მაღალ ხარისხს.

მიღებული მონაცემები ქმნის მყარ საფუძველს ფერმენტული ტექნოლოგიის გამოყენებისათვის ლიგინინის დაშლის პროცესში და ამტკიცებს მისი მაღალკონცენტრირებული პრეპარატების – ჰიდროლიზური და ცელულოზა – ქაღალდის მრეწველობის მრავალტონიანი ნარჩენების მიკრობიოლოგიური გადამუშავების შესაძლებლობას. ბიოტექნოლოგიური მიზნებისათვის უფრო გამოსადეგია მერქნის სულფიტური ხარშვის ნარჩენები. დარჩენილი სითხე, რომელიც მიიღება 2000 კგ მერქნის გადამუშავების შემდეგ, შეიცავს 620 კგ ლიგნინს, 210 კგ მონოსაქარიდებს, 60 კგ პოლისაქარიდებს და 100 კგ ძმარმჟავას, ე.ი. 1000 კგ–ზე მეტ სავსებით უტილიზირებად ორგანულ ნივთიერებებს.

100 წელზე მეტია ცდილობენ აამაღლონ ჩალის ყუათიანობა მისი კომპონენტების მონელებადობის გაუმჯობესების გზით თერმული ან ქიმიური (მაგალითად, ტუტით) დამუშავების ხარჯზე. ეს ხერხები ვერ ამდიდრებს ჩალას ცილებით და ამიტომ ხელს ვერ შეუწყობს მეცხოველეობის საკვებში მონელებადი ცილის დეფიციტის გადალახვას. მაგრამ ბიოკონვერსიასთან ერთად, მათ შესწევთ უნარი არსებითად შეამცირონ საკვები ცილის დეფიციტი.

ცილის მიკრობული სინთეზის პოტენციური ნედლეულია ჭარხლის ჟენჟო – შაქრის ჭარხლის წარმოების ნარჩენი.

100 კგ გადასამუშავებელი ჭარხლისაგან მიიღება დაახლოებით 15 კგ კრისტალური შაქრის ფხვნილი.

ჭარხლის გადამუშავების დროს ნარჩენების სახით მიიღება ღეროფოჩი, ჟენჟო და მელასა. ახალი ჟენჟოს გამოსავალი აღწევს გადამუშავებული ჭარხლის მასის 70–90%–ს და ქვეყნის მასშტაბით – დაახლოებით 70 მლნ ტონას. ჟენჟოს შემადგენლობაში შედის, (%): პექტინის ნივთიერება – 50, ცელულოზა – 24, ჰემიცელულოზა – 22,9, ცილები – 2,1, ნაცარი – 1, შაქრები – 0,2–0,3. ჟენჟოს პექტინურ ნივთიერებათა ჯგუფში შედის პექტოზა (პროტოპექტინი), ხსნადი პექტინი და პოლიგალაქტურონული (პექტინის) მჟავა.

ენზიმებით ჰიდროლიზის დროს პროტოპექტინი გადადის ჯერ პექტინში, შემდეგ კი პოლიგალაქტურონულ მჟავაში. ერთდროულად ისაპნება რთული ეთერები და გამოეყოფა მეთილის სპირტი და ძმარმჟავა. პოლიგალაქტურონული მჟავა შედგება გალაქტურონის მჯავას ჯაჭვში გაერთიანებული მოლეკულებისაგან, არა აქვს ოქსიმეტილისა და

აცეტილის ჯგუფები. პოლიგალაქტურონული მჟავას კარბოქსილური ჯგუფები 60%–ით ეტერიფიცირებულია მეთილის სპირტით.

ჭარხლის, ისევე როგორც მრავალი სხვა მცენარის, უჯრედის კედლების მთავარ ნაწილს შეადგენს ცელულოზა. მისი თანამგზავრებია ჰემიცელულოზები. მცენარეული ქსოვილის ნახშირწყლების ეს ჯგუფი შედგება ჰექსოზებისა და პენტოზების პოლიმერული ანჰიდრიდებისაგან და განსხვავდება ცელულოზისაგან შედარებით მსუბუქი ჰიდროლიზით. ჰემიცელულოზების შემადგენლობაში ჰექსოზანებთან და პენტოზანებთან ერთად შედის ურონების მჟავების გარკვეული რაოდენობა.

ჭარხალში შემავალი აზოტიანი ნივთიერებებიდან ჟენჟოში რჩება საერთო აზოტის 50%, ცილის – 80%, ხსნადი – 30%. ამიდური და ამიაკის აზოტი სრულად გადადის დიფუზურ წვენში. ხსნად აზოტს მიეკუთვნება ამინიმჟავური აზოტი, ბეტაინის, პურინული ფუძეების და ნიტრატული. ჟენჟოში არსებული ცილა წარმოდგენილია ალბუმინებითა და გლობულინებით. გარდა მარტივი ცილებისა, ჟენჟოში არის უმნიშვნელო რაოდენობის პროტეიდები, უმთავრესად ნუკლეოპროტეიდების სახით. ამ შენაერთების ნუკლეინის მჟავებში არის აზოტოვანი სტრუქტურული ელემენტები, პურინი, პირიმიდინი, რიბოზა (პენტოზა) და ფოსფორის მჟავა. ნედლ ჟენჟოში ამინომჟავების საერთო შემადგენლობა მერყეობს 0,3–0,5%–ის ფარგლებში. ამინომჟავების შედგენილობაში შედის: ალანინი, ვალინი, ლეიცინი, იზოლეიცინი, ასპარაგინის, გლუტამინის მჟავები, ლიზინი, არგინინი, ფენილალანინი, თიროზინი, პროლინი და ტრიპტოფანი. ამიდური აზოტი შეიმჩნევა უპირატესად გლუტამინში და ასპარაგინში. ჭარხალში და ჟენჟოში ამიდების შემცველობა შედარებით დაბალია. ამინომჟავებისა და ამიდების გარდა ჟენჟოს შემადგენლობაში შედის ბეტაინი – „მცენარეული ფუძეები“, რომელიც შეიცავს რიგ აზოტოვან შენაერთებს.

