

ვახტანგ ქობაღია

მცენარეთა ბიოტექნოლოგია



თბილისი, 2008

სახელმძღვანელოში განხილულია თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის რაობა, ძირითადი მიმართულებების მიზნები და ამოცანები; მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის (აგრობიოტექნოლოგიის) უმნიშვნელოვანესი მიღწევები და განვითარების პერსპექტივები; თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის ფუნდამენტური საფუძვლის – მოლეკულური ბიოლოგიის და ცენტრალური ბირთვის – გენეტიკური და უჯრედული ინჟინერიის ძირითადი პრინციპები და აქტუალური საკითხები: ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურა, ფუნქციები, თვისებები; ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის განსაზღვრა; რეპარაციისა და რეკომბინაციის მექანიზმები; პრო- და ეუკარიოტების გენომების მოლეკულური ორგანიზაცია; გენების სტრუქტურა და მათი ექსპრესიის რეგულაცია; გენეტიკურ ინჟინერიაში გამოყენებული სტრუქტურები; გენეტიკურ-ინჟინერული მანიპულაციები; მცენარეებში გენების გადატანის მეთოდები; ბიოტექნოლოგიური ლაბორატორიის ორგანიზაცია; იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილების, პროტოპლასტების, კალუსური კულტურების და უჯრედული სუსპენზიების კულტივირების თავისებურებები; მცენარეთა კლონური მიკროგამრავლება და გაჯანსაღება; სომაკლონური ვარიანტების, ინდუცირებული მუტანტების, ტრანსგენური მცენარეების, პაპლოიდების მიღება და გამოყენება; სომატური ჰიბრიდიზაცია; პრო- და პოსტგამური შეუთავსებლობის დაძლევა; მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვა და მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღება.

სახელმძღვანელო ასევე დახმარებას გაუწევს ბიოლოგიისა და ბიოლოგიური ტექნოლოგიის სპეციალობის სტუდენტებსაც.

რედაქტორი: პროფ. ა. მიქელაძე

რეცენზენტები: სრული პროფ. ჯ. სანიკიძე
სრული პროფ. ვ. აბლაკოვი

წინასიტყვაობა

ტერმინი “ბიოტექნოლოგია” ლექსიკონში არც თუ ისე დიდი ხნის წინათ შემოვიდა. ამ ახალი მიმართულების დაბადება მთლიანად დაკავშირებულია სამეცნიერო-ტექნიკურ პროგრესთან. ბიოტექნოლოგიის მომავლისადმი, მისი პერსპექტიულობისადმი ინტერესი ძალიან დიდია.

უკვე დღეისათვის ბიოტექნოლოგია არსებით ზემოქმედებას ახდენს ჩვენს ცხოვრებაზე. ბიოტექნოლოგიის მეთოდები ფართოდაა გამოყენებული მცენარეთა სელექციაში ახალი მაღალმოსავლიანი, მაღალპროდუქტიული, არახელსაყრელი პირობებისადმი გამძლე ჯიშებისა და ფორმების მისაღებად; მცენარეთა დაცვაში – სხვადასხვა დაავადებების, მავნებლებისა და სარეველების წინააღმდეგ ბრძოლის ბიოპრეპარატების მისაღებად; აზოტფიქსაციისა და ფოტოსინთეზის პრობლემის გადაწყვეტაში; უვირუსო სარგავი მასალის მიღებასა და მცენარეთა კლონურ მიკროგამრავლებაში; ბაქტერიული და ორგანული სასუქების წარმოებასა და ნიადაგის ნაყოფიერების ამაღლებაში და ა.შ.

საქართველოს სუბტროპიკული მეურნეობის სახელმწიფო უნივერსიტეტში მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის კურსი 1990 წლიდან იკითხება. სამწუხაროდ, სასწავლო კურსის ათვისება შესაბამისი სახელმძღვანელოს ქართულ ენაზე უქონლობის გამო გაძნელებულია. სტუდენტები იძულებული არიან იხელმძღვანელონ უცხოენოვანი ლიტერატურით, რომელთა დიდი ნაწილი არაა გათვალისწინებული უმაღლესი სასწავლებლისათვის.

* ტერმინი “**ბიოტექნოლოგია**” პირველად მოიფიქრა უნგრელმა ინჟინერმა **კარლ ერეკმა (K. Ereky)**. მისი აზრით ბიოტექნოლოგია არის “სამუშაოს ყველა სახე, რომლის დროსაც ესა თუ ის პროდუქტი ნედლეულიდან იწარმოება ცოცხალი ორგანიზმების საშუალებით.”

წინამდებარე სახელმძღვანელოს შედგენა ამ ხარვეზის შევსებას ისახავს მიზნად. იგი შედგება 4 ნაწილისაგან: I – თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის რაობა. მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის მიღწევები და პერსპექტივები; II – მოლეკულური ბიოლოგიის საფუძვლები; III – გენეტიკური ინჟინერია; IV – უჯრედული ინჟინერია. თითოეულში დეტალურადაა გაშუქებული სასწავლო კურსის სილაბუსით გათვალისწინებული თემები.

რასაკვირველია, სახელმძღვანელო დაზღვეული არ იქნება ხარვეზებისა და ნაკლოვანებებისაგან. ავტორი დიდი მადლიერებით მიიღებს ყველა საქმიან შენიშვნასა და წინადადებას.

გულითად მადლობას ეუხედი სრულ პროფესორებს ჯ. სანიკიძეს და ვ. აპლაკოვს რეცენზირების პროცესში გამოთქმული საქმიანი შენიშვნებისათვის, სრულ პროფესორ რ. კილაძეს წიგნის ხელნაწერის დეტალური წაკითხვის, გარჩევისა და საგულისხმო წინადადებებისათვის.

განსაკუთრებული მადლიერების გრძნობით აღვნიშნავთ ხელნაწერის გამოსაცემად მომზადებისათვის რუსიკო ხეცურიანის მიერ გაწეულ შრომას.

ღრმა პატივისცემასა და აღიარებას გამოვხატავთ სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა დოქტორის, პროფ. ა. მიქელაძის მიმართ სახელმძღვანელოს რედაქტირების პროცესში გაწეული კონსულტაციების, რჩევებისა და დახმარებისათვის.

სრული პროფ. ვ. ქობაღია

11 დეკემბერი, 2007 წელი

ნაწილი I

თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის რაობა. მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის მიღწევები და პერსპექტივები

1.1. თანამედროვე ბიოტექნოლოგია როგორც მცენარეობა და წარმოების ღარბი

XX საუკუნის მეორე ნახევარი – XXI საუკუნის დასაწყისი აღინიშნება ისეთი მნიშვნელოვანი პრობლემების გართულებებით როგორიცაა სასურსათო, სამედიცინო, ეკოლოგიური, ენერგეტიკული, დემოგრაფიული და სხვა.

აღმოჩნდა, რომ ამ პრობლემების გადაწყვეტა ჩვეულებრივი, ტრადიციული ხერხებით (ტექნოლოგიებით) საკმაოდ ძნელია. აუცილებელია პრინციპულად ახლებური მიდგომა, ორიგინალური მეცნიერული გამოკვლევები, არატრადიციული ხერხების, ე.წ. მაღალი ტექნოლოგიების დამუშავება.

აღნიშნული პრობლემების გადაწყვეტის ერთ-ერთ გზას გვთავაზობს – თანამედროვე ბიოტექნოლოგია ანუ ბიოლოგიური ტექნოლოგია.

სამეცნიერო-ტექნიკური პროგრესის ეს ახალი მიმართულება უკანასკნელ პერიოდში ძალიან პოპულარულია. მის წარმატებებს განსაკუთრებული ინტერესით ადევნებენ თვალყურს როგორც სპეციალისტები, ისე მეცნიერებაში სრულიად გაურკვეველი ადამიანებიც.

თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის პოპულარობის მრავალი მიზეზი არსებობს. ერთ-ერთი მათ შორის მდგომარეობს თვით ტერმინში, რომლის მიხედვითაც ადამიანისათვის აუცილებელი პროდუქტებისა და მასალის მისაღებად თურმე “სიცოცხლე” (სწორედ ასე ითარგმნება ბერძნულიდან “bios”) ესადაგება “ტექნოლოგიას” (techno-ხელოვნება, ოსტატობა) – ინდუსტრიული წარმოების ხერხს (მეთოდს). მეორე მიზეზი იმაშია, რომ აღნიშნული სამეცნიერო-ტექნიკური მიმართულება ეფუძნება ისეთი მეცნიერებების მიღწევებს, როგორიცაა მოლეკულური ბიოლოგია, მოლეკულური გენეტიკა, ინჟინერული ენზიმოლოგია, გენეტიკური ინჟინერია და უჯრედული ინჟინერია,

რომლებიც დღეისათვის წარმოადგენენ ადამიანის გონების განვითარების გამოვლენის უმაღლეს მწვერვალს ბიოლოგიაში. ბიოტექნოლოგია ეს არის მეცნიერება, რომელიც განაპირობებს კაცობრიობის პროგრესს. ის ნამდვილი გარღვევაა მეცნიერებაში.

ლიტერატურაში არ არის ერთიანი აზრი თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის განმარტების შესახებ. სხვადასხვა მეცნიერი მას სხვადასხვანაირად განმარტავს, ზოგჯერ ურთიერთსაპირისპიროდაც. ამიტომ ძალიან ბევრია გაუგებრობები.

ხშირად ბიოტექნოლოგიას განსაზღვრავენ როგორც ადამიანისათვის აუცილებელი პროდუქტებისა და მასალების წარმოებას ბიოლოგიური ობიექტებისა და პროცესების საშუალებით. მაგრამ ამ შემთხვევაში ის იძენს ნამდვილად განუსაზღვრელ ხასიათს. რადგანაც ასეთი განმარტებისას სოფლის მეურნეობასაც მემცენარეობისა და მეცხოველეობის ჩათვლით და მაგალითად, მერქნის ან ნატურალური კაუჩუკის დამზადებასაც მათი შემდგომი, ადამიანისათვის აუცილებელ მასალად გადამუშავებისას შეიძლება ვუწოდოთ ბიოტექნოლოგია. ამასთან თვით ადამიანიც წარმოადგენს ბიოლოგიურ ობიექტს და აქედან გამომდინარე, ყველაფერი რაც იქმნება მის მიერ, ასევე შეიძლება მივაკუთვნოთ ბიოტექნოლოგიას. რაც რასაკვირველია აბსურდია.

დღეისათვის თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის ყველაზე მისაღებ განმარტებას წარმოადგენს შემდეგი: **თანამედროვე ბიოტექნოლოგია არის მეცნიერება უჯრედულ და გენეტიკურ ინჟინერიაზე, მათი მეთოდების გამოყენების ხერხებზე ბიოლოგიური ობიექტების გენეტიკური აპარატის ტრანსფორმაციისათვის (რეკონსტრუქციისათვის) და წარმოების დარგი, რომლის ტექნოლოგიური პროცესები დაფუძნებულია ჩვეულებრივი და/ან ტრანსფორმირებული ბიოლოგიური ობიექტების (ან მათი ცხოველმყოფელობის პროდუქტების) მიკრობიოლოგიური, ბიოქიმიური, ენზიმოლოგიური ან უჯრედულ-ინჟინრული მეთოდებით გამოყენებაზე.**

ამ განმარტების მიხედვით თანამედროვე ბიოტექნოლოგია წარმოადგენს **როგორც მეცნიერებას, ისე წარმოების დარგს**. ბიოტექნოლოგიის, როგორც მეცნიერების მიზანია უჯრედული და გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდების შექმნა და შემდეგ მათი გამოყენებით ბიოლოგიური ობიექტების (მცენარეების, ცხოველების, მიკროორგანიზმების) გენეტიკური აპარატის გარდაქმნა, ხოლო ბიოტექნოლოგიის, როგორც წარმოების დარგის მიზანია ამ გარდაქმნილი და/ან ჩვეულებრივი ბიოლოგიური ობიექტებისა ან მათი ცხოველმყოფელობის პროდუქტების საშუალებით ადამიანისათვის აუცილებელი პროდუქტებისა და მასალის წარმოება მიკრობიოლოგიური (მიკრობული), ბიოქიმიური, ენზიმოლოგიური ან უჯრედულ-ინჟინრული მეთოდებით.

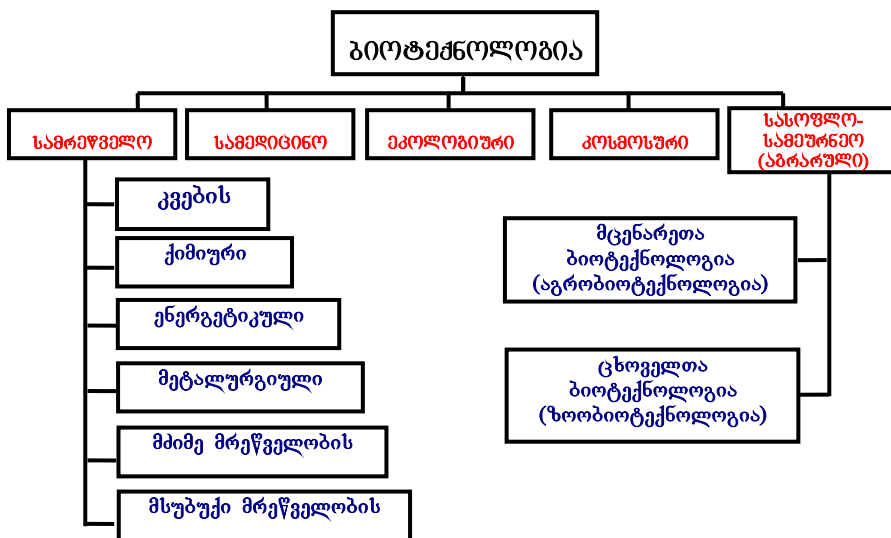
სპეციალისტების პროგნოზით XXI საუკუნის დასაწყისისათვის ბიოტექნოლოგიის დაფინანსება გადააჭარბებს 400 მილიარდზე, ხოლო ბიოტექნოლოგიური წარმოება – 80 მილიარდზე მეტ დოლარს. ბიოტექნოლოგია შედის მსოფლიოში პრივილიზირებულ სამეცნიერო-ტექნიკურ მიმართულებათა სამეულში, იაპონიაში კი ის პირველ ადგილზეა. ბიოტექნოლოგია ასევე ითვლება სტრატეგიული მნიშვნელობის მეცნიერებად. მისი განვითარების დონე მნიშვნელოვნად განაპირობებს ქვეყნის სამეცნიერო-ტექნიკურ პოტენციალს. იაპონიის სამთავრობო ორგანოებს შემოტანილი აქვთ ბიოტექნოლოგიაში დაპატენტების ახალი წესები, რაც გულისხმობს სამმაგ დაცვას. განვითარებული კაპიტალისტური ქვეყნების მთავრობის წარმომადგენლები უარს ამბობენ განვითარებად ქვეყნებში ბიოტექნოლოგიის განვითარებაზე დახმარების საკითხების განხილვაზეც კი, ხოლო აშშ-ში ფიქრიც არ უნდათ ამ სფეროში დახმარებაზე თავის ახლო მოკავშირეებთანაც. აშშ-ს ფედერალური სააგენტოს განცხადებით, თუ ადრე ქვეყნის ეკონომიკური და სამხედრო ძლიერების განმსაზღვრელ დარგებად ითვლებოდა ფიზიკა და ელექტრონიკა, დღეისათვის მათ ბიოტექნოლოგიაც დაემატა. მსოფლიო ბაზარზე ფულადი ბრუნვის მასშტაბით თანამედროვე ბიოტექნოლოგია ნავთობით ვაჭრობის შემდეგ მეორე-მესამე ადგილიზეა. ბიოტექნოლოგიური პროდუქციის ყოველწლიური მატება არა ნაკლებ 5-10 %-ია. მაგალითად, სასოფლო-სამეურნეო კულტურების – სიოის, ბამბის, რაფსის და სიმინდის ბიოტექნოლოგიური ანუ გენეტიკურად მოდიფიცირებული (ტრანსგენური) ჯიშების ქვეშ დაკავებული ფართობი მსოფლიოში, კულტივირების დაწყებიდან 10 წლის განმავლობაში (1996–2005 წ.წ.) გაიზარდა 50-ჯერ, მიაღწია 90 მლნ ჰა-ს და მისმა ყოველწლიურმა მატებამ გადააჭარბა 10%-ს. მსგავსი ზრდის ტემპი უნიკალურია, არა მარტო სოფლის მეურნეობისათვის, არამედ ადამიანის საქმიანობის ნებისმიერი სხვა სფეროსათვისაც

უნდა აღინიშნოს, რომ გარდა განხილული თანამედროვე (ახალი, არატრადიციული) ბიოტექნოლოგიისა არსებობს ძველი (ტრადიციული) ბიოტექნოლოგია. მას მიეკუთვნება მეღვინეობა, პურის ცხობა, რძის პროდუქტების, სპირტების, ლუდის, სიღოსის დამზადება და სხვა.

ტერმინ “თანამედროვე ბიოტექნოლოგიას” იყენებენ “ძველი ბიოტექნოლოგიის” საპირისპიროდ და ასახავს პროცესებს, რომლებშიც გამოყენებულია გენეტიკური და უჯრედული ინჟინერიის მეთოდები. მაგალითად, სპირტების წარმოება ჩვეულებრივი დუდილის პროცესით – არის ძველი ანუ ტრადიციული ბიოტექნოლოგია, ხოლო ამ პროცესში გენეტიკური ინჟინერიის გზით სპირტის გამოსავლიანობის მიხედვით გაუმჯობესებული საფუარების გამოყენება – არის თანამედროვე ანუ ახალი, არატრადიციული ბიოტექნოლოგია.

12. თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის ძირითადი მიმართულებები და მიზნები

ბიოტექნოლოგია განზოგადოებული ცნებაა. იგი იყოფა სხვადასხვა მიმართულებებად: ა) წარმოებული პროდუქციის გამოყენების სფეროს და ბ) ტექნოლოგიური პროცესის, ან გამოყენებული ობიექტის მიხედვით. წარმოებული პროდუქციის გამოყენების სფეროს მიხედვით თანამედროვე ბიოტექნოლოგია იყოფა შემდეგ მიმართულებებად (ნახ.1):



ნახ. 1. თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის ძირითადი მიმართულებები (წარმოებული პროდუქციის გამოყენების სფეროს მიხედვით)

I. სამრეწველო ბიოტექნოლოგია. იგი თავის მხრივ იყოფა:

ა) კვების ბიოტექნოლოგია ანუ კვების პროდუქტების წარმოების ბიოტექნოლოგია. მისი მიზანია: საჭმელი ცილის, რძის პროდუქტების, საქაროხისა და მისი შემცველების (ფრუქტოზული სიროპები, ხელოვნური დამტკბობები), საკვებად გამოყენებული მჟავების (ძმარმჟავა, ლიმონმჟავა, რქმჟავა, ვაშლმჟავა და სხვა), საფუარებისა და საფუარული ღუდილის პროდუქტების (პურსაცხობი საფუარები, ლუდის საფუარები, წველებისა და ღვინის საფუარული ღუდილის

პროდუქტები), საკვები მიკრობული ცილის, საკვები ლიზინის, ეთანოლის, ამინომჟავების, ორგანული მჟავების, მიკრობული წარმოშობის ფერმენტების, პოლისაქარიდების, ფრუქტოზული ბადაგის, ანტიბიოტიკების, ვაქცინების, ჰორმონების, ვიტამინების წარმოება; კვების პროდუქტების გადამუშავება; მცენარეული ნედლეულის ბიოკონვერსია; ხელოვნური საკვების მიღება და სხვა.

ბ) ქიმიური ბიოტექნოლოგია. მისი მიზანია: ეთილენის, პროპილენის, ბუთილენის, ორგანული მჟავების, ფენოლების, ტერპენების, პოლიმერების, ფერმენტების, პოლისაქარიდების და სხვათა წარმოება.

გ) ენერგეტიკული ბიოტექნოლოგია. მისი მიზანია: სპირტების, ბიოგაზის, წყალბადის, ცხიმოვანი მჟავების წარმოება; ხელოვნური ფოტოსინთეტიკური სისტემის შექმნა და სხვა.

დ) მეტალურგიული (ბიოგეოლოგიური) ბიოტექნოლოგია. მისი მიზანია: ნავთობის, ურანის, გოგირდის, აირის, ქვანახშირის და სხვა სასარგებლო წიაღისეულის მოპოვების ინტენსიფიკაცია და ხარისხის გაუმჯობესება.

ე) მიმე მრეწველობის ბიოტექნოლოგია. მისი მიზანია: ძრავის საწვავის, კაუჩუკის, ცემენტის, ბეტონის ტექნიკური მახასიათებლების გაუმჯობესება; ანტიკოროზიული დამატებების, ტექნიკური ცილის, ლიპიდების, შავი და ფერადი მეტალების საგლინავ-საცხები საშუალებების წარმოება და სხვა.

ვ) მსუბუქი მრეწველობის ბიოტექნოლოგია. მისი მიზანია: ტყავის გადამუშავების გაუმჯობესება; საფეიქრო ნედლეულის, შალის, ქაღალდის, საპარფიუმერო-კოსმეტიკური მასალის წარმოება; ბიოპოლიმერების, ხელოვნური ტყავის და სხვათა წარმოება.

II. სამედიცინო ბიოტექნოლოგია. მისი მიზანია: ანტიბიოტიკების, ჰორმონალური პრეპარატების (ინსულინი, სომატოტროპინი), ფერმენტების, ალკალიდების, სისხლის შემცვლელების, იმუნორეგულატორული პრეპარატების, ვირუსისა და კიბოს საწინააღმდეგო პრეპარატების, ვიტამინების, დიეტური კვების პროდუქტების და სხვათა შექმნა.

III. ეკოლოგიური ბიოტექნოლოგია. მისი მიზანია: სამრეწველო, საყოფაცხოვრებო და სასოფლო-სამეურნეო ნარჩენების უტილიზაცია; ძნელად დასაშლელი და ტოქსიკური ნივთიერებების ბიოდეგრადაცია; დახურული ტექნოლოგიური ციკლების შექმნა; უვნებელი პესტიციდების და სხვათა მიღება.

IV. კოსმოსური ბიოტექნოლოგია. მისი მიზანია: კოსმოსში სიცოცხლის უზრუნველყოფის დახურული სისტემის შექმნა.

V. სასოფლო-სამეურნეო (აგარარული) ბიოტექნოლოგია. იგი თავის მხრივ იყოფა:

ა) მცენარეთა ბიოტექნოლოგია ანუ აგრობიოტექნოლოგია.

მისი მიზანია: მაღალმოსავლიანი, დაავადებების, მავნებლების და სხვა არახელსაყრელი პირობებისადმი გამძლე ჯიშებისა და ფორმების მიღება; ბაქტერიული და ორგანული სასუქების, აგრეთვე მცენარეთა ზრდის რეგულატორების შექმნა; მცენარეებისა და მიკროორგანიზმების აზოტფიქსაციის ეფექტურობის გაუმჯობესება; ფოტოსინთეზის ეფექტურობის ამაღლება; კვების, ქიმიური, მიკრობიოლოგიური და მრეწველობის სხვა დარგებისათვის ძვირფასი პროდუქტების (საჭმელი მიკრობული ცილა, ამინომჟავები, ვიტამინები და სხვა) მიღება; მცენარეული ცილების ამინომჟავური შედგენილობის გაუმჯობესება; მავნებლების, დაავადებებისა და სარეველებისაგან მცენარეთა დაცვის მიკრობიოლოგიური საშუალებების შექმნა; ჰერბიციდებისადმი გამძლე ჯიშების გამოყვანა; უვირუსო სარგავი მასალის მიღება და სხვა.

ბ) ცხოველთა ბიოტექნოლოგია ანუ ზოობიოტექნოლოგია.

მისი მიზანია: ცხოველთა საკვების გაუმჯობესება (საკვები მიკრობული ცილის, ამინომჟავების, ვიტამინების, საკვები ანტიბიოტიკების, ფერმენტების წარმოება); ცხოველების მოშენების მიზანმიმართული რეგულაციის, ძირითადი დაავადებების ეფექტური პროფილაქტიკის, ღიაგნოსტიკისა და თერაპიის ახალი მეთოდების (ახურების სტიმულაცია და სინქრონიზაცია, ხელოვნური განაყოფიერება, სუპეროვულაცია, ემბრიონების ტრანსპლანტაცია, გამეტებისა და ემბრიონების შენახვა, მაკობის ადრეული ღიაგნოსტიკა, სქესის რეგულაცია, შობადობის მართვა, ტრანსგენური ცხოველების მიღება, ცხოველების კლონური მიკროგამრავლება, ვეტერინალური პრეპარატების მიღება, ზრდის ჰორმონების წარმოება და ა.შ.) შექმნა.

ტექნოლოგიური პროცესის ან გამოყენებული ობიექტის მიხედვით თანამედროვე ბიოტექნოლოგია იყოფა: მიკრობიოლოგიურ (მიკრობულ), ბიოქიმიურ, ფერმენტულ (ენზიმოლოგიურ), უჯრედულ-ინჟინრულ და გენეტიკურ-ინჟინრულ ბიოტექნოლოგიად.

13. ბიოტექნოლოგიის ისტორია

ტრადიციული ბიოტექნოლოგია ალბათ წარმოიშვა ტექნიკური მიკრობიოლოგიის განვითარების პროცესში. ადამიანები დიდი ხნის წინათ იყენებდნენ ერთუჯრედიან მიკროორგანიზმებს, თუმცა არაფერი იცოდნენ მათი არსებობის შესახებ. საფუარების უნარი, წარმოქმნან სპირტი შაქარშემცველი ხსნარიდან, ცნობილი იყო შუშერებისა და ბაბილონელებისათვის ჯერ კიდევ ჩვ.წ.აღ-მდე მეოთხე ათასწლეულში.

პრაქტიკული გამოყენების თვალსაზრისით მიკროორგანიზმების (მიკრობულ) სამყაროსთან ადამიანის შეგნებული გაცნობა დაიწყო გამოჩენილი ფრანგი მეცნიერის **ლუი პასტერის** აღმოჩენებით.

ზოგადად ბიოტექნოლოგიის განვითარების ისტორია პირობითად შეიძლება დაიყოს შემდეგ პერიოდებად ანუ ერებად:

1) **პასტერამდელი ერა (1866 წლამდე)** – სპირტული და რძემჟავური დუღილის გამოყენება ღუდის, ღვინის, ყველის და სხვათა მისაღებად. ფერმენტული პროდუქტების, ძმრის წარმოება და ა.შ.

2) **პასტერის შემდგომი ერა (1866-1940 წლამდე)** – ეთანოლის, ბუთანოლის, აცეტონის, გლიცეროლის, ორგანული მჟავებისა და ვაქცინების წარმოება. საკანალიზაციო წყლების აერობული გაწმენდა. ნახშირწყლებიდან ცხოველთა საკვები საფუარების მიღება და ა.შ.

3) **ანტიბიოტიკების ერა (1941-1960 წლები)** – სიღრმული ფერმენტაციით პენიცილინისა და სხვა ანტიბიოტიკების წარმოება. მცენარის უჯრედების კულტივირება და ვირუსული ვაქცინების მიღება. სტეროიდების მიკრობიოლოგიური ტრანსფორმაცია და ა.შ.

4) **მართვადი ბიოსინთეზის ერა (1961-1972 წლამდე)** – ამინომჟავების წარმოება მიკრობული შტამების საშუალებით. სუფთა ფერმენტების მიღება. იმობილიზებული ფერმენტებისა და უჯრედების სამრეწველო გამოყენება. საკანალიზაციო წყლების ანაერობული გაწმენდა, ბიოგაზის მიღება და ა.შ.

5) **თანამედროვე (ახალი; არატრადიციული) ბიოტექნოლოგიის ერა (1972 წლის შემდეგ)** – გენეტიკური და უჯრედული ინჟინერიის გამოყენება ბიოსინთეზის პროდუქტების მისაღებად. ჰიბრიდომების, მონოკლონური ანტისხეულების, სომატური ჰიბრიდების და მერისტემული კულტურების მიღება, ემბრიონების ტრანსპლანტაცია და ა.შ.

თანამედროვე ანუ ახალი, არატრადიციული ბიოტექნოლოგია იწყება ჯ. უოტსონისა და ფ. კრიკის მიერ გენეტიკური ინფორმაციის

მასალის – დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავას (დნმ-ს) აგებულების აღმოჩენის შემდეგ. მისი დაბადების თარიღად ითვლება 1972 წელი, როცა ნობელის პრემიის ლაურეატ პოლ ბერგის (P. Berg) ჯგუფმა მიიღო პირველი ხელოვნური, რეკომბინანტული (ჰიბრიდული) დნმ.

1.4. თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის კავშირი სხვა მეცნიერებებთან

თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის, როგორც მეცნიერების ჩამოყალიბება მჭიდროდაა დაკავშირებული მოლეკულური ბიოლოგიის დარგში მოპოვებულ მიღწევებთან. მოლეკულური ბიოლოგია წარმოადგენს ბიოტექნოლოგიის ფუნდამენტურ საფუძველს, რადგანაც ცოცხალი ორგანიზმების მიზანმიმართული ტრანსფორმაცია და ასეთი ორგანიზმიდან ადამიანისათვის აუცილებელი პროდუქტებისა და მასალის მიღება შეუძლებელია გენის სტრუქტურისა და ფუნქციის, პროდა ეუკარიოტების გენომების მოლეკულური ორგანიზაციის, ქრომოსომების, რიბოსომების, ნუკლეინის მჟავების, ცილებისა და სხვა მაკრომოლეკულების ფუნქციონირების მექანიზმის ცოდნის გარეშე.

ბიოტექნოლოგიის ცენტრალურ ბირთვს შეადგენენ გენეტიკური ინჟინერია და უჯრედული ინჟინერია, რადგანაც ძირითადად მათი მეოთხედების საშუალებით ხდება გენეტიკური სტრუქტურებისა და ორგანიზმების კონსტრუირება, მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღება, მცენარეთა ვირუსებისაგან გაჯანსაღება, ცოცხალი ორგანიზმების გენოფონდის ხანგრძლივი საიმედო შენახვა, სელექციური პროცესის სრულყოფა და ა.შ.

ბიოტექნოლოგიის განვითარებაში მნიშვნელოვანი წვლილი შეიტანა მიკრობიოლოგიამ. მიკროორგანიზმები წარმოადგენენ ბიოტექნოლოგიური სისტემების სპეციფიკურ ელემენტს. ამ დარგში აქტუალური პრობლემების გადაწყვეტისას ხშირად კვლევის ობიექტად, ტექნოლოგიური პროცესის ჩასატარებლად და ა.შ. იყენებენ მიკროორგანიზმებს.

ბიოტექნოლოგიის განვითარებაზე დიდი გავლენა მოახდინა ბიოქიმიამ. ნუკლეინის მჟავების, ცილების, მეორადი ნივთიერებების და სხვ. ბიოქიმიამ საფუძველი ჩაუყარა მნიშვნელოვანი თეორიული და პრაქტიკული ასპექტების გადაწყვეტას ბიოტექნოლოგიაში.

ბიოტექნოლოგია უშუალოდ დაკავშირებულია გენეტიკასთან და სელექციასთან. ცოცხალი ორგანიზმების მიზანმიმართული რეკონსტრუქცია და მათი შემდგომი პრაქტიკული გამოყენება ამ მეცნიერებების საფუძვლიანი ცოდნის გარეშე წარმოუდგენელია.

მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის განვითარებაზე ძლიერ გავლენას ახდენენ ბოტანიკა და მცენარეთა ფიზიოლოგია. უჯრედის, მცენარის ორგანიზმის ზრდისა და განვითარების, ფიტოჰორმონების და სხვ.

თავისებურებების ცოდნა ბიოტექნოლოგიას უქმნის მტკიცე საფუძველს დასახული ამოცანის გადაწყვეტაში.

ბიოტექნოლოგია უშუალოდ დაკავშირებულია ბიორგანულ ქიმიასთან, ტექნოლოგიასთან, ელექტრონიკასთან და სხვა მეცნიერებებთან. იგი წარმოადგენს ტექნოლოგიური ტრიუმფირატის (ბიოლოგიური, ქიმიური, საინჟინრო) შემადგენელ ნაწილს.

1.5. ბიოტექნოლოგიის მეთოდები მცენარეთა სელექციაში

მწვანე მცენარეების მიერ ფოტოსინთეზის პროცესში წარმოქმნილი ორგანული ნივთიერება – ბიოსფეროს არსებობის საფუძველია. აქედან გამომდინარე, მეცხოველეობასთან შედარებით პრიორიტეტული, მემცენარეობა სოფლის მეურნეობის პროდუქტიულობის ამაღლების ძირითად საფუძველს, სურსათის წარმოების გადიდების მთავარ ფაქტორს წარმოადგენს.

მემცენარეობის ინტენსიფიკაციის გზები სხვადასხვაა: ახალი, უფრო პროდუქტიული და არახელსაყრელი გარემო პირობებისადმი გამძლე ჯიშების შექმნა; დაავადებების, მავნებლებისა და სარეველუბისაგან მცენარეთა დაცვის მაღალეფექტური საშუალებების დამუშავება; აზოტფიქსაციის პრობლემის გადაწყვეტა; მემცენარეობაში ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების ფართო გამოყენება და ა.შ. ამ საკითხების გადაწყვეტაში მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება თანამედროვე ბიოტექნოლოგიას.

მემცენარეობა წარმოუდგენელია სელექციის განუწყვეტელი განვითარების გარეშე. სპეციალისტების პროგნოზით სიმინდის მოსავლიანობის ზრდა 50%-ით განპირობებულია სელექციის მიღწევებით, ხორბლისა და შაქრის ჭარხლისათვის სელექციის წილი მოსავლიანობის გადიდებაში შეადგენს 30-40%-ს და ა.შ. ეს მიუთითებს იმაზე, რომ სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მოსავლიანობის ზრდაში სელექციის როლი განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია.

სელექციონერები საკმაოდ დიდი ხნის განმავლობაში აუმჯობესებდნენ ეკონომიკურად მნიშვნელოვან კულტურულ მცენარეებს, რის გამოც უკვე რეალიზებულია არსებული გენეტიკური პოტენციალის უდიდესი ნაწილი. ამიტომ ტრადიციული სელექციური ხერხების გამოყენებით ძალიან ძნელია ამ კულტურების არსებითი გაუმჯობესება. ამასთან, ტრადიციული სელექციური პროცესი, რომელიც ძირითადად დაფუძნებულია სქესობრივი ჰიბრიდიზაციის მეთოდის გამოყენებაზე, უკვე ვერ პასუხობს თანამედროვე მოთხოვნებს სელექციის დაბალი ტემპების გამო, რაც დაკავშირებულია თაობათა ცვლასთან, ექსპერიმენტების დიდ მოცულობასა და შრომატევადობასთან, ხშირად სელექციური მასალის შეფასების არაპირდაპირი, არაზუსტი და ინტუიციის მეთოდების გამოყენებასთან. აღნიშნულიდან გამომდინარე, გან-

ნდა კულტურული მცენარეების გაუმჯობესებისადმი მიდგომის შეცვლის, კერძოდ მცენარის გაუმჯობესების ფიზიოლოგიურ, ბიოქიმიურ და გენეტიკურ (ფოტოსინთეზი, აზოტფიქსაცია, სუნთქვა და სხვა) ასპექტებზე ყურადღების გადანაცვლის, სისტემატიკურად უფრო შორეული ორგანიზმების გენეტიკური რესურსების სელექციურ მუშაობაში ჩართვის და ა.შ. აუცილებლობა.

აქედან გამომდინარე, სელექციონერებმა ბოლო პერიოდში ყურადღება მიაქციეს ზოგიერთ უჩვეულო ბიოტექნოლოგიურ მეთოდს: **სომატური ჰიბრიდიზაცია**, **სომაკლონური ვარიანტების გამოყენება**, **ჰაპლოიდების მიღება**, **in vitro განაყოფიერება**, **იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურა** და სხვა, როგორც სელექციური პროცესის დაჩქარებისა და გაადვილების მნიშვნელოვან ხერხს.

უჯრედული სელექცია. ამჟამად სელექციონერები სულ უფრო ხშირად იყენებენ ე.წ. **უჯრედულ სელექციას** ანუ ახალი გენოტიპების კონსტრუირებისა და გამორჩევის პროცესს კულტივირებადი უჯრედების (სომაკლონური ვარიანტები, მუტანტური უჯრედები, სომატური ჰიბრიდული უჯრედები და სხვა) დონეზე სელექტიური სისტემების გამოყენებით.

ტრადიციული სელექციის მეთოდებთან შედარებით მცენარეთა უჯრედულ სელექციას გააჩნია რიგი უპირატესობა: 1) უჯრედების დონეზე მანიპულაციისას გამორიცხულია სეზონურობა მუშაობაში; 2) სამუშაოს უმეტესი ნაწილის ლაბორატორიაში ჩატარების შესაძლებლობა საკოლექციო და სასელექციო მასალის (ჰიბრიდები, პოლიპლოიდები, მუტანტები, კლონები და ა.შ.) დასათესად ან დასარგავად აუცილებელი საკმაოდ დიდი მოცულობის მიწის ფართობების ეკონომიის საშუალებას იძლევა; 3) მცენარეული უჯრედის, როგორც დამოუკიდებელი ორგანიზმის, დონეზე მუშაობა სელექციონერს აძლევს საშუალებას საქმე ჰქონდეს საკმაოდ დიდი რაოდენობის ინდივიდებთან. ერთ ცდაში შეიძლება გამოყენებულ იქნას ათეულ მილიონობით უჯრედი. ტრადიციული მეთოდებით მინდვრის პირობებში მომუშავე სელექციონერი მოკლებულია ასეთ შესაძლებლობებს. უკეთეს შემთხვევაში მას საქმე აქვს ათასობით მცენარესთან; 4) მუტაგენური ფაქტორების გამოყენების შემდეგ მაშინვე შესაძლებელია სელექტიური ფონის გამოყენება და ა.შ.

უჯრედული სელექცია იძლევა სელექციური პროცესის დაჩქარების შესაძლებლობას, რადგანაც ამ დროს უჯრედულ კულტურაში მუდმივად წარმოიქმნება მრავალფეროვანი მემკვიდრული ცვალებადობები, რომლებიც სელექტიური ფაქტორების გამოყენებით შეიძლება მაშინვე იქნეს გამორჩეული და სწრაფად გამრავლებული. ტრადიციული მეთოდებით კი უმეტესი ახალი ჯიშების გამოყვანისათვის საჭიროა არა ნაკლებ 10, ზოგჯერ 20 და მეტი წლის დაძაბული მუშაობა.

XX საუკუნის 60-იან წლებში დადგენილ იქნა, რომ *in vitro* პირობებში კულტივირებადი მცენარის უჯრედები ხასიათდება გენეტიკური ჰეტეროგენურობით (არაერთგვაროვნებით). იგი პირველ რიგში ვლინდება პლოიდურობაში – უჯრედულ კულტურაში გარდა საწყისი დიპლოიდური მცენარისათვის დამახასიათებელი დიპლოიდური უჯრედებისა, გვხვდება ქრომოსომების ძირითადი ანუ საბაზისო რიცხვის 3-, 4-, 5-... 16-ჯერაც კი გადიდებული პოლიპლოიდური უჯრედები. უჯრედულ კულტურაში ხშირად გვხვდება ასევე ანეუპლოიდიის (ქრომოსომების ძირითადი ანაწყოების რამდენიმე ქრომოსომით გადიდება ან შემცირება), სხვადასხვა ქრომოსომული აბერაციების (დელეცია, ტრანსლოკაცია, დუპლიკაცია, ინვერსია), გენური მუტაციების და სხვა მოვლენები. უჯრედების ასეთმა ცვალებადობამ მიიღო **სომაკლონური ცვალებადობის** სახელწოდება და წარმოადგენს უჯრედული სელექციის ერთ-ერთ საფუძველს. სელექციონერისათვის საინტერესო თვისებების მქონე მცენარეების მისაღებად კულტივირებად უჯრედებს ათავსებენ გარკვეულ სელექტიურ პირობებში, რომლის დროსაც გადარჩებიან მხოლოდ გამძლე უჯრედები, საიდანაც შემდეგ რეგენერირებენ მცენარეები – **სომაკლონური ვარიანტები**.

კულტივირებად უჯრედებში გენეტიკური ჰეტეროგენურობის საკმაოდ მაღალი სიხშირის მიუხედავად, სელექციური პროცესის დაჩქარებისათვის უჯრედულ კულტურებში ფართოდ იყენებენ **ინდუცირებული მუტაგენების** ანუ უჯრედებზე ქიმიური (ნიტროზომეთილ-შარდოვანა, ნიტროზოგუანიდინი, მეთილმეთანსულფონატი და სხვა) და ფიზიკური (ნეიტრონები, ელექტრონები, ულტრაიისფერი სხივები და სხვა) მუტაგენური ფაქტორების ზემოქმედების მეთოდს, რომელიც კიდევ უფრო ზრდის კულტივირებადი უჯრედების გენეტიკურ მრავალფეროვნებას. შესაბამისად, უფრო უზრუნველყოფილი ხდება სელექციონერის მოთხოვნები.

უჯრედული სელექციის გზით უკანასკნელ წლებში გარკვეული წარმატებები მოპოვებული მცენარეთა სელექციის შემდეგ მიმართულებებში: 1) ტოქსიკური პათოგენებისადმი გამძლეობა, 2) ჰერბიციდებისადმი გამძლეობა, 3) სიცივეგამძლეობა, 4) დამლაშებისადმი გამძლეობა, 5) გვალვარეგამძლეობა, 6) ამინომჟავებისა და მათი ანალოგებისადმი გამძლეობა, 7) სამკურნალო პრეპარატებისადმი გამძლეობა და სხვა.

ტოქსიკური პათოგენებისადმი გამძლეობაზე სელექცია. მცენარეთა სელექციის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ამოცანას პათოგენებისადმი გამძლე ფორმების მიღება წარმოადგენს. ამ მიზნით ბიოტექნოლოგიები უჯრედებს კულტივირებენ სუფთა ტოქსინის ან კულტურალური სითხის (რომელშიც ვითარდებოდა ტოქსინი) შემცველ საკვებ არეებზე. მიღებული პათოტოქსინებისადმი რეზისტენტული უჯრედული ხაზებიდან შემდეგ რეგენერირებენ მცენარეებს. ამ მიმართულებით გა-

მოკვლევები ძირითადად ტარდება აშშ-ში, დიდ ბრიტანეთში, გერმანიაში, ბელგიაში, იტალიაში, ავსტრალიაში, რუსეთში, უკრაინაში და სხვა. უმთავრეს მიზანს რამდენიმე პათოგენისადმი რეზისტენტული მცენარეების მიღება წარმოადგენს. ამერიკული ფირმა „Dekalb“-ის სპეციალისტების მიერ მიღებულია პელმინტოსპორიოზის, სამხრეთის სკლეროციალური სიდამპლის, ფოთლების ლაქიანობის, ფოთლების ჟანგას და სხვა დაავადებათა მიმართ გამძლე სიმინდის ფორმები. უჯრედული სელექციის გზით მიღებულია სოკო *Phoma lingami*-სადმი გამძლე რაფსის მცენარე-რეგენერანტები. კარტოფილის კალუსური კულტურიდან გამოყვანილია სოკო *Phytophthora infestans*-ის 4 პათოტიპისადმი რეზისტენტული მცენარეები. ინტენსიური მუშაობა მიმდინარეობს სოკო *Sclerotinia trifolium*-სადმი გამძლე სამეურნეო უჯრედული ხაზების სელექციაში. გამძლეობის გენეტიკის ინსტიტუტში (გერმანია) უჯრედული სელექციის მეთოდით პირველი თაობის ჰიბრიდებიდან მიღებულია ნაცრისადმი გამძლე საგაზაფხულო ქერის ჰაპლოიდური ხაზები. მინდვრის ცდებში არ გამოვლენილა არსებითი სხვაობა *in vitro* პირობებში და სელექციის ტრადიციული მეთოდებით მიღებულ მცენარეთა შორის გამძლეობასა და კონკურენტუნარიანობაში. სოკო *Phytophthora*-ს სუფთა ტოქსინის გამოყენებით კარტოფილის გამძლე კლონების გამორჩევის შედეგად ვ. ვენცელმა თანამშ. ერთად მიიღო 7 ფიტოფტორაგამძლე მცენარე. რუსეთში ბაქტერია *Pseudomonas tabaci*-ს ტოქსინის ანალოგ მეთიონინსულფოქსიმინის შემცველ სელექტიურ არეზე მიღებულ იქნა ამ ტოქსინისადმი გამძლე თამბაქოს მცენარეები, ხოლო სოკოების *Phytophthora infestans* და *Fusarium oxysporum*-ის ფილტრატების გამოყენებით – ამ სოკოებისადმი გამძლე კარტოფილის კლონები. ანალოგიური მეთოდებით უკრაინის მეცნიერებათა აკადემიის მცენარეთა ფიზიოლოგიისა და გენეტიკის ინსტიტუტში მიღებულ იქნა თამბაქოს დაავადების ერთ-ერთი გამომწვევის – ბაქტერია *Pseudomonas* ტოქსინისა და მისი ანალოგებისადმი გამძლე თამბაქოს მცენარე. მინესოტის შტატის (აშშ) უნივერსიტეტში სოკოების – *Helminthosporium maydis* და *H. Victoria*-ს ტოქსინების შემცველ სელექტიურ არეებზე სიმინდისა და შერიის კალუსური უჯრედების კულტივირების შედეგად მიღებულ იქნა აღნიშნული ფიტოტოქსინებისადმი რეზისტენტული სიმინდისა და შერიის მცენარე – რეგენერანტები.

ჰერბიციდებისადმი გამძლეობაზე სელექცია. ჰერბიციდგამძლე სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მიღება ჰერბიციდების დოზის გაზრდის გზით, კულტურების დაუზიანებლად, სარეველების სრული განადგურების საშუალებას იძლევა. ჰერბიციდებისადმი გამძლე მცენარეთა მიღების ამოცანის გადასაწყვეტად ბიოტექნოლოგიები ჯერღვეულობენ ცალკეული მცენარეული უჯრედების კულტურებს, შემდეგ ამუშავებენ მათ ჰერბიციდებით და ბოლოს ცალკე გამოჰყოფენ გადარჩენილ ცოცხალ უჯრედებს, რომლებიდანაც რეგენერირდებიან

ჰერბიციდგამძლე მცენარეები. ამ მიმართულებით ინტენსიური სამუშაოები ტარდება აშშ-ში, ბელგიაში, კანადაში, ავსტრალიაში, საფრანგეთში, ავსტრალიაში, ფინეთში, რუსეთში და სხვა. ძირითადად გამოკვლევები ტარდება გლიფოსატის, კარბამიტის, პარაკვატის, ფოსფინოტრიცინის, პიკლორამის, ამიტრულის, სულფონილშარდოვანას, ტრიაზინისა და იმიდაზოლინონის ჯგუფის და სხვა ჰერბიციდებისადმი გამძლე მცენარეთა მისაღებად. კომპანია Molecular Genetics (აშშ) სპეციალისტების მიერ მიღებულია იმიდაზოლინონების ჯგუფის ფართო მოქმედების ახალი ჰერბიციდებისადმი (იმაზაკინი, იმაზაპირი და სხვა) გამძლე (საკონტროლოსთან შედარებით 300-ჯერ) სიმინდის ხაზები. ამერიკელი ფირმების Monsanto, American Cyanamid, Molecular Genetics მიერ დიდი მოცულობის სამუშაოებია ჩატარებული ბრომოქსინალის ჯგუფის ჰერბიციდებისადმი გამძლე სოიოს, მზესუმზირას, რაფის და სხვა კულტურების მისაღებად. რ. ჩალეფისა და ტ. რემის მიერ მიღებულია სულფონილშარდოვანას წარმოებულებისადმი (ქლორსულფურონი და სულფომეტურონეთილი) გამძლე თამბაქოს მცენარეები. ბ. ტომასმა და დ. პრატმა მიიღეს პარაკვატისადმი გამძლე პომიდორის მცენარეები. უჯრედული სელექციის გზით მიღებულია სხვადასხვა მცენარის გლიფოსატგამძლე უჯრედული ხაზი. რუსეთში მიმდინარეობს სისტემური მოქმედების ჰერბიციდებისადმი რეზისტენტული ერთლებნიანი კულტურების უჯრედული ხაზების მიღების პერსპექტიული სამუშაოები.

მცენარეთა სიცივეგამძლეობაზე სელექცია. უჯრედული სელექციის მეთოდით მიღებულია -2 დან 4°C -მდე ტემპერატურის პირობებში ნორმალური ზრდა-განვითარების უნარის მქონე საკვები კულტურების ახალი ფორმები. ასეთი კულტურების მოყვანა ადრე გაზაფხულზე ცხოველების მწვანე საკვებით უზრუნველყოფის საშუალებას იძლევა. სამუშაოები ძირითადად ტარდება კონინდარისა და შვრიის კულტურებში. ყველაზე უფრო ინტენსიურად მეცნიერები ხორბლის სიცივეგამძლეობას სწავლობენ. რიგ შემთხვევაში პირველი თაობის ჰიბრიდები უფრო სიცივეგამძლე აღმოჩნდა, ვიდრე მშობელი ფორმები. უკანასკნელ პერიოდში აშშ-ს, კანადის, შვეციის, საბერძნეთის, ინდოეთის და იაპონიის გარკვეულ სამეცნიერო დაწესებულებებში ბაქტერიების *Pseudomonas syringae*-ს და *Ervinia herbicola*-ს გამოყენებით ფართო მასშტაბის მეცნიერული გამოკვლევები მიმდინარეობს მარცვლოვანი კულტურების სიცივე და ყინვაგამძლეობის ამადლების პრობლემის გადასაწყვეტად. აღმოჩნდა, რომ აღნიშნული ბაქტერიები ასინთეზებენ და ატმოსფეროში გამოჰყოფენ განსაკუთრებულ ცილას, რომელიც ტემპერატურის 0°C -მდე დაცემის დროს წარმოადგენს ყინულის (რის გამოც იღუპება მცენარე) კრისტალიზაციის ცენტრს. კალიფორნიის (აშშ) მეცნიერებმა ისწავლეს ამ ცილის მაკოდირებელი გენის ბაქტერიიდან მოცილების ხერხი. ისინი იმედოვნებენ, რომ შეძლებენ მცენა-

რეთა დაცვას წაყინვებისაგან. სიცივე- და ყინვაგამძლეობაზე ჩატარებული გამოკვლევების უმეტესობა ამჟამად იმყოფება ფართო საწარმოო გამოცდის სტადიაში. მეცნიერები ვარაუდობენ, რომ ბიოტექნოლოგიის მეთოდებით მიღებული მარცვლოვანი კულტურების პირველი ყინვაგამძლე ჯიშები მსოფლიო ბაზარზე XXI საუკუნის დასაწყისში გამოჩნდება.

გვალვა- და დამლაშებისადმი გამძლეობაზე სელექცია. სასოფლო-სამეურნეო კულტურების პროდუქტიულობის ერთ-ერთ მაღიმიტირებელ ფაქტორს ნიადაგების დამლაშება წარმოადგენს. პლანეტის ნიადაგების დაახლოებით 9.10^8 ჰა-ს მარილების მაღალი შემცველობა აქვს. დამლაშებული ნიადაგების რაოდენობა ყოველწლიურად მატულობს. აღნიშნული პრობლემის გადაწყვეტა დიდადაა დამოკიდებული აგროტექნიკური ღონისძიებების რაციონალურ გამოყენებაზე, მორწყვის სწორ მეთოდიკაზე, მოსარწყავად ვარგისი წყლის ეფექტურ გამოყენებაზე და სხვა. სულ უფრო მეტი ყურადღება ექცევა დამლაშებისადმი გამძლე (ტოლერანტული) სასოფლო-სამეურნეო კულტურების სელექციას. დამლაშებისადმი გამძლე მცენარეთა მისაღებად უმეტეს ექსპერიმენტებში სელექციური მუშაობის არსი ნატრიუმის ქლორიდის შემცველ ხელოვნურ საკვებ არეში უჯრედების კულტივირებასა და მათგან ტოლერანტულის გამორჩევაში მდგომარეობს. დამლაშებისადმი გამძლეობაზე გამოკვლევები მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში ტარდება. უკრაინაში მიღებულია მარილების მაღალი შემცველობისადმი რეზისტენტული თამბაქოს, კარტოფილის და იონჯას უჯრედული ხაზები. აშშ-ში და ავსტრალიაში მიღებულია დამლაშებისადმი გამძლე ფორთოხლის, სიმინდის, საგაზაფხულო ხორბლის, იონჯას და წიწაკას ხაზები.

გვალვა იწვევს წყლის დეფიციტს ნიადაგში და მცენარეში, რის გამოც მათში იწყება სტრესული პროცესები. წყლის უკმარისობა გაცილებით მეტ ზიანს აყენებს მცენარეებს, ვიდრე ყველა სხვა სტრესული ფაქტორი ერთად აღებული. გვალვით გამოწვეული სტრესი იწვევს მცენარის პირდაპირ ან არაპირდაპირ დაზიანებას, რაც განპირობებულია ფერმენტების ინაქტივაციით, ბიოქიმიური პროცესების დარღვევით, ტოქსიკური ნივთიერებების დაგროვებით, იონების გადინებით, საკვები ნივთიერებების დეფიციტით და სხვა. უჯრედული სელექციის მეთოდით გვალვაგამძლე მცენარის ანუ წყლის დეფიციტის ამტანი მცენარის მისაღებად აუცილებელია გვალვის სტრესული ეფექტის იმიტაცია *in vitro* პირობებში. ამისათვის იყენებენ გარეგანი წყლის პოტენციალის დამწვევ ოსმოსურად აქტიური ნივთიერებების შემცველ საკვებ არეებს. ყველაზე უფრო მეტად ასეთ სელექტიურ აგენტად გამოყენებულია პოლიეთილენგლიკოლი (პეგ). პირველი ცნობა თამბაქოს გვალვაგამძლე უჯრედული ხაზის შესახებ გამოქვეყნდა 1979 წელს. ამჟამად ახალი გვალვაგამძლე კულტურების მისაღებად

სამუშაოები ტარდება საფრანგეთში, ავსტრალიაში, აშშ-ში, გერმანიაში და სხვა. ავსტრალიაში გამოკვლევები ტარდება მარცვლოვანი კულტურების გვალვაგამძლე ჯიშების მისაღებად. აშშ-ში ამ მიმართულებით ექსპერიმენტების ძირითად ობიექტს წარმოადგენენ სიმინდი და იონჯა.

ამინომჟავებისა და მათი ანალოგებისადმი გამძლეობაზე სელექცია. ძალზე დიდია მცენარეული ცილების მნიშვნელობა ადამიანისა და ცხოველისათვის, რადგანაც მათ არ შეუძლიათ ისეთი შეუცვლელი ამინომჟავების სინთეზი, როგორიცაა ტრიპტოფანი, ლიზინი, ტრეონინი, მეთიონინი. ამასთან, ძირითადი სასურსათო კულტურების – მარცვლოვანებისათვის დამახასიათებელია ლიზინის დაბალი შემცველობა, სიმინდში აღნიშნულია ტრიპტოფანის დაბალი დონე, ხორბალსა და ბრინჯში – ტრეონინის, ხოლო პარკოსნებში – მეთიონინის დეფიციტი და ა.შ. აქედან გამომდინარე, სასოფლო-სამეურნეო კულტურების სელექციაში განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება სელექციას ხარისხზე ანუ მცენარეში შეუცვლელი ამინომჟავების შემცველობის გადიდებას. სპეციფიკური ამინომჟავების შემცველობის ამაღლებისა და ამ გზით უფრო ბალანსირებული ამინომჟავური შედგენილობის მცენარეების მიღების ერთ-ერთ ხერხს გარკვეული ამინომჟავის გადიდებული ბიოსინთეზის უნარის მქონე მუტანტების გამოყოფა წარმოადგენს. ასეთი მუტანტების გამორჩევა შესაძლებელია *in vitro* პირობებში ამინომჟავების ბიოსინთეზის საკვანძო ფერმენტების მაინჰიბირებელი ამინომჟავების ან მათი ანალოგების შემცველ სელექტიურ არეებზე. სხვა სიტყვებით, შეუცვლელი ამინომჟავების შემცველობის გადიდების მიზნით უჯრედულ დონეზე სელექცია ტარდება ტოქსიკური ამინომჟავების ან მათი ანალოგებისადმი რეზისტენტული სისტემების გამოყენებით, რომლის დროსაც ადგილი აქვს შესაბამისი ამინომჟავების დაგროვებას უჯრედში. როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული, მარცვლოვანები დეფიციტურია ლიზინის მიხედვით, ხოლო პარკოსნები – მეთიონინის მიხედვით. ამ ამინომჟავების ანალოგების ტოქსიკური კონცენტრაციისადმი გამძლე უჯრედული ხაზების მიღებისას მათში 10-ჯერ მატულობს შესაბამისი თავისუფალი ამინომჟავის შემცველობა, რაც შეუცვლელი ამინომჟავების საერთო რაოდენობის გადიდებას იწვევს. აღნიშნული ხერხით მიღებულია ეთიონინისადმი (მეთიონინის ანალოგი) გამძლე იონჯას, პროლინის ბუნებრივი ანალოგის – აცეტილდოკარბოქსილმჟავასადმი გამძლე თამბაქოს და სტაფილოს უჯრედული ხაზები. მიღებულია აგრეთვე ლიზინითა და ტრეონინით ინჰიბირებისადმი გამძლე სიმინდის უჯრედული ხაზები. ამინომჟავებისა და მათი ანალოგებისადმი რეზისტენტულობაზე სელექცია ნებისმიერი ამინომჟავის, მათ შორის შეუცვლელის, დიდი რაოდენობით შემცველი საკვები კულტურების მიღების რეალურ პერსპექტივებს სახავს. საკვები არის შედგენილობის რეგულირების გზით

ამერიკული ფირმა Molecular Genetics-ის მეცნიერებმა გამოიყვანეს სიმინდის ჯიში ტრიპტოფანის გადიდებული შემცველობით. უკრაინაში მიღებულია მეთიონინის ანალოგების – ეთიონინის, მეთილმეთიონინ-სულფოქლორიდისა და პროლინისადმი გამძლე იონჯას უჯრედული ხაზები. ეთიონინისადმი გამძლე იონჯას უჯრედული ხაზებიდან მიღებული რეგენერანტები საკონტროლოსთან შედარებით თავისუფალი მეთიონინის 20-100 ჯერ მეტი შემცველობით გამოირჩევიან, რამაც გამოიწვია ამ მცენარეებში საერთო მეთიონინის 30%-ით გადიდება.

სომატური ჰიბრიდიზაცია. უჯრედული სელექციის მნიშვნელოვან მეთოდს წარმოადგენს აგრეთვე **სომატური ჰიბრიდიზაცია***. იგი ფილოგენეტიკურად შორეული, ჩვეულებრივი სქესობრივი გზით შეუჯვარებელი სახეობების შეჯვარების; ორი ან მეტი მშობლის უჯრედების შერწყმის; ერთ-ერთი მშობლის სრული გენომის, მეორის – რამოდენიმე ქრომოსომის, ან რამოდენიმე გენის, ან მხოლოდ ორგანულებისა და ციტოპლაზმის მატარებელი ასიმეტრიული ჰიბრიდების მიღების საშუალებას იძლევა. აღნიშნული მეთოდი არა მარტო მცენარეთა შორეული სახეობების გენების ერთ ბირთვში, არამედ პარტნიორების ციტოპლაზმური გენების ერთ ჰიბრიდულ უჯრედში გაერთიანების საშუალებასაც იძლევა. სომატური ჰიბრიდიზაცია მცენარეთა სრულიად ახალი გენოტიპების მიღების ეფექტური ხერხია. ასე, მაქს პლანკის საზოგადოების უჯრედის ბიოლოგიის ინსტიტუტში (გერმანია) მიღებულ იქნა სქესობრივად შეუთავსებელი კარტოფილისა და პომიდორის სომატური ჰიბრიდები (**“Pomato”** და **“Topato”**), რომლებსაც აშკარად ჰქონდათ ორივე მშობლის ნიშნები. ლიტერატურაში მრავალი ინფორმაცია მოიპოვება პროტოპლასტების შერწყმის გზით განხორციელებულ მცენარეთა ჰიბრიდიზაციის შესახებ. მათ შორის დაახლოებით 70% სახეობათაშორის (კარტოფილი, სტაფილო, პეტუნია, ლემა და სხვა), 4,5% გვარობათაშორის (პომიდორი+კარტოფილი, არაბიდოპსისი+ ტურნეფსი, ლემა+ბელადონა და სხვა) და 7,5% ოჯახათაშორის (სოია+თამბაქო და სხვა) შეჯვარებაზეა. ყველაზე მეტია ძაღლყურძენასებრთა ოჯახის (*Nicotiana*, *Datura*, *Solanum*, *Likopersicum*) ჰიბრიდები, დადებითი შედეგებია მიღებული ჯვაროსანთა, პარკოსანთა, ქოლგოსანთა და სხვა ოჯახების წარმომადგენლებში.

უმეტეს შემთხვევაში გამოყენებულია ან ფოთლის მეზოფილის პროტოპლასტები, ან კალუსური ქსოვილის პროტოპლასტები. ჰოლანდიაში განხორციელებულ იქნა სქესობრივი გზით შეუჯვარებელი შროშანის სახეობების სომატური ჰიბრიდიზაცია. მსოფლიოს რიგ სამეცნიერო-კვლევით დაწესებულებებში მიღებულია ჩვეულებრივი სქესობრივი გზით შეუჯვარებელი კულტურული და ველური პომიდორის **სომატური** და **ციტოპლაზმატური ჰიბრიდები****. დიდი ყურადღება ექცევა მარცვლოვან კულტურებს, სადაც პროტოპლასტების შერწყმის გზით მიღებულია მრავალი სომატური უჯრედული ხაზი.

ამჟამად სომატური ჰიბრიდიზაცია წარმატებით გამოიყენება პრაქტიკული მნიშვნელობის სელექციურ პროგრამებშიც. მაგალითად, კარტოფილის, რაფსის, პომიდორის, იონჯას, თამბაქოს და სხვა კულტურების სელექციაში. რუსეთში მცენარეთა ფიზიოლოგიის ინსტი-

* სომატური ჰიბრიდიზაციის განმარტება იხ. გვ. 457.

** სომატური და ციტოპლაზმატური ჰიბრიდების განმარტება იხ. გვ. 457, 458.

ტუტში კარტოფილის კულტურული (*Solanum tuberosum*) და ველური (*Solanum chasoense*) სახეობების პროტოპლასტების შერწყმის გზით მიღებულ იქნა სომატური ჰიბრიდი, რომელიც საწყის მშობლებთან შედარებით გამოირჩევა ვირუსი Y-სადმი გამძლეობით, მძლავრი მიწისზედა ნაწილით, ძვირფასი სამეურნეო ნიშნების შუალედური დამემკვიდრებით. საფრანგეთის სასოფლო-სამეურნეო გამოკვლევების ნაციონალური ინსტიტუტის მეცნიერებმა ბეკაროსების გზით ციტოპლაზმატური მამრობითი სტერილობის (ცმს) გენები იაპონური თვის ბოლოკიდან გადაიტანეს რაფსში. მაგრამ რაფსის მამრობითი ხაზით სტერილური მცენარეები ქლოროფილდეფექტური აღმოჩნდა – 14°C-ზე დაბალი ტემპერატურისას მცენარეები ყვითლდებოდა და მნიშვნელოვნად ამცირებდა მოსავლიანობას, რაც ხელს უშლიდა ჰეტეროზისულ სელექციაში მათ გამოყენებას. გარდა ამისა, ამ ხაზის მცენარეებში ყვავილები მოკლებული იყო მწერებით დამტვერიანებისათვის აუცილებელ სანექტრებს. მამრობითი ხაზით სტერილური და ჩვეულებრივი რაფსის პროტოპლასტების შერწყმით მიღებულ იქნა სომატური ჰიბრიდები, რომელთა შორის იყო ნორმალურ პიგმენტიანი და სანექტრების მქონე მამრობითი ხაზით სტერილური მცენარეებიც. ანალიზმა აჩვენა, რომ ისინი შეიცავდნენ ქლოროპლასტებს, ხოლო მიტოქონდრიებში იყო როგორც რაფსის, ისე თვის ბოლოკის დნმ. ამავე მამრობითი ხაზით სტერილურ რაფსის მცენარეებში სომატური ჰიბრიდიზაციის გზით შეყვანილ იქნა ჰერბიციდ ატრაზინისადმი გამძლეობის გენი. გუელფის უნივერსიტეტში (კანადა) განხორციელებულ იქნა ანალოგიური სამუშაო: სომატური ჰიბრიდიზაციის მეთოდით მიღებულ იქნა ცმს მქონე რაფსის ტრიაზინისადმი გამძლე ხაზები. აღნიშნული მეთოდის გამოყენებით გადაწყვეტილ იქნა აგრეთვე რაფსიდან იონჯაში ტრიაზინისადმი გამძლეობის გენის გადატანის ამოცანა, რაც ჩვეულებრივი სქესობრივი ჰიბრიდიზაციის გზით შეუძლებელია. ვეისმანის ინსტიტუტის (ისრაელი) თანამშრომლების მიერ ატრაზინისადმი გამძლეობის უნარი გადატანილ იქნა შავი ძაღლყურძენადან კარტოფილში, ხოლო კომპანია Advanced Genetic Science (აშშ) სპეციალისტების მიერ – *Nicotiana plumbaginifolia*-დან ჩვეულებრივ თამბაქოში. კომპანია Giba-Geigy-ის ბიოლოგებმა ასევე მიიღეს ატრაზინისადმი გამძლე თამბაქოს ციტოპლაზმატური ჰიბრიდი. აშშ-ს სოფლის მეურნეობის სამინისტროს კვლევითი ცენტრის სპეციალისტებმა სო-

მატური ჰიბრიდიზაციის მეთოდი გამოიყენეს კოლორადოს ხოჭოსად-
მი ტოქსიკური ცილა ლეპტინის შემცველი კარტოფილის მისაღებად.
მოხდა კარტოფილის კომერციული ჯიშის პროტოპლასტების შერწყმა
ცილა ლეპტინის გენის მატარებელ ველურ სახეობა *Solanum chacoens-*
ის პროტოპლასტებთან. მაგრამ სირთულე იმაშია, რომ სომატური
ჰიბრიდის ტუბერები ზომით დაახლოებით 2-ჯერ ნაკლებია, ვიდრე
კომერციული ჯიშის. საჭიროა შემდგომი სელექციური მუშაობა. უკ-
რაინაში მეკარტოფილეობის ინსტიტუტში კარტოფილის ჰიბრიდული
პროტოპლასტებიდან მიღებულ რეგენერანტებს შორის გამორჩეული
და სელექციურ მუშაობაში ჩართულია უხვად მოყვავილე, ფერტილუ-
რი და რიგი დაავადებებისადმი გამძლე პერსპექტიული ფორმები.

ფრანგმა მეკლევარებმა სომატური ჰიბრიდიზაციის გზით მოა-
ხერხეს ალტერნარიოზისა და ნემატოდებისადმი გამძლეობის უნარის
გადატანა თეთრი მდოგვიდან რაფსში, ხოლო იაპონელმა მეცნიერებმა
ბაქტერიოზისადმი გამძლეობის უნარი – წეკოდან თამბაქოში.

მცენარეთა სელექციასა და მეთესლეობაში არანაკლებ მნიშვნე-
ლოვანი როლი ენიჭება ე.წ. **ბიოტექნოლოგიის დამხმარე მეთოდებს:**
in vitro განაყოფიერება, იზოლირებული ჩანასახების ხელოვნურ საკ-
ვებ არეზე გამოზრდა, **in vitro** ჰაპლოიდების მიღება, ჰიბრიდების
კლონური მიკროგამრავლება და სხვა.*

ჩანასახების კულტურა. ზოგიერთ შემთხვევაში სქესობრივი
შეჯვარების (განსაკუთრებით შორეული) შედეგად მიღებული ჰიბრი-
დები არ იძლევა სიცოცხლისუნარიან აღმონაცემებს. მაშინ როცა
ასეთ ჰიბრიდებს შეიძლება ჰქონდეთ სელექციონერისათვის საინტერესო
ნიშან-თვისებები. ჩანასახის კულტურის მეთოდის ანუ იზოლირე-
ბული ჩანასახების ხელოვნურ საკვებ არეზე გამოზრდის მეთოდის
საშუალებით შესაძლებელია ზემოთ აღნიშნული ჰიბრიდების სი-
ცოცხლისუნარიან მდგომარეობაში შენარჩუნება და გამრავლებაც კი.
ასეთი გზით რუსეთში, მცენარეთა ფიზიოლოგიის ინსტიტუტში რ.
ბუტენკომ შეძლო თამბაქოს შეუთავსებელი სახეობების *Nicotiana taba-*
kum x *N. occidentalis* შეჯვარებიდან სიცოცხლისუნარიანი მცენარეების
მიღება. ჩვეულებრივ, ასეთი შეჯვარებით მიღებული თესლებიდან
ვითარდებოდა სიცოცხლისუნარო აღმონაცენები. მცენარეთა ახალი
ჯიშების გამოყვანისას სელექციონერები ხშირად აწყდებიან ჰიბრიდუ-
ლი თესლების დაბალი აღმოცენების უნარს. მაგალითად, კულტურუ-
ლი ფორმების ველურ სახეობებთან შეჯვარებით მიღებულ იორდასა-
ლამის თესლებს ძალიან დაბალი გაღივების უნარი აქვთ. ისინი ხში-
რად ღპება და იღუპება აღმონაცენების მოცემის გარეშე. საკმაოდ
ხშირად თესლოვანი და კურკოვანი კულტურების შორეული ჰიბრიდი-
ზაციის დროს ჩანასახი იღუპება თავისი განვითარების ყველაზე ად-
რეულ ეტაპზე. არასრულფასოვანი თესლები ვითარდება კურკოვანი
და თესლოვანი კულტურების (მსხალი, ატამი, ბალი და სხვა) საად-

რეო ჯიშებში, აგრეთვე ვაზის ზოგიერთ ადრემწიფად ჯიშებში. ზოგიერთ მცენარეში ჩანასახებს დაბალი სიცოცხლის უნარი აქვთ პოლიემბრიონიის (ერთი ზიგოტიდან რამოდენიმე ჩანასახის განვითარება) გამო. მაგალითად, ციტრუსოვანი კულტურის თესვებში ნორმალურად განვითარებულ ჩანასახებთან ერთად არის ემბრიოგენეზის

* დეტალურად ეს საკითხები განხილულია IV ნაწილში.

ადრეულ სტადიაზე მყოფი ჩანასახებიც. თესვების დაბალ აღმოცენებასთან დაკავშირებული ყველა ეს სირთულე შეიძლება გადალახულ იქნას თესვებიდან იზოლირებული ჩანასახების ხელოვნურ საკვებ არეზე გამოზრდით. აღნიშნული გარდა ამ მეთოდით შეიძლება გადაწყვეტილ იქნას მცენარეთა სელექციის რიგი სხვა თეორიული და პრაქტიკული საკითხები. მეთოდი ფართოდ გამოიყენება მარცვლოვანი საკვები კულტურების სელექციაში, ჰაპლოიდების მიღების მიზნით იონჯას შორეულ ჰიბრიდიზაციაში. ჩანასახების კულტურა სიცოცხლისუნარიანი თაობების მომცემი სახეობათაშორისი და გვარეობათაშორისი ჰიბრიდების მიღების საშუალებას იძლევა. მაგალითად, მიღებული და სელექციურ მუშაობაში ჩართულია სახეობათაშორისი ჰიბრიდები – ქერი x ჭვავი, ქერი x ხორბალი, ქერი x ხორბალი x ჭვავი, კოინდარი x შვრია და სხვა. არიგონის შტატის უნივერსიტეტში, სან-ლეონარდოს აგრონომიული კვლევის ცენტრში (აშშ) ქერის მოუშწიფებელი ჩანასახიდან *in vitro* კულტურაში მიღებულ იქნა კალუსი, საიდანაც რეგენერირებულ მცენარეს თაობაში შენარჩუნებული პქონდა თესლის განვითარების უნარი. კანზასის შტატის უნივერსიტეტში, მარცვლოვანი კულტურების შესწავლის სამმართველოში (აშშ) ჩანასახების კულტურის მეთოდით გამოყვანილ იქნა ცილების მაღალი შემცველობის მქონე საშემოდგომო ხორბლის ფერტილური მცენარეები. პენჯაბის სასოფლო-სამეურნეო უნივერსიტეტში (ინდოეთი) წინასწარი გაყინვის შემდეგ მოუშწიფებელი ჩანასახებიდან სპეციალურ საკვებ არეზე მიიღეს დიდი რაოდენობის ამონაყრების მქონე ხორბლისა და ბრინჯის მცენარე-რეგენერანტები. ეს მეთოდი შეუთავსებელი ფორმების ჰიბრიდების ან არასრულად განვითარებული ჩანასახების მქონე სტერილური მცენარეების გაყინული ჩანასახებიდან მცენარეთა რეგენერაციის შესაძლებლობას იძლევა. ჩანასახების კულტურა ასევე საშუალებას იძლევა მკაცრად კონტროლირებად პირობებში შესწავლილ იქნას თესვების მოსვენების მექანიზმი და მისი რეგულირების გზები, ემბრიოგენეზის მორფოგენეტიკური და მორფოფიზიოლოგიური ასპექტები, რაც აუცილებელია ჩანასახის ზრდის კანონზომიერების, მისი დიფერენცირების პროცესის არსის გაგებისათვის და ა.შ.

ჰაპლოიდური სელექცია. სელექციონერისათვის მეტად საინტერესოს წარმოადგენს ე.წ. ჰაპლოიდური მცენარე. ჰაპლოიდების, რო-

გორც სელექციური მუშაობის დაჩქარებისა და გაადვილების საშუალების მნიშვნელობა ძალიან დიდია. ბოლო დრომდე ჰაპლოიდუი არ ჰქონდა ფართო გამოყენება, რადგანაც არ არსებობდა ჰაპლოიდური მცენარეების მიღების საკმაოდ საიმედო მეთოდები. სპონტანური ჰაპლოიდების რაოდენობა ბუნებაში მეტად შეზღუდულია. ძნელია ჰაპლოიდების ხელოვნური მიღებაც. მათი გამოვლენის სისწორის გადიდება შეიძლება სახეობათაშორისი შეჯვარების დროს მტვრიანაზე სხვადასხვა ფიზიკური და ქიმიური ფაქტორების ზემოქმედებით. მცენარეთა ჰაპლოიდური ფორმების მიღების ფართო პერსპექტივა დასახა იზოლირებული მტვრიანების, მტვრის მარცვლების, ნასკვებისა და თესლკვირების ხელოვნურ საკვებ არეზე კულტივირების მეთოდმა. პირველად ჰაპლოიდები მიღებულ იქნა ინდოელი მეცნიერების მიერ 1964 წელს. ამჟამად მტვრიანების კულტურას იყენებენ 200-ზე მეტი სახეობის მცენარეში. ინტენსიური გამოკვლევები ტარდება ხორბალში, ბრინჯში, ქერში, ტრიტიკალეში, სიმინდში, კარტოფილში, რაფსში, თამბაქოში, ჯვაროსანთა ოჯახის მცენარეებში და სხვა. აღნიშნული მიმართულების პერსპექტიულობაზე და კარგ პრაქტიკულ შედეგებზე ლაპარაკობს ის ფაქტი, რომ ჩინეთში უკანასკნელ პერიოდში შეიქმნა მტვრიანების კულტურის მეთოდის დამუშავებისა და პრაქტიკული დანერგვის დაახლოებით 750 სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრი. 400 მლ. ჰექტარზე მეტ ფართობზე მოჰყავთ სასოფლო-სამეურნეო კულტურების (სიმინდი, ბრინჯი, ხორბალი, ქერი, შვრია) სხვადასხვა ჯიშები, რომლებიც წარმოდგენილია გაორმაგებული ანდროგენეტიკური მცენარეებით. იაპონიაში მტვრიანების კულტურის გამოყენებით შეძლეს თამბაქოს ძირითადი ადგილობრივი ჯიშების – “AG 1610”-ის დაავადებებისადმი გამძლეობის გაუმჯობესება. გერმანიაში აღნიშნული მეთოდით მიღებულ იქნა პერონოსპოროზისადმი გამძლე თამბაქოს ხაზი, ამასთან სამუშაოს ვადები 3-ჯერ იქნა შემცირებული სელექციის ტრადიციულ მეთოდებთან შედარებით. აგრონომიული კვლევის ნაციონალურ ინსტიტუტში (საფრანგეთი) მტვრიანების კულტურის მეთოდით მიღებულ იქნა ტრიტიკალეს ფერტილური მცენარე-რეგენერატები. კენტუკის შტატის უნივერსიტეტში (აშშ) აღნიშნული მეთოდით გამოყვანილია ძლიერი ფესვთა სისტემის მქონე და ტენიან ნიადაგს შეგუებული შვრიის მცენარე. რუსეთში ჰაპლოიდურ სელექციაში გამოკვლევები ინტენსიურად მიმდინარეობს და აქვს პრაქტიკული მიმართულება. მაგალითად, სასოფლო-სამეურნეო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში მიღებულია ხორბლის 3 პერსპექტიული ანდროგენული ხაზი, მიღებულია ასევე ქერის დიჰაპლოიდები, რომელთა საფუძველზეც ცენტრალურ შავშიწა რაიონებში ტარდება გამძლეობაზე სელექცია. ბრინჯის სამეცნიერო-კვლევით ინსტიტუტში მტვრიანების კულტურის გამოყენებით შექმნილია ბრინჯის დიჰაპლოიდები. ორი დიჰაპლოიდური ხაზი უკვე გადის ჯიშთაგამოცდას. ჩინეთში იაპონურ

ჯიშ “Toride 2”- დან ჯიშებში “ჟონგჰუა 8” და “ჟონგჰუა 9”-ში ბრინჯის პირიკლარიოზისადმი გამძლეობის გენების (Pi - Z) გადატანა ანდროგენების გზით განხორციელებულ იქნა 2 წელიწადში, მაშინ როცა იაპონიაში Pi - Z გენების მატარებელი ჯიშების – “Toride 1” და “Toride 2”-ის ჩვეულებრივი ხერხით შექმნას დასჭირდა 12 წელიწადი. იმავე მეთოდით ჩინეთში მიღებულ იქნა ძვირფასი სამეურნეო ნიშნების მქონე ბრინჯის 80-ზე მეტი და ხორბლის 20-ზე მეტი ჯიში და ხაზი. კანადაში კომპანია Giba-Geigy Seeds-ს მიერ ქერის ჰაპლოიდიაში სელექციური პროგრამის დაწყებიდან 5 წლის განმავლობაში მიღებულ იქნა დიჰაპლოიდური ჯიში მინგო, რომელიც გამოირჩევა მაღალი მოსავლიანობით, მსხვილი მარცვლებით და მაღალი გამოლეწვის უნარით. საფრანგეთში აღიარებული და რეგისტრირებულია მტვრიანების კულტურის გამოყენებით მიღებული ხორბლის ჯიში Floria, რომელიც გამოყვანილ იქნა 7 წელიწადში. ჯიშის ავტორების აზრით იგი მიღებულ იქნა სულ ცოტა 4 წლის ეკონომიით. მოსავლიანობის (60–70 ც/ჰა) მიხედვით ჯიში არ ჩამორჩება საუკეთესო ჯიშებს, გააჩნია მაღალი გამოსავლობა და სტაბილურობა, საკმაოდ გამძლეა ჩაწოლისა და ნაცრისადმი, შედარებით სიცივეგამძლეა და ა.შ. ჰაპლოიდების მიღება გაუნაყოფიერებელი ნასკვების ან თესლკვირტებიდან აღწერილია ბრინჯში, სიმინდში, ხორბალში, შაქრის ჭარხალში, მზესუმზირაში, პეტუნიაში, ალვის ხეში და სხვა. ნასკვების ან თესლკვირტების კულტურაში ჰაპლოიდების გამოსავლიანობა შეადგენს დაახლოებით 15%-ს, რაც უმნიშვნელოდ განსხვავდება მტვრიანების კულტურაში მათი გამოსავლიანობისაგან. დიდ ინტერესს იწვევს წმინდა ხაზების დაჩქარებული მიღებისათვის ჰაპლოიდების გამოყენება ჰეტეროზიულ სელექციაში. მაღალჰეტეროზიოტულ, ჯვარედინდამამტვერიანებელ კულტურებში ჰაპლოიდია ჰეტეროზიული ჰიბრიდების გამოსაყვანად აუცილებელი წმინდა ხაზების სწრაფად მიღების საშუალებას იძლევა. მაგალითად, ჩინეთში შექმნილია სიმინდის რიგი ანდროგენული “ინბრედული” ხაზები. გარდა ამისა, არის ცნობები, რომელთა მიხედვით ჰეტეროზიზის დამაგრება შესაძლებელი იქნება დიჰაპლოიდური ხაზების საშუალებით.

ახალი ჯიშების, ჰიბრიდების, ხაზების კლონური მიკრობამრავლება. ახალი სელექციური ჯიშის წარმოებაში დანერგვის გზაზე ერთ-ერთ არსებით წინააღმდეგობას ერთი სეზონის განმავლობაში დიდი რაოდენობით თესლების ან სარგავი მასალის (ეგვეტიურად მრავლებადი მცენარეებისათვის) მიღების შეზღუდულობა წარმოადგენს. ეს წინააღმდეგობა თავიდან აცილებულია ბიოტექნოლოგიის საშუალებით, რომელიც სელექციონერებს სთავაზობს ახალი ჯიშების, ჰიბრიდებისა და ხაზების კლონური მიკროგამრავლების სწრაფ და ეფექტურ მეთოდს. გარდა ამისა, აღნიშნული მეთოდი ქმნის ძვირფასი სელექციური მასალის ფიტოპათოგენური ინფექციებისაგან გან-

თავისუფლების შესაძლებლობას. კლონური მიკროგამრავლების მეთოდი დამუშავებულია 90-ზე მეტი ოჯახის 500-მდე სახეობის მცენარისათვის. იგი გამოყენებულია შემდგომი სელექციური მუშაობისათვის საჭირო ჯიშებისა და სახეობების კოლექციის შესაქმნელად, იშვიათი და გადაშენების პირას მისული მცენარეების გენომების შესანარჩუნებლად. უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურა ფართოდ გამოიყენება არა მარტო ახალი ჯიშებისა და ფორმების მისაღებად, არამედ სარგავი მასალის გასაჯანსაღებლად, მის სწრაფად გასამრავლებლად. უკრაინის მეკარტოფილეობის სამეცნიერო-კვლევით ინსტიტუტში *in vitro* კულტურაში შეყვანილ იქნა კარტოფილის 72 ჯიში. აღნიშნული მეთოდით ყოველწლიურად სათბურში დებულობენ 100–120 ათას ტონა ტუბერს, 180-200 ტონა პირველი და მეორე რეპროდუქციის სათესლე მასალას. უკრაინის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტების მიერ დამუშავებულია ყურძნის ზეადრეული მაღალმოსავლიანი სასუფრე ჯიშის კლონური მიკროგამრავლების მეთოდები. კლონური მიკროგამრავლება უზრუნველყოფს ასორტიმენტის გაუმჯობესების მიზნით ამ ჯიშების შუა აზიის რესპუბლიკებში ინტროდუქციას საკარანტინო სამსახურის შეზღუდვების გარეშე, რადგანც იგი გამოირიცხავს მცენარეების დასენიანებას მავნებლებითა და დაავადებებით. მცენარეთა კლონური მიკროგამრავლების პრაქტიკული გამოყენების პერსპექტიულ დარგს წარმოადგენს დეკორაციული მებაღეობა. მეყვავილეები ძალიან აფასებენ გველის სუროს მცენარეს მისი ყვავილების სილამაზის, მოვლა-მოყვანის დაბალი მოთხოვნილების, უხვი და ხანგრძლივი ყვავილობის გამო. ამ მცენარის პრეპარატები ფართოდ გამოიყენება მედიცინაში. რადგანაც გველის სუროთი დაკავებული ფართობები არც ისე ბევრია, სამკურნალო ნედლეულის ინტენსიურმა დამზადებამ შეიძლება მისი გადაშენება გამოიწვიოს. ამის გამო მეცნიერებმა ხელი მოჰკიდეს ამ ძვირფასი სამკურნალო და დეკორაციული მცენარის კლონური მიკროგამრავლების მეთოდის დამუშავებას. პენსილვანიის უნივერსიტეტის (აშშ) მებაღეობის განყოფილების მკვლევარებმა შეიმუშავეს გველის სუროს კლონური მიკროგამრავლების მეთოდი, რომელიც წლის განმავლობაში სარგავი მასალის დიდი რაოდენობით მიღების შესაძლებლობას იძლევა. კლონური მიკროგამრავლების მეთოდები დამუშავებულია მიხაკის, ნარგიზის, სუმბულის, იასამნის, ქრიზანთემის და სხვა დეკორაციული მცენარისათვის. კლონური მიკროგამრავლების პრაქტიკული გამოყენების მეორე სფეროს წარმოადგენს მეხილეობა. ხილ-კენკროვანი კულტურების სარგავი მასალის მასობრივი მიღებისათვის ყველაზე ეფექტური აღმოჩნდა მერისტემების აქტივაციის მეთოდი. ციტრუსოვნების ქსოვილების კულტივირებისას მათში წარმოიქმნება კვირტები, რომლებიც შემდეგ გარდაიქმნებიან ყლორტებად. კვირტის ფუძესთან წარმოიქმნება 2-3 ათეული ახალი კვირტი, რომლებიც შემდეგ ასევე გარდაიქმნებიან შეფოთ-

ლილ ყლორტებად. 1 გრამი ფორთოხლის ქსოვილებიდან 5-6 თვის განმავლობაში შესაძლებელია 400-მდე მცენარის მიღება. კლონური მიკროგამრავლება გამოყენებულია ძვირფასი სამკურნალო მცენარეების მოსაშენებლად. ბოსტნეულ კულტურებს შორის კლონური მიკროგამრავლება გამოყენებულია კარტოფილში, კომბოსტოში, ხახვში, ნიორში, პომიდორში, სატაცურში და სხვა. აღნიშნული მეთოდი ძალიან პერსპექტიული აღმოჩნდა მეტყვევობაშიც. საქმე იმაშია, რომ მერქნიანი და ბუჩქოვანი ჯიშების ჩვეულებრივ თესლით გამრავლებისას უმეტეს შემთხვევაში გენეტიკური თვალსაზრისით არასტაბილური თაობა წარმოიქმნება. ცალკეული მცენარეები შეიძლება განსხვავდებოდეს ერთმანეთისაგან ზრდის ტემპით, მერქნის ხარისხით, ვარჯის ფორმით და ა.შ. გარდა ამისა, თესლით გამრავლების შემთხვევაში მერქნიანი მცენარეები ხანგრძლივი დროის განმავლობაში იმყოფებიან ახალგაზრდობის ფაზაში და გვიან იწყებენ ყვავილობასა და ნაყოფმსხმოიარობას. ამიტომ საუკეთესო ეგზემპლარების გამოყენება გასამრავლებლად არ შეიძლება მანამ, სანამ არ მიაღწევენ სქესობრივ სიმწიფეს. ვეგეტატიური გამრავლება კი მრავალი მერქნიანი ჯიშისათვის ხშირად არაეფექტურია, ზოგიერთ შემთხვევაში, მაგალითად პალმებში, ვეგეტატიური გამრავლების ჩვეულებრივი მეთოდები საერთოდ ცნობილი არ არის. სწორედ ამიტომ კლონური მიკროგამრავლების მეთოდს ძალიან დიდი მნიშვნელობა აქვს მეტყვევობაში.

ხელოვნური თესლების მიღება. ბიოტექნოლოგიური მეთოდები ასევე საშუალებას იძლევა მიღებულ იქნას ხელოვნური თესლები და ამით ხელსაყრელი პირობა შეიქმნას ძნელადგასამრავლებელი ჯიშებისა და ჰიბრიდებისათვის. ფირმა “Plant Genetiks”-ის თანამშრომლებმა შეიმუშავეს ჰიბრიდული ჩანასახების და მცენარის ნაწილების ინკაფსულირების ტექნოლოგია. ჩანასახების ინკაფსულირება ხდება ნატრიუმის ალგინატის გელში, რომელიც შემდეგ იფარება პოლიმერით. ეს მეთოდიკა ვარგისია ასევე გაღივებული თესლების ინკაფსულირებისათვის, რომელთა თესვა ძალიან აჩქარებს მადალი მოსავლის მიღებას.

ბენეფიკური ინჟინერიის მეთოდები. ზემოთ აღნიშნულ მეთოდებთან ერთად მცენარეთა ახალი სელექციური ჯიშებისა და ფორმების მისაღებად ეფექტურად გამოიყენება ასევე **გენეტიკური ინჟინერია**. მცენარეთა სელექციაში გენეტიკური ინჟინერიის პრაქტიკული გამოყენების შემდეგი ძირითადი მიმართულებებია: **ცილის კვებითი ღირებულების გაზრდა, ფოტოსინთეზისა და აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაციის ეფექტურობის ამაღლება, ფიზიოლოგიური სტრესებისადმი გამძლეობა, დაავადებებისა და მავნებლებისადმი გამძლეობა, ჰერბიციდებისადმი გამძლეობა და სხვა.**

ცილის კვებითი ღირებულების გაზრდა. სელექციის ერთ-ერთ ყველაზე მწვავე პრობლემას ცილების შემცველობისა და ხარის-

ხის ამადლების გზით მცენარეული პროდუქციის კვებითი ღირებულების გაუმჯობესება წარმოადგენს. ეს პირველ რიგში ეხება ისეთ ეკონომიკურად მნიშვნელოვან კულტურებს, როგორიცაა მარცლოვნები, პარკოსნები, კარტოფილი და ა.შ. თვლიან, რომ გენეტიკურ ინჟინერიას შეუძლია მიზანმიმართულად გაზარდოს მცენარეული ცილების რაოდენობა და რაც მთავარია, გააუმჯობესოს მისი ხარისხობრივი მაჩვენებლები. ამ ამოცანის გადასაწყვეტად სამი მიდგომა არსებობს: 1) ამინომჟავური შედგენილობის მიხედვით სრულფასოვანი ახალი ცილების გენების შეყვანა უჯრედში, 2) უჯრედში არსებული ცილების პროდუქციის გაზრდა გენების დამატებითი ასლების შეყვანის გზით, 3) სამარაგო ცილების სტრუქტურული გენების შეცვლა მათში დეფიციტური ამინომჟავების ახალი კოდონების ჩართვის გზით (ე.ი. ცილების ამინომჟავური შედგენილობის გაუმჯობესება). ლობიოს, სიმინდის, ხორბლის, ქერის, ბარდის და სხვა კულტურების თესლების სამარაგო ცილების მაკოდირებელი გენები კლონირებული და კარგად შესწავლილი იქნა მსოფლიოს რიგ სამეცნიერო დაწესებულებებში. მსოფლიოს მრავალ სამეცნიერო-კვლევით ცენტრში აგრობაქტერიის პლაზმიდის საფუძველზე შექმნილი ვექტორების საშუალებით სოიოს, ლობიოს, ბარდის, სიმინდის სამარაგო ცილების გენები გადატანილ იქნა თამბაქოსა და პეტუნიას მოდელურ მცენარეებში. რიგ შემთხვევებში მიღწეულ იქნა გენების მუშაობა. ავსტრალიაში სელექციონერების წინაშე დაყენებული იქნა იონჯაში და სამყურაში გოგირდის მაღალი შემცველობის მქონე ცილის შეყვანის ამოცანა. ასეთი მცენარეებით ცხოვრების გამოკვება დამატებითი დანახარჯების გარეშე მათში მატყლის პროდუქტიულობის გაზრდის საშუალებას იძლევა. სპეციალისტებმა წარმატებით განახორციელეს ასეთი ცილის (ალბუმინი-1) გენების ბარდიდან თამბაქოში, ხოლო შემდეგ იონჯაში გადატანის ექსპერიმენტები. ტრანსგენურმა იონჯამ უკვე გაიარა სავსე გამოცდა. გოგირდშემცველი ამინომჟავების (მეთიონინი, ცისტეინი) მაღალი შემცველობის მქონე ცილის დონორად შეიძლება გამოყენებულ იქნას ბრაზილიური თხილი. ამ ცილის გენი კლონირებულ იქნა საფუარის უჯრედებში, ხოლო შემდეგ გადატანილი პომიდორისა და თამბაქოს მცენარეებში. დაგეგმილია ამ გენის გადატანა გოგირდშემცველი ამინომჟავების დეფიციტის მქონე სოიოში და სხვა პარკოსან კულტურაში. მეკარტოფილეობის საერთაშორისო ცენტრში (პერუ) ახდენენ შეუცვლელი ამინომჟავებით მდიდარი სინთეტიკური ცილების მაკოდირებელი გენების კონსტრუირებას და შემდეგ ისინი შეჰყავთ კარტოფილის მცენარეში ტუბურების კვებითი ღირებულების ასამაღლებლად. ვისკონსინის უნივერსიტეტში (აშშ) პლაზმიდური ვექტორების გამოყენებით განხორციელებულ იქნა ლობიოს სამარაგო ცილა-ფაზეოლინის გენის გადატანა მზესუმზირაში. ტრანსგენურ მცენარეში, რომელსაც უწოდეს “სანბინი” (Sanbeen), მუშაობდა ლო-

ბიოს ცილა. მეცნიერებმა შეძლეს აგრეთვე სიმინდის სამარაგო ცილა – ზეინის გადატანა მზესუმზირას მცენარეში.

ფიზიოლოგიური სტრუქტურისა და ბაქტერიის გარემოს ექსტრემალური ზემოქმედებისადმი გამძლეობის მიხედვით მცენარეთა სელექციურ გაუმჯობესებას არა ნაკლები მნიშვნელობა აქვს, ვიდრე მათ გაუმჯობესებას მოსავლიანობის მიხედვით. ხშირად მაღალი ტოლერანტობის ნიშნები გააჩნიათ კულტურული მცენარეებისაგან სისტემატიკურად დაშორებულ და მათთან შეუჯვარებულ ორგანიზმებს. ასეთ შემთხვევაში შესაბამისი გენების გადატანა შეიძლება განხორციელდეს გენეტიკური ინჟინერიის გზით. ფიზიოლოგიური სტრესებისადმი (გვალვა, მაღალი ტემპერატურა, ნიადაგის დამლაშება) ბიოქიმიური ადაპტაცია ძირითადად კონტროლდება სპეციფიკური ფერმენტების მაკოდირებელი რამოდენიმე გენით. დამუშავებულია ტენის უკმარისობისადმი, მაღალი ტემპერატურისა და ნიადაგის დამლაშებისადმი მცენარეთა გამძლეობაზე პასუხისმგებელი osm-გენების სახეობათაშორის გადატანის მეთოდები. კალიფორნიის უნივერსიტეტში (აშშ) მცენარეებსა და მიკროორგანიზმებში იდენტიფიცირებულია გენები, რომლებიც იცავენ მათ გამოშრობისაგან ტენის მკვეთრი უკმარისობის ან ნიადაგის დამლაშების დროს. ეს გენები ხელს უწყობენ უჯრედებში ამინომჟავა პროლინის დაგროვებას, რომელიც დამლაშებისადმი გამძლე ორგანიზმებში ოსმორეგულატორს წარმოადგენს. უკვე განხორციელებულია ასეთი გენის გამოყოფის და მისი ნაწლავის ჩხირის ბაქტერიიდან ბაქტერია *klebsiella*-ში გადატანის მოდელური ექსპერიმენტები. მიჩიგანის უნივერსიტეტის (აშშ) ბიოლოგები აწარმოებენ მეტაბოლიტური რეაქციების რიგი ანტისტრესული პროდუქტების (ლაქტატდეჰიდროგენაზები და ბეტაინი) მაკონტროლებელი გენების გადატანის სამუშაოებს. გარემოს არახელსაყრელ ფაქტორებს მიუკუთვნება აგრეთვე მძიმე მეტალების იონების, მაგალითად, კადმიუმის იონების მაღალი შემცველობა ნიადაგში. მცენარეთა გამოკვლევის ცენტრში (კანადა) კადმიუმისადმი ტოლერანტობის გენი, ჩინური ზაზუნას გენომიდან ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის საფუძველზე შექმნილი ვექტორის საშუალებით გადატანილ იქნა ველის მღოვრის მცენარის გენომში. შედეგად ტრანსფორმირებულ მცენარეში 4-ჯერ გაიზარდა კადმიუმისადმი გამძლეობა. მცენარეთა სელექციის უელსის სადგურში (დიდი ბრიტანეთი) ამუშავებენ სასოფლო-სამეურნეო კულტურებში გენეტიკური ინჟინერიის გზით სიცხვეამძლეობის პრობლემის გადაწყვეტის საკითხებს. მეცნიერები სიცხვეამძლე მცენარეებიდან ახდენენ შესაბამისი გენის იზოლირებას და მის გადატანას უფრო სითბოსმოყვარულ მცენარეებში. სწავლობენ აგრეთვე სიცხვეამძლეობის ნიშნის დონორად ვარგის მიკროორგანიზმებსაც, მაგალითად თოვლის ობის გამომწვევებს, რომლებიც ნორმალურად ვითარდებიან -5°-დან +5°C-მდე ტემპერატურის პირობებში. არის ცნობე-

ბი, რომ უკვე შექმნილია ტექნოლოგია, რომელიც ბრიტანელ ფერმერებს მისცემს ჩვეულებრივ სამხრეთის ზონებში გავრცელებული კულტურების, მაგ. სოიოს, უფრო ცივ რაიონებში მოყვანის საშუალებას. ამ ტექნოლოგიის გამოყენება შესაძლებელს გახდის ტროპიკული კულტურების მოყვანას ზომიერი სარტყელის ღია გრუნტში.*

* მცენარეთა სელექციაში გამოყენებული გენეტიკური ინჟინერიის სხვა მიმართულებები დეტალურად განხილულია თავებში 1.6, 1.8, 1.9.

1.6. ბიოტექნოლოგია მცენარეთა ღაცვაში

სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მოსავლის ყოველწლიური მსოფლიო დანაკარგები სხვადასხვა მავნებლების, დაავადებებისა და სარეველებისაგან დაახლოებით 30%-ს შეადგენს. მაგალითად, XX საუკუნის ბოლოსათვის მოსავლის დანაკარგები მხოლოდ სხვადასხვა დაავადებისაგან შეადგენდა 600 მილიონამდე ტონას ანუ 60 მილიარდამდე დოლარს ფულად გამოხატულებაში. მცენარეთა ღაცვის სპეციალისტების ძალისხმევა ჯერჯერობით არ იძლევა სასურველ შედეგს. მიუხედავად მცენარეთა ღაცვის ქიმიური საშუალებების მასობრივი გამოყენებისა, უკანასკნელ ათწლეულებში მოსავლის დანაკარგები არ მცირდება, პირიქით, მაგალითად, აშშ-ში მავნებლებით გამოწვეული დანაკარგები XX საუკუნის 50-იანი წლებიდან 90-იან წლებამდე გაიზარდა 7.1%-დან 12.0%-მდე, სარეველებით – 8.0%-დან 13.0%-მდე. გაიზარდა მოსავლის საერთო დანაკარგებიც – 31.4%-დან 37.0%-მდე და ეს მიუხედავად აღნიშნულ პერიოდში ქვეყანაში პესტიციდების გამოყენების 10-ჯერადი გაზრდისა. დაახლოებით იგივე მოხდა სხვა ქვეყნებშიც, ე.ი. **ტოტალურმა ქიმიურმა ომმა უფრო მეტი ზიანი მოუტანა ადამიანებს, ვიდრე მაგალითად მწერებს.**

გარდა ამისა, დაავადებების, მავნებლებისა და სარეველების წინააღმდეგ გამოყენებული ქიმიური პრეპარატები-პესტიციდები ხასიათდებიან რიგი უარყოფითი თვისებებით: 1) **გააჩნიათ არასაკემარისი (მცირე) გამორჩევითობის უნარი.** ისინი, როგორც წესი, მოქმედებენ არამიზანმიმართულად, სკობენ არა მარტო მავნე, არამედ სასარგებლო ორგანიზმებსაც, მათ შორის ისეთებსაც, რომლებიც წარმოადგენენ მავნებლებისა და დაავადებების გამომწვევების ბუნებრივ მტრებს; 2) **წარმოადგენენ ტოქსიურს ადამიანისა და ცხოველებისათვის.** ჯანმრთელობის ღაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის მონაცემებით მსოფლიოში პესტიციდებით მოწამვლის შედეგად ყოველწლიურად დაახლოებით 500 ათასი ადამიანი ავადდება, 5 ათასზე მეტი მათ შორის იღუპება; 3) **დიდხანს არ იშლება ბუნებაში.** მრავალი ქიმიური პესტიციდი დიდ ხნის განმავლობაში რჩება გარემოში და იწვევს მის არსებით გაბინძურებას.

აქედან გამომდინარე, აუცილებელია მცენარეთა დაცვის მეტად აქტუალური პრობლემის გადაწყვეტისადმი პრინციპულად ახლებური მიდგომების ძიება. პრობლემის გადაწყვეტის თავის გზას გეთავაზობს მცენარეთა ბიოტექნოლოგია, რომელიც გულისხმობს: 1) ბიოლოგიური პრეპარატების (მიკრობული პესტიციდების) წარმოებას ხელოვნურ პირობებში კულტივირებადი მიკროორგანიზმებისა და მათი ცხოველმყოფელობის პროდუქტების საფუძველზე, 2) გენეტიკური და უჯრედული ინჟინერიის მეთოდებით დაავადებების, მავნებლებისა და პერბიციდებისადმი გამძლე მცენარეების მიღებას.

1.6.1. ბიოპრეპარატების (მიკრობული პესტიციდების) წარმოება ხელოვნურ (in vitro) პირობებში კულტივირებადი მიკროორგანიზმებისა და მათი ცხოველმყოფელობის პროდუქტების საფუძველზე

მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ამოცანას მცენარეთა დაცვის ბიოპრეპარატების წარმოება წარმოადგენს. ბიოპრეპარატების შექმნას საფუძვლად უდევს ჰიპერპარაზიტიზმის პრინციპი, რაც გარკვეული დაავადების გამომწვევი ან მავნებელი პარაზიტის მიმართ მისი ბუნებრივი მტერი-პარაზიტის ანუ ჰიპერპარაზიტის გამოყენებაში მდგომარეობს. მცენარეთა დაცვის ბიოლოგიური მეთოდი, რომლის მიზანიცაა ხელოვნურ (in vitro) პირობებში კულტივირებადი მიკროორგანიზმებისა და მათი ცხოველმყოფელობის პროდუქტების საფუძველზე ბიოპრეპარატების (ანუ მიკრობული პესტიციდების) მიღება, მოკლებულია მცენარეთა დაცვის ქიმიური მეთოდის ზემოთ ჩამოთვლილ ნაკლოვანებებს. ბიოლოგიური პრეპარატები უფრო სპეციფიკურია, ე.ი. გააჩნიათ მხოლოდ გარკვეული სახეობის მავნებლებისა და დაავადებების გამომწვევების დაზიანების უნარი, ისინი უვნებელია ადამიანის, თბილსისხლიანი ცხოველებისა და კულტურული მცენარეებისათვის, ადვილად იშლებიან ბუნებრივ პირობებში. მცენარეთა დაცვის ბიოლოგიური მეთოდის ქვეშ იგულისხმება ცოცხალი ორგანიზმებისა (ბაქტერიები, აქტინომიცეტები, სოკოები, მავნებლები, დაავადებების გამომწვევები, მტაცებლები, პარაზიტები) და მათი ცხოველმყოფელობის პროდუქტების გამოყენება. მცენარეთა მავნებლებისა და დაავადებებისადმი ბრძოლის ბიოლოგიური მეთოდის იდეა პირველად წამოყენებულ იქნა ჯერ კიდევ XIX საუკუნის ბოლოს, მაგრამ ვერ ჰპოვა შემდგომი განვითარება, რადგანაც იმ დროისათვის უფრო პერსპექტიული ჩანდა ქიმიური მეთოდი.

ბიოლოგიური მეთოდისადმი ინტერესი არსებითად გაიზარდა მას შემდეგ, რაც მკვეთრად გაფართოვდა მისი შესაძლებლობები ბიოტექნოლოგიის, კერძოდ ცოცხალი ორგანიზმების in vitro პირობებში კულტივირების მეთოდების მიღწევებთან დაკავშირებით.

მცენარეთა ბიოტექნოლოგია მავნებლების, დაავადებების გამომწვევებისა და სარეველების საწინააღმდეგო ვირუსების, ბაქტერიების, სოკოების, უმარტივესებისა და მწერების, აგრეთვე ცოცხალი ორგანიზმების ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების (ანტიბიოტიკები, ჰორმონები, ფერმენტები და სხვა) წარმოების ტექნოლოგიური პროცესების შემუშავებას ახდენს.

1.6.1.1. მავნებლებთან ბრძოლის ბიოპრეპარატები

მავნებლებთან ბრძოლის ბიოლოგიური მეთოდი 130 წელზე მეტი ხნისაა. მისი ფუძემდებელია გამოჩენილი ფრანგი მიკრობიოლოგი **ლუი პასტერი**. 1874 წელს მან წამოაყენა ვახის ფილოქსერას გამომწვევი მავნებლის წინააღმდეგ ენტომოპათოგენური ბაქტერიების გამოყენების წინადადება.

მავნებლების წინააღმდეგ ყველაზე ხშირად იყენებენ **ვირუსებს, ბაქტერიებს, სოკოებს, მწერებს და მათი ცხოველმყოფელობის პროდუქტებს**.

ვირუსოვანი დაავადებები ძალიან გავრცელებულია მწერებში. აღწერილია 1200-ზე მეტი ვირუსოვანი დაავადება. ამიტომ ვირუსული პესტიციდები (ინსექტიციდები) წარმოადგენენ მანე მწერებისაგან სასოფლო-სამეურნეო კულტურების დაცვის ეფექტურ საშუალებას. მწერების ბუნებრივი ვირუსების პრეპარატები ვირუსული პესტიციდების ფორმით შეზღუდული რაოდენობით მზადდება ეკონომიკურად განვითარებული ქვეყნების (აშშ, დიდი ბრიტანეთი, კანადა, შვეიცარია და სხვა) მრეწველობის მიერ. დღეისათვის დამუშავებულია 20-ზე მეტი ვირუსული პესტიციდი (ვირინ-ენშ, ვირინ-აბბ, ვირინ-ეკს, ვირინ-გიაპ, ვირინ-ხს, ელკარი და სხვა).

ვირუსული პესტიციდების პრაქტიკაში ფართო დანერგვის ძირითად ხელშემშლელ ფაქტორს მათი წარმოების სირთულე წარმოადგენს. საქმე იმაშია, რომ ვირუსები, როგორც ობლიგატური პარაზიტები, მრავლდებიან მხოლოდ ცოცხალ უჯრედებში.

ვირუსების გამრავლების ორი ხერხი არსებობს: 1) ვირუსების გამრავლება შესაბამის მავნებელ მწერებში, შემდეგ მათი გამოყოფა დაღუპული მატლების მასიდან, 2) ვირუსების გამრავლება მწერების უჯრედულ კულტურაში. პირველი ხერხის დროს სირთულე მდგომარეობს იმაში, რომ ვირუსების გამრავლებისათვის აუცილებელი მწერები სრულებით არ არიან სტერილური. ისინი დასახლებულია მრავალნაირი მიკროფლორით, მათ შორის სხვადასხვა ვირუსით. ამის გამო აუცილებელია მკაცრი და მუდმივი კონტროლი პრეპარატის ხარისხზე, რადგანაც უცხო მიკროფლორის არსებობა მწერებში იწვევს პრეპარატის ხარისხის დაქვეითებას. გარდა ამისა, გამრავლების პროცესში ადგილი აქვს ვირუსებით დიდი რაოდენობის მწერების დასენიანებას, რაც გავლენას ახდენს პრეპარატის ღირებულებაზე.

ვირუსების გამრავლების მეორე ხერხი, მიუხედავად არსებითი უპირატესობისა (უჯრედები თავისუფალია უცხო მიკროფლორისაგან, ისინი ერთგვაროვანია და მრავლდებიან სტაბილურად), ჯერ კიდევ არ არის სრულყოფილი და ამიტომ ნაკლებ გავრცელებულია. ამ შემთხვევაში უჯრედული კულტურების მისაღებად იყენებენ ემბრიონების, ჰომოციტების, საკვერცხეების, ცხიმოვანი სხეულების, მაცერირებული მატლების, ჭუპრებისა და იმაგოების პირველად კულტურებს.*

* კულტივირებადი უჯრედების მიღების საუკეთესო წყაროს წარმოადგენენ მატლები და ჭუპრები.

მწერების უჯრედების პირველადი კულტურების მიღების მეთო-
დიკა მოიცავს შემდეგ ეტაპებს: მწერების ზედაპირის სტერილიზაცია,
უჯრედების დისოციაცია, უჯრედების გადატანა საკვებ არეზე. მწერ-
ების უჯრედების კულტივირებისათვის დამუშავებულია სპეციალური
მოწყობილობები. დღეისათვის მიღებულია არაფარდი აბრეშუმხვევიას,
კომბოსტოს ხოჭოს, პამპისა და თამბაქოს ხვატარის და სხვა სტაბი-
ლური უჯრედული ხაზები.

ბუნებრივი ვირუსების საფუძველზე შექმნილი პრეპარატების
გარდა გენეტიკური ინჟინერიის საშუალებით იქმნება (ჯერჯერობით
მხოლოდ ექსპერიმენტული მიზნებისათვის) პრეპარატები ხელოვნური
ვირუსების საფუძველზე. მცენარეთა დაცვის თანამედროვე ტენდენცი-
ების შეფასებით, შეიძლება ითქვას, რომ ვირუსული პესტიციდების
გამოყენება მომავალში მუდმივად გაფართოვდება. მომავალი ვირუ-
სულ ბიოპრეპარატებს ეკუთვნის.

ვირუსებთან ერთად მანებლების წინააღმდეგ იყენებენ **ბაქტე-
რიებს**. აღწერილია მწერების მაინფიცირებელი ბაქტერიების 90-ზე მე-
ტი სახეობა. ყველაზე დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს ბაქტე-
რია *Bacillus thuringiensis* (Bt). იგი წარმოადგენს ბაქტერიული პესტი-
ციდების მრეწველობის ძირითად საფუძველს. *B. thuringiensis*-ის პრეპა-
რატები შეადგენენ ყველა წარმოებული მიკრობიოლოგიური პესტიცი-
დების 90%-ზე მეტს. მათ ძირითადად იყენებენ მუხლუხების, კოლო-
ბის, ხვატარის, აბრეშუმხვევიას, ჩრჩილების, მზომელების და სხვათა
წინააღმდეგ.

პირველად ბაქტერია *B. thuringiensis* გამოყოფილ იქნა საფრან-
გეთში 1938 წელს. მისი უჯრედების ინსექტიციდურ კომპონენტებს
წარმოადგენენ სპორები, ცილოვანი ენდოტოქსინის კრისტალები და
თერმოლაბილური ეკზოტოქსინი. ერთ-ერთი მათგანის მოხვედრა მწე-
რის ორგანიზმში იწვევს ნაწლავების დამბლას და სიკვდილი დგება
2-5 დღის შემდეგ.

მზა პრეპარატები შეიცავენ ან სამივე კომპონენტის ნარევს, ან
სპორების და ენდოტოქსინის კრისტალების ნარევს, ან მხოლოდ ეკ-
ზოტოქსინს. დამახასიათებელ თავისებურებას წარმოადგენს ის, რომ
პრეპარატის ეს კომპონენტები უვნებელია ადამიანისათვის, თბილსის-
ხლიანი ცხოველებისა და მცენარეებისათვის (მათი აქტივაცია იწყება
მხოლოდ მწერის ნაწლავში მოხვედრის შემდეგ). ამიტომ მათი შეს-
ხურება მცენარეზე შეიძლება მოსავლის აღებამდე ერთი დღით ად-
რეც კი.* მწერები იღუპებიან ძალიან სუსტი კონცენტრაციის – $1:10^6$
ხსნარებით დამუშავებისას.

ყველაზე უფრო განვითარებული ქვეყნების მრეწველობა აწარ-

* უარყოფით მხარეს წარმოადგენს პრეპარატის აქტიურობის შედარებით მოკლე პერი-
ოდი, რაც მოითხოვს განმეორებით დამუშავებას.

მოებს *B. thuringiensis* –ის შემდეგ პრეპარატებს: ბიოტროლი, ტურიციდი, აგრიტოლი, ბაქტინი. დიპელი, ბიობიტი, ბაქტოსპეინი, დენდრობაცილინი, ენტობაქტრინი, ინსექტინი, გომელინი და სხვა. ეს პრეპარატები გამოყენებულია ისეთი კულტურების დასაცავად როგორცაა კომბოსტო, ბამბა, პარკოსნები, კარტოფილი, სიმინდი, ხეხილოვნები და სხვა.

B. thuringiensis ბიოპრეპარატების წარმოების ბიოტექნოლოგიური პროცესი მოიცავს შემდეგ ძირითად ეტაპებს: 1) საწყისი ბაქტერიული შტამების გამოჩევა, 2) მიკროორგანიზმების კულტივირება (ფერმენტაცია) ხელოვნურ პირობებში, 3) საბოლოო პროდუქტის გამოყოფა, 4) პროდუქტის პრეპარატული ფორმის დამზადება. ყველაზე მნიშვნელოვან მომენტს აღნიშნულ პროცესში ძლიერი პათოგენური შტამების გამოჩევა წარმოადგენს. აშშ-ში ამ მიზნით დამუშავებულია *B. thuringiensis* აქტიურობის სპექტრის შესწავლის სპეციალური პროგრამა. *B. thuringiensis* საწყისი შტამების მიღების ძირითად ხერხს წარმოადგენს ბაქტერიების გამოყოფა ბუნებრივ პირობებში ბაქტერიოზებისაგან დაღუპული მწერებიდან. შტამების პათოგენურობა განისაზღვრება როგორც მათი გეოგრაფიული წარმოშობით, ისე მწერი-პატრონის მიხედვით. საწყისი შტამების აქტიურობის ამაღლება ხდება სელექციისა და გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით, აგრეთვე კულტივირების პირობების ოპტიმიზაციით. *B. thuringiensis*-ის ინსექტიციდული კომპონენტები წარმოიქმნება ბაქტერიების როგორც ზედაპირული, ისე სიდრმული კულტივირების გზით. ძირითადად იყენებენ სიდრმულ კულტივირებას. საკვები არეების დამუშავებისას აუცილებელია საკვები არის ოპტიმალური შედგენილობის შერჩევა. ბაქტერიების ზრდის, სპორების წარმოქმნისა და ტოქსინების სინთეზისათვის ნედლეულის სახით იყენებენ საკვებად უვარგისი ნივთიერებების სხვადასხვა სახეებს. კულტივირების შემდეგ საბოლოო პროდუქტს (ბიომასას) გამოჰყოფენ ცენტროფუგირებით, აშრობენ და აქუცმაცებენ. პესტიციდების პრეპარატული ფორმა სხვადასხვანაირია. ჩვეულებრივ ამზადებენ ფხვნილების სახით. ზოგიერთი მავნებლის მიმართ იყენებენ გრანულირებულ ან ინკაფსულირებულ ფორმებს.

ეფექტურობის ამაღლებისათვის პრეპარატების შედგენილობაში შეჰყავთ სხვადასხვა დანამატები – მიმწებებლები, ანტიამოროტქლები, დამსველებლები, გამფრქვევები, სატყუარები და სხვა.

B. thuringiensis-ის გარდა მავნებლების წინააღმდეგ იყენებენ აგრეთვე ზოგიერთ სხვა ბაქტერიასაც (*Bacillus popilliae*, *Bacillus sphearicus*). ასე, მაგალითად, *B. popilliae*-ს საფუძველზე შექმნილი პრეპარატები წარმოადგენენ მეტად საშიში, 300-ზე მეტი სახეობის მცენარის მავნებლის – იაპონურ ხოჭოსთან ბრძოლის ეფექტურ საშუალებას. ბაქტერია იწვევს მავნებლის ე.წ. რძის დაავადებას. პრაქტიკული მიზნისათვის ბაქტერიის კულტივირება შესაძლებელია მხოლოდ *in vivo* –

იაპონური ხოჭოს მატლები ორგანიზმში და ეს ზღუდავს მის პრაქტიკულ გამოყენებას. მიუხედავად ამისა, აშშ-ში შედარებით მცირე მასშტაბებში მოგვარებულია შესაბამისი ბიოპრეპარატების სამრეწველო წარმოება. მომავალში ამ ბაქტერიების ბიოლოგიური თავისებურებების დეტალური შესწავლა მათი ხელოვნურ საკვებ არეებზე წარმატებით კულტივირებისა და დიდი რაოდენობის პრეპარატების დამზადების საშუალებას იძლევა. ისინი შეიძლება გამოყენებულ იქნას მავნე ხოჭოებისა და სხვა მწერების წინააღმდეგ, რომელთა მიმართ ამჟამად გამოყენებული საშუალებები ნაკლებ ეფექტურია.

ბაქტერიული პრეპარატების წარმოებისათვის იყენებენ არა მარტო ბუნებრივ ენტომოპათოგენურ ბაქტერიებს, არამედ გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით შექმნილ მიკროორგანიზმებსაც. მსოფლიოს ბევრ ბიოტექნოლოგიურ ლაბორატორიაში მიმდინარეობს ინტენსიური კვლევითი მუშაობა *B. thuringiensis*-ის ტოქსიკური გენების (ძირითადად ლოკალიზებულია ბაქტერიის პლაზმიდაში) სხვა სახეობის მიკროორგანიზმებში (*E. coli*, *B. megatherium*, *B. subtilis*, *P. fluorescens* და სხვა) გადატანაზე და *B. thuringiensis*-ის ტოქსინებით დაზიანებული მწერების სპექტრის გაფართოებაზე. მაგალითად, ამერიკულ კომპანია “Monsanto”-ში დამუშავებულია *B. thuringiensis*-ის ტოქსინის სინთეზის მაკონტროლებელი გენის კლონირებისა და მისი უვნებელი, არასპოროვანი, ნიადაგში, წყალში, მცენარეებში და ცხოველებში ფართოდ გავრცელებული ბაქტერია *Pseudomonas fluorescens*-ში გადატანის მეთოდი. ამერიკული ფირმა Grop Genetics International-ის სპეციალისტებმა გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდის გამოყენებით შექმნეს ენდოფიტი ბაქტერია *Calvibacter xyli cynodontis*-ს შტამი, რომელშიც შეყვანილია *B. thuringiensis*-ის ტოქსინის მაკოდირებელი გენი. ამ რეკომბინანტული ბაქტერიის საშუალებით ღებულობენ სიმინდის ფარვანას საწინააღმდეგო “ვაქცინად” წოდებულ პრეპარატ In Cide-ს. პრეპარატით ამუშავებენ სიმინდის თესლებს, სადაც რეკომბინანტული მიკროორგანიზმი მრავლდება მცენარის გამტარ სისტემაში და იქ ასინთეზებს ტოქსინს. მინდვრის პირობებში გამოცდამ აჩვენა, რომ პრეპარატი არ წარმოადგენს გარემოსათვის ტოქსიკურს, რადგანაც რეკომბინანტულ ბაქტერიას არსებობა შეუძლია მხოლოდ ცოცხალ მცენარეში. იგი იღუპება ნიადაგში ან წყალში მოხვედრისას, აგრეთვე ნიადაგიდან ამოღებისას. შტამი ჩვეულებრივი გზით არ გადაეცემა მცენარიდან მცენარეს და შემდგომ თაობას, თავის ნიშან-თვისებებს მცენარეში კარგავს ზამთრის პერიოდში.

ბიოპესტიციდებად შეიძლება გამოყენებულ იქნას აგრეთვე ენტომოპათოგენური **სოკოებიც**. დღეისათვის აღწერილი 500-ზე მეტი სახეობის ენტომოპათოგენური სოკოებიდან მხოლოდ რამოდენიმე მთიპოვა პრაქტიკული გამოყენება, მათ შორის *Beauveria*, *Metharisium*, *Enthomophthor*, *Verticillium* და სხვა გვარეობის წარმომადგენლებმა.

სოკოები ჩვეულებრივ თავიანთ პატრონებს აზიანებენ პირდაპირი **ინვაზიის*** გზით და მაშასადამე, ბაქტერიებისა და ვირუსებისაგან განსხვავებით გააჩნიათ უნარი ზიანი მიაყენონ მწერებსა და სხვა მავნებლებს ისე, რომ არ იყვნენ შეჭმული. ისინი ვრცელდებიან პოპულაციებში **ეპიზოტის**** გამოწვევით და არა მარტო სპობენ იმ ინდივიდებს, რომლებზეც სახლობენ, არამედ აკონტროლებენ პატრონის მთელ პოპულაციას დიდი ხნის განმავლობაში. ზოგიერთ შემთხვევაში ადრეულ სტადიაზე საკმაო რაოდენობის სოკოს სპორების დროულ გამოყენებას შეუძლია მავნებლის რიცხოვნობის ეფექტური კონტროლი სასოფლო-სამეურნეო კულტურების ზრდის პერიოდში. სამწუხაროდ, სოკოების ეფექტურობა ძალიან დამოკიდებულია ტენიანობაზე და ტემპერატურაზე. თუ ტენიანობა ან ტემპერატურა ძლიერ განსხვავებულია ოპტიმალურისაგან, მაშინ მავნებლების დაზიანება იქნება სუსტი და საექვოა დაიწყოს სასურველი ეპიზოტია.

სოკოვანი ინსექტიციდების მიღების ბიოტექნოლოგიური პროცესი, ისე როგორც ბაქტერიული, მოიცავს სოკოების გამოყოფას დაღუპული მწერი-მავნებლისაგან, მათი ინსექტიციდური აქტიურობის სპექტრის შესწავლას, მათი ცხოველმყოფელობის შენარჩუნებისა და ვირულენტობის ამადლების პირობების ძიებას, მასობრივ კულტივირებას ხელფონურ პირობებში და პრეპარატული ფორმებისა და გამოყენების ტექნოლოგიების დამუშავებას.

ყველაზე უფრო გავრცელებულ სოკოვან პესტიციდს წარმოადგენს სოკო *Beauveria bassiana*-ს საფუძველზე შექმნილი პრეპარატი **ბოვერინი**. პრეპარატს ღებულობენ ზედაპირული, სიღრმულ-ზედაპირული ან სიღრმული კულტივირების ხერხით. სუბსტრატად იყენებენ ავტოკლავირებულ სიმინდის მარცვლებს, ხორბლის ან ბრინჯის ქატოს. პესტიციდი წარმოადგენს სოკოს სპორების შემცველ რუხი ფერის ფხვნილს. შენახვის ხანგრძლივობა 2-3 თვეა. რეკომენდირებულია კოლორადოს ხოჭოს, მუხის ფოთოლმხევეისა და სხვა მავნებლების წინააღმდეგ. პრეპარატი **ენტროფტორინი** შექმნილია სოკო *Entomophthora traxteriana*-ს საფუძველზე. იგი წარმოქმნის ორი ტიპის სპორას: კონიდიუმს და მძინარე სპორას. უფრო პერსპექტიულს წარმოადგენს მძინარე სპორების საფუძველზე შექმნილი პრეპარატები. სოკო *E. traxteriana*-ს კულტივირება ხდება სიღრმული ხერხით ქერის ნარჩენების, ქატოს, ლუდის ტკბილის, მარილებისა და გლეუოზას წყაროების გამოწვევის შემცველ საკვებ არეებზე. პრეპარატი ეფექტურია ბუგრების წინააღმდეგ, განსაკუთრებით სასათბურე მეურნეობებში. დახუ-

* **ინვაზია** [ლათ.] – დასენიანება, დასნებოვნება.

** **ეპიზოტია** – მოვლენა, როცა ადგილი აქვს პოპულაციაში დაავადების ფართო გავრცელებას (აფეთქებას) და შემდეგ მის შენელებას, პოპულაციის თითქმის ყველა სახეობის დაღუპვის გამო.

რულ გრუნტში ბოსტნეული კულტურების ძირითადი მავნებლების წინააღმდეგ წარმატებით იყენებენ სოკო *Verticillium lecanin*-ის ბაზაზე შექმნილ პრეპარატებს – **მიკოტელს და ვერტალეკს**. პრეპარატები შეიცავენ სოკოს სპორებს. შენახვის ვადა 6 თვემდეა.

სოკოების გენეტიკური ინჟინერიის პროგრესი ისე სწრაფად არ მიმდინარეობს, როგორც ბაქტერიების ან ვირუსების. მაგრამ უკანასკნელი გამოკვლევები ეჭვს არ იწვევს, რომ აქაც იქნება მიღწეული დადებითი შედეგები.

მავნებლებთან ბრძოლაში სერიოზულ ყურადღებას იმსახურებს მიკრობული სინთეზის პროცესში მიღებული **მიკროორგანიზმების ცხოველყოფილობის პროდუქტების პრეპარატები**. მათ შორის ყველაზე უფრო ცნობილია *B. thuringiensis*-ის ეკზოტოქსანი. იგი გამოიყოფა კულტურალურ სითხეში ბაქტერია *B. thuringiensis*-ის უჯრედების სიღრმეული კულტივირების დროს. ეკზოტოქსინს გააჩნია აქტიურობის ფართო სპექტრი და მოქმედებს პეპლების, ხოჭოების, ორფრთიანების, სწორფრთიანების და სხვა წარმომადგენლებზე. მის საფუძველზე უკვე შექმნილია პრეპარატები. აშშ-ში ერთ-ერთ ასეთ პრეპარატს იყენებენ კოლორადოს ხოჭოს წინააღმდეგ. ამ მიმართულებით გამოკვლევები საჭიროებს შემდგომ გაღრმავებას.

მავნებლებთან ბრძოლაში მნიშვნელოვანი ადგილი უკავია მწერების ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს – **ფერომონებს და ჰორმონებს**. ფერომონები* გამოიყოფა გარემოში და სპეციფიკურ გავლენას ახდენენ იმავე სახეობის სხვა ინდივიდების მეტაბოლიზმზე, ქცევაზე, ფიზიოლოგიურ და ემოციურ მდგომარეობაზე. მავნებლებთან ბრძოლაში მათი საშუალებით შესაძლებელია: 1) მწერების სახეობის გამოვლენა, 2) მწერების მასობრივი დაჭერა, 3) მწერების ორიენტაციის სისტემის დაზიანება სუნის მიხედვით და ამით სხვადასხვა სქესის ინდივიდების სივრცობრივი გაერთიანების ხელის შეშლა. ამჟამად მუშავდება ბიოტექნოლოგიური გზით მაღალეფექტური ფერომონების წარმოების პერსპექტიული ხერხები, რაც გულისხმობს მცენარის უჯრედების მიერ ფერომონების წინამორბედების სინთეზს და შემდეგ ბაქტერიების საშუალებით მათ გარდაქმნას მწერების ფერომონებად.

ჰორმონები (იუვენილური ჰორმონი, ბეწვის ცვენის ჰორმონი და სხვა) პროდუცირდება მწერის შინაგანი სეკრეციის ჯირკვლების მიერ და მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ორგანიზმის განვითარების ჰორმონალურ რეგულაციაში. მავნებლებთან ბრძოლაში მათი გამოყენება შეიძლება მწერების განვითარებისა და გამრავლების ნორმალური პროცესის მოსაშლელად. მეცნიერების მიერ ტარდება ექსპერიმენტული გამოკვლევები აღნიშნული ჰორმონების წარმოების ეფექტური ბიოტექნოლოგიური გზების დასადგენად.

* პროდუცირდებიან მწერების სპეციალიზებული ჯირკვლების მიერ.

1.6.12. ღაავადებებთან ბრძოლის ბიოპრეპარატები

დაავადებებთან ბრძოლის ბიოპრეპარატების მრავალფეროვნება არც ისე დიდია. ბიოტექნოლოგიის ამოცანას წარმოადგენს დახურული და ღია გრუნტის პირობებში დაავადებებისაგან მცენარეთა დაცვის ეფექტური ბიოპრეპარატების წარმოების პროცესების დამუშავება.

დაავადებებთან ბრძოლაში ერთ-ერთ ძირითად მიმართულებას ანტაგონისტი-მიკროორგანიზმების (ბაქტერიები, სოკოები, ვირუსები და სხვა) გამოყენება წარმოადგენს. ანტაგონიზმის თვისება, ე.ი. ერთი მიკრობის სხვა მიკრობით დათრგუნვის უნარი, ძლიერ ვლინდება მიკროორგანიზმების მრავალ სახეობაში, განსაკუთრებით ნიადაგის მიკროორგანიზმებში.

უკანასკნელ წლებში მიკრობიოლოგების მიერ შესრულებულ იქნა დიდი მოცულობის სამუშაო ანტაგონისტების გამოსავლენად. შედეგად სოკოების, ბაქტერიების, ვირუსებისა და უმეტესი აქტინომიცეტების წარმომადგენლებს შორის გამოვლენილ იქნა კულტურული მცენარეების დაავადებების გამომწვევი პრაქტიკულად ყველა პათოგენური სოკოს, ბაქტერიის, აქტინომიცეტის და ვირუსის ანტაგონისტი.

სოკო-ანტაგონისტებიდან ყველაზე ფართო გავრცელება მოიპოვა გვარ ტრიქოდერმას (Trichoderma) წარმომადგენლებმა. სოკოების აღნიშნული გვარი ფართოდაა გავრცელებული ბუნებაში. იგი გვხვდება სხვადასხვა ტიპის ნიადაგებში, მაგრამ განსაკუთრებით კარგად მრავლდება ორგანული ნივთიერებებით მდიდარ ნიადაგებში. დიდ ბრიტანეთში, საფრანგეთში, შვეციაში, ავსტრალიაში და სხვა, ტრიქოდერმას იყენებენ ხეხილოვანი კულტურების სხვადასხვა დაავადებებთან ბრძოლაში. აშშ-ში იყენებენ არაქისის სკლეოტინიისა და ზოგიერთი სხვა დაავადებების წინააღმდეგ. საფრანგეთში დადებითი შედეგი იქნა მიღებული ვაზის რუს სიდამპლესთან ბრძოლაში. ისრაელში მიღებულ იქნა კარტოფილის რიზოქტონიოზისა და დაავადებების სხვა გამომწვევების წინააღმდეგ ბრძოლის პრეპარატი. რუსეთში მრავალმხრივი გამოცდის შემდეგ რეკომენდირებულ იქნა პრეპარატი ტრიქოდერმინი. იგი გამოყენებულია ბოსტნეული კულტურების ფესვის სიდამპლის, სელის ჭკნობის, ბამბის ვერტიცილიოზური და ფუზარიოზული ჭკნობის, კარტოფილის მშრალი სიდამპლის და სასოფლო-სამეურნეო კულტურების სხვა დაავადებების გამომწვევების ნიადაგში დათრგუნვისათვის.

პრეპარატ ტრიქოდერმინს ღებულობენ ხელოვნურ პირობებში სოკოს სიდრმული კულტივირების მეთოდით ან სხვადასხვა მცენარეულ ნარჩენებსა და სუბსტრატზე (პურზე, დაჭრილ ნამჯაზე, მარცვლეულის მეურნეობის ნარჩენებზე, ტორფზე და სხვა) სოკოს კულტივირების მეთოდით.

ბაქტერია-ანტაგონისტებიდან ხშირად გამოიყენება ნიადაგის

ბაქტერია-რადიობაქტერი (*Agrobacterium radiobacter*). მის საფუძველზე შექმნილია ბიოპრეპარატი აგროცინი-84, რომელსაც იყენებენ ორლებნიანი მცენარეების ფესვის კიბოს გამომწვევი ბაქტერია *Agrobacterium tumefaciensis*-ის წინააღმდეგ. თუ მცენარის ფესვებზე რადიობაქტერიის უჯრედები უფრო ადრე დასახლდება, ვიდრე კიბოს გამომწვევის უჯრედები, მაშინ ისინი გამოიმუშავენ განსაკუთრებულ ნივთიერებას (ბაქტერიოცინი), რომელიც კლავს ყველა სხვა აგრობაქტერიას. ამიტომ თუ დარგვის წინ ნერგების ფესვებს დავამუშავებთ პრეპარატ აგროცინ-84-ით, მაშინ ასეთი ნერგები 99%-ით გამძლე იქნება ფესვის კიბოსადმი. მაღალ ეფექტურობასთან ერთად პრეპარატი აბსოლუტურად უვნებელია ადამიანისა და ცხოველებისათვის. პრეპარატს ღებულობენ ბაქტერიის სიდრმული კულტივირების მეთოდით.

გენეტიკური ინჟინერია ახალ შესაძლებლობებს ქმნის მცენარეთა დაავადებების გამომწვევებზე დამღუპველად მოქმედი, მაღალი ეფექტურობის, ადამიანისა და სასარგებლო ცხოველებისათვის უვნებელი მიკროორგანიზმების ახალი ფორმების მიღების საქმეში. დაავადებების გამომწვევებისაგან მცენარეთა დაცვის საქმეში მნიშვნელოვანი ადგილი უკავია მიკროორგანიზმების ცხოველმყოფელობის პროდუქტებს – **ანტიბიოტიკებს**.*

ანტიბიოტიკებს, როგორც ფიტოპათოგენურ მიკროორგანიზმებთან ბრძოლის საშუალებას, ამ მიზნით გამოყენებულ სხვა ბიოპრეპარატთან შედარებით გააჩნიათ რიგი უპირატესობა. ისინი კარგად იხსნებიან წყალში, საკმაოდ მდგრადი არიან გარემოში, შედარებით ადვილად შედიან ორგანიზმში, ინტენსიურად გადაადგილდებიან და გაცილებით ნელა იშლებიან მცენარის ქსოვილებში ვიდრე ცხოველურ უჯრედებში, რაც ხელსაყრელ პირობებს ქმნის ფიტოპათოგენური მიკროფლორის დათრგუნვისათვის. მეცნიერთა გამოკვლევები ადასტურებს, რომ მცენარეთა ქსოვილებში ანტიბიოტიკების ბიოლოგიური აქტიურობა გაცილებით მაღალია, ვიდრე ცხოველთა ქსოვილებში და მათი საშუალებით შესაძლებელია ფიტოპათოგენური სოკოებისა და ბაქტერიების ფართო სპექტრის წარმატებით დათრგუნვა.

გარდა ამისა, დაავადებების წინააღმდეგ გამოყენებული ანტიბიოტიკები არატოქსიკურია მცენარეებისა და ამ მცენარეებით მიკვებავი ცხოველებისათვის. ზოგიერთ შემთხვევაში ისინი ასტიმულირებენ მცენარის ზრდასა და განვითარებას, ნიადაგებში ან წყალსაცავებში მოხვედრისას ანტიბიოტიკები საკმაოდ სწრაფად იშლებიან. ამით ისინი არსებითად განსხვავდებიან სინთეტიკური პრეპარატებისაგან. ანტიბიოტიკების სწრაფი დეგრადაცია ბუნებრივ გარემოში აიხსნება მათი სინთეზის პროცესში ფერმენტთა სისტემის მონაწილეობით. ფერ-

* მკაცრი მიდგომით ანტიბიოტიკების გამოყენება არ მიეკუთვნება ბიოლოგიურ მეთოდს. ამ შემთხვევაში გამოყენებულია არა ორგანიზმები, არამედ ნივთიერებები, რომლებიც მიღებულია ფერმენტაციის გზით და არა ხელოვნური სინთეზით.

მენტების საშუალებითვე ხდება ანტიბიოტიკების დაშლაც. სინთეტიკური პრეპარატები ბუნებრივ გარემოში ნელა იშლება მიკროორგანიზმებში შესაბამისი ფერმენტების უქონლობის გამო.

პირველად ანტიბიოტიკები, როგორც მცენარეთა დაავადებებთან ბრძოლის საშუალება, გამოყენებულ იქნა ბოსტნეული და ხეხილოვანი კულტურების ბაქტერიული დაავადებების წინააღმდეგ.

დაუშვებელია დაავადებათა გამომწვევებისაგან მცენარეთა დაცვის მიზნით სამედიცინო პრეპარატების გამოყენება, რადგანაც აღნიშნული პრეპარატებით მცენარეთა დამუშავებამ შეიძლება ხელი შეუწეოს მათდამი გამძლე, მაგრამ ადამიანისათვის დაავადების გამომწვევი მიკროორგანიზმების გამორჩევას.* ამიტომ უკანასკნელ წლებში გაძლიერდა კვლევითი მუშაობა მცენარეთა დაავადებების საწინააღმდეგო არასამედიცინო მიმართულების ანტიბიოტიკების მისაღებად.** ყველაზე ფართო და წარმატებული მუშაობა ამ მიმართულებით ტარდება იაპონიაში, სადაც უკანასკნელ წლებში შექმნილია 20-ზე მეტი დასახელების პრეპარატის (ბლასტიციდინი, კასუგამინი, პოლოოქსინი, ვალიდამიცილი, ცელოციდინი, ტეტრანაქტინი და სხვა) მსხვილტონაჟიანი წარმოება. იაპონური წარმოების ანტიბიოტიკებმა ფართო გამოყენება პპოვეს მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში – კანადაში, კოლანდიაში, პოლონეთში, რუმინეთში, ავსტრიაში, პაკისტანში და სხვა. მცენარეთა დაცვისათვის ანტიბიოტიკების მიღების სამუშაოები ტარდება სხვა ქვეყნებშიც – აშშ, ინდოეთი, ბელგია, რუსეთი და სხვა.

ჩვენს ქვეყანაში როგორც ღია, ისე დახურულ გრუნტში ყველაზე მეტად იყენებენ ანტიბიოტიკებს – ფიტობაქტერიომიცინი, ტრიქოტეცინი, ფიტოლავინი-100.

ფიტობაქტერიომიცინი წარმოადგენს სტრეპტომიცინის ტიპის ანტიბიოტიკს და გააჩნია ბაქტერიოციდული და ფუნგიციდური მოქმედების ფართო სპექტრი. მას ღებულობენ აქტინომიცეტ *Actinomyces lavendulae*-ს საშუალებით. ამზადებენ დუსტებისა და ფხვნილების სახით. რეკომენდირებულია სოიას ბაქტერიოზის, ლობიოს ბაქტერიოზის, კომბოსტოს, ხორბლისა და ქერის ფესვის სიდამპლის, ბამბის გომოზის, პარკოსნების ფუზარიოზული ჭკნობის, წიწაკას ვერტიცოლოზური ჭკნობის და სხვა დაავადებების წინააღმდეგ. პრეპარატის მოქმედება საკმაოდ ეფექტურია – მცენარეების დაზიანება მცირდება 60-80%-ით.

* ადამიანის დაავადების გამომწვევი მრავალი მიკროორგანიზმი სახლობს ნიადაგში ან მცენარის ზედაპირზე.

** ზოგიერთ ქვეყანაში ამჟამად ძალიან ხშირად იყენებენ სამედიცინო მიმართულების ანტიბიოტიკებს (სტრეპტომიცინი, ტეტრამიცინი, ტეტრაციკლინი და სხვა). ჩვენს ქვეყანაში სამედიცინო პრეპარატების ამ მიზნით გამოყენება აკრძალულია.

ტრიქოტეცინი წარმოადგენს კრისტალურ ნივთიერებას და გააჩნია ფუნქციონალური მოქმედების ფართო სპექტრი. სინთეზირდება სოკო *Trichotecium roseum*-ის მიერ. პრეპარატი ტრიქოტეცინი მზადდება ფხვნილის სახით. ის გამოიყენება დაავადების პირველი ნიშნების დროს მცენარეთა შესხურების, თესლების დასველებისა და შეფრქვევის გზით. ანტიბიოტიკი ეფექტურია კიტრის, თამბაქოს და ვაზის ნაცრის, ვაშლის ქეცის და სხვა დაავადებების წინააღმდეგ.

ფიტოლაგინი-100 წარმოადგენს მოქმედების ფართო სპექტრის ანტიბიოტიკს. აქტიურ საწყისს წარმოადგენს ფიტობაქტერიომიცინი. მზადდება მშრალი ფხვნილის სახით. რეკომენდირებულია ხორბლისა და ქერის ფესვის სიდამპლის პროფილაქტიკის მიზნით, თესლების თესვისწინა დამუშავებისათვის და აგრეთვე სოიას ბაქტერიოზის წინააღმდეგ.

პირველი ანტიბიოტიკების წარმატებული დანერგვა წარმოებაში, ბიოტექნოლოგიური მეთოდების გამოყენებით მცენარის ბაქტერიული, სოკოვანი და ვირუსული დაავადებების მიმართ აქტიური, ახალი არასამედიცინო პრეპარატების ინტენსიური წარმოების სურვილს ბადებს.

1.6.13. სარეველმებთან ბრძოლის ბიოპრეპარატები

ამჟამად სარეველა მცენარეებთან ბრძოლისათვის ფართოდ გამოიყენება ქიმიური მეთოდი. ეს გამოწვეულია მისი რენტაბელობით. მაგრამ ქიმიური პერბიციდების არსებით უარყოფით მხარეს მათი ადამიანისა და ცხოველების მიმართ მეტ-ნაკლებად გამოხატული ტოქსიკურობა და არასაკმარისი გამორჩევითობა წარმოადგენს. ამასთან დაკავშირებით მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყნის მეცნიერები ქიმიური მეთოდის სრულყოფასთან ერთად ინტენსიურად მუშაობენ ბრძოლის ბიოლოგიური მეთოდის როლის ამაღლებაზე, რაც მოიცავს ამ მიზნით ცოცხალი მიკროორგანიზმებისა და მათი ცხოველმყოფელობის პროდუქტების გამოყენებას. აქ ბიოტექნოლოგიური მეთოდების ფართო გამოყენების დიდი შესაძლებლობებია. გენეტიკური და უჯრედული ინჟინერიის საშუალებით შესაძლებელია სარეველა მცენარეების გამანადგურებელი მიკროორგანიზმების სწრაფი გამრავლება და კულტივირება და ამავე მიზნით ეფექტური ნივთიერებების მასობრივი წარმოება.

დღეისათვის ბიოტექნოლოგიური გზით მიკროორგანიზმებიდან (აქტინომიცეტებიდან) მიღებულია როგორც ეფექტურობის, ისე ეკოტოქსიკოლოგიის თვალსაზრისით პერსპექტიული პერბიციდული ბიოპრეპარატები. მიკრობული პერბიციდების წარმოების ერთ-ერთ უპირატესობას პერბიციდმასინთეზირებელი მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის აუცილებელი დანადგარის (ფერმენტორის) უნივერსალ-

ლობა წარმოადგენს. ჰერბიციდების ბიოტექნოლოგიური წარმოების მეორე არსებითი უპირატესობა ნარჩენებითა და გამონაყოფებით გარემოზე გაცილებით ნაკლები უარყოფითი მოქმედებაა. მესამე უპირატესობა მდგომარეობს იმაში, რომ მიკრობული წარმოშობის ჰერბიციდები გარემოსათვის არ წარმოადგენენ უცხო, რადგანაც ნიადაგში მცხოვრები აქტინომიცეტები მუდმივად გამოიმუშავებენ მათ და გამოყოფენ გარემოში. ამან კი ხელი შეუწყო ამ ნივთიერებების დეგრადაციაზე მიმართული სისტემების წარმოშობას ნიადაგში. ეს სისტემები მუშაობენ აგრეთვე ბიოტექნოლოგიური გზით მიღებული ჰერბიციდების გამოყენების დროსაც, რის შედეგადაც ნიადაგში არ გროვდება ტოქსიკური ნივთიერებები.

მიკრობული ჰერბიციდებიდან ყველაზე ფართო გავრცელება მოიპოვა პრეპარატმა **ბიალოფოსი**. მას ასინთეზებენ აქტინომიცეტები *Streptomyces hygroscopicus* და *S. virido-chromogenos*. პირველად აღნიშნული პრეპარატი მიღებულ იქნა იაპონიაში აქტინომიცეტების ფერმენტორში კულტივირების გზით. ჰერბიციდს გააჩნია მოქმედების ფართო სპექტრი. ხსნარის სახით მცენარეზე შესხურებისას ჰერბიციდი სწრაფად ინაცვლებს ნიადაგში, რის შემდეგაც მცენარე იღუპება. რეკომენდირებულ დოზას შეადგენს 1 კგ/ჰა-ზე. მეცნიერები მოქმედების მიხედვით მას თვლიან მეტად პერსპექტიულს.

ბიოჰერბიციდ **მეტაქსიფენონს** დებულობენ აქტინომიცეტების ზოგიერთი შტამიდან. ის ხასიათდება მაღალი აქტიურობით მრავალი ერთწლიანი სარეველას მიმართ. სარეველას ახალგაზრდა აღმონაცენები შეიწოვენ ჰერბიციდს, რის შედეგად წარმოიქმნება ქლოროზი, რაც იწვევს სარეველას დაღუპვას. პრეპარატი განკუთვნილია ბრინჯისა და სხვა კულტურების ნათესებში გამოსაყენებლად.

სარეველების წინააღმდეგ იყენებენ აგრეთვე ბიოპრეპარატებს – ციტობარიცინს, ნარამიცინს, პიოლუტერიონს, ფორმიცინ “ა”-ს, ფორმიცინ “ბ”-ს და სხვა.

დღეისათვის სარეველებისაგან მცენარეთა დაცვაში მიკრობული ჰერბიციდების პრაქტიკული გამოყენების მაჩვენებლები ჯერ კიდევ შეუდარებლად ჩამორჩება ქიმიური ჰერბიციდების გამოყენების მაჩვენებლებს. მაგრამ მიკრობული პრეპარატები პრინციპულად ახალ შესაძლებლობებს იძლევა გარემოს დაცვის საქმეში. სპეციალისტები თვლიან, რომ ახლო მომავალში ბიოტექნოლოგიურ საწარმოებში გამოიმუშავებული მიკრობული ჰერბიციდების მოცულობა მკვეთრად გაიზრდება. ამ საქმეში არსებითი წვლილი უნდა შეიტანოს გენეტიკურმა ინჟინერიამ.

მიკროორგანიზმების გარდა ბიოჰერბიციდების მიღების წყარო შეიძლება იყოს უმაღლესი მცენარეებიც. ზოგიერთი მათგანის უჯრედები კულტივირების პროცესში გამოყოფს მეტად ინტენსიური ჰერბიციდული მოქმედების მქონე ნივთიერებებს. მაგალითად, აგროპირონი,

რომელსაც საკვებ არეში გამოჰყოფს სარეველა მხოხავი ჟანგა. ამჟამად მეცნიერების მიერ ამ მიმართულებით ტარდება კვლევითი სამუშაოები.

1.6.2. გენეტიკური და უჯრედული ინჟინერიის მეთოდებით მავნებლების, დაავადებებისა და ჰერბიციდებისადმი გამძლე მცენარეების მიღება

მცენარეთა დაცვის პრობლემის გადაწყვეტის საქმეში მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის მეორე მნიშვნელოვან მიმართულებას მავნებლების, დაავადებებისა და ჰერბიციდებისადმი გამძლე (ტოლერანტული) მცენარეების მიღებაში (კონსტრუირებაში) მონაწილეობა წარმოადგენს. როგორც ცნობილია, ასეთი მცენარეების მიღებას აწარმოებს ტრადიციული სელექცია. ბიოტექნოლოგია აქ გვევლინება არა როგორც მისი შემცველი მეცნიერება, არამედ როგორც გამაუმჯობესებელი და შემაჯსებელი, რადგანაც იძლევა მცენარის გენეტიკური მასალის მიზანმიმართულად შეცვლის შესაძლებლობებს.

დღეისათვის ბიოტექნოლოგიის მეთოდების (გენეტიკური და უჯრედული ინჟინერია) გამოყენებით მოიზიდავს გარკვეული წარმატებები დაავადებების, მავნებლებისა და ჰერბიციდებისადმი გამძლე მცენარეების მიღებაში. განვიხილოთ ზოგიერთი მათგანი.

1.6.2.1. მავნებლებისადმი გამძლეობა

უკანასკნელ წლებში გენეტიკური ინჟინერია მნიშვნელოვან როლს ასრულებს მავნებლებისადმი გამძლე სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მიღებაში.

სახლდარგარეთის რიგი ფირმები ინტენსიურად მუშაობენ ქერცლოვანთა რაზმის მწერების (დაახლოებით 100 ათასამდე სახეობა) ყველაზე მავნებელი ჯგუფის წინააღმდეგ აქტიური ცილების მაკოდირებელი გენების მცენარეებში გადატანაზე.

1987 წელს ამერიკული ფირმა Plant Genetic Systems (PGS)-ის მეცნიერებმა ბაქტერია *Bacillus thuringiensis*-დან გამოჰყვეს მწერებისათვის ტოქსიკური, მაგრამ ადამიანისა და თბილსისხლიანი ცხოველებისათვის უვნებელი ცილოვანი ენდოტოქსინის სინთეზის მაკოდირებელი გენი (აღინიშნება bt2) და *Agrobacterium tumefaciens*-ის Ti-პლაზმიდის ვექტორის საშუალებით გადაიტანეს თამბაქოს მცენარის უჯრედებში. მიღებული თამბაქოს ტრანსგენური მცენარე ფოთლებში თვითონ ასინთეზებს აღნიშნულ ტოქსინს და ამიტომ გამძლეა მოხეტიალე მუხლუხებისაგან დაზიანების მიმართ. მცენარის დაცვისათვის საკმარისია საერთო ცილაში ტოქსინის დაახლოებით 0.02%-ის შემცველობა. სავსე ცდებმა დაადასტურეს მცენარეების უნარი წინ

აღუდგნენ მუხლუხებისაგან დაზიანებას. საცდელ მცენარეებზე მწერი-მავენებლის მუხლუხების ყველა 100% დაიღუპა 48 საათის განმავლობაში, ხოლო საკონტროლო მცენარეები მწერის მიერ ნადგურდებოდა 12 დღის შემდეგ. სხვა სიტყვებით, მცენარეებმა შეიძინეს საკუთარი ინსექტიციდის პროდუქციების უნარი. აღნიშნული ნიშანი სტაბილურად მემკვიდრეობს თაობაში მენდელის კანონის მიხედვით.

ამერიკული კონცერნ Monsanto-ს ბიოლოგებმა ანალოგიური სამუშაო შეასრულეს *B. thuringiensis*-ის ენდოტოქსინის გენის პომიდორის მცენარეში გადატანისას და მიიღეს თამბაქოს მოხეტიანეს მუხლუხებისა და სხვა ქერცლფრთიანებისადმი გამძლე ტრანსგენური პომიდორი. უცხო გენი მემკვიდრეობს თაობებში და უზრუნველყოფს ამ მავნებლისადმი მცენარის მაღალ გამძლეობას. ახალი ტრანსგენური მცენარის საველე გამოცდებმა დადებითი შედეგი დაადასტურა.

მსგავსი გამოკვლევები ტარდება აგრეთვე ამერიკულ კომპანიებში Ecogen და Rohm and Haas, ზოგადი გენეტიკის ინსტიტუტში (რუსეთი), რუსეთის მეცნიერებათა აკადემიის მოლეკულური გენეტიკის ინსტიტუტში და სხვა ბიოტექნოლოგიურ ცენტრებში.

მსოფლიოს მრავალ კომპანიაში აქტიური კვლევითი მუშაობა მიმდინარეობს ისეთი სასოფლო-სამეურნეო კულტურებისათვის, როგორიცაა ციტრუსოვნები, ბამბა, სოია, სიმინდი, პომიდორი, ბრინჯი, კარტოფილი, ბოსტნეული, მიწის თხილი, ხორბალი, სხვადასხვა მერქნიანი ჯიშები და სხვა მავნებლებისადმი გამძლეობის უნარის მისანიჭებლად.

მიკრობული წარმოშობის ტოქსინის (*B. thuringiensis*-ის ენდოტოქსინი) გარდა მავნებლებისადმი გამძლე მცენარეების მიღების საქმეში განსაკუთრებულ ყურადღებას იმსახურებს მცენარეული წარმოშობის ტოქსინებიც (რიცინი, ობრინი, მოდეცინი, დოდეკანდრინი, გოლენინი და სხვა), რომლებიც მცენარეებში მწერი-მავენებლის წინააღმდეგ მიმართულ დამცველობით ფუნქციებს ასრულებენ. სამუშაოები ამ მიმართულებით უკვე მიმდინარეობს.

1.6.2.2. დაავადებებისადმი გამძლეობა

დაავადებებთან ბრძოლის ყველაზე ეფექტურ ხერხს გამძლე ჯიშების მიღება წარმოადგენს. ამჟამად მსოფლიოს მრავალ ბიოტექნოლოგიურ ლაბორატორიაში მიმდინარეობს სხვა ორგანიზმებიდან (მცენარეები, ბაქტერიები, სოკოები, მწერები) დაავადებების პათოგენებისადმი ტოქსიკური, სხვადასხვა დამცველი ცილის მაკონტროლებელი გენების მცენარეებში გადატანის სამუშაოები.

ამ მიზნის მიღწევა რეალურია თუ გამძლეობის მექანიზმი განპირობებულია ერთი გენით, ე.ი. მცენარეთა დაავადებების პათოგენებისადმი გამძლეობა წარმოადგენს მონოგენურს. პროტეაზების, ქიტინაზების, გლუკონაზების მაინჰიბერებელი გენებისა და არატოქსი-

კური ნივთიერებების ანტიბიოტიკებად და ფუნგიციდებად მატრანსფორმირებული ფერმენტების გენების გამოყენებით მეცნიერები ადგენენ პათოგენური მიკროორგანიზმებისაგან მცენარეთა დაცვის შესაძლებლობებს.

ლუიზიანას შტატის უნივერსიტეტში (აშშ), სტოკჰოლმის უნივერსიტეტში (შვეიცარია), მეკარტოფილეობის საერთაშორისო ცენტრში (პერუ) იკვლევენ ბაქტერიული დაავადებების წინააღმდეგ ფარშავანგისთვალას გენების გამოყენების შესაძლებლობებს. ფარშავანგისთვალას ჭეშრები ბაქტერიული ინფექციის საწინააღმდეგოდ ასინთეზებს ანტიბაქტერიული აქტიურობის 15-20 ცილას, მათ შორის ცეკროპინს, ატაცინს, ლიზოციმს. ცნობილია, რომ ასეთი ცილები არ ვნებენ მცენარეულ უჯრედებს, ამიტომ მათი მაპროდუცირებელი მცენარე გამძლე იქნება მცენარეების პათოგენების მიმართაც. ამ ცილების გენები უკვე გამოყოფილი და დეტალურად შესწავლილია.

ამერიკული კომპანია Agrocetus-ის სპეციალისტების მიერ უკვე მიღებულია თამბაქოს ტრანსგენური მცენარე, რომელიც გამძლეა დაავადება გვირგვინისებრი გალისადმი (გამომწვევი *Agrobacterium tumefaciens*). ინფექციისადმი გამძლეობა მიღწეულ იქნა Ti-პლასმიდის საფუძველზე შექმნილი ვექტორის საშუალებით საფუარას ფერმენტი ალკოჰოლდეჰიდროგენაზას გენის თამბაქოს უჯრედებში შეყვანითა და მცენარის შემდგომი რეგენერაციით. მცენარის უჯრედებში სინთეზირებული საფუარას ფერმენტი ალკოჰოლდეჰიდროგენაზა ხელს უშლის ინფექციის განვითარებას, რაც მცენარეს ხდის გამძლეს. მიღებული გამძლე მცენარეები ორი წლის განმავლობაში იცდებოდა სათბურებში, რის შემდეგ დაიწყო საველე გამოცდები სამეურნეო ნიშნების მიხედვით.

სოკოვანი ინფექციების წინააღმდეგ შეიძლება გამოყენებულ იქნას კონკრეტული პატრონის ინფექციის სპეციფიკური ტოქსინის მოდიფიკაციის ან დაშლის გზით გამაუსნებოვნებელი შენაერთები ან სოკოს უჯრედული გარსის წარმოქმნის მაინჰიბირებელი ან მისი დამშლელი სხვადასხვა შენაერთები. დადგენილია, რომ სოკოვანი ინფექციების წინააღმდეგ აქტიურია ქიტინაზები, გლუკანაზები და სხვა. ამჟამად მიმდინარეობს გამოკვლევები სოკოვანი ინფექციებისადმი გამძლეობის მინიჭების მიზნით აღნიშნული ნივთიერებების გენების მცენარეებში გადატანაზე.

ბიოტექნოლოგიის მეთოდების გამოყენება განსაკუთრებით აუცილებელია მცენარეების ვირუსოვანი დაავადებებისაგან დასაცავად. რადგანაც ამ დაავადებების მავნებლობა დიდია, მეტად რთულია დიაგნოსტიკა, პრაქტიკულად არ არსებობს მათ მიმართ ბრძოლის აგროტექნიკური საშუალებები, ხოლო ტრადიციული სელექციის მეთოდები ნაკლებ ეფექტურია.

ვირუსები აზიანებენ პრაქტიკულად ყველა კულტურულ მცენარეს და იწვევენ 300-ზე მეტ სხვადასხვა დაავადებას. XX საუკუნის ბოლოსათვის აღწერილი იყო დაახლოებით 700 ფიტოპათოგენური ვირუსი. სია ამჟამადაც გრძელდება.

ვირუსოვან ინფექციებთან ბრძოლის სირთულე დაკავშირებულია იმასთან, რომ ვირუსებს, წარმოადგენენ რა ობლიგატურ პარაზიტებს, არ გააჩნიათ საკუთარი მეტაბოლიზმი და დაზიანებისას პატრონის უჯრედებთან ისეთ მჭიდრო კონტაქტში შედიან, რომ არსებითად მისი ნაწილი ხდებიან, ამიტომ მათ მოსპობას თან ახლავს თვით პატრონ-უჯრედის მოსპობაც.

ამჟამად მცენარეთა დაცვის ყველაზე ეფექტურ საშუალებას წარმოადგენს კულტურული მცენარეების ვირუსებისაგან გაჯანსაღება უჯრედული ინჟინერიის მეთოდით, კერძოდ, *in vitro* სტერილურ პირობებში იზოლირებული აპიკალური მერისტემის კულტივირების გზით.

დადგენილია, რომ უმეტეს შემთხვევაში მცენარის აპიკალური მერისტემა თავისუფალია ვირუსებისაგან. ამიტომ მათი კულტივირება *in vitro* სტერილურ პირობებში იძლევა ვირუსებისგან მცენარეების გაჯანსაღების საშუალებას. პირველად აღნიშნული მეთოდი შემოთავაზებულ იქნა 1952 წელს ფრანგი მეცნიერების მიერ. ჩვეულებრივ მცენარეების ვირუსებისაგან განთავისუფლების მიზნით იყენებენ 0.1-0.25 მმ ზომის მერისტემის ექსპლანტატებს. აპიკალური მერისტემის მეთოდი, როგორც მცენარეების ვირუსებისაგან რადიკალური გაჯანსაღების საშუალება ამჟამად საკმაოდ ფართოდ გამოიყენება მეკარტოფილეობის მსოფლიო პრაქტიკაში. რუსეთში აღნიშნული მეთოდით გაჯანსაღებულია კარტოფილის 20-ზე მეტი ჯიშში. ასეთი სამუშაოები ჩატარებულ იქნა აგრეთვე საფრანგეთში, შვეციაში, იაპონიაში, ჩეხეთში, სლოვაკეთში, ბულგარეთში, იტალიაში, დანიაში, პოლანდიაში, კანადაში და სხვა ქვეყნებში. ვირუსებისაგან გაჯანსაღებული სარგავი მასალის გამოყენების ხარჯზე კარტოფილის მოსავლიანობა გაიზარდა 20-50%-ით.

მცენარეების ვირუსებისაგან გაჯანსაღების მერისტემული მეთოდი ინერგება არა მარტო მეკარტოფილეობაში, არამედ ბოსტნეული, დეკორაციული, ხეხილოვანი და კენკროვანი კულტურების წარმოებაშიც. აპიკალური მერისტემის კულტურა წარმოადგენს მცენარეთა ვირუსებისაგან გაჯანსაღების ეფექტურ და დამოუკიდებელ მეთოდს. ის გამოსადგია ყველა ვირუსისა და მათ მიერ დაზიანებული კულტურებისათვის.

ვირუსოვანი ინფექციის წინააღმდეგ გამოყენებულია აგრეთვე გენურ-ინჟინრული მეთოდები. ისინი ძირითადად მიმართულია ვირუსისადმი გამძლე ჯიშების მისაღებად. ამერიკული ფირმა Monsanto-ს მკვლევარებმა ვაშინგტონის უნივერსიტეტის მეცნიერებთან ერთად ვი-

რუსთაშორისი ჯვარედინი გამძლეობის ფენომენის* გამოყენებით თამბაქოსა და პომიდორში მოახდინეს თამბაქოს მოზაიკის ვირუსისადმი გამძლეობის ინდუცირება Ti-პლასმიდის საფუძველზე შექმნილი ვექტორის საშუალებით ამ ვირუსის გარსის ცილის მაკოდირებული გენის მცენარეების უჯრედებში შეყვანით. პომიდორის მცენარეში თამბაქოს მოზაიკის ვირუსისადმი გამძლეობის გენის შეყვანამ მოსაგულიანობა გაზარდა 20-30%-ით.

ანალოგიური ხერხით ამერიკული კომპანია Lubrisol Genetics-ის მეცნიერებმა ასევე მოახდინეს იონჯას მცენარეში იონჯას მოზაიკის ვირუსისადმი გამძლეობის ინდუცირება. ამით დამტკიცებულ იქნა, რომ გენურ-ინჟინრული ვირუსთაშორისი ჯვარედინი გამძლეობის ფენომენი ასევე შეიძლება გამოყენებულ იქნას მცენარის სხვა ჯგუფის ვირუსებზეც. ამიტომ აღნიშნული მეთოდი განიხილება როგორც მცენარეებში ვირუსოვანი დაავადებების თავიდან აცილების საერთო მეთოდი.

ტრანსგენური მცენარეების ამგვარი გამძლეობის მექანიზმი ჯერ უცნობია. ვარაუდობენ, რომ მცენარის უჯრედებში თამბაქოს მოზაიკის ვირუსის გარსის ცილის სინთეზი ხელს უშლის აღნიშნული ვირუსის მიმაგრებას ამ უჯრედებზე, ან ეწინააღმდეგება ვირუსის გენეტიკური მასალის (რნმ ან დნმ) უჯრედში შეყვანას.

აღნიშნული ხერხით მიღწეული ვირუსისადმი გამძლეობა გვაგონებს ადამიანებსა და ცხოველებში დაავადებების წინააღმდეგ ჩატარებულ ვაქცინაციას. მართალია მცენარეებს არ გააჩნიათ ისეთი იმუნური სისტემა, როგორიც აქვთ ცხოველებს, მაგრამ დაცვის ეს ახალი ფორმა მათ ხდის გამძლეს ვირუსებისადმი.

ვირუსებისადმი გამძლეობის პრობლემის გადაწყვეტაში სხვა მიდგომა აირჩიეს მეკარტოფილეობის საერთაშორისო ცენტრში (პერუ). კერძოდ, მცენარეებისათვის ვირუსისადმი გამძლეობის მინიჭება ვირუსის რეპლიკაციის მექანიზმის დარღვევის გზით.** მეცნიერების მიერ დადგენილია გარედან შეყვანილი ხელოვნურად სინთეზირებული გენის საშუალებით უჯრედის მიერ “უშინაარსო” რნმ-ს (ე.ი. რნმ-ს, რომელიც ტრანსკრიბირებულია დნმ-ს არაკოდირებადი “შინაარსიანი” ჯაჭვის კომპლემენტარული ჯაჭვიდან) იძულებითი პროდუცირების შესაძლებლობა, რომელიც სპეციფიკურად არღვევს ვირუსის რეპლიკაციას. ცენტრის თანამშრომლები 30 ნუკლეოტიდი სიგრძის “უში-

* ვირუსთაშორისი ჯვარედინი გამძლეობის ფენომენი ეწოდება მოვლენას, როცა მცენარის დასენიანება სუსტი ვირულენტობის ვირუსის შტამით იცავს მას იგივე ან სხვა ვირუსით მოზაიკისადმი მონათესავე ვირუსის ძლიერი შტამით შემდგომი დასენიანების მავნე მოქმედებისაგან, ე.ი. მცენარეებისათვის ვირუსებისადმი გამძლეობის მინიჭება შეიძლება ორგანიზმში სუსტი პათოგენის გავრცელების გზით.

** ამისათვის იყენებენ გენეტიკური კონტროლის ახალ ტიპს ე.წ. “mic-რნმ” (mRNA – interfering complementary RNA) კონტროლს. ეს არის “უშინაარსო რნმ”-ით განხორციელებული გენების აქტიურობის რეგულაციის ტიპი.

ნაარსო” რნმ-ს საშუალებით 98%-ით თრგუნავდნენ კარტოფილის ფოთლების სიხუჭუჭის ვირუსის გენის ექსპრესიას.

“უშინაარსო” რნმ-ს საშუალებით განხორციელებულია აგრეთვე ვიროიდების – უმცირესი თვითრეპლიცირებადი სტრუქტურების მიერ გამოწვეული ინფექციებისაგან მცენარეთა დაცვა. კარტოფილის უჯრედებში შეყვანილი სინთეტიკური “უშინაარსო” რნმ უკავშირდება ვიროიდების მოლეკულებს – კარტოფილის ტუბერების დაავადებების გამომწვევებს და იწვევს მათი რეპლიკაციის ბლოკირებას.

დაავადებებისადმი გამძლე ჯიშების მიღებაში გენეტიკური ინჟინერიის გარდა ფართოდ იყენებენ აგრეთვე უჯრედული ინჟინერიის მეთოდებს, კერძოდ, უჯრედულ სელექციას.

უჯრედული სელექციის მეთოდებით გამძლე ჯიშების მიღება ითვალისწინებს მცენარის უჯრედების კულტივირებას სუფთა ტოქსინის, პათოგენის მიერ სინთეზირებული პათოტოქსინის ან კულტურალური სითხის (კულტურალური ფილტრატის), რომელშიც ვითარდებოდა პათოგენი, შემცველი სელექტიურ არეებზე. შემდეგ გამორჩეული რეზისტენტული უჯრედული ხაზებიდან ხდება მცენარის რეგენერაცია.

ამ მიმართულებით გამოკვლევები ძირითადად ტარდება ავსტრალიაში, დიდ ბრიტანეთში, ბელგიაში, იტალიაში, ჩინეთში, აშშ-ში და სხვა. მიზანს წარმოადგენს რამოდენიმე პათოგენის ტოქსინისადმი რეზისტენტული მცენარეების მიღება. არსებობს მონაცემები ხორბლისა და ქერის კალუსისა და სუსპენზიური კულტურიდან *Helminthosporium sativum*-ის ტოქსინისადმი გამძლე მცენარეების გამოსარჩევად შექმნილ სელექტიურ სისტემაზე. მიღებულია *Phoma lingam*-სადმი გამძლეობის უნარის მქონე რაფსის მცენარე-რეგენერატები. კარტოფილის კალუსური კულტურიდან მიღებულია სოკო *Phytophthora infestans*-ის ოთხი პათოგენისადმი რეზისტენტული მცენარე. ტარდება სამუშაოები *Sclerotinia trifolium*-სადმი გამძლე სამეურას უჯრედული ხაზების მისაღებად. პროტოპლასტების დონეზე ტარდება *Rhinchosporium sealis* ტოქსინისადმი გამძლე ქერის ფორმების მიღების სამუშაოები.

გამძლეობის გენეტიკის ინსტიტუტში (გერმანია) მიღებულია ნაცრისადმი გამძლე საგაზაფხულო ქერის ჰაპლოიდური ხაზები. უკრაინის მეცნიერებათა აკადემიის ფიზიოლოგიისა და გენეტიკის ინსტიტუტში კულტურალური ფილტრატების გამოყენებით მიღებულია თამბაქოს დაავადების ერთ-ერთი გამომწვევის (*Pseudomonas*) ტოქსინისა და მისი ანალოგებისადმი გამძლე თამბაქოს მცენარე. ჩინელი მეცნიერების მიერ ბრინჯის მტვრიანების კულტურიდან მიღებულ იქნა სოკოვანი დაავადება პირიკულიარიოზისადმი გამძლე ორი მაღალმოსავლიანი ჯიშები. ამჟამად ამ ჯიშებს ჩინეთში უკავია 200 ათას ჰექტარზე მეტი ფართობი და ყოველწლიურად საშუალოდ იძლევიან 7.5-

8.0 ტ/ჰა მოსავალს და ა.შ. მომავალში უზრდელი სელექციის მეთოდებით დაავადებისადმი გამძლე მცენარეთა ჯიშების შესაქმნელად მუშაობა კიდევ უფრო გაფართოვდება, გაღმავდება და დადებითი შედეგების ჩამონათვალი ყოველწლიურად გაიზრდება.

1.6.2.3. ჰერბიციდებისადმი გამძლეობა

მცენარეთა დაცვის მნიშვნელოვან ასპექტს სარეველა მცენარეებთან ბრძოლა წარმოადგენს. მსოფლიოში აღირიცხება დაახლოებით 1800-მდე სახეობის სარეველა მცენარე, რომლებიც სერიოზულ ზარალს აყენებენ სოფლის მეურნეობას, მეტყვევობას, გარემოს დაცვას და სხვა. დღეისათვის სარეველების წინააღმდეგ ფართოდ იყენებენ ჰერბიციდების (დაახლოებით 6000 პრეპარატი ქიმიური ნაერთების 180 ჯგუფიდან) გამოყენებაზე დაფუძნებულ ქიმიურ მეთოდს. ეს აიხსნება იმით, რომ ქიმიური ჰერბიციდების გამოყენება წარმოადგენს სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მოსავლიანობისა და შრომის ნაყოფიერების ამაღლების რენტაბელურ და მაღალეფექტურ მეთოდს. XX საუკუნის ბოლოსათვის მთელ მსოფლიოში დაახლოებით 200 ტიპის ფართოდ გამოყენებული ჰერბიციდის წარმოებაზე დაიხარჯა 10 მილიარდი დოლარი. მაგრამ დადებით თვისებებთან ერთად ქიმიურ ჰერბიციდებს ახასიათებთ უარყოფითიც. ყველაზე მნიშვნელოვანი მათ შორის **ეკოლოგიურია**. ამ შხამქიმიკატების გამოყენების წესების მკაცრი დაცვის დროსაც კი, მათი მნიშვნელოვანი ნაწილი ხედება ნიადაგში, ჰაერში, წყალსაცავებში და წარმოადგენენ რა ტოქსიკურს, იწვევენ გარემოს დაბინძურებას. მეორე უარყოფითი მხარე დაკავშირებულია **ჰერბიციდების არასელექციურობასთან ან არასაკმარის სელექციურობასთან**, ე.ი. მათ არ გააჩნიათ მხოლოდ სარეველებთან შერჩევითი მოქმედების უნარი. ჯერჯერობით არ არსებობს ისეთი უნივერსალური ჰერბიციდი, რომელსაც სარეველა მცენარეების კულტურულ მცენარეებისაგან გამორჩევის უნარი ჰქონდეს. ამიტომ ისინი სარეველებთან ერთად სპობენ კულტურულ მცენარეებსაც. არსებით უარყოფით თვისებას წარმოადგენს აგრეთვე **სარეველა მცენარეებში ჰერბიციდებისადმი გამძლეობის უნარის წარმოქმნა**. მსოფლიოში უკვე ცნობილია ათეულობით სარეველა, რომლებმაც შეიძინა ჰერბიციდებისადმი გამძლეობა. აქედან გამომდინარე, სოფლის მეურნეობაში გამოყენებული ქიმიური პრეპარატების მხოლოდ მოცულობის ზრდა უკვე არასაკმარისია მცენარეების სარეველებისაგან დასაცავად.

უკანასკნელ წლებში, სხვადასხვა ქვეყნის მეცნიერები ინტენსიურად მუშაობენ ქიმიური ჰერბიციდების შეცვლის მიზნით, ბიოპესტიციდების შექმნაზე. მაგრამ, ერთდროულად ამასთან ერთად, აუცილებელია მცენარეთა დაცვის ქიმიური ხერხების სრულყოფის გზების ძიება, რადგანაც პროგნოზით ახლო მომავალში ქიმიური ჰერბიციდები კვლავინდებურად აქტიურად იქნება გამოყენებული. ერთ-ერთს,

მათ შორის, წარმოადგენს ბიოტექნოლოგიის მეთოდებით ქიმიური ჰერბიციდებისადმი გამძლე მცენარეთა მიღება.

ჰერბიციდგამძლე მცენარეთა მიღება იძლევა: 1) ჰერბიციდების ასორტიმენტის გაფართოების, 2) მთლიანი მოქმედების უფრო იაფი ქიმიური პრეპარატების ფართო გამოყენების, 3) ეკოლოგიური თვალსაზრისით ყველაზე უფრო უვნებელი პრეპარატების გამოყენების, 4) აღმოცენებადელი დამუშავების ნაცვლად, უფრო ეფექტური და გარემო პირობებისათვის უვნებელი, აღმოცენების შემდგომი დამუშავების მეთოდის ფართო გამოყენების, 5) ჰერბიციდებით დამუშავების ჯერადობის შემცირების, 6) თესლობუნვაში ჩართული კულტურების მრავალფეროვნების გაფართოების, 7) წინამორბედი კულტურის დამუშავების შემდეგ, შემდგომი კულტურისათვის (მაგ, სოიო სიმინდის შემდეგ) ნიადაგში დარჩენილი ჰერბიციდების მავნე მოქმედების შემცირების და ა.შ. შესაძლებლობებს.

გენურ-ინჟინრული მეთოდებით ჰერბიციდგამძლე მცენარეთა მისაღებად აუცილებელია: 1) მცენარეულ უჯრედში ჰერბიციდის მოქმედების ბიოქიმიური სამიზნის გამოვლენა, ე.ი. ჰერბიციდის მოქმედების მექანიზმის და აქედან გამომდინარე, ჰერბიციდისადმი გამძლეობის (ტოლერანტობის) მექანიზმის ცოდნა; 2) გამძლეობის გენების წყაროდ კონკრეტული ჰერბიციდისადმი გამძლე ორგანიზმების გამოყოფა; 3) ჰერბიციდგამძლეობის ნიშნის განმსაზღვრელი გენების გამოყოფა; 4) როგორც მცენარეული, ისე ნებისმიერი სხვა წარმოშობის ჰერბიციდგამძლეობის გენების კლონირება; 5) მცენარის უჯრედებში უცხო წარმოშობის ჰერბიციდგამძლეობის გენების ექსპრესიის (მუშაობის) შესწავლა.

აღმოჩნდა, რომ ჰერბიციდების მოქმედების პირველად ბიოქიმიურ სამიზნეს წარმოადგენს ფოტოსინთეზის პროცესთან ან ამინომჟავების ბიოსინთეზთან დაკავშირებული მცენარის ფერმენტები, შედეგად ადგილი აქვს ფოტოსინთეზის პროცესის ბლოკირებას ან ამინომჟავების ბიოსინთეზის დათრგუნვას (ინჰიბირებას). ჩვეულებრივ, ჰერბიციდები მცენარის უჯრედში სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვანი ფერმენტებიდან მხოლოდ ერთის ბლოკირებას ან დათრგუნვას ახდენენ.

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, ჰერბიციდებისადმი გამძლეობის ამოცანის გადასაწყვეტად მცენიერები იყენებენ სამ ძირითად გზას: 1) ფერმენტი-სამიზნის, რომელზეც მოქმედებს ჰერბიციდი, მგრძნობიარეობის შეცვლა, ე.ი. ფერმენტის გენში მუტაციის გამოწვევა, შედეგად შხამს არ შეუძლია შეცვალოს ფერმენტის აქტიურობა და მაშასადამე მცენარისათვის ზიანის მიყენება; 2) ფერმენტი-სამიზნის განმსაზღვრელი გენების მცენარეში ამპლიფიკაცია, ე.ი. ფერმენტი-სამიზნის პროდუქციის გადიდება იმდენად, რომ ჩვეულებრივი მცენარის მოსასპობად საკმარისი შხამი არასაკმარისი აღმოჩნდეს ფერ-

მენტი-სამიზნის ჭარბი რაოდენობის ინაქტივირებისათვის; 3) მცენარე-ებში ჰერბიციდის დამშლელი ფერმენტის განმსაზღვრელი გენების შეყვანა, ე.ი. მცენარის იძულება თვითონ გამოიმუშაოს შხამის მაინაქტივირებელი ნივთიერება.

ჰერბიციდებისადმი გამძლეობა, როგორც წესი, მონოგენური თვისებაა, ე.ი. დამოკიდებულია ერთ გენზე. ამიტომ, გამძლე მცენარე-ების მისაღებად ფართოდ იყენებენ, ბუნებაში არსებულ ან მუტაგენე-ზის გზით მიღებულ ჰერბიციდგამძლე ორგანიზმებიდან, გენეტიკური ინჟინერიის საშუალებით გენების გადატანის მეთოდს. იყენებენ, აგ-რეთვე ცილოვანი ინჟინერიის მეთოდსაც, რომლის არსი, კონკრეტუ-ლი ცილა-ფერმენტისათვის ჰერბიციდგამძლეობის უნარის მინიჭების მიზნით, მისი მაკოდირებელი გენის იზოლაციასა და ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის მიზანმიმართულ შეცვლაში მდგომარეობს.

დღეისათვის გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდების გამოყენებით მიღწეულია გარკვეული წარმატებები რიგი ჰერბიციდისადმი – გლი-ფოსატი, ატრაზინი სიმაზინი, მონურონი, ტრიაზინი, სულფონილშარ-დოვანას წარმოებულები (სულფომეტურონ მეთილი, ქლორსულფორო-ნი და სხვა), ფოსფინოტრიცინი (ბასტა), იმიდაზოლინონები და სხვ. გამძლე მცენარეების მიღებაში.

გლიფოსატისადმი გამძლეობა. გლიფოსატი (რაუნდაპი) ეფექტუ-რი, აღმოცენების შემდგომი, მთლიანი მოქმედების, ერთ-ერთი ყველა-ზე უვნებელი სამრეწველო ჰერბიციდია. იგი ბლოკირებას უკეთებს არომატული ამინომჟავების ბიოსინთეზის ერთ-ერთ ფერმენტს, კერ-ძოდ 5'-ენოლპირუვილ-3-ფოსფოშიკიმატსინთეტაზას (შემოკლებით EPSP-სინთეტატი), რომელსაც აკოდირებს გენი *aro A*. აღნიშნული ფერმენტი აკატალიზებს ფოსფოენოლპირუვატისა და შიკიმატ-3-ფოს-ფატისაგან 5'-ენოლპირუვილშიკიმატ-3-ფოსფატის წარმოქმნას. მეტა-ბოლიზმის ამ სტადიის დათრგუნვა იწვევს არომატული ამინომჟავე-ბის დეფიციტს და შიკიმატის დაგროვებას, შედეგად, გლიფოსატთან ხანგრძლივი კონტაქტისას, უჯრედი იღუპება.

გლიფოსატისადმი გამძლე მცენარის მისაღებად ამერიკელი კომ-პანია Calgene-ს მკვლევარებმა ბაქტერია *Salmonella thyphimurium*-ის უჯ-რედებში მუტაგენეზის გზით მიიღეს შეცვლილი სტრუქტურის მქონე (101 კოდონში პროლინი შეცვლილია სერინით), თავისი ფუნქციონა-ლური აქტიურობა შენარჩუნებული, მაგრამ გლიფოსატისადმი მნიშვნე-ლოვნად გამძლე ფერმენტი EPSP-სინთეტაზა. შემდეგ, აღნიშნული გლიფოსატგამძლე ფერმენტის მაკოდირებელი გენი, იზოლირებულ იქნა *S. thyphimurium*-ის უჯრედებიდან, კლონირებული ბაქტერია *E. coli*-ში და Ti-პლაზმიდის საფუძველზე შექმნილი ვექტორის საშუალებით შეყვანილი თამბაქოს მცენარის უჯრედებში. ანალოგიური მუშაობა ჩატარდა პომიდორის, სოიოს, ბამბის, ალვის ხის და სხვა მცენარე-

ბის უჯრედებში. ყველა მცენარე გამძლე აღმოჩნდა გლიფოსატისადმი.

ამერიკული კონცერნ Monsanto-ს მკვლევარებმა გლიფოსატგამძლე მცენარეები მიიღეს სხვა გზით. კერძოდ, მცენარის უჯრედებში ფერმენტ EPSP-სინთეტაზას პროდუქციის გაზრდის გზით. კონცერნის მეცნიერებმა, ერთი მხრივ EPSP-სინთეტაზას პროდუქციის გადიდებული შემცველობის მქონე უჯრედების სელექციით, ხოლო მეორე მხრივ, თვით EPSP-სინთეტაზას მცენარეული გენის კლონირებით, მისი ყვავილოვანი კომბოსტოს მოზაიკის ვირუსის ძლიერი პრომოტორის ქვეშ შემდგომი მოთავსებითა და ასეთი რეკონსტრუირებული EPSP-სინთეტაზას გენის Ti-პლაზმიდის საშუალებით მცენარის უჯრედებში შეყვანით, მიაღწიეს მცენარის უჯრედებში აღნიშნული ფერმენტის პროდუქციის 20–40-ჯერ გაზრდას. შედეგად მიიღეს გლიფოსატისადმი შედარებით გამძლე (10-ჯერ უფრო გამძლე საწყის მცენარეებთან შედარებით) პომიდორის, თამბაქოს და პეტუნიას მცენარეები. ამჟამად კონცერნში ტარდება მუშაობა გამძლეობის უნარის კიდევ უფრო ამაღლებისათვის ბაქტერია E.coli-ს გენის გამოყენებით, რომელიც აკოდირებს ველური ტიპის ფერმენტთან შედარებით გლიფოსატისადმი 6 ათასჯერ უფრო გამძლე ფერმენტ EPSP-სინთეტაზას. ტარდება აგრეთვე მუშაობა გლიფოსატისადმი გამძლე სხვა სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მისაღებად.

ატრაზინისადმი გამძლეობა. ატრაზინი მიეკუთვნება ტრიაზინის წარმოებულის ჯგუფს და წარმოადგენს მარცვლოვანი და სხვა კულტურების სარეველებთან ბრძოლის ყველაზე გავრცელებულ პერბიციდს. ეს შენაერთი, ისე როგორც მისი მსგავსი ტრიაზინი, სიმაზინი, დიურონი და სხვა, თრგუნავს ფოტოსინთეზის პროცესს მცენარეში, ქლოროპლასტების მემბრანის შემადგენლობაში შემავალი ქლოროპლასტის გენომის გენ psb A-თი კოდირებულ ე.წ. Q_B-ცილასთან დაკავშირების გზით, რის შედეგადაც ადგილი აქვს ქლოროპლასტებში ელექტრონების ტრანსპორტის ბლოკირებას.

ატრაზინგამძლე მცენარის მიღება შეიძლება Q_B-ცილის მოლეკულაში სერინის გლიცინით შეცვლის გამოწვევაც გენ psb A-ში საიტ-სპეციფიკური წერტილოვანი მუტაციით, რაც ხელს უშლის პერბიციდის ცილასთან დაკავშირებას და ასეთი მუტანტური გენის გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით ატრაზინისადმი მგრძნობიარე მცენარეების ქლოროპლასტებში გადატანის გზით. ატრაზინისადმი გამძლეობის გენების დონორად შეიძლება გამოყენებულ იქნას მუტანტური სარეველები, მუტანტური მიკროორგანიზმები და აგრეთვე ზოგიერთი კულტურული მცენარე (მაგ. სიმინდი).

ატრაზინგამძლეობის კონსტრუირებული მუტანტური გენის მცენარის ქლოროპლასტის გენომში გადატანისას არსებობს გარკვეული სიძნელეები. ამიტომ გარდა Ti-პლაზმიდის საფუძველზე შექმნილი

ექპტორული სისტემების გამოყენებისა (მაგ. Ti-პლაზმიდის საშუალებით ატრაზინგამმლეობის გენები გადატანილი იქნა ციანობაქტერიიდან თამბაქოს მცენარის უჯრედებში), მეცნიერები ცდილობენ ქლოროპლასტების მიკროინექცირებას, მათ ინკუბაციას პროტოპლასტებთან და კომპეტენტური უჯრედების შერწყმას, რათა მიღწეული იქნას ატრაზინგამმლეობის მაკოდირებელი გენის მატარებელი ქლოროპლასტების შეყვანა ატრაზინისადმი მგრძნობიარე მცენარის უჯრედში. ტარდება აგრეთვე, გამმლეობის გენის უჯრედის ბირთვში გადატანის გზით, ქლოროპლასტებში Q_B-ცილის მაკოდირებელი გენის ცვლილების გამოწვევის ექსპერიმენტები და ა.შ.*

სულფონილშარდოვანას წარმოებულებისადმი გამმლეობა. ამ კლასის ჰერბიციდები (სულფომეტრონ მეთილი, ქლორსულფურონი და სხვა) გამოირჩევა უჩვეულოდ მაღალი ეფექტურობით, მოქმედების გამორჩევიტობით სხვადასხვა კულტურების მიმართ, დაბალი ტოქსიკურობით ძუძუმწოვრებისადმი. აღნიშნული ჰერბიციდები თრგუნავენ ფერმენტ აცეტოლაქტატ-სინთეტაზას (შემოკლებით ALS), რომელიც კოდირდება *ilv2* გენით და აკატალიზებს ორ რეაქციას უჯრედში, შედეგად ირღვევა ამინომჟავების ვალინისა და ლეიცინის სინთეზი.

აღნიშნული ჰერბიციდებისადმი გამმლე მცენარეს ღებულობენ ფერმენტ აცეტოლაქტატ-სინთეტაზას გენის მუტაციური ცვალებადობის (პროლინის შეცვლიტ სერინით) გზით ან მცენარეში *ilv2* გენის ამპლიფიკაციის გზით. ჰერბიციდ სულფომინშარდოვანასადმი გამმლეობის გენების დონორს წარმოადგენს *Salmonella thyphimurium*, *Echerichia coli*, საფუარები და სხვა. მაგალიტად, კომპანია Du pont-ის (აშშ) მეცნიერებმა, ბაქტერია *Salmonella*-დან გამმლეობის გენის გადატანის გზით მიიღეს თამბაქოს ტრანსგენური მცენარე, რომელიც ჰერბიციდ ქლორსულფურონისადმი 100-ჯერ უფრო გამმლეა, ვიდრე საწყისი მცენარე.

ფოსფინოტრიცინისადმი (ბასტა) გამმლეობა. აღნიშნული ჰერბიციდი მიეკუთვნება მთლიანი მოქმედების ჰერბიციდებს. გენტის უნივერსიტეტისა (ბელგია) და ამერიკული ფირმა PGS-ის მკვლევარებმა აღნიშნული ჰერბიციდისადმი გამმლე თამბაქოს, პომიდორისა და კარტოფილის მცენარეები მიიღეს შემდეგნაირად. ბაქტერია *Streptomyces*-დან გამოყოფილ იქნა ჰერბიციდ ფოსფინოტრიცინის მამოდიფიცირებელი და ამით მისი არააქტიურ ნივთიერებად გარდამქმნელი ფერმენტის სინთეზზე პასუხისმგებელი გენი. აგრობაქტერიის Ti-პლაზმიდის საშუალებით აღნიშნული გენი შეყვანილ იქნა მცენარის გენომში. ტრანსგენური მცენარეები, ძირითადი ნიშნების მიხედვით, არ განსხვავდებიან საწყისი მცენარეებისაგან, მაგრამ ჰერბიციდისად-

* დღეისათვის ატრაზინისადმი გამმლეობის გენის მცენარეში გადატანის ყველაზე მისაღებ მეთოდს წარმოადგენს სომატური ჰიბრიდიზაცია (იხ. გვ. 457).

მი გამძლეობას ავლენენ ნორმაზე 10-ჯერ მეტი კონცენტრაციის დროსაც. გამძლეობა მემკვიდრეობით გადაეცემა თაობებში. ფირმის სპეციალისტების მიერ ტარდება კვლევითი მუშაობა ამ გენის სიმინდის, შაქრის ჭარხლის, რაფსის და სხვა მცენარეებში გადატანის მიზნით.

ჰერბიციდებისადმი გამძლე მცენარეებს ღებულობენ, აგრეთვე, უჯრედული ინჟინერიის მეთოდებით, კერძოდ, უჯრედული სელექციისა და სომატური ჰიბრიდიზაციის გზით. უჯრედული სელექციის მეთოდით ჯერ ღებულობენ ცალკეული მცენარეული უჯრედების კულტურებს, შემდეგ მათ ამუშავენ პერბიციდებით, ახდენენ კულტივირებას ხელოვნურ პირობებში და გამოარჩევენ გადარჩენილ უჯრედებს, რომელთაგან შემდეგ ხდება მცენარის რეგენერაცია. ასეთი მუშაობა ტარდება ავსტრალიაში, ბელგიაში, კანადაში, აშშ-ში, საფრანგეთში, ფინეთში, რუსეთში, უკრაინაში და სხვა. მაგალითად, აშშ-ის, ფინეთისა და საფრანგეთის ფირმების მიერ წარმოებს მუშაობა პერბიციდებისადმი – ბრომინალის, ბაქტერილისა და გლიფოსატისადმი გამძლე მზესუმზირას, სოიოს და ზეთოვანი რაფსის ჯიშების მისაღებად. პერბიციდგამძლე სიმინდის მისაღებად ყველაზე ფართო მასშტაბის მუშაობა ტარდება ფირმების Molecular Genetics, American Cyanamid, Monsanto (კორნელიის როკფელერის, ოქსფორდის უნივერსიტეტები) მიერ. მაგალითად, ფირმა Molecular Genetics-ის მკვლევარებმა სიმინდის უჯრედებიდან მიიღეს პერბიციდებისადმი-ქლორსულფურონი და სულფომეტურონი გამძლე მცენარეები. რუსეთში წარმოებს კვლევითი მუშაობა სისტემური მოქმედების პერბიციდებისადმი გამძლე სხვადასხვა მცენარეთა ჯიშების მისაღებად.

დღეისათვის ტრიაზინის ჯგუფის (ტრიაზინი, ატრაზინი, სიმაზინი და სხვა) პერბიციდებისადმი გამძლე ჯიშების მისაღებად ყველაზე ეფექტურ მეთოდს წარმოადგენს სომატური ჰიბრიდიზაცია. კანადაში, საფრანგეთში და ისრაელში აღნიშნული მეთოდით მიღებულ იქნა ზეთოვანი რაფსის ტრიაზინისადმი გამძლე ჯიშები. გამძლეობის დონორი იყო ჯვაროსანთა ოჯახის ველური წარმომადგენლები. ვეისმანის ინსტიტუტში (ისრაელი) ტრიაზინისადმი გამძლე შავი ძაღლყურძენას ბიოტიპთან სომატური ჰიბრიდიზაციის გზით მიღებულ იქნა კარტოფილის ჯიშ Mirka-ს ტრიაზინისადმი გამძლე ციბრიდი.* ამერიკული კომპანია Ciba-Geigy-ს სპეციალისტების მიერ ჩატარებულ იქნა აღნიშნული მეთოდით მიღებული ატრაზინისადმი გამძლე თამბაქოს მცენარეების წარმატებული სავსელე გამოცდა.

* განმარტება იხ. გვ. 452.

1.7. მიკრობული ცილის, შეუცვლელი ამინომჟავების, შერმენტების, მცენარეთა ზრდის რეგულატორების და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების მიღების ბიოტექნოლოგია

1.7.1. მიკრობული ცილის მიღება

ძალიან დიდი და მრავალმხრივია ცილების მნიშვნელობა ორგანიზმის ცხოველმყოფელობისთვის. მათზე მოთხოვნილება ყოველდღიურად იზრდება. XXI საუკუნის დასაწყისისათვის მსოფლიოში ცილების საერთო მოხმარებამ გადააჭარბა 400 მლნ ტონას. გასული საუკუნის შუა პერიოდში ნათელი გახდა, რომ ადამიანისა და შინაური ცხოველების მზარდი მოთხოვნილების დაკმაყოფილება ტრადიციული გზით მიღებული ანუ მცენარეული და ცხოველური წარმოშობის ცილებით არარეალურია. ასე, FAO-ს შეფასებით 2000 წლისათვის საკვები ცილის მსოფლიო დეფიციტმა მიაღწია 22 მილიონამდე ტონას, ხოლო საჭმელი ცილის – 20 მილიონამდე ტონას. პრობლემის გადასაწყვეტად აუცილებელია არატრადიციული გზების განვითარებაც, რაც გულისხმობს ცილების ხელოვნურად მიღებას ქიმიური ან მიკრობიოლოგიური სინთეზის გზით.

ქიმიური სინთეზის გზით მიღებული ცილა მეტად ძვირადღირებულია. ცილების წარმოების გაზრდის უფრო რეალურ და ეკონომიკურად გამართლებულ გზას წარმოადგენს ცილების მიკრობიოლოგიური სინთეზი. მიკროორგანიზმები, ისე როგორც ყველა სხვა ცოცხალი ორგანიზმი, თავისი ცხოველმყოფელობის პროცესში ასინთეზებს ცილას. მას **მიკრობულ ცილას** უწოდებენ. აღნიშნული ცილა არსებითად განსხვავდება მცენარეული ცილისაგან. ის უფრო ახლოსაა შედგენილობის მიხედვით ცხოველურ ცილასთან და პროცენტული თანაფარდობით მნიშვნელოვნად სჯობნის მცენარეულს. მაგალითად, თუ მცენარეული ცილის ერთ-ერთი ყველაზე ეფექტური და პოპულარული წყარო - სოიო, საშუალოდ შეიცავს 40% ცილას, მიკრობული უჯრედის ნახევარს ან ხშირად ნახევარზე მეტს შეადგენს საკვები ცილა. ამასთან ერთად მიკრობული ცილა უფრო ძვირფასია ბიოლოგიურად – შეიცავს ყველა შეუცვლელ ამინომჟავას. ამიტომ 1 ტონა მიკრობული ცილა 3,5-3,0 ტონა მარცვლოვანების ცილის ექვივალენტურია. გარდა ამისა, მისი მიღება არაა დამოკიდებული კლიმატურ პირობებზე, წლის დროზე, არ საჭიროებს სათეს ფართობებს, წარმოადგენს მაღალინტენსიურს, ექვემდებარება ავტომატიზაციას, ორგანიზება შეიძლება ნებისმიერ ადგილას, სადაც კი არსებობს სუბსტრატი ან ნედლეული და ა.შ.

მიკრობული ცილის მიღების ტექნოლოგია მოიცავს: საკვები არისა და ჩასათესი მასალის მომზადებას, მიკროორგანიზმი-პროდუ-

ცენტის კულტივირებას (ფერმენტაციას), მიკრობული ბიომასის გამოყოფას, შრობას, ბიომასიდან ცილის ექსტრაქციას.

მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის გამოყენებული საკვები ნივთიერებების კომპლექსს **საკვები (საწარმოო) არე ანუ სუბსტრატი** ეწოდება. მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის აუცილებელია ნახშირწყლებით მდიდარი, მაგრამ იაფი სუბსტრატი. ამისათვის შეიძლება გამოყენებულ იქნას: 1) მცენარეული ნედლეულის გადამუშავების ნარჩენები (ცელულოზა, მერქანი, სულფიტური თუთქი, სიმინდის ფუჩეჩი, მზესუმზირას ჩენჩო, ჩაის, ციტრუსების ნარჩენები და სხვა); 2) კვების მრეწველობის ნარჩენები (მარცვლეულის, კარტოფილის, მელასას ბადაგი, სპირტის ქარხნების თხლე, ღურღო და სხვა); 3) გაზისა და ნავთობის გადამუშავების პროდუქტები (პარაფინები, დისტილატები).

მიკრობული ცილის წარმოებაში ყველაზე დიდ ინტერესს იწვევს მცენარეული ნედლეული, რომელიც ამ მიზნით პრაქტიკულად შეუზღუდავ რესურსს წარმოადგენს. მცენარეული ბიომასის ყოველწლიური ნამატი 155 მლრდ ტონაზე მეტს შეადგენს. მისი გადამუშავებისას წარმოიქმნება დიდი რაოდენობის ნარჩენი. ფრანგი სპეციალისტების გაანგარიშებით მცენარეულ ნარჩენში არსებული ნახშირწყლების მსოფლიო რესურსი შეადგენს 585 მლნ ტონას. წინასწარი დამუშავების (მჟავით, ტუტით, გამსხნელებით) შემდეგ, მათი მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის სუბსტრატად გამოყენება მნიშვნელოვნად შეუწყობს ხელს ცილის პრობლემის გადაწყვეტას. გასული საუკუნის 60-იანი წლების ბოლოდან მიკრობული ცილის მისაღებად გამოიყენება ნედლეულის ახალი სახე – ნავთობის თხევადი პარაფინები (n-პარაფინები), რომლებსაც სხვებთან შედარებით გარკვეული უპირატესობები გააჩნიათ: სიაფე, კარგი შენახვის უნარი, სტაბილური ქიმიური შედგენილობა და სხვა. პირველად მსოფლიოში n-პარაფინების ნედლეულზე მომუშავე ცილა-ვიტამინური კონცენტრატების მწარმოებელი ქარხანა აშენებულ იქნა რუსეთში 1967 წელს. ამჟამად დამუშავებულია არასტერილურ პირობებში საფუარების კულტივირების მაღალეფექტური ტექნოლოგია, რომლის მიხედვითაც ღებულობენ 60-62% პროტეინის, 18%-მდე ნახშირწყლების, 16%-მდე ლიპიდების შემცველ საკვებ ცილას (კომერციული სახელწოდება “პაპრინი”).

მიკრობული ცილის მისაღებად შეიძლება გამოყენებულ იქნას შემდეგი მიკროორგანიზმები: საფუარები – *Candida*, *Rodotorula*, *Torulopsis* და სხვა; ბაქტერიები – *Micrococcus*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Micobacterium* და სხვა; მიკრომიცეტები (მიკროსკოპული სოკოები) – *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Penicillium* და სხვა; აქტინომიცეტები (სხივური სოკოები) – *Streptomyces*, *Actinomyces* და სხვა. მსხვილ ბიოტექნოლოგიურ საწარმოებში ძირითადად გამოყენებულია საფუარები, სოკოები და ბაქტერიები. ტექნოლოგიური თვალსაზრისით საუკეთესო

სოს წარმოადგენს საფუარები, რადგანაც ადვილია მათი გამოზრდა წარმოების პირობებში, გამოირჩევიან ზრდის მაღალი სიჩქარით, უცხო მიკროფლორისადმი გამძლეობით, შეუძლიათ გამოიყენონ პრაქტიკულად ნებისმიერი კვების წყარო, ადვილად ილეკებიან, არ აბინძურებენ ჰაერს სპორებით. საფუარების უჯრედები შეიცავს 20-25% მშრალ ნივთიერებას. საფუარების ცილა საკმაო რაოდენობით შეიცავს შეუცვლელ ამინომჟავებს. ვიტამინების შემცველობითაც ისინი სჯობნიან ყველა სხვა ცილოვან საკვებს, მათ შორის თევზის ფქვილსაც. გარდა ამისა, საფუარების უჯრედები მდიდარია მიკროელემენტებითა და ცხიმებით.

მიკრობული ცილის მიღების ეფექტური ტექნოლოგიის ერთ-ერთ ძირითად ელემენტს წარმოადგენს მაღალპროდუქტიული პროდუცენტი შტამების მიღება. ამ საქმეში მუშაობის ძირითად კრიტერიუმს წარმოადგენს დიდი მოცულობის ბიომასის სწრაფი დაგროვება, ცილის მაქსიმალური სინთეზი და სუბსტრატის ეკონომიური გამოყენება. დღეისათვის ამ მიმართულებით მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყნის მეცნიერების მიერ მოპოვებულია გარკვეული წარმატებები.

მიკროორგანიზმების კულტივირება (ფერმენტაცია) წარმოებს სიღრმეული და ზედაპირული მეთოდით. სიღრმეული კულტივირება შეიძლება იყოს წყვეტილი და უწყვეტი ტიპის. ჟანგბადის გამოყენების მიხედვით ფერმენტაცია მიმდინარეობს აერობულ და ანაერობულ პირობებში. სამრეწველო მასშტაბით მიკრობული ცილის მიღებისას უფრო გამოყენებულია სიღრმეული, უწყვეტი ტიპის კულტივირება. ამ დროს მიკროორგანიზმების ზრდა-განვითარება წარმოებს თხევად საკვებ არეში დიდი მოცულობის ბიორეაქტორებში – ფერმენტატორებში, სადაც საკვები არის მიწოდება ხდება განუწყვეტლივ, იგივე მოცულობის სითხის გამოყოფით.

საბოლოო პროდუქტის მისაღებად იყენებენ მიკრობული ბიომასის კულტურალური სითხიდან გამოყოფის, შრობისა და ცილის ექსტრაქციის სხვადასხვა მეთოდებს (ფერმენტატული დამუშავება, უჯრედის კედლის მექანიკური დაშლა, ცენტროფუგირება, ექსტრაქცია და სხვა).

საკვები მიკრობული ცილის სამრეწველო მიღება დაწყებულ იქნა XX საუკუნის 30-40-იან წლებში. პირველი ქარხნები მუშაობდა მერქნის ჰიდროლიზატებზე, სასოფლო-სამეურნეო ნარჩენებზე და სულფიტურ თუთხაზე. ამჟამად მსოფლიოში საკვები ცილის ყოველწლიური წარმოება რამოდენიმე მილიონ ტონას აღემატება, რაც დაახლოებით 20-ჯერ მეტი კომბინირებული საკვების გამდიდრების საშუალებას იძლევა.

მიკრობიოლოგიური სინთეზი პერსპექტიულია ასევე ადამიანის საჭმელად ვარგისი ცილის წარმოებისთვისაც. დღეისათვის მსოფლი-

ოს მრავალ ქვეყანაში წარმატებით დებულობენ ადამიანის საჭმელად ვარგის ცილას და მას ეფექტურად იყენებენ სხვადასხვა სახის ხელოვნური საკვები პროდუქტების დამზადებაში. მაგალითად, აშშ-ში ეთანოლის საკვებ არეზე გამოზრდილი საფუარებიდან დებულობენ ადამიანისათვის გათვალისწინებულ საჭმელ ცილას. საფრანგეთში მზადდება რძის შრატის ლაქტატზე კულტივირებული საფუარებიდან მიღებული ცილოვანი პროდუქტი “პროტინელი”, რომელიც განკუთვნილია ადამიანის საკვებად. დიდ ბრიტანეთში უნიკალური ცილის საფუძველზე დამუშავებულია ახალი საკვები პროდუქტი “ქვორნი” და ა.შ.

1.7.2. შეუცვლელი ამინომჟავების მიღება

ამინომჟავების წარმოება მიეკუთვნება ბიოტექნოლოგიის ერთ-ერთ მოწინავე სფეროს. ამინომჟავები ძალიან დიდ როლს ასრულებენ ორგანიზმის ცხოვრებაში. მათი ფიზიოლოგიური როლი მდგომარეობს იმაში, რომ ისინი შედიან ცილების მოლეკულების შედგენილობაში. ამინომჟავები ფართოდ გამოიყენება კვებისა და ქიმიურ მრეწველობაში, როგორც პროდუქტების გემური თვისებების გამაუმჯობესებელი ფაქტორები, სამკურნალო პრეპარატების, სინთეტიკური ტყავისა და ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებების წარმოებაში, კოსმეტიკაში, მედიცინაში როგორც თერაპევტული საშუალება და ბოლოს, მეცხოველეობაში როგორც ცხოველის კვების რაციონის გასაუმჯობესებელი საკვები დანამატები.

ამინომჟავების უმეტესობა სინთეზირდება ადამიანისა და ცხოველის ორგანიზმში, მაგრამ ზოგიერთი მათგანი – ვალინი, იზოლეიცინი, ლეიცინი, ჰისტიდინი, ლიზინი, არგინინი, მეთიონინი, ტრიპტოფანი, ტრეონინი და ფენილალანინი წარმოადგენს შეუცვლელს, რადგანაც არ სინთეზირდებიან აღნიშნულ ორგანიზმებში და ისინი აუცილებლად გარედან უნდა მიეწოდოს საკვებთან ერთად. ამ ამინომჟავების უკმარისობისას ცილის სინთეზი შეუძლებელი ხდება. ეს იწვევს ადამიანისა და ცხოველის კვების ეფექტურობის დაქვეითებას. შეუცვლელი ამინომჟავებით დაუბალანსებელი ჭარბი ცილა ორგანიზმში გამოიყენება უბრალოდ როგორც ენერგეტიკული მასალა.

სხვადასხვა მცენარეულ საკვებში ცილის სრულფასოვნება სხვადასხვაა. უმეტესი საკვების ცილა მცირე რაოდენობით შეიცავს შეუცვლელ ამინომჟავებს, განსაკუთრებით ლიზინს, მეთიონინსა და ტრიპტოფანს (მათ მეცხოველეობის მუშაკები კრიტიკულს უწოდებენ). მცენარეულ ცილებში შეუცვლელი ამინომჟავების შემცველობის ასაზღვრებლად სელექციონერები იძულებული არიან ჩაატარონ რთული და ძვირადღირებული სელექციური მუშაობა. მაგრამ იგი გენეტიკურად მკაცრად განსაზღვრული ნიშანია, ამიტომ ამ ამინომჟავების შემ-

ცველობის თუნდაც 0,1%-ით გაზრდა უდიდესი შრომით მოიპოვება. გარდა ამისა, სელექციის დროს ხშირად მიიღება მცენარეთა შესუსტებული ფორმები, რომლებიც ძლიერ ზიანდებიან დაავადებებისა და განსაკუთრებით მავნებლებისაგან.

მცენარეული საკვების ბალანსირების უფრო ეფექტურ და მარტივ გზას რაციონში შეუცვლელი ამინომჟავების შეტანა წარმოადგენს. ასე, რაციონში 0,15-0,3% ლიზინის დამატება ხორბლის მარცვლის კვებით ღირებულებას ზრდის 1,5-3 ჯერ, შვრიის – 1,5 ჯერ, სიმინდის – 2 ჯერ. შეუცვლელი ამინომჟავების ღირებულისა და წიწილების კომბინირებულ საკვებში დამატება 10%-ით საკვების შემცირების და 10-15%-ით ცხოველების პროდუქტიულობის გაზრდის საშუალებას იძლევა. ამიტომ ამინომჟავების პრაქტიკული გამოყენების მთავარ ამოცანას საკვების გამდიდრება წარმოადგენს. ამ მიზნით გამოყენებულია მრეწველობაში წარმოებული ამინომჟავების ნახევარზე მეტი.

წარმოებაში ამინომჟავები შეიძლება მიღებული იქნას 3 ხერხით: 1) ბუნებრივი ცილაშემცველი ცხოველური და მცენარეული ნედლეულის პიდროლიზით, 2) ქიმიური სინთეზით, 3) მიკრობიოლოგიური (მიკრობული) სინთეზით. პირველი ხერხი ყველაზე ძველი და ყველაზე ნაკლებ ეფექტურია. მის უარყოფით მხარეს წარმოადგენს მიღებული ამინომჟავების მაღალი ღირებულება, ნედლეულის რესურსების შეზღუდულობა და სხვა. მეორე ხერხი საკმაოდ ეფექტურია. იგი ნებისმიერი სტრუქტურის ნაერთის მიღებისა და მაღალი დონის ავტომატიზაციის მქონე წარმოების ორგანიზაციის საშუალებას იძლევა. მაგრამ გააჩნია სერიოზული ნაკლოვანებები: პროცესის მრავალსტადიურობა, რთული აპარატურის გამოყენება, მნიშვნელოვანი დანახარჯები და ყველაზე მთავარი-რაცმატული* ფორმის ამინომჟავების მიღება. აღნიშნული მეთოდი რენტაბელურია მხოლოდ იმ შემთხვევაში, როცა ამინომჟავები რაცმატული პროდუქტის სახით გამოიყენება.

ამინომჟავების წარმოების ყველაზე უფრო პერსპექტიულ და ეკონომიურად მომგებიან ხერხს წარმოადგენს ამინომჟავების ბიოტექნოლოგიური მიღება მიკრობული სინთეზის გზით. აღნიშნული ხერხით შესაძლებელია თითქმის ყველა ამინომჟავის მიღება. ბიოტექნოლოგიური ხერხის პრინციპი ნახშირწყლების, მინერალური მარილებისა და ზრდის ნივთიერებების შემცველ თხევად საკვებ არეში პროდუცენტი მიკროორგანიზმების აერობულ კულტივირებაში მდგომა-

* რაცმატები ეწოდება ამინომჟავების ოპტიკური იზომერების ე.ი. D- და L-ამინომჟავების ნარევის. ქიმიური სინთეზის დროს წარმოიქმნება რაცმატული ნარევი ამინომჟავების D- და L-იზომერების თანაბარი რაოდენობით. ცხოველების ორგანიზმში გამოიყენება მხოლოდ L-ამინომჟავა. D- ამინომჟავას არ გააჩნია ბიოლოგიური აქტიურობა და არ მონაწილეობს ცხოველური ცილის ბიოსინთეზში. ჯერჯერობით არ არის დამუშავებული რაცმატების იზომერებად დაყოფის ეფექტური და იაფი მეთოდები.

რეობს. ამ ხერხს გააჩნია რიგი უპირატესობა. პროდუცენტების აქტიური შტამებისა და იაფი ნედლეულის არსებობისას შესაძლებელია დაბალი თვითღირებულების, პრაქტიკულად განუსაზღვრელი რაოდენობის ამინომჟავების სინთეზი. ფერმენტაციის პროცესში უშუალოდ L-ამინომჟავები მიიღება. გარდა, ამისა იგი ნაკლებსტადიურია და არ საჭიროებს რთულ აპარატურას.

მიკრობული სინთეზის გზით პირველად ამინომჟავები მიღებულ იქნა იაპონიაში XX საუკუნის 50-იან წლებში. უკანასკნელ პერიოდში დამუშავებულია, კონკრეტული ამინომჟავის სინთეზზე პასუხისმგებელი გენების რიცხვის გადიდებით (გენების ამპლიფიკაციის მეთოდი) ან ამინომჟავების მასინთეზირებელი გენის უფრო ეფექტური პრომოტორის კონტროლის ქვეშ მოთავსებით პროდუცენტი შტამების პროდუქტიულობის გაზრდის გენეტიკურ-ინჟინრული მეთოდები.

ცხოველების საკვები ამინომჟავების წარმოების ყოველწლიური მოცულობა მსოფლიოში 300 ათას ტონაზე მეტს შეადგენს. მათ შორის ყველაზე მეტი რაოდენობით ღებულობენ ლიზინს, შემდეგ მეთიონინს, ტრეონინს და ა.შ.

საპშეპი ლიზინის მიღება. ლიზინი შედის მცენარეული და ცხოველური წარმოშობის ცილების შედგენილობაში. ბუნებაში იგი მხოლოდ მცენარეებისა და მიკროორგანიზმების მიერ სინთეზირდება. ცხოველურ ორგანიზმებს ლიზინის წარმოქმნა არ შეუძლიათ. ცხოველის ქსოვილების ცილებში ლიზინის შემცველობა შეადგენს 7,1-9,1%. ლიზინი ორგანიზმში არა მარტო ცილის სტრუქტურულ ელემენტს წარმოადგენს, არამედ ასრულებს რიგ მნიშვნელოვან ბიოქიმიურ ფუნქციებსაც: არის კაროტინისა და ოქსალიზინის წინამორბედი, ხელს უწყობს კალციუმისა და სტრონციუმის ტრანსპორტს უჯრედში, აუმჯობესებს საჭმლის მომწელებელი ფერმენტების სეკრეციას და ა.შ.

მოელ მსოფლიოში საკვებ ლიზინს ბიოტექნოლოგიური გზით ღებულობენ, რადგანაც სხვა ხერხები მიუღებელია. მიკროორგანიზმების გამოყენებით ლიზინის მიღების პირველი საწარმოები შექმნილ იქნა იაპონიაში XX საუკუნის 50-იანი წლების შუა პერიოდში. იაპონიის გარდა, ლიზინის მსხვილ მწარმოებლებს წარმოადგენენ საფრანგეთი, მექსიკა, ესპანეთი, აშშ და რუსეთი.

ლიზინის ბიოტექნოლოგიური წარმოება მოიცავს შემდეგ ძირითად ეტაპებს: 1) საკვები არის მომზადება და სტერილიზაცია, 2) ჩასათესი მასალის მიღება, 3) მთავარი ფერმენტაცია, 4) ფერმენტაციის პროდუქტების გამოშრობა და ლიზინის პრეპარატული ფორმის მომზადება.

ლიზინის მისაღები საკვები არე მზადდება მეღასის, სიმინდის ექსტრაქტის, ამონიუმის მარილებისა და კალიუმის ფოსფატისაგან. სიმინდის ექსტრაქტი შეიძლება შეიცვალოს საფუარების ჰიდროლი-

ზაბით, კარტოფილის უჯრედის წველის კონცენტრატით ან ხორბლის ქატოს გამონაწურით.

ლიზინის სამრეწველო მიღების ძირითად პროდუცენტებს წარმოადგენენ *Micrococcus*-ის, *Corynebacterium*-ის, *Brevibacterium*-ის გვარის ბაქტერიები. თავიდან ბაქტერიულ კულტურას ამრავლებენ კოლბებში სანჯღრეველაზე, შემდეგ – ფერმენტატორებში. ჩასათესი მასალის გამოზრდის ხანგრძლივობა ყოველ ეტაპზე დაახლოებით 24 საათია. ჩასათესი მასალის მოცულობა შეადგენს 5-10%. დღეისათვის გენეტიკური ინჟინერიის გზით მიღებულია ზემოთ აღნიშნული ბაქტერიების ზოგიერთი მაღალპროდუქტიული შტამები.

ლიზინის ბიოსინთეზი ტარდება 50-100მ³ მოცულობის ჩვეულებრივი ტიპის ფერმენტატორებში. მთავარი ფერმენტაცია მიმდინარეობს 50-70 საათი კულტივირების, უწყვეტი ან ნახევრად უწყვეტი რეჟიმის პირობებში (ოპტიმალური ტემპერატურა 30-33°C; PH 7,4).

ფერმენტაციის დამთავრებისას კულტურალური სითხე შეიცავს 10-13% მშრალ ნივთიერებას, მათ შორის 2-3% ლიზინს, 0,8-1,8% ბაქტერიულ ბიომასას. მისგან შემდეგ დებულობენ ლიზინის სამ პრეპარატულ ფორმას: თხევად კონცენტრატს, მშრალ საკვებ კონცენტრატს და კრისტალურ ლიზინს.

ლიზინის თხევადი კონცენტრატის მისაღებად ჯერ ახდენენ კულტურალური სითხის შემაჯავბას და სტაბილიზირებას, შემდეგ აორთქლებას ვაკუუმ-ამაორთქლებელ აპარატებში მშრალი ნივთიერების 40-50%-მდე. ასეთი კონცენტრატი შეიცავს 7-12% ლიზინს. იგი კარგად ინახება 3-4 თვის განმავლობაში. მოხერხებულია მისი გადატუმბვა, ავტო- და რკინიგზის ცისტერნებით ტრანპორტირება, საკვების ლიზინით გამდიდრებისას მექანიზაციისა და ავტომატიზაციის ფართოდ გამოყენება.

ლიზინის მშრალ საკვებ კონცენტრატს დებულობენ ლიზინის თხევადი კონცენტრატის გაუწყლოებით. ამისათვის მას უმატებენ მშრალ შემავსებელს, მაგალითად, ხორბლის ქატოს და აშრობენ სპეციალურ გამფრქვევ საშრობებში ტენის 5-6% შემცველობამდე, პროდუქტს აფასობენ გრანულების სახით და შეიცავს 10%-ზე მეტ ლიზინს.

საკვები დანიშნულების კრისტალურ ლიზინს დებულობენ კულტურალური სითხიდან. ფილტრატს ატარებენ იონგაცვლით დანადგარში, სადაც ხდება ლიზინის სორბაცია. 0,5-5,0%-იანი ამიაკური წყლით დესორბაციის შემდეგ ხსნარს აორთქლებენ ვაკუუმ-აპარატში 60°C ტემპერატურის პირობებში ლიზინის 30-50% შემცველობამდე. შემდეგ ხდება პროდუქციის კრისტალიზაცია, ფილტრაცია ან ცენტროფუგირება და საბოლოოდ მიიღება პრეპარატი, რომელიც შეიცავს 94-95% ლიზინის მონოქლორიდრატს.

1.7.3. ფერმენტების მიღება

თანამედროვე ბიოტექნოლოგიაში ერთ-ერთი თვალსაჩინო ადგილი უკავია ფერმენტებს – ბიოლოგიური წარმოშობის კატალიზატორებს (რეაქციათა წარმმართველებს).

ფერმენტები აკატალიზებენ (წარმართავენ) ათასობით რეაქციებს, რომლებიც საერთო მიღებული კლასიფიკაციით მიეკუთვნება ექვს ტიპს: 1) ჟანგვა და აღდგენა (ოქსირედუქტაზები), 2) ქიმიური ჯგუფების ერთი მოლეკულიდან მეორეში გადატანა (ტრანსფერაზები), 3) ჰიდროლიზი (ჰიდროლაზები), 4) რეაქციები ორმაგი ბმებით – ჯგუფის მიერთება ორმაგი ბმით ან პირიქით, ჯგუფის მოხლეჩა ორმაგი ბმის წარმოქმნით (ლიაზები), 5) იზომერიზაცია ანუ ერთი მოლეკულის ფარგლებში სტრუქტურული ცვლილება (იზომერაზები), 6) რთული ნაერთების სინთეზი (ლიგაზები).

ფერმენტები წარმოადგენენ ცილებს ან ცილებთან დაკავშირებულ ორგანულ ან არაორგანულ ნაერთთა კოპლექსებს, რომელთა სინთეზი შეუძლიათ მხოლოდ ცოცხალ ორგანიზმებს. მათ მნიშვნელოვან თავისებურებას წარმოადგენს ძალიან მაღალი მაკატალიზებელი აქტიურობა – უმნიშვნელო რაოდენობის ფერმენტის (10^{-7} – 10^{-8} მოლი) დამატებას შეუძლია რეაქციის 10^{10} -ჯერ დაჩქარება და მოქმედების სელექტიურობა – აკატალიზებენ მხოლოდ გარკვეული ნივთიერებების გარდაქმნას.

პირველად ფერმენტები მიღებულ იქნა 1884 წელს იაპონიაში. ფერმენტული მრეწველობის სერიოზული განვითარება იწყება XX საუკუნის შუა პერიოდიდან. ამჟამად აღწერილია 3000-ზე მეტი ფერმენტი, მათ შორის გამოყენებითი მნიშვნელობა გააჩნია დაახლოებით 100-ს. თანამედროვე ტექნოლოგიურ პროცესებში ყველაზე მეტი პრაქტიკული გამოყენება აქვთ ჰიდროლაზებს. ფერმენტები ფართოდ გამოიყენება მრეწველობის სხვადასხვა დარგში, განსაკუთრებით კვების, მსუბუქ და გადამამუშავებელ მრეწველობაში, მედიცინაში, სოფლის მეურნეობაში და ა.შ.

სოფლის მეურნეობაში ფერმენტები ძირითადად გამოყენებულია საკვების დამზადებაში, ცხოველების გამოკვებაში და მცენარეთა დაცვაში. ფერმენტები დანამატების სახით შეაქვთ ცხოველთა კვების რაციონში. საკვებთან ერთად ცხოველის ორგანიზმში მოხვედრისას ისინი არსებითად აუმჯობესებენ საკვების კომპონენტების მონელების პროცესებს და მნიშვნელოვან გავლენას ახდენენ მიკრობიოლოგიურ პროცესებზე საჭმლის მომნელებელ სისტემაში. ფერმენტები გამოყენებულია საკვების დამზადებაში, კერძოდ, ძნელად დასასილოსებელი ან ამ თვისების საერთოდ არ მქონე მწვანე საკვების დასილოსებაში. ფერმენტის შეყვანა უზრუნველყოფს პოლისაქარიდების ჰიდროლიზს, რაც მნიშვნელოვნად აუმჯობესებს საკვების ხარისხს და მათ შეთვისებას ცხოველების მიერ. ამ მიმართულებით ფერმენტების გამოყენება

დღეისათვის არაუტილიზირებადი მცენარეული ნარჩენების ხარჯზე საკვები ბაზის მნიშვნელოვნად გაფართოების შესაძლებლობას იძლევა. ფერმენტები აქტიურადაა გამოყენებული მავნებლებისაგან მცენარეთა დაცვის პრაქტიკაში. ასე მაგალითად, ფერმენტ ქიტინაზას უმატებენ მავნე მწერების საწინააღმდეგო ბაქტერიულ პრეპარატებს. ფერმენტი მოქმედებს მწერის ქიტინოვან საფარველზე და ამით ბაქტერიებს უადვილებს მავნებლის სხეულის შიგნით შეღწევას.

ხანგრძლივი დროის განმავლობაში ფერმენტების პრაქტიკულ გამოყენებას ხელს უშლიდა ისეთი ფაქტორები, როგორიცაა მისაწვდომობა, სტაბილურობა და ტექნოლოგიურობა. ადრე ფერმენტებს მხოლოდ სხვადასხვა ცხოველისა და მცენარის ქსოვილებიდან ღებულობდნენ. მაგრამ აღნიშნული ხერხით ფერმენტული პრეპარატების ფართომასშტაბიანი წარმოება ნედლეულის ბაზის შეზღუდულობის გამო აწყდებოდა ღიდ სიძნელებებს. ამჟამად ბიოტექნოლოგიის მეთოდებით ფერმენტების გამოყენების საქმეში ყველა წინააღმდეგობა დაძლეულია. ფერმენტების წარმოების ბიოტექნოლოგიური ხერხი დაფუძნებულია იმაზე, რომ მათი მიღების პრაქტიკულად შეუზღუდავ წყაროს წარმოადგენს მიკროორგანიზმები, რომელთაც დღეისათვის ცნობილი თითქმის ყველა ფერმენტის პროდუქციების უნარი გააჩნიათ.

ფერმენტების წყაროდ მიკროორგანიზმების გამოყენებას, ტრადიციულ წყაროსთან შედარებით, გააჩნია რიგი არსებითი უპირატესობა. ეს პირველ რიგში სითაფეში, მისაწვდომობაში და მიღებული პრეპარატების მაღალ აქტიურობაში მდგომარეობს.

ფერმენტების მიღების ბიოტექნოლოგიური პროცესი, ცილების მიღების ანალოგიურად, მოიცავს მუშაობის შემდეგ ძირითად ეტაპებს: პროდუცენტის ჩასათესი მასალის მიღება, საკვები არის მომზადება და სტერილიზაცია, პროდუცენტი მიკროორგანიზმის კულტივირება, ფერმენტული პრეპარატების სასაქონლო ფორმის მიღება.