ჟენჟოში აღმოჩენილია ორი ფერმენტი – პროტოპექტინაზა და პექტინაზა. ჟენჟოში ნაწილობრივ დარჩენილ ორგანულ მჟავებს მიეკუთვნება მჟაუნის, მალონის, ქარვის, გლუტარის, ადიპინის, გლიკოლის, რძის, ვაშლის, ღვინისა და ლიმონმჟავა. ჟენჟოს მინერალური ნივთიერებები განისაზღვრება ჯამურად ნაცრის სახით.

ჟენჟო შეიცავს ცხიმების უმნიშვნელო რაოდენობას, აგრეთვე მცენარეული სტერინის (ფიტოსტერინის) ორ ფორმას. ნედლი ჟენჟოსაგან გამოიყოფა 8,7% პალმიტინის მჟავა, აგრეთვე 36,1% ოლეინის და 18% ერუკოს მჟავა, რომლებიც დაკავშირებულია გლიცერინის ნაშთთან.

ნახშირწყლებით მდიდარი ნედლეული – ჟენჟო მკვლევარების ყურადღებას იპყრობს კიდევ არეების კომპონენტი იმ მიკრო-ორგანიზმების მოყვანის თვალსაზრისით, რომლებიც პროდუცირებენ მრავალგვარ ფერმენტებს. ვინაიდან ჟენჟოს შემადგენლობაში ბევრია პექტინი, უფრო ხშირად იგი გამოიყენება პექტოლიტიკური ფერმენტების

მისაღებად. პექტინებისაგან გაწმენდილი ჟენჟოს გამოიყენება არეებში სოკოებისათვის Geotrichum candidum და Trichoderma viride 185, რომლებიც ასინთეზირებენ ცელულოლიტურ ფერმენტებს. მჟავე პროტეინაზას ბიოსინთეზის შესწავლისას ობის სოკოთი Aspergillus foetidus ხორბლის ქატოს 90%–ის შეცვლა ჭარხლის ჟენჟოთი ამაღლებს ფერმენტის აქტივობას 10–15%–ით.

არსებობს აგრეთვე ბევრი ცნობა ჟენჟოს გამოყენებაზე მიკროორგანიზმების მიერ ცილების დაგროვებისათვის. პროდუცენტებად გამოდიან არასრულყოფილი სოკოები (ჯიშებისა) Aspergillus, Penicillinium, Trichoderma, Chaetomium, ბაზიდალური სოკოები, აქტინომიცეტები. ყველა მათგანს ფერმენტების პროდუცირების და ჭარხლის ჟენჟოს კომპონენტების ცილაში ტრანსფორმირების უნარი აქვს.

პირუტყვისათვის სრულფასოვანი ცილოვანი საკვების მისაღებად დიდად საინტერესოა სახამებლის შემცველი სუბსტრატები – მარცვალგადამამუშავებელი მრეწველობის ნარჩენები: სხვადასხვა სახის ქატო, კარტოფილის, ბატატის, ბანანის, გადამუშავების ნარჩენები.

საკვებად, სათესლედ ან ტექნიკური მიზნებისათვის კარტოფილის მოყვანის დროს რჩებოდა არა ნაკლები 20–25%, ე.ი. 3,0–6,5 მლნ ტ ე.წ. არასტანდარტული ბოლქვის ფრაქცია (აბფ), რომლის გამოყენება ამჟამად მიზანშეწონილად ითვლება პირუტყვის საკვებად, თუმცა 1 მლნ ტ აბფ–ს საკვებად გამოყენებისას პირუტყვს მიეცემა მხოლოდ 10 ტ ცილა (მისი შემცველობა კარტოფილში უახლოვდება 1%–ს ნედლ მასაზე გადაანგარიშებით).

დღლაბი გამოიყენება პირუტყვის საკვებად, მაგრამ მისი კვებითი ღირებულება დიდი არ არის, ვინაიდან იგი შეიცავს ძირითადად ნახშირწყლებს და რაციონში ცილების უკმარისობის დროს არ იძლევა შესამჩნევ წონამატს ან ნამატს, თუმცა დაპრესილი და მშრალი სახით ითვლება კარგ ნახშირწყლიან საკვებად, რომელიც საკვები ერთეულების მიხედვით (83,5) უტოლდება მშრალ კარტოფილს. მშრალი დაფქვილი დღლაბი მასში სახამებლის მაღალი შემცველობისას (ზოგჯერ 70%–მდე) ითვლება ნედლეულად მალტოზური ბადაგის, დექსტრინის წებოს წარმოებისათვის, გამოიყენება როგორც დაბალი ხარისხის ტექნიკური სახამებლის შემცვლელი. წყალგამოცლილი დღლაბი დასილოსების დროს იძლევა შედარებით კარგ საკვებს პირუტყვისათვის, რომლის ღირებულება შეიძლება მნიშვნელოვნად გაიზარდოს, თუ მასში დავამატებთ ცილის კოაგულატს, გამოყოფილს უჯრედოვანი წვენისაგან ან წვენის წყლისაგან. კოაგულანტის მშრალ ნივთიერებაში არის 50%–მდე კარტოფილის ცილა ტუბერინი, რომელსაც ცხოველების ორგანიზმი ითვისებს 80%–ით.