პროდუცენტი მიკროორგანიზმების აქტიურ შტამებს ღებულობენ სხვადასხვა ხერხებით. პირველ რიგში ბუნებრივი პირობებიდან გამოყოფილი ფორმების სელექციით. მაღალპროდუქტიული შტამების შექმნის მძლავრ ხერხს წარმოადგენს გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდები. ასე მაგალითად, იაპონელმა მეცნიერებმა გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით ბაქტერია *Bacillus subtilis*-დან ფერმენტ α -ამილაზას გამოსავლიანობის 200-ჯერ გადიდებას მიაღწიეს. ფერმენტის მისაღებად ყველაზე მეტად იყენებენ *Bacillus*, *Aspergillus*, *Trichoderma* და სხვა გვარის მიკროორგანიზმებს.

ფერმენტული პრეპარატების მისაღებად პროდუცენტ მიკროორგანიზმებს კულტივირებენ მყარ ან თხევად საკვებ არეებზე. ნახშირბადის წყაროდ იყენებენ ნახშირწყლებს, სპირტებს, კარბონის მჟავებს, ნახშირწყალბადებს. აზოტის წყაროდ გამოყენებულია როგორც ორგანული (ცილები, პეპტიდები, ამინომჟავები), ისე არაორგანული

(ამიაკი, ამონიუმის მარილები) ნივთიერებები, აგრეთვე ატმოსფერული აზოტი. ფოსფორზე მიკროორგანიზმების მოთხოვნილების დაკმაყოფილება ხდება ფოსფატებით, ხოლო მაკრო- და მიკროელემენტებზე – არაორგანული ნივთიერებების მარილებით.

პროდუცენტი მიკროორგანიზმების კულტივირება ხდება ზედაპირული ან სიღრმული მეთოდებით. ზედაპირული მეთოდის დროს პროდუცენტის კულტურა იზრდება მყარი, ტენიანი საკვები არის ზედაპირზე. საკვებს უჯრედები ამ არეში არსებული ნივთიერებებიდან, ხოლო სუნთქვისათვის ჟანგბადს – ჰაერიდანღებულბენ. ამიტომ ჟანგბადით მათი ნორმალური უზრუნველყოფისათვის აუცილებელია ფხვიერი სტრუქტურის, ძალიან მცირე სისქის საკვები არის გამოყენება. ეს კი იწვევს ფხვიერი საკვები არის ჰაერთან კონტაქტის დიდი ზედაპირის არსებობის აუცილებლობას, რაც მექანიზაციის უქონლობისას ხელით შრომის დიდ დანახარჯებს მოითხოვს. კულტივირების სიღრმული მეთოდი სპეციალურ ბიორეაქტორებში-ფერმენტატორებში, თხევად საკვებ არეში, მიკროორგანიზმების კულტივირებაში მდგომარეობს. იგი ტექნიკურად უფრო სრულყოფილია, ვიდრე ზედაპირული, რადგანაც ადვილად ექვემდებარება მექანიზაციასა და ავტომატიზაციას. გარდა ამისა წარმოების დიდ მასშტაბებში გადასვლა აქ გაცილებით მარტივად და ადვილად შეიძლება. კულტივირების მთელი პროცესი მიმდინარეობს მკაცრად ასეპტიკურ პირობებში, რაც ერთი მხრივ, წარმოადგენს მეთოდის უპირატესობას, ხოლო მეორე მხრივ – ქმნის უდიდეს ტექნიკურ სირთულეს, რადგანაც ასეპტიკის მცირედი დარღვევა ზოგჯერ ფერმენტის წარმოქმნის სრულ შეწყვეტას იწვევს.

მიკროორგანიზმების მიერ სინთეზირებული ფერმენტები იყოფა: **უჯრედგარეთა** (ანუ ფერმენტები, რომლებიც წარმოადგენენ მეტაბოლიზმის უჯრედგარეთა პროდუქტებს და ლოკალიზებული არიან საკვებ არეში) და **უჯრედშიდა** (ანუ ფერმენტები, რომლებიც წარმოადგენენ მეტაბოლიზმის შიგაუჯრედულ პროდუქტებს და ლოკალიზებული არიან უჯრედის რომელიმე ორგანელში) **ფერმენტებად**. წარმოების თვალსაზრისით უფრო საინტერესოს წარმოადგენს პირველი. უჯრედგარეთა ფერმენტებსღებულბენ მიკრობული ბიომასიდან წინასწარ მოცილებული კულტურალური სითხიდან. უჯრედშიდა ფერმენტების მისაღებად აუცილებელი მიკრობის უჯრედული გარსის დაშლა, ფერმენტის გამოყოფა, გაწმენდა და სასაქონლო ფორმის მიცემა – მეტად შრომატევადი და ძვირადღირებული პროცესია. ამისათვის იყენებენ სხვადასხვა ხერხებს: ექსტრაქცია, მყარი ფაზის მოცილება, ფერმენტული ხსნარების კონცენტრირება, ულტრაფილტრაცია, ორგანული გამხსნელებით დაღეჟვა და ა.შ.

კომერციული ფერმენტული პრეპარატები იყოფა ორ ტიპად: **ტექნიკური (გაუწმენდავი)**, და **მადალი სიწმინდის (ზეგაწმენდილი)**. პირველი ტიპის პრეპარატები გარდა ძირითადი ფერმენტისა, რომლის

მოცულობა შეიძლება 20%-ს არ აღემატებოდეს, შეიცავენ სხვა ტიპის ფერმენტებსა და არააქტიურ ცილებს. მეორე ტიპის პრეპარატებში ძირითადი ფერმენტის მოცულობა 80%-ზე მეტია.

ამჟამად წარმოება სარეალიზაციოდ ამზადებს ფერმენტულ პრეპარატებს: ამილოსუბტილინი, პროტოსუბტილინი (პროდუცენტი *Bacillus subtilis*; წარმოადგენენ ამილაზური, პროტეოლიტური და სხვა სახის ფერმენტთა კომპლექსს), ცელოვირიდინი (პროდუცენტი სოკო *Trichoderma viride*; შეიცავს ძნელად შესათვისებელი ნახშირწყლების მაჰიდროლიზებულ ფერმენტთა კომპლექსს), პექტოფოსტიდინი (პროდუცენტი სოკო *Aspergillus factidus*; შეიცავს პექტინოლიტურ ფერმენტებს) და სხვა.

1.7.4. მცენარეთა ზრდის რეგულატორების მიღება

ბიოტექნოლოგიის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ამოცანას მცენარეთა ზრდის რეგულატორების მიღება და გამოყენება წარმოადგენს. აღნიშნული ნივთიერებები, რომლებიც წარმოადგენენ ბუნებრივი და სინთეტიკური ორგანული ნაერთების (5 ათასზე მეტი) ფართო ჯგუფს, ძალიან მცირე დოზებში აქტიურად მოქმედებენ უმაღლესი მცენარეების ნივთიერებათა ცვლაზე და იწვევენ მათი ზრდისა და განვითარების მნიშვნელოვან ცვლილებას.

მცენარეთა ზრდის რეგულატორების მნიშვნელოვანი წარმომადგენლებია **ფიტოჰორმონები**. ისინი გამოირჩევიან მაღალი ფიზიოლოგიური აქტიურობით, მცირე რაოდენობით წარმოიქმნებიან მცენარის ერთ რომელიმე ნაწილში, ჩვეულებრივ ტრანსპორტირდებიან მის სხვა ნაწილში, იწვევენ სპეციფიკურ ზრდისა და ფორმათაწარმოქმნის პროცესებს. ისინი დიდად განსაზღვრავენ ისეთ მნიშვნელოვან ფიზიოლოგიურ პროცესებს, როგორიცაა სხვადასხვა ორგანოების ზრდა და ფორმირება, ყვავილობის დრო, მამრობითი და მდედრობითი ყვავილების თანაფარდობა, კვირტების შესვენების მდგომარეობაში გადასვლა, ნაყოფების მომწიფების დაჩქარება ან შენელება, მცენარეების არახელსაყრელი კლიმატური პირობებისადმი გამძლეობის გადიდება, სამეურნეოდ მნიშვნელოვან ორგანოებში საკვები ნივთიერებების გადანაწილება და ა.შ. ფიტოჰორმონებს მიეკუთვნება **აუქსინები, ციტოკინინები, ჰიბერელინები, აბციზინის მჟავა და ეთილენი**.

დღეისათვის ბიოტექნოლოგიური გზით დებულობენ ჰიბერელინებს, ციტოკინინებს, აბციზინის მჟავას და სხვა.

ჰიბერელინები ახდენენ ვეგეტაციური ზრდის სტიმულირებას უჯრედების გაყოფისა და გაჭიმვის პროცესების გააქტიურების შედეგად, აჩქარებენ თესლების აღმოცენებას, ინდუცირებენ ზოგიერთი მცენარის ყვავილობას, ხელს უწყობენ პართენოკარპული ნაყოფების

წარმოქმნას, ზრდიან მამრობითი სქესის ყვავილების წარმოქმნას, ააქტიურებენ მრავალი ფერმენტის მოქმედებას და ა.შ.

ჰიბერელინის ძირითად პროდუცენტს მრავალი სასოფლო-სამეურნეო კულტურის, ძირითადად მარცვლოვანების, დაავადების გამომწვევი სოკო – *Gibberella fujikoroi* წარმოადგენს. აღნიშნული სოკო ძირითადად ასინთეზებს ჰიბერელინ A_3 -ს (ჰიბერელინის მჟავა), რომელიც პრაქტიკაში გამოყენებული პრეპარატების ძირითადი კომპონენტია. ჰიბერელინის მაპროდუცირებელი სოკოს რასებს ძირითადად მცენარეულ დან დებულობენ.

ჰიბერელინების სინთეზის უნარი გააჩნია აგრეთვე სხვა მიკროორგანიზმებსაც: სოკოებს – *Sphaceloma manihoticola*, *Collybia canigene*, *Agaricus bisporus* და სხვა; აქტინომიცეტებს – *Actinomyces chromogenes*, *Actinomyces flavus* და სხვა; ბაქტერიებს – *Azotobacter*, *Agrobacterium* და სხვა.

ჰიბერელინების ბიოტექნოლოგიურ მიღებას აზოტის წყაროდ აზოტმჟავა ამონიუმის, ხოლო ნახშირბადის წყაროდ – ცხიმების ან ცხიმჟავების შემცველ ხელოვნურ საკვებ არეზე პროდუცენტების ხანგრძლივი სიღრმული ფერმენტაციის პირობებში ახდენენ. ჰიბერელინები მიეკუთვნება უჯრედგარეთა მეტაბოლიტებს, მათ გამოჰყოფენ კულტურალური სითხიდან. ამ დროს იყენებენ სხვადასხვა ხერხს: გააქტივებულ ნახშირზე სორბცია, იონგაცვლითი ქრომატოგრაფია, ექტრაქცია, დალექვა. ჰიბერელინის მაქსიმალური კონცენტრაცია კულტურალურ სითხეში აღწევს 2 გრ/ლ პრეპარატი გამოდის კრისტალუბის სახით.

ციტოკინინები მონაწილეობენ უჯრედის დაყოფის ინდუქციაში, ახდენენ ფოთლის უჯრედების ზრდის სტიმულირებას, ააქტიურებენ ქლოროპლასტების დიფერენცირების პროცესებს, ამუხრუჭებენ დაბერებას, იწვევენ ბაგეების გაღებას, ზრდიან მდედრობითი სქესის ყვავილების წარმოქმნას და ა.შ.

ციტოკინინები სინთეზირდება სხვადასხვა ჯგუფის მიკროორგანიზმებით: სოკოებით – *Taphrina*, *Uromyces*, *Nectria* და სხვა; აქტინომიცეტებით – *Streptomyces flaveolus*; ბაქტერიებით – *Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Rhizobium* და სხვა. მრავალწლიანი გამოკვლევების შედეგად მეცნიერების მიერ მიღებულია მაღალი ციტოკინინური აქტიურობის მქონე მიკროორგანიზმების სხვადასხვა შტამი.

ციტოკინინების მიღების ბიოტექნოლოგიური სქემა მოიცავს აზოტისა და ნახშირბადის წყაროებით მდიდარ თხევად საკვებ არეზე პროდუცენტის სიღრმულ კულტივირებას, კულტურალური სითხიდან კრისტალური პრეპარატის შემდგომი გამოყოფით.

აბციზინის მჟავა წარმოადგენს ზრდის ინჰიბიტორს. მისი გამოყენებისას ხშირად შეიმჩნევა ქსოვილების დაბერების სტიმულაცია. აბციზინის მჟავა აქტიურად მოქმედებს ბაგეების მოძრაობაზე – იწ-

ვევს ბაგეების დახურვას ან ხელს უშლის დახურული ბაგეების გაღებას. ამიტომ წარმოადგენს ანტიტრანსპირანტს, რის გამოც პერსპექტიულია მისი გამოყენება წყლის დეფიციტის დროს.

აბციზინის მჟავას ძირითად პროდუცენტებს წარმოადგენენ სოკოები – *Cerospora rosicola*, *Botrytis cinerea*, *Cereospora cruenta*. საფუარის ექსტრაქტის შემცველ საკვებ არეში პროდუცენტის სიდრეული კულტივირებისას პირველი ექვსი დღის განმავლობაში ბიომასისა და ფიტოჰორმონის კულტურალურ სითხეში მატება მიდის ერთნაირი სიჩქარით, შემდეგ ბიომასის მატების სიჩქარე ყოვნდება, ხოლო აბციზინის მჟავის – არა და იგი თავის მაქსიმუმს კულტივირების მე-14-17 დღეს აღწევს. კულტურალური სითხიდან აბციზინის მჟავას გამოყოფენ კრისტალების სახით.

ექსპერიმენტული გამოკვლევები მცენარეთა ზრდის რეგულატორების მისაღებად გრძელდება. მიკროორგანიზმებისათვის დამახასიათებელი მაღალაქტიური მცენარეთა ზრდის რეგულატორების პროდუცირების უნარი, ბიოტექნოლოგიის ამ მიმართულებას ხდის მეტად პერსპექტიულს.

გარდა ზემოთ განხილული ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებებისა, ბიოტექნოლოგიური გზით შესაძლებელია სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების, მაგალითად ვიტამინების, ანტიბიოტიკების, ჰორმონების და ა.შ. მიღებაც.

1.8. ბიოტექნოლოგია და აზოტფიქსაციის პრობლემა

აზოტი ნიადაგის ნაყოფიერებისა და მცენარეთა კვების ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ელემენტს წარმოადგენს. იგი შედის ცილების, ამინომჟავების, ქლოროფილის, ამიდების, ალკალოიდების და სხვა ნივთიერებების შედგენილობაში. მიუხედავად იმისა, რომ ატმოსფეროში აღნიშნული ელემენტის შემცველობა ძალიან დიდია (1 ჰა ნიადაგის ზევით ატმოსფეროში 70 ათას ტონაზე მეტი თავისუფალი აზოტია). ბიოსფეროსთვის იგი წარმოადგენს მეტად დეფიციტურს. მცენარისათვის მისაწვდომი აზოტის მარაგი სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მაღალი მოსავლის მისაღებად შავმიწა ნიადაგშიც კი საკმაოდ შეზღუდულია. უკანასკნელ პერიოდში სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მოსავლის გადიდება ძირითადად ხდება საკვები ნივთიერებების, პირველ რიგში აზოტის, მაღალი დოზის მომთხოვნი, ინტენსიური ტიპის ჯიშების წარმოებაში დანერგვით. მოსავლის სიდიდესა და აზოტით კვების ნორმებს შორის არსებობს პირდაპირი კორელაცია. დედამიწაზე მოსახლეობის მუდმივ ზრდასთან დაკავშირებით XX საუკუნის ბოლოსა და XXI საუკუნის დასაწყისში კაცობრიობას დასჭირდება აზოტის წარმოების 3-4-ჯერ გადიდება, რათა დაკმაყოფილებულ იქნას კვების პროდუქტებზე სულ უფრო მზარდი მოთხოვნილება.

მცენარის აზოტით დაკმაყოფილების მხოლოდ ორი ხერხი არსებობს: 1) **ქიმიური** – დაფუძნებული ნიადაგში აზოტიანი სასუქების შეტანაზე და 2) **ბიოლოგიური** – დაფუძნებული ზოგიერთი სიმბიოზური და თავისუფლად მცხოვრები მიკროორგანიზმების მიერ აზოტის ფიქსაციაზე.

აზოტიანი სასუქების წარმოება – ენერგოტევადი და ძვირადღირებული პროცესია. მათი ღირებულება 6-ჯერ აღემატება ფოსფორიანი და 16-ჯერ კალიუმიანი სასუქების ღირებულებას. გასული საუკუნის 80-იან წლებში მსოფლიოში ამზადებდნენ 70 მლნ ტონაზე მეტ აზოტიან სასუქს (XXI საუკუნის დასაწყისისათვის მოსალოდნელია მისი გაორმაგება). აშშ-ში მათ წარმოებაზე, მაგალითად, 2000 წელს დაიხარჯა დაახლოებით 50 მლრდ დოლარი, 2010 წლისათვის სპეციალისტების შეფასებით დაიხარჯება 80 მლრდ დოლარზე მეტი. უნდა აღინიშნოს აგრეთვე, რომ აზოტიანი სასუქები წარმოადგენენ დაბალ ეფექტურს მცენარეების შეთვისების მხრივ. ნიადაგში შეტანილი აზოტის მხოლოდ 20-დან 70%-მდე უშუალოდ გამოიყენება მცენარეების მიერ. დანარჩენი ან ორთქლდება ან ირეცხება, რაც ძალიან მავნეა – იზრდება გარემოს გაბინძურება. რის შედეგადაც მატულობს ადამიანის სხვადასხვა დაავადება და მოწამვლა, ოზონის ფენის დაშლა, მჟავური წვიმები, ნიადაგის მჟავიანობა, მცენარეებში ტოქსიკური ნივ-

თიერებების დაგროვება და ა.შ.

მცენარეების აზოტით მომარაგების ერთადერთ ეკოლოგიურად სუფთა გზას წარმოადგენს ატმოსფეროს აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაცია. გარდა ამისა, აღნიშნული პროცესი ძირითადად ხორციელდება მზის ენერგიის ხარჯზე, რაც ენერგეტიკული რესურსების მნიშვნელოვანი ეკონომიის საშუალებას იძლევა. თანამედროვე მონაცემებით პლანეტაზე აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაცია მეტად მნიშვნელოვანია და შეადგენს დაახლოებით $(1,6-1,75) \times 10^8$ ტონას წელიწადში. მაგალითად, აშშ-ში გაკულტურებულ ნიადაგებზე აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაცია შეადგენს 12×10^6 ტონა აზოტს ყოველწლიურად, დაახლოებით იგივე რაოდენობის აზოტი შეიტანება ნიადაგში ქიმიური სასუქების სახით. სხვა ქვეყნებში, სადაც ქიმიური სასუქი უფრო შეზღუდული მასშტაბებით გამოიყენება, ბიოლოგიურად ფიქსირებული აზოტის ხვედრითი წილი საერთო ბალანსში მატულობს 2/3-მდე.* ამიტომ გასაკვირი არაა, რომ მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში (ინგლისი, კანადა, აშშ, საფრანგეთი, ავსტრალია, შვეცია და სხვა) აზოტფიქსაციის პრობლემის გადაწყვეტაზე გამოყოფილია მნიშვნელოვანი თანხები. ასე, მაგალითად, 2000 წელს აშშ-ს სოფლის მეურნეობის სამინისტრომ აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაციის სფეროში გადარიცხა მცენარეთა ბიოლოგიაში კვლევით სამუშაოებზე გამოყოფილი თანხის 25%.

მაგრამ აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაცია ყველა მცენარისათვის არ არის დამახასიათებელი. ის ძირითადად დაკავშირებულია სიმბოზიურ და ზოგიერთ თავისუფლად მცხოვრებ პროკარიოტულ მიკროორგანიზმებთან, რაც ქმნის მთელ რიგ პრობლემებს. გარდა ამისა, აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაცია მეტად არასრულყოფილი პროცესია – გამოირჩევა მაღალი ენერგოტევადობით (1 გრ აზოტის ფიქსაციისათვის მცენარეში იხარჯება 4-10 გრ ფოტოსინთეზირებული ნახშირბადი), დაბალი სიჩქარით, მკაცრი ანაერობულობით.

მცენარეების ბიოლოგიური აზოტით უზრუნველყოფისათვის აუცილებელია გენეტიკურ-ინჟინრული და სელექციური მუშაობის შემდეგი მიმართულებებით წარმართვა:

1. აზოტფიქსატორი მიკროორგანიზმების სელექცია გაძლიერებული აზოტფიქსაციის უნარისა და კოლონიზაციის მაღალი თვისებების მქონე შტამების მისაღებად.

2. მცენარეთა სელექცია გაძლიერებული სიმბიოგენეზის უნარისა და ეფექტური აზოტფიქსაციის ხელშემწყობი ნიშნების (ძლიერი ფესვთა სისტემა, ფესვებში კოჟრების მეტი რაოდენობა, კოჟრების მეტი მასა და ა.შ.) მქონე მცენარეთა მისაღებად.

3. აზოტფიქსაციის განმსაზღვრელი გენების სხვა აზოტფიქსაცი-

* 1 ჰა სასოფლო-სამეურნეო სავარგულზე ბიოლოგიურად ფიქსირებული აზოტის რაოდენობა ძლიერ ვარირებს კლიმატის, ნიადაგის, სასოფლო-სამეურნეო კულტურისა და აზოტის სასუქების სახეობების მიხედვით და საშუალოდ შეადგენს 20-100 კგ/ჰა .

ის უნარის არ მქონე მიკროორგანიზმებში გადატანა.

4. სიმბიოგენეზისა და აზოტფიქსაციის განმსაზღვრელი გენების სხვა არაპარკოსან მცენარეებში (მაგ. მარცვლოვანებში) გადატანა.

5. მიკროორგანიზმების გარეშე ატმოსფეროს აზოტის ფიქსაციის უნარის მქონე კულტურულ მცენარეთა მიღება.

ახლო მომავალში აზოტფიქსაციის გენების გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით მიკრობული უჯრედიდან უშუალოდ მცენარეებში გადატანა არარეალურია. უფრო რეალურს წარმოადგენს ასეთი გენების სხვა მიკროორგანიზმებში გადატანა. უფრო შორეული მომავლის ამოცანაა აზოტფიქსაციის სისტემის სრულყოფა და მისი ეფექტურობის ამაღლება, რისთვისაც საჭიროა ამ პროცესის ბიოქიმიის, ბიოფიზიკისა და გენეტიკის ღრმა შესწავლა.

აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაცია – რთული პროცესია, რომლის პროგრამირებაში და რეგულაციაში მონაწილეობას ღებულობს მრავალი ბაქტერიული და რეგულატორული გენი. იგი წარმოადგენს ფერმენტის საშუალებით აზოტის (N_2) ამონიუმად (NH_3) აღდგენის პროცესს და საჭიროებს ატფ-სა და ელექტრონებს: $N_2 + 8H^+ + 8e^- \rightarrow 2NH_3 + H_2$. მიუხედავად იმისა, რომ ქიმიური თვალსაზრისით რეაქცია ეკოთერმულია ფერმენტული კომპლექსის აქტივაცია მოითხოვს მნიშვნელოვან ენერგეტიკულ დანახარჯებს ატფ-ს სახით.

უკანასკნელ წლებში დიდი წარმატებები მოპოვებული ცოცხალი ორგანიზმების აზოტფიქსაციის პროცესის დადგენაში. პირველ რიგში კარგადაა შესწავლილი მოლეკულური აზოტის ამონიუმამდე აღდგენის ძირითადი ფერმენტი – ნიტროგენაზა*. გრძელდება კვლევა აზოტფიქსატორი ორგანიზმების გენეტიკურ და ბიოქიმიურ თავისებურებებზე.

როგორც ზემოთ იყო ნათქვამი, ორგანიზმების უმეტესობას არ შეუძლია ატმოსფეროს აზოტის ფიქსაცია და მხოლოდ პროკარიოტების შეზღუდულ რაოდენობას გააჩნია ეს თვისება. ნაწილი მათ შორის თავისუფლად მცხოვრები ჰეტეროტროფული და ავტოტროფული აზოტფიქსატორი ბაქტერიებია, მაგალითად *Klebsiella*, *Azotobacter*, *Erwinia*, *Azomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, და სხვა, რომლებიც აზოტფიქსაციას ახდენენ აერობულ და ანაერობულ პირობებში. სხვა ორგანიზმები აზოტს მხოლოდ გარკვეული სახეობის ეუკარიოტულ ორგანიზმებთან სიმბიოზში ასიმილირებენ. ამ ჯგუფის წარმომადგენლებს მიეკუთვნება: ბაქტერია *Rhizobium*, რომელიც აზოტს აფიქსირებს პარკოსან მცენარეებთან, ციანობაქტერია *Anabeana azolla* – წყლის მცენარე აზოლასთან, აქტინომიცეტები – არაპარკოსან ფარულთესლოვნებთან, ბაქტერია *Spirillum* – ბალახოვან მცენარეებთან სიმბიოზში და სხვა.

* აღმოჩნდა, რომ ყველა აზოტფიქსატორ ორგანიზმში ნიტროგენაზას სტრუქტურა ერთნაირია.

აზოტფიქსაცია ყველაზე უკეთ შესწავლილია ბაქტერია *Rhizobium*-ში, უშუალოდ აზოტფიქსაციის გენების კოდირებისა და რეგულაციის რიგი საკითხები – თავისუფლად მცხოვრები აზოტფიქსატორ ბაქტერია *Klebsiella pneumoniae*-ში. ამიტომ აზოტფიქსაციის საკითხების შემდგომი გაშუქება ძირითადად დაკავშირებული იქნება მათთან.

ამჟამად დადგენილია, რომ აზოტფიქსაციის რთულ და მრავალსტადიურ პროცესში ჩართულია გენების შემდეგი ჯგუფები (კლასტერები): **nif*-გენები** – გენები, რომლებიც აკოდირებენ აზოტფიქსაციის ძირითადი ფერმენტის – ნიტროგენაზის სტრუქტურას და ნიტროგენაზული კომპლექსის ფაქტორებს. სხვადასხვა ავტორი **nif-გენებში** აერთიანებს გენების სხვადასხვა რიცხვს (15-დან 20-მდე), უფრო ტრადიციულს წარმოადგენს რიცხვი 17;**** nod-გენები (ანუ sym-გენები)***** – გენები, რომლებიც განსაზღვრავენ მცენარეებსა და მიკროორგანიზმებს შორის სიმბიოზს და განაპირობებენ ფესვის კოჟრების ფორმირებას; **hcn-გენები** – გენები, რომლებიც განაპირობებენ გარკვეული სახეობის მცენარესთან მიკროორგანიზმის ურთიერთმოქმედების სახეობრივ სპეციფიურობას, ე.ი. გარკვეული პატრონის გამოცნობაზე პასუხისმგებელი გენები; **efn-გენები** – გენები, რომლებიც აძლიერებენ კოჟრების წარმოქმნის ეფექტურობას; **ntr-გენები** – გენები, რომლებიც უზრუნველყოფენ აზოტფიქსაციის სისტემის ჩართვას და გამორთვას. ბოლომდე არაა დადგენილი სხვა, ჯერ არაიდენტიფიცირებული ბაქტერიული და მცენარეული გენების მონაწილეობა აზოტფიქსაციის რეგულაციაში.

არსებობს მონაცემები, რომელთა მიხედვითაც მცენარეული გენების პროდუქტები სტიმულს აძლევენ კოჟრის წარმოქმნაში მონაწილე ბაქტერიული გენების ექსპრესიას და პირიქით, ბაქტერიული გენების პროდუქტები მონაწილეობენ მცენარეული გენების აქტივაციაში.

როგორც ჩანს, მცენარეული გენები მონაწილეობენ მცენარისა და ბაქტერიის ურთიერთმოქმედების არა მარტო ინფექციისა და კოჟრების წარმოქმნის პირველ სტადიაზე, არამედ აზოტფიქსატორი ბაქტერიოიდების განვითარების უფრო გვიანდელ სტადიაშიც, მაგალითად **nif-გენების** დეპრესიაში.

დღეისათვის ძალიან ცოტა ინფორმაცია არსებობს სიმბიოზურ აზოტფიქსაციაში მონაწილე მცენარეული გენების ფუნქციებზე და მათ რეგულაციაზე. ამ პროცესებზე ცოდნის გაღრმავება მეცნიერებს მისცემს აზოტფიქსაციის ეფექტურობის გაუმჯობესებისა და აზოტფიქსატორი ორგანიზმების მრავალფეროვნების გაფართოებისათვის აუცილებელ გენებზე მიზანმიმართული მანიპულირების საშუალებას.

* ინგლისური სიტყვიდან **nitrogen fixation** – აზოტის ფიქსაცია.

** ქვემოთ განხილვისას ჩვენ დავეყრდნობით ამ რიცხვს.

*** ინგლისური სიტყვიდან **nodule** – კოჟრი; **symbiosis** – სიმბიოზი.

ექსპერიმენტული გამოკვლევებით დადგენილია, რომ ბაქტერიებში აზოტფიქსაციის პროდუქტიულობა დამოკიდებულია ფერმენტ ჰიდროგენაზას არსებობაზე. ცნობილია, რომ ბაქტერიული ნიტროგენაზა აკატალიზებს ატფ-ს ჰიდროლიზის ერთ არაპირითად რეაქციას H_2 -ს წარმოქმნით. ეს რეაქცია არ წარმოადგენს აუცილებელს უჯრედისათვის და დაკავშირებულია ენერგიის დიდ ხარჯვასთან. ზოგიერთ აზოტფიქსატორ ბაქტერიას გააჩნია ფერმენტი ჰიდროგენაზა, რომელიც ახდენს ატფ-ს რეგენერაციას H_2 -ს დაჟანგვის გზით. შემდეგ ატფ ისევ შეიძლება გამოყენებულ იქნას აზოტის ფიქსაციის პროცესში. ამიტომ ჰიდროგენაზას* მაკოდირებელი გენის შეყვანა *Rhizobium*-ში ხელს შეუწყობს აზოტფიქსაციის ეფექტურობის ამაღლებას.

აზოტფიქსაციის ბიოქიმია და ფიზიოლოგია. აზოტფიქსაციის ცენტრალურ ფერმენტს წარმოადგენს ნიტროგენაზული ფერმენტული კომპლექსი (ნიტროგენაზა). პირველად ნიტროგენაზა გამოყოფილ იქნა აზოტფიქსატორი ბაქტერია *Clostridium pasteurianum*-დან 1960 წელს ამერიკული ფირმა “დიუპონის” მკვლევარების მიერ. აქედან იწყება აზოტფიქსაციის ბიოქიმიისა და ფიზიოლოგიის საკითხების შესწავლაც, კერძოდ, აღნიშნული ფერმენტის სტრუქტურისა და მოქმედების მექანიზმის შესწავლა. 1981 წელს ნიტროგენაზა უხეში ექსტრაქტის სახით გამოყოფილ იქნა მიკროორგანიზმების თითქმის 30 სახეობიდან, ხოლო სუფთა სახით – 6 სახეობიდან. ამ ფერმენტის თვისებები პრაქტიკულად იდენტურია ყველა აზოტფიქსატორი მიკროორგანიზმისათვის.

ნიტროგენაზა წარმოადგენს ორი კომპონენტისაგან (მეტალოპროტეინებისაგან) – კომპონენტი I და კომპონენტი II შემდგარ ერთ-ერთ ურთულეს ბინალურ ფერმენტს. კომპონენტი I თავის მხრივ წარმოადგენს საკუთრივ დისნიტროგენაზას** ანუ მოლიბდენოფეროპროტეინს (MoFe-პროტეინი), მოლეკულური მასით დაახლოებით $2,2 \times 10^5$; იგი შეიცავს მოლიბდენს (1 ატომი მოლეკულაზე), რკინას (32 ატომი მოლეკულაზე) და გოგირდს (30 ატომი მოლეკულაზე) და თავისი სტრუქტურით წარმოადგენს α - და β -სუბნაწილაკების ტეტრამერს, ე.ი. აქვს $\alpha_2\beta_2$ შედგენილობა. კომპონენტი II თავის მხრივ წარმოადგენს დისნიტროგენაზას რედუქტაზას ანუ ფეროპროტეინს (Fe-პროტეინი) მოლეკულური მასით დაახლოებით 5×10^4 ; იგი შეიცავს რკინას (4 ატომი მოლეკულაზე) და გოგირდს (4 ატომი მოლეკულაზე) და თავისი სტრუქტურით წარმოადგენს ორი იდენტური α -სუბნაწილაკისგან (α_2) შემდგარ დიმერს. ნიტროგენაზას აღნიშნული კომპონენტი ნიტროგენაზულ კომპლექსში უზრუნველყოფს აღდგენით პოტენციალს. აზ-

* ჰიდროგენაზას აკოდირებს **hyp-გენები** (ინგლისური სიტყვიდან **hydrogen uptake** - “წყალბადის მშთანთქმელი”).

** ინგლისური სიტყვიდან **disnitrogen** – აზოტის ქიმიური სახელწოდება.

ოტფიქსაციის რეაქციისას ყოველ გადატანილ ელექტრონზე იხარჯება ატფ-ს 1-დან 2-მდე მოლეკულა, რომელთა ჰიდროლისაც ახდენს კომპონენტი II. მეცნიერთა აზრით აზოტი უკავშირდება MoFe-პროტეინს, უფრო სწორად მოლიბდენის ატომებს ცილის სპეციფიკური ფრაგმენტის შიგნით, რომელსაც FeMo-კოფაქტორი ეწოდება. ჟანგბადთან კონტაქტში შესვლისას ნიტროგენაზას ორკომპონენტიანი ცილები სწრაფად და შეუქცევადად იშლება.

აზოტის გარდა ნიტროგენაზას შეუძლია აღადგინოს სხვა სუბსტრატებიც, მაგალითად, აცეტილენი, წყალბადის იონები, აზოტის ქვეჟანგი: $N_2 \rightarrow NH_3$; $C_2H_2 \rightarrow C_2H_4$; $H_3O \rightarrow H_2$; $N_2O \rightarrow N_2 + H_2O$.

მოლეკულური აზოტის ამიაკად აღდგენაში მონაწილე ფერმენტ ნიტროგენაზაზე ელექტრონები გადაიტანება განსაკუთრებული სატრანსპორტო ცილებით: ფეროდოქსინებითა და ფლავოდოქსინებით. აუცილებელი ენერგია ატფ-ს ფორმით მიეწოდება.

აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაციის დროს აუცილებელ პირობას წარმოადგენს ნიტროგენაზას დაცვა ჟანგბადის დამშლელი მოქმედებისაგან. ჟანგბადით ინჰიბირებისაგან ფერმენტის დაცვის რამდენიმე ხერხი არსებობს. ბაქტერიების ზოგიერთი აერობული სახეობები აზოტის ფიქსაციის დროს მოქმედებენ როგორც მიკროაეროფილები ან ანაერობები – Rhizobium-ის მრავალი შტამი (ჩვეულებრივ ნელა მზარდი) აზოტფიქსაციის დროს ფაქტიურად წარმოადგენს მაღალმგრძნობიარე მიკროაეროფილებს და თავისუფალ მდგომარეობაში შეუძლიათ აზოტის ფიქსაცია ჟანგბადის ძალიან დაბალი წნევის დროს. Azotobacter-ის გვარის წარმომადგენლები შეიცავენ დამცველ ცილას, რომელიც ჟანგბადის მოქმედებისაგან იცავს ნიტროგენაზას, ხოლო ბაქტერიის ინტენსიური სუნთქვა იწვევს ჟანგბადის გაძლიერებულ მოხმარებას. ციანობაქტერიებში, რომლებსაც გააჩნიათ პეტეროცისტები, ფოტოსინთეზი და აზოტფიქსაცია სივრცობრივად განცალკევებულია – უკანასკნელი მიმდინარეობს მხოლოდ პეტეროცისტებში და არ ინჰიბირდება ფოტოსინთეზის პროცესში გამოყოფილი ჟანგბადით. პარკოსანთა აზოტფიქსატორ ფესვის კოყრებში მემბრანების მოქმედებით ჟანგბადის დიფუზია მცირდება, ხოლო შიგნით შეღწეული უმნიშვნელო რაოდენობის ჟანგბადი უერთდება ცილებს – ლეგჰემოგლობინებს, რომლებიც ნიტროგენაზას იცავენ ინაქტივირებისაგან.

აზოტფიქსაციის გენები და მათი რეგულაცია. უკანასკნელ წლებში დიდი წარმატებებია მოპოვებული აზოტფიქსაციის პროცესზე პასუხისმგებელი ბაქტერიული გენების – **nif-გენების** გამოყოფასა და იდენტიფიკაციაში. nif-გენების შედგენილობაში შედის 17 ცალკეული გენი,* რომლებიც განლაგებულია ან ქრომოსომაში (Klebsiella pneu-

* პირველად ეს გენები იდენტიფიცირებულ იქნა ვისკონსის უნივერსიტეტში (აშშ) 1981 წელს ბაქტერია Klebsiella pneumoniae-ში.

moniae, ნელამზარდი რიზობიუმი), ან დიდ მეგაპლაზმიდაში (სწრაფ-მზარდი რიზობიუმი) სიგრძით 200-300 ათასი ნუკლეოტიდის წყვილი. თანამედროვე მონაცემებით, nif-გენები *Klebsiella pneumoniae*-ს ქრომოსომაში შეჭიდულია ერთმანეთთან, ორგანიზებულია 8 ოპერონში (ტრანსკრიპციულ ერთეულებში) და განლაგებულია ჰისტიდინის (his) ბიოსინთეზის ფერმენტების გენებსა და შიკიმატის მჟავას (shlA) შეთვისების განმსაზღვრელ გენებს შორის. ცალკეული nif-გენების სახელწოდება აღინიშნება ლათინური ალფავიტის მთავრული ასოებით.

დღეისათვის დადგენილია თითქმის ყველა nif-გენის ფუნქცია:

Q - მონაწილეობს FeMo-კოფერმენტის სინთეზში ან გარდაქმნაში,

B - იგივე,

A - რეგულატორული; აღნიშნული გენის პროდუქტი ააქტიურებს სხვა ოპერონებს,

L - იგივე,

F - ასინთეზებს ფლავოპროტეინს, მონაწილეობს ნიტროგენაზაზე ელექტრონების ტრასპორტში,

M - მონაწილეობს Fe - პროტეინის აქტივაციაში,

V - გავლენას ახდენს FeMo - პროტეინის სუბსტრატულ სპეციფიურობაზე,

S - უცნობია,

U - უცნობია,

X-გენეტიკურად გაურკვეველია; მისი მონაწილეობა დადგენილია კლონირებული nif-დნმ-ს ფიზიკური რუქის საშუალებით,

N - Q და **B**-ს მსგავსი,

E - იგივე,

Y - აღწერილია X-ის ანალოგიურად,

K - აკოდირებს MoFe - პროტეინის β-სუბნაწილას,

D - აკოდირებს MoFe - პროტეინის α-სუბნაწილას,

H - აკოდირებს Fe - პროტეინის α-სუბნაწილას,

J - მონაწილეობს ნიტროგენაზაზე ელექტრონების გადატანაში.

nif-გენების რეგულაცია საკმაოდ რთულია. ამონიუმის იონები და აზოტის სხვა ნაერთები, კერძოდ ნიტრატები და ამონომჟავები, იწვევენ ნიტროგენაზას გენების ექსპრესიის ინჰიბირებას. აზოტის არსებობა არ წარმოადგენს nif-გენების ინდუქციის აუცილებელ პირობას. nif-გენების ექსპრესია უფრო მეტად გენების დერეგრესიის შედეგია და არა მათი ინდუქციის.

Klebsiella pneumoniae-ში nif-გენების რეგულაცია კონტროლდება როგორც nif-A და nif-L გენებით, ისე nif-უბნიდან საკმაოდ დაშორებული gln-გენებით. nif-გენების ექსპრესიაში, ალბათ, მონაწილეობენ აგრეთვე სხვა შორს მდგომი გენებიც: კერძოდ, nar-D გენი (მონაწილე-

ობს მოლიბდენის გარდაქმნაში), *une*-გენი, გენი *his*-ოპერონში (გავლენას ახდენს ატფ-ს წარმოქმნაზე) და *min*-გენი დაუდგენელი ფუნქციით.

ძირითადი რეგულატორული გენები *nif-A* და *nif-L* განლაგებულია ერთ ოპერონში და აკოდირებენ ყველა სხვა *nif*-ოპერონების ექსპრესიის განმსაზღვრელ ცილებს. გენი *nif-A*-ს პროდუქტი ააქტიურებს ამ უბნის ყველა სხვა გენის ტრანსკრიპციას და ალბათ, წარმოადგენს რნმ-პოლიმერაზის ბ-ფაქტორს. მას არ გააჩნია საკუთარი გენის ტრანსკრიპციის აქტივაციის უნარი. ამას აკეთებს ქრომოსომული *ntr*-სისტემის გენები. გენი *nif-L*-ს პროდუქტი თრგუნავს ამ უბნის სხვა გენის ტრანსკრიპციას უჯრედში შესათვისებელი აზოტის დიდი რაოდენობით არსებობისა და აგრეთვე ხსნადი ჟანგბადის მაღალი კონცენტრაციის პირობებში. აზოტფიქსატორ ბაქტერიებში დადგენილია *ntr*-სისტემის სამი რეგულატორული გენი: *ntr-A*, *ntr-B* და *ntr-C*. ორი უკანასკნელი *Klebsiella pneumoniae*-ში ლოკალიზებულია ერთ ოპერონში სტრუქტურულ გენ გლუტამინსინთეტაზასთან (*glu-A*) ერთად, ხოლო გენი *ntr-A* ლოკალიზებულია ცალკე. აზოტფიქსატორი უბნის რეგულატორული გენების (*nif-A* და *nif-L*) აქტივაცია ხდება *ntr-A* და *ntr-C* გენების ერთდროული ექსპრესიით მაშინ, როცა უბნის რეპრესია წარმოებს *ntr-B* და *ntr-C* გენების პროდუქტთა ერთდროული მოქმედებით.

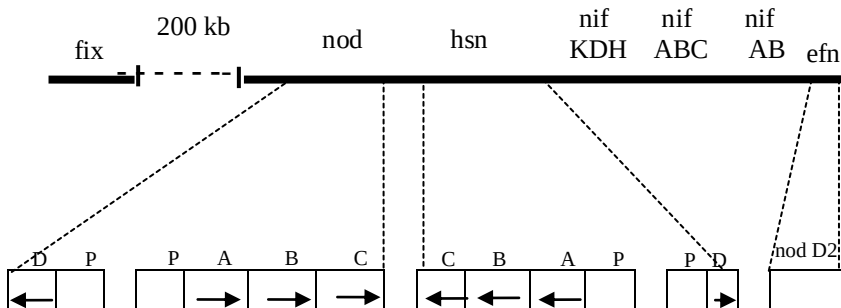
ბაქტერიებისა და მცენარეების სიმბიოგენეზის გენები. შესწავლილი აზოტფიქსატორების უმეტესობა, დაწყებული კარგად შესწავლილი რიზობიუმიდან და დამთავრებული ნაკლებ შესწავლილი ციანობაქტერიებითა და აქტინომიცეტებით, მიეკუთვნება სიმბიოზურ მიკროორგანიზმებს. რიზობიუმი სიმბიოგენეზის პარტნიორებში იწვევს განსაკუთრებული სტრუქტურების (მორფოლოგიური წარმონაქმნების) – ფესვის კოჟრების ფორმირებას, რომელშიც მიმდინარეობს აზოტფიქსაცია. გრამუარყოფითი ბაქტერიების წარმომადგენელი რიზობიუმის მასპინძლები, ანუ უფრო სწორად პარტნიორები, როგორც წესი, პარკოსანი მცენარეები არიან. რიზობიუმის გვარის უმეტესი ნაწილი კოჟრებს წარმოქმნის მხოლოდ მკაცრად განსაზღვრულ კონკრეტულ მასპინძელ-მცენარეში. მაგალითად, *Rizobium trifolii* - წარმოადგენს სამეურას სიმბიონტს, *R. leguminosarum* - ბარდის, *R. meliloti* - იონჯას, *R. phaseoli* - ლობიოს, *R. japonicum* - სოიოს სიმბიონტს და ა.შ.*

სიმბიოზური ურთიერთობა რიზობიუმის გვარის წარმომადგენლებსა და მათ ბუნებრივ პარკოსან პარტნიორებს შორის განპირობებულია *sym*- ანუ *nod*-გენების რთული სისტემით, რომელშიც შედის

* რიზობიუმის ყველა ჩამოთვლილი სახეობა, უკანასკნელის გარდა, მიეკუთვნება სწრაფმზარდ რიზობიუმებს.

ორივე პარტნიორის გენები.

სწრაფმზარდ რიზობიუმის წარმომადგენლებში sym-სისტემის გენები ლოკალიზებულია დიდ (150–300-მდე MD) მეგაპლაზმიდებში და მათი გადაცემა შესაძლებელია ამ გვარის ერთი სახეობიდან მეორეში. ნელამზარდ რიზობიუმის სახეობებში ორივე ჯგუფის – nif და sym გენები ლოკალიზებულია ქრომოსომაში. რიზობიუმის მეგაპლაზმიდაში არსებობს ოთხი მაღალკონსერვატიული nod-გენი – nod ABCD (სურ. 1). ისინი განსაზღვრავენ კოჟრების ფორმირების ზოგად სტადი-



სურ.1. სიმბიოგენეზში მონაწილე გენების ლოკალიზაცია რიზობიუმის მეგაპლაზმიდაში

(ქვედა ნაწილი – nod-, hsn- და efn-უბნების სტრუქტურა; P – პრომოტორი, ისრები – ტრანსკრიპციის მიმართულება)

ებს ყველა რიზობიუმში. ამასთან ერთად, მეგაპლაზმიდის გენომში ლოკალიზებულია ოთხი hsn-გენი – hsn ABCD, რომლებიც განსაზღვრავენ მცენარის გარკვეული სახეობისათვის კოჟრების ფორმირების სპეციფიკურ სტადიებს. მათ ე.წ. პატრონ-სპეციფიკური გენები ეწოდება. nod- და hsn-გენების ექსპრესია წარმოებს კოორდინირებულად, რაც განპირობებულია nod ABC, hsn ABC და hsn D ოპერონის წინ 47 ნუკლეოტიდისაგან (ე.წ. nod-box) შემდგარი საერთო კონსერვატიული თანმიმდევრობის არსებობით. რიზობიუმის მეგაპლაზმიდაში nod- და hsn-გენების გარდა არსებობს აგრეთვე efn-გენების ჯგუფი, რომელთა პროდუქტი ადიდებს კოჟრების წარმოქმნის ეფექტურობას.

nod ABC გენები განლაგებულია თანმიმდევრობით და წარმოქმნიან ტრანსკრიპციის ერთ ერთეულს. nod-D გენი ლოკალიზებულია nod-A გენის გვერდით, მაგრამ წარმოქმნის დამოუკიდებელ ოპერონს nod ABC-ოპერონის ტრანსკრიპციის საპირისპირო ტრანსკრიპციის მიმართულებით. nod-D გენი განიცდის მუდმივ ექსპრესიას, მიუხედავად იმისა, არის თუ არა სიმბიოზურ ურთიერთობაში პარკოსან მცენარე-პატრონთან, მაშინ როცა nod ABC გენები ექსპრესიას იწყებენ მხო-

ლოდ სათანადო მცენარესთან კონტაქტის შემდეგ. hsn-გენები ასევე დაჯგუფებული არიან ორ ტრანსკრიპციულ ერთეულში: hsn ABC და hsn D.

ფესვის კოჟრების ფორმირების პროცესი შედგება შემდეგი თანმიმდევრული ეტაპებისაგან: 1) სიმბიოგენეზის ორი პარტნიორის ურთიერთმოქმედება – ბაქტერიების მიმაგრება ფესვის ბუსუსებზე; მცენარის ფესვის ბუსუსებზე ბაქტერიული უჯრედის კონტაქტის ადგილზე ხდება სტრუქტურული ცვლილება – უშუალოდ ეპიდერმისის ქვეშ არსებული კორტიკალური ფენის უჯრედების დაყოფის სტიმულაცია; არსებითად, აღნიშნული უჯრედების აქტივაცია წარმოადგენს მათ მეორად დიფერენცირებას, რომლის პროცესშიც ისინი გარდაიქმნებიან კოჟრის სტრუქტურების წარმოქმნელ მერისტემულ უჯრედებად; 2) ფესვის ბუსუსების მორფოლოგიის შეცვლა (დახვევა), რომლის შედეგადაც ისინი ღებულბენ სპეციფიკურ ფორმას (ეს აუცილებელი პროცესია ბაქტერიული უჯრედის მცენარის ფესვთან სისტემაში შესაღწევად); 3) ბუსუსების საშუალებით რიზობიუმის მცენარის ფესვში შეღწევის შედეგად მაინფიცირებელი ჭიმბის ფორმირება; ამ ჭიმბის კედლები წარმოქმნილია განსაკუთრებული პოლისაქარიდისაგან, რომელიც სინთეზირდება მცენარეში და გარს ეხვევა რიზობიუმის უჯრედებს; ჭიმბი იტოვება და მათი არხების საშუალებით რიზობიუმი აღწევს კორტიკალური ფენის აქტიურად დაყოფის ფაზაში მყოფ უჯრედებამდე; კოჟრების წარმოქმნის ადგილისაკენ რიზობიუმის ტრანსპორტის პარალელურად მიმდინარეობს თვით ბაქტერიების რედიფერენციაცია, რომლებიც ჯერ არადიფერენცირებული მცენარეული გენების პროდუქტების გავლენით გარდაიქმნებიან შიგაუჯრედულ სიმბიონტებად – ბაქტერიოდებად; ბაქტერიოდების უჯრედებს გარს ეხვევა სპეციალური, მცენარეული მასალისაგან წარმოქმნილი პერიბაქტერიული მემბრანა, რომელიც N_2 -ის ბიოლოგიური ფიქსაციის ზონას პყოფს მცენარეული უჯრედის სხვა ნაწილებისაგან; ამავე დროს ფორმირებად კოჟრებში ჩნდება ლეგჰემოგლობინების დიდი რაოდენობა, რომლებიც ამცირებენ თავისუფალი ჟანგბადის კონცენტრაციას, რაც ქმნის მოლეკულური აზოტის შებოჭვის რეაქციის დაწყების აუცილებელ პირობას.

დღეისათვის ჯერ კიდევ ძნელია გარკვეული გენებისათვის კონკრეტული ფუნქციების მიწერა სიმბიოგენეზის პროცესში, მაგრამ მაინც შეიძლება ითქვას, რომ *hac* სახელწოდების მატარებელი გენი პასუხისმგებელია რიზობიუმის ინვაზიის ადგილზე ფესვის ბუსუსების მორფოლოგიისა და სტრუქტურის ცვლილებაზე; *hsn-D* გენი, ალბათ, აკონტროლებს ფესვის ბუსუსების დახვევას; *hsn ABC* გენები, როგორც ჩანს, განსაზღვრავენ მაინფიცირებელი ჭიმბის წარმოქმნას.

სიმბიოგენეზის პროცესში, ე.ი. კოჟრის ფორმირება, ბაქტერიოდების წარმოქმნა და აზოტის ფიქსაცია, გარდა ბაქტერიული გენები-

სა მონაწილეობენ რიგი მცენარეული გენებიც. ესენია ლეგჰემოგლობინებისა და ნოდულინების სინთეზზე პასუხისმგებელი გენები, ინფექციის ქსოვილსპეციფიკური რეგულაციის განმსაზღვრელი გენები, მცენარის დაცვითი მექანიზმების კონტროლზე პასუხისმგებელი გენები და სხვა.

თანამედროვე მონაცემებით, ლეგჰემოგლობინები წარმოდგენილია ოთხი გლობინური ცილით (Lbc_3 , Lbc_2 , Lbc_1 , Lb_2), რომლებიც პირველადი სტრუქტურის მიხედვით მცირედ განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან. მათი ძირითადი ფუნქცია დაკავშირებულია კოჟრებში ჟანგბადის ბალანსის უზრუნველყოფასთან. ერთი მხრივ, ისინი უზრუნველყოფენ კოჟრებში თავისუფალი ჟანგბადის საჭირო დაბალ კონცენტრაციას, რადგანაც მისი მაღალი კონცენტრაცია იწვევს აზოტფიქსაციის ინჰიბირებას; მეორე მხრივ, ინტენსიურად აწვდიან კოჟრებს ბმულ ჟანგბადს, რომელიც აუცილებელია ბაქტერიოდეების ჟანგვითი ფოსფორირების სისტემისათვის, რომლის დროსაც სინთეზირდება აზოტფიქსაციისათვის საჭირო ატფ. პირველად ლეგჰემოგლობინების გენები კლონირებულ იქნა 1986 წელს.

პარკოსან მცენარეთა კოჟრებში აღმოჩენილია 30-მდე სხვადასხვა სახის უჯრედული პოლიპეპტიდები, რომლებიც მონაწილეობენ ინფექციაში, ნოდულაციასა და აზოტის შებოჭვაში და მიიღეს “ნოდულინების” სახელწოდება. შედარებით კარგადაა შესწავლილი ნოდულინები მოლეკულური მასით 22, 24, 27, 35 და 100 kD. მათ შორის ყველაზე უკეთ დადგენილია ნოდულინ-35-ის როლი, რომელიც წარმოადგენს კოჟრებიდან აღდგენილი აზოტის მცენარეში გადატანის პროცესში მონაწილე ფერმენტ ურიკინაზას სუბერთეულს.*

მიღწევები და მუშაობის პერსპექტივები აზოტფიქსაციაში. დღეისათვის აზოტფიქსაციის პრობლემის გადაწყვეტაში ბიოტექნოლოგიის ყველაზე არსებით მიღწევას წარმოადგენს ატმოსფეროს აზოტის მაფიქსირებელი ბაქტერია კლებსიელას შტამებიდან *nif*-გენების გადატანა როგორც ბაქტერიებში, რომელთა ცალკეული შტამები არ აფიქსირებენ აზოტს (კლებსიელა, აზოტობაქტერი და კოჟრის ბაქტერიები), ისე ბაქტერიებში, რომელთა შტამებში დღემდე არაა აღმოჩენილი აზოტმაფიქსირებელი ფორმები (ნაწილაკის ჩხირი, საღმონეულა და სხვა).

პირველად *nif*-გენების გადატანა** განხორციელებულ იქნა 1971 წელს ერთდროულად ორ ლაბორატორიაში (აშშ-ში და დიდ ბრიტანეთში). ისინი გადატანილ იქნა *Klebsiella pneumoniae* Msal. აზოტმაფიქ-

* კოჟრებში შებოჭილი აზოტის დიდი ნაწილის მცენარეში ტრანსპორტირება ძირითადად ამინოჟანგების ფორმით ხდება.

* ექსპერიმენტი შესრულებულ იქნა რეკომბინანტული დნმ-ს ტექნოლოგიის გამოყენების გარეშე.

სირებელი შტამიდან ამავე სახეობის არააზოტმაფიქსირებელ შტამში და ამით დამტკიცებულ იქნა აზოტფიქსაციის გენების გადატანისა და მათი ექსპრესიის რეალობა.

ამჟამად nif-გენების გარდა, განხორციელებულია აგრეთვე nod-გენების (*Rizobium leguminosarum*-ის უჯრედებიდან *R. trifolii*-ს, *R. meliloti*-ს, *Agrobacterium tumefaciens*-ის უჯრედებში), hnc-გენების (*R. trifolii*-ს უჯრედებში) გადატანა და სხვა.

აზოტფიქსაციის გენების გადატანა უმაღლეს მცენარეებში, როგორც ზემოთ იყო ნათქვამი, ახლო მომავალში ძალიან რთული ამოცანაა. იგი დაკავშირებულია რიგ სიძნელეებთან, რომელთა შორის ძირითადია – პროკარიოტული გენების სწორი ექსპრესია ეუკარიოტულ ორგანიზმში, ფერმენტ ნიტროგენაზას მგრძნობიარობა ჟანგბადისადმი, აზოტფიქსაციაზე დიდი ენერგეტიკული დანახარჯები, რომელსაც შეუძლია უარყოფითად იმოქმედოს მცენარის პროდუქტიულობაზე, ფიქსირებული აზოტის ფიქსაციის ადგილიდან მოცილების აუცილებლობა და ა.შ.

მეცნიერთა პროგნოზით, ყველა არსებული წინააღმდეგობა შეიძლება დაძლეულ და აზოტმაფიქსირებელი უმაღლესი მცენარეები მიღებულ იქნას XXI საუკუნის პირველ ათწლეულში.

19. ბიოტექნოლოგია და ფოტოსინთეზის პრობლემა

აგრობიოლოგიურ ნიშნებს შორის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ადგილი უკავია მცენარის ფოტოსინთეტიკურ უნარს. მწვანე მცენარის ფოტოსინთეზი, რომელიც განსაზღვრულ როლს ასრულებს ბიოსფეროს ენერგეტიკაში, წარმოადგენს ორგანული ნაერთების წარმოქმნის ძირითად წყაროს, დედამიწაზე თავისუფალი ჟანგბადის ერთადერთ წყაროს, მზის ენერგიის ქიმიურ ენერგიად გარდაქმნის (ტრანსფორმაციის) შეუცვლელ წყაროს.

ფოტოსინთეზის პროცესის უწყველო სირთულე, რომელიც შედგება რამდენიმე ფოტოქიმიური რეაქციისა და დიდი რაოდენობის ფერმენტული პროცესისაგან, გამოწვეულია ორგანიზმების ევოლუციის პროცესში ფოტოსინთეზის თანმიმდევრობითი განვითარებითა და სრულყოფით.

ატმოსფეროს ნახშირორჟანგის (CO_2) ნახშირწყლებად ტრანსფორმაციისა და ჟანგბადის (O_2) გარემოში გამოყოფის რთული რეაქციები მიმდინარეობს, ან უმაღლესი მცენარეების ქლოროპლასტების შიგნით, ან ციტოპლაზმურ და ორგანულურ ფერმენტულ გზებში კოორდინირებულად წარმართულ რეაქციებში.

მცენარეების მიერ განხორციელებული ფოტოსინთეზი ხასიათდება მეტად დაბალი ეფექტურობით, რადგანაც თეორიულად ფოტოსინთეზის ეფექტურობა ანუ სინათლის ენერგიის ორგანული ნივთიერებების ქიმიურ ენერგიად გარდაქმნის კოეფიციენტი ახლოსაა 15%-თან, ხოლო ფაქტიურად ყველაზე პროდუქტიული კულტურული მცენარეები მზის ენერგიის მხოლოდ 3-4%-ს იყენებენ. დედამიწაზე სიცოცხლისათვის ამ მეტად მნიშვნელოვანი პროცესის დაბალი ეფექტურობა გამოწვეულია მთელი რიგი მიზეზებით, დაწყებული ანატომიურ-მორფოლოგიურით და დამთავრებული – ბიოქიმიურ და მოლეკულურ-გენეტიკურით.

მცენარეებში ფოტოსინთეზის ეფექტურობის გადიდება შესაძლებელია როგორც ტრადიციული სელექციის, ისე ბიოტექნოლოგიის მეთოდების (უჯრედული და გენეტიკური ინჟინერია) გამოყენებით. ამჟამად პრობლემის გადაწყვეტის შემდეგი ძირითადი გზები მუშავდება: 1) მცენარის ადრეული ზრდისა და ფოთლების ფორმირების დაჩქარება, 2) ფოთლის ფირფიტის ფართობისა და ამ ორგანოს ცხოველმყოფელობის გადების გადიდება, 3) მცენარის “არქიტექტურის” გაუმჯობესება, 4) ფოთლის ფართობის ერთეულზე უჯრედში ქლოროპლასტების რაოდენობის გაზრდა, 5) ფოტოსინთეზის პროდუქტების მცენარის იმ ნაწილებში ტრანსპორტირების გაუმჯობესება, რისთვისაც იგი მოჰყავთ, 6) ფოტოსინთეზის მაქსიმალური შემცირება, 7) C_4 – ტიპის მცენარის ფოტოსინთეზის გენების ტრანსგენეზი (გადატანა) C_3 –

ტიპის მცენარეში, 8) ფოტოსინთეზის მთავარი ფერმენტის გენების ტრანსგენები, 9) ქლოროფილი “ა”-ს და ქლოროფილი “ბ”-ს მაკოდირებელი გენების სახეობათაშორისი გადატანა, 10) C₄ – ტიპის მცენარეების ფოტოსინთეზის ცალკეული შუალედი პროდუქტების კომბინირება მათი ფოტოსინთეზის ბიოქიმიის დეტალური შესწავლის საფუძველზე.

უფრო მნიშვნელოვანს, პრობლემის გადაწყვეტის თვალსაზრისით, წარმოადგენს ბიოტექნოლოგიური გზები. მოკლედ განვიხილოთ ამ მიმართულებასთან დაკავშირებული ზოგიერთი საკითხი. რაც მეტი გასაგები ხდება ფოტოსინთეზის მექანიზმი, მით მცენარის ბიოტექნოლოგიური გაუმჯობესების მეტი პოტენციური შესაძლებლობებია. ფოტოსინთეზის საკვანძო (მთავარ) ფერმენტს წარმოადგენს **რიბულოზო-1,5-ბიფოსფატ-კარბოქსილაზა (რბფკ)**. იგი ერთდროულად ასრულებს ორ ფუნქციას: მონაწილეობს ნახშირბადის აღდგენის ფოტოსინთეზიკურ ციკლში (**კარბოქსილაზური ფუნქცია**) და ნახშირბადის დაჟანგვის ფოტოსუნთქვის ციკლში (**ოქსიგენაზური ფუნქცია**). რბფკ-ს მონაწილეობა ამ ორ ურთიერთსაპირისპირო პროცესში რეგულირდება ნახშირჟანგისა და ჟანგბადის კონცენტრაციებით. მეორე ფუნქცია არასასურველია, რადგანაც აქვეითებს CO₂-ის ფიქსაციას და ამცირებს ფოტოსინთეზის პროდუქტიულობას.* ამიტომ ფოტოსინთეზის ეფექტურობის ამაღლებისათვის სასურველია ფერმენტის კარბოქსილაზური ფუნქციის გაძლიერება და ოქსიგენაზური ფუნქციის დასუსტება. გაანგარიშებების თანახმად, ოქსიგენაზური აქტიურობის სრული ელიმინაცია რბფკ-ში გამოიწვევს C₄-ტიპის მცენარეებში ფოტოსინთეზის ეფექტურობის ამაღლებას 45–50%-ით.** ფერმენტი რბფკ შედგება ორი სუბნაწილაკისაგან: დიდი L-სუბნაწილაკი, რომელიც ანხორციელებს კატალიზურ ფუნქციას (მოლეკულური მასა დაახლოებით 52 kD) და მცირე S-სუბნაწილაკი, რომელიც ასრულებს სტრუქტურულ და აქტივაციურ ფუნქციებს (მოლეკულური მასა დაახლოებით 14 D). რბფკ-ს ამ სუბნაწილაკების მაკოდირებელი გენები დღეისათვის კლონირებულია. მათში დადგენილია სრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა. მცენარეებში რბფკ-ს L-სუბნაწილაკი კოდირებულია ქლოროპლასტების გენებით. ამ ფერმენტის სინთეზი ქლორო-

* C₄ – ტიპის მცენარეებში ფოტოსინთეზის უფრო მაღალი ეფექტურობა დაკავშირებულია ერთი მხრივ, ფოტოსუნთქვის რეპრესიასთან, ხოლო მეორე მხრივ, რბფკ-ს საშუალებით CO₂-ის შებოჭვის გაძლიერებასთან.

** რა თქმა უნდა შეუძლებელია რბფკ-ს ოქსიგენაზური აქტიურობის სრულ ელიმინაციაზე ლაპარაკი, რადგანაც ფერმენტის ორივე ფუნქცია, როგორც ჩანს, წარმოადგენს ქლოროპლასტებში სუბსტრატის (რიბულოზობიფოსფატის) გარდაქმნის ქიმიური თავისებურებების გარდაუვალ შედეგს. თეორიულად შესაძლებელია კონტროლირებადი ცვალებადობის გზით (მაგ. საიტ-სპეციფიკური მუტაცია) რბფკ-ს აქტიურ ცენტრში ოქსიგენაზური აქტიურობის 10-ჯერ შემცირება.

პლასტებში ხდება. რბფკ-ს მცირე S-სუბნაწილაკი კოდირებულია ბირთვული გენით. მისი სინთეზი წინამორბედის სახით წარმოებს ციტოპლაზმაში, შემდეგ ტრანსპორტირდება – ქლოროპლასტებში.* ვარაუდობენ, რომ გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდების გამოყენებით ფერმენტის ორივე სუბნაწილაკის მაკოდირებელი გენების შეცვლა ან მოდიფიკაცია გამოიწვევს CO_2 -ს ფიქსაციის პროცესის ეფექტურობის ამაღლებას. ჯერჯერობით მიზანმიმართული საიტ-სპეციფიკური მუტაგენეზის გზით შემცირებული ოქსიგენაზური აქტიურობის მქონე რბფკ-ს მიღება არ დაგვირგვინდა წარმატებით.

მცენარეებში ფოტოსინთეზის პრობლემის გადაწყვეტის ბიოტექნოლოგიური გზები უკანასკნელ პერიოდში მეცნიერთა სულ უფრო მეტ დაჟინებულ ყურადღებას იპყრობს. თუმცა, ექსპერტების აზრით, არსებით პრაქტიკულ შედეგებს შეიძლება ველოდოთ მხოლოდ XXI საუკუნის დასაწყისში.

* ამჟამად მცენარეული წარმოშობის რბფკ-ს გენებთან ერთად კლონირებული და სექვენირებულია მრავალი პროკარიოტული ორგანიზმის რბფკ-ს გენებიც.

1.10. ბიოტექნოლოგია და ენერგეტიკა

უკანასკნელ წლებში მსოფლიოში სასოფლო-სამეურნეო პროდუქციის წარმოება 2-3-ჯერ გაიზარდა, ხოლო ენერგიის ხარჯი – 10-15-ჯერ. ენერგეტიკული პრობლემა განსაკუთრებული სიმწვავეით დგას არა მარტო საქართველოში, არამედ მთელ მსოფლიოში, რადგანაც ბუნებრივი რესურსების (ნავთობი, გაზი, ქვანახშირი) მნიშვნელოვანი ნაწილი ამოწურულია* ან დაკონსერვებულია “მომავლისათვის”, ხოლო ენერგიაზე მოთხოვნილება განუწყვეტლივ იზრდება. ამიტომ, თანამედროვე საზოგადოების ერთ-ერთ ძირითად სოციალურ-ეკონომიურ პრობლემას სათბობ-ენერგეტიკული რესურსების რაციონალური გამოყენება და ენერგიის პრინციპულად ახალი წყაროების ძიება წარმოადგენს.

აღნიშნული პრობლემის გადაწყვეტაში მნიშვნელოვანი ადგილი უკავია ბიოტექნოლოგიას, რომელიც მოწოდებულია მოხსნას იგი შემდეგი გზებით: 1) ეთანოლის, როგორც საწვავის მიღება მცენარეული ბიომასიდან; 2) ბიოგაზის წარმოება სხვადასხვა ნარჩენიდან; 3) წყალბადის, როგორც ეკოლოგიურად სუფთა საწვავის მიღება სხვადასხვა ბიოობიექტის გამოყენებით; 4) “მცენარეული ნავთობის” მიღება ზოგიერთი მცენარიდან; 5) ენერგიის მიღება მსოფლიო ოკეანის ღრმა წყლების გამოყენებით; 6) ბიოსაწვავის მიღება ზღვის ფიტოპლანქტონის გამოყენებით; 7) ენერგიის წყაროდ მიკროწყალმცენარეების პირველადი ბიომასის წარმოება მისი შემდგომი უტილიზაციით; 8) ენერგიის მიღება სუბსტრატის ქიმიური ენერგიის ელექტრულ ენერგიად გარდაქმნედი ბიოსათბობი ელემენტების გამოყენებით; 9) მაღალტექნური ბენზინის მიღება პიროლიზებული** ბიომასის ორთქლიდან; 10) ფოტოსინთეტიკური სისტემების ეფექტურობის ამაღლება და სხვა.

დღეისათვის ყველაზე მეტი პრაქტიკული გამოყენება აქვს პირველ ორ გზას, დანარჩენი ძირითადად ძიების ფაზაშია.

1.10.1. ეთანოლის როგორც საწვავის მიღება

ბუნებრივი საწვავის მარაგის შეზღუდულობამ კაცობრიობა მიიყვანა იქამდე, რომ ზოგიერთი ქვეყანა უკვე ახლა ცდილობს ენერგეტიკული პრობლემის გადაწყვეტას მწვანე მცენარეების ფოტოსინთეზის პროცესში წარმოქმნილი ორგანული ნივთიერებების გარდაქმნით - ეთილის სპირტად ანუ ეთანოლად, რომელიც წარმატებით გამოიყუ-

* სპეციალისტების შეფასებით ენერგიის მოხმარების არსებული ტემპის შემთხვევაში ბუნებრივი საწვავის (ნავთობი, გაზი, ქვანახშირი) მარაგი ამოწურული იქნება უკვე 250-300 წლის შემდეგ.

** პიროლიზი – ნახშირწყალბადების მაღალტემპერატურული კრეკინგი ანუ გახლეჩა.

ნება საწვავად შიგაწვის ძრავებსა და სხვა ტიპის ენერგეტიკულ და-
ნადგარებში.

ნედლეულის ხარჯვის მიხედვით ეთანოლის წარმოება ყველაზე
მსხვილი ბიოტექნოლოგიური წარმოებაა მსოფლიოში. როგორც ცნო-
ბილია, ეთანოლი ფართოდ გამოიყენება ეროვნული მეურნეობის სხვა-
დასხვა დარგში – ქიმიური, ფარმაცოლოგიური, კვების მრეწველობა
და სხვა. მას იყენებენ როგორც გამხსნელს, ექსტრაგენტს და ანტიფ-
რიზს. ის წარმოადგენს სუბსტრატს მრავალი სხვა გამხსნელის, სა-
ღებავის, ფარმაცევტული პრეპარატების, საცხები მასალების, სარე-
ცხი საშუალებების, წებოს, ასაფეთქებელი ნივთიერებების და სხვა
სინთეზისათვის. გარდა ამისა, ეთანოლი წარმოადგენს დამატებითი
ენერგიის ეფექტურ წყაროს.

ეთანოლი ეკოლოგიურად სუფთა საწვავია. წვისას გამოიყოფა
 CO_2 და H_2O . შიგაწვის ძრავებში როგორც საწვავი იგი გამოიყენება
ან გაუწყლოებული (99.8%) ფორმით, ან ბენზინით შერეული (“გაზო-
პოლი”), სადაც მისი წილი 20%-მდე აღწევს, ან ბენზინთან შეურე-
ვლად ჰიდრატული ეთანოლის (94%) ფორმით.* ეთილის სპირტის ეკო-
ნომიკური ეფექტურობა ბენზინთან შერეულად მისი გამოყენებისას
15-20%-ით მეტია, ვიდრე სხვა შემთხვევებში.

ჯერჯერობით ეთანოლს, როგორც თხევად საწვავს, არ შეუძლია
ბენზინთან კონკურენცია, რადგანაც მისი წარმოება 2-3-ჯერ უფრო
ძვირია. მაგრამ მომავალში მისი როლი მნიშვნელოვნად გაიზრდება.
ეთანოლის, როგორც საწვავის წყაროს, პერსპექტიულობა მდგომარე-
ობს იმაში, რომ მისი ნედლეულის რესურსი – ძირითადად მცენარეუ-
ლი ბიომასა ყოველწლიურად განახლებადია. მცენარეული ბიომასა
მსოფლიოში უზარმაზარია და ფასდება დაახლოებით 100 მლრდ ტო-
ნით (მშრალ ნივთიერებაზე გადაანგარიშებით) წელიწადში. მისი მხო-
ლოდ უმნიშვნელო ნაწილი იხარჯება ადამიანის მიერ, მაგრამ ეს ნა-
წილი იძლევა მსოფლიოში გამოყენებული ენერგიის 14-მდე პრო-
ცენტს. მცენარეული ბიომასა არა მარტო ყოველწლიურად განახლე-
ბადი და თითქმის ნაჩუქარი ენერგიის წყაროა, არამედ წარმოადგენს
ალტერნატიული ენერგიის წყაროს.

ეთანოლის წარმოების პროცესი მოიცავს შემდეგ ეტაპებს: ნედ-
ლეულის მომზადება, სპირტული დუღილი, გამოხდა და გაწმენდა, გა-
უწყლოება (თუ გათვალისწინებულია მისი გამოყენება ბენზინთან შე-
რეული), დენატურაცია, შენახვის ორგანიზაცია. პროცესი მოიცავს აგ-
რეთვე გამოხდის ნარჩენების გადამუშავებას (ჩამარხვა ან ცხოვე-
ლების საკვებად, სასუქად გამოყენება და ა.შ.).

* პირველ შემთხვევაში ეთანოლი მნიშვნელოვნად ცვლის ძრავის ოქტანურ რიცხვსა
და სხვა ექსპლუატაციურ მახასიათებლებს, ისეთებს როგორიცაა გაშვება, კარბურაცია
და ემისია.

ეთანოლის მისაღებად ძირითადად იყენებენ სწრაფმზარდ და ნახშირწყლებით მდიდარ მცენარეებს. მათ შორის უნდა აღინიშნოს შაქრის ღერწამი, მანიოკი, მარცვლოვნები (განსაკუთრებით სიმინდი), მიწის ვაშლი, შაქრის ჭარხალი, შაქრის სორგო და სხვა.* სპირტული დუდილის სუბსტრატს წარმოადგენს მეღასა, სახამებელი, შაქრის ღერწმის წვენი, ცელულოზა და სხვა. ნედლეულის მომზადება მოიცავს ჰიდროლიზს, გასხივებას, ფილტრაციას და პასტერიზაციას.

წარმოებაში ფართოდ გამოყენებულ ეთანოლის კლასიკურ პროდუცენტს წარმოადგენს საფუარა *Sacharomyces cerevisiae* (ზოგჯერ იყენენ აგრეთვე *S. uvarum*-ს და *S. diataticus*).** საფუარებით ეთილის წარმოქმნა ანაერობული პროცესია, მაგრამ მათი გამრავლებისათვის აუცილებელია ჟანგბადი.

მეტაბოლიზმის პროცესი, საფუარის უჯრედების ცხოველქმედება, მათი ზრდა, დაყოფა და ეთილის სპირტის წარმოქმნა დამოკიდებულია სხვადასხვა ფაქტორზე: სუბსტრატის კონცენტრაცია, კულტივირების ტემპერატურა, არის pH, ჟანგბადისა და საბოლოო პროდუქტის (სპირტის) კონცენტრაცია, მიკროორგანიზმების პროდუქტიულობა, კვების დამატებითი წყაროები და ა.შ. ნედლეულში დუდილის კომპონენტის შემცველობა უნდა იყოს 16-25%, მაშინ ეთილის სპირტის საბოლოო კონცენტრაცია იქნება 6-12%. კულტივირების ოპტიმალურ ტემპერატურას წარმოადგენს 25-33°C. სპირტული დუდილის პროცესი ეფექტურად მიმდინარეობს 4-5 pH-ის დროს. საჭიროებისას აუცილებელს წარმოადგენს არეში კვების დამატებითი წყაროების – აზოტის, ფოსფორის, მიკროელემენტების, ვიტამინების და სხვა დამატება. სპირტულ დუდილზე არსებით გავლენას ახდენს გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით მიღებული მაღალპროდუქტიული და როგორც სუბსტრატის, ისე სპირტის გადიდებული კონცენტრაციებისადმი გამძლე შტამები, აგრეთვე ამ პროცესში იმობილიზებული ფერმენტების ან უჯრედების გამოყენება.

სპირტული დუდილის სამი ძირითადი ხერხი არსებობს: **პერიოდული, პერიოდული უჯრედების განმეორებითი გამოყენებით და უწყვეტი.** პერიოდული პროცესის დროს სუბსტრატის დუდილი მასში აერობულ პირობებში ახალგამოზრდილი საფუარების შეტანის შემდეგ ხდება. დუდილი მიმდინარეობს ანაერობულ პირობებში. პრო-

* ზომიერი კლიმატისა და დიდი ტყის მასივებით მდიდარ ქვეყნებში ნედლეულად იყენებენ სწრაფმზარდ მერქნიან მცენარეებს.

** საფუარების გამოყენების ძირითად ნაკლს წარმოადგენს: ეთანოლისადმი მგრძნობიარობა, რაც ამცირებს საბოლოო პროდუქტის გამოსავლიანობას; კონკურენცია დუდილსა და სუნთქვას შორის, რის შედეგად სუბსტრატი ნაწილობრივ დუღდება ეთანოლამდე; სახამებლის, ცელულოზისა და ქსილოზის დამშლელი ფერმენტების უქონლობა, რის გამოც აუცილებელია სუბსტრატის წინასწარი ჰიდროლიზი და ბიორეაქტორში შერეული კულტურის ჩათესვა.

ცესის დასრულების შემდეგ საფუარებს აცილებენ დადუღებულ მასას და სპირტის მიღების შემდგომ ციკლში იყენებენ პროდუცენტების ახალ პორციას. ხერხის ნაკლს წარმოადგენს ხანგრძლივი დუღილი და სუბსტრატის არასრული გამოყენება. აღნიშნული ნაკლი ნაწილობრივ აღმოფხვრილია საფუარების უჯრედების განმეორებითი გამოყენებით სპირტული დუღილის პერიოდული სქემის დროს. ამ შემთხვევაში პროცესის ბოლოს პროდუცენტის უჯრედებს აცილებენ დადუღებულ მასას და ინახავენ სპირტის მიღების შემდგომი ციკლისათვის. უწყვეტი რეჟიმის დროს სუბსტრატი და საფუარის უჯრედები უწყვეტად მიეწოდება სპირტული დუღილის აპარატს. ამ დროს მიიღწევა დუღილის მაღალი პროდუქტიულობა და სპირტის მაღალი კონცენტრაცია.

დუღილის დამთავრების შემდეგ სპირტის კონცენტრაცია შეადგენს 6-12%. სპირტის მაღალი კონცენტრაციის მისაღწევად მიმართავენ გამოხდას, გაწმენდას და გაუწყლოებას.

ეთანოლის წარმოების მთავარ დამატებით პროდუქტებს წარმოადგენენ ნახშირბადის დიოქსიდი, საფუარები, რახის ზეთები და გამოხდის ნარჩენები (ბარდა). მაგალითად, უკრაინაში დამუშავებული სპირტული დუღილის ერთ-ერთი ტექნოლოგიით 1 ტონა მელასიდან* მიიღება 310-320 ლ ეთანოლი, 100 კგ დაპრესილი პურსაცხობი საფუარი, 80-85 კგ მშრალი საკვები საფუარი, 10-13 კგ ნახშირბადის დიოქსიდი, 1.5-1.6 ლ რახის ზეთი. გარდა ამისა, 6-7% მშრალი ნივთიერების შემცველი გამოხდის ნარჩენი (ბარდა) 60%-მდე აორთქლების შემდეგ შეიძლება გამოყენებულ იქნას როგორც საკვები დანამატი, ან როგორც ნედლეული გრანულირებული ორგანო-მინერალური სასუქების მისაღებად.

ბოლო პერიოდში როგორც ეთანოლის პროდუცენტი დიდ ინტერესს იწვევს ბაქტერია *Zymomonas nobilis*. საფუარებისაგან განსხვავებით ეს ბაქტერია ხასიათდება კატაბოლიზური რეპრესიის დათრგუნვითა და ეთანოლისადმი დაბალი მგრძნობიარობით. გარდა ამისა, სუბსტრატის გამოყენებისა და ეთანოლის წარმოქმნის ხვედრითი სიჩქარე მათში 2-3 ჯერ მაღალია. *Z. nobilis*-ის კულტივირებით ეთანოლის მიღებაში უდიდესი წარმატებებია მოპოვებული კანადაში. ყურადღებას იპყრობს აგრეთვე ეთანოლის პროდუცენტი თერმოფილური ბაქტერიები (*Thermoanaerobium brockii*, *Clostridium thermocellum* და სხვა), რომლებიც გამოირჩევიან ზრდისა და მეტაბოლიზმის მაღალი სიჩქარით, მეტად სტაბილური ფერმენტებითა და ეთანოლისადმი მაღალი გამძლეობით.

მსხვილი სპირტის ქარხნების წარმოების მოცულობა ძალიან დიდია. ისინი ყოველწლიურად მოიხმარენ ათასობით ტონა ნედლე-

* მელასა – შაქრის წარმოების ნარჩენი.

ულს და რეალიზაციას უკეთებენ მილიონობით ლიტრ პროდუქციას.

ეთანოლის წარმოების მიხედვით მსოფლიოში წამყვანი ადგილი უკავია ბრაზილიას. 1975 წელს ამ ქვეყნის მთავრობამ მიიღო გადაწყვეტილება დაეწყო ეთანოლის, როგორც ბენზინის შემცვლელის, მასობრივი წარმოება შაქრის ღერწმიდან და მანიოკიდან. ეს გადაწყვეტილება ნაკარნახევი იყო ნავთობზე ფასების გაზრდით. პირველსაწყისი მიზანი – ეთანოლით შეეცვალათ ქვეყანაში მოხმარებული ნავთობის 20%, მიღწეულ იქნა 1981 წლისათვის. უკვე 1983 წლისათვის ავტომობილების 75% მუშაობდა 95%-იან ეთანოლზე, ხოლო დანარჩენი – გაზოჰოლზე. 1985 წელს მიღებულ იქნა 11.10⁹ ლიტრზე მეტი ეთანოლი. აღნიშნული სახეობის სათბობის წარმოება ქვეყანაში ამჟამად ფართოვდება.

აშშ-ში ეთანოლის წარმოებამ (ძირითადად სიმინდის სახამებლიდან) 1980 წელს მიაღწია 619 ათას ტონას. ქვეყანაში დამუშავებულია 6-9 ნაწილი ბენზინისა და 1 ნაწილი ეთანოლისაგან შემდგარი გაზოჰოლის წარმოების ეროვნული პროგრამა. უკვე 1980 წელს გაზოჰოლით შეიძლებოდა ავტომობილების გამართვა 28 შტატის 800 მომსახურების სადგურში. 1994 წლისათვის ამ პროდუქტის ყოველწლიური წარმოება შეადგენდა 5x10⁸ ბარელს.* 1999 წელს წარმოებული იყო 50 მლნ ტონა ეთანოლი. ქვეყანაში ვარაუდობენ 2030 დასაწყისისათვის გამოყენებული ბენზინის 30% შეცვალონ ეთანოლით.

ეთანოლის ფართო დანერგვას გეგმავენ დასავლეთ ევროპის ქვეყნებშიც. განსაკუთრებით საფრანგეთში. იაპონიაში დამუშავებულია ეთილის სპირიტის შაქრის ღერწმიდან მიღების გრძელვადიანი პროექტები. მათი მიზანი ქვეყნის მიერ მოხმარებული ბენზინის მესამედის ეთანოლით შეცვლაში მდგომარეობს. ავსტრალიაში ქვეყნის მთავრობამ მოიწონა შაქრის ჭარხლიდან და შაქრის ღერწმიდან ეთანოლის წარმოებაზე გამოკვლევების დაფინანსება. ფილიპინები გასული საუკუნის ბოლოსათვის შეუდგნენ ეთილის სპირტის წარმოებისათვის 10 ქარხნის მშენებლობის პროგრამის განხორციელებას. ეთანოლის წარმოებას დიდ ყურადღებას აქცევენ ინდოეთში, ზოგიერთ ლათინურ ამერიკულ, აფრიკულ და აზიურ ქვეყნებში.

1.10.2 ბიოგაზის მიღება

1.10.2.1. ბიოგაზის მიღების მნიშვნელობა ენერგეტიკული პრობლემების გადაწყვეტაში

თანამედროვე ბიოტექნოლოგიური მეცნიერებისა და ადამიანის პრაქტიკული მოქმედების მიღწევები ადასტურებენ, რომ ენერგიის

* 1 ბარელი ტოლია 159 ლიტრის.

რეალურ დამატებით წყაროდ შეიძლება იყოს ბიოგაზი ანუ ბიოლოგიური გაზი,* რომელიც მიიღება სხვადასხვა სასოფლო-სამეურნეო, სატყეო, მიკრობიოლოგიური და სხვა სამრეწველო ნარჩენების ანაერობული მეთანური დუდილის (ბიომეთანოგენეზის) შედეგად.

ენერგიის აღნიშნული წყაროს პერსპექტიულობა მდგომარეობს იმაში, რომ აქ გამოყენებული ორგანული ნარჩენები – ნაკელი, ნამჯა, ჭარხლის მელასა, კარტოფილის ბადაგი, ბალახი, ფოთლები, გაბინ-ძურებული გამდინარე წყლები, კვების ნარჩენები და სხვა წარმოადგენენ განახლებად ენერგომატარებლებს.

ენერგეტიკული პრობლემის გადაწყვეტის საქმეში სხვადასხვა ნარჩენიდან ბიოგაზის წარმოების დიდ მნიშვნელობაზე ლაპარაკობს შემდეგი ფაქტები:

- ერთი ძროხა ნორმალური კვებისა და საფენად არანაკლებ ოთხი კილოგრამი ნამჯის მიცემისას დღე-ღამეში იძლევა დაახლოებით 30 კგ ნარჩენს (ტენიანობა - 85%). ნარჩენის ეს რაოდენობა უზრუნველყოფს დაახლოებით 1.5 მ³ ბიოგაზის მიღებას, რაც საკმარისია ოთხი ადამიანისაგან შემდგარი ოჯახის ენერგიაზე მოთხოვნილების დასაკმაყოფილებლად.

- თუ წლის განმავლობაში ერთი ძროხის ნაკელიდან მიღებულ ბიოგაზს სათბობის სახით გამოვიყენებთ თბურ ელექტროსადგურებში, მაშინ იგი მოგვცემს დაახლოებით 900 კილოვატ/სთ ელექტროენერგიას.

- ყოფილი საბჭოთა კავშირის მასშტაბებში ყოველდღიურად შესაძლებელი იყო დაახლოებით 250 მლნ მ³ ბიოგაზის მიღება, რომლის საერთო ენერგეტიკული პოტენციალი 180 ათასი ტონა პირობითი სათბობის ექვივალენტურია.

- ინდოეთში ძროხის ნაკელიდან ყოველწლიურად შეიძლება მიღებულ იქნას 300 მლნ ტონაზე მეტი მშრალი ნივთიერება, რომლის ბიოგაზად გარდაქმნისას ენერგიის გამოსავლიანობა შეადგენს ნათობის ექვივალენტის 33 მლნ ტონას.

- ჩინეთში ყოველწლიურად შეიძლება მიღებულ იქნას 350 მლნ ტონაზე მეტი ნარჩენი (მშრალი ნივთიერებით), ხოლო აქედან 160 მლნ მ³-ზე მეტი ბიოგაზი, რაც 160 მლნ ტონა პირობითი სათბობის ექვივალენტურია. 2005 წლისათვის ჩინეთში დაგეგმილი იყო 1 მლნ ტონამდე ნარჩენის გადამუშავება და 500 მლნ მ³-მდე ბიოგაზის წარმოება.

- ამერიკელი ექსპერტების მტკიცებით მეთანური დუდილის გზით სასოფლო-სამეურნეო ნარჩენის მაქსიმალური გადამუშავების შედეგად აშშ სოფლის მეურნეობას შეუძლია მთლიანად დააკმაყოფი-

* სახელწოდება წარმოსდგება იქედან, რომ ასეთი გაზი წარმოადგენს ცოცხალი ორგანიზმების მოქმედების შედეგს და შეიცავს მეთანსა (CH₄) და ნახშირორჟანგს (CO₂).

ლოს თავისი მოთხოვნილება ენერგიაზე.

1.10.2.2. ბიომეთანოგენეზის ეტაპები

მეთანური დუდილი ანუ ბიომეთანოგენეზი ორგანული ნივთიერებების ენერგიად გარდაქმნის დიდი ხნის წინათ ცნობილი პროცესია (პირველად აღმოჩენილ იქნა 1776 წელს ვოლტის მიერ). იგი ანაერობულ პირობებში, მიკროორგანიზმების მოქმედებით, სხვადასხვა ორგანული ნივთიერებების რთული, მრავალსაფეხურიანი დაშლას, რომლის საბოლოო შედეგს მეთანისა და ნახშირორჟანგის წარმოქმნა წარმოადგენს. ბიომეთანოგენეზი მიმდინარეობს სამ ეტაპად: **ორგანული ნივთიერებების გახსნა და ჰიდროლიზი, აციდოგენეზი და მეთანოგენეზი.**

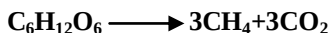
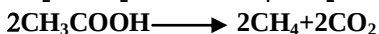
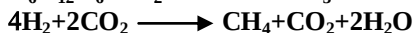
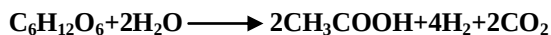
პირველ ეტაპზე ადგილი აქვს მაღალმოლეკულური ნაერთების (პოლისაქარიდები, ცილები, ცხიმები) დაშლას დაბალმოლეკულურ ორგანულ ნივთიერებებად (შაქრები, ამინომჟავები, გლიცერინი, ცხიმ-მჟავები), ნახშირბადის დიოქსიდად და წყალბადად. ამ ეტაპზე მონაწილეობენ სხვადასხვა ფიზიოლოგიური ჯგუფის ბაქტერიები: ცელულოზა-, სახამებელ- და პექტინოლამშლელი, ნახშირწყლების დუდილის, ამონიფიკატორი (ცილების, პეპტიდების და ამინომჟავების დამშლელი) და სხვა. მეორე ეტაპზე მჟავაწარმოქმნელი ბაქტერიების მონაწილეობით დაბალმოლეკულური ნაერთები გარდაიქმნება ორგანულ მჟავებად (პროპიონის მჟავა, ცხიმოვანი მჟავა, რქმჟავა და სხვა) და მათ მარილებად. ამასთანავე, წარმოიქმნება სპირტები, ნახშირორჟანგი, წყალბადი, ხოლო შემდეგ, გოგირდწყალბადი და ამიაკი. საკუთრივ მეთანური დუდილი მიმდინარეობს მესამე ეტაპზე, რომლის დროსაც ანაერობული ბაქტერიები – **მეთანოგენები*** (*Methanobacterium formicum*, *M. ruminantium*, *M. kadowensis* და სხვა) წარმოქმნიან მეთანს და ნახშირორჟანგს. ამ ეტაპზე სხვა ბაქტერიების მიერ ადრე წარმოქმნილი წყალბადის** გამოყენებით მეთანოგენები ნახშირორჟანგს აღადგენენ მეთანამდე და ძმარმჟავას შლიან მეთანად და ნახშირორ-

* **მეთანოგენები** ანუ მეთანწარმოქმნელი ბაქტერიები ერთ-ერთი უძველესი ბაქტერიებია, რომლებიც მიეკუთვნება არქეობაქტერიებს. დღეისათვის გამოვლენილი მეთანოგენების სახეობების რიცხვი 20-ს აღემატება. ამ ბაქტერიების ცხოველმოქმედება მიმდინარეობს მკაცრ ანაერობულ პირობებში. მეთანოგენების ცნობილი სახეობებიდან აღსანიშნავია: 1) სახეობები, რომლებიც ვითარდებიან არის ჟანგვა-აღდგენითი პოტენციალის დაბალი მანქვევების დროს; 2) სახეობები, რომელთა ცხოველმოქმედება მიმდინარეობს მარილების მაღალი კონცენტრაციის დროს (ჰალობაქტერიები); 3) სახეობები, რომლებიც ვითარდებიან არის pH=2.0-ს პირობებში და ჟანგვენ გოგირდს (სულფობაქტერიები); 4) სახეობები, რომელთა განვითარება მიმდინარეობს pH-ის დაბალი მანქვევებისა და მაღალი ტემპერატურის დროს (თერმოპლაზმები).

** ნახშირორჟანგის მეთანად აღდგენისათვის თითქმის ყველა ცნობილი მეთანოგენი იყენებს ელექტრონების 4 წყვილს, რომელიც წარმოიქმნება მოლეკულური წყალბადის დაჟანგვისას.

ჟანგად. ყველა ეს რეაქცია საკვებ არეში მიმდინარეობს ერთდროულად.

მეთანური დუდილის არსი რეაქციების შემდეგი ტოლობებით გამოიხატება:



1.10.2.3. ბიომეთანოგენეზის ინტენსიფიკაციის ფაქტორები

ბუნებრივ პირობებში ბიომეთანოგენეზის სინქარე დიდი არა არის. ბიოგაზის მიღებისას ბიოტექნოლოგიაში გათვალისწინებულ უნდა იქნეს ამ პროცესის ინტენსიფიკაციის ფაქტორები. აუცილებელია იმ პირობების ოპტიმიზაცია, რომლის დროსაც რეაქციის სინქარე იქნება მაქსიმალური. ბიომეთანოგენეზზე არსებით გავლენას ახდენს ტემპერატურა, არის pH, საკვები არის შედგენილობა, მყარი ნაწილაკების კონცენტრაცია და ზომა, მიკროორგანიზმების ბიომასის კონცენტრაცია, მიკროორგანიზმების პროდუქტიულობა და სხვა.

ტემპერატურული რეჟიმი წარმოადგენს ბიომეთანოგენეზზე მომქმედ ერთ-ერთ არსებით პარამეტრს. თერმოფილურ პირობებში (45-60°C) ბიოგაზის წარმოქმნის სინქარე 2.5-3ჯერ მეტია, ვიდრე მეზოფილური რეჟიმის (20-40°C) დროს. ბიოგაზის წარმოქმნის დამოკიდებულება ტემპერატურაზე ხასიათდება შემდეგი მაჩვენებლებით: 47°C ტემპერატურის დროს დღე-ღამეში გროვდება 2.5 მ³ ბიოგაზი აპარატის 1 მ³-ში, 35°C ტემპერატურის დროს შესაბამისად 1.5-2.0 მ³, 15°C-ის დროს კი მხოლოდ 0.1 მ³ ბიოგაზი. ბიომეთანოგენეზის ტემპერატურული რეჟიმის შერჩევა ხდება ბიოგაზის დანადგარის პროექტირების დროს. ხშირად უპირატესობა ეძლევა მეზოფილურ რეჟიმს, რადგანაც ასეთი ტემპერატურის დროს მიიღწევა საკვები არის გათბობისათვის აუცილებელი ენერგიის ეკონომია. გარდა ამისა, ბიომეთანოგენეზის მეზოფილური ტემპერატურის პირობებში კულტივირებადი მიკრობული პოპულაცია ისეთი მგრძნობიარე არ არის საკვები არის შედგენილობისადმი.

ბიომეთანოგენეზის სინქარეზე არსებით გავლენას ახდენს საკვები არის რეაქცია. მეთანის ინტენსიური წარმოქმნა მიმდინარეობს pH 6.5-7.5-ის დროს; 6.4-ზე დაბალი და 7.8-ზე მაღალი მაჩვენებლების დროს მეთანური მიკროორგანიზმების ასოციაციის მეტაბოლიტური აქტიურობა მცირდება. უნდა აღინიშნოს ის ფაქტი, რომ მეთანის წარმოქმნაში მონაწილე მიკროორგანიზმების ასოციაციაში, მჟავაწარმო-

ქნელი ბაქტერიები უფრო ადაპტირებულია პირობებისადმი და მეტაბოლურად უფრო მძლავრი უფრო მაღალი პროდუქტიულობა გააჩნიათ. ამიტომ საკვებ არეში მატულობს კონცენტრაცია და ერთდროულად pH მცირდება მისაწვდომ ზომასზე დაბლა, რის გამოც მუხრუჭდება მეტანის წარმოქმნა. იმისათვის, რომ ეს არ მოხდეს, საკვებ არეს უმატებენ კირს ან სუბსტრატს აზავებენ წყლით.

მიკროორგანიზმების მეტაწარმოქმნელი თანასაზოგადოების განვითარება დიდადაა დამოკიდებული საკვები არის შედგენილობაზე. ორგანული ნივთიერებების ბიოგაზად ბიოტექნოლოგიური გარდაქმნისათვის ყველაზე ხელსაყრელს წარმოადგენს საკვები არე, სადაც ნახშირბადისა და აზოტის თანაფარდობა (C:N) შეადგენს 10-30:1. აზოტის უკმარისობისა და ნახშირწყლების სიჭარბისას უფრო მეტად ვითარდება ბიომეთანოგენეზის მაინჰიბირებელი მეტაწარმოქმნელი პროცესი. აზოტის დიდი რაოდენობისას pH მატულობს 8.0-მდე და მეტად, შედეგად ადგილი აქვს ბიომეთანოგენეზის შესუსტებას. C:N თანაფარდობის ოპტიმალურ დონეზე შენარჩუნებისათვის აუცილებელია აზოტით მდიდარი ნარჩენების შერევა ნახშირბადით მდიდარ ნარჩენებთან. მაგალითად, ნახშირბადით მდიდარი ნაკვლის ბიომასის შერევა რომელიმე აზოტით მდიდარ ნარჩენთან.

ბიომეთანგენეზის ინტენსიფიკაციისათვის აუცილებელია წყლის სუსპენზიაში შერეული მყარი ნაწილაკების ოპტიმალური კონცენტრაცია. მეტაწარმოქმნელი მიკროორგანიზმების თანასაზოგადოების ცხოველმოქმედებისათვის ხელსაყრელად ითვლება საკვები არე, რომელშიც მყარი ნაწილაკების კონცენტრაცია (მშრალ ნივთიერებაზე) იმყოფება 10-12% ფარგლებში.* ამ შემთხვევაში სუბსტრატის სიბლანტე ნარჩენის მყარი ნაწილაკებში შერეული სითხის ბიომასასთან და გაზის ბუშტივებასთან თავისუფალი შერევის საშუალებას იძლევა. თუ მყარი ნაწილაკების კონცენტრაცია 12%-ზე მეტია, მაშინ სუბსტრატის სიბლანტის გადიდებისა და ფერმენტული რეაქციების პირობების გაუარესების (არასაკმარისი ინტენსიური არევით) გამო ბიოგაზის გამოსავლიანობა მცირდება. აღნიშნული წინააღმდეგობის დასაძლევად აუცილებელია ენერგიის დამატებითი ხარჯვა უფრო ბლანტი სუბსტრატის ასარევად. არსებობს მონაცემები, სადაც მყარი ნაწილაკების კონცენტრაცია წყლის სუსპენზიაში აღწევს 40%-ს. ამ დროს მნიშვნელოვნად მცირდება წყლის ხარჯი და ბიორეაქტორის ნორმები. ბიომეთანგენეზისათვის არანაკლები მნიშვნელობა აქვს აგრეთვე მყარი ნაწილაკების ზომას. ეს მანევრებელი არ უნდა აღემატებოდეს 30 მმ-ს.

ბიომეთანგენეზის ინტენსიფიკაციის ფაქტორს წარმოადგენს ბი-

* 100 კგ თხევადი ნაკვლის (ან ოჯახის მეურნეობის ნარჩენის) 100 ლ წყალთან შერევისას მყარი ნაწილაკების კონცენტრაცია წყლის სუსპენზიაში იქნება 8-11%.

ორეაქტორში მიკროორგანიზმების ბიომასის კონცენტრაციის გადიდება. ბაქტერიების ბიორეაქტორში დაგროვება და დამაგრება უზრუნველყოფს პროცესის მაღალ სიჩქარეს, გარდა ამისა, იგი აუცილებელია აპარატის მოცულობის შესამცირებლად. ბიორეაქტორში მიკროორგანიზმების დამაგრება ხდება მათი იმობილიზაციის გზით, ე.ი. მატარებელზე დამაგრებით. მატარებლად იყენებენ კერამიკას, მინას, პოლიმერებს და სხვა.

ბიომეთანოგენების ინტენსიფიკაციაში უდიდესი მნიშვნელობა აქვს მიკროორგანიზმების აქტიურობას. მიკროორგანიზმების მაღალპროდუქტიული შტამები მნიშვნელოვნად ზრდის ბიოგაზის წარმოების ეფექტურობას. უკანასკნელ წლებში ბიოტექნოლოგიების უდიდესი ყურადღების ობიექტი გახდა ბაქტერია – მეთანოგენები. იაპონური ფირმა “მაცუსიტა ელექტრიკ ინდასტრიალ K⁰-ს” მკვლევარებმა გამოიყვეს მეთანოგენური ბაქტერიის შტამი *Methanobacterium kodomensis* St 23, რომელიც მეთანოგენებს ახორციელებს არა 20 დღის განმავლობაში როგორც წესი, არამედ 8 დღეში. მეთანოგენების ეფექტურობის ამაღლებისათვის წარმატებით იყენებენ აგრეთვე გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებს. ნარჩენის ბიომასის, მათ შორის ნაკელის, ბიომეთანოგენების პროცესის ხანგრძლიობა მეთანოგენური მიკროფლორის ბუნებრივი ასოციაციის მონაწილეობით, მეზოფილური ტემპერატურის პირობებში, არა ნაკლებ 14 დღეა (ჩვეულებრივ 20 დღე). უმეტეს შემთხვევაში ბიომეთანოგენების პროცესი 24-28 და მეტი დღის განმავლობაში მიმდინარეობს. ბიოგაზის მაქსიმალური გამოსავლიანობა ყველაზე ინტენსიური მეთანოგენების სტადიაზე მნიშვნელოვნად დამოკიდებულია ნარჩენის ქიმიურ შედგენილობაზე. ასე, მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვის ნაკელის 1 კგ მშრალი მასიდან შეიძლება მიღებულ იქნას 0.2-0.5 მ³, ღორის ნაკელის ექვივალენტური მასიდან – 0.3-0.7 მ³, ხოლო ქათმის სკინტლის ბიომასიდან – კიდევ უფრო მეტი ბიოგაზი.

1.10.2.4. ბიოგაზის ბიოტექნოლოგიური მიღების უპირატესობა

ბიოგაზის ბიოტექნოლოგიურ წარმოებას გააჩნია რიგი უპირატესობები:

1. გაზის წარმოების ნედლეულად შეიძლება გამოყენებულ იქნას სხვადასხვა სასოფლო-სამეურნეო, საცემო, მიკრობიოლოგიური და სხვა სამრეწველო ნარჩენი, ე.ი. ნებისმიერი ორგანული ნარჩენი.

2. სხვადასხვა ნარჩენის ანაერობული გადამუშავება ბიოგაზის დაგროვების გარდა, იწვევს ე.წ. შლამის – ორგანული სასუქის წარმოქმნას. ამასთან, ადგილი აქვს აზოტისა და ფოსფორის მინერალიზაციას და მათ შენახვას, კომპოსტირების მეთოდით ორგანული სასუქების ტრადიციული ხერხებით მომზადებისაგან განსხვავებით, რომლის დროსაც იკარგება აზოტის 30-40%-მდე. ასე, ნაკელიდან ბიო-

გაზის წარმოებისას, ნაკელის როგორც სასუქის ღირსებები შენარჩუნებულია შლამში. უფრო მეტი, ეს შლამი წარმოადგენს უფრო ძვირფას და ეფექტურ სასუქს, ვიდრე თვით ნაკელი. მასში გაზრდილია საერთო აზოტის შემცველობა, 4-ჯერ გაზრდილია ამონიუმის აზოტი (რადგანაც ნაკელის აზოტის 20-40% გარდაიქმნება ამონიუმის ფორმად), გაორმაგებულია შეთვისებადი ფოსფორის შემცველობა, გადიდებულია აგრეთვე კალიუმის შემცველობა. გარდა ამისა, შლამი მოკლებულია ნაკელისათვის დამახასიათებელ სუნს, რასაც არანაკლები მნიშვნელობა აქვს ეკოლოგიური თვალსაზრისით.*

3. ბიოგაზის ბიოტექნოლოგიური წარმოება ეკონომიკურად მომგებიანია დაბალკონცენტრირებული ნარჩენის გამოყენების შემთხვევაშიც.

4. ბიომეთანგენეზის პროცესში წარმოიქმნება აგრეთვე სხვა ძვირფასი პროდუქტები. მაგალითად, ვიტამინი B₁₂.

5. თანამედროვე წარმოება ძალიან დიდი რაოდენობის ნარჩენს იძლევა. მაგალითად, გერმანიაში წლის განმავლობაში მეცხოველეობა იძლევა დაახლოებით 200 მლნ ტონა ნაკელს და შარდს. მსხვილი მეცხოველეობის კომპლექსების ახლოს დიდი რაოდენობით მათი დაგროვება სერიოზულ საშიშროებას წარმოადგენს გარემოსათვის: ბუნებრივ წყალსაცავებში მოხვედრისას ნაკელის წუნწუხი იწვევს წყლის ორგანიზმების მასობრივ მოწამელას. წყალში მკვეთრად იზრდება ამიაკის შემცველობა და ეცემა ჟანგბადის სიდიდე. ამიტომ ბიომეთანგენეზის პროცესში ნარჩენის დროულ გამოყენებას გააჩნია აგრეთვე ეკოლოგიური მნიშვნელობა.

6. გაბინძურებული ჩანადენი წყლების (განსაკუთრებით მეცხოველეობის) ორგანული ნივთიერებებიდან ბიოგაზის მიღებისას ადგილი აქვს მათ ეფექტურ ანაერობულ სანიტარულ გაწმენდას – ისპობა ჰელმინთების (პარაზიტი ჭიების) კვერცხები, პათოგენური მიკროფლორა და სარეველების თესვები, ეცემა ორგანული ნივთიერებების შემცველობა. ყველაფერი ეს – არსებითი წვლილია გარემოს დაცვის საქმეში.

7. მეთანური დუდილის პროცესში მიღებული ბიოგაზი ადვილი გამოსაყენებელია. ის ინარჩუნებს ბუნებრივი გაზისათვის დამახასიათებელ ყველა უპირატესობას. ადვილი ტრანსპორტირებადია, იწვის კვაძლის, ჭვარტლისა და ნარჩენის გარეშე. მისი ეროვნულ მეურნეობაში გამოყენება შეიძლება ნახშირორჟანგისაგან გაწმენდის გარეშე.

* არასასიამოვნო სუნი ასევე არა აქვს შლამის ზემოთ დაგროვილ სითხესაც (მასში ორგანული ნივთიერებების შემცველობა 80%-ით ნაკლებია). სანიტარულ-ჰიგიენური მანევრებლები მისი საკანალიზაციო სისტემაში ან წყალსაცავებში გაშვების საშუალებას იძლევა. მაგრამ უფრო რენტაბელურია მისი ჰიდრობიონტების (ქლორელა, წყლის სუმბული და სხვა) კულტივირებისათვის საკვებ არედ გამოყენება. აღნიშნული წყლის მცენარეები შეიძლება შეტანილ იქნას სასოფლო-სამეურნეო ცხოველების რაციონში ან გამოყენებულ იქნას საწყის სუბსტრატად ბიოგაზის მიღების პროცესში.

მასზე მომუშავე ტრანსპორტი, ელექტროსადგურების მოწყობილობები და ძრავები გარემოს არ აბინძურებენ.

8. მეთანური დუღილის დანადგარები ძალიან მოხერხებულია სოფლის მეურნეობაში ენერგომომარაგებისათვის. რადგანაც ენერგიის მომხმარებლის დიდი გაფანტულობის გამო საჭირო ხდება ელექტრო-გადაცემისა და გაზის მიღსადენების გრძელი ხაზების გაყვანა, რომელთა ექსპლუატაცია რთული და ძვირადღირებული საქმეა. სოფლის გაზიფიკაცია ბიოტექნოლოგიური დანადგარების ბაზაზე წარმოადგენს პრობლემის ყველაზე ეკონომიურ და თანამედროვე გადაწყვეტას, მათ მშენებლობაზე დანახარჯები ამოიგება 2-3 წელიწადში.

9. სოფლის პირობებში ბიოგაზი შეიძლება გამოყენებულ იქნას საკვების მოსამზადებლად, ცხელი წყლით უზრუნველყოფისათვის, საცხოვრებელი სახლებისა და ადმინისტრაციული შენობების გასათბობად, მეცხოველეობის ფერმების, აბანოების, სასადილოების, კლუბების, სკოლების, საბავშვო ბაღების გაზიფიკაციისათვის, სასათბურე მეურნეობის გასათბობად, ავტო-სატრაქტორო პარკის გაზით მომარაგებისათვის და ა.შ.

10. ბიომეთანგენეზის პროცესი გამოირჩევა მაღალი ეფექტურობით – ორგანული ნივთიერების ენერგიის 90-95%-მდე გარდაიქმნება ბიოგაზად. ეს მოწმობს იმას, რომ ბიომეთანგენეზი წარმოადგენს ენერგეტიკული თვალსაზრისით ორგანული ნივთიერებების ენერგიის სათბობად ტრანსფორმაციის ყველაზე მოშვებიან გზას. 1 ტონა ორგანული ნივთიერების (მშრალი მასით) გადაამუშავება იძლევა 600 მ³-მდე ბიოგაზს.

11. ბიოგაზის შედგენილობა ცვალებადობს საწყისი ნედლეულის ხარისხიდან გამომდინარე და მასში შედის: მეთანი 50-80%, ნახშირორჟანგი 20-40%, წყალბადი 1%-ზე ნაკლები, გოგირდწყალბადი 3%-ზე ნაკლები, ჟანგბადი 0.1%, მხუთავი გაზი 0.1%, აზოტი 1%. მას გააჩნია მაღალი თბოუნარიანობა* და CH₄/CO₂ თანაფარდობაზე დამოკიდებულობით შეადგენს 20.9-33.4 კ. ჯოული მ³.

1.10.2.5. ბიოგაზის წარმოების მდგომარეობა მსოფლიოში

მეთანური დუღილის არსის გარკვევამ მეცნიერებს საშუალება მისცა დაეყენებინათ ბიოგაზის, როგორც ენერგომომარაგების, ფართო პრაქტიკული გამოყენების ამოცანა.

პირველი ბიოენერგეტიკული დანადგარები შეიქმნა ბიომეთანგენეზის მეცნიერული საფუძვლების დადგენამდე. მაგალითად, ინდოეთში ისინი ფუნქციონირებდა ჯერ კიდევ 1900 წელს. ანალოგიური დანადგარები აგებულ იქნა 1918 წელს გერმანიაში, 1922 წელს – ინგლისში, ხოლო 1930 წელს – აშშ-ში. ისინი იძლეოდა საწვავის და-

* ბიოგაზის თბოუნარიანობას ამცირებს CO₂-ის მონაწილეობა.

ბალ გამოსავლიანობას, რადგანაც საკმაოდ პრიმიტიული კონსტრუქციისა იყვნენ.

მეთანური დუდილის პროცესის, მის ინტენსიურობაზე მომქმედი ფაქტორების და სხვათა დეტალურმა შესწავლამ საშუალება მისცა მეცნიერებს გადასულიყვნენ პრიმიტიული კონსტრუქციიდან უფრო სრულყოფილი ბიოგაზის დანადგარამდე. უკვე 1947-1950 წლებში გერმანიაში მუშაობდა საკმაოდ მსხვილი დანადგარები.

ბიოგაზის წარმოების მხრივ მსოფლიოში წამყვანი ადგილი უკა-უკავია ჩინეთს. ჯერ კიდევ 1978 წლის ბოლოსთვის აქ ფუნქციონირებდა 7 მლნ-ზე მეტი ბიოგაზის დანადგარი (საშუალო მოცულობა 6-12 მ³) და იწარმოებოდა 2 მლრდ მ³ ბიოგაზი (ბიოგაზის საშუალო გამოსავლიანობა 0.15 მ³ დღე-ღამეში 1 მ³ მოცულობაზე). 7.47 მ³ საშუალო მოცულობის აპარატზე დღე-ღამეში მოდიოდა 1.12 მ³ ბიოგაზი. 1991 წლის მონაცემებით ჩინეთში მუშაობდა 70 მლნ-ზე მეტი ბიოგაზის დანადგარი. ეს დაახლოებით 70% გლეხთა ოჯახს საშუალებას აძლევს ბიოგაზი გამოიყენოს საკვების დასამზადებლად. ამჟამად მათი რაოდენობა არსებითად გაზრდილია. ამ ქვეყანაში უდიდეს მნიშვნელობას ანიჭებენ ბიოგაზის პრაქტიკული გამოყენების პროპაგანდას.

ბიოგაზის წარმოებას დიდ ყურადღებას უთმობენ ინდოეთშიც, სადაც უდიდესი მატერიალური რესურსები არსებობს მნიშვნელოვანი რაოდენობის ენერგიის მისაღებად. XX საუკუნის 90-იან წლებში ინდოეთში იყო დაახლოებით 1 მლნ ბიოგაზის დანადგარი, რომლებიც გადაამუშავებდა ძროხის ნაკელის მხოლოდ 5%. ახლო მომავალში განზრახული აქვთ ააშენონ 25 მლნ-ზე მეტი ოჯახური და 6 მლნ-ზე მეტი მსხვილი თემური გამოყენების დანადგარი.

აშშ-ის მთავრობამ 1972 წელს გახსნა სხვადასხვა ნარჩენიდან ბიოგაზის მიღების სამუშაოების დაფინანსება. 1984 წლისათვის ფუნქციონირებდა დაახლოებით 50 შედარებით მსხვილი ბიოგაზის დანადგარი. ქვეყანაში არსებობს დიდი რაოდენობის ე.წ. არაორგანიზებული დანადგარები. აშშ-ის მრავალ ფერმაში დადგმულია სხვადასხვა სასოფლო-სამეურნეო ნარჩენის ბიომეთანოგენეზის მცირე ზომის დანადგარი. აღინიშნება აშშ-ის მსხვილი კაპიტალის მზარდი დაფინანსება ბიოგაზის წარმოებაში. მაგალითად, მისურის შტატში მოქმედებს ნაკელის სითბურ და ელექტრულ ენერგიად გარდაქმნის დანადგარი. ეს უკანასკნელი ემსახურება 60 სული მსხვილფეხა რქოსანი პირუტყვის ფერმასა და 300 სული ღორის ფერმას. გადაამუშავებისათვის ნაკელი ყოველდღიურად მიეწოდება 124 მ³ სამუშაო მოცულობის მქონე აპარატს. ასეთი ბიორეაქტორი ყოველდღიურად იძლევა 280 მ³ ბიოგაზს.

1974 წლიდან ისრაელში ბიოგაზის წარმოებით დაკავებულია “ასოციაცია კიბუცი ინდასტრიზ”. ჩატარებულია ბიომეთანგენეზის პროცესის ფუნდამენტური გამოკვლევები. მეცნიერებმა შეძლეს და-

ნადგარის მოცულობის ყოველ მ³-ზე დღე-ღამეში ბიოგაზის გამოსაფლიანობის გადიდება 4-6.5 მ³ –მდე (რაც 10-ჯერ აღემატება ჩვეულებრივ გამოსაფლიანობას). ნახშირორჟანგს იყენებენ სათბურებში კულტურული მცენარეების ფოტოსინთეზის დაჩქარებისათვის. გადამუშავების ნარჩენებს, რომელიც მხოლოდ 12% მყარ ნივთიერებას შეიცავს, იყენებენ თევზების საკვებად.

უკანასკნელ წლებში დასავლეთ ევროპის ქვეყნებში ისევ იზრდებიან ინტერესს მეთანური დუდილისადმი. ერთ პერიოდში საფრანგეთმა უარი თქვა ჯერ კიდევ მეორე მსოფლიო ომის დროს მომუშავე დანადგარების ექსპლუატაციაზე, მაგრამ შემდეგ კვლავ დაიწყო ბიომეთანგენეზის შესწავლა. მეცნიერული გამოკვლევების საფუძველზე მოხერხდა პროცესის სრულყოფა. შედეგად ყოველი კილოგრამი მშრალი ნივთიერებიდან ღებულობენ 0.45 მ³ ბიოგაზს (1 ტონა ნაკელიდან მიიღება 70-73 მ³ ბიოგაზი).

უნგრეთში ერთ-ერთ სასოფლო-სამეურნეო კოოპერატივში მუშაობს ბიოგაზის დანადგარი, რომელსაც წელიწადში მიეწოდება დაახლოებით 12 ათასი ტონა ნამჯის საფენი, 8 ათასი ტონა მელორეობის ფერმის, მევენახეობის, მებაღეობისა და მინდვრის ნარჩენი. აგროვებენ აგრეთვე ნაგავს მეზობელი სოფლებიდან, სიმინდის მშრალ ღეროებს, ნახერხს და სხვა. 20 ათასი ტონა ბიომასიდან ღებულობენ ბიოგაზს, რომელიც ტოლია 440-500 ტონა ნავთობის.

ამჟამად მსოფლიოს 60-ზე მეტი სახელმწიფო ცდილობს ენერგეტიკული პრობლემა რაღაც ხარისხით გადაწყვიტოს ბიოგაზის წარმოების გზით.

საქართველოში ბიოგაზის მიღებისა და გამოყენების სფეროში გამოკვლევები დაიწყო ჯერ კიდევ 1949 წელს საქართველოს სოფლის მეურნეობის მექანიზაციისა და ელექტროფიკაციის სამეცნიერო-კვლევით ინსტიტუტში. ჩატარებული გამოკვლევების საფუძველზე დაპროექტებული იქნა რამდენიმე ბიოგაზის დანადგარი. ერთ-ერთი მათ შორის აშენებულ იქნა 1958 წელს კრწანისის მეურნეობის მეცხოველეობის ფერმის ბაზაზე. შემდეგში სამუშაოები შეჩერებულ იქნა. უკანასკნელ პერიოდში კვლავ დაიწყო მუშაობა ამ მიმართულებით. ზოგიერთმა საწარმომ და ინდივიდუალურმა მოყვარულებმა უკვე დაამზადა ბიოგაზის დანადგარების პირველი პარტიები. საჭიროა ბიოგაზის წარმოების მოწინავე გამოცდილების უფრო ფართო პროპაგანდა.

1.10.2.6. ბიოგაზის დანადგარების მოწყობილობა, მათი ძირითადი კონსტრუქციული ტიპები და მუშაობის რეჟიმები

სხვადასხვა ნარჩენიდან ბიოგაზის მწარმოებელი დანადგარი ზოგადად შედგება: ნარჩენის შეგროვებისა და შენახვის მოცულობის, ბიორეაქტორის (სინონიმები: მეთანტენკი, დაიჯესტერი, დუდილის კა-

მერა, ფერმენტორი), მიღებული ბიოგაზის შესაგროვებელი რეზერვუარის (სინონიმები: გაზგოდდერი, გაზშემკრები), ამრევი და გასათბობი მოწყობილობების, მილსადენების სისტემის, ტუმბოებისა და გაზის კომპრესორების, ცენტრფუგიების მოწყობილობების, საკონტროლო-გამზომი აპარატურისა და ავტომატიზაციის საშუალებებისაგან.

წარმოების ეფექტურობისა და კულტურის განმსაზღვრელი კონსტრუქციული თავისებურებების გათვალისწინებით არჩევენ ბიოგაზის დანადგარების ოთხ ტიპს. ყველაზე მარტივი ტიპი გვხვდება ცხელი კლიმატის ქვეყნებში (სამხრეთ-აღმოსავლეთი აზიის, აფრიკის, სამხრეთი და ცენტრალური ამერიკის ქვეყნები). ასეთ დანადგარებში ბიორეაქტორი და გაზის შემკრები რეზერვუარი (გაზგოდდერი) ჩამარხულია მიწაში. ასადუღებელი ბიომასა არ თბება და არ აირევა. ბიომასის დუღილი გრძელდება 20-40 დღე. ბიორეაქტორის 1 მ³ მოცულობაზე, რომლის სასარგებლო ტევადობა შეადგენს 8-10 მ³ ბიოგაზის გამოსავლიანობა ტოლია 0.3-0.5 მ³. ბიომეთანგენეზის პროცესის რეგულირება და კონტროლი არ ხდება. ასეთ დანადგარებში მიღებული ბიოგაზი ძირითადად გამოიყენება საყოფაცხოვრებო მიზნით.

მეორე ტიპის ბიოგაზის დანადგარები თავიანთი კონსტრუქციითა და ტექნოლოგიური პარამეტრებით ძირითადად მსგავსია პირველი ტიპის დანადგარების. განსხვავება მხოლოდ ბიორეაქტორის მოცულობასა (50 მ³ და მეტი) და დღე-ღამეში ბიოგაზის მწარმოებლობაში (1.72 მ³ და მეტი).

უფრო მწარმოებლური და ეკონომიკური თვალსაზრისით მომგებიანი არის მესამე ტიპის დანადგარები. ისინი კონსტრუირებულია ისეთნაირად, რომ ადგილი აქვს დუღილის სუბსტრატის გათბობას, ბიორეაქტორში ჩატვირთვის წინ ბიომასის არევისა და დაქუცმაცებას. მათში ბიორეაქტორის მოცულობის ყოველ მ³-ზე ღებულობენ 4-ჯერ მეტ ბიოგაზს, ვიდრე პირველი ტიპის დანადგარიდან. მაგრამ არსებობს ზოგიერთი ნაკლოვანებებიც: დანადგარის მიწაში ჩამარხვით გამოწვეული არასაკმარისი სითბო- და ჰიდროიზოლაცია, გადასამუშავებელი ბიომასის არევის დროს ე.წ. დამდგარი ზონების წარმოქმნა, ზედაპირული ქერქის დაშლაზე დამატებითი ენერგიის ხარჯვა და ა.შ.

მეოთხე ტიპის ბიოგაზის დანადგარებში მეტნაკლებად დაძლეულია ზემოთ აღნიშნული ნაკლოვანებები, შეტანილია კონსტრუქციული სიახლეები (შექმნილია ორკამერიანი ბიორეაქტორი და ორკამერიანი რეზერვუარი გაზის შესავსებად), რაც ორსაფეხურიანი ბიომეთანოგენეზის პროცესის ჩატარების საშუალებას იძლევა. პირველ კამერაში, სადაც მიეწოდება წინასწარ მომზადებული და შემთბარი ახალი ბიომასა და მიმდინარეობს ორგანული მუყავების წარმოქმნის პროცესი, დაცულია 35°C ტემპერატურა. ბიორეაქტორის ცენტრში განლაგებულ მეორე კამერაში მიმდინარეობს თერმოფილური პროცესი

(55⁰C). ასეთ ბიოგაზის დანადგარებში შესაძლებელია მიღებულ იქნას 7 მ³ ბიოგაზი ბიორეაქტორის 1 მ³-ზე გადაანგარიშებით.

ბიოგაზის წარმოების რენტაბელობა მნიშვნელოვნად დამოკიდებულია ბიორეაქტორის კონსტრუქციაზე. მისი პროექტირებისას პირველ რიგში ითვალისწინებენ გადასამუშავებელი ნარჩენისა და დაგეგმილი ბიოგაზის მოცულობას. ძირითადად გამოიყენება ოვალური, ცილინდრულ-კონუსური, კუბური და პარალელოპიპედის ფორმის ბიორეაქტორები. ყველაზე მეტი უპირატესობა გააჩნიათ ოვალური და ცილინდრულ-კონუსური ფორმის ბიორეაქტორებს. მათში უკეთ ხდება სუბსტრატის არევა, შლამის გადმოტვირთვა, ბიოგაზის გამოყოფა და ქერქის დაშლა. ასეთი ფორმის ბიორეაქტორებს ეკუთვნის მომავალი.

ბიორეაქტორის დასამზადებლად საშენ მასალად იყენებენ აგურს, ბეტონს, რკინაბეტონს, ფოლადს, პლასტიკატს და პლასტმასს. ელასტიკურ ბიორეაქტორებს ათავსებენ გრუნტში ან თუ ისინი ნიადაგის ზედაპირზეა, შემოავლებენ მაგარ კონსტრუქციებს. ნებისმიერ შემთხვევაში ბიორეაქტორი უნდა იყოს აბსოლუტურად ჰერმეტიკული, ჰქონდეს სრულყოფილი თბოიზოლაცია და კოროზიისადმი გამძლეობა. ბიორეაქტორის შიგნით უნდა იყოს მუდმივი ტემპერატურა. გამთბობი საშუალებებით პირველ რიგში თბება (გარკვეულ ტემპერატურამდე) ჩატვირთული ახალი სუბსტრატი. ბიომეთანოგენეზის პირობების ოპტიმიზაციის მიზნით ბიორეაქტორში გამოყენებულია მექანიკური და ჰიდრაულიკური ამრევი მოწყობილობა. დუღილის სუბსტრატის არევა ხდება აგრეთვე კომპრესორით ბიორეაქტორში ჩატუმბული ბიოგაზის საშუალებით.

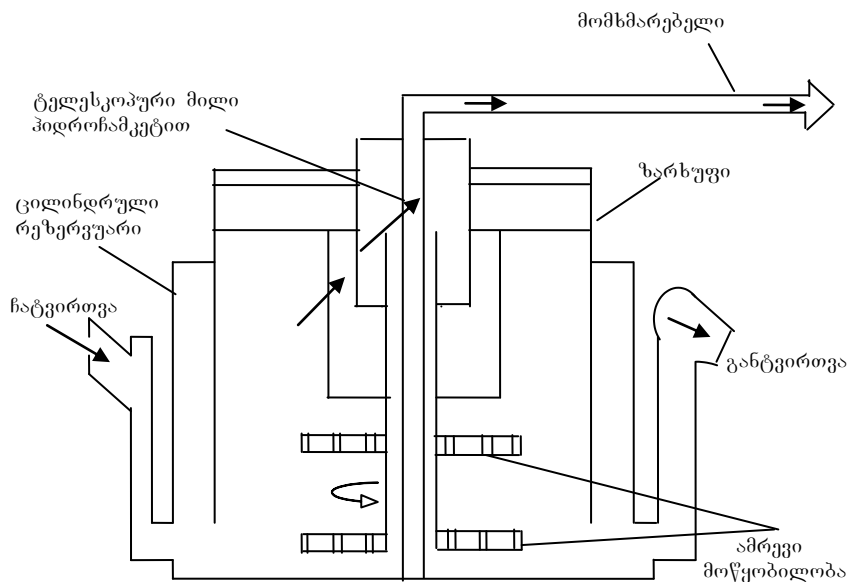
ბიორეაქტორების მოცულობა ვარირებს რამოდენიმე კუბური მეტრიდან რამოდენიმე ათას კუბურ მეტრამდე.*

ბიორეაქტორში მეთანური დუღილის პროცესი მიმდინარეობს უწყვეტ და პერიოდულ რეჟიმებში. პირველ შემთხვევაში ბიორეაქტორში ახალი დუღილის სუბსტრატი მიეწოდება უწყვეტად ან დროის მოკლე შუალედებით, ხოლო ძველი ნახმარი სუბსტრატი გაიტანება იმავე მოცულობით (ასეთი რეჟიმის დროს მიიღწევა ბიორეაქტორის ყველაზე მაღალი მწარმოებლობა). პერიოდული რეჟიმის დროს ბიორეაქტორში ახალი სუბსტრატი მიეწოდება ერთდროულად და გარკვეული პერიოდის შემდეგ (ბიომეთანოგენეზის დამთავრების შემდეგ) ტარდება ძველი გადამუშავებული სუბსტრატისაგან აპარატის არასრული განთავისუფლება. ბიორეაქტორში დარჩენილი სუბსტრატი ასრულებს ამთავის როლს, რომლის საშუალებით აპარატის შემდგომი ავსების შემ-

* მოცულობის მიხედვით ბიორეაქტორებს ყოფენ შემდეგნაირად: 1) განვითარებადი ქვეყნების სოფლის ბიორეაქტორები – მოცულობა 1-20 მ³; 2) განვითარებული ქვეყნების ფერმების ბიორეაქტორები – მოცულობა 30-500 მ³; 3) მრეწველობის ნარჩენების გადამამუშავებელი ბიორეაქტორები – მოცულობა 500-10000 მ³; 4) საყოფაცხოვრებო და სამრეწველო ნარჩენების გადამამუშავებელი ბიორეაქტორები – მოცულობა 10000-200000 მ³

დღე იწვეება მორიგი ბიომეთანოგენეზი. ასეთი რეჟიმის დროს მომხმარებლისათვის ბიოგაზის უწყვეტი და თანაბარი მიწოდების მიზნით აუცილებელია ორი ან მეტი ბიორეაქტორის (ახალი სუბსტრატით მორიგეობით შევსებისათვის) ერთ ბლოკში გაერთიანება.

მე-2 სურათზე ნაჩვენებია სოხუმის სააქციო საზოგადოება “ორ-



სურ. 2. ინდივიდუალური დანიშნულების ბიორეაქტორი

გტექნიკას” მიერ დამზადებული ინდივიდუალური დანიშნულების ბიორეაქტორი, რომლის მოცულობაა 1060 ლ, ხოლო ბიოგაზის დღე-ღამური მწარმოებლობა – 0.8 მ³. აპარატი შედგება ჩასატვირთ-განსატვირთი მილების მქონე უძრავი ცილინდრული რეზერვუარის, ზარხუფის (რომელიც მოძრაობს ვერტიკალურად გაზის მოცულობის ზრდის შესაბამისად), ამრევი მოწყობილობებისა და ჰიდროჩამკეტის ტელესკოპური მილისაგან. დანადგარი თავიდან ივსება 1 ტონამდე მოცულობის ნაკელისა და წყლის ნარევით. კვირაში 2-ჯერ ხდება 200 ლიტრი (40 ლ ნაკელი + 160 ლ წყალი) წყალნაკელის ჩამატება ერთდროული მორევით. ბიოგაზის გამოყოფის პროცესი იწყება 20 დღის შემდეგ და მიმდინარეობს უწყვეტად. ბიოგაზი გროვდება ზარხუფში, საიდანაც გადის ტელესკოპურ მილში და სპეციალური მილსადენით მიეწოდება მომხმარებელს.

1.11. ბაქტერიული და ორბანული სასუქების მიღება

1.11.1. ბაქტერიული სასუქების მიღება

ნიადაგში მინერალური სასუქების შეტანას დადებითთან (მოსაგლიანობის გადიდება და ა.შ.) ერთად უარყოფითი შედეგებიც გააჩნია. კერძოდ, გარემოს გაბინძურება, ნიტრატების შეღწევა ორგანიზმში, მოწამვლა, სხვადასხვა დაავადებები (მათ შორის კიბოც) და ა.შ. ამიტომ უკანასკნელ პერიოდში უცხოეთში გაჩნდა მიწათმოქმედების ახალი ტექნოლოგიები:^{*} 1) ბიოლოგიური მიწათმოქმედება, 2) ორგანული მიწათმოქმედება, 3) ორგანო-ბიოლოგიური მიწათმოქმედება, 4) ბიოდინამიური მიწათმოქმედება, 5) ეკოლოგიური მიწათმოქმედება. ეს ტექნოლოგიები მთლიანად ან ნაწილობრივ გამორიცხავენ მინერალური სასუქებისა (განსაკუთრებით აზოტიანი) და პესტიციდების გამოყენებას და ხელს უწყობენ ნიადაგში მიკროორგანიზმების რაოდენობისა და აქტიურობის მიზანმიმართულ რეგულაციას.

ნიადაგში ცხოვრობენ სხვადასხვა ტიპის – სიმბიოზური, თავისუფლად მცხოვრები, ასოციაციური მიკროორგანიზმები. ისინი მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ნიადაგის ნაყოფიერებაში. ერთნი მათ შორის მკვდარ ორგანულ ნარჩენებს გარდაქმნიან ნაყოფიერ ჰუმუსად, ხსნიან ძნელადმისაწვდომ არაორგანულ ნივთიერებებს, სხვები აძლიერებენ აზოტფიქსაციას, ზრდის რეგულატორებისა და ანტიბიოტიკების სინთეზს და ა.შ. მცენარის ფესვით კვების გაუმჯობესების მიზნით, ნიადაგში მიკრობიოლოგიური პროცესების გააქტიურებისათვის, მეცნიერებმა დაიწყეს ამა თუ იმ სახეობის ან ჯგუფის სასარგებლო მიკროორგანიზმების შემცველი მიკრობული პრეპარატების **ე.წ. ბაქტერიული სასუქების** შექმნა და გამოყენება. ძვირადღირებული და ეკოლოგიურად საშიში მინერალური სასუქების შეცვლა ბაქტერიული სასუქებით, ნაკლები დანახარჯებითა და გარემოს გაბინძურების გარეშე, მემცენარეობის პროდუქციის გაზრდის მნიშვნელოვან შესაძლებლობას იძლევა.

ბაქტერიული სასუქების მიღების ძირითად ხერხს თანამედროვე ბიოტექნოლოგია წარმოადგენს. მცენარის ფესვით კვების გაუმჯობესების სამი სახეობის ბაქტერიული სასუქი არსებობს: 1) აზოტფიქსატორი მიკროორგანიზმების პრეპარატები (რიზოტროფინი, აზოტობაქტერიინი, ნიტრაგინი და სხვა); 2) ფოსფატმამობილიზირებული მიკროორგანიზმების პრეპარატები (ფოსფატობაქტერიინი და სხვა); 3) კომპლექსური მიკრობული პრეპარატები (AMA,^{**} AMB^{***} და სხვა).

უკანასკნელ წლებში ბაქტერიული სასუქების გამოყენებისადმი

^{*} საქართველოში უკვე მოქმედებს ბიოლოგიურ მეურნეობათა ასოციაცია.

^{**} რუს. ავტოქტონური მიკროფლორა A (ლათ. avtochthonons – ძირითადი).

^{***} რუს. ავტოქტონური მიკროფლორა B

ინტერესი მნიშვნელოვნად გაიზარდა.* ეს განპირობებულია რიგი მიზეზებით: 1) მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყანაში დამუშავებულ იქნა გამოსაყენებლად უფრო მოხერხებული და მაღალი ეკონომიკური ეფექტის მომცემი ბაქტერიული სასუქების ახალი ფორმები; 2) ტრადიციული სელექციისა და გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით შეიქმნა კოჟრის ბაქტერიების მაღალი აზოტფიქსაციის უნარის მქონე ახალი შტამები, რომლებსაც გააჩნიათ მაღალი კონკურენტუნარიანობა და რიგი არახელსაყრელი გარემო ფაქტორებისადმი გამძლეობა; 3) მოხერხდა სიმბიოზური აზოტფიქსაციის ეფექტურობის ამაღლება სპეციალიზაციის (მცენარეთა ცალკეული სახეობისა და ჯიშების) შტამების შერჩევის ხარჯზე.

ბაქტერიული სასუქების სახით ყველაზე უფრო მეტად იყენებენ კოჟრის ბაქტერიების პრეპარატებს. ამჟამად მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში (ინგლისი, აშშ, რუსეთი, სამხრეთი ამერიკა, ავსტრალია, ინდოეთი, შვეცია და სხვა) ამ ტიპის ბაქტერიული სასუქების სხვადასხვა ფორმებს. წარმოებული პრეპარატების ფორმები, მათი გამოყენების ხერხები ბევრად განსაზღვრულია მიკრობიოლოგიური მრეწველობის განვითარების დონით, ტორფის მარაგის არსებობით, კლიმატური და სხვა ფაქტორებით.

კოჟრის ბაქტერიების პრეპარატების ყველაზე პერსპექტიულ ფორმას წარმოადგენს **რიზოტორფინი** – ტორფის ინოკულატი, დამზადებული γ -სტერილიზებული ტორფის საშუალებით. რიზოტორფინის წარმოების ტექნოლოგია დამუშავებულ იქნა 1973-1977 წლებში. იგი დაფუძნებულია კოჟრის ბაქტერიების მაღალეფექტური ტექნოლოგიური შტამების გამოყენებაზე, რომელთა გამოზრდა ხდება სიდრმული კულტივირების ბიოტექნოლოგიური მეთოდით ჯერ 4-6 ლ მოცულობის კოლბებში ან ბოთლებში სანჯღრეველებზე, ხოლო შემდეგ 0,1-დან 30 მ³-მდე ტევადობის ფერმენტორებში გაუმჯობესებული საკვები არეების გამოყენებით. კოჟრის ბაქტერიების სწრაფმზარდი შტამების კულტივირება ხდება 24-60 საათის განმავლობაში, ნელამზარდი შტამების – 72-90 საათის განმავლობაში. კულტივირების პროცესში ახდენენ კულტურის კონტროლს სიწმინდეზე მიკროსკოპირებისა და 0,5% გლუკოზისა და 0,5 % საქაროზის შემცველ ხორცპეპტონიან აგარზე დათესვით.

რიზოტორფინის დამზადებისათვის ტორფის ვარგისიანობა წინასწარ მოწმდება უშუალოდ მასზე კოჟრის ბაქტერიების გამოზრდითა და სტანდარტულ პირობებში შენახვისას მათი სიცოცხლისუნარიანობის კონტროლის მეთოდით. ტორფს აგროვებენ, აშრობენ 100°C-ზე დაბალ ტემპერატურაზე და ფქვავენ 0,1-0,25 მმ ზომამდე.

* მიუხედავად ამისა, უნდა აღინიშნოს, რომ ბაქტერიული სასუქები ჯერჯერობით უმეტეს შემთხვევაში ვერ ცვლიან მთლიანად ვერც ორგანულ და ვერც მინერალურ სასუქებს.

სტერილიზაციის ყველაზე საუკეთესო მეთოდს წარმოადგენს რადიო-აქტიური დამუშავება γ -სხივებით. სტერილიზაციის წინ დაფუძნებული ცარცით ნეიტრალიზებულ და 30-40 %-მდე ტენიანობის ტორფს აფასობენ პოლიეთილენის პარკებში. შემდეგ პარკებს აწყოებენ ყუთებში, ტარდება სტერილიზაცია γ -სხივებით და ბაქტერიების ინოკულაცია. გაცივებული კულტურალური სითხე დამატებითი საკვებით პარკებში შეჰყავთ სპეციალური ნემსის საშუალებით. ბაქტერიის შეყვანის შემდეგ ნემსის ნახვლეტი აღგილი იწებება წებოვანი ლენტით. პრეპარატის ყოველი გრამი უნდა შეიცავდეს არანაკლებ 2,5 მლრდ ცხოველმყოფელ, მაღალი კონკურენტუნარიანობისა და ინტენსიური აზოტფიქსაციის უნარის მქონე ბაქტერიის უჯრედებს. პრეპარატის ოპტიმალური შენახვის ტემპერატურა 0-დან 6°C-მდეა, ტენიანობა 40-55%. პრეპარატის ვარგისიანობის ვადა 6 თვეა.

პარკოსანი კულტურების თესლების რიზოტორფინით დამუშავებას ახდენენ შემდეგნაირად. რიზოტორფინს აზავენენ წყალში და წურავენ ორმაგ მარლაში. მიღებულ სუსპენზიას იყენებენ თესლების ინოკულაციისათვის. თესლების თესვა მიზანშეწონილია ჩატარდეს დამუშავების დღესვე ან მეორე დღეს. დამუშავებულია აგრეთვე გრანულირებული ფორმის რიზოტორფინის მიღების ტექნოლოგია.

კოჟრის ბაქტერიების პრეპარატების მეორე ფორმას წარმოადგენს **ნიტრაგენი**. პირველად აღნიშნული პრეპარატი დამზადებულ იქნა 1896 წელს გერმანიაში. ფიზიკური მდგომარეობის მიხედვით წარმოებაში გამოშვებული ნიტრაგენის პრეპარატები შეიძლება იყოს თხევადი, მკვრივი, ფხვიერი, ლიოფილურად გამომშრალი ბაქტერიული მასის ან შესაბამისი ნივთიერების – ბაქტერიის კულტურის მატარებლის სახით. მატარებლად იყენებენ ნიადაგს, ტორფს, ტალკს, მერქანს და სხვა ნივთიერებებს ცალ-ცალკე ან სხვადასხვა კომბინაციებში.

ნიტრაგენის დამზადებისათვის იყენებენ კოჟრის ბაქტერიების ყველაზე აქტიურ შტამებს, რომლებსაც შეუძლიათ ერთი მხრივ, წარმოქმნან საკმარისი რაოდენობის კოჟრები და უზრუნველყონ მაღალი აზოტფიქსაცია დაბალი ენერგეტიკული დანახარჯებით, მეორე მხრივ, ჰქონდეთ მაღალი კონკურენციის უნარი რიზობიუმის ადგილობრივი პოპულაციისა და ნიადაგის მიკროფლორის მიმართ არა მარტო პატრონ-მცენარის არსებობისას, არამედ მის გარეშეც.

აზოტობაქტერი წარმოადგენს ბაქტერიულ სასუქს, რომელიც შეიცავს თავისუფლად მცხოვრებ მიკროორგანიზმ აზოტობაქტერს. ამ მიკროორგანიზმის საფუძველზე შექმნილია პრეპარატები: აშშ-ში – “აზობაქი” და “სოეკო”, უნგრეთში – “არნსე-აგრო-რიზო”, ინდოეთში – “აზოტობაქტერ-ინოკულატი” და ა.შ. რუსეთში ადრე აზოტობაქტერინს ამზადებენ ნახევარლიტრიან ტარაში მკვრივი აგარიზებული საკვები არით. ამ საკვები არის ზედაპირზე აზოტობაქტერი წარმოქმნიდა

სქელ თეთრ ან ყავისფერ ღორწოს. ზოგიერთ შემთხვევაში აზოტობაქტერიის ამზადებენ ნიადაგის სუბსტრატზე. ბიოტექნოლოგიის განვითარებასთან ერთად დაიწყო თანამედროვე სოფლის მეურნეობის მოთხოვნილებების შესაბამისი მშრალი აზოტობაქტერიის დამზადების შესახებ გამოკვლევები. მშრალი აზოტობაქტერიის წარმოების ბიოტექნოლოგიური მეთოდი მოიცავს შემდეგ ოპერაციებს: წმინდა კულტურის მიღება, აზოტობაქტერის კულტურის თხევად საკვებ არეში სიღრმული მეთოდით გამოზრდა, კულტურალური სითხის დამცველ არესთან შერევა, ბიომასის გაუწყლოება. დამცველი არე მოიცავს ისეთ კომპონენტებს როგორიცაა მელასა, ცარცი, ამინომჟავები. აზოტობაქტერის მაღალეფექტური შტამების მისაღებად იყენებენ სელექციისა და გენეტიკური ინჟინერიის თანამედროვე მეთოდებს.

კოჟრის ბაქტერიებისა და აზოტობაქტერის გარდა ბაქტერიულ სასუქად იყენებენ აგრეთვე ციანობაქტერიებს. ისინი წარმოადგენენ კოსმოპოლიტებს, ფართოდ არიან გავრცელებული წყალსაცავებში და ტენიან ნიადაგებში. მათი გამოყენებით დამზადებული სასუქები სტიმულს აძლევენ მცენარის ზრდას და აღიდებენ მოსავლიანობას.

რადგანაც ამჟამად ფოსფატობაქტერიის და კომპლექსურ მიკრობულ პრეპარატებს წარმოება არ უშვებს, ჩვენ მათ აქ არ განვიხილავთ.

1.11.2. ორბანული სასუქების მიღება

ბაქტერიული სასუქების წარმოებასთან ერთად, თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის აქტუალურ ამოცანას წარმოადგენს ძვირფასი ორბანული სასუქების წარმოება.

მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში ენერგეტიკული კრიზისის დადგომასთან ერთად გაძვირდა მინერალური სასუქები, რადგანაც მათი წარმოება ძალიან ენერგოტევადია. ეს გახდა იმის მიზეზი, რომ მეურნეობაში დაგროვილმა ორგანულმა სასუქმა კვლავ შეიძინა თავისი წინანდელი ღირებულება და გაიზარდა მისი ოპტიმალური ხერხებით გამოყენებისაკენ სწრაფვა, ე.ი. საკვები ნივთიერებების დანაკარგების მაქსიმალური შემცირება ან სრული გამორიცხვა, შესაძლებელია სათავსოების მოცულობების შემცირება და ა.შ.

ნაკელის მეთანოგენეზის (ბიოგაზის მიღება) დროს წარმოქმნილ ორგანულ სასუქს, წარმოადგენს რა გაუსნებოვნებულ, კონცენტრირებულ და აზოტითა და სხვა საკვები ნივთიერებებით მდიდარს, გააჩნია მაღალი ნაყოფიერების უნარი და დამატებით უზრუნველყოფს მოსავლიანობის მატებას საშუალოდ 20%-ით 1 ტონა მშრალ ორგანულ ნარჩენზე გაანგარიშებით. ეს იძლევა ფულადი სახსრების ეკონომიას – ასეთი სასუქის გამოყენების ეფექტურობა 1 ტონა ორგანულ ნარჩენზე დაახლოებით 40 დოლარის ტოლია.

ფრანგული ფირმა “MUTRA-TRA” აწარმოებს ახალი ტიპის ორგანულ სასუქს – მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის მეთანიზირებულ ნაკელს. სასუქი მზადდება გრანულების სახით. 10 კგ ნაკელისაგან მიიღება 1 კგ მეთანიზირებული სასუქი (85% მშრალი ნივთიერება), რომელიც ჩვეულებრივ ნაკელთან შედარებით შეიცავს მეტ ორგანულ ნივთიერებას, ფოსფორს, კალიუმს, კალციუმს, მაგნიუმს და რაც მთავარია არ გააჩნია სუნი. ნიადაგში შეტანილი გრანულები სწრაფად იშლება წვიმის დროს.

სოფლის მეურნეობის ინდუსტრიალიზაცია და ქიმიზაცია წარმოშობს ნიადაგის გაჯანსაღების ახალ რთულ პრობლემას. გარდა ამისა, თვით სოფლის მეურნეობა წარმოადგენს გარემოს გაბინძურების საშიშ წყაროს. ამიტომ სანამ არსებობს ტრადიციული მიწათმოქმედება ის მუდამ საჭიროებს მაღალხარისხოვან ორგანულ სასუქებს. აქედან გამომდინარე, სასოფლო-სამეურნეო ნარჩენების სხვადასხვანაირ კომპოსტებად ბიოკონვერსია (გარდაქმნა) მომავალში მეტ პრაქტიკულ მნიშვნელობას შეიძენს.

სასოფლო-სამეურნეო და სხვა ორგანული ნარჩენების ნაყოფიერ სახნავ ფენად გარდაქმნაში ძირითადი როლი მიკროორგანიზმებს ეკუთვნის. უკანასკნელ წლებში მრავალი ინფორმაცია გაჩნდა ცალკეული მიკროორგანიზმების ან მათი ასოციაციების სასოფლო-სამეურნეო ნარჩენების ორგანულ სასუქად ბიოკონვერსიაში გამოყენების შესახებ.

ერთ-ერთმა იაპონურმა ფირმამ გამოიყვანა ბაქტერიის ახალი შტამი, რომელიც განკუთვნილია ბრინჯის ეფექტური გადამუშავებისათვის კომპოსტად. პრეპარატი წარმოადგენს ძვირფას სასუქს სასოფლო-სამეურნეო კულტურებისათვის. მან მიიღო “დიაკომოს” სახელწოდება. გამოცდა წარმატებით დასრულდა.

იკვლევდნენ რა ღორის, მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის და ფრინველის ნაკელის უტილიზაციის შესაძლო გზებს, ტოკიოს უნივერსიტეტის მეცნიერებმა დაადგინეს, რომ საქონლის ნაკელისათვის ყველაზე ეფექტურს წარმოადგენს კომპოსტირება. ეს უკანასკნელი გულისხმობს ნაკელში მიკრობული ინოკულატის შეტანას, ბრიკტირებას და 9 თვის განმავლობაში შენახვას. ქათმის სკინტლის კომპოსტირება ხდება თერმოფილური ბაქტერიის (*Thermonospora viridis*) ინოკულატის (სკინტლის მოცულობის 0,025 %) გამოყენებით ორ ეტაპად. თავიდან ფერმენტაცია მიმდინარეობს ნახევრადანაერობულ პირობებში 65 საათის განმავლობაში, შემდეგ აერობულ პირობებში ბარბოტაჟით 70 °C ტემპრატურის პირობებში დაახლოებით 40 საათის განმავლობაში.

ნიადაგის ნაყოფიერების გადიდების მიზნით ფრანგმა მეცნიერებმა დაამუშავეს მცენარეული, ცხოველური და სამეურნეო ნარჩენების ჰუმინურ სასუქად გარდაქმნის ახალი ხერხი. ცელულოზისა და

ლიგნინის ჰუმიფიკაციისათვის იყენებენ აერობულ და ანაერობულ ბაქტერიებს, რომლებიც მოქმედებენ სოკოებთან სიმბიოზში. პროცესი მთავრდება სტაბილური ჰუმუსის მიღებით. კომპოსტში ბაქტერიების აქტივაციას და გამრავლებას ახდენენ სუბსტრატში მეტალის ელექტროდების შეყვანით. წარმოქმნილი ელექტრული დენი უზრუნველყოფს არის ელექტროლიზს და მისი ჟანგბადითა და წყალბადით მონარაგებას. რამოდენიმე საათის შემდეგ ხდება არის 60°C-მდე გაცხელება, რაც ასევე ხელს უწყობს სუბსტრატის სწრაფ დაშლას.

ესპანელმა სპეციალისტებმა აღმოაჩინეს, რომ ჭიების ერთ-ერთ სახეობას, კერძოდ წითელი კალიფორნიის ჭიას (*Eisenia foelida*) შეუძლია ეფექტურად გარდაქმნას ძვირფას ორგანულ სასუქად სხვადასხვა ორგანული ნარჩენი. წითელი ჭიის მაღალი რენტაბელობა დაკავშირებულია მის განსაკუთრებით მაღალ ნაყოფიერებასთან და იაფ შენახვასთან. ყოველი ჭია წელიწადში იძლევა 1500-მდე თაობას. საშუალოდ ჭია ცოცხლობს 15-16 წელიწადს. 2 მ² ფართობის საკვები მასით საკვს ყუთში ცხოვრობს დაახლოებით 100 ათასამდე ზრდასრული ჭია. მათ წელიწადში შეუძლიათ დაახლოებით 1200 კგ ორგანული ნივთიერების (ნაკელი, ნამჯა, ნარჩენები) 400-600 კგ ჰუმუსად გადაქცევა. ფირმა “ლომბრიკულტურა მოდერნას” მიერ დამუშავებულია შემდეგი ტექნოლოგია. ორგანული სასუქის წარმოების პირველ ფაზაში ღია ცის ქვეშ დგამენ ყუთს საკვები მასით. ერთი ჭია დღეში ჰუმუსად გადაქცევებს დაახლოებით 0,7 გრ ორგანულ ნივთიერებას ანუ საკუთარი მასის ტოლ რაოდენობას. ყუთიდან ჰუმუსის აღება შეიძლება მაშინ, როცა მისი სიმაღლე მიაღწევს დაახლოებით 70 სმ-ს, ეს ოპერაცია ტარდება წელიწადში ერთხელ, ჩვეულებრივ შემოდგომით. ჰუმუსის მოსაცილებლად 20 დღით ადრე წვევებენ საკვები მასის მიწოდებას. ამ დროს მაქსიმუმამდე მცირდება ტენიანობა. შემდეგ ახალ ყუთში თხელ ფენად ყრიან საკვებ მასას, რათა ერთი დღის განმავლობაში მასში გადავიდნენ ჭიები. მეორე ფაზის დროს მიღებულ ორგანულ მასას, რომლის ტენიანობა დაახლოებით 75% უნდა იყოს, ანიავებენ 4 დღის განმავლობაში, შემდეგ ცრიან დაღებულობენ “ბიოსასუქს”, რომელსაც ამ დროისათვის უნდა ჰქონდეს 45-50% ტენიანობა. სასუქი გადის ლაბორატორიულ შემოწმებას ხარისხზე, შემდეგ ხდება დაფასოება და სარეალიზაციოდ მომზადდება.

იაპონიაში დამუშავებულია ხელოვნური ნაყოფიერი ნიადაგის მიღების ტექნოლოგია. მასში საწყის ნედლეულს წარმოადგენს მერქნის ნახერხი, რომელსაც 10 სმ სისქით ყრიან მსხვილფეხა რქოსანი საქონლის სადგომებზე. 15 დღის შემდეგ ცხოველების ექსკრემენტებითა და შარდით გაჟღენთილ ნახერხს ურევენ თევზის ნარჩენებს და აკომპოსტებენ ორმოებში. თვითგახურებულ კომპოსტში ტემპერატურის 30°C-მდე დაცემის შემდეგ (დაახლოებით 2 თვე) მასში შეჰყავთ ჭიაყელები და კომპოსტირების პროცესი კიდევ გრძელდება 16 თვე.

მიღებული მასა გადააქვთ მეფრინველეობის ფერმაში, სადაც იყენებენ ქათმების საფენად და საკვებად (ძირითად საკვებს წარმოადგენენ ჭი-
აყელები და მწერები). ხელოვნური ნიადაგის დამზადების დასკვნით
ეტაპზე ხდება საფენის კომპოსტირება და ჰომოგენიზაცია. ხელოვნ-
ური ნიადაგი ხასიათდება მტკიცე აგრეგატული სტრუქტურით, შეიცავს
54% ნახშირბადს, 2,7% აზოტს და დაახლოებით 20% წყალში ხსნად
ნაცრის ელემენტებს. იგი შეიძლება გამოყენებულ იქნას ქვიშასთან
ნარევში როგორც სავეგეტაციო ჭურჭლებში მცენარეთა გამოზრდის
სუბსტრატი.

ევროპის ქვეყნებსა და აშშ-ში კომპოსტს ამზადებენ მერქნიანი
მცენარეების ქერქიდან. დამუშავებულია კომპოსტირების მეთოდი, რო-
მელიც საწყისი ნედლეულის მიკრობიოლოგიური დაშლის პროცესის
კონტროლის საშუალებას იძლევა. გერმანიაში ყოველწლიურად ნარ-
ჩენებში მიდის 2 მლნ ტონაზე მეტი ქერქი, მის კომპოსტირებაზე მუ-
შაობს 30-ზე მეტი სპეციალიზირებული საწარმო. ისინი წელიწადში
დაახლოებით 600 ათას მ³ კომპოსტს ამზადებენ.

იტალიაში დამუშავებულია ხისგადამამუშავებელი მრეწველობის
ნარჩენების კომპოსტად გადაამუშავების ტექნოლოგია, რომლის მიხედ-
ვით მუშაობს რამოდენიმე სამრეწველო დანადგარი მწარმოებლობით
30 ტ ორგანული სასუქი წელიწადში. სპეციალურად მომზადებულ
მოედანზე ფოთლოვანი მცენარეების დაქუცმაცებულ ქერქს (50%)
ურევნ ქაღალდ-ცელულოზის ფაბრიკის წყლების დანალექს (25%),
მიღებულ მასას რამოდენიმეჯერ უმატებენ ფრინველის სკინტლს
(25%). კარგად არეული მასა 8 თვის შემდეგ მზადაა კომპოსტად. იგი
მდიდარია ნიადაგის ნაყოფიერების გამაუმჯობესებელი ჰუმინის მკაფე-
ებითა და სხვა ნივთიერებებით. სასუქი ფართოდ გამოიყენება მებალე-
ობასა და მებოსტნეობაში.

ფრანგულმა ფირმამ დაამუშავა ორგანული სასუქის მიღების
მიზნით ცხოველების სასაკლაოების ნარჩენების მცენარეულ ნარჩე-
ნებთან ერთად კომპოსტირების ხერხი. ფირმის მიერ დამუშავებული
ტექნოლოგიით სასაკლაოს ნარჩენებს (ცხოველთა კუწ-ნაწლავის შემ-
ცველობა, ტყავის ნაჭრები, ცხიმი, ნარეცხი წყალი, სისხლი და სხვა
გამოუყენებელი ნარჩენი) ურევნ მცენარეულ ნარჩენებს (სიმინდის
ნაჭური, ნახერხი) და აქუცმაცებენ. C:N შეფარდება კომპოსტირებად
მასაში უნდა იყოს 1:10. ტენიან ნარევს ათავსებენ ფერმენტორში,
აჩერებენ მუდმივი არევისა და აერაციის პირობებში რამოდენიმე სა-
ათს, შემდეგ იქიდან გადმოაქვთ და უტარებენ კომპოსტირებას ღია
მოედნებზე 3 თვის განმავლობაში, რის შემდეგ კომპოსტი მზადაა.

1.12. ნიადაგის ბიოტექნოლოგია

1.12.1. ნიადაგის ბიოტექნოლოგიის ამოცანები

ნიადაგის ნაყოფიერების შექმნასა და რეგულირებაში ბიოლოგიური ფაქტორის როლი უდიდესია. კარგადაა ცნობილი, რომ მიკროორგანიზმები თავიანთი ბიომასით და ცხოველმოქმედებით აქტიურად მონაწილეობენ ნიადაგის ნაყოფიერების შექმნაში. მაგრამ, ამჟამად ნიადაგში მიმდინარე ბუნებრივ მიკრობიოლოგიურ პროცესებს არ შეუძლია მოსახლეობის სწრაფი ზრდის შესაბამისად სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მაღალი მოსავლიანობის უზრუნველყოფა. ბუნებრივი ნაყოფიერების ნაცვლად ინერგება ადამიანის მიერ შექმნილი ხელოვნური ნაყოფიერება. აქედან გამომდინარე, ნიადაგის ნაყოფიერების დონის ამაღლებისა და მისი მდგრადობისათვის აუცილებელია მიკრობიოლოგიური პროცესების სისტემატიური რეგულირება ნიადაგში.

სასოფლო-სამეურნეო კულტურების განვითარების პროცესების რეგულირებისა და ნაყოფიერების დონის ოპტიმიზაციის მიზნით ნიადაგში მიკრობიოლოგიური პროცესების მართვის აუცილებლობამ წარმოშვა ახალი მიმართულება სოფლის მეურნეობაში – **ნიადაგის ბიოტექნოლოგია**.

ბიოტექნოლოგიის ეს მიმართულება ითვალისწინებს ნიადაგში მიკროორგანიზმების შემადგენლობის, მათი ბუნებრივი ბიომასისა და მიკრობიოლოგიური პროცესების შესწავლასა და რეგულირებას. იგი იძლევა სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მოსავლიანობის სტაბილიზაციისაკენ მიმართული მიკროორგანიზმების მოქმედებისა და მეტაბოლიტური რეაქციების მართვის აუცილებელი ხერხების დამუშავების შესაძლებლობას. ნიადაგის ბიოტექნოლოგიის ძირითად ამოცანას მცენარის რიზოსფეროში მიკრობიოლოგიური პროცესებისა და მიკრობული პოპულაციების მართვა წარმოადგენს.

დასახული ამოცანის გადასაწყვეტად ნიადაგის ბიოტექნოლოგიაში დამუშავებულია ნიადაგის მიკრობულ თანასაზოგადოებაზე ზემოქმედების ეფექტური ხერხები, რომლებიც ნიადაგის პოტენციალური და ეფექტური ნაყოფიერების შენარჩუნების მიზნით მიკრობიოლოგიური პროცესების მიზანმიმართული რეგულირების საშუალებას იძლევა. ისინი მოიცავს: ზრდის რეგულატორების, ანტიბიოტიკების და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების წარმოქმნის უნარის მქონე აგრონომიულად ძვირფასი მიკროორგანიზმების ჯგუფების სტიმულირებისათვის ნიადაგის მიკრობულ ცენოზზე მიზანმიმართულ ზემოქმედებას; ნიადაგში მიკრობიოლოგიური პროცესების განვითარებასა და ნაყოფიერების ეფექტურ რეგულირებაზე დადებითად მომქმედ კულტურათა მორიგეობისა და თესლბრუნვის შემოღებას; მიკრობიო-

ლოგიური პროცესების რეგულირებისათვის ორგანული და მინერალური სასუქების შეტანას; მობილიზაციური მიკრობიოლოგიური პროცესების მიმდინარეობისათვის ხელსაყრელი პირობების შემქმნელი ნიადაგის დამუშავების რაციონალურ ხერხებს; ნიადაგის მიკროორგანიზმების აქტიური აზოტოფიქსაციის უნარის გამოყენებას – ნიადაგამანყოფიერებელი პრეპარატების შეტანას ნიადაგში; მიკრობიოლოგიურ პროცესებზე ზემოქმედებისათვის ნიადაგის მედიორაციის სხვადასხვა სახეების გამოყენებას; ნიადაგის ნაწილობრივი სტერილიზაციის – მავნე ორგანიზმებისა და ზოგიერთი საპროფიტი მიკრობის განადგურების მიზნით პესტიციდების შეტანას; ნიადაგის მიკროფლორის ცხოველყოფილობაზე დადებითად მოქმედი ახალი გენეტიკური თვისებების მქონე კულტურათა თესლობრუნვაში შეყვანას და სხვა.

ქვემოთ განხილულია მიკრობიოლოგიური პროცესების მიზანმიმართული რეგულირების მიზნით ნიადაგზე ზემოქმედების ძირითადი ბიოტექნოლოგიური ხერხები.

1.12.2. მიკრობიოლოგიური პროცესების რეგულირება

ორგანული და მინერალური სასუქების შეტანა. ნიადაგის მიკრობიოლოგიურ-ბიოქიმიური აქტიურობისა და მისი ნაყოფიერების ამადლების ერთ-ერთ საშუალებას წარმოადგენს ორგანული და მინერალური სასუქების გამოყენება მუდმივ ნიადაგების მოკირიანებით. მოსავლიანობის ამადლებაში გადამწყვეტი როლი ორგანულ და მინერალურ სასუქებს ეკუთვნის. სასუქების მოქმედებით არსებითად იცვლება ნიადაგის მიკროფლორის სასიცოცხლო რეჟიმი. ნიადაგის გაკულტურება შერეული სისტემის (ორგანული და მინერალური) სასუქების სისტემატური გამოყენებით იწვევს მიკრობიოლოგიური პროცესების აქტიურობის მკვეთრ გაძლიერებას. ძირითადი ფიზიოლოგიური ჯგუფის მიკროორგანიზმების რაოდენობის მატებასთან ერთად იზრდება ნიადაგის ნიტრიფიკაციული და ცელულოზადაშლელი უნარი, ინტენსიურად გროვდება თავისუფალი ამინომჟავები, ფართოვდება მისი ხარისხობრივი შედგენილობა, მატულობს ფერმენტების აქტიურობა. მინერალური სასუქების (მოკირიანების გარეშე) ხანგრძლივი გამოყენება ამუხრუჭებს უმეტესი მიკრობული ჯგუფის განვითარებას და აქვეითებს მთლიანად მიკრობიოლოგიური პროცესების ინტენსიურობას. ყველაზე უფრო ეფექტურად მიკროფლორაზე მოქმედებს ნაკელისა და მინერალური სასუქების ერთობლივი შეტანა. მაგრამ მინერალური და ორგანული სასუქების მოქმედება მიკროფლორის ხარისხობრივ შედგენილობაზე სხვადასხვაა: მინერალური სასუქები ზღუდავს მიკროორგანიზმების სახეობრივ მრავალფეროვნებას, ხოლო ორგანული – აფართოებს. მინერალური სასუქების მაღალ დოზებს შეუძლია გა-

მოიწვიოს მიკროფლორის ცალკეული ფიზიოლოგიური და ტაქსონომიური ჯგუფების, კერძოდ, აერობული აზოტფიქსატორების, სულფატმარედუცირებული ანაერობების განვითარების ინჰიბირება. ორგანული სასუქების ხანგრძლივი და სისტემატური გამოყენება ცალკე ან მინერალურ სასუქებთან კომბინაციაში დადებითად მოქმედებს მიკროფლორაზე. მაქსიმალურად იზრდება ამონიფიკატორი და ნიტრიფიკატორი ბაქტერიების რაოდენობა. შეტანილი სასუქების გავლენით ადგილი აქვს ცელულოზადაშლელი მიკროორგანიზმებისა და მიკრომიციტების სახეობრივი შედგენილობის ცვლილებას. ნიადაგის მოკირიანება ამცირებს მინერალური სასუქების უარყოფით მოქმედებას, რომელსაც ადგილი აქვს მათი ხანგრძლივი გამოყენებისას.

ამრიგად, აგროცენოზების პროდუქტიულობის ამაღლების მიზნით მიკრობიოლოგიური პროცესების მართვა მდგომარეობს ნიადაგის ბიოლოგიური აქტიურობის მასტიმულირებელი სასუქების ორგანო-მინერალური სისტემის გამოყენებაში. ნიადაგზე ასეთი ზემოქმედება იწვევს მიკროფლორის ცხოველმოქმედების აქტიურ შეცვლას, განსაკუთრებით ფესვთა სისტემის ზონაში. ეს გამოიხატება მიკრობების მასის, ზომებისა და სხვა თვისებების მნიშვნელოვან გადიდებაში, ოლიგოტროფული მიკროორგანიზმების როლის ამაღლებაში, მთლიანად ნიადაგის ბიოლოგიური აქტიურობის დონის სასურველ ცვლილებაში. ნიადაგის ბიოდინამიკაში მომხდარი გარდაქმნები გავლენას ახდენენ ორგანული ნივთიერებების ტრანსფორმაციის ბიოქიმიურ პროცესებზე და დადებითად მოქმედებენ ნიადაგის ნაყოფიერებაზე.

თესლბრუნვა. ნიადაგის მიკრობიოლოგიური აქტიურობისა და მისი ნაყოფიერების გადიდების მეორე საშუალებას წარმოადგენს სასოფლო-სამეურნეო კულტურების სწორი მორიგეობა.

სასოფლო-სამეურნეო წარმოებაში კულტურის უცვლელობა (მონოკულტურა) იწვევს ნიადაგის მიკროფლორის ჯგუფურ გარდაქმნას. ასეთ პირობებში შეიძლება არსებითად გაიზარდოს მიკრომიციტების, აქტინომიცეტების, სპორაწარმოქმნელი ბაქტერიების რაოდენობა და მკვეთრად დაეცეს აზოტფიქსატორების, მეტაბოლიტი მიკროორგანიზმების რიცხვი. მონოკულტურის ქვეშ ნიადაგში დაბალია პროტეოლიტური, პექტინოლიტური, ამილოლიტური, ცელულოზური, დამჟანგავ-ადმდენი ფერმენტების აქტიურობა. კერძოდ, მცირდება ფერმენტ პოლიფენოლქსიდაზას აქტიურობა, რომელსაც არსებითი მნიშვნელობა ენიჭება ჰუმუსწარმოქმნელ პროცესებში და პოლიფენოლების უტილიზაციაში. ამ დროს ეცემა სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მოსავლიანობა.

კულტურების სწორი მორიგეობა მიწათმოქმედებაში ხელს უწყობს მცენარის ფესვთა სისტემასთან მჭიდროდ დაკავშირებული აქტიურად ფუნქციონირებადი მიკრობო-ბიოქიმიური კომპონენტის ბიოლოგიური სისტემის ფორმირებას ნიადაგში. თესლბრუნვის შემ-

თხევებაში ეკოლოგო-ტროფიკული* ჯგუფის მიკროორგანიზმების დათრგუნვა, როგორც წესი, არ ხდება. რიზოსფეროს მიკროფლორასა და მცენარეს შორის დამყარებული ურთიერთდამოკიდებულება იწვევს ნიადაგის მაღალი ნაყოფიერების შენარჩუნებას.

ნიადაგის მელიორაცია. ნიადაგის მელიორაციული ათვისება იწვევს მათი აგრონომიული თავისებურებების გაუმჯობესებას, კერძოდ, ორგანული ნახშირბადის საერთო რაოდენობისა და ჰუმინის მჟავების შემცველობის გადიდებას. ამ დროს იზრდება აზოტისა და ნახშირბადის ტრანსფორმაციაში მონაწილე მიკროორგანიზმების რაოდენობა, მატულობს ასევე მიკრობული პოპულაციების სტაბილურობა.

ჭარბტენიან ნიადაგებში გამოყენებული დაშრობითი მელიორაცია არსებით გასდენას ახდენს ეკოლოგიურ გარემოზე – დაშრობილი მიწებისა და მიმდებარე ტერიტორიის წყალ-ჰაეროვან რეჟიმზე. ჭაობიანი ნიადაგების დაშრობა ცვლის მათ თვისებას, განსაკუთრებით ხარისხობრივ მაჩვენებლებს. კერძოდ, იცვლება ჰუმუსის არა იმდენად რაოდენობა, რამდენადაც ხარისხი, არა კალიუმის, ფოსფორის საერთო შემცველობა, არამედ მათი ფორმები. ადგილი აქვს მინერალური კვების ელემენტების არსებით გადაადგილებას, იცვლება ჰუმინის მჟავების ფრაქციული შედგენილობა მათი საერთო ჯამის შეუცვლელად. მნიშვნელოვნად იცვლება ნიადაგის სითბური რეჟიმი. ამ გარდაქმნებს თან ახლავს მიკრობული ცნობების შედგენილობისა და მოქმედების ცვლილება, აგრო-ბიოქიმიური შედგენილობის გაუმჯობესება და სხვა, რომლებიც განსაზღვრავს ნიადაგის ბიოლოგიური აქტიურობისა და ნაყოფიერების დონეს. ასეთი ნიადაგების მელიორაციის სწორი სისტემისას მატულობს სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მოსავლიანობა.

ნიადაგის ღამუშავება. ნიადაგის დამუშავების ძირითად სახეს, რომელიც დადებით გავლენას ახდენს მიკროფლორის ცხოველმოქმედებაზე, წარმოადგენს ხვნა. იგი ხელსაყრელ პირობებს ქმნის მობილიზაციური მიკრობიოლოგიური პროცესების ნიადაგში ეფექტური წარმართვისათვის, რის შედეგადაც ადგილი აქვს მცენარისათვის საკვები ნივთიერებების დაგროვებას.

ნიადაგის დამუშავების სხვადასხვა ხერხი სხვადასხვანაირ გავლენას ახდენს ნიადაგის მიკროფლორაზე. დადგენილია, რომ სახნავი ფენის სიღრმის გადიდებით მცირდება ნიადაგის ბიოლოგიური აქტიურობა, კერძოდ კლებულობს მიკროორგანიზმების რაოდენობა. ამის მიზეზს ჰაერის რეჟიმის გაუარესება და ნიადაგის ქვედა ფენაში ზოგიერთი ტოქსიკური ნივთიერების, ალბათ, მცენარის ნარჩენების არასრული დაშლის პროდუქტების დაგროვება წარმოადგენს. ნიადაგის აქ-

* trophé [ბერძნ.] – კვება.

ტიური გაფხვიერება მეკეთრად აძლიერებს აერობული მიკროორგანიზმების ცხოველმოქმედებას, ორგანული ნივთიერებების დაშლას და მისგან მინერალური საკვები ელემენტების გამოყოფას. მაგრამ ინტენსიური მიწათმოქმედების პირობებში მინერალური სასუქების მაღალი დოზების გამოყენებისას რიგ შემთხვევაში უფრო მნიშვნელოვანია ნიადაგის ორგანული ნივთიერებების შენარჩუნება მისი ფიზიკური და ფიტოსანიტარული მდგომარეობის გაუმჯობესების მიზნით. ამ შემთხვევაში უფრო პროგრესიულს წარმოადგენს ნიადაგის მინერალური დამუშავება.

ნაყოფიერების ამაღლების მიზნით ნიადაგის დამუშავების ხერხების შერჩევის საკითხები უნდა გადაწყდეს ღიფერენცირებულად კონკრეტულ კლიმატურ-ნიადაგობრივი პირობებისა და ნიადაგის გამოყენების თავისებურებების გათვალისწინებით.

პესტიციდების შუტანა. გარდა თავიანთი ძირითადი ფუნქციისა, ნიადაგში შეტანილ პესტიციდებს შეუძლიათ არსებითი გავლენის მოხდენა ნიადაგის თვისებებსა და მის ცოცხალ ნაწილზე. ბუნებრივი მიკრობიოცენოზების ფუნქციონირების კანონზომიერების დარღვევას შეუძლია ნიადაგის ნაყოფიერებაზე მომქმედ სერიოზულ ნეგატიურ შედეგებამდე მიგვიყვანოს. ამ შემთხვევაში აუცილებელია არასასურველი პესტიციდების ნარჩენებისაგან ნიადაგის გაწმენდის აუცილებელი პროცესების აქტივიზაციის მიზნით მიკროორგანიზმების მოქმედების მიზანმიმართული რეგულაცია.

ნიადაგში პესტიციდები მჭიდრო კონტაქტში შედიან მიკროორგანიზმების ძირითად მასასთან. მიკრობული ცენოზები ძირითად როლს ასრულებენ ნიადაგში შეტანილი პესტიციდების ნარჩენების ტრანსფორმაციასა და დეტოქსიკაციაში. მიკროორგანიზმების ცხოველმოქმედებით მნიშვნელოვანად განპირობებულია ნიადაგში პესტიციდების დაშლა და, როგორც შედეგი, ნიადაგისა და გარემო პირობების მათგან თვითგაწმენდა. პესტიციდებისა და მიკროორგანიზმების ურთიერთმოქმედება მოიცავს აგრეთვე უკუპროპორციასაც – პესტიციდების გავლენას მიკრობიოცენოზების შედგენილობასა და ცხოველმოქმედებაზე. მიკროფლორის ცალკეული ჯგუფები არსებით უარყოფით გავლენას განიცდიან ნიადაგში შეტანილი პესტიციდებისაგან, მაგრამ, როგორც წესი, არა ხანგრძლივსა და მტკიცეს. გარკვეული დროის შემდეგ მიკრობიოცენოზების შედგენილობა და ფუნქცია აღდგება.

ნიტრიფიკაციის პროცესის ინჰიბიტორების შუტანა. ინტენსიური მიწათმოქმედების პირობებში სხვანაირად მოხდა ნიტრიფიკაციის შეფასება. არც თუ ისე დიდი ხნის წინათ ეს პროცესი განიხილებოდა როგორც უდაოდ სასარგებლო – ნიადაგში მისაწვდომი აზოტის დაგროვების ხელშემწყობი ფაქტორი. ამჟამად ვლინდება მისი უარყოფითი მხარეები, კერძოდ, გაკულტურებულ ნიადაგებში გროვდება ჭარბი

რაოდენობის ნიტრატები მინერალურ სასუქებთან ერთად მათი შეტანისა და ამონიაკის ნიტრიფიკაციის შედეგად. ნიტრატები ადვილად ირეცხება და აბინძურებენ გარემოს. უზარმაზარი რაოდენობის ბმული აზოტი იკარგება დენიტრიფიკაციის პროცესში. ამიტომ მიკრობული ნიტრიფიკაციის შენელების ხერხების დამუშავება სულ უფრო მეტ პრაქტიკულ მნიშვნელობას იძენს.

გარკვეულ პირობებში ნიადაგში აქტიურად განვითარებადი ნიტრიფიკაციის ინჰიბიტორების გამოყენებას ძალიან დიდი მნიშვნელობა აქვს მინერალიზაციის არამწარმოებლური პროცესის დამუხრუჭებისათვის. ნიადაგში შეტანილ ნიტრიფიკაციის ინჰიბიტორებს გააჩნიათ ნიტრიფიკატორი მაკროორგანიზმების ცხოველმოქმედების ჩახშობის უნარი და ამით უზრუნველყოფენ აზოტის კონსერვაციას ამიაკურ ფორმაში. ამასთან მცირდება ნიტრატების ნიტრიტებად დაჟანგვის სიჩქარე, მუხრუჭდება ნიტრატების ჩარეცხვა და მათი აღდგენა გაზისებურ მდგომარეობამდე დენიტრიფიკატორი ბაქტერიებით, მკვეთრად ეცემა ნიადაგის ნიტრიფიკაციის უნარი. ცნობილია რამდენიმე ფართოდ გავრცელებული ნიტრიფიკაციის მაინჰიბირებელი პრეპარატი (მაგ. “N-serve-24”).

აზოტფიქსატორი მიკროორგანიზმების სასუქებისა და მიკრობული პესტიციდების, როგორც ნიადაგში მიკრობიოლოგიური პროცესების მარეგულირებელი ფაქტორების, გამოყენების თავისებურებები განხილულია სხვა თავებში (თავი 1.6 და 1.11).

ნიადაგის ბიოტექნოლოგია, რომელიც მიმართულია მიკროორგანიზმების შემადგენლობის, ბუნებრივი ბიომასისა და ფუნქციონირების შესწავლასა და რეგულაციაზე, თანამედროვე სოფლის მეურნეობაში სულ უფრო ფართო განვითარებას პოულობს. მისი გამოყენებით შესაძლებელია სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მოსავლიანობის სტაბილიზაციის ხელშემწყობი მიკრობიოლოგიური პროცესებისა და მათ მიერ განხორციელებული მეტაბოლიტური რეაქციების რეგულირების ხერხების დამუშავება.

1.13. ბიოტექნოლოგია და გარემოს დაცვა

ცივილიზებული საზოგადოების შექმნის მომენტიდან მის წინაშე მუდამ იდგა გარემოს დაცვის პრობლემა. ადამიანის სამრეწველო, სასოფლო-სამეურნეო და საყოფაცხოვრებო მოქმედებების გამო ყოველთვის ხდებოდა გარემოს ფიზიკური, ქიმიური და ბიოლოგიური თვისებების ცვლილებები. ამასთან, ბევრი მათ შორის იყო მეტად არახელსაყრელი.

ამჟამად გარემოს დაბინძურება მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში კრიტიკულ ზღვარს აღწევს. სოფლის მეურნეობის ინტენსიფიკაციამ, მრეწველობაში ტექნიკურმა პროგრესმა ადამიანის მოქმედების ყველა სფეროში ეკოლოგიური სიტუაციის გაუარესება გამოიწვია. სამრეწველო საწარმოები ატმოსფეროს ჰაერს აბინძურებენ გაზისებური და მყარი გამონაყოფებით, წყალსაცავებს – დიდი რაოდენობის მავნე, ზოგჯერ კი შხამიანი ნივთიერებების შემცველი გაბინძურებული წყლებით. სოფლის მეურნეობის ქიმიზაცია (პესტიციდები, მინერალური სასუქები და სხვა), მსხვილი მესაქონლეობის ფერმების ნარჩენები, ნიადაგის ეროზია და ინტენსიური სასოფლო-სამეურნეო წარმოების სხვა ფაქტორები იწვევენ ნიადაგის, წყალსაცავების, ჰაერის, საკვების და ა.შ. გაბინძურებას. ყოველწლიურად პლანეტის წყალსაცავებში 500 მლრდ მ³-ზე მეტი სამრეწველო, სასოფლო-სამეურნეო და საყოფაცხოვრებო გაბინძურებული წყლები ჩადის. ისინი შეიცავენ დაახლოებით 100 ათასზე მეტ სხვადასხვა ქიმიურ ნაერთს, რომლებიც წარმოქმნილია ადამიანის სამეურნეო მოქმედების შედეგად. მრავალი მათ შორის გარკვეულ საშიშროებას წარმოადგენს მცენარეების, ცხოველებისა და ადამიანისათვის.

უკანასკნელ დროს მსოფლიოში შექმნილი ეკოლოგიური სიტუაცია მოკლედ შეიძლება შეფასდეს შემდეგნაირად: სოფლის მეურნეობაში ადგილი აქვს ნიადაგების ეროზიას, ქიმიკატებითა და სარეველებით დანაგვიანებას, ჰუმუსის შემცირებას; წყალსაცავებში შეიმჩნევა გაბინძურება ქიმიკატებით, თევზის მარაგის შემცირება, წყლის ფლორისა და ფაუნის შემცირება; ატმოსფეროში ადგილი აქვს მის გაბინძურებას გაზებით – SO_2 , N_2O , CO_2 და CO , მჟავურ წვიმებს (pH 4.5-5.7), ფრეონის მოქმედებით ოზონის ფენის დაშლას, ულტრაიისფერი სხივების გადიდებულ რაოდენობას; ბიოსფეროში მოსალოდნელია მცენარეებისა და ცხოველების 15-20% სახეობების გადაშენება ძირითადად ტროპიკული ტყეების გაჩეხვისა და წყალსაცავებში მავნე ქიმიკატების მოხვედრის გამო; თვით ადამიანში შეიმჩნევა სხვადასხვა დაავადებების, მათ შორის გენეტიკურის გაჩენა, სხვადასხვა სირთულეების წარმოშობა სამეურნეო საქმიანობაში და ა.შ.

ეკოლოგიური პრობლემის გადაწყვეტაზე, გარემოს გაბინძურების შედეგების ლიკვიდაციაზე არსებითი გავლენის მოხდენა შეუძ-

ლია ბიოტექნოლოგიას. აღნიშნული მეცნიერების წარმოშობისა და განვითარების ერთი-ერთი მიზეზი გარემოს დაცვის აუცილებლობაში მდგომარეობს. 1981 წელს თეორიული და გამოყენებითი ქიმიის საერთაშორისო კავშირმა ცნება **“ბიოტექნოლოგია”** შემდეგნაირად ჩამოაყალიბა: ეს არის **“ბიოქიმიის, ბიოლოგიის, მიკრობიოლოგიისა და ტექნიკური ქიმიის გამოყენება მრეწველობაში პროდუქტების მისაღებად... და გარემოს დაცვაში”**. გარემოს დაცვის ქვეშ იგულისხმება ნიადაგის უკეთ გამოყენება, ატმოსფეროს, ზედაპირული და გრუნტის წყლების სისუფთავის უზრუნველყოფა, გაბინძურებული წყლების გაწმენდა, სხვადასხვა ნარჩენის გამოყენება და ა.შ. გარემოს დაცვა წარმოადგენს ბიოტექნოლოგიის მნიშვნელოვან დამოუკიდებელ მიმართულებას.

ძირითადი ბიოტექნოლოგიური მეთოდები, რომლებიც შეიძლება გამოყენებულ იქნას გარემოს გაჯანსაღებასა და დაცვაში, შემდეგია:

1. უნარჩენო ტექნოლოგიური პროცესების შექმნა. აღნიშნული მეთოდის გამოყენების სფეროს ეროვნული მეურნეობის თითქმის ყველა დარგი წარმოადგენს. მეთოდის არსი სხვადასხვა სამრეწველო, სასოფლო-სამეურნეო და საყოფაცხოვრებო ნარჩენიდან სასარგებლო პროდუქტების მიღებაში ან მათ გაუვნებელყოფაში მდგომარეობს. ნარჩენების რაოდენობა მსოფლიოში ძალიან დიდია. ბიოტექნოლოგიური მეთოდებით მათი გადამუშავების შედეგად ღებულობენ ბიოგაზს, ეთანოლს, ორგანულ სასუქებს, მიკრობულ ბიომასას, სხვადასხვა ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს და ა.შ.

2. დაავადებებისა და მავნებლების მიმართ გამძლე მცენარეუბის მიღება. მეთოდი გულისხმობს გენეტიკური და უჯრედული ინჟინერიის გზით კულტურული მცენარეუბის მიღებას, რომელთა გამოყენებისას თავიდან იქნება აცილებული შხამქიმიკატების, როგორც დაავადებებისა და მავნებლების მიმართ ბრძოლის საშუალების საჭიროება. ამ მიმართულებით ბიოტექნოლოგიის მიერ მოპოვებული წარმატებები განხილულია 1.6 თავში.

3. დაავადებებთან და მავნებლებთან ბრძოლის ბიოლოგიური მეთოდების შექმნა. მეთოდის არსი მდგომარეობს სხვადასხვა მავნებლისა და დაავადების გამომწვევების სელექტიურ განადგურებაში სპეციალური მიკრობული ან სხვა ბიოლოგიური პრეპარატებით. მეთოდი ქიმიური პესტიციდების გამოყენების მაქსიმალურად შემცირების საშუალებას იძლევა. ამ მიმართულებით ბიოტექნოლოგიის მიღწევები და პერსპექტივები გაშუქებულია 1.6 თავში.

4. ბაქტერიული სასუქებისა და მცენარეთა ზრდის სტიმულატორების შექმნა. აღნიშნული მეთოდი ითვალისწინებს ნიადაგის მიკროორგანიზმებით ატმოსფერული აზოტის ბიოლოგიური ფიქსაციის გაძლიერებას, ფოსფორის და კალიუმის მობილიზაციას, მცენარის ორგანოების ზრდის დაჩქარებას და შედეგად, მინერალურ სასუქებზე

მოთხოვნების შემცირებას, ამ საკითხების ირგვლივ დამატებითი მასალა მოტანილია 1.7 და 1.11 თავებში.

5. მიკროორგანიზმების გარეშე ატმოსფეროს აზოტის ფიქსაციის უნარის მქონე კულტურულ მცენარეთა მიღება. დასახელებული მეთოდის არსი მდგომარეობს გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით მცენარის გენომში აზოტფიქსაციის განმსაზღვრელი მიკრობული გენების გადატანაში. შედეგად მოიხსნება აზოტიანი სასუქების გამოყენების აუცილებლობა. ბიოტექნოლოგიისა და მცენარეთა აზოტფიქსაციის პრობლემის საკითხები განხილულია 1.8 თავში.

6. საყოფაცხოვრებო და სამრეწველო გაბინძურებული წყლების აერობული და ანაერობული ბიოლოგიური გაწმენდა. გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების გაწმენდა წარმოადგენს გარემოს დაცვის ერთ-ერთ უმნიშვნელოვანეს საკითხს.* სამრეწველო და საყოფაცხოვრებო ნარჩენებით გაბინძურებული წყლების გაწმენდის ბიოლოგიურ მეთოდს უკვე 80 წელზე მეტია რაც იყენებენ. გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების გაწმენდის ბიოლოგიური მეთოდების უპირატესობა მრავალრიცხოვან ქიმიურ და ფიზიკურ-ქიმიურ მეთოდებთან მდგომარეობს მათში არსებული ორგანული მასალის სრულ მინერალიზაციაში. გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების გაწმენდის ყველაზე მარტივ ხერხს ფილტრაციისა და მორწყვის მინდვრებზე ნიადაგური მეთოდების, აგრეთვე დამჟანგავი ბუნებრივი და ხელოვნური წყალსაცავების გამოყენება წარმოადგენს. იგი დაფუძნებულია ნიადაგისა და წყალსაცავების უნარზე მიკროორგანიზმების ცხოველქმედების შედეგად მოახდინონ თვითგაწმენდა. ამიტომ უფრო ხშირად გამოიყენება სპეციალური გაწმენდი ნაგებობები, რომლებშიც მოქმედებს გაწმენდის აერობული და ანაერობული ბიოლოგიური მეთოდები. **აერობულს მიეკუთვნება გაწმენდა აქტიური შლამის საშუალებით და ბიოფილტრაცია, ანაერობულს – მეთანური დუღილი.**

აქტიური შლამი არის ბუნებრივი გზით ფორმირებული ორგანიზმების (ბაქტერიები, მიკროსკოპული სოკოები, წყალმცენარეები, უმარტივესი ცხოველები – ამება, ნემატიდები, წყლის ტიპა და სხვა) ერთობლიობა, რომლებიც ორგანულ ნივთიერებებს ჟანგავენ წყლამდე

* გარემოს გაბინძურების ნივთიერებებს აკუთვნებენ: 1) ფერმენტული სისტემის აქტიურობის მაინჰიბირებელ, ჟანგბადის შემმოჭველ ან სასიცოცხლო პროცესების დამრღვევ სხვადასხვა შხამებს და მავნე ნივთიერებებს – მძიმე მეტალების მარილებს, დარიშხანს, ციანიდებს, ფენოლებს, პესტიციდებს და სხვა; 2) ბუნებრივ წყალსაცავებში არის რეაქციის შემცველ და ცოცხალ სისტემებში წონასწორობის დამრღვევ მჟავებს და ტუტეებს; 3) ზედაპირულად აქტიურ ნივთიერებებს, რომლებიც უკანასკნელ პერიოდში ქიმიური მრეწველობის განვითარებასთან ერთად სულ უფრო ხშირად ხვდებიან ბუნებრივ წყალსაცავებში (ეს ნივთიერებები ძალიან საშიშია, რადგანაც ხშირად მიუწვდომელია მიკროორგანიზმებისათვის და არ იშლება); 4) ნახშირბადის, აზოტის, ნავთობ-პროდუქტების, ნახშირწყლების და ა.შ. შემცველ ხსნად ორგანულ ნივთიერებებს; 5) უხსნად ორგანულ ნაერთებს – სახამებელს, ცელულოზს, ლიგნინს და სხვა მაღალმოლეკულური ნივთიერებებს; 6) რადიოაქტიურ და სხვა დამაბინძურებლებს.

და ნახშირორქანგამდე და თავიანთ სხეულში აგროვებენ შხამიან მეტალებს.

აქტიური შლამის საშუალებით გაწმენდა წარმოებს აეროტენკებად წოდებულ სპეციალურ, ხელოვნურად მოწყობილ რკინაბეტონის ან მეტალის აუზებში. აეროტენკებს მიეწოდება გაბინძურებული ჩამდინარე წყალი, რომლის აერაციის დროს ღებულობენ აქტიურ შლამს. მუშაობისათვის საკმარისი რაოდენობის აქტიური შლამი გროვდება ორი კვირიდან რამოდენიმე თვემდე პერიოდში. სამეურნეო-საყოფაცხოვრებო ჩამდინარე წყლების უქონლობისას აქტიური შლამის მისაღებად იყენებენ ნიადაგს ან ბუნებრივი წყლასაცავების ფსკერის შლამს.

გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების ორგანული ნივთიერებების დაჟანგვის პროცესი აეროტენკებში მიმდინარეობს ორ სტადიად. პირველ სტადიაზე აქტიური შლამისა და გაბინძურებული სითხის შერევისას ადგილი აქვს ჭუჭყის სორბციას. იმავდროულად იწყება მეორე სტადია – სორბირებული მასალის დაჟანგვა, რის შედეგადაც წყალი იწმინდება.

ჩვეულებრივ გამწმენდი დანადგარების შემადგენლობაში შედის: გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების განმთანაბრებელი – ჭუჭყის კონცენტრაციისა და ბინძური წყლების ნაკადის სტაბილიზაციისათვის; სალექარი – მოტივტივე ნივთიერებების დასაღეჭად; აეროტენკი; რეგენერატორი – რომელშიც მიმდინარეობს აქტიური შლამის აღდგენა; აქტიური შლამის სალექარი. განმთანაბრებლიდან (ჩვეულებრივ იყენებენ მაღალი კონცენტრაციის ან ტოქსიკური ნივთიერებების შემთხვევაში) გაბინძურებული სითხე მიეწოდება სალექარს, ხოლო იქიდან – აეროტენკს. შემდეგ ნარევი შედის აქტიური შლამის სალექარში, სადაც შლამი იღეჭება და გამოეყოფა წყალს. ეს უკანასკნელი გასუფთავების შემდეგ გადადის წყალსაცავში, ხოლო აქტიური შლამი რეგენერაციის შემდეგ ისევ ბრუნდება აეროტენკში. შლამის რეგენერაცია მდგომარეობს მის გაძლიერებულ აერაციაში სორბირებული ორგანული ნივთიერებების დაჟანგვის პროცესის დასრულებისა და სორბციის უნარის აღდგენისათვის.

ბიოფილტრები (ბიოლოგიური ფილტრები) წარმოადგენს ქვის ღორღის, კოქსის ან მსხვილმარცვლიანი (0.5-5 სმ) პოლიმერული მასალის (პოლისტიროლი ან პოლიპროპილენი) 0.9-3 მ სისქის მკვრივ ფენას, რომელზედაც ვითარდებიან მიკროორგანიზმები და ქმნიან ღორწოვან ბიოაპსკს. აპსკი მიიღება ასეთ ბიოფილტრებში გაბინძურებული სითხის გატარების შედეგად. ფილტრის მომწიფების პერიოდი 30-50 დღეა. გაბინძურებული ჩამდინარე წყლის გაწმენდა მათი ბიოფილტრებში გაშვების გზით ხდება. ბიოაფსკში განვითარებული მიკროორგანიზმები იწყებენ გაბინძურებული წყლის ორგანული ნივთიერებების ეფექტურ დაჟანგვას. აეროტენკებთან შედარებით ბიო-

ფილტრებს გააჩნიათ ზოგიერთი უარყოფითი მხარეები. ეს პირველ რიგში დაბალი მწარმოებლობა და ბიოაფსკის ზრდის შედეგად წარმოშობილი ე.წ. დაშლამჟავა. გარდა ამისა, ბიოფილტრები გამოყენებულ უნდა იქნას უწყვეტად, რადგანაც ბიოაფსკი საჭიროებს მუდმივ დატენიანებას.

მეთანურ დუდილს იყენებენ ძალიან მაღალი კონცენტრაციის ორგანული ნივთიერებების შემცველი გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების გასაწმენდად, აგრეთვე აეროტენკებში წარმოქმნილი ზედმეტი აქტიური შლამისა და საღებქარებიდან დანალექის უტილიზაციისათვის და ა.შ. მეთანური დუდილი წარმოადგენს მკაცრად ანაერობულ პროცესს, რომელიც როგორც წესი, მიმდინარეობს სპეციალურ აპარატებში – მეთანტენკებში. მეთანური დუდილის თავისებურებები განხილულია 1.10 თავში.

გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების ბიოლოგიური გაწმენდის პროცესების (როგორც აერობული, ისე ანაერობული) ოპტიმიზაციისა და დაჩქარებისათვის იყენებენ მიკროორგანიზმების უჯრედების **იმობილიზაციის (დამაგრების)** ხერხს. მიკროფლორის იმობილიზაცია მიკროორგანიზმების ბიომასის გაზრდისა და სივრცობრივი სუქსეციის* განხორციელების საშუალებას იძლევა. დამუშავებულია მიკროორგანიზმების უჯრედების დამაგრების მეთოდების სამი ჯგუფი: ქიმიური (დაკავშირება ბიფუნქციონალურ რეაგენტებთან), მექანიკური (გელში, მემბრანაში ჩართვა), ფიზიკური (აღსორცია, აგრეგირება). იყენებენ აგრეთვე ჩამოთვლილი მეთოდების კომბინაციასაც. ყველაზე უფრო ხშირად მიკროორგანიზმების ფიქსირების აღსორცეულ მეთოდს მიმართავენ.

ყველანაირი გაბინძურებული ნივთიერებისაგან, განსაკუთრებით სინთეტიკურისაგან, წყლების ბიოლოგიური გაწმენდის მეტად პერსპექტიულ ხერხს წარმოადგენს **იმობილიზებული ფერმენტების** გამოყენება. წყალში უხსნად მატარებლებზე ფერმენტების დამაგრებას და გაბინძურებული წყლების გასაწმენდად ასეთი მძლავრი კატალიზატორების გამოყენებას წარმატებით მიმართავენ მსოფლიოს რიგ ქვეყნებში. მაგალითად, პენსილვანიის უნივერსიტეტში (აშშ) იმობილიზებულ ფეროლოქსიდაზას იყენებენ გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების გასაწმენდად მეტალურგიულ მრეწველობაში.

7. გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების ცალკეული ქიმიური ნერთების სელექტიური უტილიზაცია. მეთოდი გამოიყენება სამრეწველო ჩამდინარე წყლების გაწმენდისას. მისი არსი მდგომარეობს იმაში, რომ მიკროორგანიზმების სპეციალურად ადაპტირებული წმინდა კულტურები – **დესტრუქტორები**, ჩვეულებრივ იმობილიზებულ ფორმაში, ახდენენ გარკვეული მავნე ნივთიერებების უტილიზაციას.

* **სუქსეცია** – ერთი ბიოცენოზის თანმიმდევრული ცვლა მეორე ბიოცენოზით.

აღნიშნული მეთოდი ძირითადად გამოიყენება გაბინძურებული წყლების სინთეტიკური ორგანული ნაერთების – **ქსენობიოტიკებისაგან*** და აგრეთვე მძიმე მეტალების იონებისაგან გასაწმენდად. სელექციონირებული მიკრობების წმინდა კულტურები სინთეტიკური გამჭუჭყიანებლების გადიდებული კონცენტრაციებისადმი და მაღალტოქსიკური ნაერთებისადმი უფრო გამძლენი არიან, ვიდრე აქტიური შლამი ან ბიოაფსკი. აღნიშნული მეთოდის გამოყენებისათვის აუცილებელია წინასწარ შეირჩეს კონკრეტული სინთეტიკური ქიმიური ნაერთისათვის შესაბამისი მიკროორგანიზმები – დესტრუქტორების კულტურები. მიკრობების შერჩევის ყველაზე გავრცელებული მეთოდის არსი მდგომარეობს იმაში, რომ გარკვეულ ეკოლოგიურ სისტემას (შლამი, ნიადაგი) გარკვეული ხნის განმავლობაში ამუშავებენ მზარდი კონცენტრაციით დამშლელი ნივთიერების შემცველი წყლით, ხოლო შემდეგ ასეთი კულტურიდან გამოჰყოფენ მიკროორგანიზმებს, რომლებსაც ექნებათ ამ ნივთიერებების, როგორც ენერგიის, ნახშირბადის, აზოტის და ა.შ. ერთადერთ წყაროდ გამოყენების უნარი. აღნიშნული მეთოდი არ წარმოადგენს სრულყოფილს, რადგანაც მისი გამოყენება არ იძლევა ნამდვილად საუკეთესო დესტრუქტორების შერჩევის შესაძლებლობას. მიკროორგანიზმი-დესტრუქტორების შერჩევის მეცნიერული მიდგომა მდგომარეობს მიკრობული კულტურის ფიზიოლოგიისა და ბიოქიმიის და მიკრობულ უჯრედში ქიმიური ნაერთების დესტრუქციის გზების დეტალურ შესწავლაში.

8. პესტიციდებისა და სხვა ქიმიური გამჭუჭყიანებლებისაგან ნიადაგის დეტოქსიკაცია. სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მავნებლების, დაავადებებისა და სარეველებისაგან დაცვის მიზნით ყოველწლიურად მსოფლიოში აწარმოებენ 5 მლნ ტონაზე მეტ პესტიციდებს, რომლებიც შეიცავენ ცოცხალი ორგანიზმებისათვის ძალიან საშიშ ტოქსიკურ ელემენტებს. მრავალი მათ შორის ნიადაგში “ცოცხლობს” 10-12 და მეტი წელი. განსაკუთრებით ტოქსიკურია ვერცხლისწყალი, დარიშხანი, თუთია, ტყვია, სპილენძი, კადმიუმი, გოგირდი, რადიოაქტიური ელემენტები და სხვა. მაგალითად, თუთია ითვლება კანცეროგენად, ტყვიას შეუძლია გამოიწვიოს დამბლა და ფსიქიკის მოშლა, ვერცხლისწყალი აზიანებს ნერვულ სისტემას, აქვეითებს გონებრივ უნარს, აჩქარებს ორგანიზმის დაბერებას და ა.შ.

ასეთი ქიმიური გამჭუჭყიანებლებისაგან ნიადაგის დეტოქსიკაცია ტარდება გაბინძურებული ნიადაგის სუფთა წყლით ჩარეცხვისა და ჩანარეცხი წყლის მიკრობიოლოგიური დამუშავებით მავნე ნივთიერებების შემდგომი უტილიზაციის გზით.

9. გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების მეტალების ბიოსორბაცია. აღნიშნული მეთოდი დაფუძნებულია გარკვეული მიკროორგანი-

* **ქსენობიოტიკები** – ადამიანის მიერ შექმნილი, ბუნებაში არარსებული და დაშლას ძნელად დაქვემდებარებული ნივთიერებები.

ზმების (ბაქტერიები, სოკოები, წყალმცენარეები) მიერ თავიანთ უჯრედში გარკვეული მეტალების (რკინა, სპილენძი, ვერცხლი და სხვა), მათ შორის რადიოაქტიურის, სორბციის უნარზე. ამის განსახორციელებლად აგებენ სპეციალურ ბიოფილტრებს შესაბამისი მიკროორგანიზმებით, რომლებიც სელექტიურად სორბირებენ გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების კონკრეტულ მეტალებს.

10. პესტიციდებისა და ქსენობიოტიკების ბიოდეგრადაცია ნიადაგში. სრულყოფის პროცესში მყოფ, ძალიან მნიშვნელოვან ბიოტექნოლოგიურ მეთოდს წარმოადგენს პესტიციდებისა და სხვა ქსენობიოტიკების ნიადაგში ბიოდეგრადაციის (ბიოდაშლის) მეთოდი. ნიადაგი, როგორც ბიოსფეროს ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი კომპონენტი, წარმოადგენს სხვადასხვა ორგანული ნაერთის უნივერსალურ ბიოლოგიურ ადსორბენტს და ნეიტრალიზატორს. ბუნებრივ პირობებში ქსენობიოტიკების ნარჩენების დაშლა მიმდინარეობს სხვადასხვა ბიოტური (ბიოდეგრადაცია, ბიოტრანსფორმაცია) და აბიოტური (ქიმიური, ფოტოქიმიური დაშლა და ა.შ.) ხასიათის ფაქტორების ზემოქმედებით. დღეისათვის დეტალურად შესწავლილია მიკროორგანიზმების მონაწილეობა პესტიციდების დეგრადაციასა და ტრანსფორმაციაში, გამოყოფილია პესტიციდების გარდაქმნაზე პასუხისმგებელი მიკრობების წმინდა კულტურები და მათი ფერმენტები.

ნიადაგში არსებული ქსენობიოტიკების ბიოლოგიურად დაშლის სიჩქარის პროგნოზირება და ამ პროცესის მართვა შესაძლებელია მხოლოდ მათი დეგრადაციისა და ტრანსფორმაციის განმსაზღვრელი ძირითადი მეტაბოლიტური პროცესების სპეციფიკის ცოდნით.

ბიოდეგრადაციის პროცესი მნიშვნელოვნად დამოკიდებულია ქიმიკატების სორბციის განმსაზღვრელი ნიადაგის აგებულებასა და შედგენილობაზე, აგრეთვე ნიადაგის მიკროფლორის ენერგიისა და კვების წყაროებით უზრუნველყოფაზე. გარემოს ფიზიკურ-ქიმიურ პარამეტრებს შეუძლიათ, ერთი მხრივ, მოახდინონ გავლენა სორბციულ პროცესებზე, ხოლო მეორე მხრივ, ქიმიური გამაჭუჭყიანებლების დაშლის პროცესში მიკროფლორის მოქმედების გააქტიურება ან ინჰიბირება. ბიოდეგრადაციის პროცესში ძალიან დიდი მნიშვნელობა აქვს ქსენობიოტიკების ქიმიურ სტრუქტურას, რომელიც განსაზღვრავს მის **პერსისტენტულობას*** ბუნებრივ პირობებში და მიკროორგანიზმების მათზე შეტევის ინტენსიურობას. ნივთიერებათა საწყისი ქიმიური და ფოტოქიმიური დაშლა ხშირად ხელს უწყობს პესტიციდების შემდგომ ბიოდეგრადაციას.** ნიადაგში პესტიციდების მოქმედებაზე არსებით

* **პერსისტენტულობა** – დიდხანს არსებობა.

** პესტიციდების ნარჩენებისა და მათი გამძლე და ტოქსიკური მეტაბოლიტებისაგან გარემოს გაბინძურების თავიდან აცილების მიზნით აშკარად პერსისტენტი ნაერთების, ისეთების როგორიცაა დდტ, ქლორდანი და სხვა, გამოყენება მკაცრად შეზღუდულია, ხოლო ცალკეულ შემთხვევებში აკრძალული.

გავლენას ახდენენ ადსორბირებული პროცესები. მრავალი მიკროორგანიზმი, რომელიც ადვილად შლის პრეპარატს თხევად არეში, უძლურია მათ მიმართ ნიადაგში, რადგანაც სორბირებული ნივთიერება “დაცულია” მიკროორგანიზმების ზემოქმედებისაგან. სორბენტთან ნაერთის ბმის (დაკავშირების) ძალა დამოკიდებულია ტოქსიკანტის სტრუქტურაზე. პესტიციდების ადსორბცია მნიშვნელოვნად განპირობებულია მათი წყალში ხსნადობით. რაც დაბალია ნივთიერების წყალხსნადობა, მით მაღალია სორბცია და შესაბამისად, დაბალია მიკრობული ზემოქმედება.

ნიადაგში ქსენობიოტიკების მიკრობიოლოგიური დაშლის ინტენსიობაზე მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ტემპერატურა, მჟავიანობა და არის ჟანგბადის რეჟიმი. ყველაზე უფრო ინტენსიურად იგი მიმდინარეობს 20-30°C ტემპერატურის დროს და მკვეთრად მცირდება მისი გადიდების ან შემცირების შემთხვევაში. მჭიდროდაა დაკავშირებული აგრეთვე ნიადაგში სორბირებულ პროცესებთან და ნიადაგის მიკროფლორის ცხოველყოფილობასთან pH-ის დონე. ცალკეული პესტიციდები მიკროორგანიზმების ზემოქმედების გავლენის ქვეშ ექცევიან მხოლოდ გარკვეული pH-ის პირობებში.

პესტიციდებისა და სხვა ქსენობიოტიკების ბიოდეგრადაცია წარმოადგენს კომპლექსურ პროგრამას. ქსენობიოტიკების დაშლაზე, მათი ბუნებიდან გამომდინარე, გავლენას ახდენენ როგორც მიკროორგანიზმების წმინდა კულტურები, ისე მიკრობული თანასახოვადობა. ბიოდეგრადაციის ეფექტური მეთოდების დამუშავება საჭიროებს აგრეთვე გარკვეული თვისებების მქონე მიკრობული შტამების არსებობას. ამ საქმეში დიდ ინტერესს იწვევს გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდები. ბიოდეგრადაციის პლაზმიდებისა და მათი სხვადასხვა მიკრობულ შტამებში გადატანის უნარის გამოვლენა ფართო შესაძლებლობებს იძლევა სხვადასხვა ქსენობიოტიკების დაშლისადმი გადიდებული აქტიურობის მქონე ახალი შტამების კონსტრუირების საქმეში. ორგანული ნაერთების დეგრადაციის პროცესების დეტერმინატორმა პლაზმიდებმა მიიღეს ბიოდეგრადაციის პლაზმიდების ანუ D-პლაზმიდების სახელწოდება. უმეტესობა მათგან ნაპოვნია *Pseudomonas*-ის გვარის ბაქტერიებში. ისინი აკონტროლებენ ისეთი ნაერთების დეგრადაციას, როგორიცაა ქსილოლი, ტოლუოლი, ოქტანი, ქაფური, სალიცილატი, ნაფტალინი და სხვა. პლაზმიდებში ბიოდეგრადაციის გენების ლოკალიზაცია ქმნის სხვადასხვა ორგანული ნაერთის დეგრადაციის მაკონტროლებელი გენეტიკური მასალის ერთ მიკრობულ უჯრედში გაერთიანების შესაძლებლობას.

ამჟამად გარემოში პესტიციდებისა და სხვა ქსენობიოტიკების დეგრადაციისათვის მიკროორგანიზმების გამოყენების ორ მიმართულებას არჩევენ. პირველი მიმართულება ეს არის აქტიური, მათ შორის გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით კონსტრუირებული, მიკროორგა-

ნიშების ნიადაგში და წყალსაცავებში შეტანა. მეორე მიმართულება დაფუძნებულია სათანადო სუბსტრატების – ინდუქტორების, აზოტის, ფოსფორის წყაროების შეტანის გზით ბუნებრივ ადგილსამყოფელში მიკროფლორის აქტიურობის ინტენსიფიცირებაზე.

ნიადაგის, ისე როგორც სხვა ობიექტების პესტიციდებისა და სხვა ქსენობიოტიკებისაგან გაწმენდის პრობლემა, მათ აქტიურობაზე საკუთარი მიკროფლორის ზემოქმედების გზით, ახლო მომავალში გადაწყდება. საჭიროა მხოლოდ ინტენსიური და მიზანმიმართული მუშაობა.

გარემოს გაჯანსაღებასა და დაცვაში არანაკლები მნიშვნელობა ენიჭება გარემოს გაბინძურების დონის დროულ და ზუსტ დიაგნოსტიკას. თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის მიღწევები გარემოს ბიოლოგიური გაბინძურების ინდიკაციის ახალ ეფექტურ საშუალებებს იძლევა. პირველ რიგში აუცილებელია აღინიშნოს მონოკლონურ ანტისხეულებზე დაფუძნებული ან იმუნოფერმენტული მეთოდები, აგრეთვე ელექტროდები იმობილიზებული ფერმენტებით და სხვა.

ეკოლოგიური ბიოტექნოლოგია წარმოადგენს სწრაფად განვითარებად მიმართულებას. უკანასკნელ პერიოდში აღმოჩენილ იქნა ორგანული ნივთიერებების უტილიზაციის ახალი მეთოდები; აერობულ და ანაერობულ პირობებში, ჩვეულებრივ იმობილიზებული მიკროორგანიზმებით თხევად არეში იშლება დიდი რაოდენობით ორგანული ნაერთები; ფართოდ აქვს ადგილი გაბინძურებული ჩამდინარე წყლების დენიტრიფიკაციას; ხშირად ხდება ჩამდინარე წყლებიდან ნავთობის ნახშირწყალბადების ბიოლოგიური მოცილება; მუშავდება გაზისებურ გარემოში მეტალების დაჟანგვის ახალი სისტემები და ა.შ. ბიოტექნოლოგიის საშუალებებით ახლო მომავალში მოსალოდნელია მსოფლიოში ეკოლოგიური სიტუაციის არსებითი გაუმჯობესება.

ნაწილი II

მოლეკულური ბიოლოგიის საფუძვლები

2.1. მოლეკულური ბიოლოგიის საბანი და ამოცანები

თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის ფუნდამენტურ საფუძველს წარმოადგენს **მოლეკულური ბიოლოგია** – მეცნიერება ცოცხალ ორგანიზმებში მიმდინარე სასიცოცხლო პროცესების **ატომებისა და მოლეკულების*** დონეზე შესწავლის შესახებ.

ტერმინი “**მოლეკულური ბიოლოგია**” პირველად სამეცნიერო ლიტერატურაში გამოყენებულ იქნა 1946 წელს ინგლისელი კრისტალოგრაფის, ლიდსის უნივერსიტეტის პროფესორის **ფ. ასტბერის (W. T. Astbery)** მიერ

ყველა ძირითადი მიღწევა ბიოტექნოლოგიაში, რაც არის დღეისათვის და რაც იქნება მომავალში, ეფუძნება ცოცხალი ორგანიზმების უჯრედის მემკვიდრული ნივთიერების ბუნების, მემკვიდრული (გენეტიკური) ინფორმაციის გადაცემის (რეალიზაციის) მოლეკულური მექანიზმისა და უჯრედის ცხოველქმედების რეგულაციის პროცესების ღრმა ცოდნას.

მოლეკულური ბიოლოგია წარმოშობილია **მოლეკულური ფიზიკის, ბიოორგანული ქიმიის და ბიოლოგიის** შესაყართან და წარმოადგენს ერთ-ერთ ყველაზე სწრაფი ტემპით განვითარებად მიმართულებას ბიოლოგიურ მეცნიერებაში. იგი როგორც დამოუკიდებელი მეცნიერება ჩამოყალიბდა 1940-1950 წლების მიჯნაზე, როცა დადგენილი იქნა ნუკლეინის მჟავების გენეტიკური როლი.

მოლეკულური ბიოლოგიის წარმოშობა და განვითარება – არის რევოლუცია სიცოცხლის არსის შეცნობაში. არც თუ ისე დიდი ხნის წინათ ბიოლოგია ძირითადად იყო აღწერილობითი მეცნიერება. მეცნიერ-ბიოლოგები ადგენდნენ მხოლოდ გარეგან ანუ ფენოტოპიურ წარმოდგენას ამა თუ იმ ნიშანზე ან ნიშანთა ერთობლიობაზე, ე.ი. კვლევის ობიექტი იყო ბიოლოგიური პროცესების შედეგი და არა მათი გამომწვევი მიზეზები, მამოძრავებელი ძალები და მექანიზმები, რომელთა დადგენა წარმოადგენს **მოლეკულური ბიოლოგიის საგანს**.

მოლეკულური ბიოლოგიის მიზანია – იმ მოვლენების მოლეკულური საფუძვლების შეცნობა, რომელსაც კლასიკური ბიოლოგია

* **მოლეკულა** – არის ნივთიერების უმცირესი ქიმიური ნაწილაკი, რომელსაც აქვს ამ ნივთიერების ძირითადი დამახასიათებელი თვისებები. იგი შედგება ქიმიურად დაკავშირებული ატომებისაგან. **ატომი** ქიმიური ელემენტის ნაწილაკია, რომელიც შედის მარტივი და რთული ნივთიერებების მოლეკულებში.

პროკარიოტული და ეუკარიოტული უჯრედების, ერთუჯრედიანი და მრავალუჯრედიანი, უმდაბლესი და უმაღლესი ორგანიზმების დონეზე სწავლობს. ბიოლოგიური მეცნიერების აღნიშნული მიმართულება სიცოცხლის მოვლენას შეიცნობს ბიოლოგიური სტრუქტურების წარმოქმნასა და მათ ფუნქციებში ატომებისა და მოლეკულების როლის დადგენის საფუძველზე. მის ძირითად ამოცანას წარმოადგენს ნუკლეინის მჟავების, ცილების, სხვა მაკრომოლეკულების, აგრეთვე უჯრედის ბირთვისა და ციტოპლაზმის ზოგიერთი სტრუქტურული ჩანართების – ქრომოსომების, რიბოსომების, მემბრანების და სხვა ატომურ-მოლეკულურ დონეზე შესწავლა მათი ფუნქციონირების მექანიზმის დადგენის მიზნით; მემკვიდრული ინფორმაციის გადაცემის მოლეკულური მექანიზმების, ცოცხალ ბუნებაში გენეტიკური ინფორმაციის კოდირების წესების, ცოცხალი ორგანიზმების გენების მოლეკულური ორგანიზაციის თავისებურებების, უჯრედის თვითრეგულაციის ძირითადი პრინციპებისა და მექანიზმების დადგენა და სხვა.*

* უნდა აღინიშნოს, რომ მოლეკულურ ბიოლოგიაში ინფორმაციის ნაკადი ძალიან სწრაფია. ყოველწლიურად ვლინდება დიდი რაოდენობის ახალი ფაქტები, თითქმის ყოველ წელს ხდება აღმოჩენა, ადგილი აქვს შეხედულებების, პირობების ცვლას. გამოკვეთილი ანგარიშებიც და მიმოხილვითი შრომებიც კი სშირად აღმოჩნდება უკვე მოძველებული, ყოველ შემთხვევაში სპეციალისტებისათვის მაინც. ამიტომ წინამდებარე სახელმძღვანელოს დაწერისას, შეძლებისდაგვარად გამოყენებულ იქნა მხოლოდ ყველაზე მეტად დაზუსტებული ცნებები მოლეკულურ ბიოლოგიაში. მაგრამ ეს არ გამოირიცხავს, რომ აქ განხილული ზოგიერთი მათგანი არ აღმოჩნდება მოძველებული.

2.2. ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურა, ფუნქციები და პირითაღი თვისებები

უჯრედის მემკვიდრულ ნივთიერებას წარმოადგენს **ნუკლეინის მჟავები**. ყველა ცოცხალ ორგანიზმს ორი სახის ნუკლეინის მჟავა აქვს: **დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა (შემოკლებით დნმ)** და **რიბონუკლეინის მჟავა (შემოკლებით რნმ)**. ნუკლეინის მჟავები მიეკუთვნება მაკრომოლეკულურ შენაერთებს, რომელთა ზომები დიდ ფარგლებში ცვალებადობს. ნუკლეინის მჟავების ბიოლოგიური როლი მემკვიდრული (გენეტიკური) ინფორმაციის შენახვასა და გადაცემაში მდგომარეობს.

2.2.1. ნუკლეინის მჟავების ბენეტიკური როლი

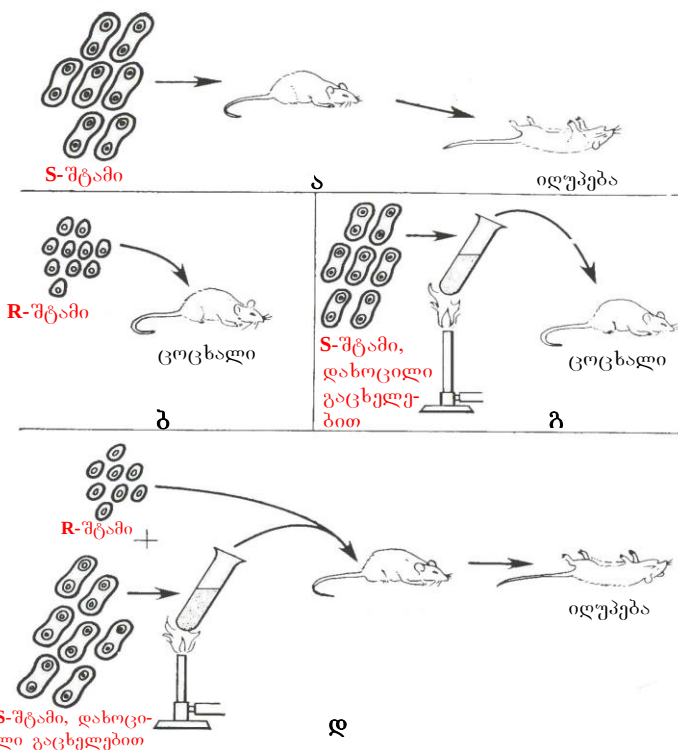
ნუკლეინის მჟავები პირველად აღმოჩენილ იქნა 1868 წელს გამოჩენილი შვეიცარიელი ბიოქიმიკოსის **ფრიდრიხ მიშერის (F.Mischer)** მიერ. მან ადამიანის ჩირქოვანი უჯრედების ბირთვიდან გამოჰყო ახალი უჩვეულო ფოსფორშემცველი ნივთიერება და უწოდა **ნუკლეინი (ლათ. nucleus-ბირთვი)**. შემდეგ ორაგულის სპერმიების გამოკვლევის დროს მეცნიერმა დაადგინა, რომ ნუკლეინს გააჩნია მჟავური თვისებები. ამდენად, უჯრედის ბირთვიდან გამოყოფილმა უჩვეულო ნივთიერებამ მიიღო სახელწოდება **“ნუკლეინის მჟავა.”*** მაგრამ ნუკლეინის მჟავების როლი მემკვიდრული (გენეტიკური) ინფორმაციის შენახვასა და გადაცემაში დადგენილ იქნა გაცილებით გვიან – თითქმის 100 წლის შემდეგ.

XX საუკუნის დასაწყისში გაბატონებული იყო საკმაოდ მყარი რწმენა, რომ ორგანიზმების მემკვიდრეობა განპირობებულია ცილოვანი ბუნების მოლეკულებით, ე.ი. მემკვიდრულ ნივთიერებას წარმოადგენენ ცილები.

მემკვიდრული ნივთიერების ქიმიური ბუნების დადგენაში მნიშვნელოვანი წვლილი შეიტანა ინგლისელი ბაქტერიოლოგის **ფრედერიკ გრიფიტის (Frederick Griffith)** 1928 წლის ექსპერიმენტებმა. იგი თავგებს ასენიანებდა (სურ. 3.) ადამიანის პნევმონიის გამომწვევი ბაქტერიებით – პნევმოკოკებით (*Diplococcus pneumoniae*). პნევმოკოკის პათოგენურობა (ვირულენტობა) გამოწვეულია პოლისაქარიდული კაფსულით, რომელიც ბაქტერიას იცავს დაღუპვისაგან ცოცხალი ორგანიზმის ქსოვილებში. ასეთი პნევმოკოკების კოლონიებს აქვთ პრიალა გლუვი ფორმა და მათ აკუთვნებენ **S-ტიპის**** (ანუ ველური ტიპი) შტამებს. მაგრამ, მუტაციის შედეგად ბაქტერიების ამ ტიპიდან შეიძ-

* ტერმინი პირველად შემოიღო რიჩარდ ალტმანმა 1888 წელს.

** S [ინგლ. **Smooth**] – გლუვი.



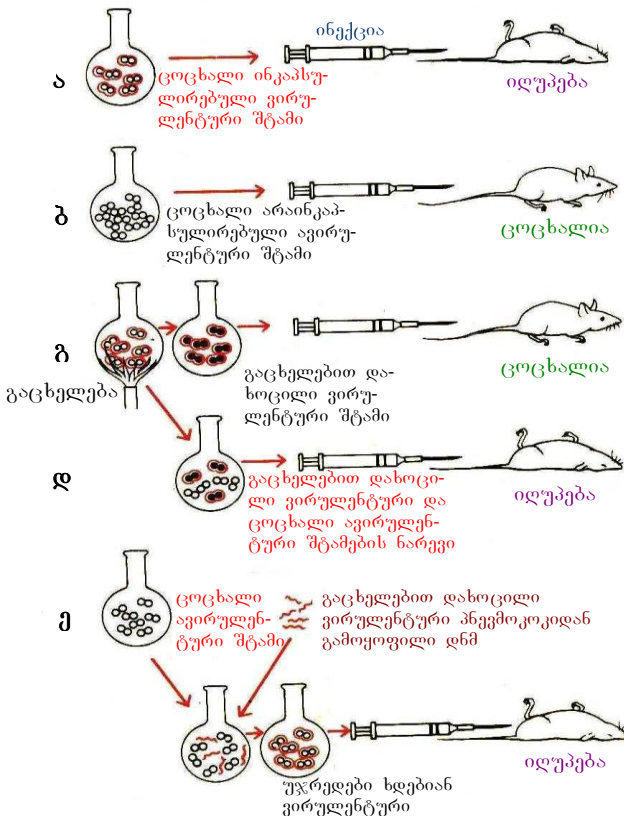
სურ. 3. ფ. გრიფიტის ექსპერიმენტის სქემა

ღება წარმოიქმნას უკაფსულო მუტანტები რომლებსაც აქვთ ხორკლიანი ფორმა და წარმოადგენენ არაპათოგენურს (ავირულენტურს). მათ აკუთვნებენ **R-ტიპის*** (ანუ მუტანტი) შტამებს. როდესაც ფ. გრიფიტი ასენიანებდა თავებს S-ტიპის პნევმოკოკებით (სურ. 3ა), ყველა ცხოველი იღუპებოდა, ხოლო როცა R-ტიპის ბაქტერიებით (სურ. 3ბ) – ყველა ცოცხალი რჩებოდა. თავები ასევე ცოცხალი რჩებოდა წინასწარ გაცხელებით მოკლული S-ტიპის ბაქტერიებით დასენიანების დროსაც (სურ. 3გ). მაგრამ როდესაც მეცნიერი ცხოველებს ასენიანებდა უკაფსულო R-შტამისა და პათოგენური, მაგრამ გაცხელებით მოკლული კაფსულიანი S-შტამის ნარევი, ყველა თავი იღუპებოდა (სურ.3დ) და მათ სისხლში პოულობდა ცოცხალ S-ბაქტერიებს. ამ ცდიდან ფ. გრიფიტმა გააკეთა მნიშვნელოვანი დასკვნა: გაცხელებით მოკლული S-ბაქტერიების არსებობა ნარევი იწვევს

* R [ინგლ. Rough] – ხორკლიანი.