წვენების წყლები – არის კარტოფილის უჯრედის წვენი, რომელიც გათხევადებულია 0,6–1,0%–ის კონცენტრაციამდე, მიიღება სალექარიდან და ნალექიან ცენტრიფუგებიდან და აღწევს გადამუშავებული

კარტოფილის მასის 60%–ს. კონცენტრირებული კარტოფილის უჯრედის წვენი განსაკუთრებით საინტერესოა მიკრობიოლოგიური მრეწველობისათვის, ვინაიდან ვარგისია საფუარების ბიოსინთეზისათვის და, გარდა ამისა, შეიძლება იყოს სიმინდის ექსტრაქტის შემცვლელიც. და მაინც, კარტოფილსახამებლის ქარხნების უმეტესობა მუშაობს უჯრედის წვენის გამოყოფის გარეშე, და მაშასადამე, უკანასკნელი არანაირად არ უტილიზირდება.

წვენის წყლის გამოსავალი ჩვეულებრივ შეადგენს გამდინარი წყლების საერთო რაოდენობის 40%–ს. წვენის წყალთან ერთად შორდება უჯრედის წვენის დაახლოებით 96%, რომელშიც გადადის 77,8% აზოტშემცველი ნივთიერებები, 88% ხსნადი შაქარი, 87% ცხიმი, 63,3% მინერალური ნივთიერებები, რომლებსაც შეიცავს კარტოფილი. 1 მ3 წვენის წყალში აღმოჩენილია დაახლოებით 0,54 კგ კალიუმის ჟანგი და 0,09 კგ ფოსფორის ანჰიდრიდი. შაქრებიდან წვენის წყალში აღმოჩენილია გლუკოზა, საქაროზა, გალაქტოზა, ხოლო აზოტოვანი ნივთიერებებიდან – პეპტონი, ამინომჟავები, B ჯგუფის ვიტამინები.

კარტოფილის გადამუშავების ტექნოლოგიისა და ნარჩენების შედგენილობის მიმოხილვა საშუალებას იძლევა დავასკვნათ, რომ კარტოფილის თითქმის ყველა შემადგენელი ნაწილი ამა თუ იმ დამუშავების შემდეგ ან მის გარეშეც შეიძლება იყოს მშვენიერი სუბსტრატი სოკოებისა და საფუარების – ცილის პროდუცენტების კულტუვირებისათვის. კარტოფილის აბფ–ის, წვენისა და კარტოფილის დღლაბის გამოყენება მიკრობიოლოგიური ტრანსფორმაციისათვის შესაძლებელს ხდის ავამაღლოთ ამ ნარჩენების საფუძველზე მიღებული საკვები პროდუქტების ცილის ღირებულება.

სურ.11.1. მწვანე მცენარეებში არსებული ნივთიერებების დაყოფის სქემა

12. ბიოტექნოლოგიურ მრეწველობაში უსაფრთხოების ტექნიკის წესები და პროდუქციის კონტროლი

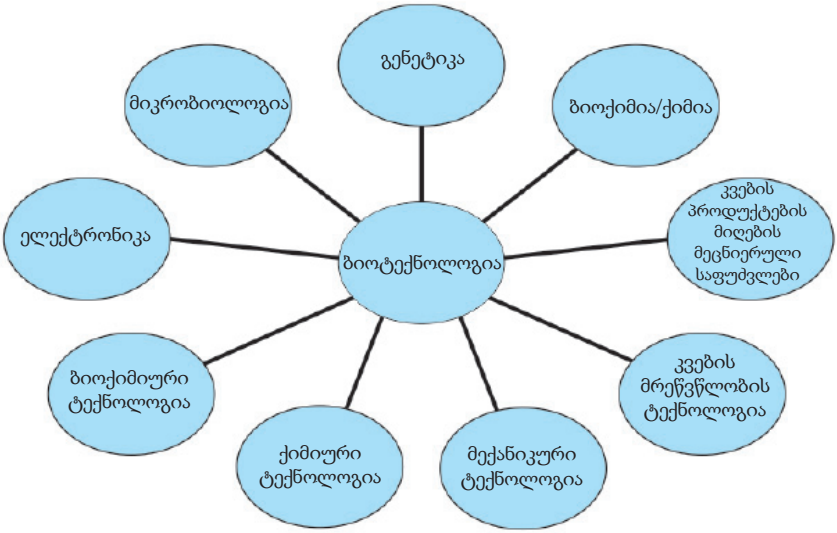
როგორც ცნობილია, არსებობს პროდუქციის ახალი სახეების უსაფრთხოების სტანდარტები. მათგან ყველაზე მკაცრს მიეკუთვნება ისინი, რომლებიც ეხება სამედიცინო პრეპარატებს, აგრეთვე, პროდუქტებს, რომლებიც გამოიყენება მეცხოველეობაში და, განსაკუთრებით, კვების მრეწველობაში. გამოყენებული მეთოდები და მოთხოვნები კარგად არის დასაბუთებული და, თუმცა, კონტროლზე დანახარჯები დიდია, ეს არ უშლის ხელს ბიოტექნოლოგიის მაღალხარისხიანი პროდუქტების შემუშავებას, მაგალითად, სოკოს ცილა ხალხის კვებისათვის. მიუხედავად ამისა თვით გენეტიკური ინჟინერიის გამოყენების შესაძლებლობამ გამოიწია საზოგადოების შეშფოთება და გახდა მსჯელობის საგანი. იმ ქვეყნის მთავრობამ, სადაც ეს დებატები წარმოიშვა, შექმნა საზოგადოების წინაშე ანგარიშვალდებული ორგანიზაციები, რომლებიც მოწოდებულია გააკონტროლონ გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდების გამოყენება. ბუნებრივია, რომ ამ მიზნით სხვადასხვა ქვეყანაში შემუშავებული იყო როგორც კონტროლის განსხვავებული მეთოდები, ისე რამდენადმე არაერთგვაროვანი სტანდარტები. ბიოტექნოლოგიის ახალი მეთოდების გამოყენების გამოცდილების დაგროვების შედეგად ნათელი გახდა, რომ უსაფრთხოების საწყისი წესები ზედმეტად მკაცრი იყო. ეს წესები ჩვეულებრივი გენეტიკური მანიპულაციების უმრავლესობისათვის ნელ–ნელა უფრო შერბილდა. ამავე დროს, ზოგიერთი მანიპულაციისათვის წესები, რომლებიც ეხებოდა წარმოების პირობებსა და ხერხებს, ძალზედ მკაცრი დარჩა და საჭიროებისამებრ ასეთივე დარჩება. ამ მხრივ, იაპონიის მთავრობა იმდენად ფრთხილი იყო, რომ ამან შეანელა კიდეც ქვეყანაში რეკომბინანტული დნმ–ის ტექნოლოგიის განვითარება. თუმცა, დღეს იაპონიაში სამუშაოები ბიოტექნოლოგიაში ძალზე სწრაფად ვითარდება, ვინაიდან წესები შერბილდა და ამ ქვეყანამ უკვე მიაღწია იმ დონეს, რომელსაც მიაღწიეს დასავლეთ ევროპამ და ამერიკამ.

დიდ ბრიტანეთში რეკომბინანტულ დნმ–თან მუშაობაზე კონტროლი ხორციელდება ჯანდაცვისა და უსაფრთხოების სპეციალური სამთავრობო ორგანიზაციის მიერ. ეს ორგანიზაცია და მეცნიერები იცავენ გენეტიკური მანიპულაციების საკონსულტაციო ჯგუფის (GMAG) რეკომენდაციებს, რომელმაც შეიმუშავა კვლევების ჩატარების წესები. ამ წესები, ძირითადად, რეგლამენტირებულია უსაფრთხოების დონეები სხვადასხვა კვლევების ჩატარების დროს. მეცნიერებმა წინასწარ უნდა მიიღონ GMAG–ის ნებართვა თავისი ცდების ჩატარებისათვის და მეცნიერ მუშაკები დიდ გონიერებას იჩენენ ამ წესების გამოყენებისას.

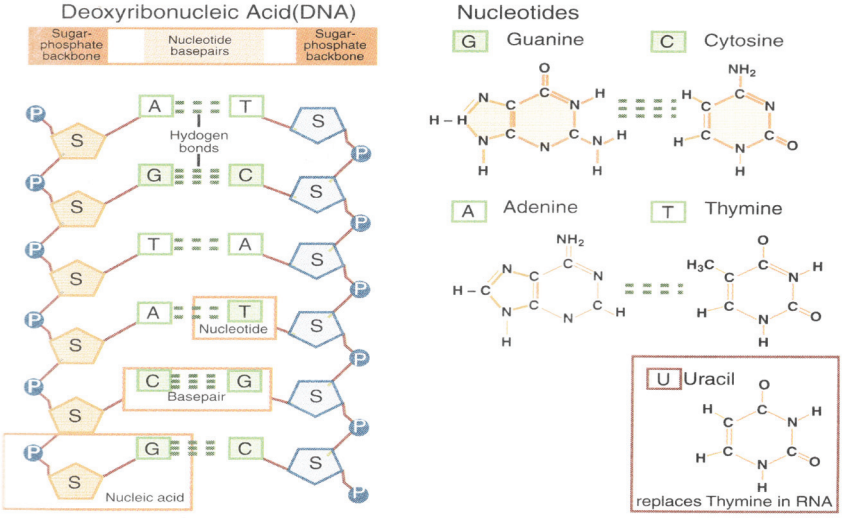
ლიტერატურა:

- კვესიტაძე გ., ე. კვესიტაძე, (1999), ბიოტექნოლოგია, თბილისი, შპს, ეტრატი, 432 გვ.
- ბაკურაძე ა., ე. კვესიტაძე, დ. ღაღანიძე (2009), თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის შესავალი, თბილისი, შპს „სტამბა ქომი“, 313 გვ.
- Ray V. Herren, (2005), Biotechnology- Introduction to an Agricultural Revolution, Thomson, Delmar Learning, USA, 413 p.
- Arie Altman, (1998), Agricultural Biotechnology, Marcel Dekker, Inc, New York, USA, 770 p.
- James N.Seiber (2005), Agricultural Biotechnology: Challenges and Prospects, Thomson, Delmar Learning, USA, 413 p.
- William G Hopkins, Norman P A Hüner, (2003) Introduction to Plant Physiology, John Wiley & Sons, 560 p.
- Robert N. Trigiano, (2005), Plant Development and Biotechnology,CRC Press, L.NY,W DC, USA, 276 p.
- J. K.Heller (2003), Genetically Engineered Food, Wiley-VchVerlag GmbH, Weinheim, 276 p.
- Joe J. Hanan (1997) Greenhouses: Advanced Technology for Protected Agriculture. CRC Press.
- George Acquach (2004), Principles of Crop Production. Prentice Hall
- Slater, N. Scott, M.Fowler (2008), Plant Biotechnology. Oxford University Press.
- G. Simm (2004), Farm Animal Genetic Resources.