ცოცხალი R-ბაქტერიების ტრანსფორმაციას (გარდაქმნას) S-ტიპის ბაქტერიებად. ე.ი. გაცხელებით მოკლულ ვირულენტურ უჯრედებში (S-შტამი) არსებობს რაღაც მატრანსფორმირებელი ფაქტორი (ნივთიერება), რომელიც ცოცხალ ავირულენტურ უჯრედებში (R-შტამი) მოხვედრისას მათ ანიჭებს ვირულენტობას (S-შტამი) და კავსულების წარმოქმნის უნარს. ერთი ტიპის უჯრედების მეორეში ტრანსფორმაციის გამომწვევი ნივთიერების ბუნების დადგენა იმ დროისათვის ვერ მოხერხდა.

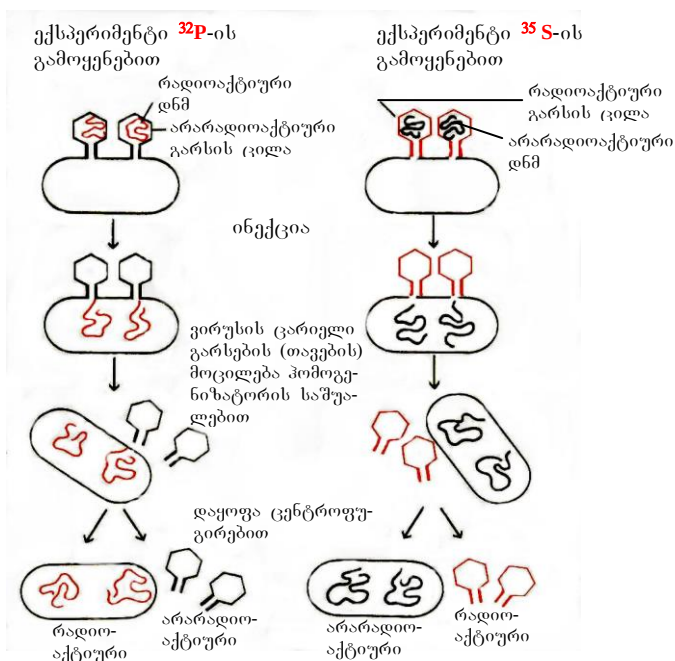
გენეტიკური ინფორმაციის ნივთიერების ბუნება წარმატებით იქნა გადაწყვეტილი 1944 წელს როკფელერის ინსტიტუტის (აშშ) მკვლევარების ოსვალდ ეივერის (Oswald T. Avery), კოლინ მაკ-ლეოდის (Colin M. Macleod) და მაკლინ მაკ-კარტლის (Maclyn J. McCarty) კლასიკურ ექსპერიმენტებში (სურ. 4). მათ დაამტკიცეს, რომ მემკვიდრული



სურ. 4. ო. ეივერის, კ. მაკ-ლეოდის და მ. მაკ-კარტლის ექსპერიმენტის სქემა

ინფორმაციის მატარებელს წარმოადგენს ნუკლეინის მუკვა – კონკრეტულად დნმ. მეცნიერებმა აღმოაჩინეს, რომ გაცხელებით მოკლული ვირულენტური პნევმოკოკებიდან გამოყოფილი და ავირულენტურ უჯრედებში შეყვანილი დნმ უცვლელად იწვევს მათ ტრანსფორმაციას ვირულენტურ ფორმად

მეორე მნიშვნელოვან ექსპერიმენტს, რომელიც ადასტურებს ნუკლეინის მუკვების როლს მემკვიდრული ინფორმაციის გადაცემაში, წარმოადგენს **ალფრედ ჰერშის (Alfred Hershey)** და **მარტა ჩეიზის (Martha Chase)** ექსპერიმენტი. 1952 წელს მათ ჩაატარეს ცდა ბაქტერიოფაგ T2-ის ორ პრეპარატზე (სურ. 5) მათ შორის ერთში რადიოაქტი-



სურ. 5. ა. ჰერშისა და მ. ჩეიზის ექსპერიმენტის სქემა

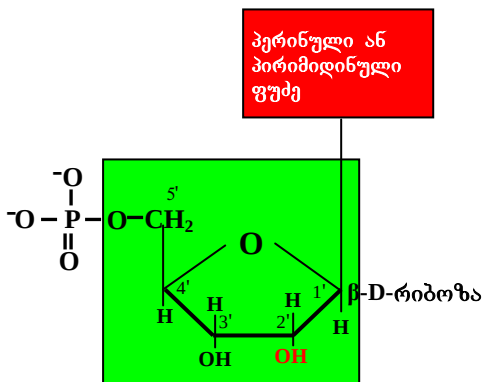
ურ იზოტოპ ^{32}P -ის საშუალებით ნიშანდებული იყო ბაქტერიოფაგის დნმ-ის ფოსფატური ჯგუფი, ხოლო მეორეში იზოტოპ ^{35}S -ის საშუალებით – ბაქტერიოფაგის გარსის ცილის გოგირდშემცველი ამინომჟავები. ეს ნიშნები მეტად სპეციფიკურია, რადგანაც დნმ არ შეიცავს გოგირდს, ხოლო ცილოვან გარსში არ არის ფოსფორი. ასეთი გზით ნიშანდებული ბაქტერიოფაგის თითოეულ პრეპარატს ცალ-ცალკე უმატებდნენ დაუნიშნავი ნაწლავის ჩხირის ბაქტერიის (*E.coli*) სუსპენზიას. შემდეგ დასენიანებულ ბაქტერიულ უჯრედებს ანჯღრევდნენ

პროპონიზატორში (1000 ბრ/წთ) და აღენდნენ ცენტროფუგირებას მათი სინჯარის ფსკერზე დაღეჭვის მიზნით. შედეგებმა აჩვენა, რომ ^{32}P -ფაგური ნაწილაკებით დასენიანებული ბაქტერიული (*E.coli*) უჯრედები თავიანთ შედგენილობაში შეიცავდნენ ^{32}P , ე.ი. მათში მოხვდა ნიშანდებული ფაგური დნმ. ბაქტერიული უჯრედებიდან მოცილებული ფაგის “ჩრდილები” (ვირუსის ცარიელი გარსები) რადიოაქტიურობას არ შეიცავდნენ, ხოლო ^{35}S -ფაგური ნაწილაკებით დასენიანებულ ბაქტერიულ (*E.coli*) უჯრედებში რადიოაქტიურობა არ იყო, სამაგიეროდ ის ნანახი იქნა ფაგის “ჩრდილებში”, ე.ი. მათში არ მოხვდა ნიშანდებული ფაგური ცილა. რადგანაც ორივე შემთხვევაში ბაქტერია *E.coli*-ს უჯრედებში მიღებულ იქნა ფაგური ნაწილაკების თაობა, გაკეთებულ იქნა დასკვნა, რომ ფაგის მემკვიდრული (გენეტიკური) ინფორმაციის მატარებელს წარმოადგენს ნუკლეინის მჟავა (დნმ) და არა ცილა.

2.2.2. ნუკლეინის მჟავების ქიმიური შედგენილობა

ნუკლეინის მჟავების მოლეკულების შედგენილობაში შედის აზოტის (15-16%), ფოსფორის (8-10%), ნახშირბადის, ჟანგბადის და წყალბადის ატომები.

ყოველი ნუკლეოტიდი თავის მხრივ შედგება სამი კომპონენტისაგან: 1) აზოტოვანი ფუძე, 2) ხუთნახშირბადიანი შაქარი და 3) ფოსფორმჟავა (სურ. 6).



სურ 6. ნუკლეოტიდების ზოგადი სტრუქტურა

აზოტოვანი ფუძე წარმოადგენს ორი საწყისი პეტეროციკლური ნაერთის* – პირიმიდინისა ($C_4H_5N_2$) და პურინის ($C_5H_4N_4$) წარმოებულს (სურ. 7). ნუკლეინის მუკეებში ძირითადად მონაწილეობს ორი



სურ 7. პირიმიდინი (ა) და პურინი (ბ) – აზოტოვანი ფუძის საწყისი ნაერთები

პურინის (დიციკლური) წარმოებული – ადენინი (ა; A)** და გუანინი (გ; G) და სამი პირიმიდინის (მონოციკლური) წარმოებული – ციტოზინი (ც; C), თიმიინი (თ; T) და ურაცილი (უ; U) (სურ. 8). დნმ-ს შედგენილობაში შედის აზოტოვანი ფუძეები ადენინი, გუანინი, ციტოზინი და თიმიინი, ხოლო რნმ-ში – ადენინი, გუანინი, ციტოზინი და ურაცილი, ე.ი. რნმ-ში თიმიინის ნაცვლად მონაწილეობს ურაცილი.

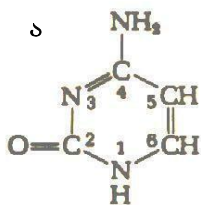
გარდა დასახელებული პურინისა და პირიმიდინის წარმოებულებისა, ნუკლეინის მუკეების შედგენილობაში ასევე შედის რამდენიმე ათეული სხვა ფუძე (1-მეთილადენინი, 1-მეთილგუანინი, N_2 -დიმეთილგუანინი, N_6 -დიმეთილადენინი, 5-მეთილციტოზინი, 5-ოქსიმეთილციტოზინი, დიჰიდროურაცილი, ჰიპოქსანტინი, ტიოურაცილი, ქსანტინი და სხვა), რომლებსაც მცირე რაოდენობის გამო ეგზოტიკური ანუ მინორული ჰქვია. ჩვეულებრივ ისინი ძირითადი ფუძეების მეთილირებული, ჰიდროქსილმეთილირებული ან გლუკოზირებული ფორმებია. მათი ბიოლოგიური როლი, ალბათ, ნუკლეინის მუკეების ფერმენტების დამშლელი მოქმედებისაგან დაცვაა.

ნუკლეოტიდის შედგენილობაში შემავალი შაქარი – არის პენტოზა, რომელიც წარმოადგენილია ორი ფორმით: β -D-რიბოზა და β -D-დეზოქსირიბოზა*** (სურ.9). მათ შორის განსხვავება მდგომარეობს

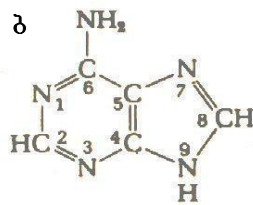
* პეტეროციკლური ნაერთი – ნაერთი, რომლის ბენზოლის რგოლი (ციკლი) ნახშირბადატომთა გარდა შეიცავს სხვა ატომებსაც (N, S, O და ა.შ.).

** პირველი ასო გამოხატავს ქართულ აღნიშვნას, მეორე – საერთაშორისოს.

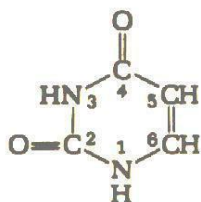
*** β -ფურანოზული ფორმა.



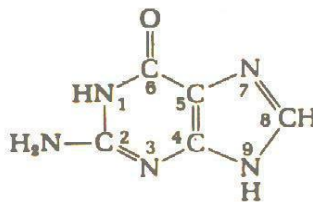
ციტოზინი



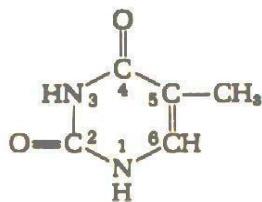
ადენინი



ურაცილი

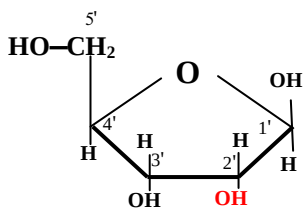


გუანინი

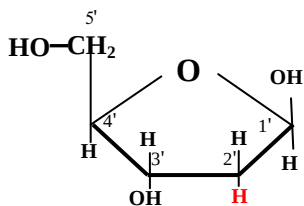


თიმინი

სურ. 8. აზოტოვანი ფუძის პირიმიდინისა (ა) და პურინის (ბ) წარმომადგენლები



β-D-რიბოზა

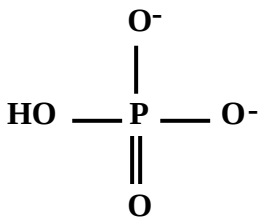


β-D-დეზოქსირიბოზა

სურ 9. ნუკლეოტიდის შედგენილობაში შემაგალი შაქარი

იმაში, რომ რიბოზის ჰიდროქსილის (-OH) ჯგუფი პენტოზის 2' ნახშირბადის ატომთან დეზოქსირიბოზაში შეცვლილია წყალბადის ატომით (“დეზოქსი” ნიშნავს – “მინუს ერთი ჟანგბადი”). პენტოზის ნახშირბად ატომებს აზოტოვანი ფუძის ნახშირბადატომებისაგან გარჩევის მიზნით აქვთ ციფრობრივი აღნიშვნა შტრიხით (1', 2' და ა.შ.). **ნუკლეოტიდები**, რომლებიც რიბოზას შეიცავენ რიბონუკლეოტიდები ეწოდება და მათგან აგებულია **რნმ**, ხოლო **ნუკლეოტიდები**, რომლებიც დეზოქსირიბოზას შეიცავენ **დეზოქსირიბონუკლეოტიდები** ეწოდება და მათგან აგებულია **დნმ**, ე.ი. **ნუკლეინის მჟავების სახელწოდება** განსაზღვრულია მათ შემადგენლობაში შემავალი პენტოზით.

ნუკლეოტიდის შედგენილობაში შედის ერთი **ფოსფორმჟავა** – **ორთოფოსფატის (HPO_4^{2-})** ფორმით, რომელსაც ხშირად არაორგანულ ფოსფატს უწოდებენ და აღნიშნავენ **Pi**:



არაორგანული ფოსფატი

ნუკლეოტიდების სახელწოდება წარმოდგება მათ შედგენილობაში შემავალი აზოტოვანი ფუძეებისაგან და შემოკლებით აღინიშნება ამ ფუძეების სახელწოდების საწყისი ასოებით (ცხრილი 1).

ნუკლეოტიდების ნომენკლატურა

ცხრილი 1

აზოტოვანი ფუძე	რიბონუკლეოტიდის სახელწოდება	დეზოქსირიბონუკლეოტიდის სახელწოდება	შემოკლებული აღნიშვნა	
			ქართ.	საერ.
ადენინი	ადენილატი	დეზოქსიადენილატი	ა	A
გუანინი	გუანილატი	დეზოქსიგუანილატი	გ	G
ციტოზინი	ციტიდილატი	დეზოქსიციტიდილატი	ც	C
თიმინი	–	დეზოქსითიმინიდილატი	თ	T
ურაცილი	ურიდილატი	–	უ	U

ნუკლეოტიდის ნაწილს, რომელიც მხოლოდ ფუძისა და შაქრისაგან (ფოსფატის გარეშე) შედგება **ნუკლეოზიდი** ჰქვია. ამიტომ ნუკლეოტიდებს კიდევ უწოდებენ **ნუკლეოზიდმონოფოსფატებს**: ადენო-

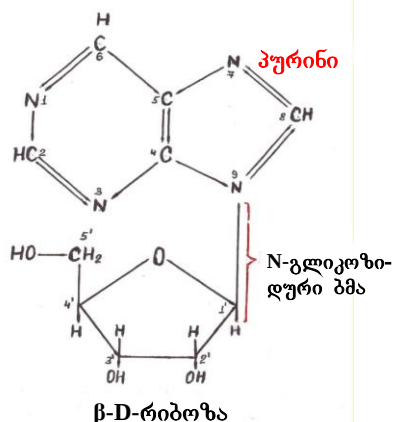
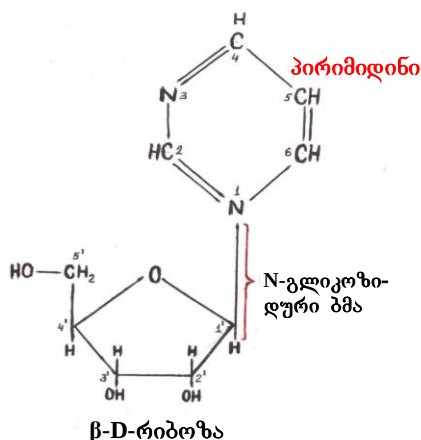
ზინმონოფოსფატი (ამფ*; AMP**), გუანოზინმონოფოსფატი (გმფ; GMP), ციტიდინმონოფოსფატი (ცმფ; CMP), ურიდინმონოფოსფატი (უმფ; UMP), დეზოქსიადენოზინმონოფოსფატი (დამფ; dAMP***), დეზოქსიგუანოზინმონოფოსფატი (დგმფ; dGMP); დეზოქსიციტიდილმონოფოსფატი (დცმფ; dCMP); დეზოქსითიმიდინმონოფოსფატი (დთმფ; dTMP). მაშასადამე, ქიმიური შედგენილობის მიხედვით ყოველი ნუკლეოტიდი წარმოადგენს მჟავას ნუკლეოზიდების ფოსფოროვან ეთერს.

მე-10 სურათზე მოტანილია რნმ-სა და დნმ-ს შედგენილობაში შემავალი ოთხი ძირითადი რიბონუკლეოტიდის და ოთხი ძირითადი დეზოქსირიბონუკლეოტიდის სტრუქტურული ფორმულები და სახელწოდება.

2.2.3. ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურა

2.2.3.1. დნმ-ს და რნმ-ს პირველადი სტრუქტურა****

ნუკლეოტიდის შედგენილობაში შემავალი ხუთნახშირბადიანი შაქარი-პენტოზა (β-D-რიბოზა ან β-D-დეზოქსირიბოზა) და აზოტოვანი ფუძე (პურინის ან პირიმიდინის წარმოებული) ერთმანეთთან დაკავშირებულია კოვალენტური N-გლიკოზიდური ბმით. იგი ხორციელდება პენტოზის 1'-ნახშირბადისა და პირიმიდინის წარმოებულის 1-აზოტის ან პურინის წარმოებულის 9-აზოტის ატომებს შორის.

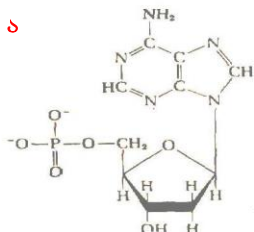


* ქართული შემოკლებული აღნიშვნა.

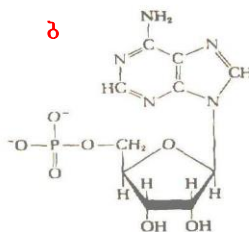
** საერთაშორისო შემოკლებული აღნიშვნა.

*** დ და d ნიშნავს – “დეზოქსი.”

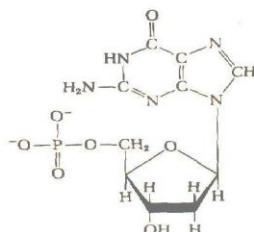
**** პირველადი სტრუქტურა – არის ნუკლეინის მჟავის პოლიმერულ მაკრომოლეკულაში (ჯაჭვში) ნუკლეოტიდების თანმიმდევრული განლაგება ანუ მორიგეობის წესი.



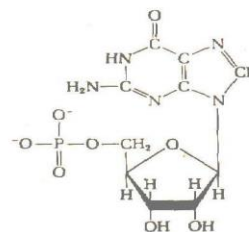
დეზოქსიადენილატი, დეზოქსიადენო-
ზინ-5'-მონოფოსფატი (A, dAMP)



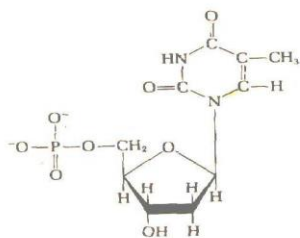
ადენილატი, ადენოზინ-5'-
მონოფოსფატი (A, AMP)



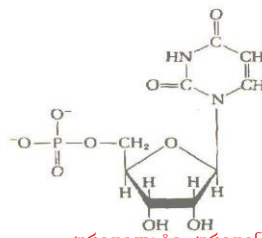
დეზოქსიგუანილატი, დეზოქსიგუანო-
ზინ-5'-მონოფოსფატი (G, dGMP)



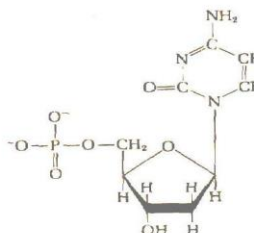
გუანილატი, გუანოზინ-5'-
მონოფოსფატი (G, GMP)



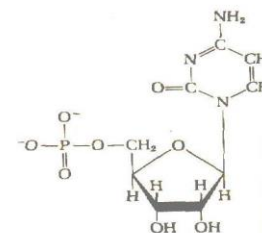
დეზოქსითიმიდილატი, დეზოქსითიმიდინ-
5'-მონოფოსფატი (T, dTTP)



ურიდილატი, ურიდინ-5'-
მონოფოსფატი (U, UMP)



დეზოქსიციტიდილატი, დეზოქსიციტიდინ-
5'-მონოფოსფატი (C, dCMP)

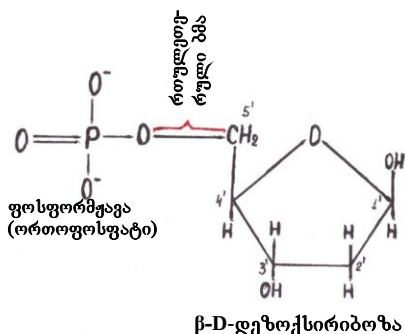
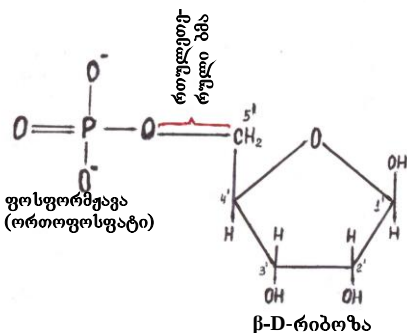


ციტიდილატი, ციტიდინ-5'-
მონოფოსფატი (C, CMP)

სურ 10. დეზოქსირიბონუკლეოტიდების (ა) და რიბონუკლეოტიდების (ბ) სტრუქტურული ფორმულები და სახელწოდება

(ნუკლეოტიდებს დნმ-ს ან რნმ-ს მოლეკულის შედგენილობაში აღნიშნავენ ასოებით - A,G,C,T,U; ხოლო თავისუფალი ფორმით უჯრედში- dAMP, dGMP, dTTP და ა.შ.)

ფოსფორმჟავა (ორთოფოსფატი) ნუკლეოტიდში დაკავშირებულია პენტოზის (β-D-რიბოზა ან β-D-დეზოქსირიბოზა) 5' ნახშირბად ატომთან კოვალენტური რთულეთერული ბმით.

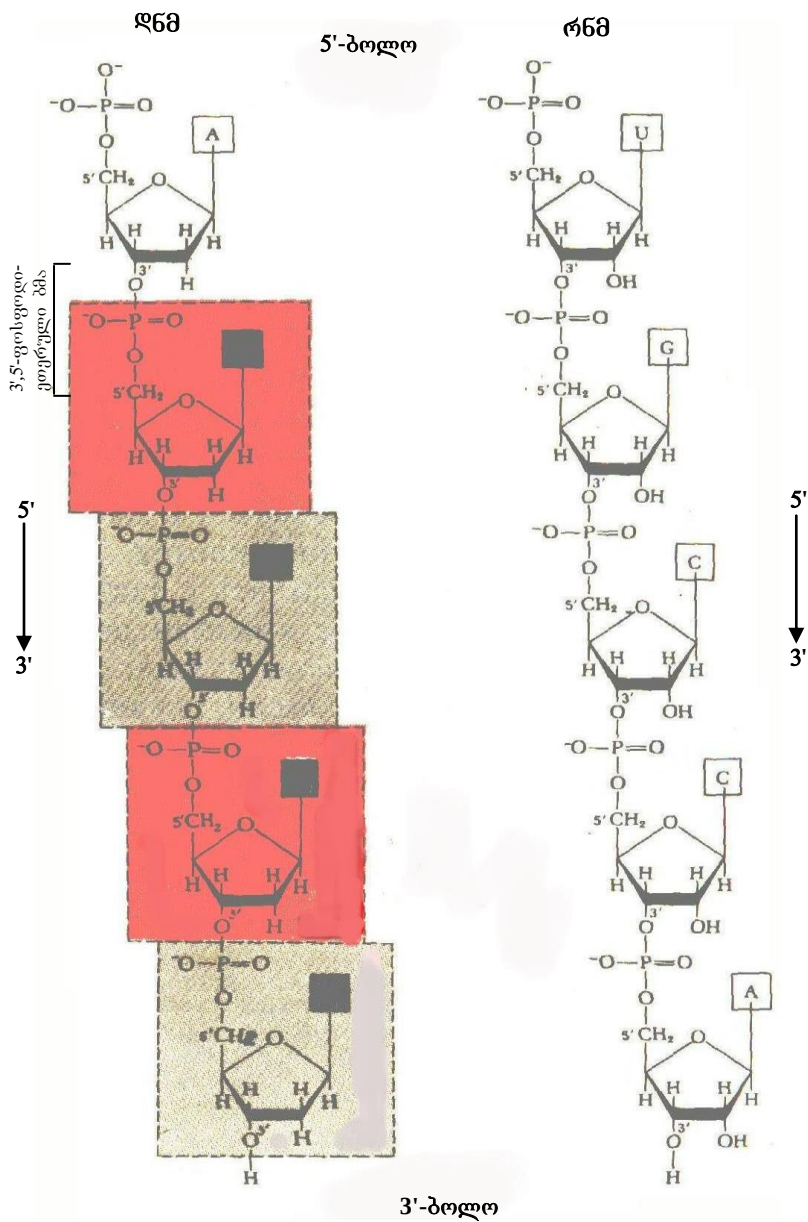


ნუკლეინის მჟავების (დნმ, რნმ) მაკრომოლეკულაში მონომერები – ნუკლეოტიდები (რიბონუკლეოტიდები, დეზოქსირიბონუკლეოტიდები) ერთმანეთთან დაკავშირებულია კოვალენტური 3', 5'-ფოსფოდიეთერული ბმით და წარმოქმნიან პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვს. კავშირი ხორციელდება ფოსფატური “ხიდეების” საშუალებით. ერთი ნუკლეოტიდის პენტოზის 3'-OH ჯგუფი დაკავშირებულია მეზობელი ნუკლეოტიდის პენტოზის 5'-OH ჯგუფთან (სურ. 11.)

ყველა დასახელებული ბმა (N-გლიკოზიდური, რთულეთერული, 3',5'-ფოსფორეთერული) წარმოადგენს მაღალენერგეტიკულს. ამიტომ საკმაოდ მტკიცედ ახდენენ ნუკლეინის მჟავების პირველადი სტრუქტურის სტაბილიზაციას.

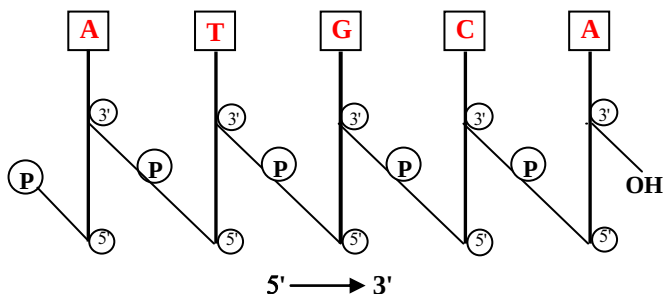
ნუკლეინის მჟავების მნიშვნელოვან თავისებურებას წარმოადგენს მათი მოლეკულების აგებულების აპერიოდულობა. ნუკლეოტიდების ოთხი ტიპი პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში ერთმანეთს ენაცვლება სხვადასხვა თანმიმდევრობით. მაგრამ ეს თანმიმდევრობა მკაცრად მუდმივია მოცემული ორგანიზმის დნმ-ს ან რნმ-ს კონკრეტული ტიპისათვის.

ნუკლეინის მჟავების პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს ახასიათებს გარკვეული პოლარობა ანუ მიმართულება, რადგანაც ყველა ნუკლეოტიდთაშორის ფოსფოდიეთერული ბმა ჯაჭვის გასწვრივ ორიენტირებულია ერთნაირად (სურ. 11). ამ პოლარობის გამო ყოველ პოლინუკლეოტიდურ ჯაჭვს აქვს 5'-ბოლო და 3'-ბოლო. მიღებული შეთანხმების თანახმად ჯაჭვში ნუკლეოტიდების თანმიმდევრობა იკითხება 5'→3' მიმართულებით.



სურ. 11. დნმ-ს და რნმ-ს პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვის სტრუქტურა

ნუკლეოტიდების თანმიმდევრობას პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში სქემატურად გამოსახავენ სხვადასხვანაირად: შეიძლება პირდაპირ ფუძეების თანმიმდევრობის მითითება დაწეებული მოლეკულის 5'-ბოლოდან, მაგალითად: **ATGCA**; შეიძლება ასო "P" საშუალებით ფოსფატური ჯგუფების მდებარეობის აღნიშვნა: **pApTpGpCpA**; შაქრის ბუნებას მიუთითებენ ასოებით **r** (რიბოზა) და **d** (დეოქსირიბოზა): **dAdTdGdCdA** ან **rArUrGrCrA**; შეიძლება შემდეგი სიმბოლოების გამოყენება:



სადაც ვერტიკალური ხაზები შეესაბამება პენტოზას, ასოები **A, T, G, C, A** – ფუძეებს, დახრილი ხაზები – ფოსფორდიეურულ ბმებს, **P** – ფოსფატურ ჯგუფებს. წრეში ციფრებით მითითებულია პენტოზაში ფოსფატური ჯგუფების (ორთოფოსფატების) მიერთების ადგილები.

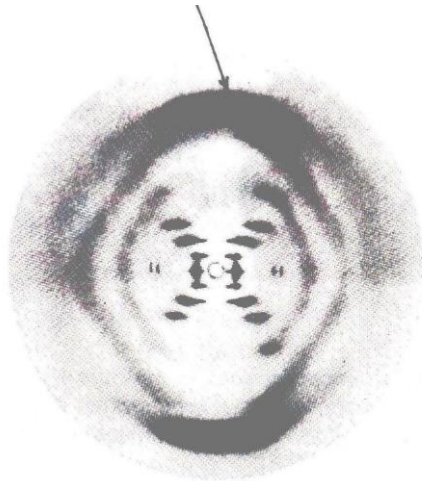
2.2.3.2. დნმ-ს მეორადი სტრუქტურა*

დნმ-ს მოლეკულების აგებულება დიდხანს ამოუცნობი იყო. მის გადაწყვეტაში დიდი როლი ითამაშა ე. ჩარგაფის (E. Chargaff), რ. ფრანკლინის (R. Franklin), მ. უილკინსის (M. Wilkins), ჯ. უოტსონის (J. Watson) და ფ. კრიკის (F. Crik) შრომებმა.

დნმ-ს მოლეკულური სტრუქტურის გამოცნობის ყველაზე მნიშვნელოვანი გასაღები გახდა კოლუმბიის უნივერსიტეტის (აშშ) ბიოქიმიკოსის ერვინ ჩარგაფის (Erwin Chargaff) 1950 წლის აღმოჩენა. მან დაადგინა, რომ ადენინური სტრუქტურების რაოდენობა ნებისმიერ დნმ-ში ორგანიზმის სახეობისაგან დამოუკიდებლად ზუსტად ტოლია თიმინური სტრუქტურების რაოდენობის, ე.ი. $A=T$ (ანუ $A/T=1$), ხოლო გუანინური სტრუქტურების რაოდენობა ყოველთვის ტოლია ციტოზინური სტრუქტურების რაოდენობის, ე.ი. $G=C$ (ანუ $G/C=1$). აქედან გამომდინარე, პურინული სტრუქტურების ჯამი ტოლია პირიმიდინული

* მეორადი სტრუქტურა – არის ნუკლეინის მჟავის სტრუქტურის შიგნით ატომების სივრცული განლაგების წესი.

სტრუქტურების ჯამის, ე.ი. $A+G=T+C$ (ანუ $A+G/T+C=1$). **როზალინ ფრანკლინმა (Rosalind Franklin)** და **მორის უილკინსმა (Maurice Wilkins)** დნმ-ს ბოჭკოების რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის საფუძველზე (სურ. 12) მიიღეს მონაცემები, საიდანაც გამომდინარეობდა,



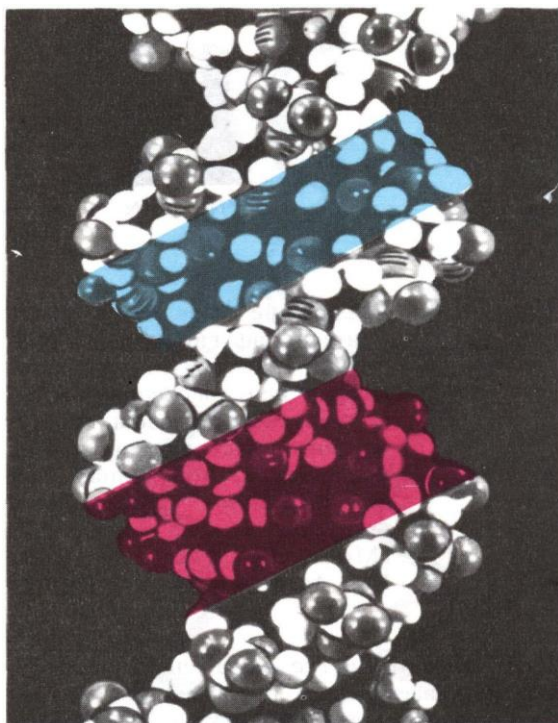
სურ. 12. დნმ-ს რენტგენოსტრუქტურული ანალიზი

რომ დნმ-ს მოლეკულებს უმჭკველად აქვთ ერთზე მეტი ჯაჭვისაგან შემდგარი სპირალის აგებულება.

1953 წელს ამერიკელმა გენეტიკოსმა **ჯეიმს უოტსონმა (James Watson)** და ინგლისელმა ფიზიკოსმა **ფრენსის კრიკმა (Frencis Crik)** კემბრიჯის უნივერსიტეტის კავენდიშის ლაბორატორიაში (ინგლისი) ზემოთ აღნიშნული მონაცემების საფუძველზე დაადგინეს დნმ-ს სამგანზომილებიანი სტრუქტურა (სურ. 13), რომელსაც **უოტსონ-კრიკის მოდელს** უწოდებენ.

დნმ-ს მოდელი შედგება ერთი ღერძის ირგვლივ სპირალურად მარჯვნივ დახვეული ორი პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვისაგან, რომლებიც ქმნიან **ორმაგ სპირალს ანუ დუპლექს**, როგორც ხშირად უწოდებენ ორმაგ სპირალს (სურ 14).

სპირალში ჯაჭვები **ანტიპარალელურია**, ე.ი. მათი 5' და 3' –ნუკლეოტიდთაშორისი ფოსფორდიეთერული ხიდები მიმართულია ურთიერთსაპირისპირო მხარეს. ორმაგი სპირალის პერიფერიაზე (გარე მხარეზე) განლაგებულია შაქარ-ფოსფატური ჩონჩხი, ხოლო შიგნით მდებარეობს პარალელურად ჩაწყობილი აზოტოვანი ფუძეები, რომელთა სიბრტყე პერპენდიკულარულია სპირალის ღერძისადმი.

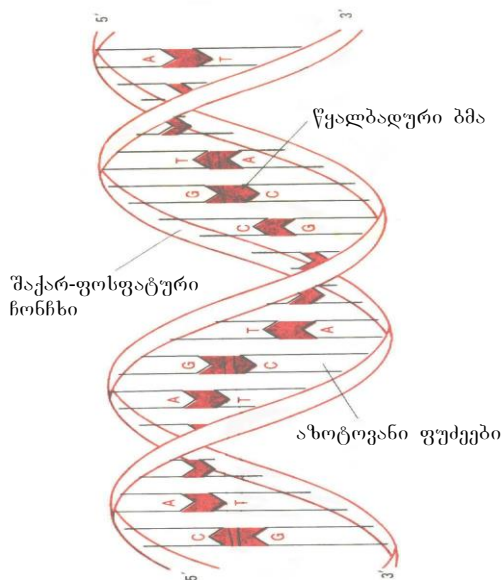


სურ 13. დნმ-ს ორმაგი სპირალის სივრცობრივი მოდელი

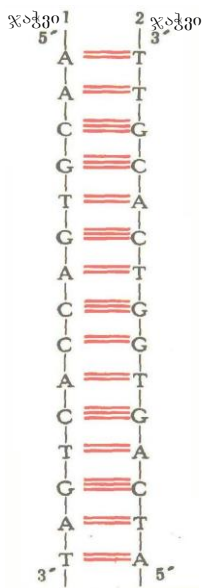
დნმ-ში ორი პოლინუკლეოტიდური ჯაჭვი ერთმანეთთან დაკავშირებულია აზოტოვანი ფუძეების საშუალებით. ორმაგი სპირალის მნიშვნელოვან თავისებურებას წარმოადგენს ამ კავშირების სპეციფიურობა. აზოტოვანი ფუძეები ერთმანეთს ყოველთვის უკავშირდება **კომპლემენტურობის*** პრინციპით, ე.ი. თუ ერთ ჯაჭვში რომელიმე ადგილზე დგას ადენინი (პურინი), მაშინ მეორე ჯაჭვში იმავე ადგილზე აუცილებლად უნდა იყოს თიმინი (პირიმიდინი) და პირიქით; ანალოგიურად, თუ ერთ ჯაჭვში დგას გუანინი (პურინი), მაშინ მეორეში აუცილებლად უნდა იყოს ციტოზინი (პირიმიდინი) და პირიქით (სურ. 15).

კომპლემენტურობას ძალიან დიდი მნიშვნელობა აქვს დნმ-ს

* **კომპლემენტურობის** კვამ იგულისხმება პურინ-პირიმიდინული ფუძეების შერწყვითი ურთიერთმოქმედება, ე.ი. ადენინის თიმინთან, გუანინის ციტოზინთან და პირიქით.



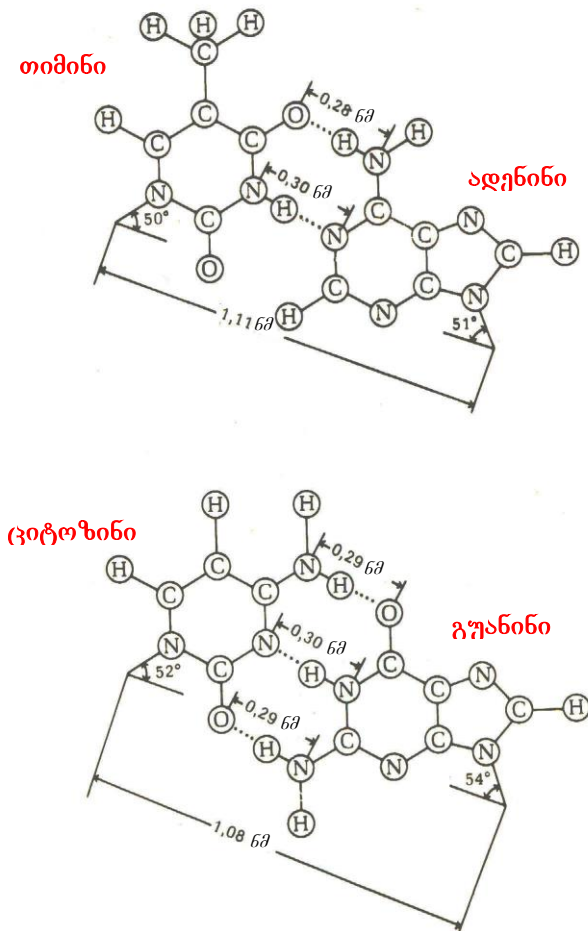
სურ 14. დნმ-ს ორმაგი სპირალი



სურ. 15. დნმ-ს ანტიპარალელური კომპლემენტური ჯაჭვების სქემატური გამოსახულება

რეპლიკაციის ანუ თვითგაორმაგების* პროცესში.

სპირალში აზოტოვანი ფუძეები ერთმანეთთან დაკავშირებულია წყალბადური ბმებით. უნდა აღინიშნოს, რომ ადენინი თიმინს უკავშირდება ორი წყალბადური ბმით ($A=T$), ხოლო გუანინი ციტოზინს – სამი წყალბადური ბმით ($G\equiv C$). ბმების სიგრძე შეადგენს 0.28-0.30 ნმ** (სურ. 16).



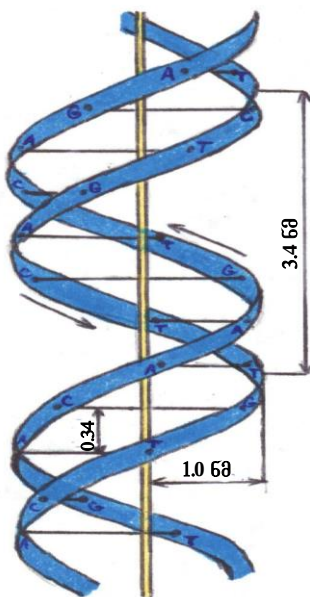
სურ. 16. სპირალში აზოტოვანი ფუძეების ერთმანეთთან წყალბადური ბმებით დაკავშირების სქემა

* დნმ-ს რეპლიკაციის საკითხები განხილულია ქვევით გვ. 185.

** 1 ნმ (ნანომეტრი) = 10^{-9} მ.

ამრიგად, დნმ-ს სტრუქტურა გვაგონებს ცენტრალური ღერძის ირგვლივ სპირალურად დახვეულ მოქნილ “კიბეს”, სადაც ერთმანეთს შენაცვლებული შაქარ-ფოსფატური ჯგუფები წარმოადგენენ “კიბის” მოაჯირს, ხოლო “საფეხურებს” წარმოადგენს აზოტოვანი ფუძეების კომპლემენტური პურინ-პირიმიდინული წყვილები.

ორმაგი სპირალის გეომეტრია ისეთია, რომ ფუძეების მეზობელი წყვილები ერთმანეთისაგან დაცილებულია 0.34 ნმ მანძილით და სპირალის ღერძის ირგვლივ შეტრიალებულია 36° -ით. მაშასადამე, სპირალის ერთ ხვიაზე მოდის ფუძეების 10 წყვილი ($360^\circ : 36^\circ = 10$), ხოლო სპირალის ბიჯი (ე.ი. ერთი ხვია) ტოლია 3.4 ნმ ($10 \times 0.34 = 3.4$). ორმაგი სპირალის დიამეტრი ტოლია დაახლოებით 2.0 ნმ (სურ. 17).



სურ. 17. დნმ-ს ორმაგი სპირალური გეომეტრია

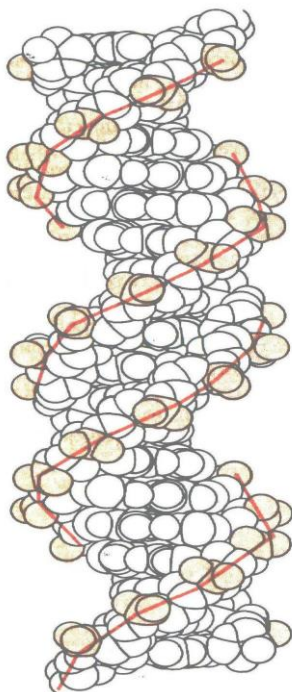
სპირალის მოლეკულის ზედაპირზე კარგად ჩანს ორი ღარი – დიდი და მცირე (სურ. 13.). ეს დაკავშირებულია იმასთან, რომ შაქარ-ფოსფატური ჩონჩხი განლაგებულია უფრო შორს სპირალის ღერძიდან, ვიდრე აზოტოვანი ფუძე.

ორმაგი სპირალის სტაბილურობა განპირობებულია წყალბადური ბმით აზოტოვან ფუძეებს შორის და სიბრტყეთაშორისი ე.წ. სტეკინგ-ურთიერთმოქმედებით აზოტოვან ფუძეებს შორის, რომელიც გამოწვეულია ჰიდროფობური ძალებით.

დნმ-ს ალტერნატიული სტრუქტურები. დნმ-ს ორმაგ სპირალს გააჩნია სხვადასხვა კონფიგურაციის მიღების უნარი. პოლინუკლეოტიდების (ოლიგონუკლეოტიდების)* ბოჭკოებისა და კრისტალების რენტგენოსტრუქტურულმა გამოკვლევებმა აჩვენეს, რომ არსებობს დნმ-ს სხვადასხვა ალტერნატიული სტრუქტურები (A-, B-, C-, Z-, D-, E-, H-ფორმები).

დნმ-ს A ფორმა – არის ორსპირალიანი, მარჯვნივ დახვეული სტრუქტურა, რომელიც შეიცავს დაახლოებით 11 აზოტოვან ფუძეს სპირალის ერთ სვიაზე. მანძილი ფუძეებს შორის შეადგენს 0.29 ნმ, ხოლო სპირალის დიამეტრი – 20 ნმ. წარმოიქმნება დნმ-ს B-ფორმის დეჰიდრატაციის (გამოშრობის) დროს და ნაპოვნია დნმ-ს ბოჭკოებში 75% შეფარდებითი ტენიანობის დროს (სურ. 18).

დნმ-ს B ფორმა – არის ზემოთ აღწერილი კლასიკური უოტსონ – კრიკის ორმაგი სპირალი (სურ. 17). დამახასიათებელია დნმ-ს ბოჭ-

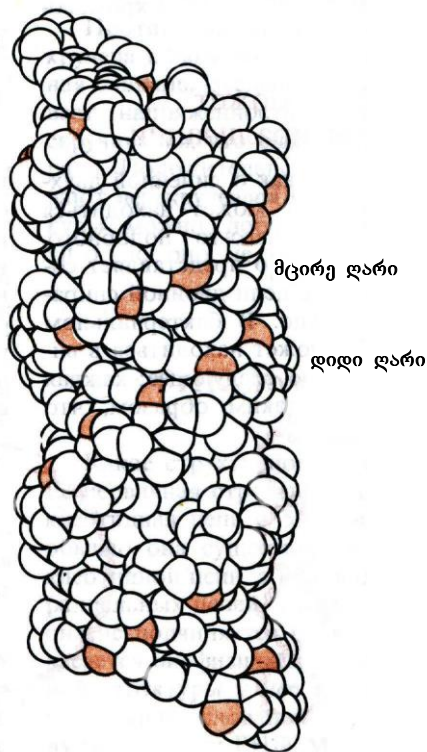


სურ. 18. დნმ-ს A-ფორმა

* ოლიგო [ბეძნ. *oligos*] – ცოტა, მცირერიცხოვანი.

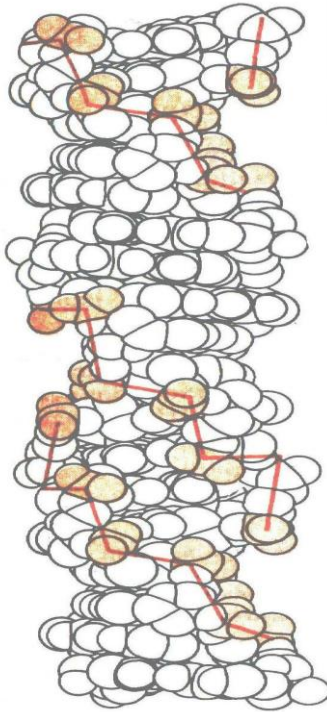
კოებისათვის ძალიან მაღალი შეფარდებითი ტენიანობის (92%) დროს დაბალი იონური ძალის ხსნარებში. თვლიან, რომ ჩვეულებრივ სწორედ ასეთი ფორმითაა დნმ ცოცხალ უჯრედში.

დნმ-ს C-ფორმა ასევე წარმოადგენს მარჯვნივ დახვეულ სპირალს, სადაც აზოტოვანი ფუძეების რაოდენობა ხვიაზე ტოლია 9.5-ს, ღერძის გარშემო ბრუნვის კუთხე შეადგენს 38.6° -ს, ხოლო ფუძეებს შორის მანძილი – 0.33 ნმ. წარმოიქმნება, როცა დნმ იმყოფება 66% ტენიანობის პირობებში (სურ. 19).



სურ. 19. დნმ-ს C-ფორმა

დნმ-ს Z-ფორმას აქვს მარცხნივ დახვეული ორსპირალიანი სტრუქტურა, ერთ ხვიაზე შეიცავს დაახლოებით 12 აზოტოვან ფუძეს. ასო Z მიუთითებს ამ ფორმაში დნმ-ს შაქარ-ფოსფატური ჩონჩხის ზიგზაგისებურ (Zigzag) ფორმაზე (სურ. 20). აქ ფუძეებს შორის მანძილი ტოლია 0.37 ნმ, ხოლო სპირალის დიამეტრი – 18 ნმ. Z-ფორმის წარმოქმნის სტიმულირება ხდება დნმ-ს ზესპირალიზაციით.



სურ. 20. დნმ-ს Z-ფორმა

დნმ უჯრედში ჩვეულებრივ იმყოფება B-ფორმაში, მაგრამ მისი ცალკეული მონაკვეთები შეიძლება იმყოფებოდნენ სხვა კონფორმაციით.

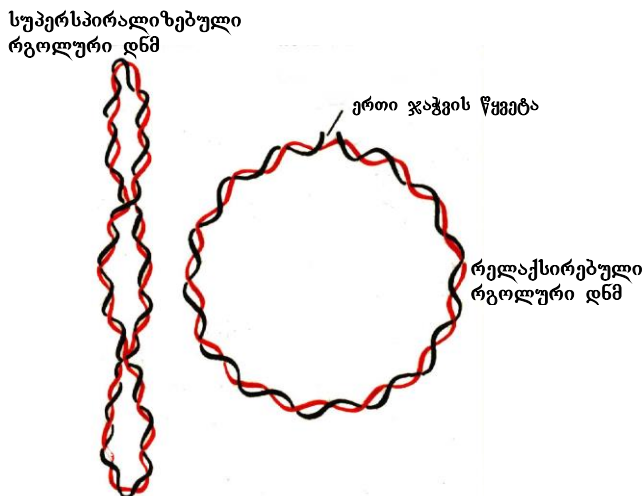
2.2.3.3. დნმ-ს მესამეული სტრუქტურა*

ცოცხალ უჯრედში დნმ-ს გარდა მეორადი სტრუქტურისა, გაან-
ნია მესამეული სტრუქტურაც – **სუპერსპირალის ანუ შეკრული რგო-
ლური (წრიული) ფორმის** სახით. მესამეული სტრუქტურის შესასწავ-
ლად აუცილებელია დნმ იყოს ინტაქტურ (დაუზიანებელ) მდგომარეო-
ბაში.** ელექტრონული მიკროსკოპის მეთოდით დადგენილ იქნა, რომ
მრავალი ვირუსის, ბაქტერიის, მიტოქონდრიის, ქლოროპლასტის დნმ-
ს ინტაქტურ მოლეკულებს აქვთ კოვალენტურად შეკრული რგოლუ-

* მესამეული სტრუქტურა – არის ნუკლეინის მუაყის მოლეკულის ყველა ნაწილის სივ-
რცული განლაგების წესი.

** დღეისათვის ინტაქტური სახით გამოყოფილია ვირუსების, მიტოქონდრიების და
ქლოროპლასტების დნმ.

რი (წრიული) ფორმა. XX საუკუნის 60-იანი წლების შუა პერიოდში **ჯერომ ვინოგრადი (Jerome Vinograd)** თანამშრომლებთან ერთად დაადგინა, რომ დნმ-ს რგოლური (წრიული) ორსპირალიანი მოლეკულები შეიძლება დახვეულ იქნას სუპერსპირალიზებულ (ზესპირალიზებულ) მდგომარეობამდე (სურ. 21).



სურ. 21. სუპერსპირალიზებული და რელაქსირებული რგოლური (წრიული) ორსპირალიანი დნმ

სუპერსპირალი შეიძლება დახვეულ იქნას მარჯვენა ან მარცხენა მხარეს. რგოლურ დნმ-ს, რომელიც სრულებით მოკლებულია სუპერსპირალურ ხვევებს ჰქვია, **რელაქსირებული**. შეკრული რგოლური (წრიული) დნმ-ს მნიშვნელოვან მახასიათებელს წარმოადგენს – ორი ერთჯაჭვიანი რგოლის **მოღების რიგი L** (ინგლისური სიტყვიდან **Linking**). L-ის მანვენებელი მიუთითებს იმაზე, თუ ერთი ჯაჭვი რამდენჯერ გადაკვეთს მეორე ჯაჭვს. L-ის სიდიდეს აქვს მთელი რიცხვის მნიშვნელობა. **გრესა T** (ინგლისური სიტყვიდან **Twisting**) ე.ი. ხვევების რიცხვი ჩვეულებრივ ორმაგ სპირალში და **სუპერსპირალიზაციის სიდიდე W** (ინგლისური სიტყვიდან **Writhe**) ერთმანეთთან დაკავშირებულია განტოლებით: $W=L-T$.

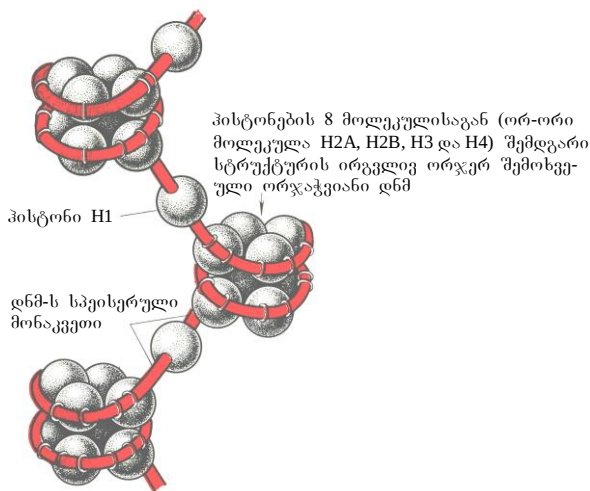
სუპერსპირალიზაციას აქვს ძალიან დიდი ბიოლოგიური მნიშვნელობა. ჯერ ერთი, სუპერსპირალიზებულ დნმ-ს აქვს უფრო კომპაქტური ფორმა, რის გამოც დნმ-ს ძალიან გრძელი მოლეკულები თავსდება უჯრედის მცირე მოცულობაში. მაგალითად, ადამიანის დნმ-ს ორსპირალიანი მოლეკულის სიგრძეს დაჭიმულ მდგომარეობაში შეიძლება მიეღწია 8 სმ-მდე, სინამდვილეში კი მისი სიგრძე შეად-

გენს 5 ნმ; მეორე, სუპერსპირალიზაცია გაეღენას ახდენს ორმაგი სპირალის ხვეულის გაშლის ხარისხზე. უფრო ზუსტად, უარყოფითი სუპერსპირალიზაცია (ე.ი. თვით ორმაგი სპირალის დახვევის მიმართულების საპირისპიროდ დახვეული) იწვევს ორმაგი სპირალის ხვეულის გაშლას.*

არსებობს სპეციალური ფერმენტები – **ტოპოიზომერაზები**, რომლებსაც უნარი აქვთ შეცვალონ სუპერსპირალიზაციის ხარისხი. ისინი იყოფა ორ ჯგუფად – **ტოპოიზომერაზა I** და **ტოპოიზომერაზა II**. ტოპოიზომერაზა I-ს (დნმ-გირაზა) ზესპირალიზებული სტრუქტურა გადაჰყავს რელაქსირებულ მდგომარეობაში, ხოლო ტოპოიზომერაზა II-ს პირიქით – ახდენს სუპერსპირალიზაციის პროცესის კატალიზებას.

დნმ-ს სუპერსპირალიზაციის პროცესი ეუკარიოტებში მიმდინარეობს ჰისტონური ცილების მონაწილეობით. დნმ-ს ურთიერთქმედება ჰისტონებთან იწვევს **ნუკლეოსომების** – ბირთვის ნივთიერება ქრომატინის სტრუქტურული ერთეულების ფორმირებას.

ნუკლეოსომა** გარეგნულად მძივებიანი ძაფების მსგავსია (სურ. 22) და წარმოადგენს კომპლექსს, რომელიც შედგება ორჯაჭვიანი დნმ-საგან სიგრძით 100-200 ნუკლეოტიდური წყვილი და ჰისტონების



სურ. 22. ნუკლეოსომის აგებულება

* ხაზობრივი დნმ სუპერსპირალს არ წარმოქმნის მანამ, სანამ მოლეკულის ორივე ბოლო არ იქნება დაფიქსირებული.

** პირველად აღმოჩენილ იქნა 1974 წელს ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით.

მოლეკულებისაგან, რომლის ირგვლივ ორჯერ შემოხვეულია ეს დნმ. ნუკლეოსომებს (“მივიგებს”) აქვთ 10-11 ნმ დიამეტრი და მათ შედგენილობაში შედის ჰისტონების რვა მოლეკულა – ჰისტონების H2A, H2B, H3 და H4 ორ-ორი მოლეკულა. დნმ-ს ძაფი დახვეულია ნუკლეოსომის ჰისტონურ ბირთვზე, რომლის ზედაპირზე არის სპეციალური ღარი დნმ-ს ჩასაწყობად. დნმ-ს ძაფი ბირთვის ირგვლივ აკეთებს 1.75 ბრუნს და ლაგდება ნუკლეოსომის გარეთა მხარეზე. ნუკლეოსომებს შორის შუალედში განლაგებულია შემაერთებელი (ლინკერული, სპეისერული) დნმ სიგრძით 20-120 ნუკლეოტიდური წყვილი,* რომელსაც უკავშირდება ჰისტონი H1. ნუკლეოსომების მთავარ ფუნქციას დნმ-ს მჭიდრო ჩაწყობა წარმოადგენს.

2.2.3.4. რიბონუკლეინის მჟავა (რნმ)

რიბონუკლეინის მჟავას (რნმ) მოლეკულები წარმოადგენენ გრძელ ერთჯაჭვიან პოლინუკლეოტიდურ სტრუქტურებს. მხოლოდ ზოგიერთ რნმ-შემცველ ვირუსებს გააჩნიათ ორჯაჭვიანი რნმ. ზომის მიხედვით ისინი გაცილებით მოკლეა (75-დან რამდენიმე ათასი ნუკლეოტიდი) ვიდრე დნმ, მაგრამ მათი საერთო სიდიდე უმეტეს უჯრედში მნიშვნელოვნად სჭარბობს დნმ-ს სიდიდეს.

რნმ-ს მთავარ ფუნქციას წარმოადგენს დნმ-ში კოდირებული გენეტიკური ინფორმაციის შიგაუჯრედული გადატანა (ტრანსპორტირება) უჯრედის ბირთვიდან ცილების სინთეზის ადგილამდე.

უჯრედები შეიცავს ხუთი ტიპის რნმ-ს: მატრიცული ანუ ინფორმაციული (messenger)** რნმ (მ-რნმ ანუ ი-რნმ), რიბოსომული რნმ (რ-რნმ), ტრანსპორტული რნმ (ტ-რნმ), ჰეტეროგენული ბირთვული რნმ (პბ-რნმ) და მცირე ბირთვული რნმ (მპ-რნმ) (ცხრილი 2).

ბაქტერია E. coli-ს სხვადასხვა ტიპის რნმ-ს ღახასიათება
ცხრილი 2

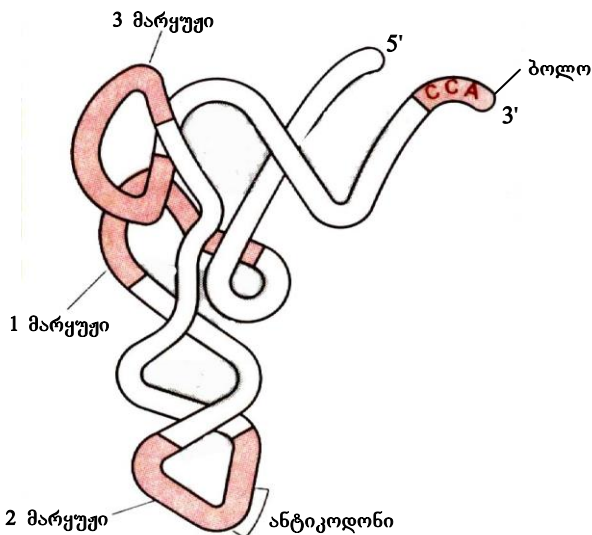
რნმ-ს ტიპი	შემცველობა უჯრედში, (%)	სედიმენტაციის კოეფიციენტი, (S)	მოლეკულური მასა, (kDa)	ნუკლეოტიდების რიცხვი
მ-რნმ	5	4-26	25-1000	75-3000
რ-რნმ	80	23	1000	~3000
		16	500	~1500
		5	35	~100
		4	25	~75
ტ-რნმ	15			

* ერთ ნუკლეოსომაზე მოსული დნმ-ს ძაფის სიგრძე შეადგენს 155-210 ნუკლეოტიდის წყვილს.

** messenger [ინგლ.] – შუამავალი.

თანმიმდევრობა და განაპირა 3'-OH ჯგუფი. მათ აქცეპტორულ ბოლოს უწოდებენ. ამინომჟავა უკავშირდება ბოლო აზოტოვანი ფუძის – ადენინის (A) 3'-OH ჯგუფს. ტ-რნმ-ს ნუკლეოტიდების დაახლოებით ნახევარი დაწყვილებულია და წარმოქმნიან ორმაგი სპირალის ოთხ მოკლე მონაკვეთს (უბანს), ხოლო დაუწყვილებელი ნუკლეოტიდები ქმნიან ერთჯაჭვიან სამ მარყუქს (ზოგიერთ ტ-რნმ-ს გააჩნია დამატებითი მარყუქები). ასეთ სტრუქტურას აქვს ნეკერჩხლის ფოთლის ფორმა. შუა მარყუქის თავში მდებარეობს ანტიკოდონი – ანუ 3 ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი ტრიპლეტი, რომელიც ყოველთვის კომპლემენტურია ი-რნმ-ს გარკვეული კოდონის.

ტ-რნმ-ს მესამეულ სტრუქტურას აქვს Γ-მაგვარი ფორმა (სურ. 24).

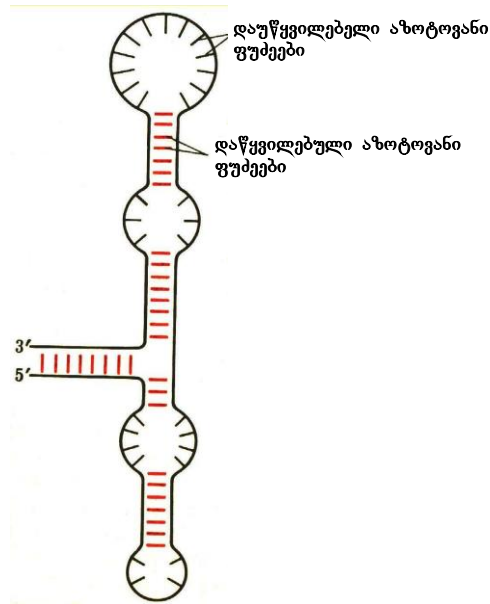


სურ 24. ტ-რნმ-ს მესამეული სტრუქტურის სქემატური გამოსახულება

რიბოსომული რნმ (რ-რნმ) წარმოადგენს რიბოსომების ძირითად კომპონენტს. მათზე მოდის რიბოსომების მთელი მასის 65%-მდე და უჯრედში ყველა რნმ-ს საერთო შემცველობის 80%-მდე. რ-რნმ-ს ბიოლოგიური ფუნქცია დღემდე ბოლომდე არაა დადგენილი. მაგრამ ცნობილია, რომ ისინი ასრულებენ მნიშვნელოვან როლს რიბოსომების სტრუქტურასა და ბიოსინთეტიკურ ფუნქციებში. პროკარიოტულ რიბოსომებში არსებობს სამი სახის რ-რნმ: 5S-*, 16 S-, და 23S-რ-რნმ;

* S [სვედბერგი] – არის ერთეული, რომლითაც ხასიათდება მაკრომოლეკულების სედიმენტაციის (დალექვის) სიჩქარე ცენტროფუგირების დროს. $1\text{ S}=10^{-3}$ წამს (სვედბერგი [Swedberg] – შვედი მეცნიერი, ულტრაცენტროფუგის გამომგონებელი).

ხოლო ეუკარიოტულ რიბოსომებში – ოთხი სახის: **5S-, 5.8S-, 18S-** და **28S-რ-რნმ**. დადგენილია ერთჯაჭვიანი რ-რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობები. 25-ე სურათზე გამოსახულია 5S-რ-რნმ-ს მეორადი სტრუქტურის ერთ-ერთი მოდელი, რომელსაც გააჩნია დაწყვილებული აზოტოვანი ფუძეების მაქსიმალური რიცხვი.



სურ 25. 5S-რ-რნმ-ს მეორადი სტრუქტურის ერთ-ერთი მოდელის სქემატური გამოსახულება

ინფორმაციული ანუ მატრიცული რნმ (ი-რნმ ანუ მ-რნმ) შეადგენს ყველა უჯრედული რნმ-ს დაახლოებით 5%-ს. მას ასევე **შუამავალ (messenger) რნმ**-საც უწოდებენ. უჯრედში შედარებით დაბალი შედგენილობის მიუხედავად, მნიშვნელობის მიხედვით იგი პირველ ადგილზე დგას. მისი როლი **დნმ-ს მონაკვეთიდან (უბნიდან) მემკვიდრული ინფორმაციის გადაწერასა და ამ ინფორმაციის რიბოსომებზე გადატანაში მდგომარეობს**, სადაც შემდეგ ხდება შესაბამისი ცილის სინთეზი. მაშასადამე, მ-რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა დნმ-ს კოდირებადი ჯაჭვის გარკვეულ მონაკვეთში (უბანში) არსებული გენეტიკური ინფორმაციის კომპლემენტურია. არსებობს მ-რნმ-ს დიდი მრავალფეროვნება როგორც შედგენილობის, ისე მოლეკულის ზომის მიხედვით. პროკარიოტებში მ-რნმ-ს მოლეკულის საშუალო სიგრძე შეადგენს დაახლოებით 1200 ნუკლეოტიდს.

ჰეტეროგენული ბირთვული რნმ (ჰბ-რნმ)* წარმოადგენს მ-რნმ-ს ბირთვულ წინამორბედს ანუ წინ-მრნმ-ს (ანუ პრო**- მრნმ-ს) ეუკარიოტულ უჯრედებში. იგი შედგება რნმ-ს ძალიან გრძელი (გარირებს 5-დან 50 ათას ნუკლეოტიდამდე) მოლეკულების ნარევისაგან, რომლებიც რამოდენიმეჯერ აღემატება ციტოპლაზმატური მ-რნმ-ს სიგრძეს. ეს გამოწვეულია იმით, რომ ეუკარიოტულ უჯრედებში დნმ შეიცავს არაკოდირებად (არატრანსლირებად) მონაკვეთებს (უბნებს) – **ინტრონებს**. ამ უკანასკნელთა მოცილება (ამოჭრა) ხდება ბირთვის მ-რნმ-ს “მომწიფების” დროს.

მცირე ბირთვული რნმ (მბ-რნმ) წარმოადგენს მოკლე, დაბალ-მოლეკულურ სტრუქტურას და შედგება დაახლოებით 100 – 200 ნუკლეოტიდისაგან. მისი როლი მ-რნმ-ს “მომწიფების” პროცესში ინტრონების ამოჭრასა (მოცილებასა) და ეკზონების შეერთებაში მდგომარეობს.

2.24. ნუკლეინის მჟავების ზოგიერთი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები

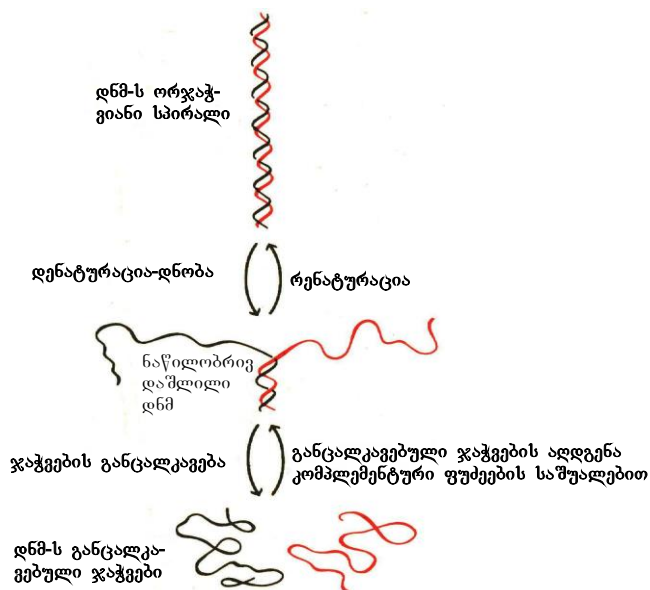
მაღალი ტემპერატურის (80-90°C) და pH-ს დაბალი (< 3) ან მაღალი (>10) მაჩვენებლის დროს ადგილი აქვს დნმ-ის ორმაგი სპირალის **დენატურაციას ანუ გაშლას (განცალკავებას)** აზოტოვან ფუძეებს შორის არსებული წყალბადური ბმისა და ერთმანეთზე დაწყობილი აზოტოვანი ფუძეების შემკავებელი ჰიდროფობური*** ურთიერთმოქმედების დარღვევის შედეგად. ორმაგი სპირალის ხვეულის გაშლისას (განცალკავებისას) ადგილი აქვს ქაოტური, მოუწესრიგებელი ერთჯაჭვიანი ძაფების წარმოქმნას. დენატურაციის დროს (მას ასევე უწოდებენ **დნობას**) შაქარ-ფოსფატურ ჩონჩხზე კოვალენტური ბმები არ წყდება (სურ. 26).

დნმ-ს დენატურაცია წარმოადგენს შექცევად პროცესს: დნმ-ს დენატურირებული ხსნარის ნელი გაცივებისას (65°C-მდე, pH 7.0) გაშლილი (განცალკავებული) ძაფები კვლავ აღდგებიან (შეერთდებიან) საწყის ორმაგ სპირალად. ამ პროცესს ჰქვია **რენატურაცია** (სურ. 26). რენატურაცია შეიძლება მოხდეს აგრეთვე სხვადასხვა წარმოშობის დნმ-ს ძაფებს შორისაც (სურ. 27) და დნმ-სა და რნმ-ს შორისაც, თუკი მათი ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობები, წყაროების გენეტიკური

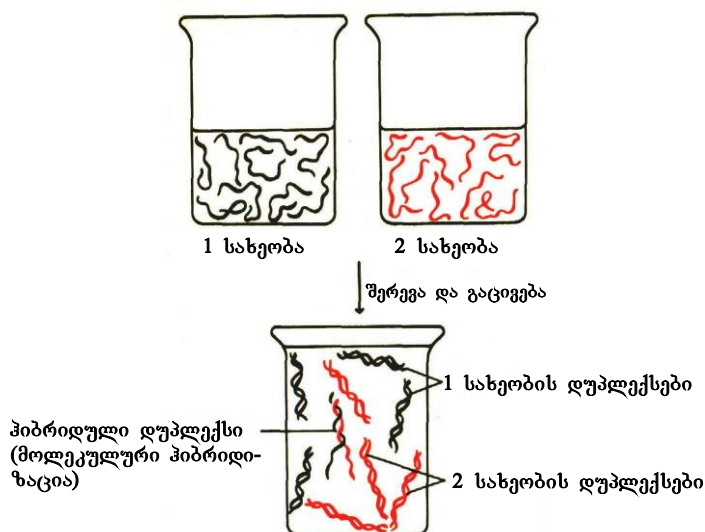
* სახელწოდება “**ჰეტეროგენული**,” რნმ-ს აღნიშნულმა ტიპმა მიიღო იმიტომ, რომ მისი წარმომადგენლები ძლიერ განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან სიგრძის (5-დან 50 ათასამდე ნუკლეოტიდი) მიხედვით, ე.ი. წარმოადგენენ ჰეტეროგენურს.

** პრო [ლათ.] – მღე. წინ.

*** **ჰიდროფობური** – სიტყვასიტყვით: წყლის მოძულე; ეს ტერმინი გამოიყენება იმ მოლეკულების ან მოლეკულებში გარკვეული ფუნქციონალური ჯგუფების აღწერისათვის, რომლებიც უკეთეს შემთხვევაში მხოლოდ უმნიშვნელო ხარისხით იხსნებიან წყალში.



სურ. 26. დნმ-ს დენატურაციისა და რენატურაციის ეტაპები

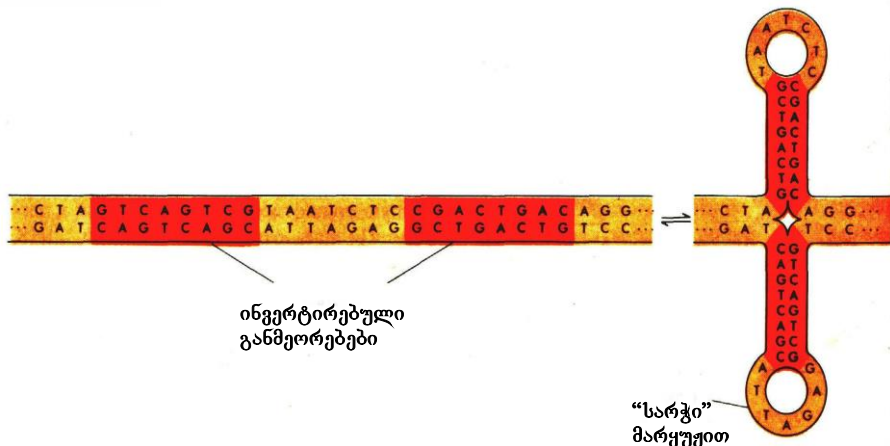


სურ. 27. რენატურაცია სხვადასხვა წარმოშობის დნმ-ს ძაფებს შორის

სიახლოვის გამო, წარმოადგენენ კომპლემენტურს. ნუკლეინის მუაგების ისეთი მოლეკულების მიღებას, სადაც ერთ ძაფს აქვს ერთი წარმოშობა, ხოლო მეორეს – სხვა, ჰქვია **მოლეკულური ჰიბრიდიზაცია** და აღინიშნება: **დნმ-დნმ ჰიბრიდი** ან **დნმ-რნმ ჰიბრიდი**. ნუკლეინის მუაგების ამ თვისებას ძალიან დიდი მნიშვნელობა აქვს გენეტიკურ ინჟინერიაში გენების გამოყოფისა და გაწმენდისათვის, გარკვეული დნმ-ს რომელიმე რნმ-თან კავშირის დამყარებისათვის, ორგანიზმებს შორის გენეტიკური სიახლოვის დადგენისათვის და ა.შ.

ყოველი სახეობის დნმ-ს აქვს თავისი დენატურაციის ტემპერატურა, რომელსაც **“დნობის ტემპერატურა” (T დნ)** ჰქვია. ეს ის ტემპერატურაა, რომლის დროსაც იშლება სპირალური სტრუქტურის ნახევარი. რაც მეტია დნმ-ში GC-წყვილის შემცველობა, მით მაღალია მისი დნობის ტემპერატურა. ეს აიხსნება იმით, რომ სამი წყალბადური ბმით დაკავშირებული GC-წყვილი უფრო სტაბილურია და მათი დისოციაციისათვის (დაშლისათვის) აუცილებელია მეტი ენერგია, ვიდრე AT-წყვილის დისოციაციაზე (დაშლაზე), სადაც წყალბადური ბმა მხოლოდ ორია.

დნმ-ს შეუძლია წარმოქმნას **ინვერტირებული ანუ შებრუნებული განმეორებები**, ე.ი. ერთი მოლეკულის შედგენილობაში ნუკლეოტიდების ერთი და იგივე თანმიმდევრობის ორი ასლი, მაგრამ განლაგებული ურთიერთსაპირისპირო ორიენტაციით (სურ. 28).



სურ. 28. ინვერტირებული (შებრუნებული) განმეორებები და “სარტყი” მარყუით

ერთმანეთის მიმდებარე ინვერტირებულ (შებრუნებულ) განმეორებებს აგრეთვე ჰქვია **პალინდრომი** (ბერძნულიდან “გაქცევა უკან”),

ე.ი. თანმიმდევრობა, რომელიც ერთნაირად იკითხება მათი ორიენტაციის შესაბამისად როგორც მარცხნიდან მარჯვნივ, ისე მარჯვნიდან მარცხნივ. რენატურაციის დროს მათ შეუძლიათ წარმოქმნან ე.წ. “სარტყები” მარყუჟით ანუ “ჯვრის” სტრუქტურები (სურ. 28).

დნმ-ს ზომები ვარირებს დიდ ფარგლებში. მაგალითად, ბაქტერია *E. coli*-ს დნმ შეიცავს 4000 kb ნუკლეოტიდის წყვილს და აქვს კონკრეტული სიგრძე – 1360 მკმ, ხოლო ხილის ბუხ დროზოფილას დნმ შეიცავს 165000 kb ნუკლეოტიდის წყვილს და სიგრძით შეადგენს 56000 მკმ (ცხრილი 3), ე.ი. 40-ზე მეტჯერ აღემატება, ხოლო

დნმ-ს ზოგიერთი მოლეკულის ზომები

ცხრილი 3

ორგანიზმი	ფუძეების წყვილის რიცხვი, Kb	კონტურული სიგრძე, მკმ
ვირუსები:		
SV-40	5.1	1.7
ფაგი λ	48.6	17
ფაგი T2	166.0	56
ძროხის ყვავილის ვირუსი	190.0	65
ბაქტერიები:		
მიკოპლაზმა	760.0	260
<i>E. coli</i>	4000.0	1360
ეუკარიოტები:		
საფუარები	135000.0	4600
დროზოფილა	165000.0	56000
ადამიანი	2900000.0	990000

ადამიანისა და მრავალი სხვა ძუძუმწოვრის უჯრედები შეიცავს დაახლოებით 700-ჯერ მეტ დნმ-ს, ვიდრე *E. coli*.*

ადამიანის უჯრედში ყველა დნმ-ს საერთო ფიზიკური სიგრძე შეადგენს დაახლოებით 1 მეტრს (შედარებისათვის *E. coli*-ს დნმ-ს საერთო სიგრძე ტოლია 1.36 მმ). რადგანაც ზრდასრული ადამიანის ორგანიზმში არის დაახლოებით 10^{13} უჯრედი, მისი ყველა დნმ-ს საერთო სიგრძე შეადგენს დაახლოებით 1.10^{13} მეტრს ანუ 1.10^{10} კილომეტრს.**

* ნუკლეინის მუაეების მოლეკულების სიგრძის გაზომვისათვის იყენებენ ერთეულს, რომელიც ტოლია ათასი ნუკლეოტიდის წყვილის (ათ. ნ. წ. ანუ Kb – ინგლისური სიტყვიდან Kilobase) დნმ-ს შემთხვევაში, ან ათასი ნუკლეოტიდის (ათ. ნ. ანუ Kb) რნმ-ს შემთხვევაში. დნმ-ს 1 Kb-ს აქვს კონკრეტული სიგრძე – 0,34 მკმ (1მკმ [მიკრომეტრი] = 10^{-6} მეტრი = 10^{-4} სმ = 10^3 ნმ [ნანომეტრი] = 10^4 Å).

** შედარებისათვის: დედამიწის გარშემოწერილობა შეადგენს 4.10^4 კილომეტრს, ხოლო მანძილი დედამიწიდან მზემდე – $1,44 \times 10^8$ კილომეტრს

2.3. გენეტიკური კოდი და მისი ძირითადი თვისებები

2.3.1. გენეტიკური კოდის გაშიფვრა

ნუკლეინის მჟავების გენეტიკური როლის დადგენის შემდეგ მოლეკულურ ბიოლოგიაში გაჩნდა აქტუალური კითხვა იმის შესახებ, თუ რა გზით ხდება მემკვიდრული (გენეტიკური) ინფორმაციის გადაცემა დნმ-ში ნუკლეოტიდების 4 ნიშნიანი ენიდან ამინომჟავების 20 ნიშნიან ენაზე ცილების სტრუქტურაში.

პირველი ჰიპოთეზები გენეტიკური კოდის შესახებ გამოითქვა XX საუკუნის 50-იან წლებში, ხოლო ექსპერიმენტულად გაირკვა და გადაწყდა იმავე საუკუნის 60-იანი წლების დასაწყისში გონებაშახვილური ცდების საშუალებით.

გენეტიკური კოდი ანუ მემკვიდრეობის კოდი ეწოდება დნმ-ში ნუკლეოტიდების განლაგების თანმიმდევრობას, რომელიც განსაზღვრავს სინთეზირებად ცილაში ამინომჟავების მდებარეობას.

გენეტიკური კოდის გაშიფვრას დასჭირდა სხვადასხვა დარგის მეცნიერების: გენეტიკოსების, ფიზიკოსების, ქიმიკოსების, მათემატიკოსების დიდი ძალისხმევა. ამ საქმეში განსაკუთრებით დიდი როლი ითამაშა ფ. კრიკის (F. Crick), გ. გამოვის (G. Gamow), ს. ბრენერის (S. Brenner), მ. ნირენბერგის (M. Nirenberg), ჰ. მატეის (H. Matthei), ს. ოჩოას (C. Ochoa), გ. კორანას (G. Khorana), პ. ლედერის (P. Leder) და სხვათა გამოკვლევებმა.

გენეტიკური კოდის გაშიფვრისას, პირველ რიგში აუცილებელი იყო იმის დადგენა, თუ ნუკლეოტიდების რა მინიმალურ რიცხვს შეუძლია ერთი ამინომჟავას კოდირება. ელემენტარული გაანგარიშებიდან ნათელია, რომ ერთ ნუკლეოტიდს არ შეუძლია ერთი ამინომჟავას კოდირება, რადგანაც ნუკლეოტიდები ოთხია, ხოლო ამინომჟავები – ოცი. ასევე ნათელია, რომ ორი ნუკლეოტიდის კომბინაციაც არაა საკმარისი 20 ამინომჟავას კოდირებისათვის. მას შეუძლია მხოლოდ 16 ამინომჟავას ($4^2=16$ კომბინაცია) კოდირება. სამი ნუკლეოტიდის შეთანწყობა კი იძლევა 64 კომბინაციას ($4^3=64$ კომბინაცია), რაც გაცილებით მეტია 20 ამინომჟავას რაოდენობაზე. მაშასადამე, სამი ნუკლეოტიდის შეთანწყობას შეუძლია ნებისმიერი ცილის წარმოქმნისათვის საჭირო ამინომჟავების კოდირება. სამი ნუკლეოტიდის ასეთ შეთანწყობას **ტრიპლეტური კოდი** ჰქვია. მასში ყოველი ამინომჟავა კოდირებულია ნუკლეოტიდების სამეულით (მაგ. GCA, ACC, AAC და ა.შ.).

გენეტიკური კოდის ტრიპლეტობის შესახებ ჰიპოთეზა პირველად გამოთქმული იქნა **გიორგი გამოვის (Georgi Gamow)** მიერ 1954 წელს, ხოლო ექსპერიმენტულად დამტკიცებული **ფ. კრიკის (F. Crick)**,

სიდნეი ბრენერისა (Sidney Brenner) და სხვა მეცნიერების შრომებით 1961 წელს.

დნმ-ს ჯაჭვის სამ ნუკლეოტიდიან მონაკვეთს, რომელიც განაპირობებს ცილის მოლეკულაში მკაცრად განსაზღვრული ამინომჟავების ჩართვას, ეწოდება კოდონი.

გენეტიკური კოდის პრინციპის გარკვევის შემდეგ ექსპერიმენტულად დადგენილ იქნა თუ რომელი კონკრეტული ტრიპლეტი აკოდირებს 20 ამინომჟავიდან თითოეულს. ამ ამოცანის გადაწყვეტას საფუძველი ჩაეყარა 1961 წელს, როცა ამერიკელმა ბიოქიმიკოსებმა მარშალ ნირენბერგმა (Marshall Nirenberg) და ჰენრიხ მატეიმ (Henrich Matthaei) მოსკოვში, ბიოქიმიკოსთა V საერთაშორისო კონგრესზე განაცხადეს ამინომჟავა ფენილალანინის სინთეზის მკოდირებელი ტრიპლეტის აღმოჩენის შესახებ. ისინი ბაქტერია E.coli-ს უუჯრედო სისტემაში* 20 სხვადასხვა სინჯარაში, რომლებშიც მოთავსებული იყო დნმ, რნმ, რიბოსომები, ფერმენტები, ATP, GTP, სხვა უჯრედული კომპონენტები და ოცი ამინომჟავას ნარევი, ახდენდნენ ცილის სინთეზისათვის საჭირო მატრიცული მ-რნმ-ს სახით პოლინუკლეოტიდ პოლიურაცილის poly (U) (UUUUU...) ინკუბირებას (37° ტემპერატურა; 1 სთ). ყოველ სინჯარაში რადიოაქტიურად ნიშანდებული იყო 20 ამინომჟავიდან მხოლოდ ერთი. ცდის შედეგებმა აჩვენა, რომ ცილის სინთეზირება ხდებოდა ოციდან მხოლოდ ერთ სინჯარაში – იმაში, სადაც იმყოფებოდა რადიოაქტიურად ნიშანდებული ფენილალანინი, ხოლო სინთეზირებული ცილა იყო პოლიფენილალანინი, ე.ი. შეიცავდა მხოლოდ ამინომჟავა ფენილალანინს. რადგანაც poly (U) შედგება მხოლოდ ერთმანეთის მიმდევრობით განლაგებული UUU ტრიპლეტისაგან მ. ნირენბერგმა და ჰ. მატეიმ გააკეთეს დასკვნა, რომ UUU ტრიპლეტი აკოდირებს ამინომჟავა ფენილალანინს. ანალოგიური მიდგომის გზით მალე დადგენილ იქნა, რომ poly (A) (AAAAA...) აკოდირებს მხოლოდ პოლილიზინისაგან შემდგარ ცილას, ე.ი. ტრიპლეტი AAA – წარმოადგენს ამინომჟავა ლიზინის კოდს, ხოლო poly (C) (CCCC...) აკოდირებს ცილა პოლიპროლინს, ე.ი. CCC ტრიპლეტი წარმოადგენს ამინომჟავა პროლინის კოდს.

შემდგომ ნაბიჯს გენეტიკური კოდის გაშიფვრაში წარმოადგენდა შემთხვევითი წესით განლაგებული ორი (მაგ: UA, UC, AC...) ან სამი (მაგ: UGC, AGC, UAC...) სხვადასხვა ნუკლეოტიდის მქონე პოლირიბონუკლეოტიდების გამოყენება. ამ ექსპერიმენტის შედეგად მ. ნირენბერგმა და სევერო ოჩოამ (Severo Ochoa) შეძლეს დანარჩენი

* E. coli-ს უუჯრედო სისტემა მიღებულ იქნა შემდეგნაირად: ბაქტერიულ უჯრედებს ფრთხილად შლიდნენ ალუმინის ჟანგის ფხვნილის საშუალებით. შემდეგ უჯრედული გარსისა და მემბრანების დაქუცმაცებულ ნაწილებს აცილებდნენ ცენტროფუგირებით. მიღებულ E. coli-ს ექსტრაქტს უმატებდნენ ATP, GTP და ამინომჟავებს.

კოდონების შემადგენლობის დადგენა ყველა 20 ამინომჟავისათვის. მაგრამ მათ ვერ შეძლეს ამ კოდონებში ნუკლეოტიდების განლაგების თანმიმდევრობის გარკვევა. მაგალითად, დადგენილი იყო, რომ კოდონი, რომელიც შეიცავდა 2U და 1G აკოდირებდა ამინომჟავა ცისტეინს. თუმცა ამ ნუკლეოტიდების განლაგების თანმიმდევრობა უცნობი იყო.

გენეტიკური კოდის გაშიფვრის დამამატავრებელი ეტაპი აღმოჩნდა მ. ნირენბერგისა და გობინდ კორანას (Gobind Khorana) შრომები. 1964 წელს მ. ნირენბერგმა დაადგინა, რომ ნუკლეოტიდების სამეული (ტრიპლეტი) იწვევს ტ-რნმ-ს გარკვეული მოლეკულის რიბოსომასთან დაკავშირებას. მაგალითად, ტრიპლეტი UGU-ს არსებობისას რიბოსომას უკავშირდება მხოლოდ ცისტეინის ტ-რნმ. მაშასადამე, UGU აკოდირებს ამინომჟავა ცისტეინს. გ. კორანამ დაამუშავა არა შემთხვევითი, არამედ წინასწარ განსაზღვრული, პერიოდულად განმეორებადი თანმიმდევრობების (მაგ., CUCUCU..., AAGAAG..., GUUGUU...) მქონე პოლირიბონუკლეოტიდების მიღების მეთოდი და განსაზღვრა მრავალი კოდონის სტრუქტურა.

გენეტიკური კოდის გაშიფვრა მთლიანად დამთავრებულ იქნა 1966 წლისათვის (ცხრილი 4). გენეტიკური კოდი წარმოადგენს XX საუკუნის მეცნიერების უდიდეს მიღწევას.

2.3.2. გენეტიკური კოდის ძირითადი თვისებები

გენეტიკური კოდი ტრიპლეტურია, ე.ი. ცილის მოლეკულაში ყოველი ამინომჟავა განისაზღვრება (კოდირდება) სამ ნუკლეოტიდიანი თანმიმდევრობით დნმ-ს ჯაჭვში, რომელსაც კოდონი ჰქვია.

გენეტიკური კოდი წარმოადგენს გადაგვარებულს,* ე.ი. ამინომჟავების უმეტესობა კოდირდება ერთზე მეტი კოდონით (ტრიპლეტით) (სურ. 29). მარტო მეთიონინი და ტრიპტოფანი კოდირდება მხოლოდ თითო ტრიპლეტით. დანარჩენი 18 ამინომჟავა კოდირდება ორი და მეტი ტრიპლეტით. ასე, მაგალითად არგინინი, ლეიცინი და სერინი, თითოეული კოდირდება ექვსი კოდონით. კოდონებს, რომლებიც განსაზღვრავენ ერთი და იგივე ამინომჟავას, ჰქვია კოდონი-სინონიმები. მაგალითად, კოდონები CAU და CAC – სინონიმებია ამინომჟავა ჰისტიდინისათვის. კოდის გადაგვარება სრულებით არ ნიშნავს მის არასრულყოფილებას, რადგანაც არ არის არც ერთი კოდონი, რომელიც აკოდირებდეს რამოდენიმე ამინომჟავას. კოდის გადაგვარება, როგორც წესი, ვლინდება იმაში, რომ უმეტეს კოდონებს, რომლებიც განსაზღვრავენ ერთი და იგივე ამინომჟავას პირველი ორი ნუკლეო-

* სიტყვა “გადაგვარებული” – მათემატიკური ტერმინია. ამ შემთხვევაში მიუთითებს იმაზე, რომ ამინომჟავას შეიძლება შეესაბამებოდეს ერთზე მეტი კოდონი.

ცხრილი 4

კოდონის მეორე ნუკლეოტიდი

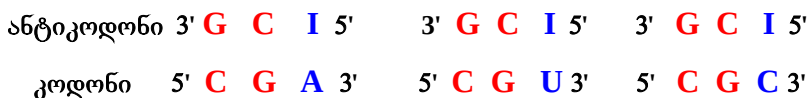
	U	C	A	G	
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C
	UUA Leu	UCA Ser	UAA სტოპი	UGA სტოპი	A
	UUG Leu	UCG Ser	UAG სტოპი	UGG Trp	G
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C
	CAU Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A
	CAG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C
	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A
	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C
	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A
	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G

Phе – ფენილალანინი; **Leu** – ლეიცინი; **Ile** – იზოლეიცინი; **Met** – მეთიონინი; **Val** – ვალინი; **Ser** – სერინი; **Pro** – პროლინა; **Thr** – ტრეონინი; **Ala** – ალანინი; **Tyr** – თიროზინი; **His** – ჰისტიდინი; **Gln** – გლუტამინი; **Asn** – ასპარაგინი; **Lys** – ლიზინი; **Asp** – ასპარაგინის მჟეა; **Glu** – გლუტამინის მჟეა; **Cys** – ცისტეინი; **Trp** – ტრიპტოფანი; **Arg** – არგინინი; **Gly** – გლიცინი.

GCA	AGA									UUA
GCC	AGG									UUG
GCG	CGA					GGA				CUA
GCU	CGC					GGC			AUA	CUC
	CGG	GAC	AAC	UGC	GAA	GGG	CAA	CAC	AUC	CUG
	CGU	GAU	AAU	UGU	GAG	GGU	CAG	CAU	AAU	CUU
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gly	Gln	His	Ile	Leu
				AGC						
				AGU						
			CCA	UCA	ACA			GUA		
			CCC	UCC	ACC			GUC		UAA
AAA		UUC	CCG	UCG	ACG		UAG	GUG		UAG
AAG	AUG	UUU	CCU	UCU	ACU	UGG	UAU	GUU		UGA
Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val		မဲ့ဝဲဝဲ

სურ. 29. გადამგარებული გენეტიკური კოდი

ტიდი ფიქსირებული აქვთ, ხოლო მესამე მდგომარეობა შეუძლია დაიკავოს სხვადასხვა ნუკლეოტიდმა ე.ი. კოდონი-სინონიმების უმეტესობა ერთმანეთისაგან განსხვავდება მხოლოდ ბოლო ნუკლეოტიდით, მაგალითად, GGA, GGC, GGG, GGU (აკოდირებენ ამინომჟავა გლიცინს). განსხვავება ნუკლეოტიდების ყველა სამ მდგომარეობაში აღინიშნება მხოლოდ რამოდენიმე შემთხვევაში. მაგალითად, UCG და AGU – ორივე აკოდირებს ამინომჟავა სერინს. კოდონში ნუკლეოტიდის მესამე მდგომარეობის მიხედვით კოდის გადაგვარების ასხნისათვის ფ. კრიკმა წამოაყენა ე.წ. “ქანაობის” ჰიპოთეზა (Wobble hypothesis), რომელიც მდგომარეობს იმაში, რომ კოდონის მესამე ნუკლეოტიდის შესაბამისობა ტ-რნმ-ს ანტიკოდონის პირველ ნუკლეოტიდთან არ არის მკაცრად დაცული ე.ი. “ქანაობს.” ხშირად ტ-რნმ-ს ანტიკოდონში პირველი მდგომარეობა დაკავებულია უზვეულო ნუკლეოტიდით ინოზიტით (I), რომელსაც შეუძლია წყალბადური ბმის წარმოქმნა კოდონში მესამე მდგომარეობაში მყოფ A, U ან C-თან (სურ. 30). ამ დროს წარმოქ-



სურ. 30. “ქანაობის” მექანიზმი

მნილი წყვილების სრული შემაღგენლობა მოტანილია მე-5 ცხრილში. “ქანაობის” მექანიზმიდან გამომდინარე უჯრედს გაცილებით ნაკ-

“ქანაობის” დროს წარმოქმნილი წყვილების სრული შემაღგენლობა

ცხრილი 5	
ანტიკოდონის პირველი ფუძე	კოდონის მესამე ფუძე
I	A, U ან C
U	A ან G
G	G ან U

ლები რაოდენობის ტ-რნმ (მინიმუმ აუცილებელია 32) სჭირდება, ვიდრე კოდირებადი კოდონების რაოდენობა (64). ეს იმიტომ, რომ ყოველ ტ-რნმ-ს შეუძლია გამოიცნოს სამამდე კოდონი.

უნდა აღინიშნოს, რომ 64 ტრიპლეტიდან სამი – **UAA, UAG** და **UGA** (ცხრილი 4) საერთოდ არ აკოდირებს არც ერთ ამინომჟავას. მათ უწოდებენ **სტოპ-კოდონებს ანუ ნონსენს (უაზრო)-კოდონებს**. ისინი ცილის სინთეზის დამთავრების (ტერმინაციის) სიგნალს იძლევიან. კოდონი **AUG** წარმოადგენს ცილის სინთეზის **დამწყებ (ინიცირებად)**

კოდონს; გარდა ამისა პოლიპეპტიდური ჯაჭვის შიგნით ის აკოდირებს ამინომჟავა **მეთიონინს**.

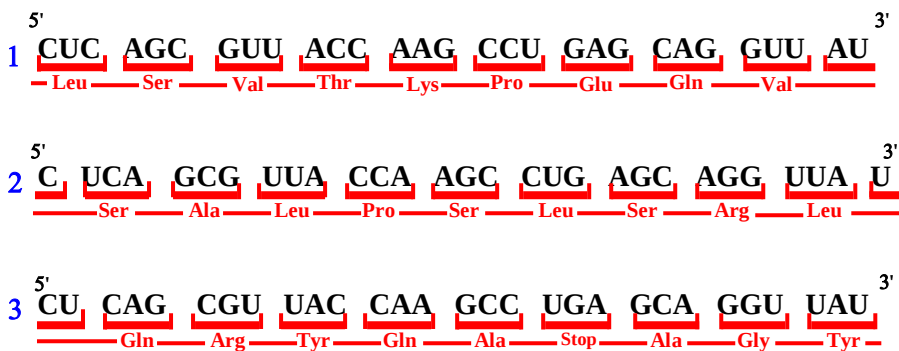
გენეტიკური კოდის გადაგვარებას აქვს დიდი ბიოლოგიური მნიშვნელობა. ჯერ-ერთი, გადაგვარებას მინიმუმამდე დაჰყავს მუტაციის დამღუპველი მოქმედება, რადგანაც თუ კოდი არ იქნებოდა გადაგვარებული, მაშინ 20 კოდონი მოახდენდა 20 ამინომჟავას კოდირებას, ხოლო დანარჩენი 44 გამოიწვევდა პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ტერმინაციას, ე.ი. კოდონის ტერმინაციის სიგნალად გადაქცევის ალბათობა იქნებოდა გაცილებით მეტი; მეორე, კოდის გადაგვარება დნმ-ს ნუკლეოტიდურ შედგენილობას საშუალებას აძლევს შეიცვალოს ფართო ფარგლებში ისე, რომ გავლენა არ მოახდინოს ამ დნმ-ს მიერ კოდირებადი ცილების ამინომჟავეურ თანმიმდევრობაზე.

გენეტიკური კოდი **უნივერსალურია**. ეს ნიშნავს იმას, რომ ყველა ცოცხალი ორგანიზმი – ეუკარიოტები, პროკარიოტები და ვირუსები იყენებს ერთი და იგივე გენეტიკურ კოდს. მაგრამ, არც ისე დიდი ხნის წინათ 1981 წელს აღმოჩენილ იქნა, რომ მიტოქონდრიების დნმ-ში გამოყენებულია შეცვლილი გენეტიკური კოდი. კერძოდ, ტრიპლეტი **UGA** არ წარმოადგენს ტერმინალურ კოდონს – იგი აკოდირებს ამინომჟავა ტრიპტოფანს, ხოლო ტრიპლეტები **AGA** და **AGG** არ აკოდირებენ არგინინს და წარმოადგენენ ტერმინალურ კოდონებს.

გენეტიკური კოდი **გადაუფარავია**, ე.ი. მეზობელ ტრიპლეტებს არა აქვთ საერთო ნუკლეოტიდები ანუ ერთი და იგივე ნუკლეოტიდი არ შეიძლება მონაწილეობდეს ორი ტრიპლეტის შედგენილობაში. მაგალითად, ნუკლეოტიდების თანმიმდევრობაში **AGGATGCAT**, პირველი სამი ნუკლეოტიდი – **AGG** აკოდირებს ერთ ამინომჟავას, მეორე სამი **ATG** – მეორე ამინომჟავას და ა.შ. თუ კოდი გადაიფარება, მაშინ თანმიმდევრობა **AGG** კოდირებას გაუკეთებს ერთ ამინომჟავას, **GAT** – მეორე ამინომჟავას და ა.შ. გარდა ამისა, კოდს არა აქვს რაიმე გამყოფი ნიშნები – ის “მიიმეების” გარეშეა. ტრიპლეტები ერთმანეთისაგან არაფრით არ განსხვავდებიან. კოდის წაკითხვა ხდება სწორსაზოგადოდ – იწყება დნმ-ს ჯაჭვში რომელიმე განსაზღვრული ფიქსირებული წერტილიდან და მიდის მხოლოდ ერთი მიმართულებით **5'→3'** და ხასიათდება **კოლინეარობით**, ე.ი. მრნმ-ში კოდონების განლაგების თანმიმდევრობის დამთხვევით სინთეზირებად ცილაში ამინომჟავეების განლაგების თანმიმდევრობასთან.

მრნმ-ს კოდონის პირველი ნუკლეოტიდის მდებარეობა განსაზღვრავს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის წაკითხვის ჩარჩოს. რადგანაც კოდი ტრიპლეტურია, წაკითხვის ჩარჩოს რაოდენობა ტოლია სამის. ფუნქციონალური ცილა ჩვეულებრივ სინთეზირდება მხოლოდ ერთი წაკითხვის ჩარჩოს არსებობის დროს. ნუკლეოტიდების თანმიმდევრობაში ერთი ან რამდენიმე ნუკლეოტიდის ჩართვით ან მოცილებით (დელეციით) გამოწვეული მუტაციები იწვევენ წაკითხვის

ჩარჩოს გადაწევის, ეს კი იწვევს ცილის ამინომჟავური თანმიმდევრობის შეცვლას (სურ. 31).



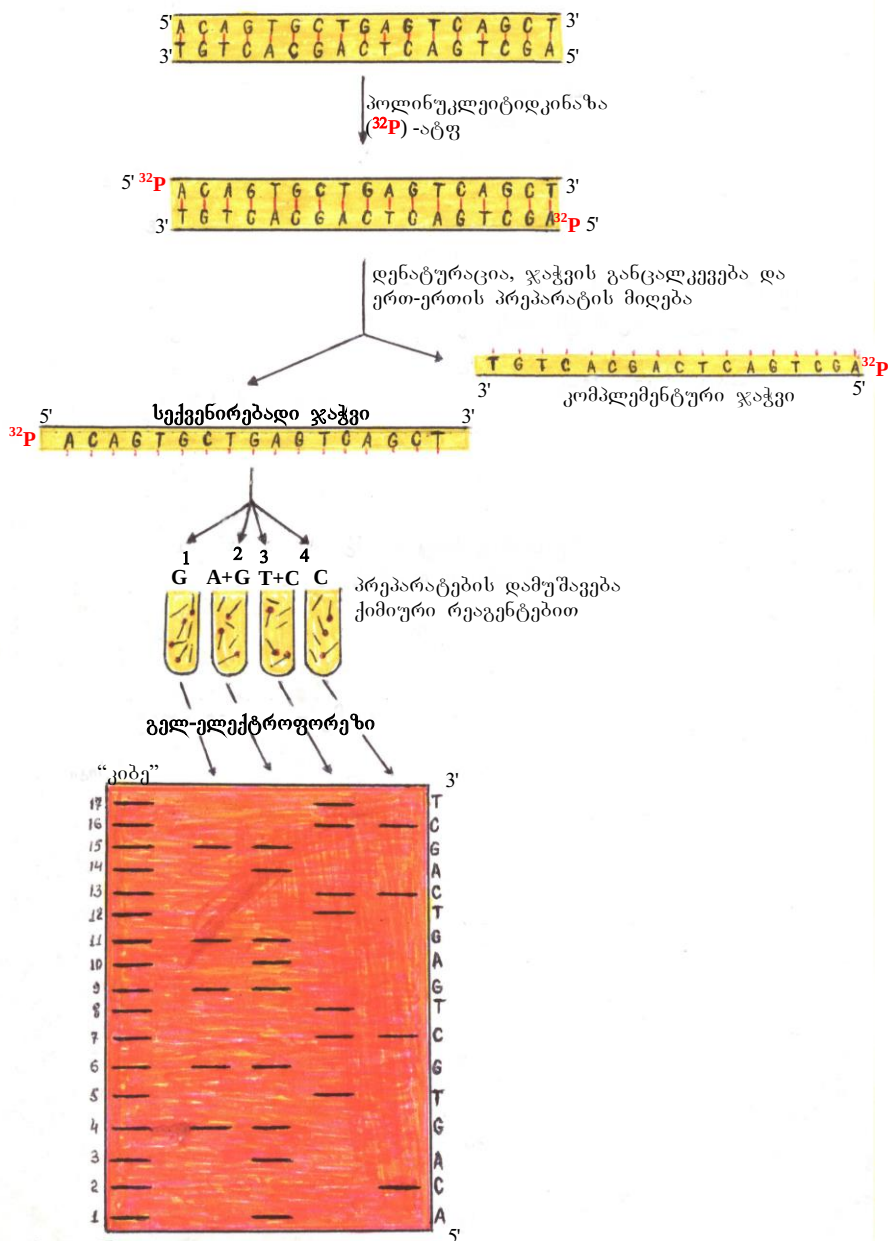
სურ. 31. ცილის სინთეზის დროს შესაძლო წაკითხვის სამი ჩარჩო

2.4. ნუკლეინის მჟავების ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის სემპლირება (ბანსაზღვრა)

ამჟამად **დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის განსაზღვრას (სექვენირებას)** არ სჭირდება დიდი დრო. მეცნიერების ამ უდიდესმა მიღწევამ მოლექუდურ ბიოლოგებს საშუალება მისცა გადაეწყვიტათ გენების სტრუქტურის დადგენის უმნიშვნელოვანესი ამოცანა. ფართოდ იყენებენ სექვენირების ორ მეთოდს: 1) **ქიმიური გახლეჩის მეთოდს**, რომელიც დამუშავებულია 1977 წელს ჰარვარდის უნივერსიტეტში (აშშ) **ალან მაქსამისა (Allan Maxam)** და **უოლტერ ჯილბერტის (Walter Gilbert)** მიერ და 2) **ფერმენტული რეპლიკაციის მეთოდს**, რომელიც დამუშავებულია 1977 წელს **ფრედ სენგერის (Fred Senger)** მიერ. ეს მეთოდები შეიძლება გამოყენებულ იქნას მხოლოდ რამდენიმე ასეული (500-მდე) ნუკლეოტიდის სიგრძის მქონე დნმ-ს ფრაგმენტების სექვენირებისათვის. ამიტომ სექვენირების პირველი ეტაპი მდგომარეობს დნმ-ს გრძელი ჯაჭვის (მაგალითად მთელი ქრომოსომის) ფრაგმენტებად გახლეჩაში, რომლებთანაც შემდეგ შეიძლება მუშაობა. ამ მიზნით იყენებენ ე.წ. რესტრიქციულ ფერმენტებს.

2.4.1. ა. მაქსამ – უ. ჯილბერტის ქიმიური ბახლეჩის მეთოდი

ა. მაქსამისა და უ. ჯილბერტის მეთოდით **დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის სექვენირების** დროს (სურ. 32) ჯერ ფერმენტ **პოლინუკლეოტიდინაზას** (გამოჰყოფენ ბაქტერიოფაგ T4-ით დასენიანებული E.coli-ს უჯრედებიდან) საშუალებით რადიოაქტიური ^{32}P -ით ნიშნავენ დნმ-ს ფრაგმენტის 5'-ბოლოს. აღნიშნული ფერმენტი ატფ-ს მოლექულას აცილებს ფოსფატურ ჯგუფს და იგი გადააქვს პოლინუკლეოტიდის 5'-ბოლოზე. შემდეგ ახდენენ ორსპირალიანი დნმ-ს დენატურაციას და მის ცალკეულ ჯაჭვებს ერთმანეთისგან აცილებენ გელში ელექტროფორეზით. ამის შემდეგ ნიშანდებული გასაანალიზებელი (სექვენირებადი) ერთჯაჭვიანი დნმ-ს პრეპარატს ყოფენ ოთხ ნაწილად (პორციად) და თითოეულ მათგანს ამუშავებენ ქიმიური რეაგენტებით, რომლებიც სპეციფიკურად (შერჩევით) შლიან ოთხიდან ერთ (G ან C) ან ორ (A+G ან T+C) ნუკლეოტიდს, რის შედეგადაც ადგილი აქვს ჯაჭვის გახლეჩას შესაბამის წერტილებში (ა. მაქსამმა და უ. ჯილბერტმა ვერ შეძლეს მოექმნათ პირობები, რომლებიც დნმ-ს სპეციფიკურად დაშლიდნენ A-ს ან T-ს მიხედვით, მაგრამ ეს არ წარმოადგენს დაბრკოლებას). რეაქციის პირობას არჩევენ ისეთნაირად, რომ დნმ-ს ყოველ ჯაჭვზე მოდიოდეს საშუალოდ ერთი წყვეტა. შედეგად მიიღება ნიშანდებული ფრაგმენტების გარკვეული

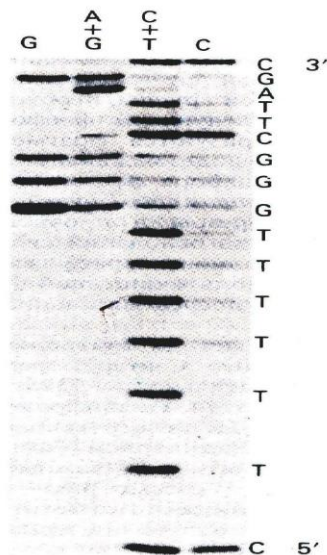


სურ. 32. დნმ-ს სეკვენირების მეთოდი ა. მაქსამ – უ. ჯილბერტის მიხედვით

რაოდენობა, რომელთა სიგრძე შეესაბამება მანძილს დაშლილი ნუკლეოტიდიდან მოლეკულის ბოლომდე. მაგალითად, თუ G მდებარეობს ნიშანდებული ნუკლეოტიდიდან 4, 6, 9 და 11 ნუკლეოტიდის მანძილზე, მაშინ დნმ-ს მოცემული ჯაჭვის დამუშავება G-ის დამშლელი ქიმიური რეაგენტებით იწვევს 4, 6, 9 და 11 ნუკლეოტიდის სიგრძის მქონე ნიშანდებული ფრაგმენტების წარმოქმნას (ამასთან, ბუნებრივად წარმოიქმნება კიდევ სხვა სიგრძის ფრაგმენტებიც, რომლებიც განლაგებულია G-ის ნაშთებს შორის, მაგრამ ისინი ნიშანდებული არ იქნება). სექვენირების შემდეგ ეტაპზე გასაანალიზებელი (სექვენირებადი) ერთჯაჭვიანი დნმ-ს ოთხივე ნაწილში (პორციაში) წარმოქმნილი ნიშანდებული ფრაგმენტები განიცდის გელ-ელექტროფორეზს პოლიაკრილამიდური გელის მეზობელ ღარებში. ამისათვის სპეციალურად მომზადებულ გელის ზედა ნაწილის ბუდეში ცალ-ცალკე გადააქვთ დნმ-ს ფრაგმენტების ნარევი. ელექტროფორეზს ატარებენ მაღალი ძაბვის – 1500 . . 2000 ვოლტის პირობებში. ამ დროს ადგილი აქვს დნმ-ს ფრაგმენტების დაყოფას მათი ზომის შესაბამისად. უნდა აღინიშნოს, რომ ყველაზე მოკლე ფრაგმენტს ახასიათებს ყველაზე მაღალი ელექტროფორეზული მოძრაობის უნარი და ამიტომ ის გელის ყველაზე ქვედა ნაწილში აღმოჩნდება. ამ დროს გამოყენებული ელექტროფორეზი იმდენად სრულყოფილია, რომ იგი ფრაგმენტების ერთ ნუკლეოტიდამდე სიზუსტით დაყოფის საშუალებას იძლევა. ბოლო ეტაპზე ატარებენ გელის რადიოავტოგრაფიას, ე.ი. სიბნელეში გელზე ზემოდან ადებენ რენტგენულ ფოტოფირს, რომელიც შუქდება მხოლოდ იმ ადგილებში, სადაც არის რადიოაქტიური ნიშანი ³²P. რენტგენულ ფირფიტაზე რეგისტრირებულ ზოლებს “კითხულობენ”. აქ (სურ. 33) ჩანს დნმ-ს მხოლოდ ის ფრაგმენტები, რომლებიც ნიშანდებულია; ხოლო მანძილი, რომელიც მათ გაიარეს გელის ზედა ნაწილიდან ზუსტად შეესაბამება მათ სიგრძეს. ამ გზით ხდება დნმ-ს ფრაგმენტების ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის განსაზღვრა.