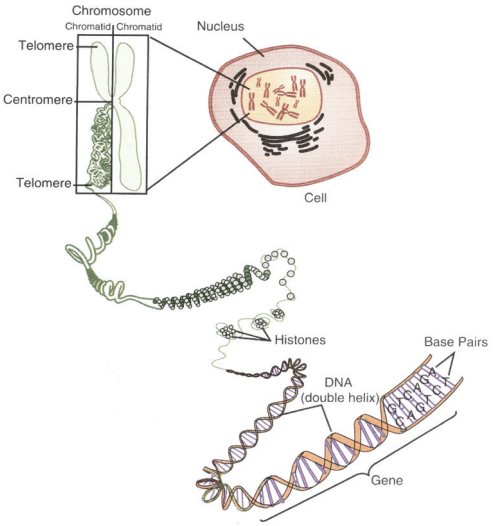
დანართი



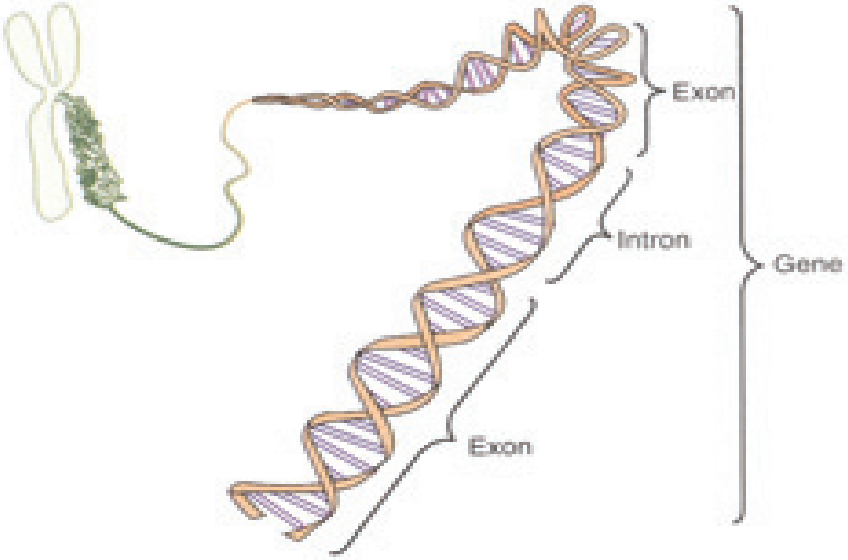
სურ. 1.1. ბიოტექნოლოგიის დისციპლინათაშორისი ბუნება



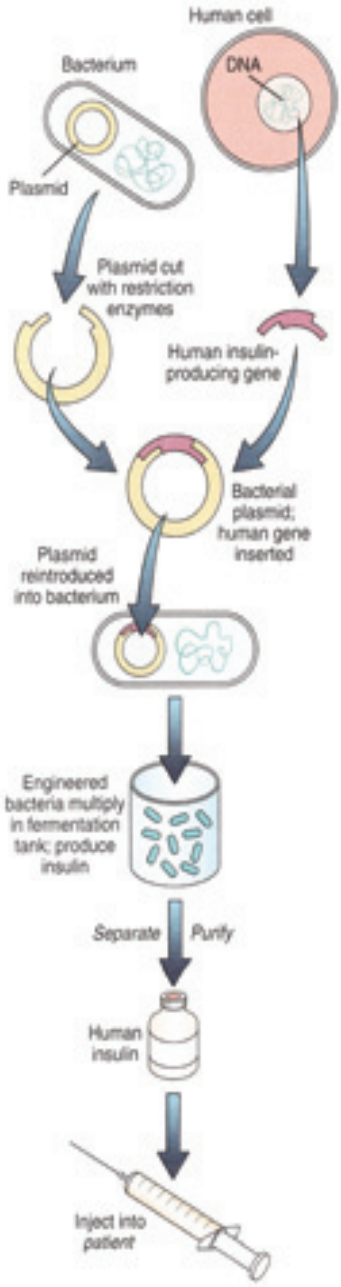
სურ. 3-1 **დნმ შედგება ნუკლეოტიდების ერთეულებისაგან, რომელიც შედგენილია შაქრის მოლეკულისაგან, ფოსფორმჟავას ნაშთისგან და აზოტოვანი ფუძისაგან.**



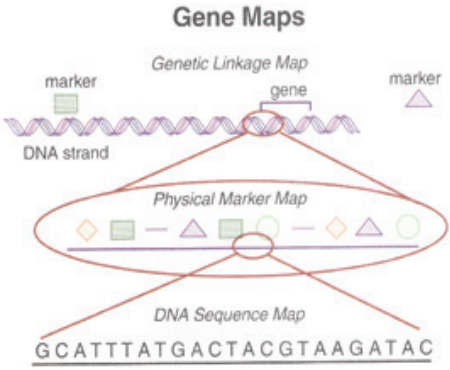
სურ. 3-2
ეუკარიოტული ორგანიზმის უჯრედის ბირთვში გენები დაჯგუფებულია მკვრივი სხეულებში, რომლებიც ქრომოსომების სახელწოდებითაა ცნობილი