2.4.2. ზ. სენგერის ფერმენტული რეპლიკაციის მეთოდი

დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის განსაზღვრის მეორე მეთოდი, რომელიც დამუშავებულია გამოჩენილი ინგლისელი მეცნიერის, ორგზის ნობელის პრემიის ლაურეატის **ფრედ სენგერის (Frederick Sanger)** მიერ, დაფუძნებულია მატრიცის სახით დნმ-ს ჯაჭვის სექვენირებადი ფრაგმენტის გამოყენებით რადიოაქტიურად ნიშანდებული დნმ-ს კომპლემენტური ჯაჭვის ფერმენტატულ სინთეზზე (რეპლიკაციაზე). აღნიშნულ მეთოდს ასევე უწოდებენ: “ჯაჭვის – გაწყვეტის” მეთოდს, ან “პლუს-მინუს” – სისტემას, ან ტერმინაციის მეთოდს.



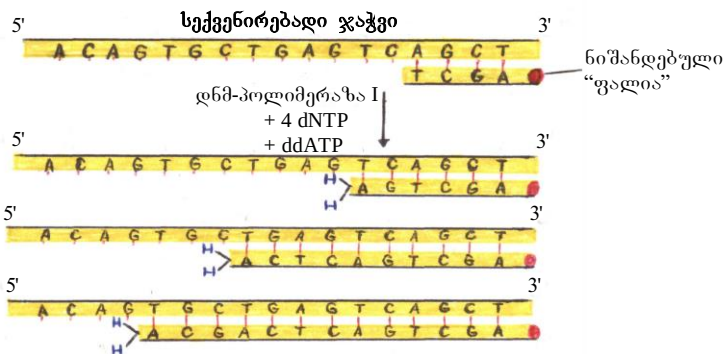
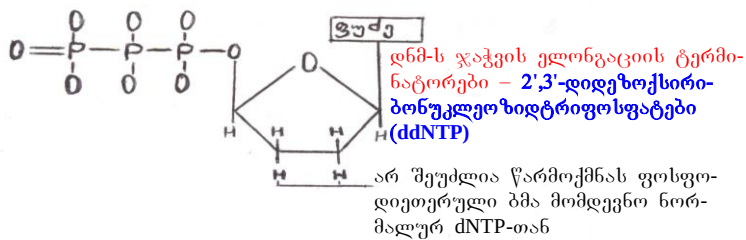
სურ. 33. გელის რადიოაფტოგრაფია

სინთეზი ხორციელდება ფერმენტ დნმ-პოლიმერაზა I-ის* საშუალებით, რომლისთვისაც აუცილებელია ე.წ. “ფალია” (“დედო”)**, ე.ი. დნმ-ს ბოლო მონაკვეთის კომპლემენტური ნუკლეოტიდების მოკლე ფრაგმენტი. ჯერ ასინთეზებენ (დებულობენ) დნმ-ს ჯაჭვის ელონგაციის (დაგრძელების) სპეციფიკურ ტერმინატორებს – 2',3'-დიდეზოქსირიბონუკლეოზიდტრიფოსფატებს (ddNTP) ოთხივე ნუკლეოტიდისათვის (ddATP, ddTTP, ddCTP და ddGTP). ფერმენტი დნმ-პოლიმერაზა I ამ მოლეკულებს ნორმალურად აერთებს დნმ-ს მზარდ ჯაჭვში, რადგანაც ისინი შეიცავენ ჩვეულებრივ 5'-ტრიფოსფატურ ჯგუფს. მაგრამ დნმ-ს ჯაჭვში ჩართვის შემდეგ 3'-OH ჯგუფის უქონლობის გამო დიდეზოქსირიბონუკლეოზიდტრიფოსფატს (ddNTP) არ შეუძლია წარმოქმნას ფოსფოდიეთერული კავშირი მომდევნო ნორმალურ დეზოქსირიბონუკლეოზიდტრიფოსფატთან (dNTP), რის გამოც მოცემული დნმ-ს ჯაჭვის შემდგომი ზრდა წყდება.

სექვენირების პროცესს ატარებენ შემდეგნაირად (სურ. 34): დნმ-ს ფრაგმენტის ოთხივე ნაწილში (პორციაში), ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობას, რომლის დადგენაც უნდათ, ცალ-ცალკე უმატებენ ერთ-

* აღნიშნული ფერმენტის სტრუქტურა, თვისებები და მოქმედების პრინციპები განხილულია ქვემოთ გვ. 191.

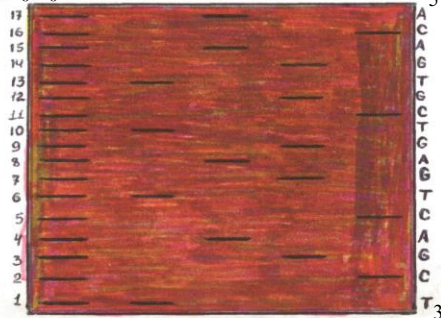
** “ფალია” (“დედო”) როლის შესახებ ინფორმაცია იხ. გვ. 191.



რეაქციის ნარევი



"კიბე"



საწყისი ჯაჭვის
 ნუკლეოტიდური
 თანმიმდევრობა

სურ. 34. დნმ-ს სეკვენირების მეთოდი ფ. სენგერის მიხედვით

ერთი დიდუბოქსირიბონუკლეოზიდტრიფოსფატის (შესაბამისად ddATP, ddTTP, ddCTP, ddGTP) ნიშანდებულ “ფალიას” (“დედოს”) და ოთხ ნორმალურ დეზოქსირიბონუკლეოზიდტრიფოსფატს (dNTP) მკაცრად განსაზღვრული თანაფარდობით. ფერმენტ დნმ-პოლიმერაზა I-ის დამატების შემდეგ აქ მიმდინარეობს დნმ-ს ჯაჭვის ნორმალური სინთეზი, რომელიც იწყება “ფალიადან” (“დედოდან”). მაგრამ ddNTP-ს ჩართვისას მოცემული ჯაჭვის ზრდა წყდება და დნმ-ს ყოველ ნაწილში (პორციაში) წარმოიქმნება ნიშანდებული ფრაგმენტების გარკვეული რაოდენობა, რომელთა სიგრძე განსაზღვრული ნუკლეოტიდის ნაშთიდან დნმ-ს ჯაჭვის ბოლომდე მანძილის ტოლია. შემდეგ სეკვენირებადი დნმ-ს ოთხივე ნაწილში (პორციაში) ცალ-ცალკე მიღებულ ნიშანდებულ ფრაგმენტებს ყოფენ ზომების მიხედვით პოლიაკრილამიდურ გელში ელექტროფორეზით (როგორც წინა მეთოდში). ბოლოს ხდება გელის რადიოავტოგრაფია და ფრაგმენტების განაწილების მიხედვით დგინდება ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა.

2.4.3. რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის სემპინგირება

ამჟამად, რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის დადგენისათვის იყენებენ ორ ძირითად მეთოდს: 1) პირდაპირი მეთოდი და 2) ასლის გადაღების მეთოდი.

პირდაპირი მეთოდის შემთხვევაში ნუკლეოტიდების თანმიმდევრობას საზღვრავენ თვით რნმ-ში. ამ მიზნით ჯერ ^{32}P -ის საშუალებით ნიშნავენ რნმ-ს მოლეკულის 5'- და 3'-ბოლოს. შემდეგ ნიშანდებულ ჯაჭვს წყვეტენ გარკვეული თანმიმდევრობისადმი სპეციფიკური ფერმენტების საშუალებით. გელ-ელექტროფორეზისა და რადიოავტოგრაფიის ჩატარების შემდეგ ღებულობენ რუქას, რომლის მიხედვით საზღვრავენ ნუკლეოტიდების თანმიმდევრობას ისეთივე წესით, როგორც ეს კეთდება დნმ-სათვის.

ასლის გადაღების მეთოდის შემთხვევაში ჯერ ასინთეზებენ რნმ-ს კომპლემენტურ დნმ-ს ჯაჭვს, ხოლო შემდეგ დნმ-სათვის ზემოთ აღწერილი მეთოდების გამოყენებით ახდენენ მისი ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის დადგენას. დნმ-ს კომპლემენტური ჯაჭვის (კ-დნმ) მიღებისათვის ჩვეულებრივ იყენებენ ფერმენტ უკუტრანსკრიპტაზას. დღეისათვის განსაზღვრულია დნმ-ს, რნმ-ს, მრავალი ვირუსის, პლაზმიდების, მიტოქონდრიების და ქლოროპლასტების სხვადასხვა ფრაგმენტის პირველადი სტრუქტურა. რამდენიმე წლის უკან წარმატებით დასრულდა ადამიანის მთელი გენომის ($3 \cdot 10^9$ ნ.წ.) სეკვენირების პროექტი.

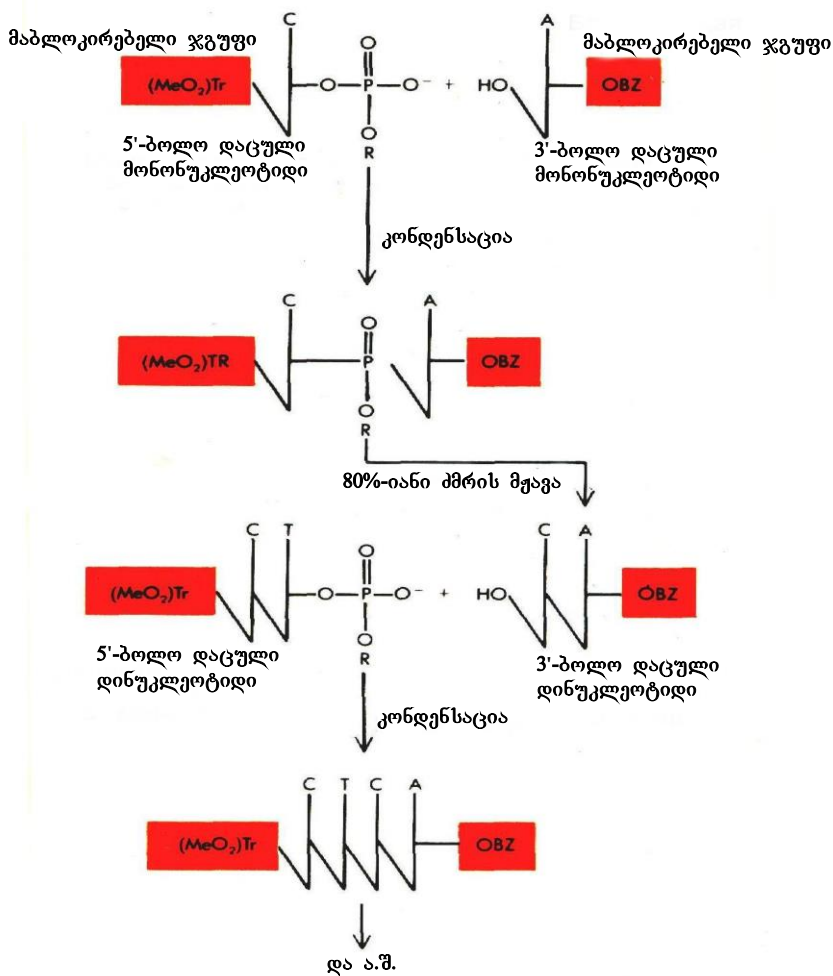
2.5. ოლიგონუკლეოტიდების ქიმიური სინთეზი

ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობების სექვენირების სწრაფი მეთოდების დამუშავების შემდეგ მაშინვე შეიქმნა გარკვეული თანმიმდევრობის, შედარებით გრძელი ოლიგონუკლეოტიდების ქიმიური სინთეზის ისეთივე სწრაფი და მარტივი მეთოდები. ისინი აუცილებელია გენეტიკურ ინჟინერიაში* მრავალი ამოცანის გადაწყვეტისათვის. ქიმიური სინთეზის მეთოდები დაფუძნებულია მონო- ან ოლიგონუკლეოტიდის 5'- ან 3'-ბოლოს სპეციფიკურ დაცვაზე ე.ი. მოდიფიკაციაზე, რომელიც თავიდან აცილებს ნუკლეოტიდის ქიმიურ რეაქციაში შესვლას. ამისათვის 5'- ან 3'-ბოლოებს უერთებენ მახლოკირებელ ჯგუფებს (სურ. 35). ეს ჯგუფები წარმოადგენს ფოსფორდიეთერული ბმების წარმოქმნის ხელშემშლელი დიდი ორგანული მოლეკულების ნაშთებს. საჭიროებისას შესაძლებელია მათი მოცილება სპეციფიკური რეაქციის საშუალებით. თუ 5'-ბოლო დაცული ნუკლეოტიდი ერთვება კონდენსაციის ე.ი. დაგროვების რეაქციაში სხვა ნუკლეოტიდთან, რომელსაც დაცული აქვს 3'-ბოლო, მაშინ ორ თავისუფალ ბოლოებს შორის წარმოიქმნება ნორმალური ფოსფორდიეთერული ბმა და მიიღება დინუკლეოტიდი, რომელსაც ბლოკირებული აქვს ორივე ბოლო. შემდეგ 5'- ან 3'-ბოლოს მახლოკირებელ ჯგუფებს აცილებენ მჟავის ან ტუტის საშუალებით. 5'-ბოლო დაცული დინუკლეოტიდი შეიძლება კონდენსირებულ იქნას 3'-ბოლო დაცულ მონონუკლეოტიდთან (ან დინუკლეოტიდთან) და მიიღება ტრინუკლეოტიდი (ან ტეტრანუკლეოტიდი). ნუკლეოტიდების კონდენსაციის ეს ციკლი, მისი ერთი ბოლოდან მახლოკირებელი ჯგუფის სპეციფიკური მოცილებითა და შემდგომი კონდენსაციით შეიძლება განმეორებულ იქნას მრავალჯერ, სანამ არ მიიღება საჭირო სიგრძის ოლიგონუკლეოტიდი.

დამუშავებულია ამ მეთოდის მოდიფიკაციები, რომელშიც პირველ ნუკლეოტიდს აკონდენსირებენ მყარ მატარებელთან და უმატებენ მომდევნო ნუკლეოტიდებს თითო-თითოდ. ყოველი ნაბიჯის შემდეგ ახდენენ მყარი მატარებლის ჩარეცხვას. ეს პროცედურა ამჟამად ავტომატიზებულია. ეგმ-ით მართვად სპეციალურ ავტომატურ აპარატზე – სინთეზატორზე 15-20 წვერიანი ოლიგონუკლეოტიდების სინთეზი შეიძლება რამდენიმე საათის განმავლობაში.

ოლიგონუკლეოტიდების ქიმიური სინთეზის მეთოდი იძლევა გენის დიდი ფრაგმენტების ან მთელი გენის სინთეზის (გენის სინთეზის ქიმიურ-ფერმენტული მეთოდი) საშუალებას. გენის პირველი ქიმიურ-ფერმენტული სინთეზი განახორციელა აშშ-ში მომუშავე გა-

* პოლილინკერის, გენების “დაჭერისათვის” ზონდის, “ფალიას” (“დედოს”) და სხვა სინთეზი.



სურ. 35. ოლიგონუკლეოტიდების ქიმიური სინთეზი

მოჩენილმა ინდოელმა მეცნიერმა გობინდ კორანამ (G. H. Chorana) თანამშრომლებთან ერთად 1969 წელს. ეს იყო საფუარას ალანინის ტ-რნმ-ს 77 წყვილი ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი გენი.*

* გენი შეიძლება სინთეზირებულ იქნას აგრეთვე ფერმენტული მეთოდით ფერმენტ უკუტრანსკრიპტაზას გამოყენებით. გენის სინთეზის მეთოდებზე დაწვრილებით ნათქვამია ქვემოთ. გვ. 280-283.

2.6. ღნმ-ს რეპარაცია და რეპომბინაცია

2.6.1. ღნმ-ს რეპარაცია

სხვადასხვა მუტაგენების, უჯრედის მეტაბოლიტების, რადიაციისა და ულტრაიისფერი გამოსხივების მოქმედების შედეგად, ღნმ მუდმივად განიცდის გარკვეულ ქიმიურ ცვალებადობებს ანუ დაზიანებებს, რომლებსაც შეუძლია გამოიწვიოს უჯრედის ან სხვადასხვა მუტაციები, ან დაღუპვა. მაგრამ ის ინარჩუნებს გასაოცარ სტაბილურობას და ამით უზრუნველყოფს გენეტიკური მასალის მუდმივობას. ეს დაკავშირებულია ყველა ცოცხალი ორგანიზმის უჯრედში დაზიანების გასწორების სპეციალური სისტემის – ღნმ რეპარაციის არსებობასთან.

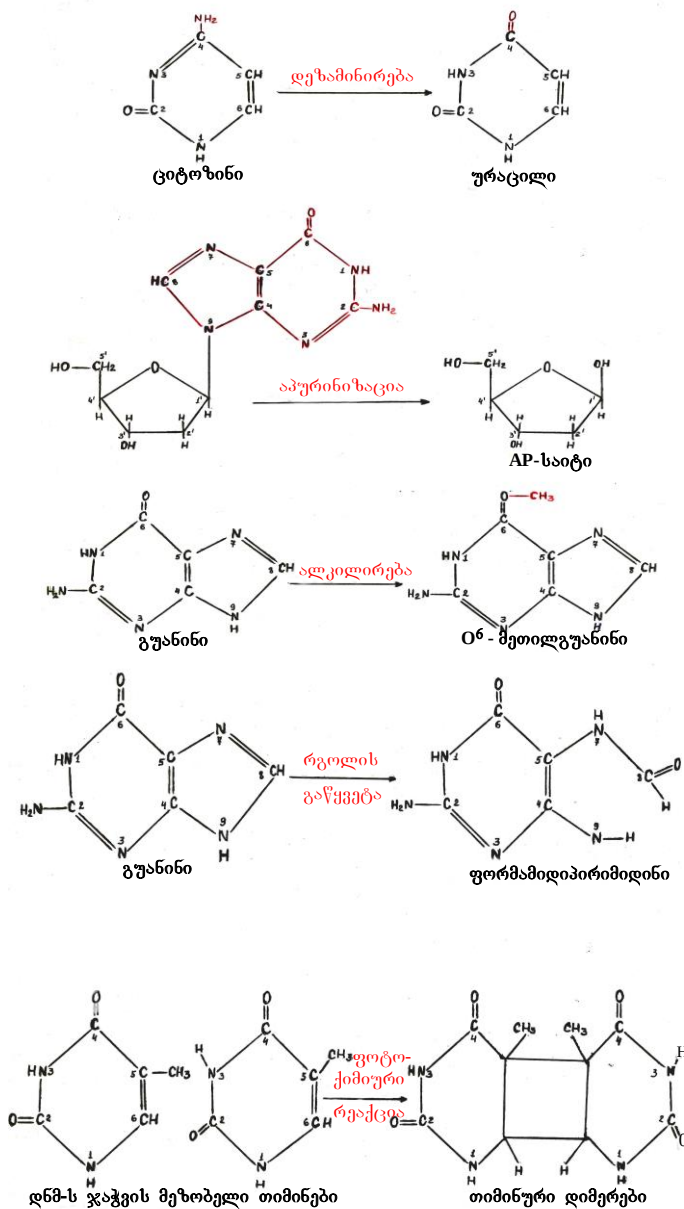
რეპარაციის მოვლენა, ე.ი. ღნმ-ს სხვადასხვა დაზიანების აღდგენის პროცესი პირველად აღმოჩენილ იქნა 1958 წელს **გ. კოროგოლინის (B. M. Корогодин)** მიერ დიპლოიდურ საფუარებში.

დღეისათვის გამოვლენილია ღნმ-ს დაზიანების შემდეგი ძირითადი ტიპები (სურ. 36): 1) **დეზამინირება** ანუ აზოტოვანი ფუძიდან ამინოჯგუფის ($-NH^2$) მოხლეჩა. შედეგად ციტოზინი გარდაიქმნება ურაცილად, ადენინი – ჰიპოქსანტინად, ხოლო გუანინი – ქსანტინად. ყველაზე მეტად დეზამინირებას განიცდის ციტოზინი. თიმინი საერთოდ არ განიცდის დეზამინირებას. ასეთი გარდაქმნები ხშირად იწვევენ სხვადასხვა მუტაციებს; 2) **აპურინიზაცია** ანუ ნუკლეოტიდიდან პურინული ფუძეების მოცილება. შედეგად მიიღება **AP-საიტი,*** 3) **ალკილირება** ანუ აზოტოვან ფუძეებთან სხვადასხვა ჯგუფების მიერთება, მაგალითად, მეთილის (CH^3) ჯგუფის მიერთება ანუ მეთილირება. შედეგად წარმოიქმნება 0⁶-მეთილგუანინი, 7-მეთილგუანინი, 3-მეთილადენინი და სხვა; 4) **პურინის რგოლის გაწყვეტა**. შედეგად მიიღება ფორამიდოპირიმიდინი, რომელიც ართულებს რეპლიკაციას; 5) **პირიმიდინის დიმერების წარმოქმნა**, ღნმ-ს ჯაჭვის ორ მეზობელ პირიმიდინზე ფოტოქიმიური რეაქციების (ულტრაიისფერი სხივებით გამოწვეული) მოქმედების შედეგად.

ღნმ-ს დაზიანების რეპარაციისათვის არსებობს სხვადასხვა მექანიზმი: **პირდაპირი რეაქტივაცია**, **ექსციზიონური რეპარაცია**, **ინდუცირებადი რეპარაცია** ანუ **SOS-რეპარაცია**, **პოსტრეპლიკაციური რეპარაცია**.

პირდაპირი რეაქტივაცია მდგომარეობს ხილული სინათლის შემდგომი მოქმედების შედეგად ულტრაიისფერი გამოსხივებით დაზიანებული ღნმ-ს მოლეკულების ბიოლოგიური აქტიურობის აღდგენაში.

* **AP** [ინგლ. apurinic-apurimidinic] – ფუძე დაკარგული დეზოქსირიბოზა; **საიტი** – [ინგლ. site] – ადგილი (უბანი, მონაკვეთი).



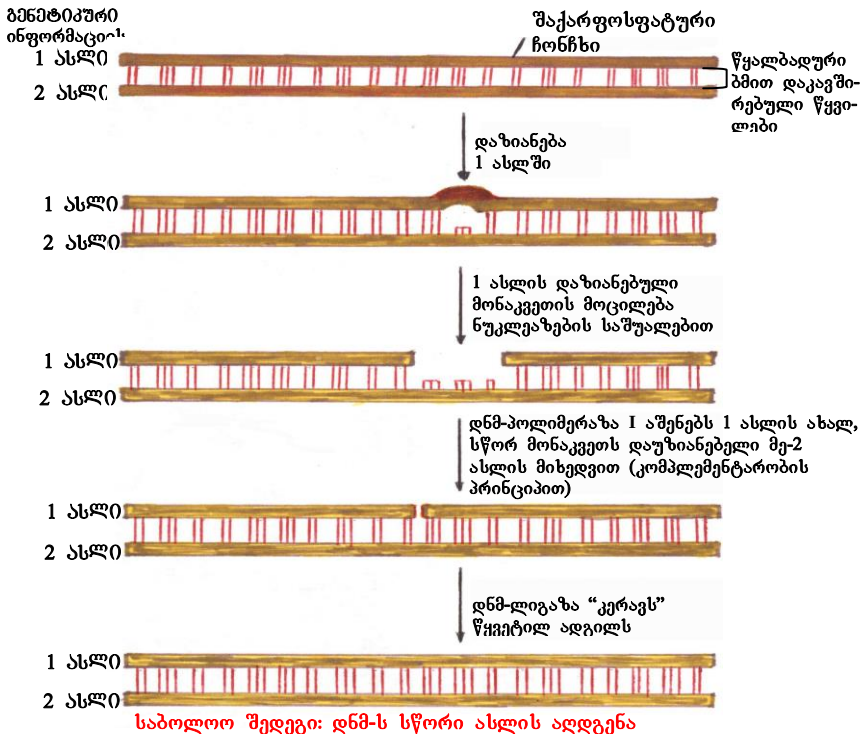
სურ. 36. დნმ-ს დაზიანების ტიპები

ექსციზიონური რეპარაცია მდგომარეობს დნმ-დან დაზიანებული მონაკვეთის (უბნის) მოცილებასა და მისი ახლით შეცვლაში.

ინდუცირებული რეპარაცია ანუ SOS-რეპარაცია დაკავშირებულია უჯრედების დაზიანების პროცესში ინდუცირებული ფერმენტების მოქმედებასთან. ის გამოიყენება მხოლოდ იმ შემთხვევაში, როცა დნმ-ში დაზიანების რაოდენობა იმდენად დიდი ხდება, რომ საფრთხე ემუქრება უჯრედის სიცოცხლეს.

პოსტრეპლიკაციური რეპარაცია მდგომარეობს რეპლიკაციის შემდეგ რეკომბინაციის* მექანიზმის მოქმედებით დაზიანებული მონაკვეთების (უბნების) აღდგენაში.

რეპარაციული მექანიზმები დაფუძნებულია იმაზე, რომ უჯრედში არსებობს გენეტიკური ინფორმაციის ორი ასლი – თითო-თითო დნმ-ს ორმაგი სპირალის ორივე ჯაჭვში. დაზიანებული ჯაჭვის შეცვლილი მონაკვეთის (უბნის) (სურ. 37) გამოცნობა და მოცილება ხდ-

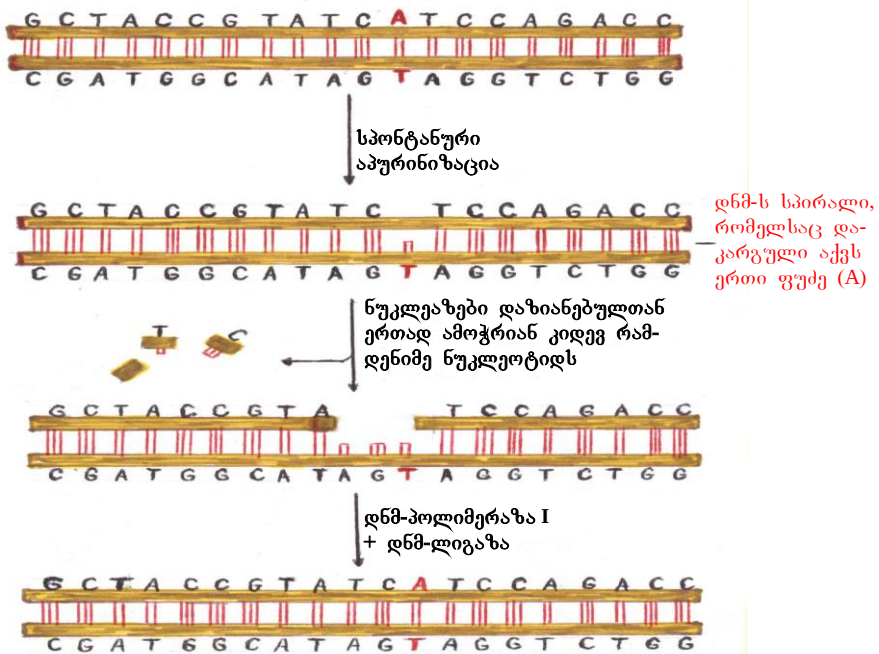


სურ. 37. დნმ-ს რეპარაცია დაზიანებული მონაკვეთის მოცილებითა და სწორი სტრუქტურის აღდგენით

* რეკომბინაციის მექანიზმი განხილულია ქვემოთ გვ. 175.

ბა ერთი სახის ფერმენტების (ნუკლეაზების) საშუალებით, ხოლო მის ადგილზე ახლის, ზუსტად ისეთის როგორც დაზიანებამდე იყო, ჩანაცვლება ხდება სხვა ფერმენტის – დნმ-პოლიმერაზა* საშუალებით, რომელიც ფუძეების კომპლემენტური დაწყვილების გზით ახდენს დნმ-ს დაუზიანებელ ჯაჭვში არსებული ინფორმაციის ასლის გადაღებას. დასასრულს, ფერმენტი, რომელსაც ჰქვია დნმ-ლიგაზა** “კერავს” დნმ-ს სპირალში დარჩენილ წყვეტილ ადგილს და ამით ამთავრებს დნმ-ს სწორი ჯაჭვის აღდგენას.

მაგალითად, აპურინიზაციის გასწორება ხდება შემდეგნაირად (სურ. 38): ჯერ ერთ-ერთი რეპარაციული ფერმენტი ნუკლეაზა*** გა-



სურ. 38. დნმ-ს მონაკვეთის (უბნის) რეპარაცია აპურინიზაციის შემდეგ

მოიცნობს დნმ-ს ჯაჭვის მონაკვეთს (უბანს), რომელსაც აკლია ფუძე

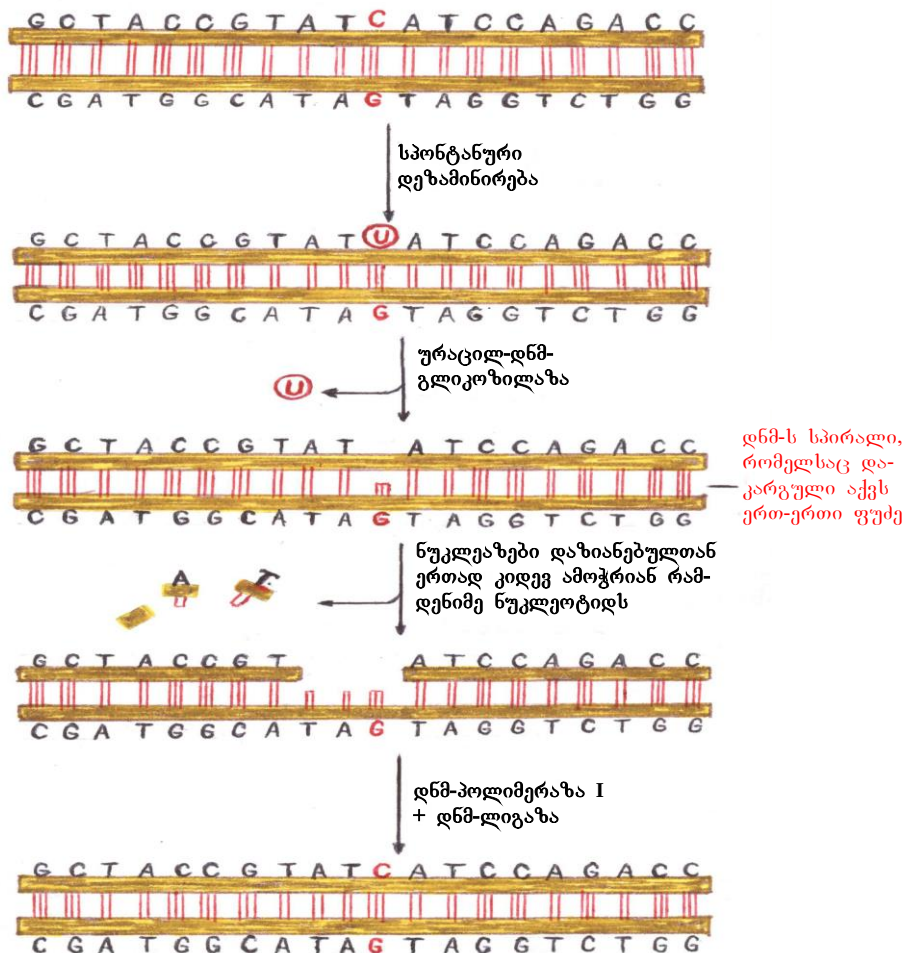
* დნმ-პოლიმერაზა ფერმენტების სტრუქტურა და მნიშვნელობა განხილულია ქვემოთ გვ. 188..

** ფერმენტი დნმ-ლიგაზა სტრუქტურა და მნიშვნელობა განხილულია ქვემოთ გვ. 194.

*** ნუკლეაზების სტრუქტურა და მნიშვნელობა განხილულია ქვემოთ.

და ამ შეცვლილ მონაკვეთში (უბანში) წვევებს ფოსფორდიეთერულ ბმას. შემდეგ დაზიანებულ ნუკლეოტიდთან ერთად ამოიჭრება მისი მეზობელი კიდევ რამდენიმე ნუკლეოტიდი. დასასრულს, დნმ-ში ნუკლეოტიდების სწორი თანმიმდევრობა აღდგება ფერმენტების დნმ-პოლიმერაზასა და დნმ-ლიგაზას საშუალებით, ისე როგორც ეს ნაჩვენებია 37-ე სურათზე.

დეზამინირების (მაგალითად, ციტოზინის) გასწორებისას მოქმედებს შემდეგი მექანიზმი (სურ. 39): სპეციფიკური ფერმენტი, რო-



სურ. 39. დნმ-ს მონაკვეთის (უბნის) რეპარაცია დეზამინირების შემდეგ

მელსაც ჰქვია **ურაცილ-დნმ-გლიკოზილაზა**,* ახდენს დეზოქსირიბოზიდან შეცვლილი ფუძის ურაცილის (U) ჰიდროლიზური მოხლეჩის კატალიზებას. შემდეგ სხვა ფერმენტი (ის, რომელიც ცნობს დნმ-ს აპურინიზებულ მონაკვეთებს) ცნობს შაქრის ნაშთს, რომელმაც დაკარგა მასთან დაკავშირებული ფუძე და დნმ-ს ამ მონაკვეთში (უბანში) წვევტს ფოსფოდიეთერულ ბმას. ამის შემდეგ, კიდევ ერთი ფერმენტი დაზიანებულ ნაშთს მეზობლებთან ერთად აცილებს ამ ადგილს. ბოლოს ფერმენტები დნმ-პოლიმერაზა I და დნმ-ლიგაზა ამთავრებენ დნმ-ს სწორი ჯაჭვის აღდგენას.

2.6.2. დნმ-ს რეკომბინაცია

ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის უცვლელობის (სტაბილურობის) შენარჩუნების მექანიზმის (რეპარაცია, რეპლიკაცია)** გარდა, დნმ-სათვის დამახასიათებელია აგრეთვე დნმ-ს ორი ორმაგი სპირალის ცალკეულ სეგმენტებს შორის ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობების გადანაწილების და შედეგად ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის ახალი კომბინაციის წარმოქმნის მექანიზმი. ამ პროცესს ჰქვია **დნმ-ს რეკომბინაცია**.

დნმ-ს რეკომბინაცია შეიძლება დაიყოს ორ კატეგორიად: **ზოგადი ანუ ჰომოლოგიური რეკომბინაცია** და **საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაცია**.

2.6.2.1. ზოგადი ანუ ჰომოლოგიური რეკომბინაცია

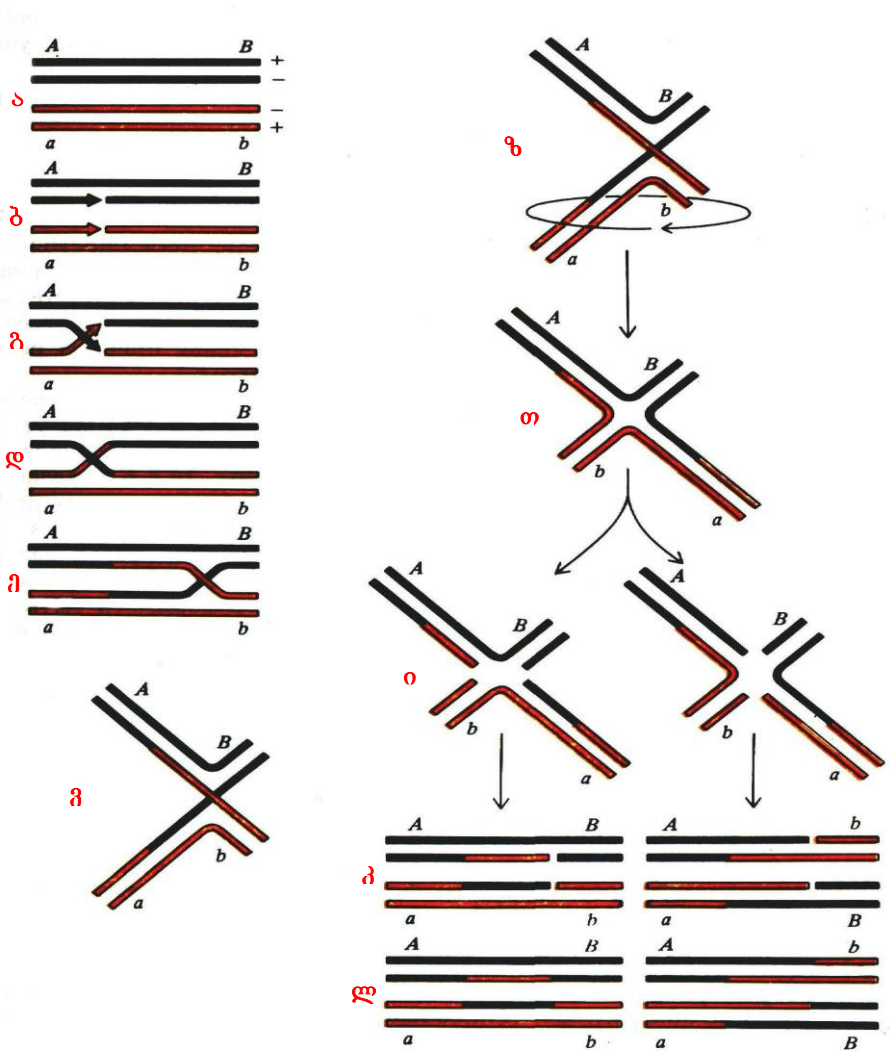
ზოგადი ანუ ჰომოლოგიური რეკომბინაციის დროს ადგილი აქვს სეგმენტების გაცვლას დნმ-ს ჰომოლოგიურ*** ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობებს შორის, უფრო დიდი ანგარიშით ერთი და იგივე ქრომოსომის ორ ასლს შორის. ზოგადი რეკომბინაციის ერთ-ერთ ყველაზე ცნობილ მაგალითს წარმოადგენს ეუკარიოტებში მეიოზის დროს ჰომოლოგიურ ქრომოსომებს შორის სეგმენტების გაცვლა.

ზოგადი რეკომბინაცია მოიცავს რიგ შუალედურ ეტაპს. მე-40 სურათზე ილუსტრირებულია დნმ-ს მშობელთა ორი ორმაგი სპირალიდან რეკომბინანტული დნმ-ს წარმოქმნის პროცესის თანმიმდევრობის თანამედროვე წარმოდგენა. გამოსახულებების პირველ სერიაში (სურ. 40, ა-დ) ნაჩვენებია დნმ-ს მშობელთა ორჯაჭვიან მოლეკულებს შორის ერთჯაჭვიანი სეგმენტების გაცვლის პროცესი, რომელიც მთავრდება “ჯერის” სტრუქტურის წარმოქმნით. ასეთი სტრუქტურის

* **დნმ-გლიკოზილაზას ფერმენტები** უჯრედში არსებობს არა ნაკლებ 20 სხვადასხვა სახის. თითოეული მათგანი დნმ-ს ფუძეში ცნობს რომელიმე ერთი გარკვეული ტიპის ცვლილებას და იწვევს მის მოცილებას (მოხლეჩას).

** რეპლიკაცია დაწვრილებით განხილულია ქვემოთ გვ. 181.

*** **ჰომოლოგიური** – შესაბამისი, შესატყვისი.



სურ. 40. ზოგადი ანუ პოზოლოგიური რეკომბინაცია

წარმოქმნის შემდეგ მისი ცენტრი (ე.ი. “ჯვრის”) შეიძლება გადაადგილდეს დნმ-ს სპირალური ჯაჭვის გასწვრივ “ელვა” შესაკრავის მსგავსად (ამ პროცესს ჰქვია ტოტების მიგრაცია). ამასთან ადგილი აქვს დნმ-ს ყოველი მშობელი მოლეკულის შიგნით კომპლემენტურ ფუძეებს შორის წყალბადური ბმების გაწყვეტას და დნმ-ს შესაბამისი მოლეკულების შეკერას. ამ პროცესმა შეიძლება გამოიწვიოს დნმ-ს

ორივე მშობელ მოლეკულაში გრძელი ჰეტეროდუპლექსური* მონაკვეთების (უბნების) წარმოქმნა (სურ. 40, ე). ასეთი ჯგერისნაირი სტრუქტურის ანუ ე.წ. პოლიდის სტრუქტურის წარმოქმნის იდეა პირველად წამოყენებულ იქნა რობინ პოლიდის (Robin Holliday) მიერ 1964 წელს. პოლიდის სტრუქტურა შეიძლება არსებობდეს სხვადასხვა იზომერულ ფორმაში (სურ. 40, ვ-თ), რომლებიც წარმოიქმნება აღნიშნული სტრუქტურის შემადგენელი ელემენტების გადაჯვარდინების წერტილის ირგვლივ ბრუნვის შედეგად. სტრუქტურის გაჭრისას (სურ. 40, თ) ორი შესაძლო ხერხით, ე.ი. ღერძის ვერტიკალურად და ჰორიზონტალურად (სურ. 40, ი-ლ) შეიძლება კვლავ წარმოიქმნას სხვადასხვა ტიპის დნმ-ს ხაზობრივი მოლეკულები. ღერძის ჰორიზონტალურად გაჭრისას წარმოიქმნება დნმ-ს ორი ხაზობრივი მოლეკულა, სადაც ერთი მონაკვეთი (უბანი) წარმოადგენს მშობლიურს, ხოლო მეორე – ჰეტეროდუპლექსს; ვერტიკალურად გაჭრისას – ორივე მოლეკულა შეიცავს მხოლოდ ჰეტეროდუპლექსურ მონაკვეთებს (უბნებს) (სურ. 40, კ).

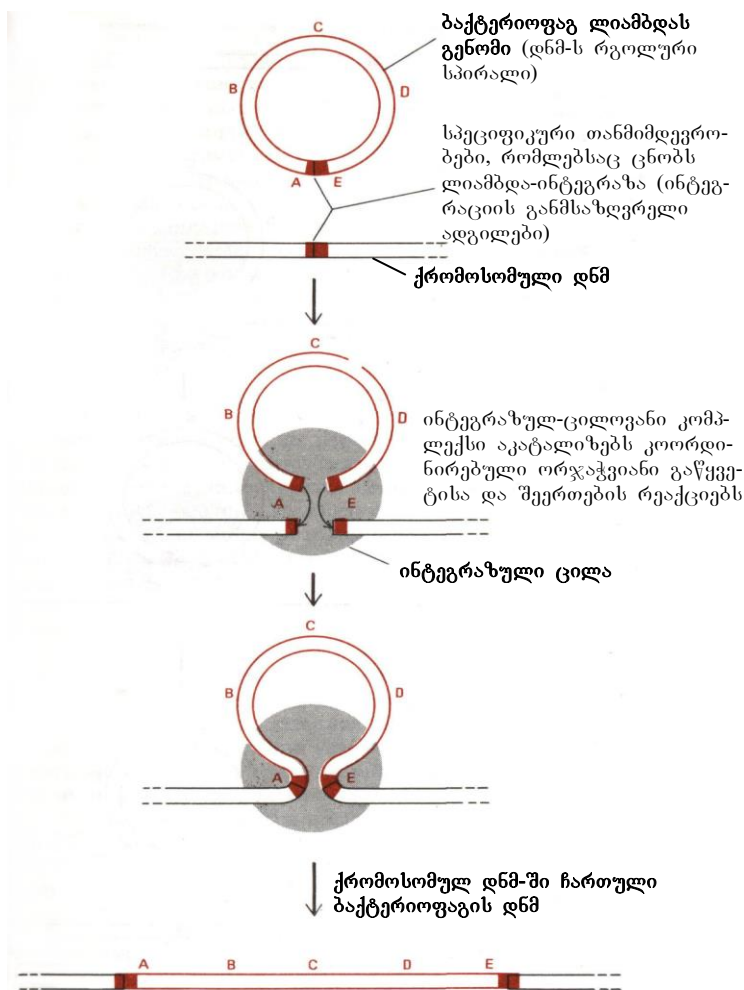
ზოგადი რეკომბინაცია უდიდეს როლს ასრულებს დნმ-ს პოსტრეპლიკაციური რეპარაციის პროცესში და ჰომოლოგების დაწყვილების განხორციელებაში, რომელიც აუცილებელია მეიოზის დროს ქრომოსომების სწორი დაცილებისათვის.

2.6.2.2. საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაცია

საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაცია – არის რეკომბინაცია, რომელიც ზოგადი რეკომბინაციისაგან განსხვავებით არ საჭიროებს ჰომოლოგიურ სეგმენტებს, მაგრამ მისი განხორციელებისათვის აუცილებელია დნმ-ს მკაცრად განსაზღვრული თანმიმდევრობები და სპეციალური ფერმენტული აპარატი. ამ დროს გაცვლაში მონაწილეობს დნმ-ს ერთი ან ორივე სპირალის მოკლე სპეციფიკური ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობები. აქ მთელი პროცესი მისი საწყისი გამოცნობის ეტაპით, რომელიც დნმ-ს ორ სპირალს ერთად უყრის თავს, წარიმართება განსაკუთრებული რეკომბინაციული ფერმენტით – ინტეგრასით. რეკომბინაციის ამ ფორმას საიტ-სპეციფიკური ჰქვია იმიტომ, რომ რეკომბინაციული ფერმენტი დნმ-ს ერთ ან ორ რეკომბინირებად მოლეკულაში ცნობს სპეციფიკურ ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობებს; სწორედ ამ ადგილებში (საიტებში) მიმდინარეობს რეკომბინაცია.

ასეთი რეკომბინაციის სხვადასხვა სისტემა არსებობს. საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციის პირველი შესწავლილი სისტემა იყო ბაქტერიოფაგ ლიამბდას (λ) ინტეგრაცია (ჩართვა) ბაქტერია E.coli-ს ქრომოსომაში (სურ. 41). ამ პროცესის მექანიზმი შემდეგია: ფერმენტი

* ჰეტეროდუპლექსი – დნმ-ს ორჯაჭვიანი მოლეკულა, რომელშიც ფუძეების თანმიმდევრობა ორივე ჯაჭვში ერთმანეთის მიმართ არ არის მთლიანად კომპლემენტური.



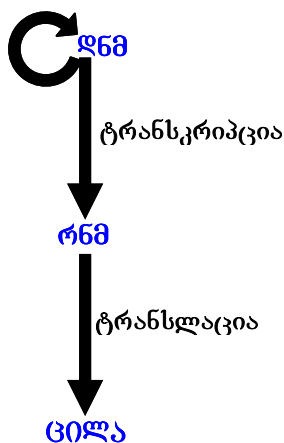
სურ. 41. საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაცია

ლიამბდა – ინტეგრეზა (აკოდირებს აღნიშნული ვირუსის ერთ-ერთი გენი) ცნობს ორ სხვადასხვა არაჰომოლოგიურ ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობას (სპეციფიკურ ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობებს) – ერთს, ბაქტერიოფაგის რგოლურ ორმაგ სპირალში, მეორეს, ბაქტერიულ ქრომოსომში. რეკომბინაციის დროს ბაქტერიოფაგის დნმ-ს ორმაგი სპირალის ორივე ჯაჭვი დროებით წყდება და შეერთდება ზუსტად ისეთივე წესით გაწყვეტილ ბაქტერიული დნმ-ს ორმაგი სპირა-

ლის ჯაჭვების ბოლოებს. ფერმენტი მჭიდროდ აახლოებს ერთმანეთთან ბაქტერიული და ბაქტერიოფაგური ქრომოსომების სპეციფიკურ მონაკვეთებს – საიტებს და შემდეგ ახდენს დნმ-ს გაწყვეტისა და შეერთებისათვის აუცილებელი რეაქციების ინიცირებას. ამრიგად, ბაქტერიოფაგური დნმ ჩაერთვება ბაქტერიის ქრომოსომულ დნმ-ში და ამით ხორციელდება საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაცია.

2.7. გენეტიკური ინფორმაციის გადაცემის მოლეკულური მექანიზმები

გენეტიკური მასალის – ნუკლეინის მჟავების მოლეკულური ბუნების გამოკვლევასთან ერთად ინტენსიური მუშაობა მიმდინარეობდა დნმ-დან დასასინთეზირებელ ცილაში გენეტიკური ინფორმაციის გადაცემის კონკრეტული მექანიზმის დასადგენად. ფუნდამენტური გამოკვლევების საფუძველზე დაზუსტებულია მოლეკულური ბიოლოგიის ძირითადი დებულებები. XX საუკუნის 60-იანი წლების შუა პერიოდისათვის ფ. კრიკის მიერ ჩამოყალიბებულ იქნა **მოლეკულური ბიოლოგიის ცენტრალური დოგმა** (სურ. 42), რომლის მიხედვით: გენეტი-

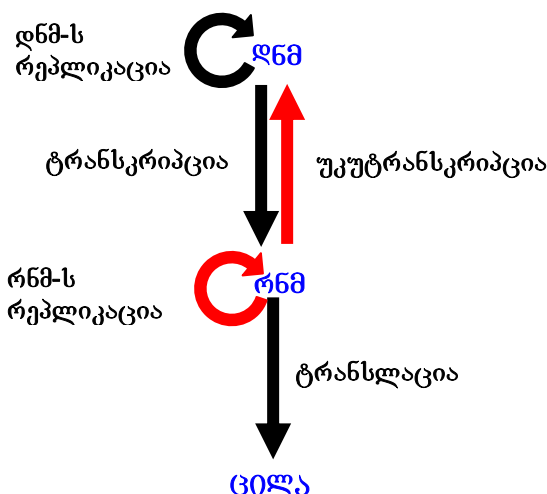


სურ. 42. მოლეკულური ბიოლოგიის ცენტრალური დოგმა
(ფ. კრიკის მიხედვით)

კური ინფორმაციის ნაკადი მიმართულია დნმ-დან რნმ-ზე გაველით ცილისაკენ და არასოდეს არ შეიძლება წავიდეს უკუმიმართულებით ცილიდან ნუკლეინის მჟავებისაკენ.

შემდგომში აღმოჩენებმა გარკვეული დაზუსტებები შეიტანეს ცენტრალურ დოგმაში, რომელიც ითვალისწინებს გენეტიკური ინფორმაციის რნმ-დან დნმ-სკენ გადაცემის (უკუტრანსკრიპტაზას აღმოჩენასთან დაკავშირებით) და რნმ-ს რეპლიკაციის (რნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზას აღმოჩენასთან დაკავშირებით) შესაძლებლობებს (სურ.43).

ცენტრალური დოგმის თანახმად გენეტიკური ინფორმაციის გადაცემა მიმდინარეობს სამ ძირითად ეტაპად. პირველ ეტაპს ეწო-



სურ. 43. მოლეკულური ბიოლოგიის დაზუსტებული ცენტრალური დოგმა

დება რეპლიკაცია, ანუ დედისეული (საწყისი) დნმ-ს ასლის გადაღება (თვითგაორმაგება) დნმ-ს ორი შვილეული მოლეკულის წარმოქმნით, რომელთა ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა კომპლემენტურია დედისეული (საწყისი) დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის. მეორე ეტაპს ეწოდება ტრანსკრიპცია, ანუ დნმ-დან გენეტიკური ინფორმაციის გადაწერა (ტრანსკრიბირება) მატრიცულ (ინფორმაციულ) რნმ-ზე, რომელიც წარმოადგენს დნმ-ს ერთ-ერთი ჯაჭვის კომპლემენტარულს. მესამე ეტაპს ეწოდება ტრანსლაცია და მდგომარეობს მ-რნმ-ზე ცილის ბიოსინთეზში, ანუ მეპევიდრული ინფორმაციის ნუკლეოტიდების ოთხნიშნიანი ენიდან (მ-რნმ-ს შემადგენლობაში) ამინომჟავების ოცნიშნიან ენაზე (ცილების სტრუქტურის შემადგენლობაში) “გადაყვანაში” (ტრანსლაციაში).

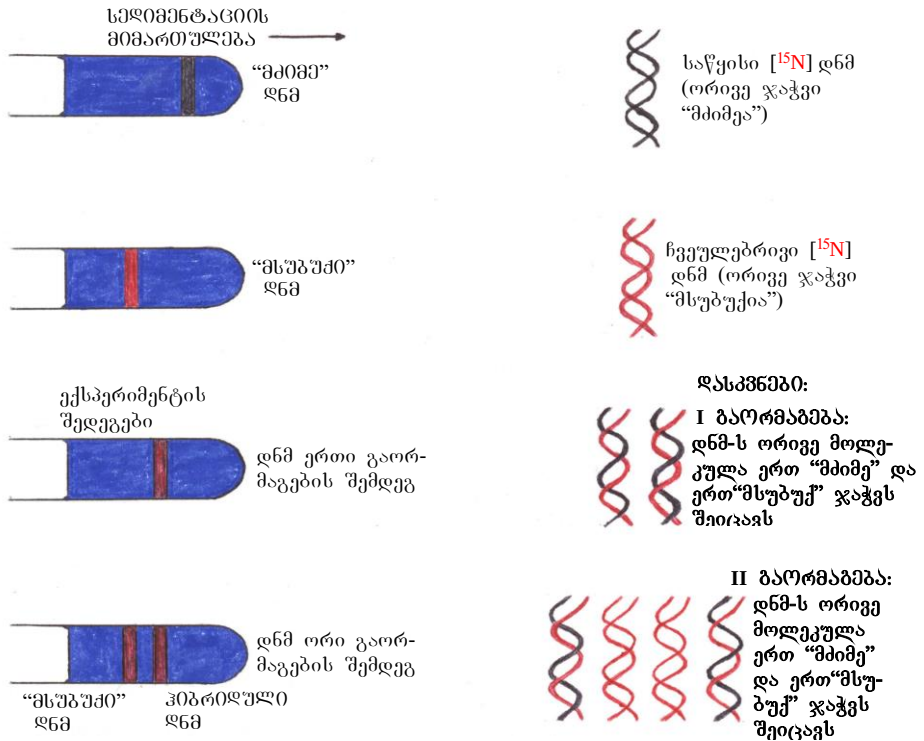
2.7.1. დნმ-ს რეპლიკაცია

2.7.1.1. ნახევრადკონსერვატიული რეპლიკაცია

ჯ. უოტსონმა და ფ. კრიკმა პირველებმა გამოთქვეს ჰიპოთეზა რეპლიკაციის ანუ დნმ-ს ორმაგი სპირალის ავტორედუპლიკაციის (თვითგაორმაგების) მექანიზმის შესახებ. ამ ჰიპოთეზის თანახმად დნმ-ს ორმაგი სპირალის ყოველი ჯაჭვი წარმოადგენს მატრიცას კომპლემენტური შვილეული ჯაჭვების რეპლიკაციისათვის. ამასთან,

წარმოიქმნება დედისეული დნმ-ს იდენტური ორი შვილური დნმ-ს ორჯაჭვიანი მოლეკულა, სადაც ერთი ჯაჭვი სინთეზირდება ხელახლა (თავიდან), ხოლო მეორე ჯაჭვი წარმოიშობა დნმ-ს დედისეული მოლეკულიდან.

ამ ჰიპოთეზის შესამოწმებლად მეტიუ მეზელსონმა (Matthew Meselson) და ფრანკლინ სტალმა (Franklin Stall) 1958 წელს ჩაატარეს გონებაბახილური ექსპერიმენტი (სურ. 44). ისინი დიდი ხნის (4 თაო-

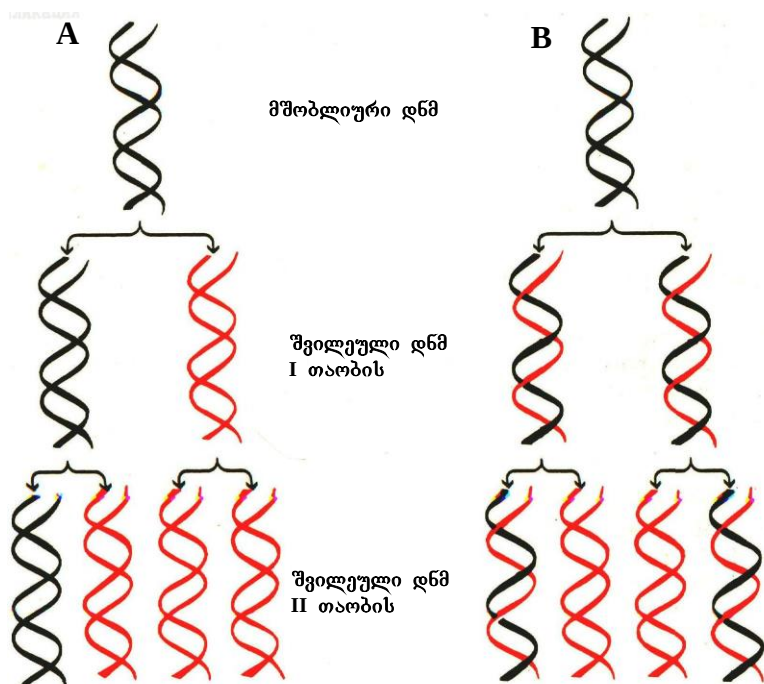


სურ. 44. მ. მეზელსონ – ფ. სტალის ექსპერიმენტი

ბის) განმავლობაში ბაქტერია E.coli-ს უჯრედებს ზრდიდნენ მიძიმე აზოტის (^{15}N), (რომელიც უერთდება დნმ-ს მოლეკულას) შემცველ საკვებ არეზე და შემდეგ სწრაფად გადაჰყონდათ ჩვეულებრივი (მსუბუქი) აზოტის (^{14}N) შემცველ საკვებ არეში. რეპლიკაციის (ერთი გენერაციის) შემდეგ ახდენდნენ ბაქტერიის პირველი თაობის შვილური დნმ-ს სიმკვრივის მიხედვით ფრაქციებად დაყოფას ცენტროფუგირებით ცეზიუმის ქლორიდის (CsCl) სიმკვრივის გრადიენტში წონას-

წორული სედიმენტაციის* მეთოდით. შედეგებმა აჩვენა, რომ ყველა შეიღეული დნმ ერთგვაროვანია და აქვს შუალედური სიმკვრივე მძიმე (განლაგებულია სინჯარის ქვედა ნაწილში) და მსუბუქი (განლაგებულია სინჯარის ზედა ნაწილში) დნმ-ს სიმკვრივეს შორის.

ეს იმაზე მიუთითებს, რომ შეიღეული დნმ-ს მოლეკულის ერთი ჯაჭვი შეიცავს ^{15}N , ხოლო მეორე – ^{14}N . აქედან **მ. მეზელსონმა** და **ფ. სტალმა** გააკეთეს დასკვნა, რომ უოტსონ-კრიკის ჰიპოთეზა შეესაბამება სინამდვილეს, ანუ რეპლიკაციის შემდეგ ყოველი შეიღეული ორჯაჭვიანი დნმ შეიცავს ერთ დედისეულ და ერთ ახალწარმოქმნილ ჯაჭვს. რეპლიკაციის ასეთ მექანიზმს უწოდებენ **ნახევრადკონსერვატულს,**** რადგანაც ყოველ შეიღეულ დნმ-ში შენარჩუნებულია მხოლოდ ერთი დედისეული ჯაჭვი (სურ. 45B).



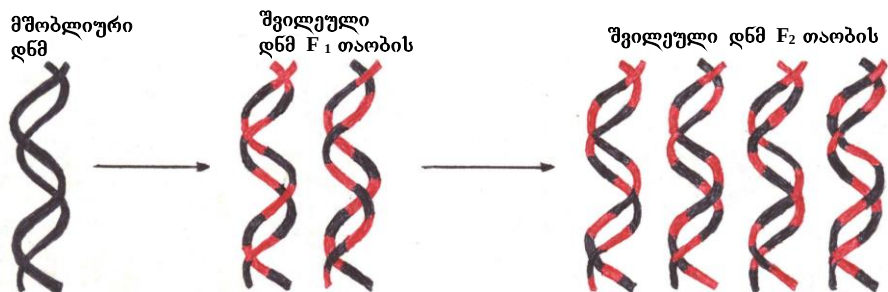
სურ. 45. კონსერვატული (A) და ნახევრადკონსერვატული (B) რეპლიკაციის სქემა

არ დადასტურდა ჰიპოთეზა რეპლიკაციის კონსერვატული მექანიზმის შესახებ, რომლის დროსაც ერთი შეიღეული დნმ უნდა შეიცავდეს ორივე საწყის ჯაჭვს, ხოლო მეორე – ახალსინთეზირებულ

* სედიმენტაცია – დალექვა.

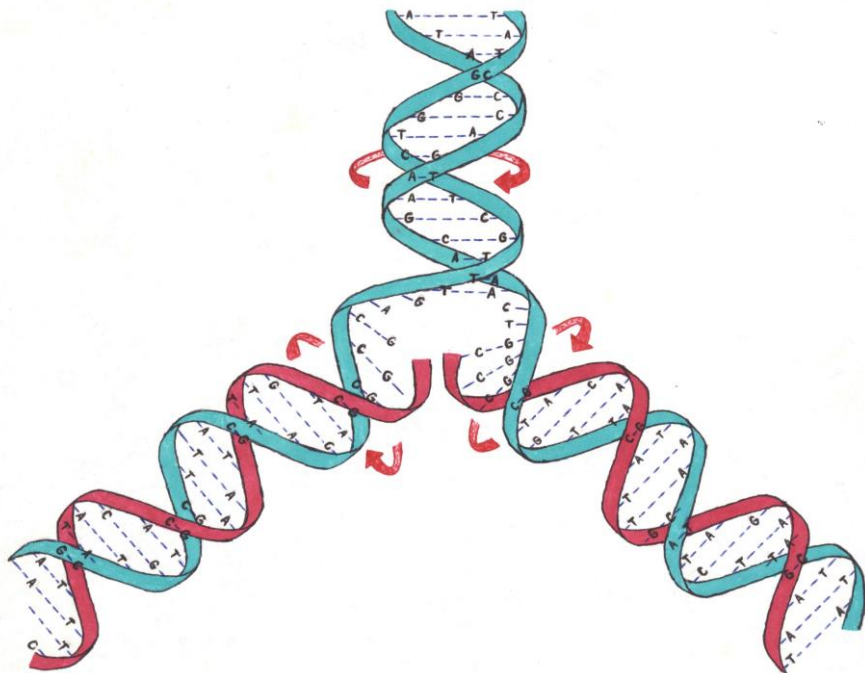
* conserve [ინგლ.] – შენარჩუნება.

ჯაჭვებს (სურ. 45A) და რეპლიკაციის დისპერსიული მექანიზმის შესახებ (სურ. 46.), რომლის დროსაც საწყისი დნმ-ს მოლეკულები შემოთხვევით უნდა განაწილდეს ორივე შვილეულ მოლეკულაში.



სურ. 46. დისპერსიული რეპლიკაციის სქემა

ამრიგად, დნმ-ს ორმაგი სპირალის რეპლიკაცია მიმდინარეობს ნახევრადკონსერვატულად (სურ. 47).



სურ. 47. დნმ-ს ნახევრადკონსერვატული რეპლიკაცია

2.7.12. რეპლიკაციის ძირითადი პრინციპები

დნმ-ს რეპლიკაცია წარმოადგენს მრავალი თანმიმდევრული ეტაპისაგან შემდგარ, რთულ მრავალსტადიურ პროცესს, რომელიც მოიცავს: რეპლიკაციის საწყისი წერტილის გამოცნობას, მშობლიური ორმაგი სპირალის ხვეულის გაშლას, მისი ჯაჭვების ერთმანეთისაგან გარკვეულ მანძილზე განცალკავებას, ახალი შეიღეული ჯაჭვების სინთეზის ინიციაციას, მათ ელონგაციას, ჯაჭვების სპირალად დახვევას და ბოლოს, რეპლიკაციის ტერმინაციას.

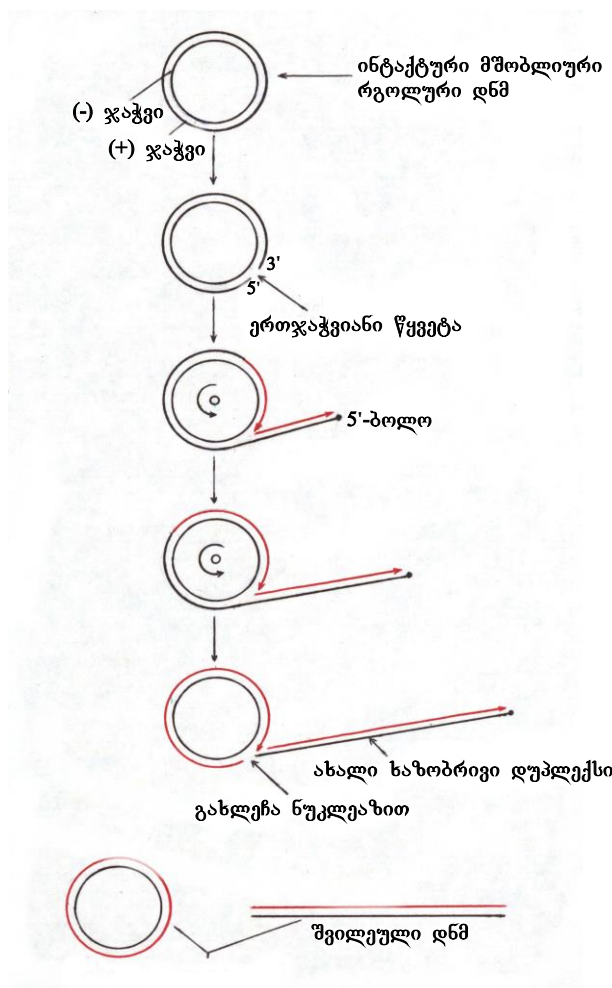
რეპლიკაცია იწყება დნმ-ს გარკვეულ წერტილში, რომელსაც ჰქვია რეპლიკაციის ორიჯინი (აღინიშნება *ori**) ანუ რეპლიკაციის დაწყების წერტილი. დნმ-ს ერთ-ერთ ჯაჭვში ამ ადგილზე წყდება ფოსფორიეთერული ბმა, რომელიც უზრუნველყოფს (ხელს უწყობს) სპირალის შემდგომ გაშლას. შედეგად წარმოიქმნება ე.წ. რეპლიკაციური “ჩანგალი” ანუ რეპლიკაციური წერტილი, რომელსაც Y-ს ფორმა აქვს.

რეპლიკაციის მიმართულების თავისებურებები. დნმ-ს რეპლიკაციის მიმართულება რეპლიკაციის *ori*-დან შეიძლება იყოს: ცალმხრივი – ერთმიმართულებიანი რეპლიკაცია ან ორმხრივი – ორმიმართულებიანი რეპლიკაცია.

ერთმიმართულებიანი რეპლიკაცია – შედარებით იშვიათი მოვლენაა. იგი შეინიშნება რგოლური დნმ-ს მქონე ზოგიერთ ვირუსებში, ბაქტერიოფაგებში, პლასმიდებში და სხვა. ასეთი რეპლიკაციის მექანიზმს ეწოდება “მგორავი რგოლი.” დნმ-ს ერთ-ერთ ჯაჭვში (გარეთა; “+” ჯაჭვი) ხდება წყვეტა (სურ. 48), რის შემდეგ ამ გაწყვეტილი დუღისეული ჯაჭვის 3'-ბოლოდან იწყება ახალი ჯაჭვის სინთეზი, რომლის მატრიცას წარმოადგენს მეორე (შიგნითა; “-” ჯაჭვი) მშობლიური ჯაჭვი. რგოლურ მატრიცაზე ახალი ჯაჭვის ზრდა ხორციელდება საპირისპირო მიმართულებით მგორავი რგოლური მატრიციდან გაწყვეტილი ჯაჭვის 5'-ბოლო ნაწილის თანდათანობითი გამოძევების გზით. ახალი ჯაჭვის ზრდასთან ერთად გამოძევებული 5'-ბოლო თვითონ ხდება მატრიცა სხვა ახალი ხაზობრივი შეიღეული ჯაჭვის სინთეზისათვის, რომელიც რგოლიდან იხლინება ნუკლეაზას საშუალებით. ამრიგად, რეპლიკაციის ეს წესი დედისეული რგოლური დნმ-დან მრავალი ხაზობრივი ასლების სინთეზირების საშუალებას იძლევა.

ორმიმართულებიანი რეპლიკაცია – ეს რეპლიკაციის ყველაზე მეტად გავრცელებული წესია. იგი შეინიშნება როგორც პროკარიოტებში, ისე ეუკარიოტებში. ამ დროს ახალი ჯაჭვების სინთეზი დნმ-ს დედისეულ ჯაჭვზე რეპლიკაციის *ori*-დან მიდის ერთდროულად ორივე მიმართულებით. ასეთი რეპლიკაციის სქემა დნმ-ს რგოლურ მო-

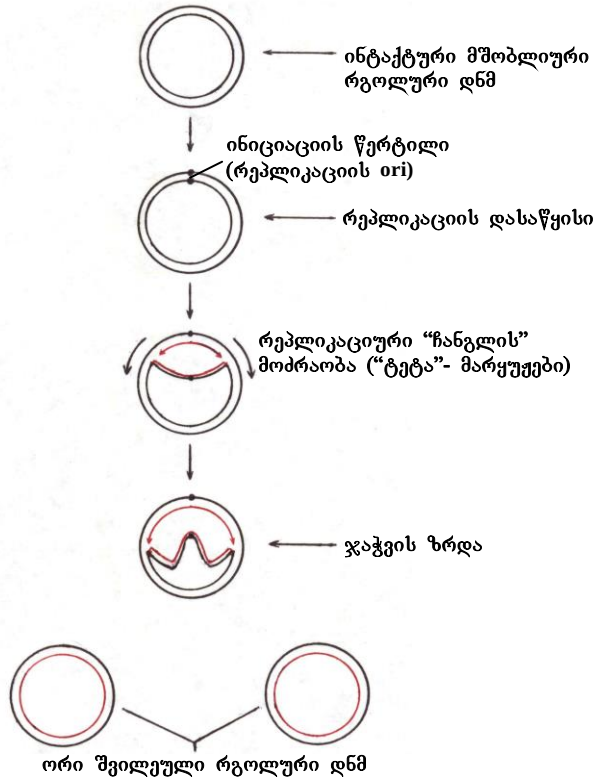
* *origin* [ინგლ.] – საწყისი, დასაწყისი.



სურ. 48. ერთმიმართულებიანი რეპლიკაცია (“მგორავი რგოლი”)

ლეკულაზე ბაქტერია *E. coli*-ს ქრომოსომებში და დნმ-შემცველ ვირუსებში ნაჩვენებია 49-ე სურათზე. ამ სქემის თანახმად რეპლიკაციის საწყის წერტილში (რეპლიკაციის *ori*) წარმოიშობა ორი რეპლიკაციური “ჩანგალი” (მათ უწოდებენ “ტეტა-მარყუქებს”),* რომლებიც მოძრაობენ საპირისპირო მიმართულებით ერთმანეთთან შეხვედრამდე. შედეგად მიიღება დნმ-ს ორი შვიდეული ორჯაჭვიანი რგოლური მოლე-

* რადგანაც რეპლიცირებადი ქრომოსომა გვაგონებს ბერძნულ ასოს Θ (ტეტა).

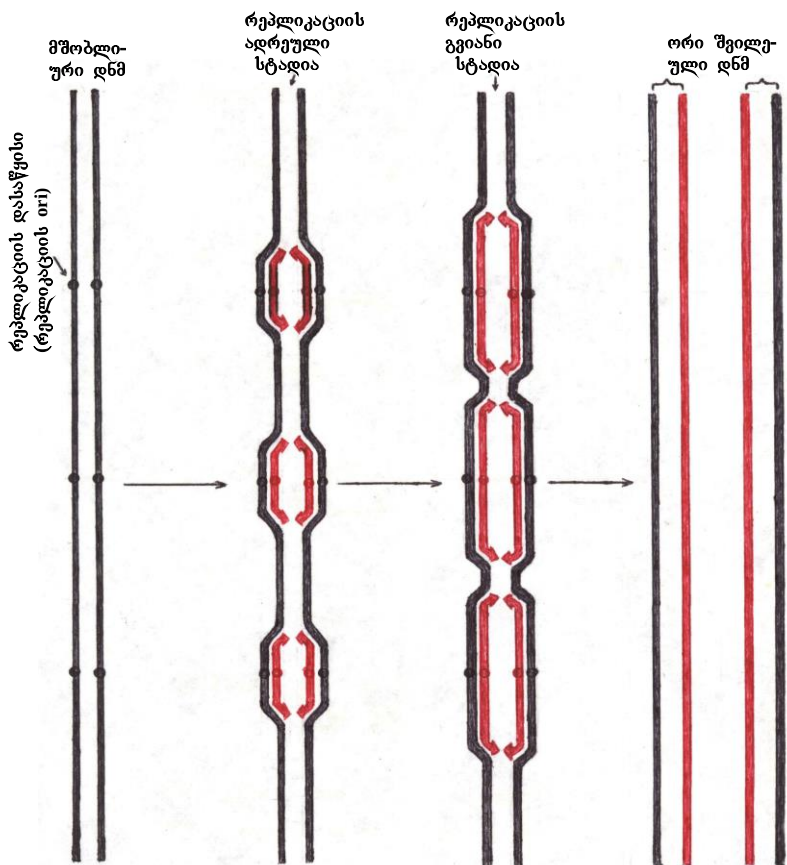


სურ. 49. პროკარიოტული რგოლური დნმ-ს ორმიმართულებიანი რეპლიკაციის სქემა

კულები. ყოველი მათგანი შეიცავს ერთ ძველ და ერთ ახალ ჯაჭვს.

რგოლური პროკარიოტული დნმ-ს (მაგ. *E.coli*) რეპლიკაციის სიჩქარე საკმაოდ მაღალია: ~ 1700 წყვილი ნუკლეოტიდი 1 წამში, ე.ი. მთელი გენომის ასლის გადაღება ხდება 40 წუთის განმავლობაში.

დნმ-ს ხაზობრივი ეუკარიოტული მოლეკულის ორმიმართულებიანი რეპლიკაციის სქემა წარმოდგენილია 50-ე სურათზე. აღმოჩნდა, რომ ეუკარიოტული ხაზობრივი დნმ-ს რეპლიკაცია იწყება ერთდროულად მრავალ წერტილში, ე.ი. მათ აქვთ ძალიან ბევრი (ათასზე მეტი) რეპლიკაციის ori. ყოველი ასეთი წერტილიდან ერთდროულად საპირისპირო მიმართულებით მოძრაობს ორი რეპლიკაციური “ჩანგალი”. რეპლიკაცია გრძელდება შვილეული ჯაჭვების სინთეზის სრულ დამთავრებამდე. შედეგად მიიღება დნმ-ს ორი ახალი ორმაგი სპირალი.



სურ. 50. ეუკარიოტული ხაზობრივი დნმ-ს ორმიმართულებიანი რეპლიკაციის სქემა

ყოველი მათგანი შეიცავს ერთ ძველ და ერთ ახალ ჯაჭვს.

რეპლიკაციური "ჩანგლის" მოძრაობის სიჩქარე აქ გაცილებით დაბალია, ვიდრე დნმ-ს პროკარიოტულ რგოლურ მოლეკულებში – დაახლოებით 50 წვევილი ნუკლეოტიდი 1 წამში. მაგრამ, ერთდროულად ძალიან ბევრი რეპლიკაციური "ჩანგლის" არსებობის გამო დნმ-ს მთელი ეუკარიოტული მოლეკულის რეპლიკაცია მთავრდება უფრო სწრაფადაც კი. მაგალითად, $65 \cdot 10^6$ წვევილი ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი დროზოფილას ქრომოსომა რეპლიკაციას განიცდის რამდენიმე წუთში.

რეპლიკაციის უარმენტები. დნმ-ს რეპლიკაციის რთულ პროცესში მონაწილეობას ღებულობს ოცზე მეტი სხვადასხვა ფერმენტი

და ცილა. მათ შორის ძირითადი მოტანილია მე-6 ცხრილში. რეპლი-

რეპლიკაციის უპრემენტები და ცილები

ცხრილი 6

ცილა ან უპრემენტი	ფუნქცია	მასა, kDa	მოლეკულების რიცხვი უჯრედში
დნმ-პოლიმერაზა-I	დნმ-“ფალიას” მოცი- ლება და რღვეულე- ბის შევსება	109	300
დნმ-პოლიმერაზა-III- ის ჰოლოუპრემენტი	ნუკლეოტიდების სინ- თეზი	>300	20
დნმ-პოლიმერაზა (პრაიმეზა)	დნმ-“ფალიას” (პრაი- მერის) სინთეზი	60	100
დნმ-ლიგაზა	დნმ-ს ჯაჭვის ფრაგ- მენტების შეერთება	74	300
დნმ-ჰელიკაზა (rep- ცილა)	ორმაგი სპირალის ხვეულის გაშლა	65	50
SSB-ცილები (დნმ- თან დაკავშირებუ- ლი ცილები)	განცალკავებული ჯაჭვების გასწორება (სტაბილიზირება)	74	300
დნმ-ბირაზა (ტო- პოიზომერაზა II)	ერთ-ერთ ჯაჭვში ფოსფოდიფერული კავშირის გაწყვეტა და უარყოფითი სუ- პერსპირალების წარ- მოქმნა	400	
ცილა-dnaB	პრაიმეზასათვის დნმ-ს სინთეზის ინიცირების საშუალების მიცემა	~250	20

კაციაში ფერმენტების როლისა და მოქმედების მექანიზმის შესწავლა პირველად დაწყებულ იქნა 1956 წელს არტურ კორნბერგის (Artur Kornberg) და მისი კოლეგების მიერ პროკარიოტულ ორგანიზმებში.

გამოყოფილ იქნა დნმ-ს ახალ ჯაჭვში დეზოქსირიბონუკლეოტიდების თანმიმდევრული მიერთების მაკატალიზებელი ფერმენტი, რომელსაც მოგვიანებით ეწოდა **დნმ-პოლიმერაზა I (აღნიშნავენ pol I).*** დნმ-ს ახალი ჯაჭვის სინთეზისათვის (ე.ი. პოლიმერაზული აქტიურობისათვის) ფერმენტ დნმ-პოლიმერაზა I-ს აუცილებლად სჭირდება: 1) **ოთხივე სახის დეზოქსირიბონუკლეოზიდტრიფოსფატი (dATP, dGTP, dTTP და dCTP)** და Mg^{2+} იონები, 2) ე.წ. საფალიე ჯაჭვი (საწყისი ჯაჭვი) ანუ **“ფალია” (“დედო,” პრაიმერი**)** თავისუფალი 3'-OH ჯგუფით, რადგანაც აღნიშნულ ფერმენტს დეზოქსირიბონუკლეოტიდების მიერთება შეუძლია დნმ-ს (ან რნმ-ს) ჯაჭვის წინა ნუკლეოტიდის მხოლოდ 3'-OH ბოლოსთან (სურ. 51). დნმ-პოლიმერაზა I-ს “ფალიას” (“დედოს”) გარეშე არა აქვს უნარი თვითონ დაიწყოს ახალი დნმ-ს სინთეზი, 3) **მატრიცული დნმ**, რომელზეც შემდეგში კომპლემენტურობის პრინციპით შენდება ახალი ჯაჭვი, ე.ი. დნმ-პოლიმერაზა I წარმოადგენს მატრიცით მართულ ფერმენტს. დნმ-პოლიმერაზა I-ით კატალიზებული დნმ-ს ჯაჭვის დაგრძელება ხდება შესაერთებელი დეზოქსირიბონუკლეოზიდტრიფოსფატის უახლოეს (α) მდგომარეობაში მყოფ ფოსფორის ატომის თავისუფალი 3'-OH ჯგუფზე ნუკლეოფილური “იერიშის” შედეგად. ამ დროს წარმოიქმნება ფოსფოდიეთერული ხიდი და ერთდროულად თავისუფლდება არაორგანული პიროფოსფატი. მაშასადამე, დნმ-ს ჯაჭვის სინთეზი მიმდინარეობს $5' \rightarrow 3'$ მიმართულებით*** (სურ. 51). დნმ-ს ჯაჭვში ყოველი ახალი ფოსფოდიეთერული ბმის წარმოქმნისათვის საჭირო ენერგიის უზრუნველყოფა ხდება ტრიფოსფატური ბმის გახლეჩის დროს გამოყოფილი ენერგიით.

პოლიმერაზული ($5' \rightarrow 3'$) აქტიურობის გარდა ფერმენტ დნმ-პოლიმერაზა I-ს გააჩნია დნმ-ს ჯაჭვის ნებისმიერი ბოლოდან განაპირა ნუკლეოტიდების მოცილების უნარი, ე.ი. ახასიათებს $5' \rightarrow 3'$ და $3' \rightarrow 5'$ **ეგზონუკლეაზური აქტიურობა.****** დნმ-პოლიმერაზა I-ის ასეთ პროცესს ე.ი. ნუკლეოტიდური ჯაჭვის პოლიმერიზაციისა და ჰიდროლიზის ერთდროული რეაქციის პროცესს ჰქვია **ნიკ (nic)-ტრანსლაცია**.

აღნიშნულის გარდა, მოცემულ ფერმენტს ახასიათებს აგრეთვე მესამე – **თვითმეაკორექტირებელი** თვისებაც, ე.ი. სანამ გააგრძელებდეს პოლიმერიზაციას, მანამ აცილებს ახალ ჯაჭვში ჩართულ არა-

* **დნმ-პოლიმერაზა I-ს** ფერმენტული აქტიურობა აღმოჩენილ იქნა 1958 წელს ა. კორნბერგის მიერ. წმინდა ფერმენტი გამოყოფილ იქნა 1964 წელს. 500 მკ ფერმენტის მისაღებად საჭიროა 100 კგ ბაქტერია E. coli-ს უჯრედები. ფერმენტის მაკოდირებელმა გენმა მიიღო სახელწოდება pol A.

** **პრაიმერი [ინგლ. prime]** – მომზადება.

*** ჯაჭვის ზრდის ასეთ პრინციპს ეწოდება **“კუდი-თავი”** ანუ **“კუდიდან ზრდა,”** სადაც “კუდი” – 3'-OH ჯგუფია, ხოლო “თავი” – ტრიფოსფატი.

**** **ეგზონუკლეაზური აქტიურობა** – ნუკლეოტიდების მოცილება ჰიდროლიზის გზით.

კომპლემენტურ (არასწორ) ფუძეებს. ეს ხდება ფერმენტის $3' \rightarrow 5'$ ეგზონუკლეაზური აქტიურობის გამო. თუ დნმ-პოლიმერაზა I ახალ ჯაჭვში ჩააშენებს (შეაერთებს) არასწორ (არაკომპლემენტურ) ნუკლეოტიდს, მაშინ თვითონ შეუძლია გამოიცნოს მისი მატრიცის ნუკლეოტიდის შესაბამისი სწორი წყვილის წარმოქმნის უუნარობა (სურ. 52). ამ დროს ფერმენტი ბრუნდება უკან და არასწორ ნუკლეოტიდს აცილებს ჯაჭვის $3'$ -ბოლოდან, რის შემდეგ ფერმენტი აერთებს სწორ ნუკლეოტიდებს, ე.ი. აღადგენს ჯაჭვის $5' \rightarrow 3'$ მიმართულებით ჩვეულებრივ დაგრძელებას. სხვა სიტყვებით, თვითკორექტირებს – ასწორებს (აღმოფხვრის) თავის შეცდომებს. ფერმენტის ამ უნარის გამო რეპლიკაციის სიზუსტე აღწევს ძალიან მაღალ მაჩვენებელს – ერთი შეცდომა ნუკლეოტიდების ყოველ 10^9 - 10^{10} წყვილზე (*E.coli*-ს მაგალითზე).

დნმ-პოლიმერაზა I-ს აღმოჩენიდან დაახლოებით 15 წლის შემდეგ ტ. კორნბერგის (შვიდი) (T. Kornberg), მ. გაფტერის (M. Gafter), პ. კნიპერსის (P. Knipers) და სხვათა მიერ გამოყოფილ იქნა კიდევ ორი დნმ-პოლიმერაზა (II და III). მათ აღნიშნავენ **pol II** და **pol III**.*

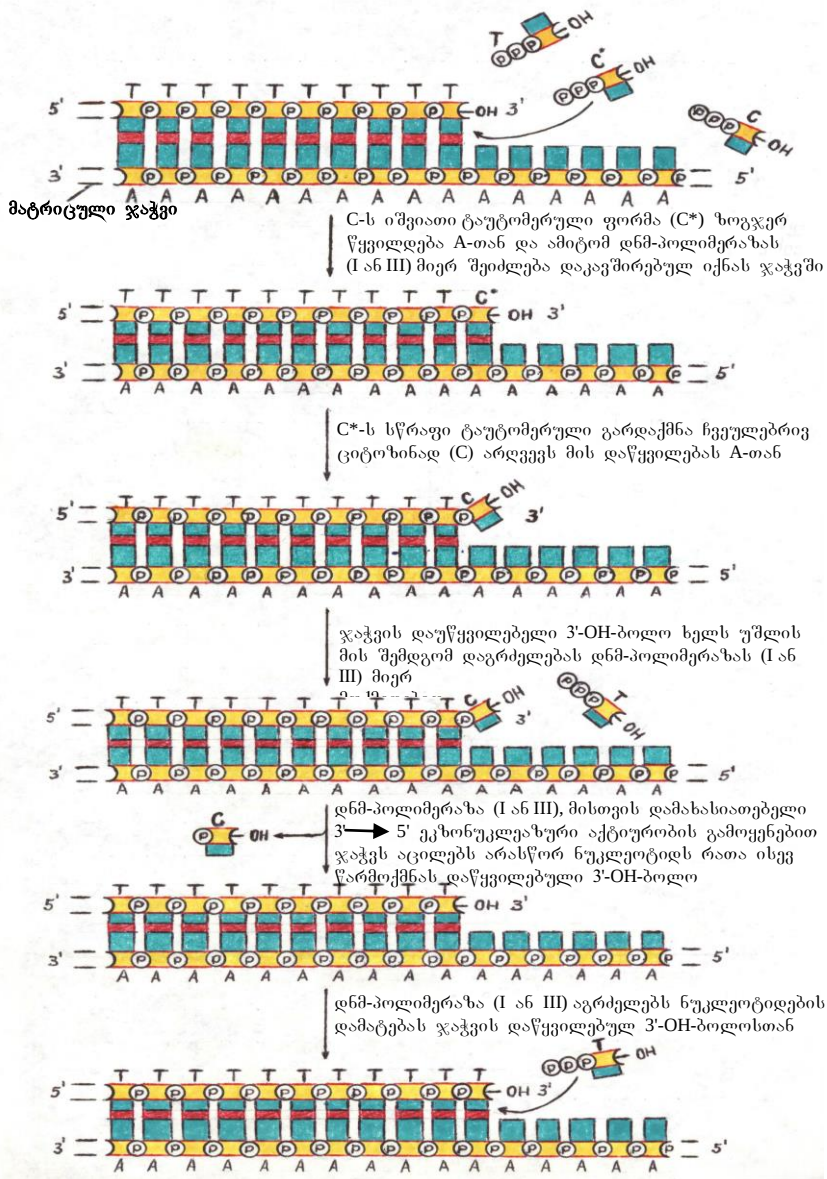
დნმ-პოლიმერაზა II-ის როლი ჯერ მთლიანად დადგენილი არ არის. მას გააჩნია $5' \rightarrow 3'$ პოლიმერაზული და $3' \rightarrow 5'$ ეგზონუკლეაზური აქტიურობა.

დნმ-პოლიმერაზა III მთავარ როლს ასრულებს რეპლიკაციის პროცესში. იგი ფუნქციონირებს ~550000 მოლეკულური მასის 7 სუბერთეულისაგან შემდგარი დიდი კომპლექსის ფორმით, რომელსაც დნმ-პოლიმერაზა III-ს ჰოლოფერმენტი** ეწოდება (სურ. 53). კომპლექსი შეიცავს Zn^{2+} იონებს და მუშაობისათვის საჭიროებს Mg^{2+} იონებს. აღნიშნულ ფერმენტს, ისე როგორც დნმ-პოლიმერაზა I-ს, რეპლიკაციის დაწყებისათვის სჭირდება ოთხივე დეზოქსირიბონუკლეოზიდტრიფოსფატი, მატრიცა და “ფაღია” (“დედო”). იგი დნმ-ს ჯაჭვს აგრძელებს (ასინთეზებს) $5' \rightarrow 3'$ მიმართულებით ახალი ნუკლეოტიდების წინა ნუკლეოტიდის $3'$ -OH ბოლოზე მიერთების გზით. დნმ-პოლიმერაზა III-ს ახასიათებს ისეთივე ფერმენტატული აქტიურობები, როგორც დნმ-პოლიმერაზა I-ს: 1) $5' \rightarrow 3'$ პოლიმერაზული აქტიურობა, 2) $5' \rightarrow 3'$ და $3' \rightarrow 5'$ ეგზონუკლეაზური აქტიურობა და 3) $3' \rightarrow 5'$ თვითმაცორექტირებელი აქტიურობა.

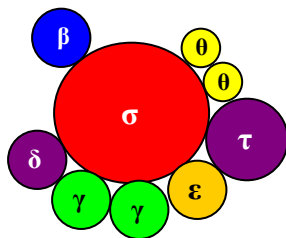
ეუკარიოტული ორგანიზმების უჯრედში აღმოჩენილია ოთხი დნმ-პოლიმერაზა: დნმ-პოლიმერაზა α , დნმ-პოლიმერაზა β , დნმ-პოლიმერაზა γ და დნმ-პოლიმერაზა δ .

* გენები, რომლებიც აკოდირებენ დნმ-პოლიმერაზა II და დნმ-პოლიმერაზა III მიიღეს სახელწოდება შესაბამისად pol B და pol E.

** ჰოლოფერმენტი [ბერმ. holos–სრული, მთლიანი] – ფერმენტის აქტიური (სრული) ფორმა.



სურ. 52. კორექციის (შეცდომების გასწორების) სქემა დნმ-ს სინთეზის დროს



სურ. 53. დნმ-პოლიმერაზა III-ს პოლოფერმენტი

დნმ-ს რეპლიკაციაში აქტიურ მონაწილეობას ღებულობს აგრეთვე განსაკუთრებული ფერმენტი **რნმ-პოლიმერაზა ანუ პრაიმაზა**.^{*} მის ფუნქციას შეადგენს დნმ-ს ახალი ჯაჭვის სინთეზის დასაწყებად ყველა დნმ-პოლიმერაზასათვის აუცილებელი “ფალიას” (პრაიმერის) სინთეზი. ექსპერიმენტულად დადგენილ იქნა, რომ “ფალიას” წარმოადგენს ი-რნმ-ს მოკლე ჯაჭვი (ფრაგმენტი) სიგრძით 10-60 ნუკლეოტიდი. ფერმენტს ჯაჭვის სინთეზის დაწყებისათვის არ სჭირდება თავისუფალი 3'-OH ჯგუფი. “ფალიას” მოკლე ფრაგმენტის სინთეზს იგი იწყებს მშობლიური ორჯაჭვიანი დნმ-ს მატრიცაზე.^{**} შემდგომ რნმ “ფალია” სცილდება (პიდროლიზდება) დნმ-პოლიმერაზა I-ს საშუალებით, რომელიც ამ დროს მოქმედებს როგორც 3'→5' ეგზონუკლეაზა. ხოლო რნმ-ს (“ფალიას”) მოცილების შემდეგ დარჩენილი რღვეული ივსება ისევ ფერმენტი დნმ-პოლიმერაზა I-ს საშუალებით, რომელიც უკვე მოქმედებს როგორც 5'→3' პოლიმერაზა (სურ. 54).

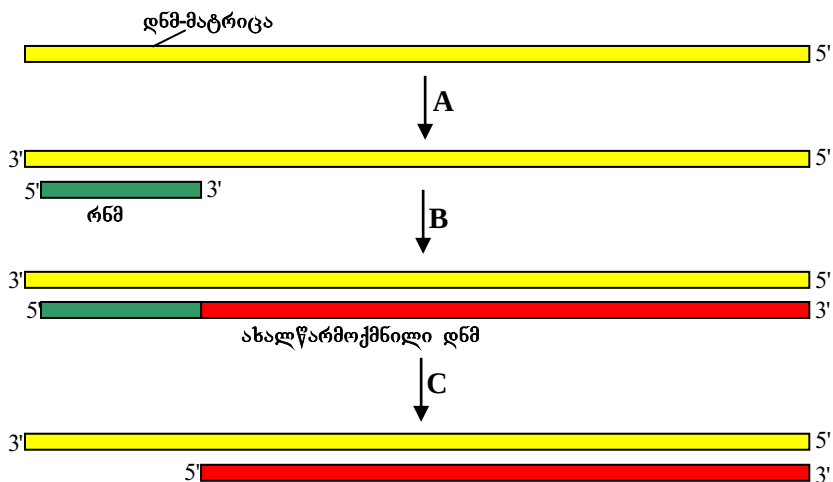
1967 წელს რამდენიმე ლაბორატორიაში ერთდროულად აღმოჩენილ იქნა ფერმენტი **დნმ-ლიაზა**, რომელიც რეპლიკაციაში კატალიზატორულ – ერთი ორსპირადიანი მოლეკულის შემადგენლობაში შემავალი დნმ-ს ჯაჭვის ფრაგმენტების შეერთების როლს ასრულებს. ეს ხორციელდება მოცემული ფერმენტის მიერ ერთი ჯაჭვის (ფრაგმენტის) 3'-OH ჯგუფსა და მეორე ჯაჭვის (ფრაგმენტის) 5'-ფოსფატურ ჯგუფს შორის ფოსფოდიტერული ბმის წარმოქმნის გზით (სურ.55). რეაქციის მექანიზმი ძალიან რთულია და აქ განხილული არ იქნება.

უჯრედებში არსებობს აგრეთვე სპეციალური ფერმენტები, რომლებიც ცნობილია **დნმ-ჰელიკაზას**^{***} (მაგ. ჰელიკაზა III, rep-ცილა და ა.შ.) სახელწოდებით. ისინი იწყვევენ უშუალოდ რეპლიკაციური “ჩანგლის” წინ მდებარე ორმაგი სპირალის მოკლე მონაკვეთების (უბნების) ხვეულის გაშლას (განცალკავებას, დენატურაციას) წყალბადური ბმების გაწყვეტის გზით. ამისათვის საჭირო ენერგია მიიღება ATP-ს

* prime [ინგლ.] – მომზადება.

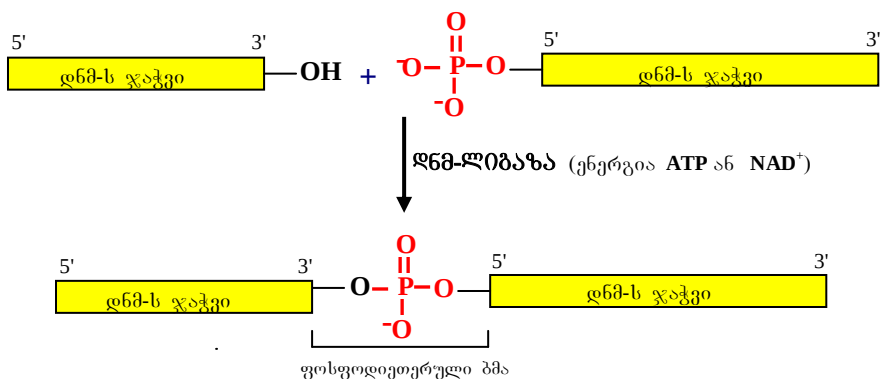
** პრაიმაზას აქტივაციისათვის სივსალს წარმოადგენს ცილა dnaB.

*** helix [ინგლ.] – სპირალი.



სურ. 54. დნმ-ს სინთეზის დაწყება ფერმენტ რნმ-პოლიმერაზას (პრაიმაზას) საშუალებით

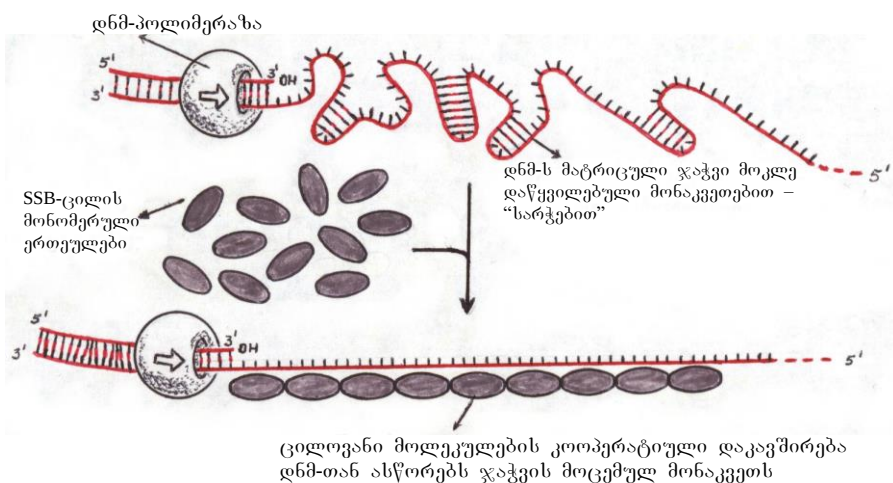
- A – პრაიმაზა ასინთეზებს რნმ-ს მოკლე კომპლემენტურ ჯაჭვს,
 B – ეს რნმ წარმოადგენს “ფალიას” ახალი დნმ-ს სინთეზისთვის,
 C – რნმ-“ფალია” ახალწარმოქმნილ ჯაჭვს სცილდება (ჰიდროლიზდება) დნმ-პოლიმერაზა I-ის ($3' \rightarrow 5'$ ეგზონუკლეაზური აქტიურობა) საშუალებით, ხოლო ამის შემდეგ დარჩენილი რღვეული ივსება ისევ დნმ-პოლიმერაზა I-ის ($5' \rightarrow 3'$ პოლიმერაზული აქტიურობა) საშუალებით.



სურ. 55. დნმ-ლიგაზა აკატალიზებს ორი ჯაჭვის (დნმ-ს ფრაგმენტების) შეერთებას

მოლეკულების ADP-მდე ჰიდროლიზის დროს. ფუძეების ყოველი წყვილის გაყოფაზე (განცალკევებაზე) იხარჯება ATP-ს დაახლოებით 2 მოლეკულა. ხვეულის გაშლა აუცილებელია იმისათვის, რომ დნმ-ს ჯაჭვებმა შეძლონ ერთმანეთისაგან დაცილება და შეასრულონ მატრიცის როლი რეპლიკაციაში.

დნმ-ს ხვეულის გაშლასთან დაკავშირებულია კიდევ ერთი ჯგუფის ცილების, სახელდობრ **SSB-ცილების*** მონაწილეობა. მათ აგრეთვე უწოდებენ **დდც-ს – დნმ-თან დაკავშირებულ ცილებს ანუ დემასტაბილიზირებულ ცილებს**. ისინი (სურ. 56) ხვეულის გაშლის შე-

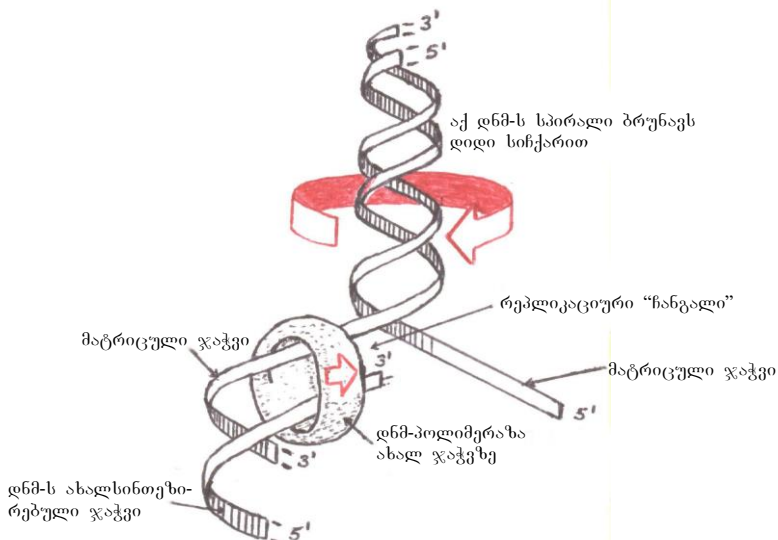


სურ. 56. SSB-ცილების მუშაობის სქემა

მდეგ გაყოფილ (განცალკევებულ) ჯაჭვებს უკავშირდებიან მტკიცედ. ასწორებენ მათ და ხელს უშლიან **კომპლემენტური წყვილების (“სარგებების”)** წარმოქმნას და ჯაჭვების კვლავ შეერთებას (რენატურაციას).

ორმაგი სპირალის ხვეულის გაშლისას რეპლიკაციური “ჩანგლის” წინ მშობლიური დნმ ბრუნავს (სურ. 57) ძალიან დიდი სიჩქარით – 100 ბრ/წმ (~100-ჯერ უფრო სწრაფად, ვიდრე ჩვეულებრივი ხანგრძლივსაკრავი ფირფიტა) და შეკრულ მოლეკულაში იწვევს დადებითი სუპერსპირალების წარმოქმნას. იმისათვის, რომ უზრუნველყოფილ იქნას ხვეულის გაშლის ნორმალური პროცესი, ე.ი. ხვეულის გაშლა გაგრძელდეს, აუცილებელია ამ დადებითი სუპერსპირალების მოხსნა (წინააღმდეგ შემთხვევაში რეპლიკაციური “ჩანგლის” წინ განლაგებული დნმ-ს მთელი ჯაჭვი უნდა ბრუნავდეს იგივე სიჩქარით)

* **Singl Strand Binding** [ინგლ.] – ცილები, დაკავშირებული ერთჯაჭვიან დნმ-თან.



სურ. 57. მშობლიური დნმ-ს ბრუნვა რეპლიკაციის დროს

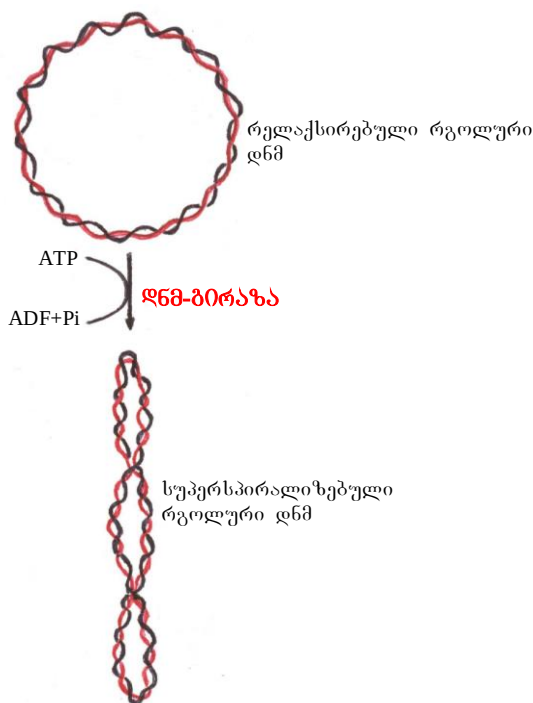
და უარყოფითი სუპერსპირალების შეყვანა.* სხვა სიტყვებით, აუცილებელია რაღაც მოლეკულური სახსრის არსებობა, რომლის გამოც დიდი სიჩქარით ბრუნვას დაიწყებს დნმ-ს მხოლოდ მოკლე მონაკვეთი. **მარტინ გელერტმა (Martin Gellert)** დაადგინა, რომ ამ ფუნქციას პროკარიოტებში ასრულებს ფერმენტი **დნმ-გირაზა,**** რომელიც მიეკუთვნება ტოპოიზომერაზების*** კლასს. აღნიშნული ფერმენტი თავის ფუნქციას ასრულებს ერთ-ერთ ჯაჭვში წვევების გამოწვევითა და შემდეგ დნმ-ს ამ ჯაჭვში ფოსფორდიეთერული ბმების აღდგენით. ამისათვის საჭირო ენერგია მიიღება ATP-ს ჰიდროლიზის დროს (სურ. 58). დნმ-გირაზას (საერთოდ ყველა დნმ-ტოპოიზომერაზას) მუშაობის ზოგადი მექანიზმი მოტანილია 59-ე სურათზე.

რეპლიკაციური "ჩანგალი." როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული, რეპლიკაციური "ჩანგალი" ეს დნმ-ს ორმაგი სპირალის ის ნაწილია, რომელშიც ხორციელდება ჯაჭვის ხვეულის გაშლა და ახალი დნმ-ს სინთეზი. რადგანაც დნმ-ს სპირალში ორი ჯაჭვი **ანტიპარალელურია** ე.ი. ერთს აქვს $5' \rightarrow 3'$, მეორეს – $3' \rightarrow 5'$ მიმართულება, ხოლო დნმ-პოლიმერაზები (I და III) კი დნმ-ს ახალი ჯაჭვის სინთეზს ახორციელებ

* რაც შეეხება დნმ-ს საზოგადოებრივ მოლეკულებს (ძირითადად ეუკარიოტები), აქ გრძელი ჯაჭვის სწრაფი ბრუნვა მოითხოვს დიდი ენერგიის ხარჯვას.

** gyration [ინგლ.] – ბრუნვა.

*** იხ. გვ. 146.

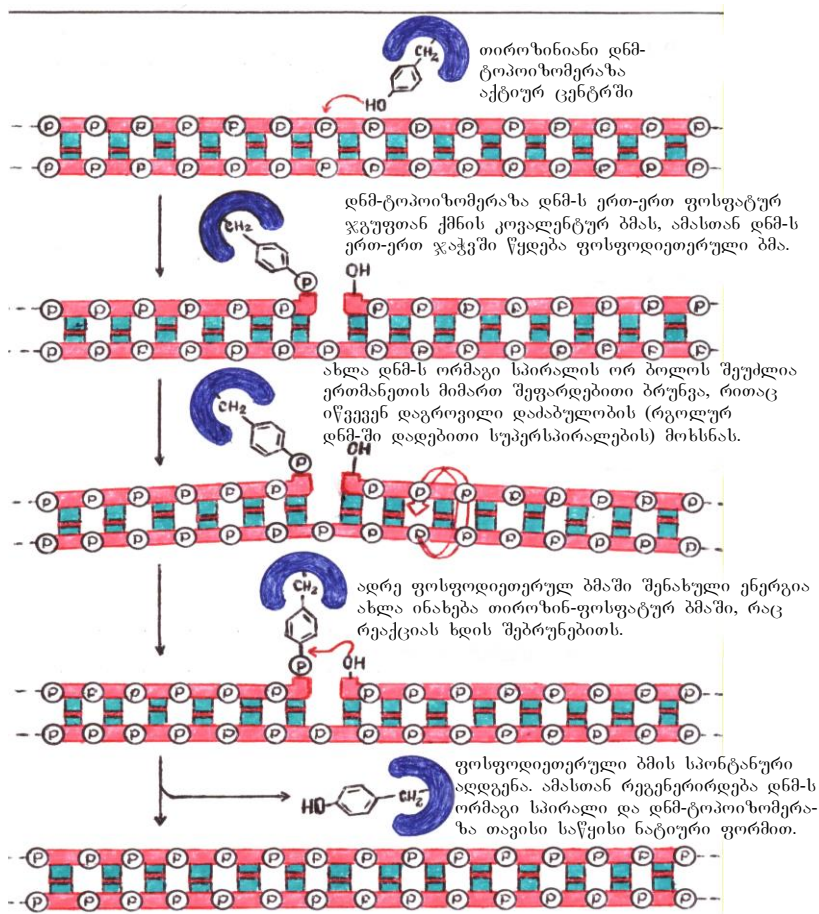


სურ. 58. უარყოფითი სუპერსპირალის წარმოქმნა
დნმ-ბირაზას საშუალებით

ბენ მხოლოდ $5' \rightarrow 3'$ მიმართულებით, წარმოიშვა კითხვა: როგორ ხდება ერთ-ერთი შეიღებული ჯაჭვის სინთეზი $3' \rightarrow 5'$ მიმართულებით? ამის ასახსნელად გამოთქმულ იქნა რამდენიმე ჰიპოთეზა. ერთ-ერთი მათგანის მიხედვით შეიძლება არსებობს დნმ-პოლიმერაზების ორი კლასი. ერთი მათგანი ჯაჭვს ასინთეზებს $5' \rightarrow 3'$ მიმართულებით, როგორც ეს ნაჩვენებია 51-ე სურათზე, ხოლო მეორე გადაადგილდება $3' \rightarrow 5'$ მიმართულებით და აკატალიზებს ჯაჭვის სინთეზს ეგრეთ წოდებული “თავიდან ზრდის” (ანუ “თავი-კუდი”-ს)* პრინციპით, სადაც ყოველი მომდევნო ნუკლეოტიდის მიერთებისათვის საჭირო ენერგია დნმ-ს მზარდი ჯაჭვის ბოლოშია (სურ. 60). თუმცა, როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული ასეთი ($3' \rightarrow 5'$) დნმ-პოლიმერაზა არ არსებობს. არ დადასტურდა აგრეთვე სხვა ჰიპოთეზებიც.

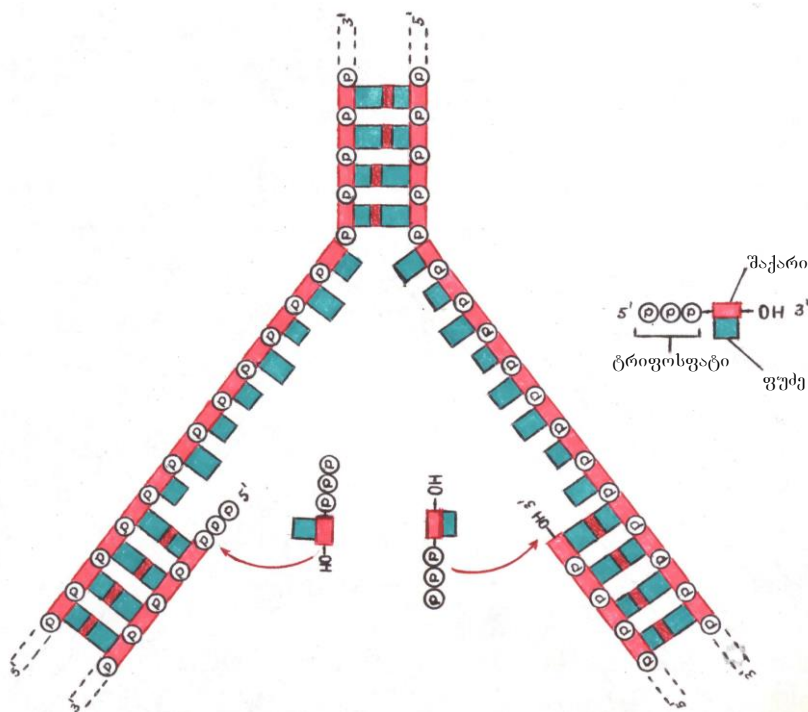
პრობლემა გადაწყვეტილ იქნა იაპონელი მეცნიერის რეიჯი ოკაზაკის (Reiji Okazaki) 1966 წლის აღმოჩენით. მან დაადგინა, რომ

* სადაც “თავი” – ტრიფოსფატი, ხოლო ‘კუდი’ – $3'$ -OH ჯგუფი.