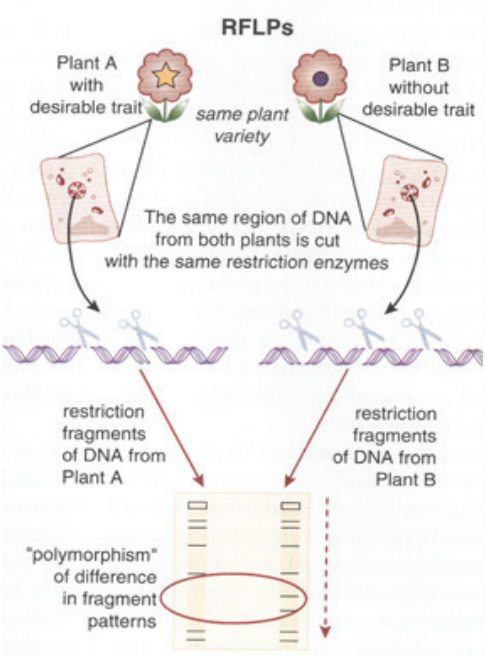
სურ. 3-3 გენების ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობებში გვხვდება არამაკოდირებელი უბნები, რომლებსაც ინტრონები ეწოდება და მაკოდირებელი უბნები, რომლებსაც ეგზონები ეწოდება

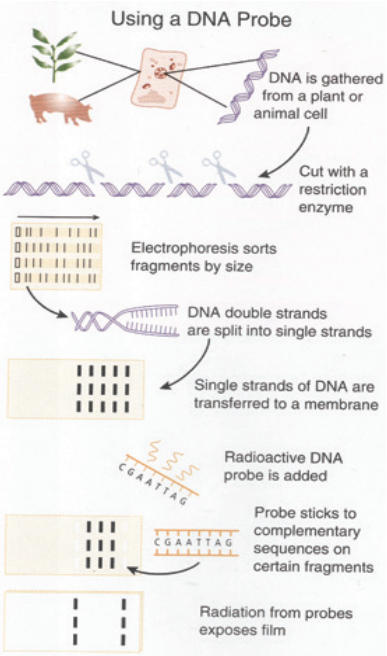


სურ. 4-1
ადამიანის ინსულინი წარმოიქმნება
გენეტიკურად მოდიფიცირებული
ბაქტერიის მიერ



სურ. 4-2
გენეტიკური მარკერები
განლაგებულია დნმ ძაფის გასწვრივ

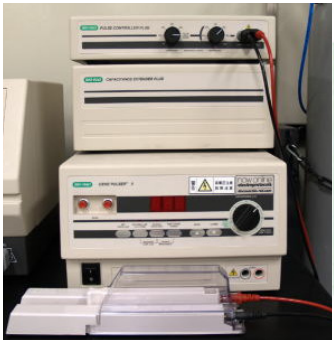




სურ. 4-3
ფრაგმენტების ანალიზი
ელექტროფორეზის გზით

სურ. 4-4
რადიაქტიური ზონდების
გამოყენება დნმ-ს
სექვენირებაში

სურ. 4-5 სიმსივნის გამომწვევი ბაქტერია გამოყენებულია ვექტორად
დნმ-ს იმპლანტაციისათვის

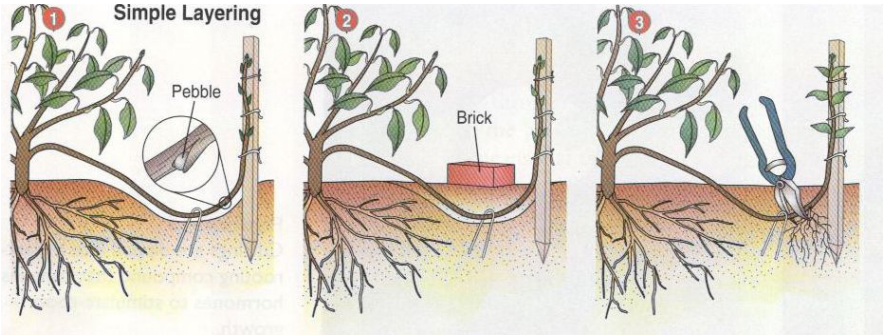


სურ. 4-6 ელექტროფორაციის სისტემა

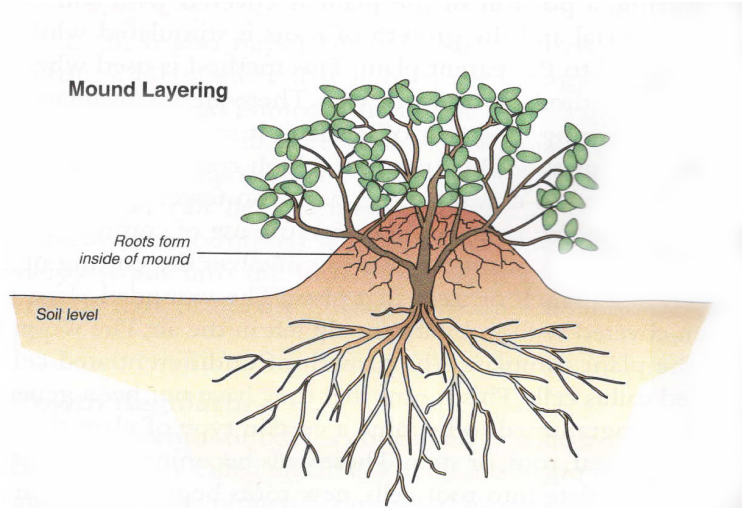
სურ. 4-7 ნაწილაკების გამშვები PDS 1000/ He სისტემა

სურ. 4-8 მიკროინექცია

სურ. 5-1 კალმებით გამრავლება

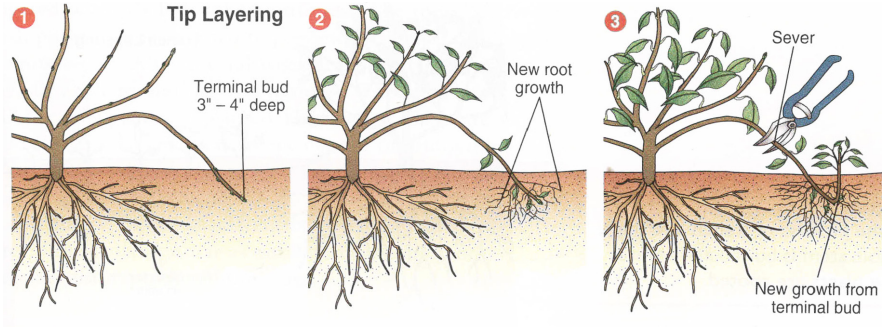


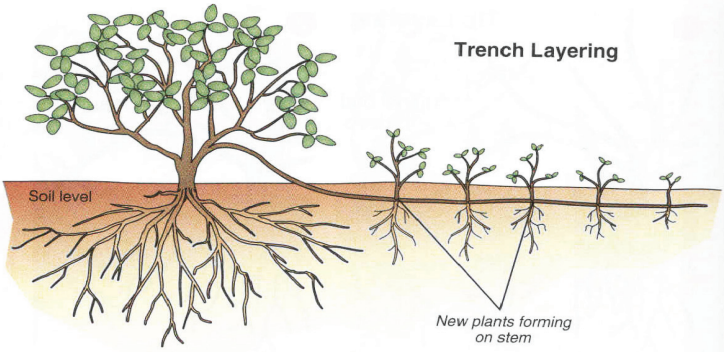
სურ. 5-2 მარტივი გადაფენვის (გადაწვენის) პროცესი