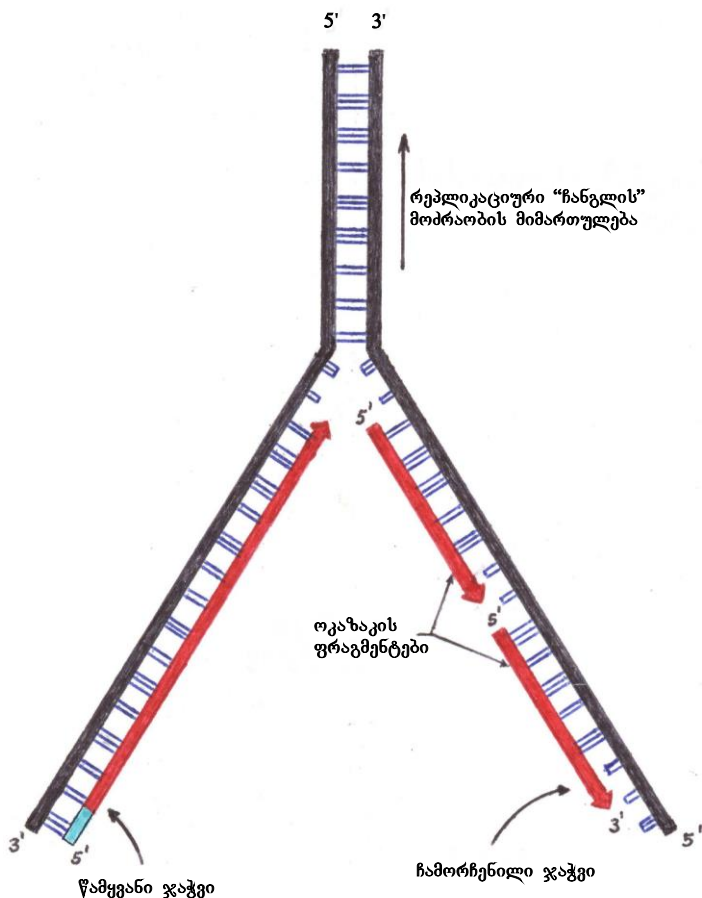
სურ. 59. დნმ-ტოპოიზომერაზების მუშაობის მექანიზმი

ახალ სინთეზირებული დნმ-ს დიდი ნაწილი არსებობს მოკლე ფრაგმენტების სახით, რომლებმაც შემდეგში მიიღეს ოკაზაკის ფრაგმენტების სახელწოდება. პროკარიოტებში ამ ფრაგმენტის სიგრძე შეადგენს დაახლოებით 1000-2000 ნუკლეოტიდს, ხოლო ეუკარიოტებში გაცილებით ნაკლებს – 100-200 ნუკლეოტიდს. გარკვეულ იქნა, რომ ამ ფრაგმენტების სინთეზი მიმდინარეობს მხოლოდ 5'→3' მიმართულებით ე.ი. “კუდი-თავი”-ს პრინციპით. ოკაზაკიმ დაამტკიცა, რომ ეს ფრაგმენტები წარმოადგენენ დნმ-ს შვიდეული ჯაჭვის მოკლე მონაკვეთებს, რომლებიც წარმოიქმნება წვეტილი რეპლიკაციის შედეგად,



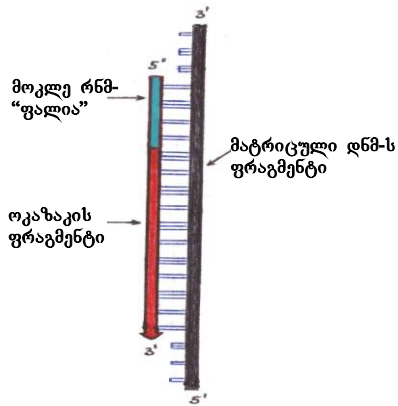
სურ. 60. დნმ-ს რეპლიკაციის არასწორი მექანიზმი

და შემდეგ ერთმანეთს უერთდებიან ერთ ჯაჭვში. ამის შემდეგ დადგინდა, რომ რეპლიკაციური “ჩანგალი” წარმოადგენს **ასიმეტრიულს** (სურ. 61). დნმ-ს ორი სინთეზირებადი შვილეული ჯაჭვიდან ერთი შენდება განუწყვეტლივ $5' \rightarrow 3'$ მიმართულებით, ე.ი. რეპლიკაციური “ჩანგლის” მოძრაობის მიმართულებით. მას ეწოდება **წამყვანი ანუ ლიდერი** ჯაჭვი. ხოლო მეორე ჯაჭვი სინთეზირდება წყვეტილად მოკლე ფრაგმენტების (ოკაზაკის ფრაგმენტების) წარმოქმნით ასევე $5' \rightarrow 3'$ მიმართულებით, მაგრამ უკვე რეპლიკაციური “ჩანგლის” მოძრაობის საპირისპირო ($3' \rightarrow 5'$) მიმართულებით, ე.ი. **“ქსოვა ნემსით უკან” (backstitching mechanism)** პრინციპის მიხედვით. უნდა აღინიშნოს, რომ ოკაზაკის ფრაგმენტის სინთეზისათვის აუცილებელია რამდენიმე რიბონუკლეოტიდისაგან (ეუკარიოტებში ~ 10 ნუკლეოტიდი) შემდგარი **რნმ-“ფალია”**, რომელსაც ასინთეზებს ფერმენტი პრაიმაზა (სურ. 62). შემდეგ ოკაზაკის ეს ფრაგმენტები ერთმანეთს უერთდება ფერმენტ **დნმ-ლიგაზას** საშუალებით, რომელიც აკატალიზებს ფოსფოდიეთ-

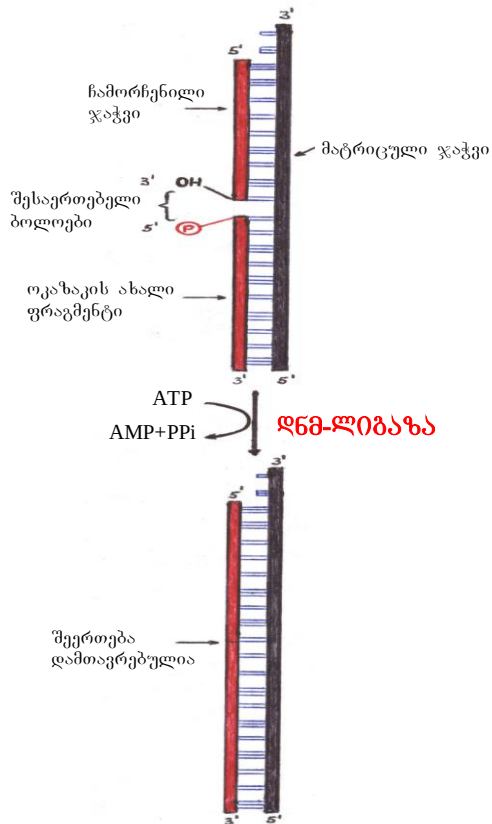


სურ. 61. დნმ-ს ერთ-ერთი ჯაჭვის წყვეტილი რეპლიკაცია ოკაზაკის ფრაგმენტების სახით

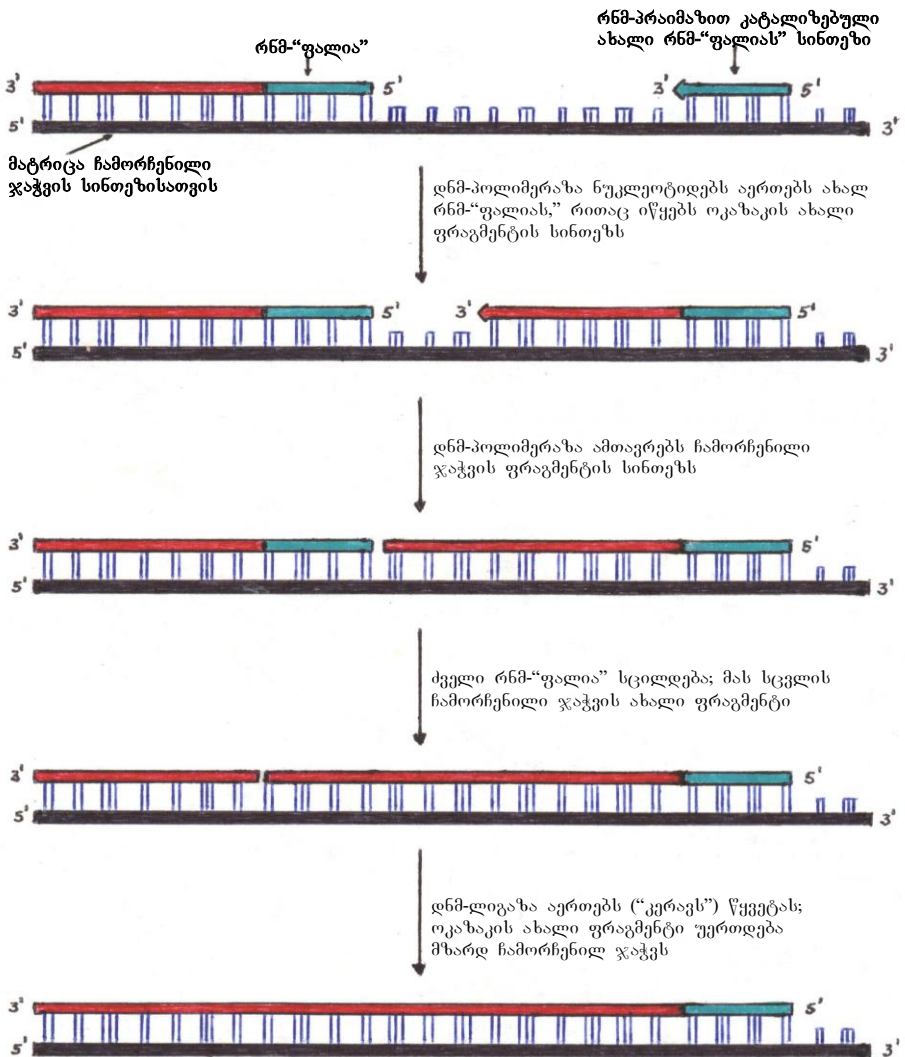
რული ბმის წარმოქმნას დასაგრძელებელი დნმ-ს ბოლოზე არსებულ 3'-OH ჯგუფსა და ახალსინთეზირებულ ოკაზაკის ფრაგმენტის 5'-ფოსფატურ ჯგუფს შორის (სურ. 63). შედეგად წარმოიქმნება მეორე შვილური ჯაჭვი (სურ. 61), რომელსაც ეწოდება **წამორჩენილი ანუ მინორული ჯაჭვი**, რადგანაც მისი სინთეზი ზემოთაღნიშნული პროცესების გამო მიმდინარეობს უფრო ნელა, ვიდრე პირველის. დნმ-ს წამორჩენილი ჯაჭვის მოკლე ფრაგმენტების (ოკაზაკის ფრაგმენტების) სინთეზის ცალკეული ეტაპები სქემატურად ნაჩვენებია 64-ე სურათზე.



სურ. 62. ოკაზაკის ფრაგმენტების სინთეზი რნმ-“ფალიას” მონაწილეობა



სურ. 63. ოკაზაკის ფრაგმენტების შეერთება დნ-ლიგაზას საშუალებით



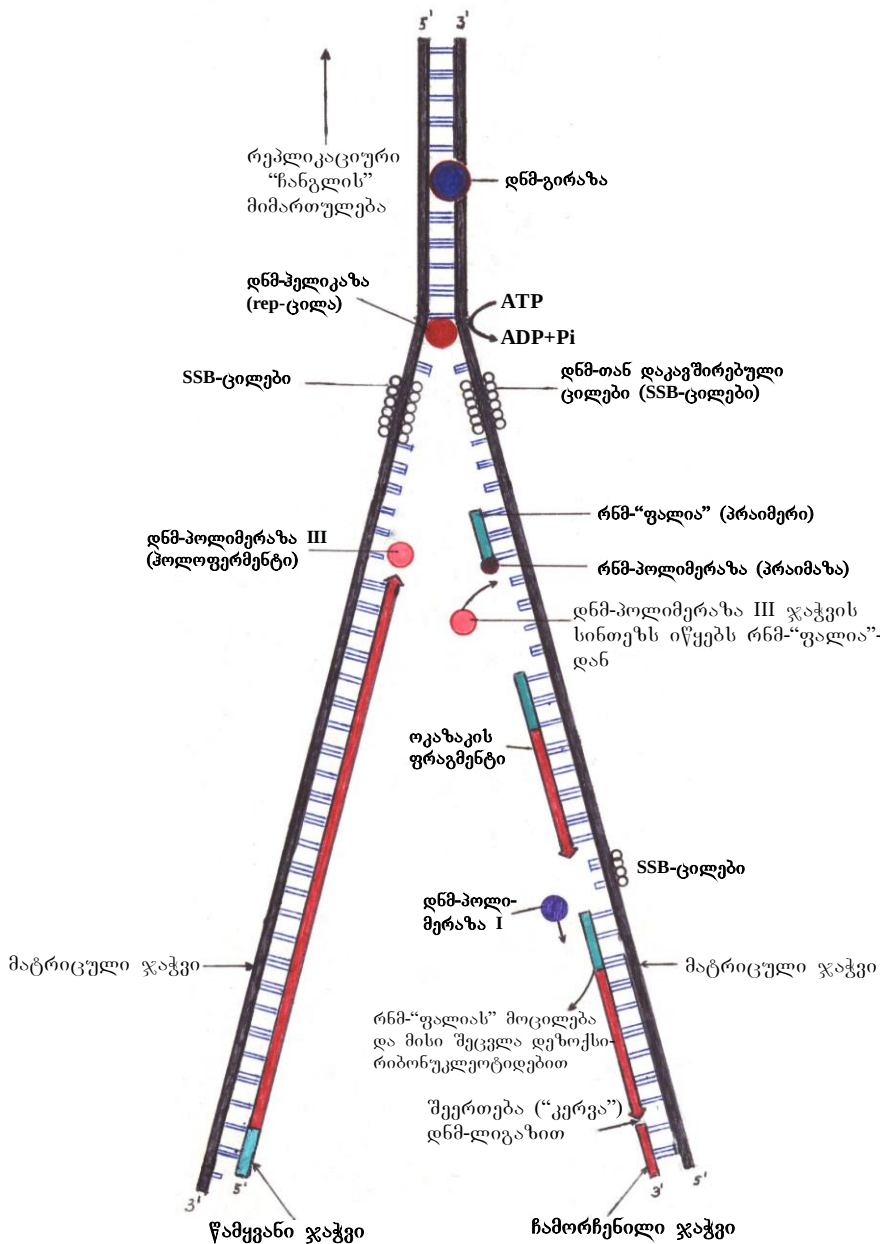
სურ. 64. დნმ-ს ჩამორჩენილი ჯაჭვის ფრაგმენტების სინთეზის ცალკეული ეტაპები

2.7.1.3. დნმ-ს რეპლიკაციის მოლეკულური მექანიზმის ზოგადი სქემა

დნმ-ს რეპლიკაცია (სურ. 65) იწყება დნმ-ს მოლეკულის გარკვეულ წერტილში (რეპლიკაციის **ori**). ერთ-ერთ ჯაჭვში ფერმენტ **დნმ-გირაზას** (ტოპოიზომერაზა I) მოქმედებით წყდება ფოსფოდიეტერული ბმა (რომელიც შემდეგ ისევ აღდგება). ფერმენტი იწყებს უარყოფითი სუპერსპირალების წარმოქმნას და ამით ხელს უწყობს დნმ-ს ორმაგი სპირალის ხვეულის ნორმალურ გაშლას. წარმოიქმნება რეპლიკაციური “ჩანგალი”. დნმ-ს ორმაგი სპირალის მოკლე მონაკვეთების ხვეულის უშუალო გაშლას იწყებს რეპლიკაციური “ჩანგლის” წინ მდებარე **დნმ-ჰელიკაზა** ფერმენტები. ხვეულის გაშლის შემდეგ განცალკევებულ (გაყოფილ) ჯაჭვებს უკავშირდება **SSB-ცილები ანუ დნმ-თან დაკავშირებული ცილები**, რომლებიც ასწორებენ მათ და ამით ხელს უშლიან ჯაჭვების კვლავ შეერთებას. ამის შემდეგ იწყება ახალი შვილეული ჯაჭვების სინთეზი. რეპლიკაციური “ჩანგლის” წამყვან ანუ ლიდერ ჯაჭვში ($5' \rightarrow 3'$) ნუკლეოტიდების სინთეზი ხორციელდება განუწყვეტლივ “ელვა” შესაკრავის მსგავსად ფერმენტ **დნმ-პოლიმერაზა III-ის** საშუალებით. აღნიშნულ ფერმენტს ჯაჭვის სინთეზის დასაწყებად სჭირდება **რნმ-“ფაღია” (პრაიმერი)**, ამას კი ახორციელებს ფერმენტი **რნმ-პოლიმერაზა (პრაიმაზა)**. რნმ-“ფაღია” შემდეგ ჯაჭვიდან სცილდება ფერმენტ **დნმ-პოლიმერაზა I-ს** საშუალებით. ჩამორჩენილ ანუ მინორულ ჯაჭვში ნუკლეოტიდების სინთეზი მიმდინარეობს უფრო რთულად, წყვეტილად და ნელა. აქ ჯერ ფერმენტ **დნმ-პოლიმერაზა III-ს** საშუალებით სინთეზირდება ოკაზაკის ცალკეული ფრაგმენტები $5' \rightarrow 3'$ მიმართულებით. მათთვის სინთეზის დასაწყებად აუცილებელია ფერმენტ **რნმ-პოლიმერაზას (პრაიმაზას)** მიერ სინთეზირებული **რნმ-“ფაღია”** სიგრძით დაახლოებით 10 ნუკლეოტიდი, რომელიც შემდეგ სცილდება. ხოლო რღვეული ივსება ფერმენტ **დნმ-პოლიმერაზა I-ს** მიერ სინთეზირებული დეზოქსირიბონუკლეოტიდებით. ამ ჯაჭვის სინთეზის ბოლო ეტაპზე ოკაზაკის ცალკეული ფრაგმენტები ერთმანეთს უერთდება (მიეკერება) ფერმენტ **დნმ-ლიგაზას** საშუალებით.

ზემოთაღნიშნული რთული, მრავალეტაპიანი პროცესის შედეგად **მშობლიური (დედისეული) ორსპირალიანი დნმ-დან წარმოიქმნება დნმ-ს ორი შვილეული მოლეკულა**, სადაც ერთი ჯაჭვი წარმოადგენს **მშობლიურს (დედისეულს)**, ხოლო მეორე – **ახალსინთეზირებულს**. ასეთნაირად ხდება უჯრედის მემკვიდრული ნივთიერების მატერიალური უწყვეტობის უზრუნველყოფა.

უჯრედში დნმ-ს რეპლიკაცია მიმდინარეობს ინტერფაზის პერიოდში S სტადიაზე.



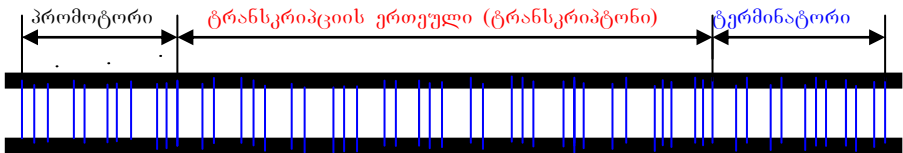
სურ. 65. დნმ-ს რეპლიკაციის მოლეკულური მექანიზმის სქემატური გამოსახულება

2.7.2. ტრანსკრიპცია

ტრანსკრიპცია წარმოადგენს გენეტიკური (მემკვიდრული) ინფორმაციის რეალიზაციის (გადაწერის) მეორე ეტაპს, რომელზეც **დნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის ასლის გადაღება*** ხდება **რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის სახით**, ე.ი. ტრანსკრიპციის პროცესში ადგილი აქვს **რნმ-ს ჯაჭვის სინთეზს**.

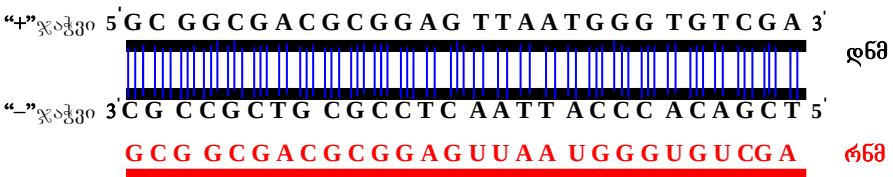
ტრანსკრიპციის სიჩქარე 37°C ტემპერატურაზე ტოლია დაახლოებით 30 ნუკლეოტიდის 1 წამში, ე.ი. 5000 ნუკლეოტიდიანი რნმ-ს ჯაჭვის სინთეზი გრძელდება დაახლოებით 3 წუთს.

რნმ-ს მოლეკულების სინთეზი იწყება დნმ-ს გარკვეულ ადგილებში, რომელსაც **პრომოტორი** ეწოდება და მთავრდება ევრეთ წოდებულ **ტერმინატორში**** (სურ. 66). დნმ-ს მონაკვეთი, შემოსაზღვრუ-



სურ. 66. ტრანსკრიბირებადი დნმ

ლი პრომოტორითა და ტერმინატორით წარმოადგენს **ტრანსკრიპციის ერთეულს – ტრანსკრიპტონს**. ყოველი ტრანსკრიპტონის ფარგლებში დნმ-ს ორი ჯაჭვიდან ასლის გადაღება (ტრანსკრიბირება) ხდება მხოლოდ ერთი ჯაჭვიდან (სურ. 67), რომელსაც ჰქვია **დნმ-ს “+”**



სურ. 67. დნმ-ს ორი ჯაჭვიდან ასლის გადაღება (ტრანსკრიბირება) ხდება მხოლოდ ერთი ჯაჭვიდან

ჯაჭვი ანუ დნმ-ს ნიშნული ჯაჭვი. ეუკარიოტებში ტრანსკრიპტონის შემადგენლობაში, როგორც წესი, შედის მხოლოდ ერთი გენი ე.ი. წარმოადგენს მონოგენურს. პროკარიოტების ტრანსკრიპტონებს ხში-

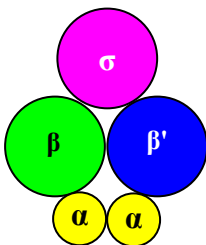
* ტრანსკრიპციის ცალკეულ აქტში ასლის გადაღება ხდება არა მთელი დნმ-ს, როგორც რეგულიაციის დროს, არამედ მხოლოდ დნმ-ს ცალკეული უბნების.

** პრომოტორისა და ტერმინატორის სტრუქტურა და ფუნქცია დაწვრილებით განხილულია ნაწილში – “გენეტიკური ინჟინერია.”

რად უწოდებენ **ოპერონებს**. ბევრი მათ შორის შეიცავს რამდენიმე, ჩვეულებრივ ფუნქციონალურად დაკავშირებულ გენს, ე.ი. წარმოადგენენ პოლიგენურს. ტრანსკრიპციის პროცესი პროკარიოტებში და ეუკარიოტებში არსებითად განსხვავებულია.

2.7.2.1. ტრანსკრიპციის შერმენტები

პროკარიოტებში ტრანსკრიპციისათვის გამოიყენება მხოლოდ ერთი ფერმენტი – **დნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზა**. აღნიშნული ფერმენტი გამოყოფილ იქნა 1959 წელს. იგი შედგება ორი α , ერთი β , ერთი β' და ერთი σ სუბნაწილაკისაგან (სურ. 68). მათ კომპლექსს ეწოდება **პოლოფერმენტი ($\alpha_2\beta\beta'\sigma$)** და აქვს დაახლოებით 500 კილო-

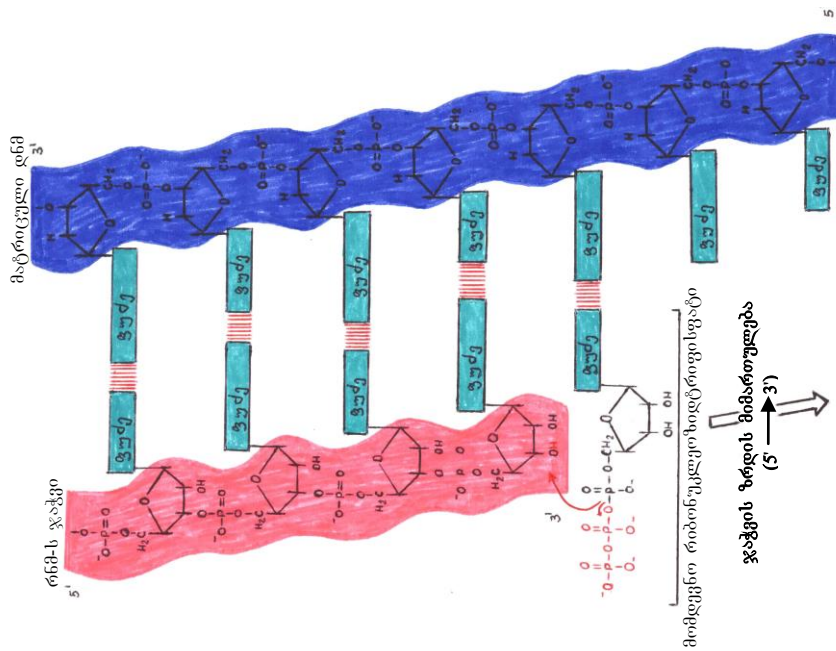


სურ. 68. დნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზა (პოლოფერმენტი)

დალტონი მოლეკულური მასა. ფერმენტს σ -სუბნაწილაკის გარეშე ($\alpha_2\beta\beta'$) ჰქვია **მინიმალური ფერმენტი ანუ “კორ”-ფერმენტი***. ფერმენტის კატალიზური უბანი მდებარეობს “კორ”-ფერმენტში. β' -სუბნაწილაკი მონაწილეობს დნმ-ს მატრიცასთან დაკავშირებაში, ხოლო β -ნაწილაკი – სუბსტრატების – რიბონუკლეოზიდრიფოსფატების დაკავშირებაში. σ -სუბნაწილაკი მონაწილეობს ტრანსკრიპციის საწყისი უბნის (ე.ი. პრომოტორის) შერჩევაში. რნმ-ს ჯაჭვის სინთეზისათვის ფერმენტ რნმ-პოლიმერაზას** სჭირდება სუბსტრატის სახით ოთხივე რიბონუკლეოზიდრიფოსფატი (ATP, GTP, UTP, CTP) და აგრეთვე Mg^{2+} იონები. ფერმენტი რნმ-ს ჯაჭვს აგრძელებს რნმ-ს მოლეკულის 3'-OH ბოლოზე რიბონუკლეოტიდების მონომერების მიერთების გზით, ე.ი. რნმ-ს ჯაჭვს აშენებს 5'→3' მიმართულებით. რნმ-პოლიმერაზა თავისი ფუნქციონირებისათვის აუცილებლად საჭიროებს დნმ-მატრიცას (“–” ჯაჭვს) (სურ. 69). როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული, ადგილი

* core [ინგლ.] – გული.

** რნმ-პოლიმერაზას დამახასიათებელ თავისებურებას წარმოადგენს აგრეთვე ის, რომ რნმ-ს ჯაჭვის სინთეზისათვის არ საჭიროებს “ფალიას” (“დედოს”).



სურ. 69. რნმ-ს ჯაჭვის სინთეზი რნმ-პოლიმერაზას საშუალებით

აქვს დნმ-ს მხოლოდ ერთი ჯაჭვის ტრანსკრიბირებას. დნმ-მატრიცის ადენინის (A) შესატყვის ადგილზე რნმ-ს ახალსინთეზირებულ ჯაჭვში ჩართულია ურაცილი (U), თიმინის (T) შესატყვის ადგილზე – ადენინი (A), გუანინის (G) შესატყვის ადგილზე – ციტოზინი (C), ხოლო ციტოზინის (C) შესატყვის ადგილზე – გუანინი (G) (სურ. 67).

ტრანსკრიპციისათვის ეუკარიოტების ბირთვში არსებობს სამი სახის დნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზა (ცხრილი 7). **რნმ-პოლი-**

უშვარიოტული რნმ-პოლიმერაზები და მათ მიერ სინთეზირებული პროდუქტები

ცხრილი 7

ფერმენტი	პროდუქტი
რნმ-პოლიმერაზა I (A)	5.8S-, 18S-, 28S-რ-რნმ
რნმ-პოლიმერაზა II (B)	მ-რნმ
რნმ-პოლიმერაზა III (C)	ტ-რნმ; 5S-რ-რნმ

მერაზა I (ანუ რნმ-პოლიმერაზა A სხვა ნომენკლატურით) ლოკალიზებულია ბირთვაკში და ძირითადად მონაწილეობს 5.8S-, 18S-, 28S-რნმ-ს სინთეზში. **რნმ-პოლიმერაზა II (B)** ლოკალიზებულია ნუკლეოპლაზმაში და ახორციელებს მ-რნმ-ს სინთეზს. **რნმ-პოლიმერაზა III (C)** ასევე ლოკალიზებულია ნუკლეოპლაზმაში და მონაწილეობს ტ-რნმ-ს და 5S-რ-რნმ-ს სინთეზში. რნმ-ს ჯაჭვის დაგრძელება ეუკარიოტული დნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზას საშუალებით ხდება ისეთივე წესით, როგორც პროკარიოტული ფერმენტის დროს. მაგრამ ეს ფერმენტები ერთმანეთისაგან განსხვავდება თავიანთი სუბნაწილაკების სტრუქტურითა და რეგულატორული ელემენტებით.

2.7.2.2. ტრანსკრიპციის ციკლი

ტრანსკრიპციის ციკლი როგორც პროკარიოტებში, ისე ეუკარიოტებში იყოფა ოთხ ძირითად სტადიად (რომელთაგან თითოეული თავის მხრივ შედგება მრავალი ელემენტარული ეტაპისაგან): 1) **ფერმენტის დაკავშირება დნმ-თან**, 2) **რნმ-ს ჯაჭვის ინიციაცია**, 3) **რნმ-ს ჯაჭვის ზრდა (ელონგაცია)**, 4) **რნმ-ს ჯაჭვის ტერმინაცია (შეწყვეტა)**.

ტრანსკრიპციის ციკლი უფრო დეტალურადაა შესწავლილი პროკარიოტებში, ვიდრე ეუკარიოტებში. ამიტომ მასი აღწერა მოხდება ბაქტერია E.coli-ს რნმ-პოლიმერაზასათვის კარგად შესწავლილი ციკლის მაგალითზე.

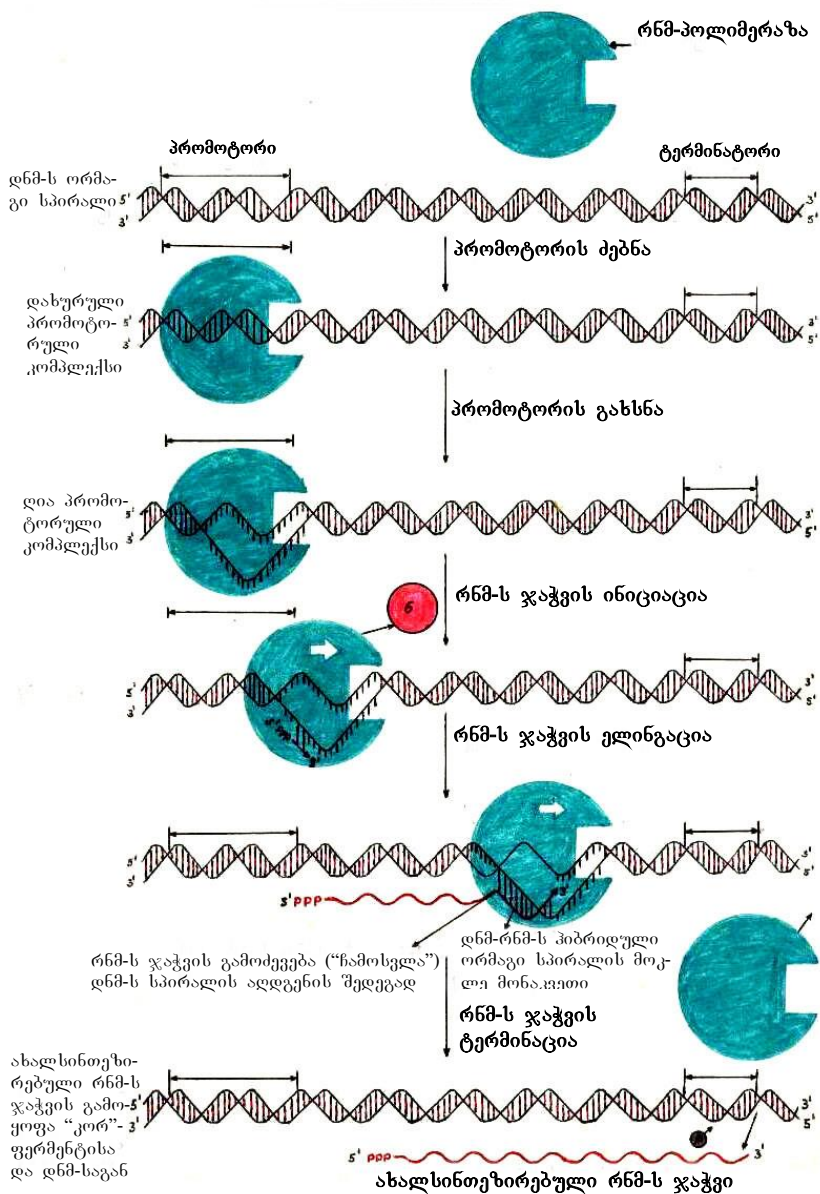
ტრანსკრიპციის ციკლი (სურ. 70) იწყება რნმ-პოლიმერაზას დაკავშირებით პრომოტორთან* – დნმ-ს მკაცრად განსაზღვრულ მონაკვეთთან (უბანთან), საიდანაც იწყება რნმ-ს სინთეზი. პრომოტორების ძეხნის მექანიზმი არასაკმარისადაა შესწავლილი; გარაუდობენ, რომ ფერმენტის მოლეკულები უერთდებიან დნმ-ს ორმაგი სპირალის შემთხვევით ადგილებს, გარკვეული დრო გადაადგილდებიან მასში, შემდეგ სცილდებიან და კვლავ უერთდებიან დნმ-ს მანამ, სანამ არ აღმოჩნდებიან პრომოტორზე.

პრომოტორზე მოხვედრის შემდეგ რნმ-პოლიმერაზა მასთან ქმნის ეგრეთ წოდებულ **დახურულ პრომოტორულ კომპლექსს**, რომელშიც დნმ ინარჩუნებს ორსპირალიან სტრუქტურას. შემდეგ ადგილი აქვს დნმ-ს ორმაგი სპირალის ხვეულის ლოკალურ (მას უწოდებენ **სასტარტო წერტილს**) გაშლას (დაახლოებით ერთ ხვიაზე) და წარმოიქმნება **ღია პრომოტორული კომპლექსი**.

შემდეგ სტადიას წარმოადგენს – **რნმ-ს ჯაჭვის ინიციაცია**. აქ ფერმენტი დნმ-ს “–” ჯაჭვზე იწყებს რნმ-ს მოლეკულების სინთეზს. პირველ რიბონუკლეოტიდს ჩვეულებრივ წარმოადგენს **A** ან **G**, რომლებიც თავიანთ ტრიფოსფატურ ჯგუფს (აღინიშნება **ppp**; სურ. 70) ინარჩუნებენ ტრანსკრიპციის მთელი პროცესის მანძილზე. ჯაჭვში მომდევნო რიბონუკლეოტიდები უერთდება წინა რიბონუკლეოტიდის 3'-OH ჯგუფს პიროფოსფატის (ppi) განთავისუფლებით. აღნიშნული სტადია მთავრდება დახლოებით 8-10 რიბონუკლეოტიდის მიერთების შემდეგ.

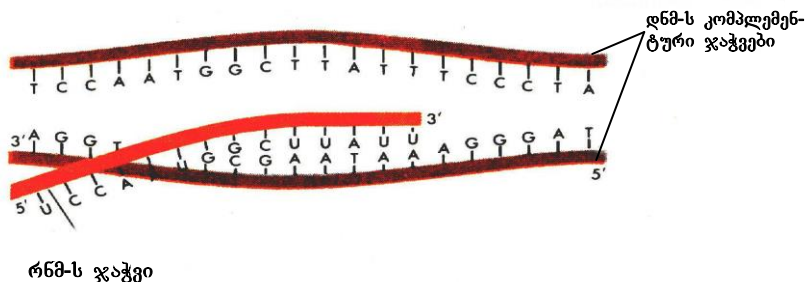
ელონგაციის სტადიაზე, ე.ი. რნმ-ს ჯაჭვის შემდგომ დაგრძელებაზე, ფერმენტი რნმ-პოლიმერაზა განიცდის სტრუქტურულ ცვლილებას. ელონგაციის დასაწყისშივე კომპლექსიდან (ჰოლოფერმენტიდან) გამოიყოფა **σ-სუბნაწილაკი** და რჩება “**კორ**”- ფერმენტი (**α₂β**’), რომელიც აკატალიზებს რნმ-ს ჯაჭვის შემდგომ დაგრძელებას. ამ დროს ჯაჭვს უერთდება ის რიბონუკლეოზიდტრიფოსფატები, რომლებიც დნმ-ს “–” ჯაჭვთან ქმნიან კომპლემენტურ წყვილებს. დნმ-ს ჯაჭვის გასწვრივ მოძრაი “**კორ**”-ფერმენტი მოქმედებს “**ელვა**” შესაკრავის მსგავსად – “**ხსნის**” ორმაგ სპირალს, რომელიც ფერმენტის უკან იკეტება მას შემდეგ რაც რნმ-ს შესაბამისი ფუძეები დაწყვილდება დნმ-ს ფუძეებთან “–” ჯაჭვში. ფერმენტის მიერ “**გახსნილი**” დნმ-ს მონაკვეთი სიგრძით შეადგენს მხოლოდ რამდენიმე წყვილ ფუძეს. ამრიგად, ტრანსკრიპციის პროცესში რნმ-ს ახალსინთეზირებული ჯაჭვი ქმნის

* მას ასევე ეწოდება **რნმ-პოლიმერაზასათვის სტარტ-სიგნალი**.



სურ. 70. ტრანსკრიპციის ციკლი

(დნმ-ს “–” ჯაჭვთან) დნმ – რნმ-ს ჰიბრიდული ორმაგი სპირალის მონაკვეთებს. ჰიბრიდული დუბლექსი არსებობს მხოლოდ მცირე დროით, რადგანაც სინთეზის შემდეგ რნმ მალე “ჩამოდის” დნმ-დან (სურ. 70). 71-ე სურათზე ნაჩვენებია რნმ მოლეკულის სინთეზი დნმ-ს



სურ. 71. რნმ-მოლეკულის სინთეზი დნმ-ს ლოკალურად გაშლილ მონაკვეთზე

ლოკალურად გაშლილ მონაკვეთზე.

რნმ-ს ჯაჭვის ტერმინაცია (ზრდის შეწყვეტა) ხდება დნმ-ს სპეციალურ მონაკვეთზე – ტერმინატორზე.* აქ რნმ-ს სინთეზის შეწყვეტაში, გარდა მონაკვეთის სტრუქტურული თავისებურებებისა, მნიშვნელოვან როლს თამაშობს აგრეთვე ρ-ცილები. ტერმინატორში ხდება მზა რნმ-ს გამოყოფა დნმ-სა და რნმ-პოლიმერაზასაგან (“კორ“-ფერმენტისაგან).

2.7.2.3. პირველადი ტრანსკრიპტების პროცესინგი

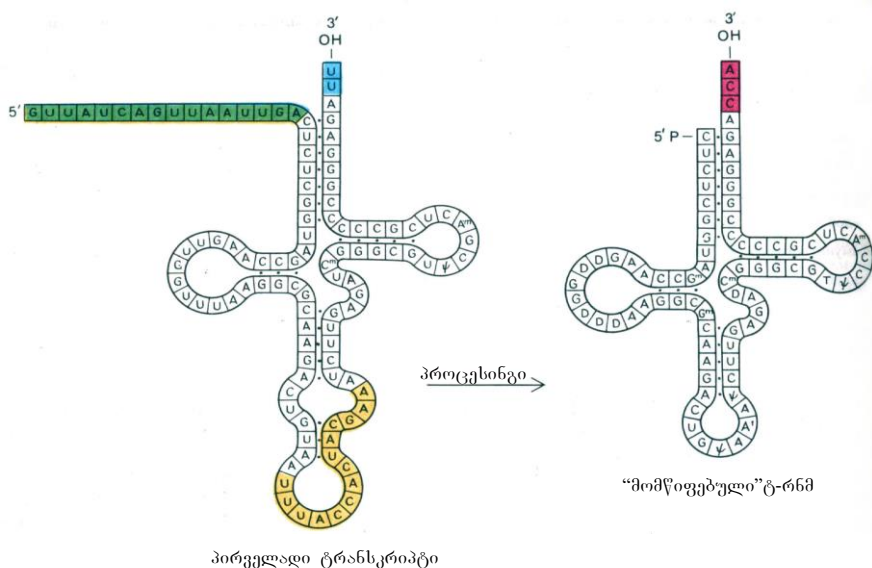
რნმ-პოლიმერაზას საშუალებით სინთეზირებული რნმ-ს პირველადი ტრანსკრიპტები წარმოადგენს გარკვეული ფუნქციონალური რნმ-ს (მ-რნმ, ტ-რნმ, რ-რნმ) წინამორბედს (ე.ი. წინ-რნმ ანუ პრო-რნმ). ჩვეულებრივ ისინი განიცდიან შემდგომ ფერმენტულ მოდიფიცირებას და მომწიფებულ რნმ-ად გარდაქმნას, რის შემდეგ ხდებიან ფუნქციონალურად აქტიური. ამ პროცესს ჰქვია პოსტტრანსკრიპციული პროცესინგი ანუ “მომწიფება.” პროცესინგი აღინიშნება პროკარიოტულ უჯრედებშიც, მაგრამ განსაკუთრებით რთულია უჯრედული რნმ-ს წინამორბედების გარდაქმნა ეუკარიოტულ უჯრედებში.

რნმ-ს პირველადი ტრანსკრიპტის გარდაქმნის ხასიათი და ხარისხი დამოკიდებულია რნმ-ს ტიპზე.

მ-რნმ-ს მოლეკულები პროკარიოტებში არ ექვემდებარებიან პრო-

* მას ასევე ეწოდება რნმ-პოლიმერაზასათვის სტოპ-სიგნალი

ცესინგს. ტ-რნმ-ს მოლეკულები როგორც პროკარიოტებში, ისე ეუკარიოტებში თავიდან სინთეზირდება წინ-ტრნმ-ს (ანუ პრო-ტრნმ) სახით, რომელიც დაახლოებით 20%-ით გრძელია, ვიდრე შესაბამისი ტ-რნმ.* ზედმეტი თანმიმდევრობები, განლაგებული 5'- და 3'- ბოლოებზე, სცილდება სპეციფიკური ფერმენტების რიბონუკლეაზების საშუალებით.** ზოგჯერ წინ-ტრნმ-ს (პრო-ტრნმ-ს) მოლეკულები შედგება ტ-რნმ-ს ორი ან მეტი ერთმანეთთან შეერთებული მოლეკულისაგან. მათი განცალკევება ასევე ხორციელდება რიბონუკლეაზების საშუალებით.*** თუ ტ-რნმ-ს 3'- ბოლოზე არა აქვს CCA-ბოლო თანმიმდევრობა, მაშინ მას ეს ფუძეები უერთდება პოსტტრანსკრიპციული პროცესინგის დროს. ყველა ტ-რნმ შეიცავს ეგრეთ წოდებულ **მინორულ** ფუძეებს (მაგ. ინოზიტი (I), დიჰიდროურიდინი (U), ფსეუდოურიდინი (Ψ)), რომლებიც წარმოადგენენ ოთხი ძირითადი ფუძის (A, G, C და U) ქიმიურად მოდიფიცირებულ ფორმებს. მოდიფიცირება ხდება პროცესინგის პროცესში (სურ.72).



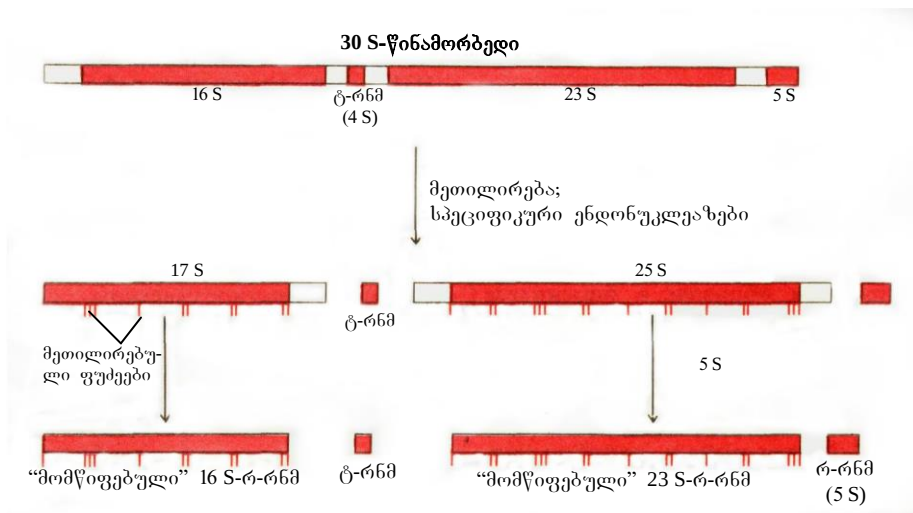
სურ. 72. საფუარას თიროზინული ტ-რნმ-ს წინამორბედის პროცესინგი

* ტ-რნმ-ს პირველადი სტრუქტურა მკაცრად ფიქსირებულია დნმ-ში. ტ-რნმ-ს ყველა სახეს დნმ-ში შეესაბამება კონკრეტული მონაკვეთი (გენი).

** მრავალი ეუკარიოტისათვის დამახასიათებელია ტ-რნმ-ს სტრუქტურის შიგნით (ან-ტიკოდონური მარყუჟის მხარეში) ჩართული თანმიმდევრობების – ინტრონების არსებობა, რომლებიც მოცემული პროცესინგის დროს სცილდება (ამოიჭრება).

*** ეუკარიოტული გენები ასეთ თანმიმდევრობებს (მოლეკულებს) არ აკოდირებენ.

რ-რნმ-ს მოლეკულები როგორც პროკარიოტებში, ისე ეუკარიოტებში, ასევე წარმოიქმნება უფრო გრძელი მოლეკულების – წინამორბედებისაგან, რომლებსაც ჰქვია **წინარიბოსომული რნმ.*** პროკარიოტებში 16S- და 23S-რ-რნმ წარმოიქმნება ერთი გრძელი 30S-წინამორბედისაგან (სურ. 73). აღნიშნული წინამორბედი განიცდის მეთი-



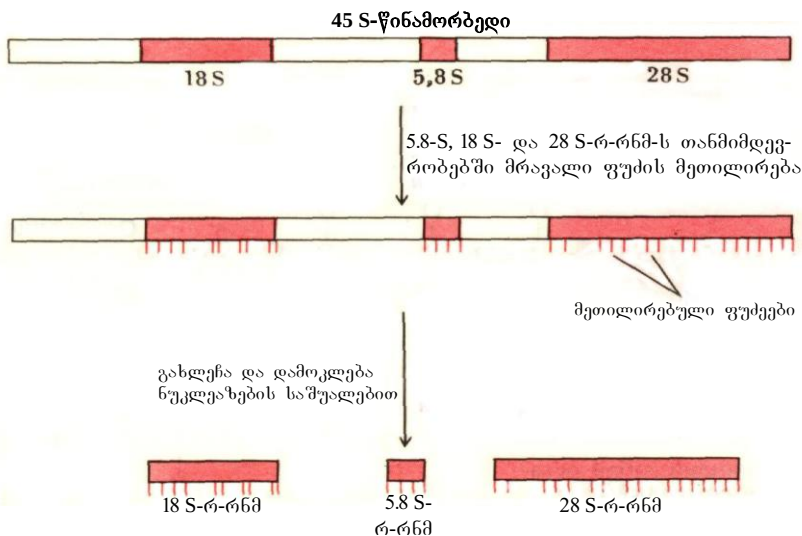
სურ. 73. რ-რნმ-ს ტრანსკრიპტის პროცესინგი პროკარიოტებში

ლირებას სპეციფიკური ფუძეების მიხედვით და იხლიჩება 17S- და 25S-შუალედური რნმ-ს წარმოქმნით, რომლებიც შემდეგ პროცესირდება (“მომწიფდება”) სპეციფიკური ენდონუკლეაზების საშუალებით ნაშთების მოცილების გზით და წარმოიქმნება პროკარიოტებისათვის დამახასიათებელი 16S- და 23S-რ-რნმ. 5S-რ-რნმ წარმოიქმნება ცალკე 30S-წინამორბედის 3'-ბოლო მონაკვეთიდან (უბნიდან).

ეუკარიოტებში 5,8-, 18S- და 28S-რ-რნმ წარმოიქმნება დიდი 45S-წინარიბოსომული რნმ-საგან რამდენიმე ეტაპად (სურ. 74). 45S-რნმ-ს პროცესინგი მიმდინარეობს ბირთვში. ჯერ ხდება ბევრი ნუკლეოტიდის მეთილირება, შემდეგ წინამორბედი განიცდის რიგ ფერმენტატულ გახლეჩას,** რაც საბოლოო ჯამში იწვევს ეუკარიოტული რიბოსომებისათვის დამახასიათებელი 18S-, 28S- და 5,8S-რ-რნმ-ს წარმო-

* ყველა სახის რ-რნმ-ს სინთეზი კოდირდება განსაკუთრებული ცისტრონით. დამახასიათებელ თავისებურებას წარმოადგენს ის, რომ 16S-, 23S- და 5S-რ-რნმ-ს მაკოდირებელი სამივე ცისტრონი შედის ერთი ოპერონის შემადგენლობაში, ე.ი. მათი გამოვლენა ატარებს მკაცრად კოორდინირებულ ხასიათს.

** აღვნიშნავ აქვს აგრეთვე სტრუქტურაში არსებული ინტრონული ჩანართების მოცილებას (ამოჭრას).



სურ. 74. რ-რნმ-ს ტრანსკრიპტის პროცესინგი ეუკარიოტებში

შობას. ეუკარიოტების 5S-რ-რნმ-ს სინთეზი ხდება ცალკე.

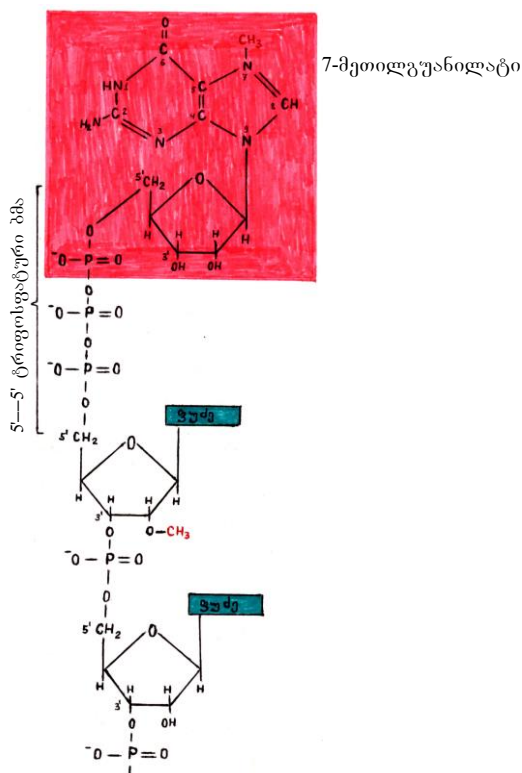
მ-რნმ-ს მოლეკულები ეუკარიოტებში ასევე განიცდიან პროცესინგს. იგი წარმოადგენს ძალიან რთულ პროცესს, რომელიც მოიცავს 5'- და 3'-ბოლოების მოდიფიკაციას და პეტეროგენულ ბირთვულ რნმ-ად (პბ-რნმ-ად, ანუ წინ მ-რნმ-ად, ანუ პრო-მ-რნმ-ად) წოდებული წინამორბედის მოლეკულების სპლაისინგს.*

მ-რნმ-ს 5'-ბოლოს მოდიფიკაცია იწვევს განსაკუთრებული თანმიმდევრობის წარმოშობას, რომელიც წარმოადგენს მეტილირებული 7-მეტილგუანილატის ნუკლეოტიდს, შეერთებულს მ-რნმ-ს 5'-ბოლო ნუკლეოტიდთან ფრიად უჩვეული წესით, სახელდობრ ტრიფოსფატური ბმის (5'-5') საშუალებით (სურ. 75). ამ თანმიმდევრობას ჰქვია “ქეფ”-სტრუქტურა** და აღინიშნება m^7ppp .

3'-ბოლოს მოდიფიკაციის დროს მ-რნმ-ს თავის 3'-ბოლოზე უერთდება “კუდი”, რომელიც შედგება 150-200 თანმიმდევრულად შეერთებული ადენინის (A) ფუძისაგან. ამ “კუდს” ჰქვია **poly (A)-კუდი**. აღნიშნული “კუდის” სინთეზირება ხდება ცალკე ATP-ს მოლეკულებისაგან ფერმენტ პოლიადენილატპოლიმერაზას საშუალებით. “ქეფ”-ისა და poly (A)-კუდის ფუნქცია ზუსტად ცნობილი არ არის. ვარაუდობენ, რომ ისინი ახდენენ მ-რნმ-ს სტაბილიზირებას მისი ფერმენტატული

* სპლაისინგი [ინგლ. Splice] – შეზრდა, გადაბმა.

** cap [ინგლ.] – ქუდი, წაწი.

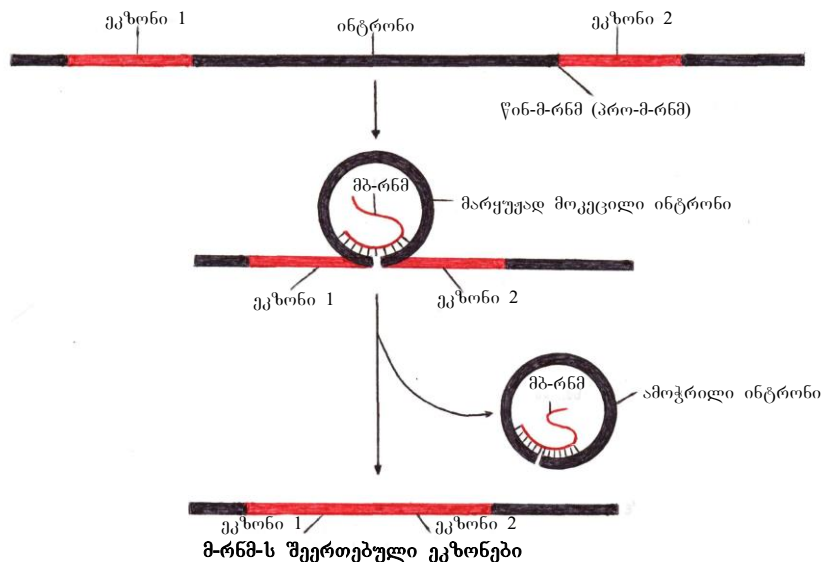


დაშლისაგან დაცვით და ზრდიან მ-რნმ-ს ტრანსლაციის ეფექტურობას.

ჰეტეროგენული ბირთვული რნმ-ს (მ-რნმ-ს წინამორბედის) **სპლაისინგი** იწვევს მისგან დნმ-ს **ინტრონების** შესატყვისი თანმიმდევრობების მოცილებას (ამოჭრას) და კოდირებადი თანმიმდევრობების, ანუ **ეკზონების*** შესატყვისი მონაკვეთების შეერთებას (მიკერებას). სპლაისინგის ადგილის დადგენა ხდება მაღალი სიზუსტით, რადგანაც შეცდომა თუნდაც ერთ ფუძეში იწვევს ცილის სინთეზს არასწორი ამინომჟავური თანმიმდევრობით. იგი წარმოადგენს საკმაოდ რთულ პროცესს, სადაც მთავარ როლს თამაშობს **მცირე ბირთვული რნმ (მპ-რნმ)**. წინ-მ-რნმ-დან (პრო-მ-რნმ-დან) ინტრონების ზუსტი ამოჭრა განპირობებულია იმით, რომ მპ-რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა კომპლემენტურია ყოველი ინტრონის ბოლოებზე არსებული ნუკ-

* ინტრონებისა და ეკზონების სტრუქტურა და ფუნქცია განხილულია ქვემოთ (გვ.241).

ლეოტიდური თანმიმდევრობების. მბ-რნმ-ში და მარყუჟად მოკეცილი ინტრონის ბოლოებზე არსებული ფუძეების დაწყვილების შედეგად (სურ. 76) ორი მეზობელი ეკზონის თანმიმდევრობა ერთმანეთს უახ-



სურ. 76. წინ-მ-რნმ-ს (პრო-მ-რნმ-ს) სპლაისინგი და მასში მცირე ბირთვული რნმ-ს (მბ-რნმ-ს) როლი

ლოდება ისეთნაირად, რომ შესაძლებელი ხდება მათი გამყოფი ინტრონის მოცილება და კოდირებადი ფრაგმენტების (ეკზონების) ფერმენტატული შეერთება (სპლაისინგი) ფოსფორილაციული ბმით. ამრიგად, მბ-რნმ-ს მოლეკულები ასრულებენ დროებითი მატრიცის როლს, რომლებიც ერთმანეთის ახლოს აჩერებენ ორი მეზობელი ეკზონის ბოლოებს, რათა სპლაისინგი მოხდეს სწორ ადგილას.

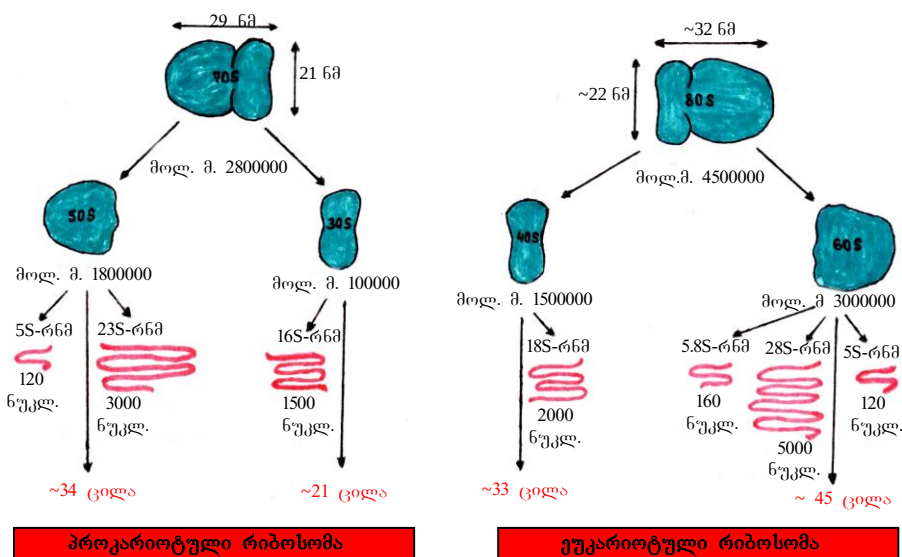
პბ-რნმ-ს ე.ი. მ-რნმ-ს წინამორბედის პროცესინგის დამთავრების შემდეგ “მომწიფებული” მ-რნმ ტოვებს ბირთვს და მიემართება ციტოპლაზმისაკენ. ამისათვის “მომწიფებული” მ-რნმ ჯერ უკავშირდება ორ სპეციფიკურ ცილას, რომლებიც ბირთვის გარსის ფორმებში გაფლთ გაატარებენ მას ციტოპლაზმაში.

2.7.3. ტრანსლაცია

ტრანსლაცია არის გენეტიკური (მემკვიდრული) ინფორმაციის რეალიზაციის დამამთავრებელი ეტაპი, რომლის დროსაც ადგილი აქვს მ-რნმ-ს დეკოდირების პროცესს, რის შედეგადაც ინფორმაცია

მ-რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის ენიდან გადაითარგმნება ცილის ამინომჟავური თანმიმდევრობის ენაზე, ე.ი. ხორციელდება ცილის სინთეზი.

ტრანსლაცია მიმდინარეობს სპეციალურ სტრუქტურებზე, რომლებსაც ჰქვია **რიბოსომები**. ეუკარიოტებში რიბოსომები განლაგებულია ციტოპლაზმაში განტოტვილ მემბრანულ ქსელზე, რომელსაც ენდოპლაზმატური რეტიკულუმი ეწოდება. პროკარიოტებში რიბოსომები გაფანტულია მთელ უჯრედში. რიბოსომა – არის რთული უჯრედული ორგანელი, რომელიც შედგება ცილების მოლეკულებისა და რ-რნმ-საგან (სურ. 77).



სურ. 77. პროკარიოტული და ეუკარიოტული რიბოსომების სტრუქტურა

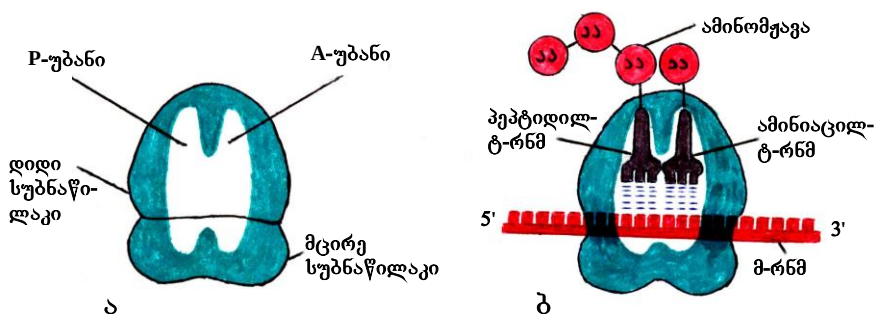
პროკარიოტულ უჯრედს გააჩნია დაახლოებით 15 ათასი რიბოსომა, რომელიც უჯრედის მშრალი მასის თითქმის მეოთხედს შეადგენს. რიბოსომები შეიცავენ დაახლოებით 65% რ-რნმ-ს და 35% ცილებს. მათი მოლეკულური მასა ტოლია $\sim 2,8 \times 10^6$ დალტონის,* ზომები – 29X21 ნმ და სედიმენტაციის კოეფიციენტი 70S. შედგება ორი სუბნაწილაკისაგან: დიდი – სედიმენტაციის კოეფიციენტით 50S და მცირე – სედიმენტაციის კოეფიციენტით 30S. 50S-სუბნაწილაკის შედგენილო-

* დალტონი – ნახშირბადის ატომური წონის 1/12.

ბაში შედის 5S-რ-რნმ-ს (~120 ნუკლეოტიდი) ერთი მოლეკულა, 23S-რ-რნმ-ს (~3000 ნუკლეოტიდი) ერთი მოლეკულა და ~34 ცილა.* 30S-სუბნაწილაკი შეიცავს 16S-რ-რნმ-ს (1500 ნუკლეოტიდი) ერთ მოლეკულას და ~21 ცილას.**

ეუკარიოტულ რიბოსომებს უფრო დიდი ზომები და უფრო რთული აგებულება აქვთ. მათი მოლეკულური მასა ტოლია $4,5 \times 10^6$ დალტონის, ზომები – 32X22 ნმ, ხოლო სედიმენტაციის კოეფიციენტი 80S. ისინი ისე, როგორც პროკარიოტული რიბოსომები, შედგება ორი სუბნაწილაკისაგან: დიდი (60S) და მცირე (40S). მცირე სუბნაწილაკი შეიცავს 18S-რ-რნმ-ს (2000 ნუკლეოტიდი) ერთ მოლეკულას და ~33 ცილას, ხოლო დიდი სუბნაწილაკის შედგენილობაში შედის 5,8S-რ-რნმ (160 ნუკლეოტიდი), 28S-რ-რნმ (5000 ნუკლეოტიდი), 5S-რ-რნმ (120 ნუკლეოტიდი) და ~45 ცილა.

ყოველ რიბოსომაში არის ტ-რნმ-ს მოლეკულების შემკავებელი ორი სხვადასხვა უბანი.*** ერთი მათ შორის აკავებს პოლიპეტიდური ჯაჭვის მზარდ ბოლოსთან მიერთებულ ტ-რნმ-ს მოლეკულას; ამიტომ მას უწოდებენ **პეპტიდილ-ტრნმ-შემკავებელ უბანს ანუ P-უბანს (ანუ დონორულ უბანს)**. მეორე ემსახურება ახალმოსული, ამინომჟავით დატვირთული, ტ-რნმ-ს მოლეკულის შეკავებას. მას უწოდებენ **ამინოაცილ-ტრნმ-შემკავებელ უბანს ანუ A-უბანს (ანუ აკცეპტორულ უბანს)** (სურ. 78). ტ-რნმ-ს მოლეკულა ორივე მონაკვეთს მტკიცედ



სურ. 78. რიბოსომის თავისუფალი (ა) და დატვირთული (ბ) უბნების სქემატური გამოსახულება

* აღინიშნება $L_1, L_2, L_3 \dots L_{34}$ (ინგლისური სიტყვიდან Lange – დიდი).

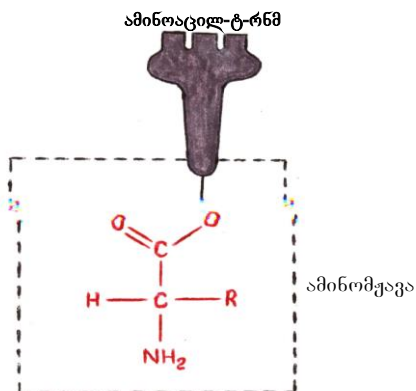
** აღინიშნება $S_1, S_2, S_3 \dots S_{21}$ (ინგლისური სიტყვიდან Small – პატარა).

*** გარდა ამისა, რიბოსომაში არის აგრეთვე დემაკოდირებელი უბანი (D-უბანი) და პეპტიდილ ტრანსფერაზული უბანი (პტფ-უბანი). ვარაუდობენ კიდევ ორის: R-უბანი (ინგლისური სიტყვიდან Recognition – ცნობა) და E-უბანი (ინგლისური სიტყვიდან Exit – გამოსასვლელი).

ემაგრება მხოლოდ იმ შემთხვევაში თუ მისი ანტიკოდონი დაწყვილდება მის კომპლემენტურ მ-რნმ-ს კოდონთან. A- და P-უბნები მდებარეობს ერთმანეთთან ძალიან ახლოს, ისე რომ მათთან დაკავშირებული ტ-რნმ-ს მოლეკულები თავისუფლად წყვილდებიან მ-რნმ-ს მოლეკულის ორ მეზობელ კოდონთან (სურ. 78ბ).

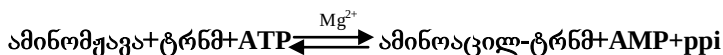
მოლეკულური პროცესები, რომლებიც საფუძვლად უდევს ცილის სინთეზს, მეტად რთულია. იგი შედგება ხუთი ძირითადი ეტაპისაგან (ცხრილი 8).

პირველი ეტაპი – ამინომჟავების აქტივაცია. ამ ეტაპზე, რომელიც მიმდინარეობს ციტოპლაზმაში, 20 ამინომჟავიდან თითოეული უკავშირდება შესაბამისი ტ-რნმ-ს მოლეკულის 3'-ბოლო ადენინის (A) და წარმოიქმნება ამინოაცილ-ტრნმ-ს მოლეკულები* (სურ. 79).



სურ. 79. ამინოაცილ-ტრნმ-ს სქემატური გამოსახულება

ეს პროცესი კატალიზდება ფერმენტით **ამინოაცილ-ტრნმ-სინთეტაზა**, რომელიც საჭიროებს Mg^{2+} იონების არსებობას. ყოველი ამინომჟავისათვის უკიდურეს შემთხვევაში ერთი ასეთი ფერმენტი-კატალიზატორი მაინც არსებობს. მე-80 სურათზე სქემატურად ნაჩვენებია ამინომჟავა ტროფოფანის დაკავშირება შესაბამის ტ-რნმ-თან სპეციფიკური ფერმენტის ამინოაცილ-ტრნმ-სინთეტაზას საშუალებით, რომელიც ასრულებს “**ადაპტორის**”** როლს. ამ პროცესისათვის საჭირო ენერგიის წყაროს წარმოადგენს ATP-ს ჰიდროლიზი. რეაქცია შემდეგნაირად გამოიყურება:



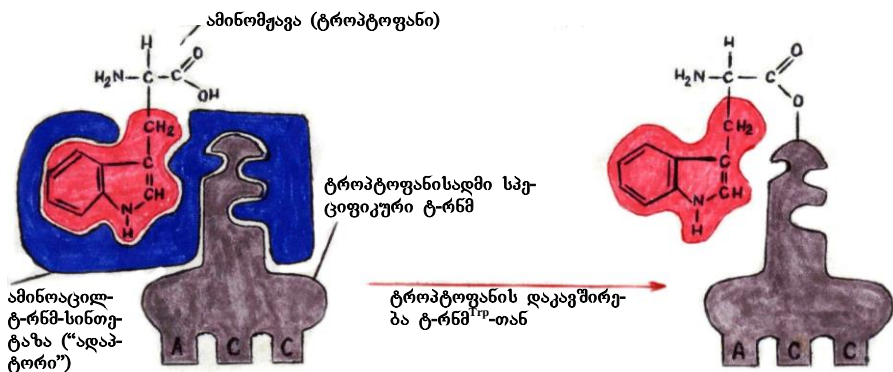
* ტრნმ-ს მიერ შესაბამისი ამინომჟავის ცნობის უნარს **რეკოგნიცია** ეწოდება.

* **ადაპტორი** [ლათ. *adaptare*] – მორგება.

ცილის სინთეზის ეტაპები და აუცილებელი კოფაქტორები
(E. coli-ს მაგალითზე)

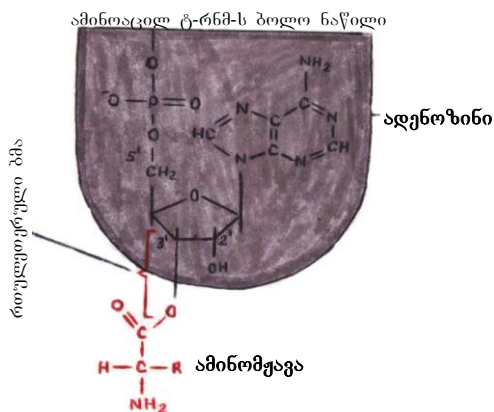
ცხრილი 8

ე ტ ა პ ი	აუცილებელი კოფაქტორები
1. ამინომჟავების აქტივაცია	20 ამინომჟავა 20 ამინოაცილ-ტ-რნმ-სინთეტაზა 20 ან მეტი ტ-რნმ ATP Mg ²⁺
2. პეპტიდური ჯაჭვის ინიციატია	მ-რნმ N-ფორმილმეთიონილ-ტ-რნმ მაინიცირებელი კოდონი მ-რნმ-ში (AUG) 30S-რიბოსომული სუბნაწილაკი 50S-რიბოსომული სუბნაწილაკი GTP Mg ²⁺ ინიციაციის ფაქტორები (IF-1, IF-2, IF-3)
3. ელონგაცია	ფუნქციონალური 70S-რიბოსომა (მაინიცი-რებელი კომპლექსი) ამინოაცილ-ტ-რნმ (მ-რნმ-ს კოდონების შე-საბამისი) Mg ²⁺ ელონგაციის ფაქტორები (Tu, Ts და G) GTP პეპტიდილტრანსფერაზა
4. ტერმინაცია	ATP ტერმინაციის კოდონი მ-რნმ-ში პოლიპეპტიდის განთავისუფლების ფაქტო-რები (R ₁ , R ₂ და S)
5. დახვევა და პროცესინგი	სპეციფიკური ფერმენტები და კოფაქტორები, რომლებიც აცილებენ მაინიცირებელ ამინომჟავებსა და სიგნალურ თანმიმდევ-რობებს, მოდიფიცირებენ ბოლო ნაშთებს, ფერმენტებთან აერთებენ პროსტეტიკურ ჯგუფებს და სხვა.



სურ. 80. ამინომჟავის შესაბამის ტრნმ-ს მოლეკულასთან დაკავშირების სქემა

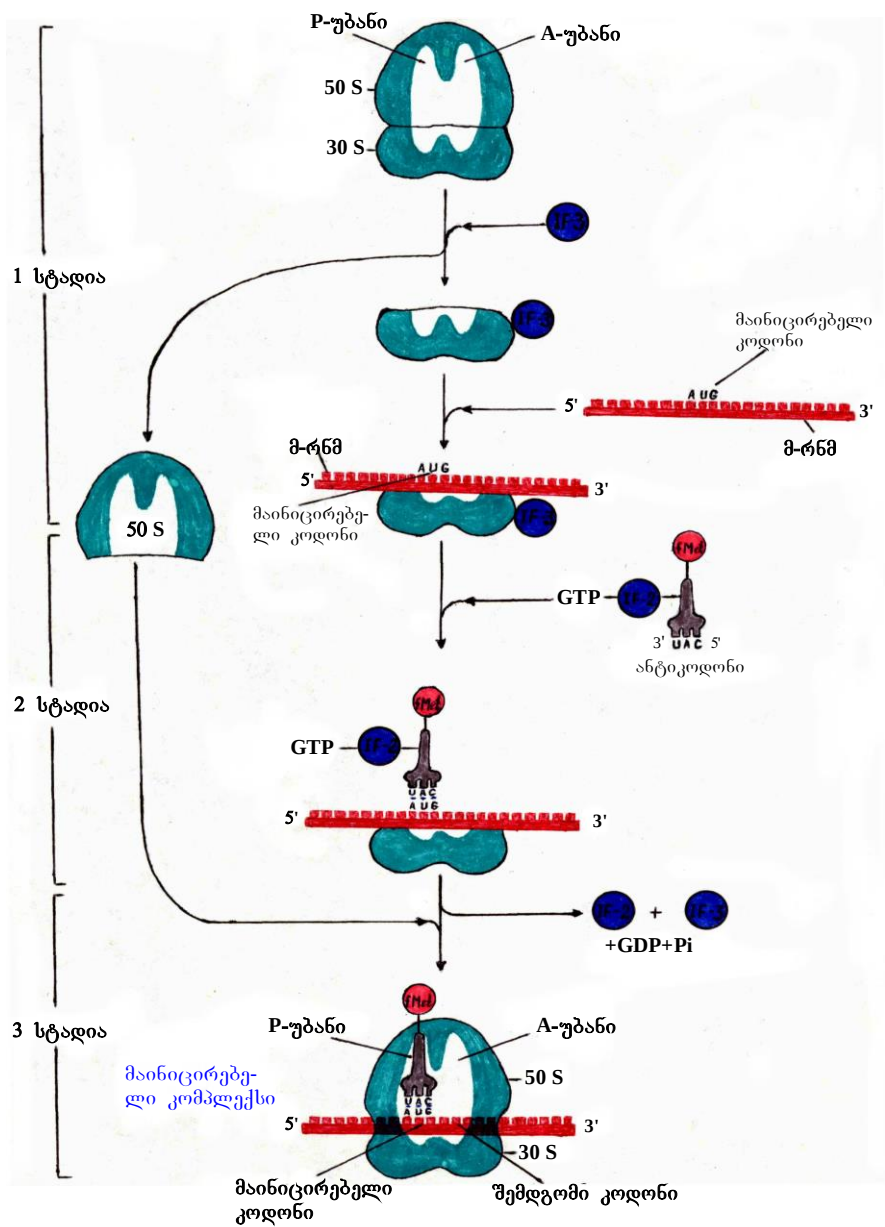
ამინომჟავა ამინოაცილ-ტრნმ-თან დაკავშირებულია კოვალენტური რთულეთერული ბმით ($-O-$), რომელიც წარმოიქმნება ამინომჟავის კარბოქსილურ ჯგუფსა და ადენინის 2'- ან 3'-OH ჯგუფს შორის (სურ. 81). ფერმენტ ამინოაცილ-ტრნმ-სინთეტაზას დაკავშირება მხო-



სურ. 81. ამინომჟავის დაკავშირება ტრნმ-თან კოვალენტური რთულეთერული ბმით

ლოდ და მხოლოდ თავის ამინომჟავასთან ხდება ძალიან მაღალი სიზუსტით.

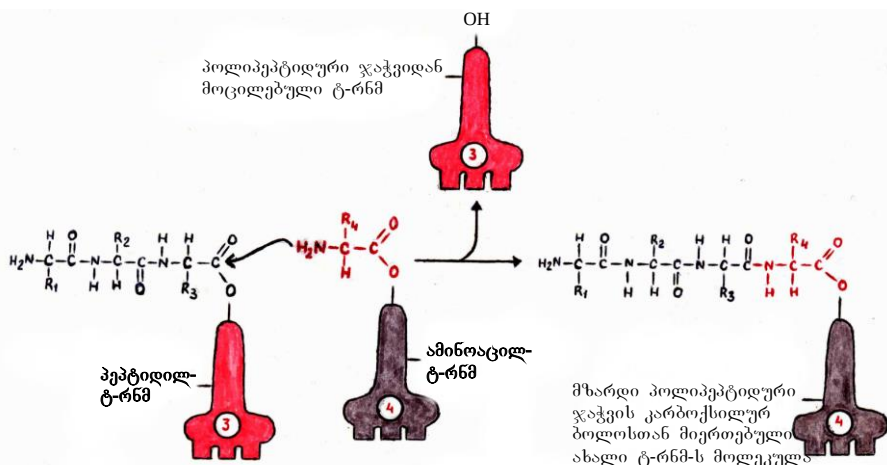
მეორე ეტაპი – პოლიპეტიდური ჯაჭვის ინიციატია. ამ ეტაპზე, რომელიც სამ სტადიად მიმდინარეობს (სურ. 82). კონკრეტულ პოლი-



სურ. 82. მაინიცირებელი კომპლექსის წარმოქმნის პროცესი პროკარიოტებში

პეპტიდურ ჯაჭვზე ინფორმაციის მქონე მ-რნმ, Mg^{2+} იონების მონაწილეობით უკავშირდება რიბოსომის მცირე სუბნაწილაკს (I სტადია), შემდეგ შესაბამის ტ-რნმ-თან მიმაგრებულ მაინიცირებელ (საწყის) ამინომჟავას (II სტადია) და დიდ სუბნაწილაკს (III სტადია). შედეგად წარმოიქმნება მაინიცირებელი კომპლექსი. პროკარიოტებისათვის მაინიცირებელი ამინომჟავას წარმოადგენს ფორმილმეთიონინი (fMet ანუ ფ-მეთ), ხოლო ეუკარიოტებისათვის – მეთიონინი (Met ანუ მეთ). მაინიცირებელი ამინომჟავით დატვირთული ტ-რნმ კომპლემენტურობის პრინციპით უკავშირდება მ-რნმ-ს განსაკუთრებულ ტრიპლეტს ანუ კოდონს, რომელიც იძლევა პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზის დაწყების სიგნალს. ასეთ მაინიცირებელ სასტარტო კოდონს წარმოადგენს ტრიპლეტი AUG (ზოგჯერ GUG). პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზის ინიცირებისათვის საჭირო ენერგიის წყაროს წარმოადგენს GTP-ს ჰიდროლიზის რეაქცია. ამ პროცესის განხორციელებისათვის აუცილებელია აგრეთვე სამი სპეციფიკური ცილის (IF1, IF2 და IF3)* არსებობა, რომლებსაც ინიციაციის ფაქტორი ეწოდება.

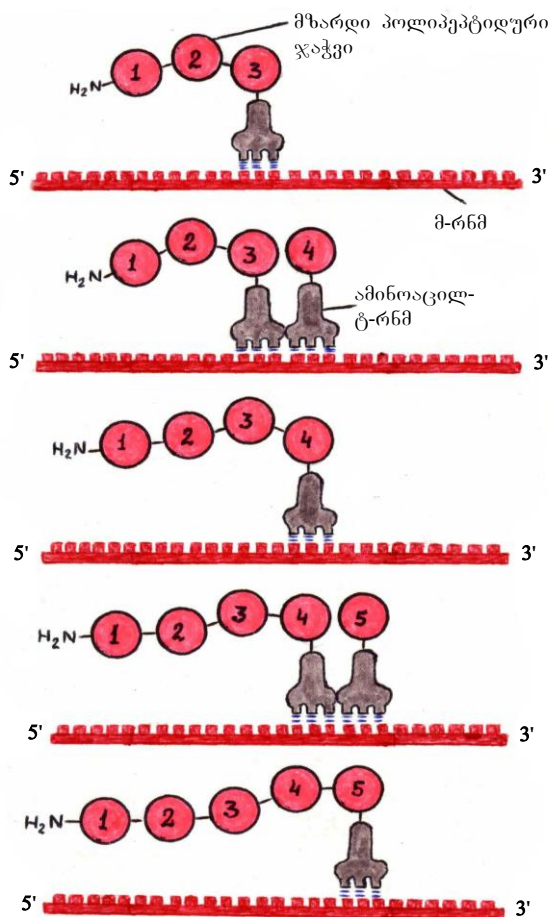
მესამე ეტაპი – ელონგაცია. ამ ეტაპზე ადგილი აქვს ამინომჟავების თანმიმდევრულ მიერთებას მზარდ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში. ამისათვის ყოველი ახალი ამინომჟავა კოვალენტური პეპტიდური ბმით უკავშირდება წინა ამინომჟავის კარბოქსილურ ბოლოს, ე.ი. პეპტიდური ჯაჭვის სინთეზი მიდის ამინური (NH_2) ბოლოდან – კარბოქსილური ($COOH$) ბოლოს მიმართულებით (სურ. 83). ამინომჟავის რიბო-



სურ. 83. პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ზრდა

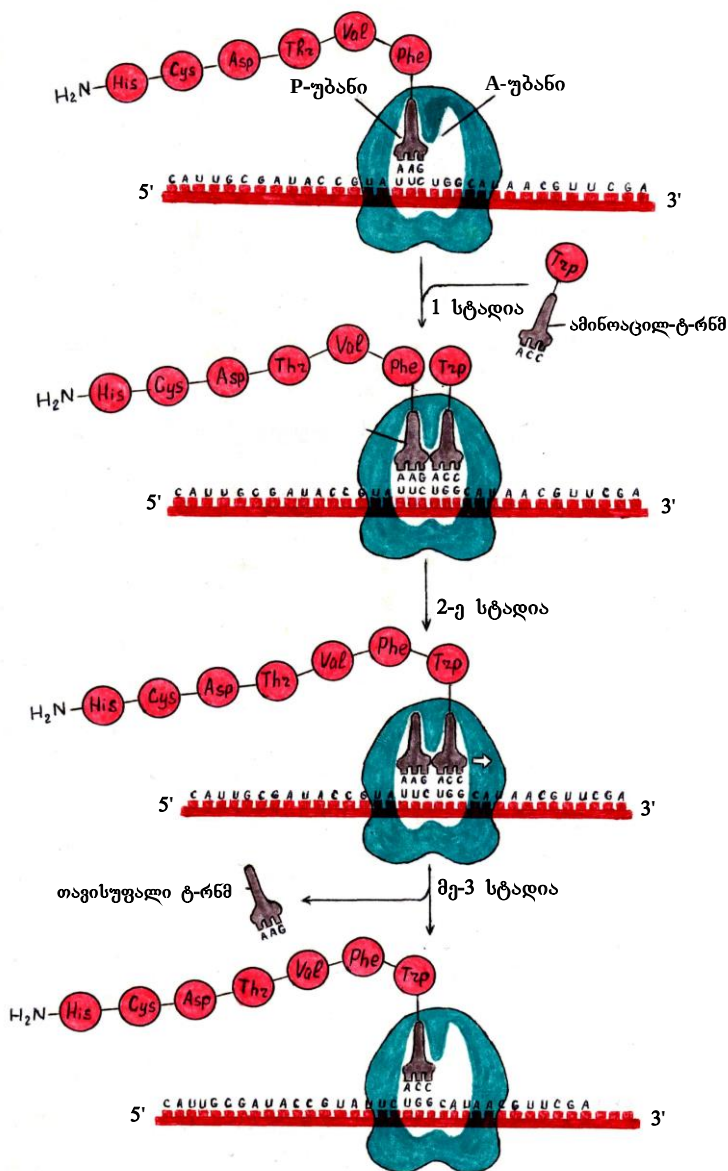
* IF – Initiation Factor.

სომასთან მიტანა და პოლიპეტიდური ჯაჭვის გარკვეულ მდგომარეობაში მისი მიერთება ხდება შესაბამისი ტ-რნმ-ს საშუალებით, რომლის ანტიკოდონი მ-რნმ-ს შესაბამის კოდონთან ქმნის **კომპლემენტურ წყვილებს**, ე.ი. მზარდ პოლიპეტიდურ ჯაჭვში ამინომჟავის ჩართვა ხდება რიბოსომასთან მიერთებულ ტ-რნმ-ს ანტიკოდონსა და მ-რნმ-ს ჯაჭვის მორიგ კოდონს შორის ნუკლეოტიდების კომპლემენტური დაწყვილების შედეგად (სურ. 84).



სურ. 84. პოლიპეტიდური ჯაჭვის ზრდა ტ-რნმ-ს ანტიკოდონისა და მ-რნმ-ს კოდონის ნუკლეოტიდების კომპლემენტური დაწყვილების შედეგად

პოლიპეტიდური ჯაჭვის ელონგაცია მიმდინარეობს სამ სტადიალ (სურ. 85). პირველ სტადიაზე ამინოცილ ტ-რნმ-ს მოლეკულა უერთ-



სურ. 85. პოლიპეტიდური ჯაჭვის ელონგაცია

თდება რიბოსომის თავისუფალ A-უბანს, რომელიც ესაზღვრება P-უბანს; მიერთება ხდება ანტიკოდონის ნუკლეოტიდების, A-უბანში მყოფ მ-რნმ-ს კოდონის ნუკლეოტიდებთან კომპლემენტური დაწყვილების გზით. მეორე სტადიაზე პოლიპეპტიდური ჯაჭვის კარბოქსილური ბოლო P-უბანში შორდება ტ-რნმ-ს მოლეკულას და ქმნის პეპტიდურ ბმას A-უბანში ტ-რნმ-თან მიერთებულ ამინომჟავასთან. ეს რეაქცია კატალიზდება ფერმენტ – პეპტიდილტრანსფერაზს საშუალებით, რომელიც მტკიცედ დაკავშირებულია რიბოსომასთან. მესამე სტადიაზე ახალი პეპტიდილ-ტრნმ გადაიტანება რიბოსომის P-უბანში იმ დროს, როცა რიბოსომა მ-რნმ-ს მოლეკულის გასწვრივ გადაადგილდება ზუსტად სამი ნუკლეოტიდით, რიბოსომის გადაადგილებას მ-რნმ-ს მოლეკულაზე ჰქვია ტრანსლოკაცია. ეს სტადია საჭიროებს ენერგიის ხარჯვას, რომლის წყაროს წარმოადგენს GTP-ს ჰიდროლიზი. ტრანსლოკაციის პროცესი მოიცავს აგრეთვე მეორე სტადიის დროს P-უბანში პოლიპეპტიდური ჯაჭვიდან მოცილებული თავისუფალი ტ-რნმ-ს მოლეკულის ციტოპლაზმაში დაბრუნებასაც. ამიტომ მესამე სტადიის დამთავრების შემდეგ თავისუფალი A-უბანს შეუძლია მორიგი ამინომჟავით დატვირთული ტ-რნმ-ს ახალი მოლეკულის მიღება, ე.ი. ციკლს შეუძლია თავიდან დაწყება. ელონგაციის პროცესის განხორციელებაში აქტიურ მონაწილეობას იღებენ სპეციფიკური ცილები (EF-Tu, EF-Ts, EF-G)*, რომლებსაც ელონგაციის ფაქტორებს უწოდებენ. ბაქტერიულ უჯრედში პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ელონგაციის ერთი ციკლის ხანგრძლივობა ოპტიმალურ პირობებში შეადგენს დაახლოებით 1/20 წამს, ე.ი. 400 ამინომჟავისაგან შემდგარი საშუალო ზომის ცილის სინთეზი დაახლოებით 20 წამს გრძელდება.

მეოთხე ეტაპი – ტერმინაცია. ტერმინაციის ე.ი. პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზის დამთავრების შესახებ სიგნალს იძლევა მ-რნმ-ს ტერმინაციის სამი კოდონიდან ერთი – UAA, UGA ან UAG. ისინი არ აკოდირებენ არც ერთ ამინომჟავას, ამიტომ მათ ჰქვია უაზრო კოდონები (ნონსენსი ანუ სტოპ-კოდონები). ბუნებაში არ არსებობს ტ-რნმ-ს ისეთი მოლეკულები, რომელთა ანტიკოდონები შეესაბამებოდეს ამ კოდონებს. როგორც კი რიბოსომა მიაღწევს სტოპ-კოდონს, მოქმედებას იწყებენ განსაკუთრებული ცილები, რომლებსაც პოლიპეპტიდის განთავისუფლების ფაქტორები (რილიზინგ-ფაქტორები)** ანუ ტერმინაციის ფაქტორები ეწოდება და აღინიშნება – R₁ და R₂*** (სურ. 86). ისინი უშუალოდ უკავშირდებიან რიბოსომის A-უბანში მიღწეულ ნებისმიერ სტოპ-კოდონს. ეს დაკავშირება იწვევს მეზობელი ფერმენტ

* EF – Elongation Factor.

** Release [ინგლ.] – განთავისუფლება.

*** სხვაწარად ისინი აღინიშნება RF-1 (Release Factor) და RF-2. RF-1 ცნობს UAA-ს ან UAG-ს; RF-2 ცნობს UAA-ს ან UGA-ს.

კარბოქსილური ბოლო სცილდება ტ-რნმ-ს მოლეკულას, რადგანაც მზარდი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი რიბოსომაზე მაგრდება მხოლოდ ტ-რნმ-ს მოლეკულასთან კავშირის საშუალებით. დასრულებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვი აღმოჩნდება თავისუფალი და რიბოსომიდან გამოყოფის შემდეგ დიფუნდირდება (შედის) ციტოპლაზმაში. ამის შემდეგ ადგილი აქვს **მ-რნმ-რიბოსომა კომპლექსის** განცალკავებას. შემდეგ თვით რიბოსომა იშლება დიდ და მცირე სუბნაწილაკებად და ახალი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის სინთეზის მთელი ციკლი იწყება თავიდან.

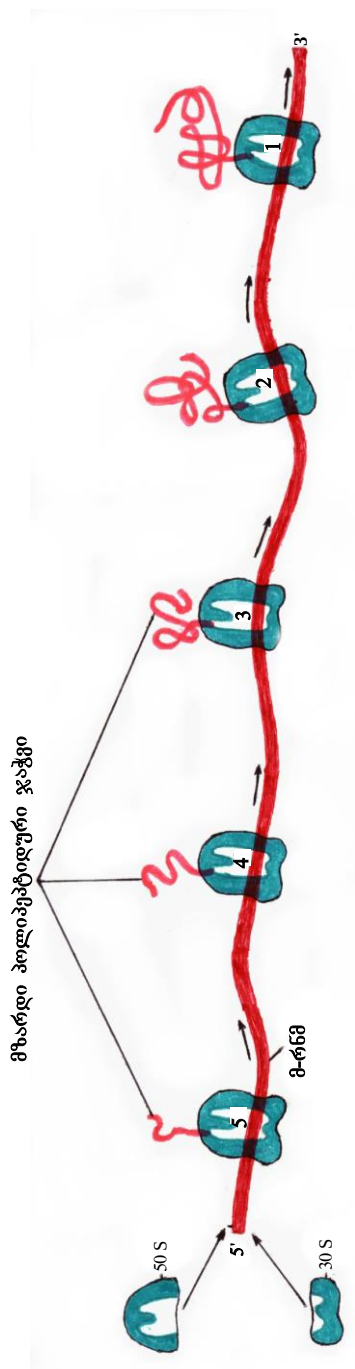
ერთდროულად მ-რნმ-ს ერთი მოლეკულის ტრანსლირებას ახდენს რამდენიმე რიბოსომა (სურ. 87). ეს არსებითად ზრდის მ-რნმ-ს გამოყენების ეფექტურობას. მ-რნმ-ს ერთ მოლეკულასთან დაკავშირებულ რიბოსომების ჯგუფს **პოლირიბოსომა ანუ პოლისომა** ეწოდება. ამ სტრუქტურის შედგენილობაში შემავალი რიბოსომები მუშაობენ დამოუკიდებლად და ყოველი მათგანი ასინთეზებს სრულ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს. მ-რნმ-ზე რიბოსომების მაქსიმალური რაოდენობისას ერთი რიბოსომა მოდის ყოველ 80 ნუკლეოტიდზე. მ-რნმ-ს 5'-ბოლოსთან განლაგებულ რიბოსომებს აქვთ ყველაზე მოკლე პოლიპეპტიდური ჯაჭვი, ხოლო 3'-ბოლოსთან მყოფს – თითქმის სრული ჯაჭვი (სურ. 87).

მეხუთე ეტაპი – დახვევა და პროცესინგი. სინთეზის დამთავრების შემდეგ ცილა ბიოლოგიურად არააქტიური რჩება მანამ, სანამ არ დაიხვევა მისთვის **დამახასიათებელ ნატიურ გარკვეულ სივრცულ კონფორმაცია**დ, ე.ი. სანამ მატრიცულ რნმ-ში არსებული ხაზობრივი ანუ ერთგანზომილებიანი გენეტიკური ინფორმაცია არ გარდაიქმნება ახალსინთეზირებული პოლიპეპტიდის სპეციფიკურ სამგანზომილებიან სივრცე სტრუქტურად. პოლიპეპტიდური ჯაჭვი ფერმენტების საშუალებით განიცდის აგრეთვე **პროცესინგს ანუ კოვალენტურ მოდიფიკაციას**. ამ დროს მას სცილდება მაინიცირებული ამინომჟავები (ფორმამეტიონინი ან მეთიონინი), ადგილი აქვს ზედმეტი ამინომჟავური ნაშთების (სიგნალური თანმიმდევრობების) მოხლეჩას, ოლიგომჟავრების მიერთებას, გარკვეულ ამინომჟავურ ნაშთებში ფოსფატური, მეთილური, კარბოქსილური და სხვა ჯგუფების შეყვანას და ა.შ.

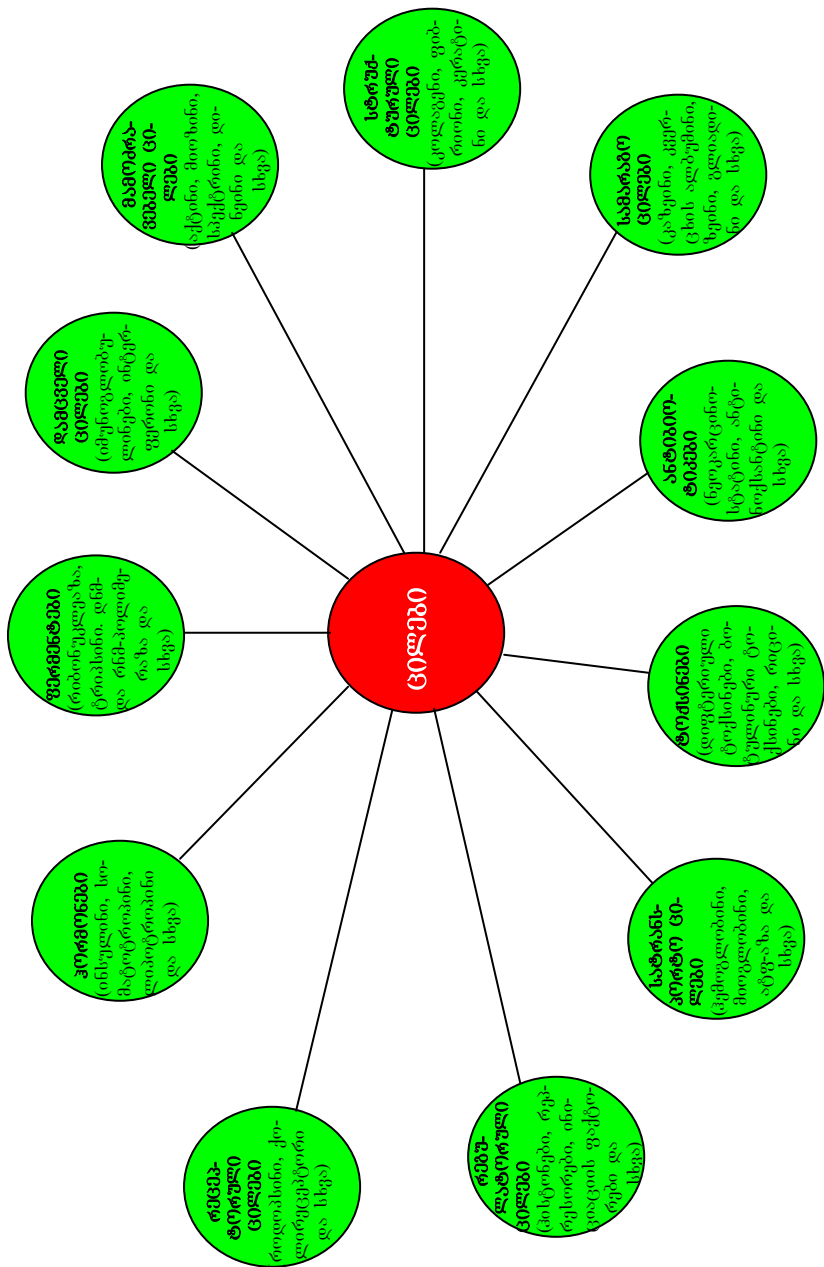
ყოველივე ამის შემდეგ ახალსინთეზირებული ცილები მიემართება თავისი დანიშნულების ადგილისაკენ.

2.7.4. ცილის სინთეზის რეგულაცია

ცოცხალ უჯრედებს გააჩნია ზუსტად დაპროგრამებული მექანიზმები, რომლებიც სხვადასხვა ცილების (სურ. 88) სინთეზს არეგულირებენ ისეთნაირად, რომ ნებისმიერ უჯრედში არის ყოველი ცილის მოლეკულის გარკვეული რაოდენობა, რაც მას საშუალებას აძ-



სურ. 87. პოლირიბოსომა, ხუთი რიბოსომა ერთდროულად ითვლის ინფორმაციას მირნმ-დან



სურ. 88. სხვადასხვა ცილის ბიოლოგიური მნიშვნელობა

ლევს განახორციელოს თავისი მეტაბოლიტური პროცესები მწყოებრად და მაქსიმალური ეფექტურობით. მაგალითად, ბაქტერია E. coli-ს უჯრედები შეიცავს 3000-ზე მეტ სხვადასხვა ცილას. მაგრამ ისინი იქ არაერთნაირი რაოდენობითაა – მათი შემცველობა ვარირებს ფუნქციიდან გამომდინარე და შეადგენს 0.1-ზე ნაკლები პროცენტადან 2 პროცენტამდე. უჯრედში ცილების სინთეზის ასეთი რეგულაცია მიიღწევა ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის დონეზე.

იმისათვის, რომ უჯრედში დაიწყოს გარკვეული ცილის სინთეზი, მასში გარედან უნდა შევიდეს შესაბამისი გენისათვის ამ პროცესის დაწყებაზე ანუ **ინდუქციაზე** სიგნალის მიცემის უნარის მქონე ნივთიერება. ასეთ ნივთიერებას ეწოდება **ინდუქტორი**.* მაგალითად, ფერმენტებისათვის ძალიან ხშირად ინდუქტორს წარმოადგენს მათი ბუნებრივი სუბსტრატები. ასე, ბაქტერია E. coli-ს უჯრედები ფერმენტ β -გალაქტოზიდაზას მაღალი სიჩქარით ასინთეზებენ მხოლოდ **ინდუქტორ** რძის შაქარ **ლაქტოზას**** მონაწილეობით.

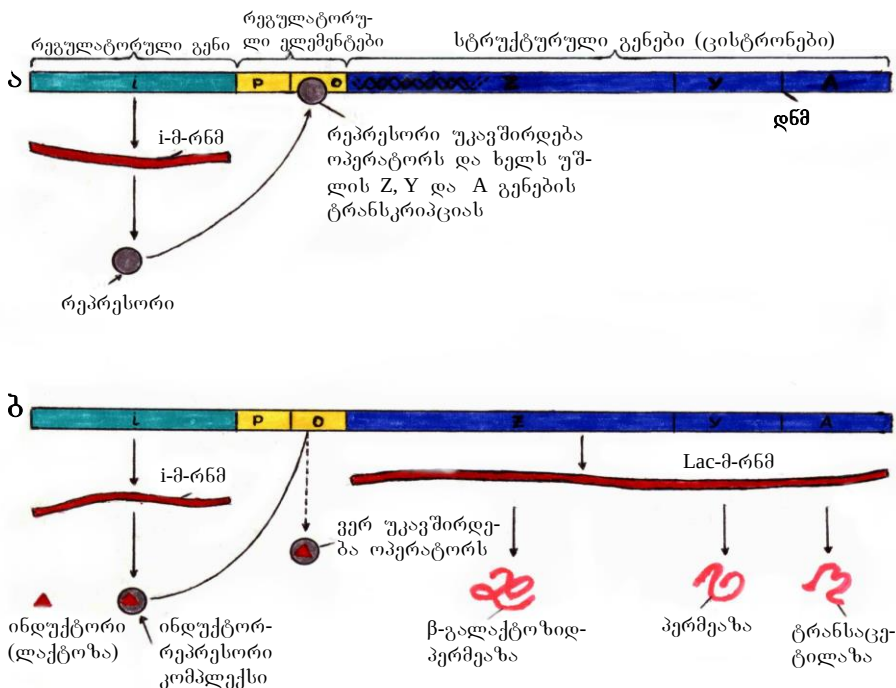
ცილის სინთეზის პროცესი განიცდის არა მარტო ინდუცირებას (დაწყებას), არამედ რეპრესირებას ანუ დათრგუნვას. იგი ითრგუნება მაშინ, როცა უჯრედის მიერ გამოქუშავებული რაიმე ნივთიერების კონცენტრაცია გადააჭარბებს გარკვეულ დონეს. ხშირად ასეთ **დამთრგუნველ ნივთიერებას ანუ რეპრესორს** წარმოადგენს უჯრედისათვის ტოქსიკური მაღალი კონცენტრაციის რომელიმე ამინომჟავა. ასეთი ამინომჟავა-რეპრესორი სწორედ იმ ცილების სინთეზს გამორთავს, რომლებიც მას ასინთეზებენ. მაგალითად, ბაქტერია E. coli საკვებ არეში ამინომჟავა ტრიფტოფანის სიჭარბისას წვევტს ამ ამინომჟავის მასინთეზირებელი ფერმენტის – ტრიფტოფანსინთეტაზას წარმოქმნას. ამრიგად, **ცილების სინთეზის რეგულირება უჯრედში ხდება ინდუქციისა და რეპრესიის პროცესებით.**

უჯრედში ცილის სინთეზის რეგულირების მოლეკულური და გენეტიკური მექანიზმი პირველად ჩამოყალიბებულ იქნა 1961 წელს ფრანგი მეცნიერების (პასტერის ინსტიტუტი, პარიზი) **ფრანსუა ჯაკობისა (Francois Jacob)** და **ჟაკ მონოს (Jacques Monod)** მიერ ოპერონის თეორიაში, რომელიც შემდეგ ექსპერიმენტულად დადასტურდა.

მექანიზმის ასახსნელად მეცნიერების მიერ შემოთავაზებულ იქნა **ლაქტოზის (Lac) ოპერონის სქემა**. დადგენილი იყო, რომ ლაქტოზის შემცველი E. coli-ს უჯრედები ასინთეზებენ ფერმენტ β -გალაქტოზიდაზას და ორ სხვა, მასთან ფუნქციონალურად დაკავშირებულ ფერმენტ β -გალაქტოზიდაჰერმეაზას და A ცილას (ტრანსაქცეტილაზას). სქემა (სურ. 89) შედგება **რეგულატორული გენის (i), ორი რეგულა-**

* მას ასევე უწოდებენ **აქტივატორს**.

** **ლაქტოზა** წარმოადგენს ბუნებრივ სუბსტრატს ფერმენტ β -გალაქტოზიდაზისათვის, რომელიც აკატალიზებს ლაქტოზის გახლეჩას მარტივ შაქრებად – გლუკოზად და გალაქტოზად.



სურ. 89. ლაქტოზის ოპერონის (Lac-ოპერონის) სქემა რეპრესირებულ (ა) და ინდუცირებულ (ბ) მდგომარეობაში

ტორული ელემენტის (უბნის) – პრომოტორისა (P) და ოპერატორის (O)* და სამი სტრუქტურული გენის ანუ ცისტრონისაგან (Lac გენი) – Z, Y და A. ერთმანეთის გვერდით განლაგებული რეგულატორული უბნებისა და სტრუქტურული გენების ერთობლიობას, რომელთა ტრანსკრიბირებისას წარმოიქმნება მ-რნმ-ს ერთიანი მოლეკულები, ეწოდება **ოპერონი**. მოცემულ შემთხვევაში **Lac-ოპერონი**. ფ. ჟაკობმა და ჟ. მონომ ჩამოაყალიბეს რეგულაციის მექანიზმის შემდეგი პრინციპები: 1) რეგულატორული გენი (i) პროდუცირებს რეპრესორს,**

* პრომოტორისა და ოპერატორის სტრუქტურა და მნიშვნელობა განხილულია ქვემოთ (გვ. 246).

** **უოლტერ ჯილბერტმა (Walter Gilbert)** და **ბენო მიულერ-ჰილმა Benno Müller-Hill** 1967 წელს გამოკვეს ეს რეპრესორი და დაადგინეს, რომ იგი არის ტეტრამერული ცილა 150000 მოლეკულური მასით. E. coli-ს უჯრედში ასეთი ცილის მხოლოდ 10 მოლეკულაა.

რომელიც უკავშირდება ოპერატორს და ამით ხელს უშლის რნმ-პოლიმერაზას მიერ სტრუქტურული გენების სინთეზის (ტრანსკრიპციის) ინიციაციას; 2) ლაქტოზა მოქმედებს როგორც ინდუქტორი, რომელიც უკავშირდება რეპრესორს და ხელს უშლის მის ურთიერთმოქმედებას ოპერატორთან და ამით ხელს უწყობს რნმ-პოლიმერაზას მიერ სტრუქტურული გენების სინთეზის (ტრანსკრიპციის) ინიციაციას. ლაქტოზის (ინდუქტორის) მოცილებისას რეპრესორი ისევ იძენს ოპერატორთან დაკავშირების უნარს და გამორთავს სტრუქტურულ გენებს (სურ. 89).

2.8. თანამედროვე შეხედულება გენის შესახებ

როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული უჯრედში მემკვიდრული (გენეტიკური) ინფორმაციის მატარებელს წარმოადგენს ნუკლეინის მჟავა (დნმ), ხოლო ამ მემკვიდრული (გენეტიკური) ინფორმაციის ელემენტურ სტრუქტურულ ერთეულად ითვლება **გენი**. ცნება **“გენი”*** პირველად 1909 წელს შემოიღო დანიელმა მეცნიერმა **ვილჰელმ იოჰანსენმა (Wilhelm Johannsen)**.

გენის პრობლემა წარმოადგენს ერთ-ერთ ყველაზე ცენტრალურს მოლეკულურ ბიოლოგიაში. წარმოდგენები გენზე, რომლის სრულყოფა მუდამ ხდებოდა, კონცენტრირებული ფორმით ყოველთვის გამოხატავდნენ მოლეკულური ბიოლოგიის განვითარების დონეს, მის მიღწევებსა და გადაუჭრელ პრობლემებს.

პირველი წარმატებული ცდა გენზე წარმოდგენის კონკრეტიზაციის საქმეში ეკუთვნის გამოჩენილ ამერიკელ ემბრიოლოგსა და გენეტიკოსს **ტომას მორგანს (Thomas Hunt Morgan)**, რომელმაც ერთ-ერთ თავის კლასიკურ შრომას უწოდა **“გენის თეორია”** (1926). ამ წარმოდგენის ძირითადი პრინციპები შემდეგია: **ორგანიზმების ყველა ნიშანი კონტროლდება გენებით; გენები განლაგებულია ქრომოსომებში და თავის მხრივ წარმოადგენენ დისკრეტულ** მუტაციის, რეკომბინაციის და ფუნქციის განუყოფელ ერთეულებს; ცალკეული გენების ცვლილება იწვევს ცალკეული ელემენტარული ნიშნების ანუ ფენების*** ცვლილებას.**

გენის შესახებ შეხედულების განვითარებაში უდიდესი წვლილი შეიტანეს XX საუკუნის 40-იანი წლების დასაწყისში ამერიკელმა ბიოქიმიკოს-გენეტიკოსებმა **ჯორჯ ბიდლმა (George Beadle)** და **ედვარდ ტატუმმა (Edward Tatum)**. ისინი ობის სოკო *Neurospora crassa*-ს სპორებზე მოქმედებდნენ რენტგენის სხივებითა და სხვა აგენტებით, რომლებიც აზიანებდნენ დნმ-ს და იწვევდნენ მუტაციებს. მიღებული მუტანტები მოკლებული აღმოჩნდნენ ამა თუ იმ ფერმენტებს და დარღვეული იყო მათი მეტაბოლიზმი. ამის საფუძველზე მეცნიერებმა 1945 წელს ჩამოაყალიბეს ჰიპოთეზა: **“ერთი გენი – ერთი ფერმენტი”**, ე.ი. გენი – არის გენეტიკური მასალის ისეთი ფრაგმენტი, რომელიც განსაზღვრავს ანუ აკოდირებს რომელიმე ერთ ფერმენტს.

იმის გამო, რომ ზოგიერთი გენი აკოდირებს ცილებს, რომლებიც არ წარმოადგენენ ფერმენტებს ჯ. ბიდლისა და ე. ტატუმის ჰიპოთეზამ განიცადა გარკვეული სრულყოფა. მან მიიღო უფრო ზოგადი სახე: **“ერთი გენი – ერთი ცილა”**.

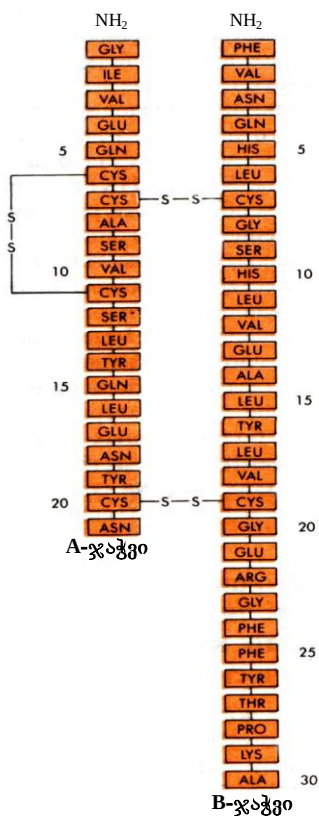
* **genos [გენო]** – წარმოშობა.

** **დისკრეტული** [ლათ. discretus] – წვეტილი, ცალკეული ნაწილებისაგან შემდგარი.

*** **ფენი** – ფენოტიპის ელემენტარული ერთეული.

გენის ქიმიური ბუნების დადგენის შემდეგ, ე.ი. როცა ნათელი გახდა, რომ გენები აგებულია დნმ-საგან, გაჩნდა უფრო ზუსტი განმარტება: „გენი – არის დნმ-ს ხაზობრივი მონაკვეთი (უბანი), რომელშიც კოდირებულია ერთი ცილა“.

ამის შემდეგ ცნობილი გახდა, რომ მრავალი ცილა (ეგრეთ წოდებული ოლიგომერული ცილები) შედგება რამდენიმე პოლიპეპტიდური* ჯაჭვისაგან (სუბერთეულისაგან). ზოგიერთ მათგანში ყველა პოლიპეპტიდური ჯაჭვი ერთნაირია; მაგრამ ზოგში არის ორი ან მეტი სხვადასხვა, ერთმანეთისაგან ამინომჟავური თანმიმდევრობით განსხვავებული პოლიპეპტიდური ჯაჭვი. მაგალითად, ინსულინის მოლეკულა შედგება ორი სხვადასხვა პოლიპეპტიდური ჯაჭვისაგან (სურ. 90). ცხადია, ისინი კოდირდება ორი სხვადასხვა გენით. ამიტომ აუ-



სურ. 90. ინსულინის მოლეკულა

* პოლიპეპტიდი – პეპტიდური ბმებით შეერთებული ამინომჟავების გრძელი ჯაჭვი.