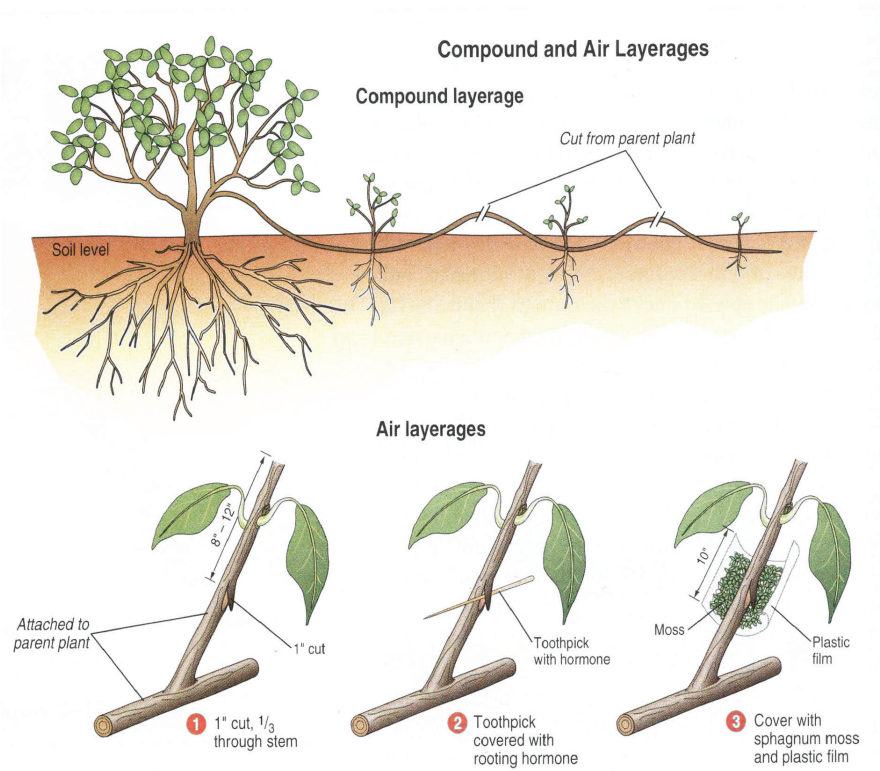
სურ. 5-3 მიწაყრილის ტიპის დაფენვა

სურ. 5-4 კენწრული დაფენვა

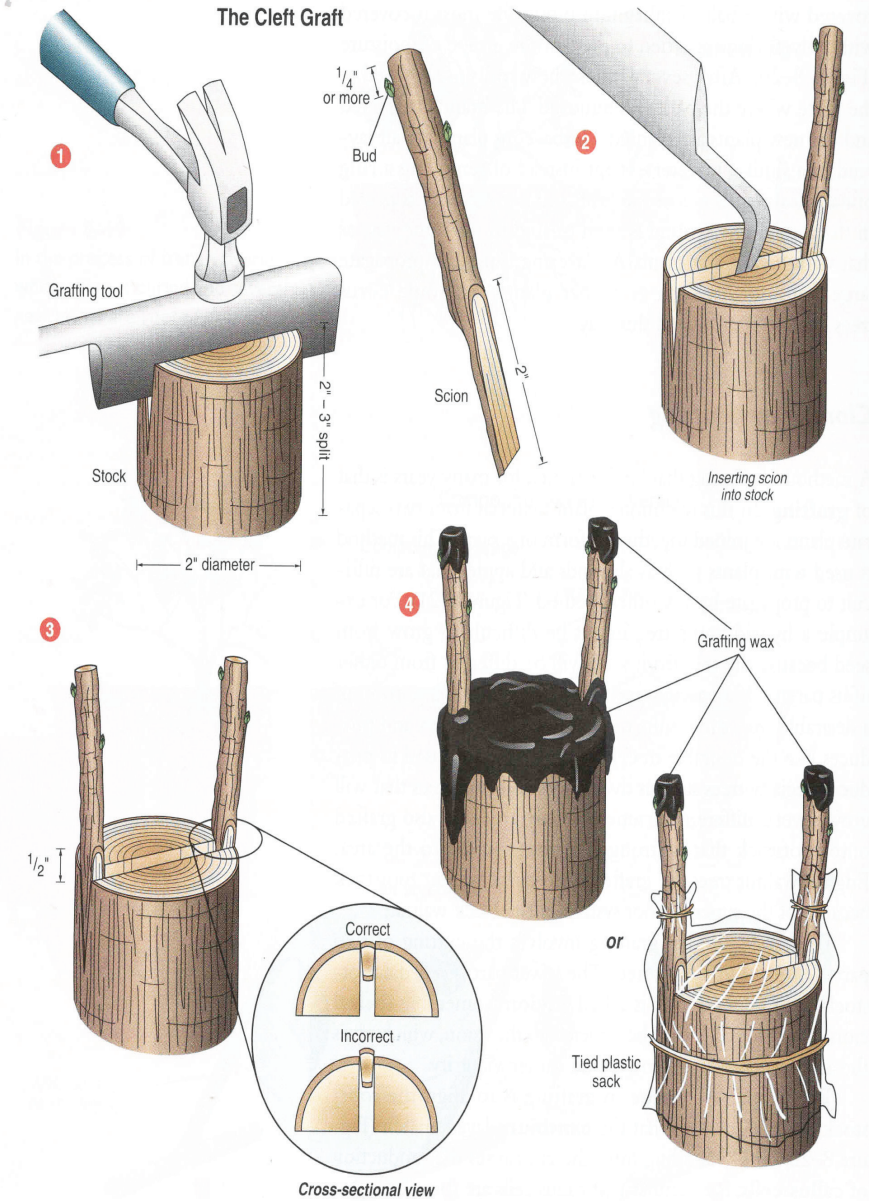




სურ. 5-5 თხრილისმიერი დაფენვა



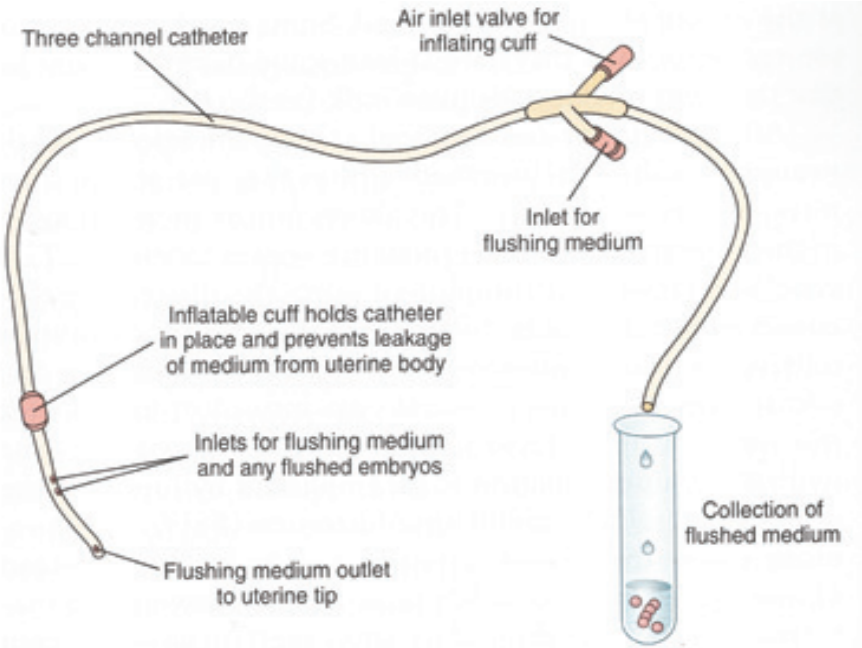
სურ. 5-6 ჰაეროვანი დაფენვა



სურ. 5-7 მყნობის ტექნიკის არსი ისაა, რომ ხდება ორი სხვადასხვა მცენარის შეერთება ერთი მცენარის წარმოქმნის მიზნით

სურ. 5-8 მყნობის სწორი ტექნიკა გულისხმობს საძირისა და სანამყენის ისეთ განლაგებას, რომ მათი კამბიუმების შრეები ემთხვეოდეს ერთმანეთს

სურ. 5-9
ქსოვილთა კულტურა
მცენარის ძალიან მცირე ნაწილის
გამოყენებაის და გენეტიკურად
იდენტური მცენარეების დიდი
რაოდენობის წარმოების
საშუალებას იძლევა

სურ. 7-1
ყელის მოთავსება მიმდინარეობს მდედრის ტრაქტის ჩაჭიდებით მსხვილი ნაწლავის კედლის მხრიდან.

სურ. 7-2
ჩამორეცხვის პროცესში პროცესში გრძელი, თხელი რეზინის მილი, რომელსაც კათეტერი ეწოდება, შეყავთ საშვილოსნოს ყელში და საშვილოსნოს რქაში.