ცილებელი შეიქმნა გენის განმარტების კვლავ მოდიფიცირება და მისთვის კიდევ უფრო ზუსტი ფორმულირების მიცემა: **“გენი – არის დნმ-ს საზოგადოებრივი მონაკვეთი (უბანი), რომელშიც კოდირებულია ცილის ერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი”**. შემოკლებით: **“ერთი გენი – ერთი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი”**.

ხოლო ეუკარიოტული უჯრედების დნმ-ს ფრაგმენტული აგებულების დადგენის* შემდეგ, სადაც კოდირებადი თანმიმდევრობები (ეკზონები) ენაცვლება არაკოდირებად ჩართულ თანმიმდევრობებს (ინტრონებს), გენის განმარტებამ ისევ იცვალა სახე: **“გენი – არის დნმ-ს მონაკვეთების (უბნების) ერთობლიობა, რომელიც აკოდირებს ცილის ერთ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს”**.

უკანასკნელი წლების გამოკვლევებით გამოირკვა, რომ ეს განმარტებაც საჭიროებს სრულყოფას. დადგენილი იქნა, რომ გენის როლის შესრულება შეუძლია არა მარტო დნმ-ს მონაკვეთებს (უბნებს), არამედ რნმ-ს მოლეკულებსაც (ვირუსებში); გენების ნაწილი არ აკოდირებს ცილებს (მაგ. ტ-რნმ-ს და რ-რნმ-ს გენები); გენები შეიცავენ რეგულატორულ თანმიმდევრობებს და ა.შ.

ყველაფერი ეს იმაზე მიუთითებს, რომ ამჟამად გენის შესახებ წარმოდგენა მნიშვნელოვნად გაფართოვდა, მაგრამ მისი ამომწურავი განმარტების ფორმულირება ჯერ-კიდევ გაძნელებულია.

დღეისათვის გენის ყველაზე მისაღებ განმარტებას წარმოადგენს შემდეგი: **“გენი – არის მემკვიდრულობის ელემენტარული სტრუქტურული და ფუნქციონალური ერთეული, რომელიც დნმ-ს (ზოგჯერ რნმ-ს) მოლეკულაში წარმოდგენილია გარკვეული მონაკვეთებით (უბნებით) და აკოდირებს ცილის ერთ ან რამოდენიმე პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ან რნმ-ს მოლეკულას”**.

* იხ. გვ. 241.

2.9. პრო- და ეუკარიოტების გენომების მოლეკულური ორგანიზაცია

გენომი – არის პროკარიოტული ორგანიზმის უჯრედში ან ეუკარიოტული ორგანიზმის ბირთვული ქრომოსომების ჰაპლოიდურ ანაწყოში და ციტოპლაზმურ ორგანელებში არსებული დნმ-ს (ზოგჯერ რნმ-ს) რაოდენობა.*

ეუკარიოტულ ორგანიზმებში არჩევენ ბირთვულ, მიტოქონდრიულ (მიტოქონდრიონი) და ქლოროპლასტურ (პლასტომი) გენომებს. უჯრედის ყველა არაქრომოსომული გენომების ერთობლიობას ეწოდება პლაზმონი.

გენომს ენიჭება მთავარი როლი ცოცხალი ორგანიზმების მემკვიდრეობის, ზრდის, განვითარებისა და ევოლუციის უზრუნველყოფის პროცესებში. ამიტომ პრო- და ეუკარიოტული** ორგანიზმების გენომების ორგანიზაციის ცოდნას ძალიან დიდი მნიშვნელობა აქვს.

2.9.1. პროკარიოტების გენომი

ვირუსების გენომი, როგორც წესი, შედგება ორჯაჭვიანი დნმ-საგან. მაგრამ არსებობს ვირუსები, რომლებიც შეიცავენ ერთჯაჭვიან დნმ-საც (M13, FX174). ცნობილია აგრეთვე ვირუსები, რომელთა გენომი წარმოდგენილია არა დნმ-ით, არამედ რნმ-ით (MS2, პოლიომიოტის ვირუსი, ცხოველთა პატარა ვირუსები და სხვა). მაგალითად, თამბაქოს მოზაიკის ვირუსი შეიცავს ერთჯაჭვიან რნმ-ს, ხოლო ბრინჯის ჯუჯა ზრდის ვირუსი – ორჯაჭვიან რნმ-ს.

დნმ-შემცველი ვირუსების, ბაქტერიების, ლურჯ-მწვანე წყალმცენარეების გენს გააჩნია ორსპირალიანი ხაზობრივი, ხშირად რგოლური სუპერსპირალიზებული ფორმა.

ვირუსებისა და ბაქტერიების დნმ-ს მოლეკულის სიგრძე ვარირებს 0.4-დან (პატარა ვირუსები) 2000 (ბაქტერიები) მიკრომეტრამდე.

ყველაზე პატარა დნმ-შემცველ ვირუსებში (M13, FX174) გენების რაოდენობა შეადგენს მხოლოდ 8-10, დიდ ვირუსებში (T4) – დახლოებით 200, ხოლო ბაქტერია E. coli-ში – 3000-ზე მეტს.

ბაქტერიების გენომი ძირითადად წარმოადგენს დნმ-ს რგოლურ მოლეკულებს და ჰქვია ბაქტერიული ქრომოსომები. ისინი უჯრედის

* რადგანაც გენი წარმოადგენს დნმ-ს დისკრეტულ მონაკვეთს (უბანს), პროკარიოტული ორგანიზმებისათვის სამართლიანია აგრეთვე განმარტება: გენომი – არის ყველა გენების ერთობლიობა. მაგრამ ეუკარიოტული ორგანიზმებისათვის, სადაც არის დნმ-ს ჭარბი რაოდენობა (არატრანსლირებადი ჩართული თანმიმდევრობები) გენომის ასეთი განმარტება წარმოადგენს არასაკმარისად ზუსტს.

** პრო [გრძ. pro] – მდე, წინ; ეუ [გრძ. eu] – თან; „კარის“ – ბირთვი.

მეტაბოლიზმის ყველა პროცესის უზრუნველყოფისათვის აუცილებელი გენების გარდა შეიცავენ აგრეთვე ტრანსპოზონებად წოდებულ მოძრავ ანუ მობილურ გენეტიკურ ელემენტებს, რომლებიც იწვევენ გენომის არასტაბილურობას და მუტაციებს, მონაწილეობენ გენების აქტიურობის რეგულაციაში და ა.შ. ტრანსპოზონები წარმოადგენენ დნმ-ს სეგმენტებს, რომლებსაც გააჩნიათ დამოუკიდებელი შიგაგენომური და გენომთაშორისი გადაადგილების უნარი, რაც გამოწვეულია სპეციალური გენებით და მათ ბოლოებზე პირდაპირი და ინვერტირებული (შებრუნებული) განმეორებების არსებობით.*

ბაქტერიების უჯრედები შეიცავენ აგრეთვე არაქრომოსომულ, ციტოპლაზმაში განლაგებულ, სტაბილურად მემკვიდრულ, ავტონომიურად რეპლიცირებად, უმეტეს შემთხვევაში კოვალენტურად შეკრულ რგოლურ სუპერსპირალიზებულ დნმ-ს მოლეკულებს – პლაზმიდებს.**

2.9.2. ეუკარიოტების გენომი

ეუკარიოტული უჯრედი შეიცავს გაცილებით მეტ გენს, ვიდრე პროკარიოტული უჯრედი. გამოანგარიშებულია, რომ ერთი გენის საშუალო ზომა შეადგენს დახლოებით 1200-1500 ნუკლეოტიდის წყვილს. ქვემოთ მოტანილია სხვადასხვა ორგანიზმებში დნმ-ს შემცველობა (ნუკლეოტიდების წყვილი, ჰაპლოიდურ გენომზე გაანგარიშებით):

E. coli	-----	5×10^6
საფუარები	-----	5×10^7
უმაღლესი მცენარეები	-----	$1,8 \times 10^{11}$
ადამიანი	-----	$5,5 \times 10^9$

როგორც ამ მონაცემებიდან ჩანს, საფუარა სოკოების უჯრედის ბირთვში არის 10-ჯერ, ხოლო უმაღლეს მცენარეებში და ადამიანში რამდენიმე ასეულჯერ მეტი დნმ, ვიდრე ბაქტერია E coli-ს უჯრედში. ორგანიზმების ჰაპლოიდურ გენომში დნმ-ს საერთო რაოდენობასთან, რომელიც ცნობილია C-სიდიდის სახელწოდებით, დაკავშირებულია ეგრეთ წოდებული C-სიდიდის პარადოქსი (ინგლ. C value paradox), რომელმაც დღემდე ვერ მიიღო საკმარის დამაჯერებელი ახსნა. C-სიდიდის პარადოქსის მოვლენას გააჩნია 3 ასპექტი: 1) სახეობის ორგანიზაციის ევოლუციური გართულებები არ კორელირებს გენომში დნმ-ს რაოდენობის გადიდებასთან. ამგვარად, ჰაპლოიდურ გენომში დნმ-ს შემცველობა მოლუსკებისათვის შეადგენს $5 \cdot 10^8 - 5 \cdot 10^9$ ნუკლე-

* ტრანსპოზონები დაწვრილებით განხილულია ნაწილში – „გენეტიკური ინჟინერია.“

** პლაზმიდების სტრუქტურა და ფუნქცია განხილულია ნაწილში – „გენეტიკური ინჟინერია“

ოტიდების წყვილს (6.წ.), ძუძუმწოვრებისათვის – 5.10^9 – $5.5.10^8$ ნ.წ., ფრინველებისათვის – $4.9.10^8$ – $5.2.10^8$ ნ.წ., 2) ორგანიზაციის სირთულით ძალიან ახლოს მდგომ სახეობებს შეიძლება ჰქონდეთ დნმ-ს არსებითად განსხვავებული რაოდენობა. ასე, ამფიბიის 2 სახეობა, რომლებსაც გააჩნიათ ძალიან მსგავსი აგებულება, დნმ-ს რაოდენობის მიხედვით ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან დაახლოებით 10-ჯერ, 3) გენომში არსებობს დნმ-ს აშკარად ჭარბი რაოდენობა, იმ რაოდენობასთან შედარებით, რაც აუცილებელია ცილების კოდირებისათვის. ასე, ძუძუმწოვრებში, მათ შორის ადამიანში, ითვლიან დახლოებით 5.10^4 – 5.10^5 გენს, ე.ი. მათი გენომის კოდირებადი ნაწილი შეადგენს მხოლოდ 15-20% დნმ-ს საერთო რაოდენობიდან ($5.5.10^9$ ნ.წ.). დნმ-ს დანარჩენი 80-85% წარმოადგენს ჭარბს.

ეუკარიოტებში დნმ-ს უდიდესი რაოდენობა თავმოყრილია ბირთვში. ჩვეულებრივ მხოლოდ მცირე ნაწილი არის ციტოპლაზმური ორგანელების (მიტოქონდრიები და პლასტიდები) გენომის შემადგენლობაში. მაგალითად, სოკოების და ძუძუმწოვრების მიტოქონდრიები შეიცავენ მთელი დნმ-ს 1%-ზე ნაკლებს, ხოლო მცენარის ქლოროპლასტები – 1-10%.

XX საუკუნის 60-იანი წლების დასასრულს დადგენილ იქნა, რომ ეუკარიოტების დნმ შედგება სხვადასხვა ხარისხით **განმეორებადი ჰომოლოგიური თანმიმდევრობებისაგან (ასლებისაგან)**. დნმ-ს რაოდენობა განმეორებების სახით ცხოველებში შეადგენს 10-12% ზოგჯერ 30-40%, ადამიანში – 35%, ხოლო მცენარეებში იგი ბევრად უფრო მეტია, მაგალითად ჭვავში, ქერში, ხორბალში – 70-76%-მდე. ჩვეულებრივ გამოყოფენ: **მაღალგანმეორებად, ზომიერადგანმეორებად და უნიკალურ ე.ი. არაგანმეორებად ან სულ რამოდენიმეჯერ განმეორებად თანმიმდევრობებს**.

მაღალგანმეორებადი თანმიმდევრობები ანუ მათ ასევე უწოდებენ **სატელიტურ*** დნმ-ს, შედგება მოკლე (5 – 12 ნ.წ.), მაგრამ მილიონჯერ განმეორებადი თანმიმდევრობებისაგან. მათი საერთო შემცველობა შეადგენს მთელი გენომის არა უმეტეს 10%. ისინი ჩვეულებრივ არ ტრანსლირდება ე.ი. წარმოადგენენ **სპეისერებს**** ამ თანმიმდევრობების ფუნქცია უცნობია. ვარაუდობენ, რომ ისინი ასრულებენ სტრუქტურულ როლს.

ზომიერადგანმეორებადი თანმიმდევრობები შეიცავენ დაახლოებით 200 – 300 ნ.წ. (თავის დნმ-ს მაგალითზე). მეორდებიან არანაკლებ 1000 ჯერ და შეადგენენ მთელი გენომის დახლოებით 20%. მათი ფუნქცია მთლიანობაში უცნობია, თუმცა ნაწილი მათ შორის ეფექტურად ტრანსლირდება.

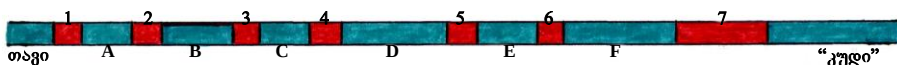
* მათ **სატელიტურს** უწოდებენ იმიტომ, რომ დანარჩენი დნმ-საგან განსხვავდებიან ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობებით.

** **სპეისერი** [ინგლ. Spacer] – არატრანსლირებადი მონაკვეთი (უბანი).

უნიკალური თანმიმდევრობები გენომში გვხვდება ერთხელ ან რამოდენიმეჯერ. მათი ზომა შეადგენს 700 – 1000 ნ.წ. (ზოგჯერ მეტს). მათ უკავიათ უდიდესი ადგილი გენომში.

ეუკარიოტული დნმ შეიცავს აგრეთვე დიდი რაოდენობით **ინვერტირებულ განმეორებებს ანუ პალინდრომებს** და მოძრავ ანუ **მოზილურ გენეტიკურ ელემენტებს (ტრანსპოზონებს)**.

ეუკარიოტული გენების უმეტესობას გენომში გააჩნია მეტად უცნაური სტრუქტურული თავისებურებები* – მათ ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობაში ჩართულია დნმ-ს მონაკვეთი (უბანი), რომელიც არ აკოდირებს პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ამინომჟავურ თანმიმდევრობას. დნმ-ს ასეთ არატრანსლირებად მონაკვეთებს (უბნებს) გენში ჰქვია **ჩართული თანმიმდევრობები ანუ ინტრონები (intron)**, ხოლო გენის მონაკვეთებს (უბნებს), რომლებიც აკოდირებენ პოლიპეპტიდური ჯაჭვის ამინომჟავურ თანმიმდევრობებს, ჰქვია **ეკზონები (ინგლისურიდან expression)**. 91-ე სურათზე ჩანს, რომ გენში, რომელიც აკოდირებს



სურ. 91. ინტრონები ოვალბუმინის გენებში

(1 – 7 ეკზონები; A – F ინტრონები)

კვერცხის ცილა – ოვალბუმინს, არის ექვსი ინტრონი, რომლებიც მას ჰყოფენ შვიდ (1 – 7) ეკზონად. ჩანს აგრეთვე, რომ ინტრონები აქ გაცილებით გრძელია ეკზონებზე – ყველა ინტრონის ჯამური სიგრძე გენის დნმ-ს საერთო სიგრძის დაახლოებით 85% შეადგენს.

გენის ასეთი წყვეტილი **ეკზონ – ინტრონული ანუ მოზაიკური სტრუქტურის** მნიშვნელობა ბოლომდე ცნობილი არ არის და წარმოადგენს მრავალი ჰიპოთეზის საგანს.

* ეს მოვლენა სრულიად მოულოდნელად დადგინდა 1977 წელს.

ნაწილი III

ბენეტიკური ინჟინერია

3.1. ბენეტიკური ინჟინერიის რაობა და ამოცანები

თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის ცენტრალურ ბირთვს წარმოადგენს **გენეტიკური ინჟინერია**. ლიტერატურაში არ არის გენეტიკური ინჟინერიის საყოველთაოდ მიღებული განმარტება.

ყველაზე მისაღებ განმარტებას წარმოადგენს შემდეგი: **გენეტიკური ინჟინერია** არის ბიოტექნოლოგიის მეთოდი, რომელიც ცოცხალი ორგანიზმების გენეტიკური აპარატის წინასწარ დასახული გეგმით (ე.ი. მიზანმიმართულად) გარდაქმნისა და მათთვის ახალი თვისებების მინიჭების ან პრინციპულად ახალი ორგანიზმების შექმნის მეთოდებსა და ხერხებს ამუშავებს. იგი ლაბორატორიული გზით სინჯარაში (*in vitro*) ე.წ. რეკომბინანტული (ჰიბრიდული) დნმ-ს მოლეკულების სახით უზრუნველყოფს ხელოვნური, ფუნქციონალურად აქტიური გენეტიკური სტრუქტურების კონსტრუირებას.

ძალიან ხშირად ლიტერატურაში როგორც სინონიმებს, იყენებენ ტერმინებს: **„გენეტიკური ინჟინერია“** და **„გენური ინჟინერია“**, სინამდვილეში მათი შინაარსი სხვადასხვაა. ტერმინი **„გენეტიკური“** დაკავშირებულია ორგანიზმების გენეტიკასთან, ხოლო **„გენური“** – გენთან, ან გენებთან, ე.ი. პირველი წარმოადგენს უფრო ფართო ცნებას და მოიცავს მანიპულაციას არა მარტო ცალკეულ გენებთან, არამედ გენომის უფრო მსხვილ ნაწილებთან. ამიტომ მოვლენის (პროცესის) არსს უფრო ზუსტად ასახავს ტერმინი **„გენეტიკური ინჟინერია“**.

გენეტიკური ინჟინერიის ისტორია მოკლეა – იგი მხოლოდ 35 წლისაა. მისი **შორეული წინაისტორია** დაკავშირებულია კლასიკური გენეტიკის მეთოდების განვითარებასთან. მემკვიდრული ნიშნების ქცევის კანონების შესწავლის შესახებ **გრეგორ მენდელის (Gregor Mendel)** კლასიკურმა შრომამ ხელი შეუწყო ძირითადი გენეტიკური კანონზომიერების გამოვლენას და მემკვიდრეობის ერთეულზე – გენზე წარმოდგენის ჩამოყალიბებას.

უახლესი წინაისტორია (დაიწყო დაახლოებით 40 წლის წინათ) დაკავშირებულია ბიოლოგიაში ფიზიკური და ქიმიური მეთოდების გამოყენებასთან, პრაქტიკაში პრეციზიული (ზეზუსტი) ხელსაწყოებისა და მოწყობილობების შემოღებასთან, რომლებმაც შესაძლებელი გახადა გენეტიკური სტრუქტურებისა და მათი ფუნქციების მოლეკულურ დონეზე ანალიზი, ე.ი. გენეტიკის ახალი განყოფილების – მოლეკულური გენეტიკის ფორმირებასთან.

გენეტიკური ინჟინერიის ფორმირებაში უდიდესი როლი ითამა-

შა მიკროორგანიზმების გენეტიკამ. სახელდობრ, მიკროორგანიზმების თანამედროვე მოლეკულური გენეტიკის მიღწევებმა და მის მიერ დამუშავებულმა კანონზომიერებმა, იდეებმა და მეთოდებმა.

ტერმინი „გენეტიკური ინჟინერია“ პირველად სამეცნიერო ლიტერატურაში გაჩნდა XX საუკუნის 70-იანი წლების მიჯნაზე. 1969 წელს **ჯ. ბეკვიტმა (J.R. Beskwith)**, **ი. შაპირომ (I. Shapiro)** და **ლ. ირონმა (L. Iron)** ჰარვარდის უნივერსიტეტიდან (აშშ), პირველად გამოჰყვეს „წმინდა“ გენი (ნაწლავის ჩხირის β -გალაქტოზიდაზას გენი), ხოლო **გ. კორანას (G. Khorana)** ლაბორატორიაში 1970 წელს ქიმიური გზით ხელოვნურად სინთეზირებულ იქნა საფუარას ალანინის ტ-რნმ-ს გენი. ამ დროისათვის ემბრიოლოგებმა მნიშვნელოვან წარმატებებს მიაღწიეს ცხოველთა ჩანასახის უჯრედების მანიპულაციაში. მაგალითად, შესაძლებელი გახდა ბაყაყის კვერცხუჯრედიდან ჰაპლოიდური ბირთვის ($n=13$) მოცილება და შემდეგ მასში თავკომბალას ნაწლავის უჯრედის დიპლოიდური ბირთვის ($2n=26$) შეყვანა და ნორმალური ზრდასრული ორგანიზმის მიღება (ამერიკელი ემბრიოლოგების **რ. ბრიგისა და ტ. კონგის** ექსპერიმენტი). ამგვარად პირველად არასქესობრივი გზით მიღებულ იქნა ცხოველი, რამაც შესაძლებელი გახდა ინდივიდების კლონირება **ე.ი. მათი გენეტიკურად იდენტური ასლების მიღება**. აქედან გამომდინარეობს, რომ თუ კი მკვლევარის ხელში აღმოჩნდება ემბრიონალური უჯრედები და „წმინდა“ გენები, მაშინ ჩნდება გარკვეული დეფექტური გენების სრულფასოვანი გენებით შეცვლის ანუ **გენური თერაპიის განხორციელების** შესაძლებლობა. სწორედ ამ პროცესის ასახსნელად შემოღებული იყო ტერმინი **„გენეტიკური ინჟინერია“**. მაგრამ მალე ცხადი გახდა, რომ „წმინდა“ გენების გაჩენასთან ერთად იშლება უჩვეულო ნიშნების მქონე ბაქტერიების, მათ შორის სამრეწველო მიკროორგანიზმების მაღალეფექტური შტამების კონსტრუირების პერსპექტივა. ამიტომ ტერმინმა **„გენეტიკური ინჟინერია“** შეიძინა ახალი შინაარსი.

თვლიან, რომ გენეტიკური ინჟინერია ჩაისახა 1972 წელს, როცა **პოლ ბერგის (P. Berg)** ჯგუფმა სტენფორდის უნივერსიტეტიდან (აშშ), მიიღო პირველი **in vitro რეკომბინანტული დნმ***, რომელიც აერთიანებ-

* კონსტრუირებული მოლეკულა არ იყო გამოცდილი ფუნქციონალურ აქტიურობაზე, რადგანაც ამ შრომის ავტორებს გაუჩნდათ შიში, რომ გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებს შეუძლია ადამიანი მიიყვანოს ჯანმრთელობისათვის საშიში მიკროორგანიზმების გაჩენამდე, მაგალითად ბაქტერია *E. coli*-ს, რომელსაც უნარი ექნება გადაიტანოს ცხოველთა ონკოგენური ვირუსები ადამიანის ნაწლავებში. რეკომბინანტულ მოლეკულებთან მუშაობის გვიან დამუშავებულმა წესებმა (ასილომარი, 1975; აშშ) შესაძლებელი გახდა სხედსხვა წარმოშობის გენებისაგან რეკომბინანტული დნმ-ს შექმნისას მავნე შედეგების წარმოქმნის პრაქტიკულად აცილება. პიბრიდული (რეკომბინანტული) დნმ-ს ფუნქციონალურად აქტიური მოლეკულები პირველად მიღებულ იქნა **ს. კოენის (S.W. Cohen)**, **დ. ჰელინსკის (D. R. Helinski)**, **გ. ბოიერის (H. W. Boyer)** და მათი თანამშრომლების მიერ 1973-1974 წლებში.

და სამი ორგანიზმის გენეტიკურ მასალას: მაიმუნის ონკოგენური ვირუსის SV40-ს* სრულ გენომს, ბაქტერიოფაგ ლ გენომის ნაწილს და ბაქტერია E. coli-ს გალქტოზური ოპერონის გენებს.*

გენეტიკური ინჟინერიის განვითარების ისტორია პირობითად შეიძლება დაიყოს სამ ეტაპად. პირველი ეტაპი დაკავშირებულია in vitro დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულების მიღების პრინციპული შესაძლებლობის დადგენასთან. ეს შრომები ეხება სხვადასხვა პლაზმიდებს შორის და პლაზმიდებსა და ფაგებს შორისაც კი ჰიბრიდების მიღებას, ე.ი. ეგრეთ წოდებული ვექტორული მოლეკულების კონსტრუირებას. ამ ეტაპზე დამტკიცებულ იქნა: ა) ბაქტერიების სხვადასხვა სახეობებისა და შტამების დნმ-ს საწყისი მოლეკულების გამოყენებით რეკომბინანტული მოლეკულების შექმნის შესაძლებლობა; ბ) მათი ცხოველმყოფელობა; გ) სტაბილურობა; დ) ფუნქციონირება.

მეორე ეტაპი დაკავშირებულია პროკარიოტების ქრომოსომულ გენებსა და სხვადასხვა პლაზმიდებს შორის დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულების მიღების მუშაობის დაწყებასთან, მათი სტაბილურობისა და ცხოველმყოფელობის დადგენასთან.

მესამე ეტაპი დაკავშირებულია დნმ-ს ვექტორულ მოლეკულაში ეუკარიოტების უმაღლესი ფორმების გენების შეყვანასთან დაკავშირებული მუშაობის დაწყებასთან.

გენეტიკური ინჟინერია შედგება ორი განყოფილებისაგან – გენური ინჟინერია და გენომური ინჟინერია.**

გენური ინჟინერია – არის მანიპულაცია ცალკეული გენების დონეზე. ის წყვეტს რეციპიენტული*** უჯრედის გენომში ერთი ან რამდენიმე (ჩვეულებრივ უცხო) გენის შეყვანის ამოცანებს. ამ შემთხვევაში რეციპიენტული ორგანიზმების სახეობრივი კუთვნილება არ იცვლება, მაგრამ ჩნდება მათთვის უჩვეულო ნიშნები.

გენომური ინჟინერია – არის მანიპულაცია ორგანიზმის მთელი გენომის დონეზე, ე.ი. გენეტიკური მასალის ყველა ან დიდი ნაწილის ერთი უჯრედიდან მეორეში გადატანა. მის წინაშე დგას გენომში ღრმა ჩარევის ამოცანები, ორგანიზმების ახალი სახეობების შექმნადღეც კი.

ამჟამად გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებს წარმატებით იყენებენ ფუნდამენტური პრობლემების გადასაწყვეტად. დიდი მნიშვნელობა ენიჭება გენებისა და გენომების მოლეკულური სტრუქტურის, აგრეთვე მათი ექსპრესიის**** რეგულირების მოლეკულური მექანიზმ-

* SV40 [simian virus – მაიმუნის ვირუსი] – ყველაზე პოპულარული ობიექტი ცხოველთა ვექტორისათვის. შედგება დაახლოებით 5250 ნ.წ., გამოყოფილია მაიმუნის თირკმლებიდან.

** ზოგჯერ გამოყოფენ მესამე განყოფილებასაც – ქრომოსომულ ინჟინერიას.

*** რეციპიენტი – მიმღები.

**** ექსპრესია [ლათ. expressio] – გამოვლენა, მუშაობა.

ბის გამოკვლევებს. არსებითი პროგრესია მიღწეული ეუკარიოტული ორგანიზმების შესწავლაში. დადგენილია გენების წყვეტილი აგებულება, გამოვლენილია მობილური გენები და უჯრედების დიფერენცირების დროს გენების გადატანის მექანიზმები, ცალკეულ შემთხვევებში გამორკვეულია ავთვისებიანი სიმსივნით უჯრედების გადაგვარების გენეტიკური მიზეზები და ა.შ.

გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით შეიძლება გადაწყვეტილი იქნას შემდეგი **პრაქტიკული ამოცანები**:

ა) მიკროორგანიზმების გენეტიკური გარდაქმნა ამ ორგანიზმების მიერ ადამიანისათვის აუცილებელი პროდუქტების – ამინომჟავების, ფერმენტების, პოლისაქარიდების და სხვათა გამომუშავების გაზრდის მიზნით;

ბ) ძუძუმწოვრებისა და ადამიანის გენების გადატანა მიკროორგანიზმებში სამკურნალო-პროფილაქტიკური დანიშნულებით გამოყენებული სპეციფიკური ცილების – ჰორმონების, ვაქცინების, ინტერფერონების, ფერმენტების, იმუნოგლობულინების, ინსულინის და სხვათა სინთეზირების მიზნით;

გ) უმაღლესი მცენარეების გენეტიკური გარდაქმნა მათი პროდუქტიულობის, აზოტფიქსაციის უნარის, არახელსაყრელი გარემო ფაქტორებისადმი გამძლეობის, დაავადებებისა და მავნებლების მიმართ იმუნურობის და სხვათა გაზრდის მიზნით;

დ) მემკვიდრული ავადმყოფობით დაავადებული ადამიანის სომატური უჯრედების გენეტიკური გარდაქმნა ჯანსაღი რეკომბინანტული დნმ-ით ანუ მემკვიდრული დაავადებების გენური თერაპია და სხვა.

3.2. გენების სტრუქტურა და მათი ექსპრესიის რეგულაცია

გენეტიკურ-ინჟინრული მუშაობის ძირითად ობიექტს წარმოადგენს **გენები**. უკანასკნელ წლებში წარმოდგენა გენების სტრუქტურაზე კარდინალურად შეიცვალა. ადრე ვარაუდობდნენ, რომ ყველა გენი შედგება ნუკლეოტიდების უწყვეტად კოდირებადი თანმიმდევრობებისაგან. მაგრამ როგორც გამოირკვა, ეუკარიოტების გენების უმეტესობას გააჩნია მოზაიკური აგებულება – მათში ერთმანეთს ენაცვლება კოდირებადი და არაკოდირებადი მონაკვეთები. ამიტომ ისინი გაცილებით გრძელია, ვიდრე ეს საჭიროა გარკვეული სიგრძის პოლიპეპტიდური ჯაჭვის კოდირებისათვის. ითვლებოდა აგრეთვე, რომ დნმ-ში გენებს უკავიათ ფიქსირებული მდგომარეობა. ახლა უკვე დადგენილია მრავალი „მოხეტიალე“ გენი და ჯგუფებიც კი.

გენებში არსებული ინფორმაცია, ჩაწერილია გენეტიკური კოდით. ყველა ორგანიზმისათვის, მცირე გამოწვევის გარდა, იგი ერთნაირია. ყველა უჯრედისათვის ერთნაირია აგრეთვე გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის პრინციპებიც. ნებისმიერი გენის სტრუქტურაში დაპროგრამებულია მისი ექსპრესიის ორი ძირითადი ეტაპი. **პირველ ეტაპზე** ფერმენტი რნმ-პოლიმერაზას საშუალებით სინთეზირდება მ-რნმ (გენის ტრანსკრიპცია). **მეორე ეტაპზე** სორციელდება ცილის სინთეზი (გენის ტრანსლაცია). მიუხედავად ყველა ორგანიზმის ამ ეტაპების პრინციპული მსგავსებისა, პრო- და ეუკარიოტებში გენების სტრუქტურა და მათი რეგულატორული ელემენტები, აგრეთვე ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის აპარატების აგებულება არსებითად განსხვავებულია (ცხრილი 9).

3.2.1. პროკარიოტების გენები

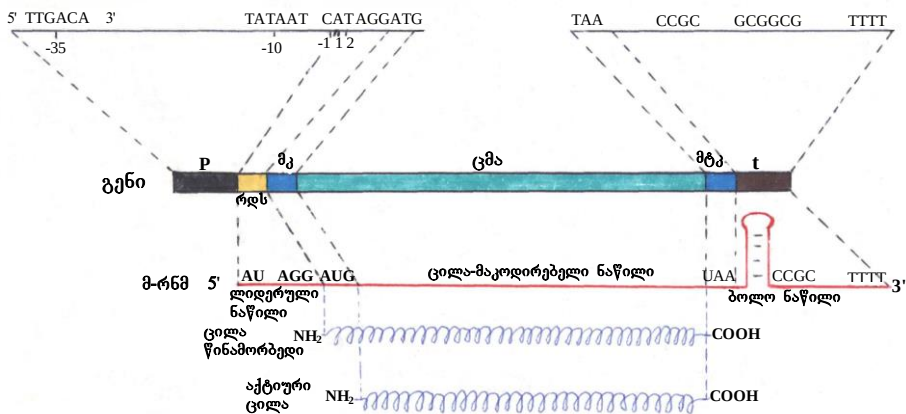
პროკარიოტების გენები შედგება პრომოტორის, რიბოსომასთან დაკავშირების საიტის, ცილა-მაკოდირებელი ადგილისა (ნაწილის) და ტრანსკრიპციის ტერმინატორისაგან (სურ. 92).

პრომოტორი ეწოდება დნმ-ს მონაკვეთს (უბანს), რომელსაც უკავშირდება ფერმენტი რნმ-პოლიმერაზა და ამით ხდება ტრანსკრიპციის ინიციაცია (დაწყება). პრომოტორის შედგენილობაში შედის ორი კონსერვატიული თანმიმდევრობა (სურ. 93). ერთი მათ შორის – პექსამერი **5' TTGACA 3'** რომელსაც ჰქვია **შეცნობის თანმიმდევრობა**, განლაგებულია ტრანსკრიპციის საწყისი წერტილის მარცხნივ მდგომარეობა -35-ის* მახლობლად. იგი აუცილებელია **რნმ-პოლიმერაზას**

* ტრანსკრიბირებადი ნუკლეოტიდების კოორდინატები იწერება დადებითი ნიშნებით, ხოლო პრომოტორის ნუკლეოტიდები – უარყოფითით.

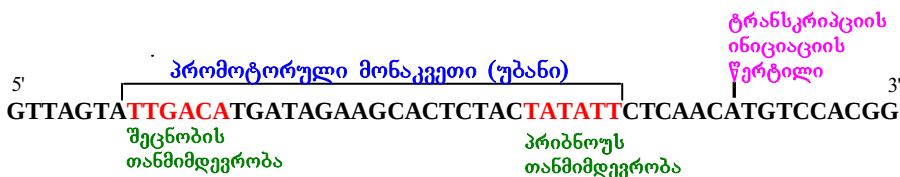
პრო- ღა ეუკარიოტომის გენეტიკური აპარატის ფუნქციონირება
ცხრილი 9

გენეტიკური აპარატის ელემენტები	პროკარიოტები	ეუკარიოტები
გენები		
აბეზულება	უწყვეტი	ჩვეულებრივ შეიცავენ ინტრონებს
სტაბილურობა მსპრემიის პროტეინების	სტაბილურია	შესაძლებელია გარდაქმნები
	ოპერონებში (რეგულონებში) დაჯგუფებული გენები იმართება ოპერატორებითა და რეგულატორული ცილების დაკავშირების საიტებით	ოპერონები არ არის. ინდუციბელურ გენებს გააჩნიათ რეგულატორული ელემენტები. ახასიათებთ ენკანსერუბის ქსოვილსპეციფიურობა
ტრანსკრიპცია		
რნმ-პოლიმერაზას რაოდენობა	1	2
პრომოტორები	აგებულების ერთიანი გეგმა; ორი კონსერვებული თანმიმ-თანმიმდევრობის: TATAAT (-10) და TTGACA (-35) არსებობა.	პრომოტორებს გააჩნიათ GC-და AT-მდიდარი ადგილები. პირველი განლაგებულია -100. . -40 მდგომარეობაზე, მეორე – -30 მდგომარეობაზე.
ენკანსერები ტრანსკრიპციის ტერმინატორი	არ არის	არის
	გააჩნია სამი თავისებურება: ინვერტირებული თანმიმდევ-მიმდევრობები, GC-მდიდარი უბანი და თიმიდინის ნაშთებით მდიდარი უბანი.	გააჩნია თიმიდინის ნაშთისა-გან შემდგარი თანმიმდევრობა; მ-რნმ 3'-ბოლოზე განლაგებულია პოლიადენილური ჯაჭვი.
მ-რნმ	კოლინეარულია გენის ან ოპერონის მიმართ.	პირველი ტრანსკრიპტი კოლინეარულია გენისადმი; 5'-ბოლოზე მდებარეობს 7'-მეთილგუანო-ზინი, ხოლო 3'-ბოლოზე-პოლი-ადენილური ჯაჭვი; „მწიფე“ მ-რნმ წარმოიქმნება სპლაისინგის პროცესში. დამახასიათებელია ალტერნატიული სპლაისინგის ვარიანტები.
ტრანსლაცია		
რიბოსომები	70S (50S + 30S)	80S (60S+40S)
მაინიცირებადი კოლონი	AUG, იშვიათად GUG	AUG
მატერმინირებადი კოლონი	UAG, UAA, UGA	UAG, UAA, UGA
რიბოსომებთან დაკავშირების საიტი	თანმიმდევრობა, რომლის ბირთვია AGGA	კონსერვებული თანმიმდევ-ვრობა დადგენილი არ არის



სურ. 92. პროკარიოტების გენების სტრუქტურა

(P – პრომოტორი, რდს – რიბოსომასთან დაკავშირების საიტი, ცმა – ცილა-მაკოდირებელი ადგილი (ნაწილი), მტკ – მატერმინირებელი კოდონი, მკ – მაინიცირებელი კოდონი, t – ტერმინატორი)



სურ 93. E.coli-ს პრომოტორული მონაკვეთი (უბანი)

მიერ პრომოტორის ცნობისათვის. მეორე – ჰექსამერი 5' TATAAT 3', რომელსაც ჰქვია პრიბნოუს თანმიმდევრობა, მდებარეობს მდგომარეობა -10-ის მახლობლად. იგი აუცილებელია პრომოტორის რნმ-პოლიმერაზასთან მჭიდროდ დაკავშირებისათვის. ორივე თანმიმდევრობის მდებარეობა სხვადასხვა პრომოტორში რამდენადმე განსხვავებულია, მაგრამ დიდ უმრავლესობაში ისინი ერთმანეთისაგან დაცილებულია 16-18 ნუკლეოტიდით. პრიბნოუს თანმიმდევრობა პირველი ტრანსკრიბირებადი ნუკლეოტიდისაგან დაცილებულია საშუალოდ 6-7 ნუკლეოტიდით.

პირველ ტრანსკრიბირებად ნუკლეოტიდს უმეტეს შემთხვევაში წარმოადგენს ადენინი (A). მის მეზობელ ნუკლეოტიდებს წარმოადგე-

ნენ ძირითადად C (კოორდინატი -1) და T (კოორდინატი +2). ტრანსკრიპციის დამთავრების ნიშანს წარმოადგენს ტრანსკრიპციის ტერმინატორები. მათ გააჩნიათ სამი დამახასიათებელი მონაკვეთი (უბანი). პირველი მონაკვეთი (უბანი) შეიცავს სხვადასხვა სიგრძის ნუკლეოტიდების ინვერტირებულ თანმიმდევრობებს (პალინდრომებს), რომლებიც ქმნიან “სარკების” სტრუქტურას. მეორე მონაკვეთში (უბანში) მდებარეობს 3-დან 11-მდე GC-წყვილი, რომლებიც თანმიმდევრულად განლაგებულია თვით “სარკში” ან მისგან მარჯვნივ. ამ ორი მონაკვეთის (უბნის) გამო დნმ-ზე ნელდება ფერმენტ რნმ-პოლიმერაზას მოძრაობა. მესამე მონაკვეთი (უბანი) მდიდარია თიმიდინის ნაშთებით. მასში დახლოებით 20 ნუკლეოტიდის მანძილზე “სარკის” ღერძიდან წყდება ტრანსკრიპცია და დნმ-ს სცილდება ფერმენტი რნმ-პოლიმერაზა.

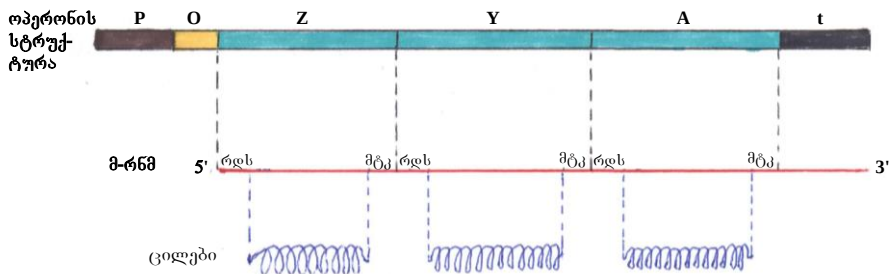
გენის ტრანსკრიპციის პროცესში წარმოქმნილი მ-რნმ შედგება 5' ლიდერული, ცილა-მაკოდირებელი და 3' ბოლო (ტრეილერ) ნაწილებისაგან (ადგილებისაგან).

გენის ტრანსლაცია იწყება მ-რნმ-ზე რიბოსომის დაჯდომით (დაკავშირებით), რაც ხორციელდება რიბოსომის 16S რ-რნმ-ს 3'-ბოლოსა და პოლიპეპტიდის სინთეზის მაინიცირებელი კოდონიდან (AUG) 4-8 ნუკლეოტიდის დაცილებით მ-რნმ-ს ლიდერულ ნაწილში ნუკლეოტიდების კომპლემენტური თანმიმდევრობის არსებობის გამო. ამ თანმიმდევრობას უწოდებენ რიბოსომასთან დაკავშირების საიტს ანუ შაინა-დალგარნოს თანმიმდევრობას. იგი შედგება 5-9 ნუკლეოტიდისაგან, რომლის ბირთვს წარმოადგენს ტეტრამერი 5' AGGA 3'.

გენის ცილა-მაკოდირებელი ნაწილი (ადგილი) ანუ სტრუქტურული ნაწილი შემოსაზღვრულია მაინიცირებელი (ჩვეულებრივ – AUG, იშვიათად – GUG) და მატერმინირებელი (UAA, UAG და UGA) კოდონებით. ტრიპლეტი AUG ჩვეულებრივ აკოდირებს ამინომჟავა მეთიონინს, მაგრამ სინთეზირებადი პოლიპეპტიდური ჯაჭვის დასაწყისში ის აკოდირებს ფორმიმეთიონინს. მზა ცილაში ეს ამინომჟავა განიცდის დეფორმაციას ან საერთოდ სცილდება ცილას.

პროკარიოტების გენების ექსპრესიის რეგულაცია ძირითადად ხორციელდება ტრანსკრიპციის დონეზე. ზოგიერთი ცილის მიერ გარკვეული ფუნქციის ერთობლივი შესრულებისას, მათი მაკოდირებელი გენები ქმნიან ჯგუფს კოორდინირებული ექსპრესიით. თუ ასეთ ჯგუფში შემაჯავლი გენები განლაგებულია ერთმანეთის გვერდით, მაშინ მათ უწოდებენ ოპერონს, ხოლო თუ სხვადასხვა ადგილებში – რეგულონს. ოპერონებში და რეგულონებში გენების ექსპრესიის კოორდინირება ხდება მათი ტრანსკრიპციის ერთდროული ჩართვით.

ოპერონების აგებულება და მათში შემაჯავლი გენების ექსპრესიის მექანიზმები ჩვენთვის უკვე ცნობილია ლაქტოზის ოპერონის (Lac-ოპერონის) მაგალითზე (სურ. 94). ოპერონს გააჩნია მხოლოდ ერთი



სურ. 94. ლაქტოზის ოპერონის ექსპრესია

(P – პრომოტორი; O – ოპერატორი; Z, Y, A – სტრუქტურული გენები; t – ტრანსკრიპციის ტერმინატორი; რდს – რიბოსომასთან დაკავშირების საიტი; მტკ – მაინიცირებული კოლონი; მტკ – მატერმინირებული კოლონი)

პრომოტორი და ერთი ტრანსკრიპციის ტერმინატორი. ამიტომ მასში შემაგალი ყველა გენი ტრანსკრიბირდება მ-რნმ-ს ერთ პოლიგენურ მოლეკულაში. მასზე ერთდროულად სინთეზირდება სხვადასხვა ცილა, რადგანაც ყოველ გენს აქვს საკუთარი რიბოსომასთან დაკავშირების საიტი. ერთდროულად წყდება ოპერონის ყველა გენის ექსპრესიაც თუ ბლოკირებულია მათი ტრანსკრიპცია. ეს კი ხდება რეპრესორის მოლეკულების სპეციფიკურ ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობაზე – ოპერატორზე დაჯდომის გზით. რეპრესორი ხელს უშლის რნმ-პოლიმერაზას დაკავშირებას ოპერატორთან. ამიტომ ოპერონის ტრანსკრიპციის ინიცირება აღარ ხდება.

ექსპრესიის ანალოგიური პრინციპია რეგულონებშიც. მხოლოდ აქ ყოველ გენს გააჩნია საკუთარი პრომოტორი და ოპერატორი.

ზოგიერთი ოპერონი, რომელიც განსაზღვრავს ცილების სინთეზს, დამატებით რეგულირდება ე.წ. ატტენუატორების საშუალებით. ატტენუატორი წარმოადგენს პრომოტორსა და ოპერონის პირველ გენს შორის განლაგებულ ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობებს ინვერტირებული განმეორებით.

3.2.2 ეუკარიოტების გენები

ეუკარიოტების გენები აგებულია და ტრანსკრიპციის ხასიათით მნიშვნელოვნად განსხვავდება პროკარიოტული გენებისაგან (სურ. 95). უმეტესი ეუკარიოტული გენისათვის განმასხვავებელ თავისებურებას წარმოადგენს მათში კოდირებადი (ეკზონები) და არაკოდირებადი (ინტრონები) ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობების მორიგეობა, რის გამოც მათ უწოდებენ მოზაიკურს ანუ წყვეტილს. ეუკარიოტების გენები არ ჯგუფდება ოპერონში, ამიტომ ყოველ მათგანს

ენჰანსერი მრავალჯერ აღიღებს პრომოტორზე რნმ-პოლიმერაზას დაჯდომის (დაკავშირების) სიხშირეს. ამასთან გენთან დამოკიდებულებით ის შეიძლება იმყოფებოდეს ნებისმიერ ორიენტაციაში. განლაგდეს მის ნებისმიერ მხარეზე, მის შიგნით (ინტრონში) და რამდენიმე ათასი წყვილი ნუკლეოტიდის დაცილებითაც კი. ენჰანსერის აღნიშნული თვისებები ვლინდება მხოლოდ გარკვეულ ქსოვილებში ეი. ენჰანსერები ხასიათდებიან ქსოვილსპეციფიკურობით.

რეგულატორული ელემენტები აქვს ე.წ. ინდუციბელურ გენებს (მაგ. ინტერფერონის გენებს), რომლებიც ტრანსკრიბირდებიან უჯრედში მხოლოდ გარკვეული ბიოქიმიური ნივთიერებების არსებობისას. ენჰანსერებისაგან განსხვავებით ისინი მჭიდროდაა დაკავშირებული პრომოტორთან – განლაგებულია მისგან მარცხნივ ან გადაფარავენ მას.

ეუკარიოტების გენების ტრანსკრიპციის ტერმინატორებში, ისე როგორც პრომოტორებში, არის ორი დამახასიათებელი ადგილი (ნაწილი). დაახლოებით 100 ნუკლეოტიდის დაცილებით იმ ადგილიდან (საიტიდან), სადაც წყდება ტრანსკრიპცია, განლაგებულია **30-40 თი-მინისაგან (T)** შემდგარი თანმიმდევრობა. მისი როლი გენის ბოლოში დნმ-ზე ფერმენტ რნმ-პოლიმერაზას მოძრაობის დამუხრუჭებაში მდგომარეობს. აღნიშნულ ადგილამდე (საიტამდე) დახლოებით 20 ნუკლეოტიდის მანძილზე მდებარეობს თანმიმდევრობა **5' AATAA 3'**, რომელიც განსაზღვრავს მ-რნმ-ს **პოლიადენილირებას (poly A)** 3'-ბოლოზე.

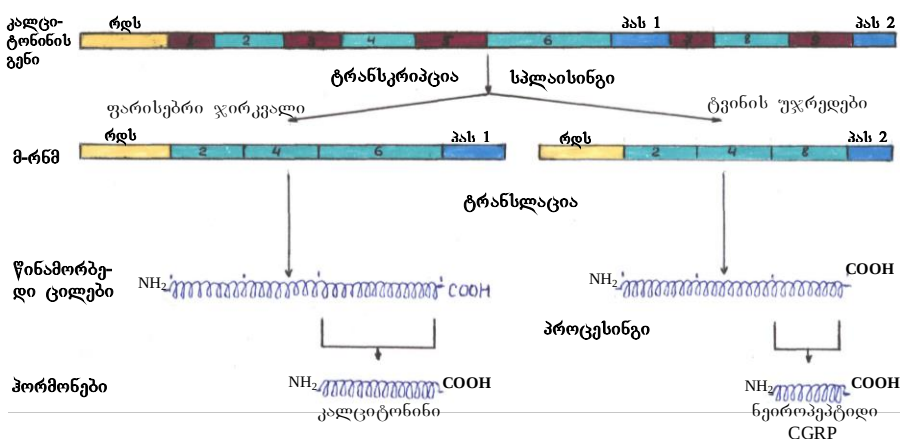
ეუკარიოტებში გენების ტრანსკრიპცია მიმდინარეობს ბირთვში, რაც იწვევს წინამორბედი-მ-რნმ-ს (პეტეროგენული ბირთვული რნმ-ს) წარმოქმნას. მ-რნმ მატრიცის როლს ასრულებს მხოლოდ ციტოპლაზმაში. ბირთვიდან ციტოპლაზმაში მემბრანების გავლით გადაადგილებისას წინამორბედი-მ-რნმ-ს მოლეკულები მოკლდებიან და გარდაიქმნებიან ე.წ. ციტოპლაზმურ მ-რნმ-ად. მ-რნმ-ს ორივე სახეს 5'-ბოლოზე გააჩნია პირველ ნუკლეოტიდთან **5'→3'** ტრიფოსფატური ბმით დაკავშირებული უჩვეულო ფუძე – 7-მეთილგუანოზინი.

გარდა ამისა, ეუკარიოტების მ-რნმ-ში 3'-ბოლოზე განლაგებულია დაახლოებით 200 ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი **პოლიადენილური (poly A) ჯაჭვი**.

ეუკარიოტული მ-რნმ-ს **რიბოსომასთან დაკავშირების საიტს** არ გააჩნია ფიქსირებული ქიმიური სტრუქტურები, მაგრამ მასში აქტიურ როლს თამაშობს 7-მეთილგუანოზინი.

ბირთვული მ-რნმ-დან (ეი. წინ-მ-რნმ-დან) არატრანსლირებადი თანმიმდევრობების – **ინტრონების** მოცილება ხდება **სპლაისინგის** შედეგად (ყველა ინტრონს 5'-ბოლოზე გააჩნია **GU** ნუკლეოტიდები, ხოლო 3'-ბოლოზე **AG** ნუკლეოტიდები). მასში აქტიურ მონაწილეობას იღებს მბ-რნმ.

ეუკარიოტული მ-რნმ-ს თავისებურებას წარმოადგენს აგრეთვე **ალტერნატიული სპლაისინგის** უნარი, რაც იწვევს სხვადასხვა პოლიპეტიდების სინთეზს. მაგალითად, თავის კალციტონინის გენი სხვადასხვა ქსოვილებში სხვადასხვანაირად ექსპრესირდება. ფარისებრ ჯირკვალში ის უზრუნველყოფს ჰორმონ კალციტონინის სინთეზს, რომელიც არეგულირებს ორგანიზმში კალციუმის შემცველობას, ხოლო ტვინის უჯრედებში იწვევს ნეიროპეპტიდ CGRP-ს (Calcitonin Gene Related Protein) წარმოქმნას. კალციტონინის გენის დიფერენცირებული ექსპრესიისადმი უნარი ჩადებულია მის სტრუქტურაში. იგი შედგება 2 არაკოდირებადი და 4 კოდირებადი ეკზონისა და 5 ინტრონისაგან (სურ. 96). ინტრონები ხელს უწყობენ ალტერნატიულ სპლაისინგს და



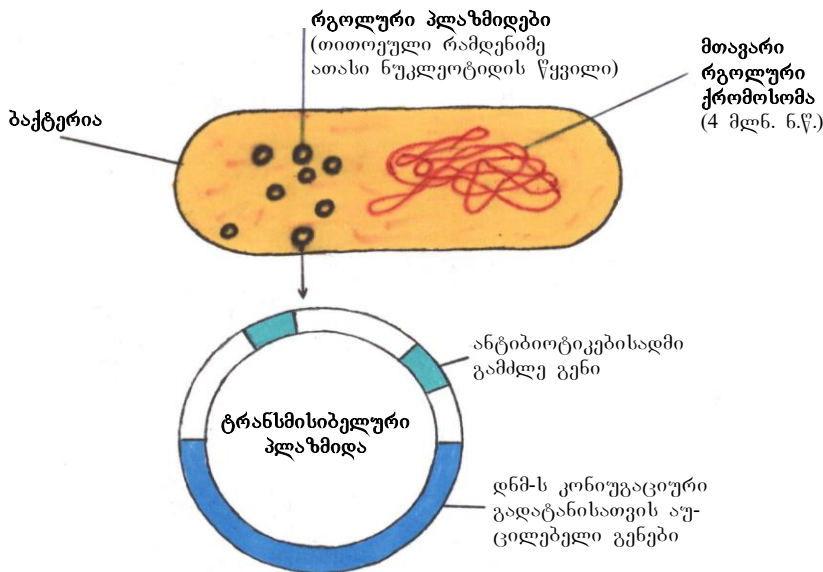
სურ. 96. თავის კალციტონინის გენის ალტერნატიული სპლაისინგი
(რღს – რიბოსომასთან დაკავშირების საიტი; პას 1 და პას 2 – პოლიადენილირების საიტები; 1, 3, 5, 7, 9 – ინტრონები; 2, 4, 6, 8 – კოდირებადი ეკზონები)

წინამორბედი მ-რნმ-დან საერთო 5'- და სხვადასხვა 3'-ბოლოების მქონე 2 ციტოპლაზმური მ-რნმ-ს წარმოქმნას. ეს მ-რნმ-ები განსაზღვრავენ 2 პოლიპეტიდის სინთეზს, რომელთაგან პროცესინგის შედეგად წარმოიქმნება – კალციტონინი და ნეიროპეპტიდი CGRP.

3.3. ბენეტიკურ ინჟინერიაში გამოყენებული ბენეტიკური სტრუქტურები და ელემენტები

3.3.1. პლაზმიდები

ბაქტერიულ უჯრედებს, გარდა მთავარი რგოლური (წრიული) ქრომოსომისა, რომელიც შედგება დაახლოებით 4 მლნ ნუკლეოტიდის წყვილისაგან, გააჩნია ძალიან პატარა, სტაბილურად მემკვიდრული, არაქრომოსომული გენეტიკური სტრუქტურები – **პლაზმიდები** (სურ. 97). უმეტეს შემთხვევაში პლაზმიდები წარმოადგენს დნმ-ს სუპერ-



სურ. 97. ბაქტერია E.coli-ს პლაზმიდები

სპირალიზებულ კოვალენტურად შეკრულ რგოლურ (წრიულ) მოლეკულებს სიგრძით 2-დან 600 ათასი ნუკლეოტიდის წყვილამდე. ასეთი სტრუქტურის გამო ისინი არ იშლება ნუკლეაზებით. არსებობს აგრეთვე ხაზობრივი პლაზმიდები, რომლებზეც ნუკლეაზები ასევე არ მოქმედებს, რადგანაც ბოლოებზე გააჩნიათ სპეციალური ცილები. უკანასკნელ წლებში პლაზმიდები აღმოჩენილია უმდაბლეს ეუკარიოტებშიც. ეს მინიქრომოსომები პირველად იდენტიფიცირებული (გამოყოფილი) იქნა როგორც მთავარი ქრომოსომისაგან დამოუკიდებელი და ანტიბიოტიკებისადმი (ტეტრაციკლინი, ამპიცილინი, კანამიცილინი

და სხვა) გამძლეობის გენების* მატარებელი სტრუქტურები.

უჯრედები, რომლებშიც ერთეობა პლაზმიდები, იძენენ ახალ თვისებებს. იმის მიხედვით, თუ რომელ თვისებებს ანიჭებენ პლაზმიდები უჯრედებს, არჩევენ: **F-პლაზმიდებს** (ფერტილობის ფაქტორი) – უჯრედებს ანიჭებენ კონიუგაციის უნარს; **Col-პლაზმიდებს** – ხელს უწყობენ შხამების – კოლიცინების სინთეზს; **R-პლაზმიდებს** – განსაზღვრებენ უჯრედების გამძლეობას (რეზისტენტობას) ანტიბიოტიკებისადმი; **Hly-პლაზმიდებს** – უზრუნველყოფენ ჰემოლოზინების სინთეზს; **Ent-პლაზმიდებს** – ხელს უწყობენ ენტეროტოქსინების სინთეზს.

ბაქტერიულ უჯრედებში ავტონომიურად მყოფ პლაზმიდებს **უსასრულოდ ხანგრძლივი კვლავწარმოების (განმეორების) უნარი** აქვთ. ეს აიხსნება იმით, რომ მათი რეპლიკაცია **ხორციელდება ავტონომიურად** – ძირითადად ბაქტერია-პატრონის გამრავლების პროცესისაგან დამოუკიდებლად. პლაზმიდები წარმოადგენენ დამოუკიდებელ რეპლიკონებს, ე.ი. გააჩნიათ რეპლიკაციის დაწყების საიტი – რეპლიკაციის *ori* და მისი განხორციელებისათვის აუცილებელი გენები.

როგორც ყველა რეპლიკონს, პლაზმიდებს ასევე აქვთ ბაქტერიული ქრომოსომის რეპლიკაციის რეგულაციის მექანიზმებისაგან დამოუკიდებელი, **თავისი რეპლიკაციის თვითრეგულაციის უნარი**. არჩევენ რეპლიკაციის **მკაცრი** და **შესუსტებული უნარის კონტროლის** მქონე პლაზმიდებს. მკაცრი კონტროლის დროს, პლაზმიდის დნმ-ს მოლეკულის რეპლიკაცია (თვითგაორმაგება) ხორციელდება ბაქტერიის ქრომოსომული დნმ-ს რეპლიკაციის სინქრონულად და ამის გამო პლაზმიდების ასლების რიცხვი უჯრედში არ აღემატება ერთს ან რამდენიმეს. შესუსტებული კონტროლის დროს პლაზმიდის დნმ-ს მოლეკულის რეპლიკაცია გრძელდება მანამდე, სანამ უჯრედში არ წარმოიქმნება პლაზმიდის საშუალოდ 10-დან 200-მდე ასლი.

ზოგიერთი პლაზმიდისათვის (მაგ. F-პლაზმიდები) დამახასიათებელია ბაქტერიულ ქრომოსომაში **ინტეგრირებისა (ჩაშენებისა) და მის შემადგენლობაში უსაზღვროდ დიდხანს არსებობის უნარი**. ასეთ პლაზმიდებს უწოდებენ **ეპისომებს**. ისინი თავის შემადგენლობაში ჩვეულებრივ შეიცავენ IS- ან Tn-ელემენტებს.**

პლაზმიდების ერთ-ერთ ყველაზე საინტერესო თვისებას გენე-

* ანტიბიოტიკებისადმი გამძლეობის გენები ქრომოსომების ნაცვლად პლაზმიდებში შემთხვევით არაა განლაგებული. ორგანიზმისათვის ანტიბიოტიკებისადმი გამძლეობის უნარის მისანიჭებლად აუცილებელია ამ ანტიბიოტიკების ქიმიურად მანეიტრალიზებული ფერმენტების საკმაოდ დიდი რაოდენობის სინთეზი. პლაზმიდებში განლაგებისას შესაბამისი გენების გაცილებით მეტი ასლების წარმოქმნაა შესაძლებელი, ვიდრე მთავარ ქრომოსომებში.

** ამ ელემენტებზე ინფორმაცია იხილეთ ქვემოთ გვ. 257-258.

ტიკური ინჟინერიის თავლსაზრისით წარმოადგენს მათი ერთი ბაქტერიიდან მეორეში გადასვლის ანუ კონიუგაციის უნარი. პლაზმიდებს, რომლებსაც გააჩნია ეს თვისება ეწოდება ტრანსმისიბელური, ხოლო რომლებსაც არ გააჩნია – არატრანსმისიბელური. პლაზმიდების დნმ-ში არის გენების ბლოკი, რომელიც უზრუნველყოფს მათ კონიუგაციურ პროცესს. ამ გენებს **tra-გენები*** ეწოდება. პლაზმიდების კონიუგატურობის გამო, ბაქტერიის უჯრედებს გააჩნიათ პლაზმიდების არმქონე რეციპიენტ-უჯრედებთან კონიუგაციაში შესვლისა და მათთვის არა მარტო პლაზმიდების, არამედ ბაქტერიების გენეტიკური მასალის გადაცემის უნარი. ეს ხდება იმიტომ, რომ ზოგიერთ პლაზმიდას (მაგ. F-პლაზმიდებს) გენეტიკური რეკომბინაციის შედეგად აქვს ბაქტერიის ქრომოსომაში ჩართვისა და შემდეგ იქიდან გამოსვლისას არასწორი ამოჭრის გამო, გვერდით განლაგებული ბაქტერიის გენების თან წამოღების უნარი. რეკომბინაცია შეიძლება მოხდეს თვით პლაზმიდებს შორისაც. ამრიგად, პლაზმიდები ხელს უწყობენ გენეტიკური მასალის უჯრედიდან უჯრედებში გადატანას ანუ რეკომბინირებას, რითაც იზრდება ორგანიზმების გენეტიკური ცვალებადობა.

აუცილებლად უნდა აღინიშნოს პლაზმიდების კიდევ ერთი მნიშვნელოვანი ბიოლოგიური თვისება – მათი შეუთავსებლობა. პლაზმიდების შეუთავსებლობის ქვეშ გულისხმობენ მოვლენას, როცა შეჯვარების შედეგად ერთ ბაქტერიულ უჯრედში აღმოჩნდება პლაზმიდები, რომლებსაც არ შეუძლიათ ერთად არსებობა და ერთი მათ შორის სწრაფად იღვწება. პლაზმიდების შეუთავსებლობა განპირობებულია რეპლიკაციის ბლოკირებით და დნმ-ს შეიღუული მოლეკულების უჯრედებში გადანაწილებით. ის იმყოფება როგორც პლაზმიდური, ისე ბაქტერია-პატრონის ქრომოსომული გენების გენეტიკური კონტროლის ქვეშ.

პლაზმიდები უჯრედებს ანიჭებენ სხვადასხვა ფენოტიპურ ნიშნებს: ანტიბიოტიკებისადმი (ტეტრაციკლინის, პენიცილინის, ამპიცილინის და სხვა, სულ 20-ზე მეტი), სხვადასხვა მეტალებისადმი (ბისმუთის, კადმიუმის, კობალტის, ვერცხლისწყლის, ტყვიის და სხვა), მუტაგენებისადმი (ულტრაიისფერი სხივების, ეთიდიუმბრომიდის და სხვა), ბაქტერიოციტინებისადმი და სხვა გამძლეობას. პლაზმიდების მქონე უჯრედებს აქვთ ანტიბიოტიკების, ინსექტიციდების, პიკმენტების, ბაქტერიოციტინების, გოგირდწყალბადის, სხვადასხვა ტოქსინების სინთეზის უნარი. ისინი ასევე ახორციელებენ მაგ. ტოლუოლის, ნაფტალინის, ქსილოლის, კამფორის და სხვა ნივთიერებების ბიოდეგრადაციას. მათ აგრეთვე შეუძლიათ გამოიწვიონ მცენარის სიმსივნე,** განახორციელონ დნმ-ს რესტრიქცია და მოდიფიკაცია და ა.შ.

* ინგლისური სიტყვიდან **transfer** – გადატანა.

** ამის შესახებ დაწვრილებით თქმულია ქვემოთ გვ. 315-326.

ამრიგად, პლაზმიდები წარმოადგენენ უჯრედის დამოუკიდებელ გენეტიკურ სტრუქტურას და რეპლიკაციის, კონიუგაციის, ინტეგრირების უნარის გამო შეადგენენ ბაქტერიული უჯრედების გენომის განუყოფელ ნაწილს.

3.3.2. ტრანსპოზონები

როგორც ცნობილია, ბაქტერიების გენომი წარმოადგენს დნმ-ს რგოლურ (წრიულ) მოლეკულებს, რომლებსაც ხშირად **ბაქტერიულ ქრომოსომებს** უწოდებენ. უკანასკნელ წლებში მათში, გარდა უჯრედის მეტაბოლიზმისა და გამრავლების ყველა პროცესის განმსაზღვრელი გენებისა, აღმოჩენილ იქნა გენეტიკური ელემენტები, რომლებიც იწვევენ გენომის არასტაბილურობას, მონაწილეობენ გენების აქტიურობის რეგულაციაში, უჯრედებს ანიჭებენ სხვა დამატებით თვისებებს. ამ ელემენტების მთავარ განმასხვავებელ თავისებურებას წარმოადგენს მათი გენომის ფარგლებში, ან სხვადასხვა გენომებს შორის დამოუკიდებელი გადაადგილების უნარი. მათ არ შეუძლიათ დამოუკიდებელი რეპლიკაცია – ამას ახდენენ მხოლოდ იმ რეპლიკონის ფარგლებში, რომელშიც ისინი ჩაერთვებიან. ასეთ გენეტიკურ ელემენტებს ეწოდება **ტრანსპოზონები**.

ტრანსპოზონები – არის დამოუკიდებელი შიგაქრომოსომული და ქრომოსომათაშორისი გადაადგილების* უნარის მქონე დნმ-ს სეგმენტები. ამიტომ მათ კიდევ უწოდებენ **მოძრაგ, მობილურ ანუ ტრანსპოზირებად გენეტიკურ ელემენტებს**.

დნმ-ზე გადაადგილებით ტრანსპოზონები ინდუცირებენ გენომის გარდაქმნას – გადააქვთ გენები (მოთავსებული ორ ტრანსპოზონს შორის) ახალ საიტებში, იწვევენ გენეტიკური მასალის მუტაციებს, დუპლიკაციებს, ინვერსიებს და სხვა. ტრანსპოზონებს ასევე შეუძლია გენების მუშაობის ინაქტივირება, ან, პირიქით, ინდუცირება, მათი აქტიურობის რეგულაცია და ა.შ..

ტრანსპოზონების ეს თვისებები აიხსნება მათი გადაადგილების სპეციფიკური რეკომბინანტული მექანიზმებით, რაც განპირობებულია სპეციალური გენებისა და ტრანსპოზონების ბოლოებზე პირდაპირი და შებრუნებული ანუ ინვერტირებული განმეორებების არსებობით. თვლიან, რომ ტრანსპოზონებმა მნიშვნელოვანი როლი შეასრულეს გენომების ევოლუციაში.

* გამოთქმა “ტრანსპოზონები გადაადგილდებიან” მთლად ზუსტი არ არის, რადგანაც ტრანსპოზონის ახალ ლოკალიზაციაში გამოვლენისას, პირველსაწყის მდგომარეობაში ის არ ქრება. მშობლიური ტრანსპოზონი საწყისს აძლევს თავის ახალ ასლს, რომელიც ბაქტერიული ქრომოსომის ახალ ადგილში ვლინდება. თუ როგორ ხდება ეს, დღემდე სრულყოფილად დადგენილი არ არის (იხ. გვ. 259-261).

3.3.2.1. ბაქტერიული ტრანსპოზონები

ბაქტერიული ტრანსპოზონები (სურ. 98) აგებულია სირთულის ხარისხის მიხედვით იყოფა სამ ტიპად: IS-ელემენტები ანუ ჩართული (ინსერციული) თანმიმდევრობები, Tn-ელემენტები ანუ საკუთ-

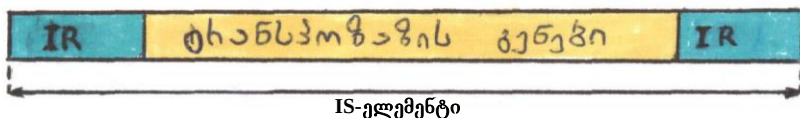


სურ. 98. ბაქტერიული ტრანსპოზონების აგებულების ზოგადი სქემა

(1, 5 – რეციპიენტული დნმ; 2, 4 – რეციპიენტული დნმ-ს პირდაპირი დუბლიკაციები; IR – ინვერტირებადი განმეორებები; 3 – ტრანსპოზონის ცენტრალური ნაწილი)

რივ ტრანსპოზონები და Mu-მსგავსი ფაგები.

IS-ელემენტები წარმოადგენენ ყველაზე მარტივს (სურ. 99). ისი-



სურ. 99. IS-ელემენტების სქემატური გამოსახულება

(IR – ინვერტირებადი ანუ შებრუნებადი განმეორებები)

ნი დნმ-ს სეგმენტებია, ზომით არაუმეტეს 2 ათასი ნ.წ. და ბოლოებზე გააჩნიათ ინვერტირებადი განმეორებები. ეს განმეორებები შედგება ათეულობით ნუკლეოტიდის წყვილისაგან, რომელთა შორის მდებარეობს მხოლოდ ის გენები (ტრანსპოზაზის გენები), რომლებიც უზრუნველყოფენ მათ ტრანსპოზიციას. IS-ელემენტებს შეუძლიათ გენების ინაქტივირება ან მათი რეგულაციის დარღვევა, ქრომოსომების ნებისმიერი გარდაქმნების გამოწვევა, უფრო რთული ტრანსპოზირებადი ელემენტების წარმოქმნაში მონაწილეობა და სხვა.

Tn-ელემენტები უფრო რთული აგებულებისაა და ჩვეულებრივ შეიცავენ 2 ათასზე მეტ ნ.წ. ისინი IS-ელემენტებისაგან განსხვავდებიან მხოლოდ იმით, რომ გარდა ტრანსპოზიციის გენებისა, შეიცავენ ტრანსპოზიციის პროცესთან კავშირის არმქონე ფუნქციების განმსაზღვრელ გენებს (სურ. 100). Tn-ელემენტები ჩვეულებრივ შემოსაზღვრულია ინვერტირებადი განმეორებებით – ყველაზე მეტად IS-



სურ. 100. Tn-ელემენტის სქემატური გამოსახულება

(IR – ინვერტირებული განმეორებები; 1, 3 – ტრანსპოზაზის გენები; 2 – გენები, რომლებიც არაა დაკავშირებული ტრანსპოზიციის პროცესთან)

ელემენტებით, რომლებსაც შენარჩუნებული აქვთ თავისი საწყისი ან რამდენადმე შეცვლილი სტრუქტურა. IS-ელემენტები ტრანსპოზონებს ანიჭებენ გენზე გადაადგილებისა და უჯრედული გენომის იგივე ცვლილებების გამოწვევის უნარს, რასაც იწვევენ თვით IS-ელემენტები. მაგრამ, ამასთან ერთად Tn-ელემენტებს უნარი აქვთ უჯრედებს მიანიჭონ სხვადასხვა ანტიბიოტიკებისა და მძიმე მეტალებისადმი გამძლეობა, ზოგიერთი ტოქსინის სინთეზის წესი, ლაქტოზას დუღილი და სხვა. ყველა ტრანსპოზონის საერთო დამახასიათებელ თვისებას წარმოადგენს ის, რომ ჩაშენების ადგილებში იწვევენ დუბლიკაციების წარმოქმნას: ჩართული ელემენტის ორივე მხარეზე შეიმჩნევა ერთნაირი მოკლე ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობები.

ყველაზე რთულ ტრანსპოზონს წარმოადგენს **ზომიერი ფაგი Mu.*** ის მრავალმხრივ ემსგავსება IS- და Tn-ელემენტებს და მათგან არსებითად განსხვავდება მხოლოდ იმით, რომ შეუძლია ვირუსოვანი ნაწილაკების ფორმირება. მაგრამ თავისი გენების ნაწილის დაკარგვისას ფაგი Mu გარდაიქმნება ნამდვილ ტრანსპოზონად. გარდა ინტეგრაციისა და ტრანსპოზიციის პასუხისმგებელი გენებისა, ფაგ Mu-ს დნმ-ში არის გენები, რომლებიც განსაზღვრავენ მის ვეგეტატიურ განვითარებას და მომწიფებას. როგორც ტრანსპოზონი, ის უჩვეულოა იმით, რომ ბოლოებზე არ გააჩნია არავითარი განმეორებები. ქრომოსომაში ფაგ Mu-ს ინტეგრაცია და გადაადგილება ხდება მისი დნმ-ს ბოლოებზე განლაგებული ორი გენის საშუალებით.

3.3.2.2. ეუკარიოტული ტრანსპოზონები

მიუხედავად იმისა, რომ მოძრავი გენეტიკური ელემენტების არსებობის შესაძლებლობა პირველად აღმოჩენილ იქნა ეუკარიოტებში (სიმინდში XX ს 50-იან წლები; **ბარბარა მაკკლინტოკის [Barbara McClintok]** ცდები კოლდ-სპრინგ-ჰარბორის ლაბორატორიაში), მათში ტრანსპოზონების არსებობა დადგენილ იქნა არც თუ ისე დიდი ხნის წინათ.

* ინგლ. სიტყვიდან – **Mutator**.

ყველაზე უკეთესად შესწავლილია დროზოფილას და საფუარების ტრანსპოზონები.

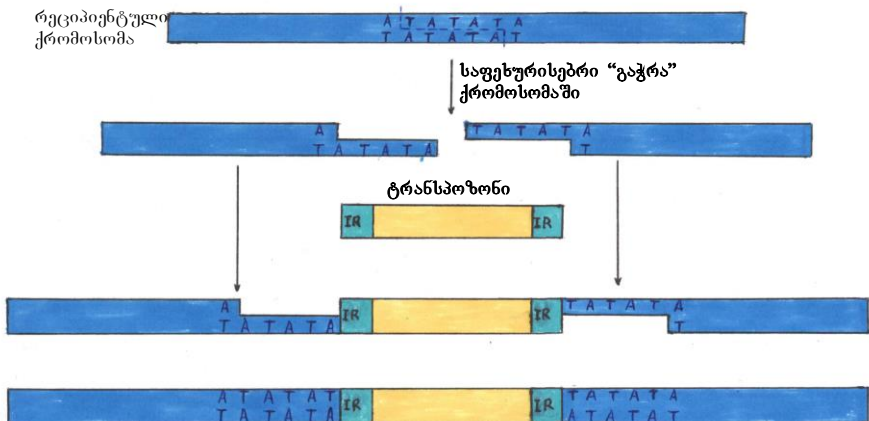
დროზოფილას ტრანსპოზონები გაერთიანებულია საერთო სახელწოდების – **copia-მსგავსი ტრანსპოზონების** ქვეშ. მათ ბოლოებზე გააჩნიათ ინვერტირებული განმეორებები სიგრძით 200-500 ნ.წ. და რეციპიენტული დნმ-ს დუპლიკაციები 4-5 ნ.წ. თვით ტრანსპოზონების სიგრძე შეადგენს 5-10 ათას ნ.წ. ყველაზე მეტად შესწავლილია FB-ოჯახის, P-ოჯახის და F-ოჯახის ტრანსპოზონები.

საფუარების ტრანსპოზონები აღინიშნება ასოებით **Ty**. ისინი ასევე დაჯგუფებულია ოჯახებად და სტრუქტურის მიხედვით copia-ელემენტების მსგავსია. ტიპური წარმომადგენელია Ty1-ელემენტი.

3.3.2.3. ტრანსპოზიციის მექანიზმი

მიუხედავად იმისა, რომ ტრანსპოზონების ტრანსპოზიციის (ჩაშენების) მოლეკულური მექანიზმი დეტალურად არაა შესწავლილი, აღნიშნული პროცესის თავისებურებების (საწყის ლოკუსში* ტრანსპოზონის ასლის შენარჩუნება, რეციპიენტული დნმ-ს მონაკვეთის დუპლიკაცია ტრანსპოზონის ჩაშენების საიტში) საფუძველზე დამუშავებულ იქნა მისი მოდელი (სურ. 101).

ამ მოდელის თანახმად, ტრანსპოზონები ტრანსპოზიციის პროცესში რეპლიცირდებიან და რეციპიენტულ ქრომოსომას გადასცემენ

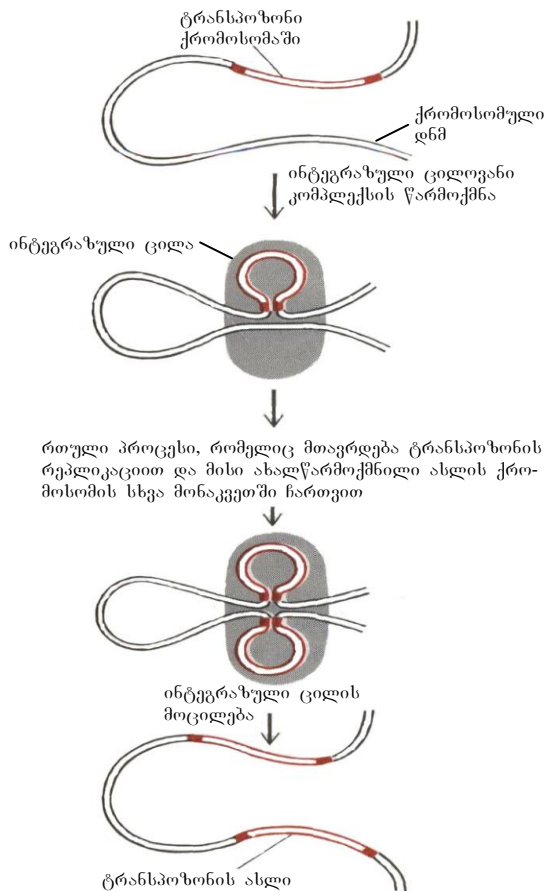


სურ. 101. ტრანსპოზონის ჩაშენების მოდელი

* ლოკუსი – ადგილი.

რეპლიკას.* ეს უკანასკნელი ხდება შემდეგნაირად. შესაბამის საიტში სპეციფიკური ენდონუკლეაზა ჭრის დნმ-ს კომპლემენტურ ჯაჭვს, წარმოქმნის „მწებვარე“ ბოლოებს და ტრანსპოზონი ჩაშენდება „მწებვარე“ ბოლოებს შორის, ხოლო მასთან მიერთებული დნმ-ს ერთ-ჯაჭვიანი მოლეკულები დნმ-პოლიმერაზას საშუალებით დაშენდებიან ორჯაჭვიანამდე და გარდაიქმნებიან დნმ-სამიზნის დუბლიკაციად.

ტრანსპოზიციის მექანიზმს საფუძვლად უდევს **საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაცია**. სხვადასხვა ტრანსპოზონები გენომში გადაადგილდებიან სხვადასხვა მექანიზმებით. 102-ე სურათზე მოტანილია ერთ-



სურ. 102. ტრანსპოზონის გადაადგილება ქრომოსომაში

* რეპლიკა – რეპლიკაციის შედეგად მიღებული ასლი.

ერთი ტრანსპოზონის ქრომოსომაში გადაადგილების სქემატური გამოსახულება.

3.3.3. ტრანსფერირებადი ფაგები

1915 წელს **ფ. ტუორტის**, ხოლო 2 წლის შემდეგ **ფ. დერელის** მიერ აღმოჩენილ იქნა **ვირუსები**, რომლებიც პარაზიტობენ ბაქტერიებზე. მათ უწოდეს **ბაქტერიოფაგები ანუ უბრალოდ ფაგები**.*

ვიდრე განხილული იქნება ფაგების მნიშვნელობა გენეტიკურ ინჟინერიაში, აუცილებელია ვირუსების ზოგიერთი თავისებურებების ცოდნა.

ვირუსები – გენეტიკური ელემენტებია (ნაწილაკები), რომლებიც შეიცავენ დამცველ ცილოვან გარსში ჩაწყობილ ნუკლეინის მჟავებს და მრავლდებიან მხოლოდ პატრონ-უჯრედში.

ვირუსები ძალიან განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან გარსის აგებულების, შემადგენელი ნუკლეინის მჟავების ტიპის, უჯრედში შეღწევის წესის და უჯრედში გამრავლების მექანიზმის მიხედვით.

ვირუსების სტრუქტურას შეადგენს **ცილოვანი კაპსიდა** და მის შიგნით მოთავსებული **ნუკლეინის მჟავების მოლეკულები** (ზოგიერთ რთულ ვირუსში კაპსიდები დაფარულია ლიპიდებისა და გლიკოპროტეინისაგან შემდგარი **გარსით**). კაპსიდა შედგება ერთი ან რამდენიმე მოლეკულა ცილისაგან აგებული კაპსომერებისაგან. კაპსიდა ნუკლეინის მჟავებს იცავს ფერმენტული გახლეჩისა და მექანიკური დაზიანებისაგან. არსებობს სხვადასხვა ტიპის კაპსიდები: **სპირალური, იკოსაედრული,** რთული უგარსო, რთული გარსიანი** და სხვა. ვირუსების გამრავლების მზა, უჯრედის გარეშე, პროდუქტს ეწოდება **ვირიონი ანუ ვირუსის ნაწილაკი**. მისი ზომა ტოლია 20-300 ნმ. ამრიგად, ვირუსები ზომით ბევრად უფრო ნაკლებია, ვიდრე ყველაზე უწვრილესი პროკარიოტული უჯრედები.

ნუკლეინის მჟავების შედგენილობის მიხედვით ვირუსები იყოფა: **დნმ-შემცველ და რნმ-შემცველ ვირუსებად.**

დნმ-შემცველი ვირუსები შეიძლება იყოს: **ერთჯაჭვიანი დნმ-ით** (მაგ. პარვოვირუსები); **ერთჯაჭვიანი რგოლური (წრიული) დნმ-ით** (მაგ. ბაქტერიოფაგი M13); **ორჯაჭვიანი დნმ-ით** (მაგ. ბაქტერიოფაგი T4); **ორჯაჭვიანი რგოლური (წრიული) დნმ-ით** (მაგ. ვირუსი SV40); **ტერმინალური ცილით კოვალენტურად შეკრული ორჯაჭვიანი დნმ-ით** (მაგ. ადენოვირუსი); **ყოველ ბოლოზე კოვალენტური ბმით შეკრული ორჯაჭვიანი დნმ-ით** (მაგ. ყვავილის ვირუსი).

* **Phagos** [ბერძნ.] – მშთანქმელი.

** **იკოსაედრი** – ოცი სამკუთხა წახნაგისაგან შემდგარი მრავალწახნაგა, რომელსაც გააჩნია კუბური სიმეტრია და დაახლოებით სფერული ფორმა.

რნმ-შემცველ ვირუსებს არა აქვთ დნმ, ისინი შეიძლება იყოს: **ერთჯაჭვიანი რნმ-ით** (მაგ. თამბაქოს მოზაიკის ვირუსი, გრიპის ვირუსი) და **ორჯაჭვიანი რნმ-ით** (მაგ. რეოვირუსი). ვირუსები ერთჯაჭვიანი რნმ-ით იყოფა ორ ტიპად: **“პლუს”-ჯაჭვი** და **“მინუს”-ჯაჭვი**. ვირუსები “პლუს”-ჯაჭვით (თამბაქოს მოზაიკის ვირუსი) პატრონ-უჯრედში ფუნქციონირებენ უშუალოდ როგორც მ-რნმ, ხოლო ვირუსები “მინუს”-ჯაჭვით (გრიპის ვირუსი) ჯერ უჯრედული რნმ-პოლიმერაზას საშუალებით “მინუს”-ჯაჭვზე აშენებენ “პლუს”-ჯაჭვს. არსებობს აგრეთვე ვირუსები (მაგ. რეტროვირუსები), რომლებიც შეიცავენ ორ იდენტურ “პლუს”-ჯაჭვს.

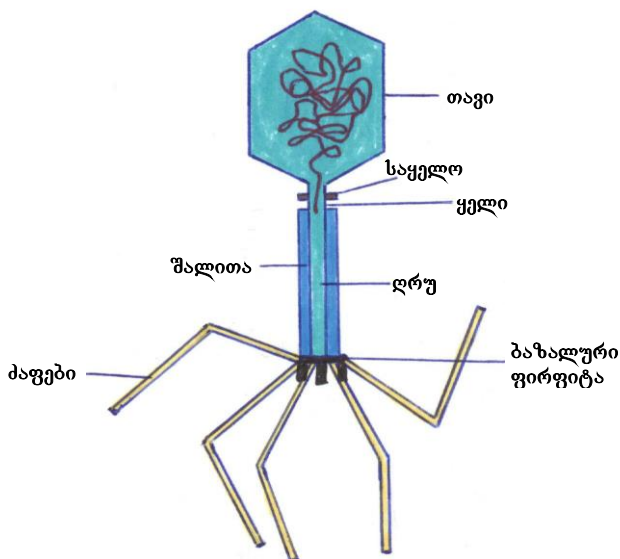
აგებულების სირთულის მიხედვით ვირუსები ფართოდ ვარირებენ ფაგი QB-დან, რომელიც შეიცავს მხოლოდ 3(4) გენს – ყვავილის ვირუსამდე, რომელიც ითვლის დაახლოებით 240 გენს (ცხრილი 10).

ვირუსების ტიპები, მათი ფუძემთა რაოდენობა და გენების სავარაუდო რიცხვი

ცხრილი 10

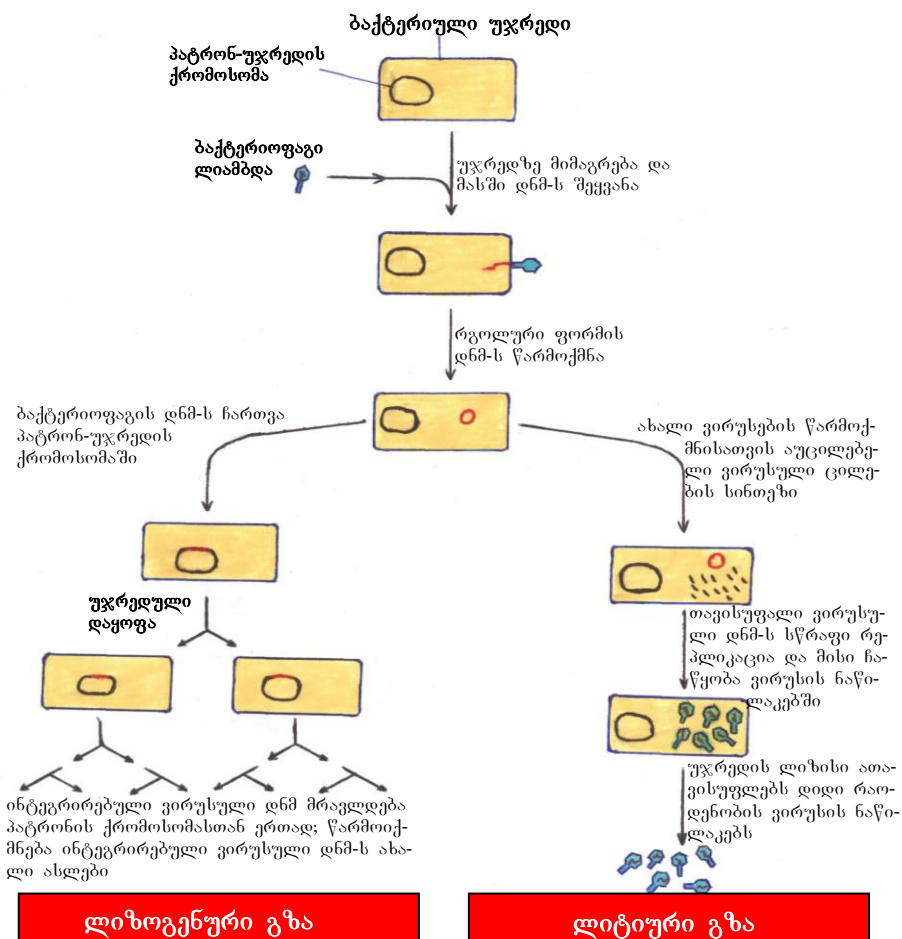
შემაღბენელი ნუკლეინის მჟავა	წარმომადგენელი	ფუძემთა რაოდენობა	გენების რიცხვი
ერთჯაჭვიანი დნმ	ფაგი ϕ x174	5386	5 (9)
ორჯაჭვიანი დნმ	პოლიომის ვირუსი ადენოვირუსი ფაგი T4 ძროხის ყვავილის ვირუსი ფაგი ლიამბდა მაიშუნის ვირუსი (SV40)	5292 3600 182000 49000 5243	6 30 150 (165) 240 60
ერთჯაჭვიანი რნმ	ფაგი QB რაუსის სარკომის ვირუსი (RSV) თამბაქოს მოზაიკის ვირუსი (თმვ) პოლიომიელიტის ვირუსი გრიპის ვირუსი	 6400	3 (4) 4 6 8 12
ორჯაჭვიანი რნმ	რეოვირუსი		22

ბაქტერიოფაგები ფორმის მიხედვით ჰგავს თავეკომბალას და წარმოადგენს სტრუქტურას, რომელიც შედგება თავისა და კუდის გამონაზარდისაგან (სურ. 103). თავი შედგება ცილოვანი შალითისაგან, რომლის შიგნით არის დნმ ან რნმ.



სურ. 103. ბაქტერიოფაგის აგებულების სქემა

ფაგებში სასიცოცხლო ციკლი მიმდინარეობს სხვადასხვა გზით. მაგალითად, ვირულენტურ ფაგებს (T4) ყოველთვის გააჩნიათ განვითარების მხოლოდ ერთი გზა – ლიტიური ციკლი. ფაგი თავისი გამონაზარდებით ემაგრება უჯრედის გარსს (სურ. 104). ალბათ გამონაზარდში არსებული ფერმენტის ან მექანიკური ჩხვლეტის საშუალებით იგი შლის ბაქტერიის უჯრედის კედლის პატარა მონაკვეთს და წარმოქმნილი ხვრელის საშუალებით თავისი ქრომოსომა შეჰყავს (“ასხურებს”) ბაქტერიის უჯრედში. ამ უკანასკნელში კი ადგილი აქვს ფაგის ქრომოსომის მრავალჯერ რეპლიკაციას და თავისა და კუდის გამონაზარდის ცილების სინთეზს ფაგური გენების კონტროლით. შემდეგ წარმოიქმნება ახალი ფაგის გარსები და მათში ხდება ფაგური ქრომოსომების ჩაწობა ისე, რომ მაშინვე წარმოიქმნება ფაგური ნაწილაკების დიდი რაოდენობა (100-დან 1000-მდე). ციკლი მთავრდება ბაქტერიული უჯრედის ლაზისით და მომწიფებული ფაგური ნაწილაკების უჯრედიდან გარეთ გამოსვლით.



სურ. 104. ბაქტერიოფაგის სასიცოცხლო ციკლი

ზომიერი ფაგის (ფაგი λ) სასიცოცხლო ციკლს აქვს განვითარების ორი გზა: ზემოთ აღწერილი – **ლიტიური** და **ლიზოგენური** (სურ. 104). განვითარების ლიზოგენური გზის დროს ფაგი პატრონ-უჯრედთან შედის თავისებურ სიმბიოზურ ურთიერთობაში – გარდაიქმნება **პროფაგად*** და ჩაერთვება მის რგოლურ ქრომოსომაში საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციის გზით. ასეთი ინტეგრაციის დამთავრების შემ-

* **პროფაგი** – მასპინძლის ქრომოსომაში ინტეგრირებული ფაგის გენომი.

დეგ წარმოქმნილი ლიზოგენური ბაქტერია, რომელიც ბაქტერიოფაგის ქრომოსომას შეიცავს **პროფირუსის** სახით, მრავლდება როგორც ჩვეულებრივი.

ბაქტერიოფაგები ტრანსდუქციის მოვლენის გამო მნიშვნელოვან ინსტრუმენტს წარმოადგენენ გენეტიკურ ინჟინერიაში. **ტრანსდუქცია** – არის გენეტიკური ინფორმაციის დონორიდან რეციპიენტის უჯრედამდე გადატანა ფაგის საშუალებით. იგი დაფუძნებულია იმაზე, რომ ფაგების ბაქტერიებში გამრავლების პროცესში ზოგჯერ წარმოიქმნება ნაწილაკები, რომლებიც ფაგურ დნმ-თან ერთად, ან მის ნაცვლად, შეიცავენ ბაქტერიული დნმ-ს ფრაგმენტებს. ასეთ ნაწილაკებს უწოდებენ **ტრანსდუცირებადს**. ამრიგად, ტრანსდუქციის განხორციელებით სათვის აუცილებელია ფაგის გამრავლება დონორის უჯრედებში და შემდეგ ამ უკანასკნელით რეციპიენტის უჯრედების დასენიანება.

3.4. ბენეტიკური ინჟინერიის მეთოდები

გენეტიკური ინჟინერიის მთავარ ამოცანას გარკვეული გენის მატარებელი დნმ-ს სხვადასხვა მოლეკულის რეკომბინაცია, შედეგად ახალი გენეტიკური თვისებების მქონე, ე.წ. დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულების შექმნა და მათი ეფექტური ექსპრესიის (მუშაობის) უზრუნველყოფა წარმოადგენს.

სამუშაოები გენეტიკურ ინჟინერიაში მოიცავს შემდეგ ეტაპებს (პროცედურებს):

1. საჭირო გენის მიღება;
2. ვექტორის კონსტრუირება (შერჩევა);
3. საჭირო გენის ვექტორში შეყვანა (ჩაშენება);
4. ვექტორში შეყვანილი საჭირო გენის რეციპიენტის (პატრონის) უჯრედში გადატანა;
5. საჭირო გენის მატარებელი უჯრედების გამოჩევა (სკრინინგი);
6. გადატანილი უცხო (საჭირო) გენის ექსპრესია (მუშაობა) (სურ. 105).

აღნიშნულს ზოგჯერ რეკომბინანტული დნმ-ს კლონირებას ანუ გენების კლონირებას* უწოდებენ.

გენეტიკურ ინჟინერიაში როგორც “ინსტრუმენტს” ფართოდ იყენებენ ცილოვან მოლეკულებს – ფერმენტებს.

3.4.1. ბენეტიკური ინჟინერიის ზერმენტები

გენეტიკურ ინჟინერიაში გამოყენებულ ყველაზე მნიშვნელოვან ფერმენტებს მიეკუთვნება სპეციფიკური ენდონუკლეაზები – რესტრიქტაზები (გამოიყენება გარკვეული სიგრძის დნმ-ს ფრაგმენტების მისაღებად) და დნმ-ლიგაზები (“კერავენ” ამ ფრაგმენტებს). ფართოდ იყენებენ აგრეთვე სხვადასხვა დნმ-პოლიმერაზებს, მათ შორის უნიკალურ ფერმენტს – უკუტრანსკრიპტაზას, რომელიც ასინთეზებს გენების ასლებს (კ-დნმ) მ-რნმ-ს მიხედვით.

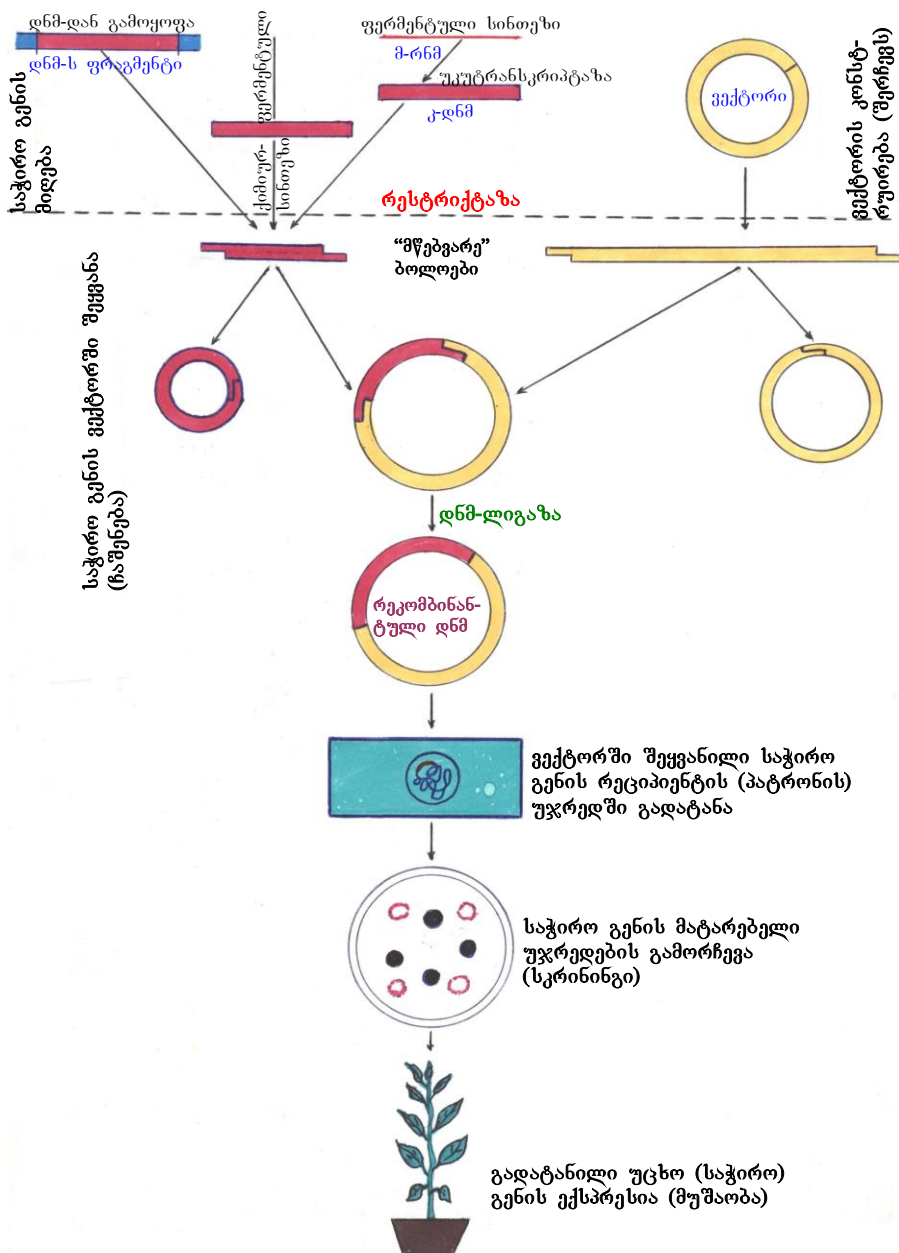
3.4.1.1. რესტრიქტაზები

რესტრიქტაზები აღმოჩენილ იქნა 1968 წელს ბაქტერიებში რესტრიქციის** და მოდიფიკაციის*** მოვლენის შესწავლისას, რომე-

* გენების კლონირებას ასევე უწოდებენ დნმ-ს ფრაგმენტების (კლონების) ვექტორულ მოლეკულაში გადატანის პროცესს და მათ შემდგომ მრავალჯერად გამრავლებას (კოპირებას). იხ. გვ. 298.

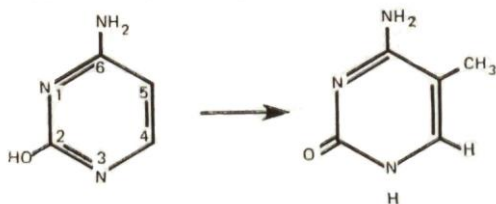
** რესტრიქცია [ინგლ. Restriction] – შეზღუდვა.

*** მოდიფიკაცია [ფრანგ. Modification] – სახეცვლილება.



სურ. 105. გენეტიკურ-ინჟინრული სამუშაოების ზოგადი სქემა

ლიც ძირითადად გამოკვლეულ იქნა ნობელის პრემიის ლაურეატის **ვერნერ არბერისა (Werner Arber)** და მისი თანამშრომლების მიერ. საქმე იმაშია, რომ ჯერ კიდევ 1952 წელს შემჩნეულ იქნა, რომ ბაქტერიებს შეუძლიათ **უჯრედში შეღწეული უცხო დნმ-ს დაშლა (ჰიდროლიზი)**. როგორც აღმოჩნდა, აღნიშნულს ასდენს სპეციფიკური ფერმენტები – **ენდონუკლეაზები**, რომლებიც უცხო დნმ-ს უკავშირდებიან გარკვეულ მონაკვეთებში – **შეცნობის საიტებში** და **ხლეჩენ (რესტრიქტირებენ)** მას ფრაგმენტებად – **რესტრიქტებად**. ისინი წოდებულ იქნა **რესტრიქტაზებად**. უნდა აღინიშნოს, რომ საკუთარ დნმ-ს (ე.ი. საკუთარი უჯრედის დნმ-ს) რესტრიქტაზები, როგორც წესი, არ შლიან, ეს იმიტომ, რომ უჯრედში დნმ გარკვეული სახით დაცულია საკუთარი რესტრიქტაზების დამშლელი მოქმედებისაგან. სანამ “გაჭრიდეს” დნმ-ს, ფერმენტი პოულობს (“სცნობს”) ნუკლეოტიდების გარკვეულ თანმიმდევრობას, რომელიც სპეციფიკურია მხოლოდ მისი შეცნობისათვის. იმისათვის, რომ რესტრიქტაზამ “არ გაჭრას” საკუთარი დნმ, ბუნებამ მოიფიქრა ერთი პატარა “ეშმაკობა”: ფერმენტის შეცნობის ადგილი (“სამიზნე”) მოდიფიცირდება სპეციფიკური ფერმენტების – **მეთალიზების** საშუალებით. ამ პროცესს ეწოდება **მეთილირება**. ის მდგომარეობს იმაში, რომ ერთ-ერთ ნუკლეოტიდს – **ადენინს ან ციტოზინს** უკავშირდება **CH₃ ჯგუფი**, მაგალითად:



უჯრედის ასეთნაირად მოდიფიცირებულ დნმ-ს “არ ეშინია” საკუთარი ფერმენტების – რესტრიქტაზების. მაგრამ, რა თქმა უნდა, სხვა უჯრედებში მოხვედრისას იგი აუცილებლად დაიშლება. პირველი მაღალი რესტრიქციული უნარის მქონე რესტრიქტაზა გამოყოფილ იქნა 1970 წელს. ამჟამად რესტრიქციისა და მოდიფიკაციის სისტემა აღმოჩენილია ყველა ბაქტერიაში და აგრეთვე საფუარებში.

უკვე გამოყოფილია 500-ზე მეტი სხვადასხვა რესტრიქტაზა. რესტრიქტაზების სახელწოდება წარმოსდგება **ბაქტერიის**, საიდანაც გამოყოფილია ფერმენტი **გვარის პირველი ასოსა** და **სახეობის ორი პირველი ასოსაგან**. მაგალითად, თივის ჩხირის ბაქტერია – *Bacillus subtilis*-დან მიღებული რესტრიქტაზა აღინიშნება – **Bsu**, ნაწლავის ჩხირის ბაქტერია – *Escherichia coli*-დან – **Eco**, ხოლო ბაქტერია *Haemophilus influenzae*-დან – **Hind**. შემდეგ მოდის **შტამის განსაზღვრა**. მაგალითად, **EcoB** ან **BamH**. თუ ბაქტერიული **შტამიდან გამოყოფილია**

რამდენიმე რესტრიქციული ფერმენტი, მაშინ შემოაქვთ დამატებითი რომაული ციფრობრივი აღნიშვნა. მაგალითად, *Haemophylus aegyptius*-დან გამოყოფილია 3 ფერმენტი და ისინი აღინიშნება – **Hae I**, **Hae II** და **Hae III**. თუ ფერმენტი კოდირებულია ფაგური და პლაზმიდური გენებით, მაშინ ემატება კიდევ ამ არაქრომოსომული ელემენტების სახელწოდება. მაგალითად, სახელწოდება **EcoRI** და **EcoPI** ეკუთვნის რესტრიქტაზებს, რომლებიც კოდირებულია შესაბამისად პლაზმიდებით **R** და ფაგებით **P**. რესტრიქტაზები და მეთილაზები აღინიშნება ასოებით შესაბამისად **R** და **M**. მაგალითად, რესტრიქტაზა **R.EcoB**, მეთილაზა **M.EcoB**.

რესტრიქტაზები დნმ-ში “ცნობენ” ნუკლეოტიდების გარკვეულ თანმიმდევრობებს და “ჭრიან” მას. მაგრამ ყველა რესტრიქტაზა არ “ჭრის” დნმ-ს სპეციფიკურ საიტებში. ამის გამო არჩევენ ორი კლასის რესტრიქტაზებს.

I კლასის რესტრიქტაზები (მაგ. **EcoK**, **EcoB**, **EcoPI** და სხვა) დნმ-ს “უტევენ” ნებისმიერ ადგილას და ქმნიან რესტრიქტების უწყვეტ სპექტრს. ეს რესტრიქტაზები გენეტიკურ ინჟინერიაში არ გამოიყენება.

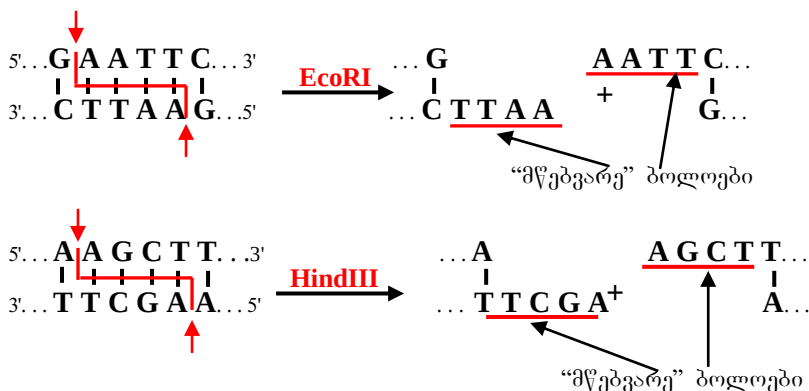
II კლასის რესტრიქტაზები დნმ-ს ხელჩენ გარკვეულ საიტებში. ამიტომ მათ ფართოდ იყენებენ *in vitro* გენეტიკური კონსტრუირებისათვის, გენების გამოყოფისა და ორგანიზმების რესტრიქციული რუქების აგებისათვის და ა.შ.

II კლასის რესტრიქტაზების მოლეკულური მასა აღწევს რამდენიმე ათეულ კილოდალტონს. მათი მუშაობისათვის აუცილებელია Mg^{2+} იონების არსებობა. ისინი მოქმედებენ მხოლოდ ორჯაჭვიან დნმ-ზე და მისი ყოველი ჯაჭვის გახლეჩისას, როგორც წესი, წარმოქმნიან 5'- და 3'-ბოლოებს.

ამ რესტრიქტაზების ყველაზე მნიშვნელოვან მახასიათებელს წარმოადგენს მათი შეცნობის საიტის სტრუქტურა და დნმ-ს გახლეჩის წესი.

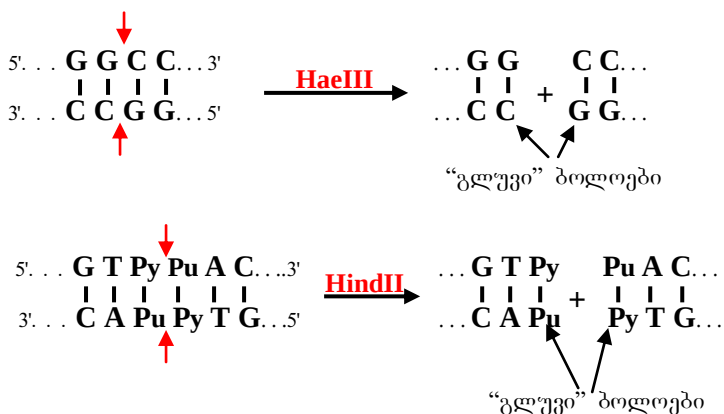
შეცნობის საიტები შეიცავენ 4-დან 20-მდე ნუკლეოტიდის წყვილს. ძირითადად წარმოდგენილია ტეტრა-, პენტა- და ჰექსანუკლეოტიდური თანმიმდევრობებით. ამასთან უკანასკნელი შეადგენს ყველა ცნობილი საიტის ნახევარზე მეტს.

დნმ-ს გახლეჩის წესის მიხედვით არჩევენ 2 ტიპის რესტრიქტაზებს. ერთი მათ შორის ახდენენ დნმ-ს საფეხურისებურ ანუ გადანაცვლებად “გაჭრას,” მეორე – პირდაპირ “გაჭრას,” რის შედეგადაც დნმ-ს მოლეკულებში “გაჭრის” ადგილას წარმოიქმნება შესაბამისად არასწორი (“მწებვარე,” “კოჰეზიური”) და სწორი (“გლუვი,” “ბლაგვი”) ბოლოები. პირველი ტიპის რესტრიქტაზების მაგალითს წარმოადგენს ენდონუკლეაზები **EcoRI** და **Hind III** (სურ. 106):



სურ. 106. დნმ-ს საფეხურისებური “გაჭრა” ენდონუკლეაზებით EcoRI და Hind III

მეორე ტიპის რესტრიქტაზებს მიეკუთვნება ენდონუკლეაზები Hae III და Hind II (სურ. 107):



სურ. 107. დნმ-ს პირდაპირი “გაჭრა” ენდონუკლეაზებით Hae III და Hind II

მე-II ცხრილში მოტანილია ზოგიერთი რესტრიქტაზა და მათ მიერ გასახლეხი თანმიმდევრობები.

არსებობს რესტრიქტაზების ჯგუფი, რომლებიც დნმ-ზე „ცნობენ“ ერთნაირ საიტებს, მათ უწოდებენ **იზოზომერებს**, მაგალითად, რესტრიქტაზები **Hae III**, **BspI**, **Blu II** „ცნობენ“ დნმ-ს ერთი და იგივე თანმიმდევრობას – **GGCC**.

რესტრიქტაზები და მათ მიერ გასახლევი თანმიმდევრობები

ცხრილი 11

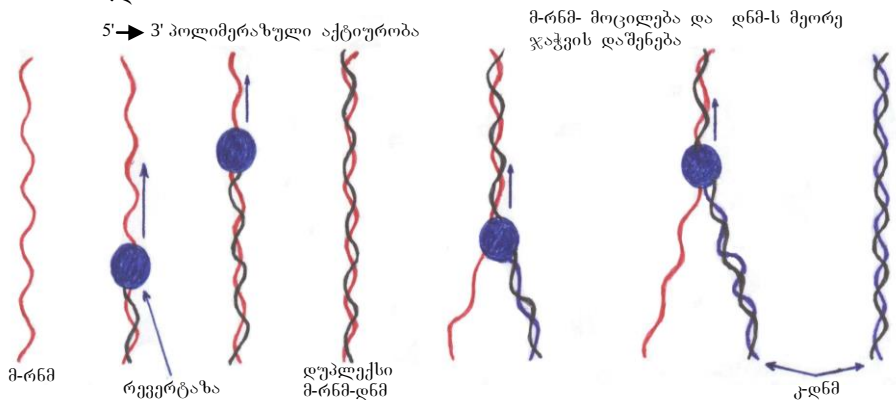
მიკროორგანიზმი	შემოკლები	თანმიმდევრობა
		5' 3' ← 5' 5'
Acetobacer pasteurianus	Apa I	GGGCCC C CCGG
Bacillus amyloliquefaciens H	BamH I	GGATCC CCTAGG
Brevibacterium albidum	Bal I	TGGGCA ACCGGT
Escherichia coli RY13	EcoRI	GAATTC CTTAAG
Haemophilus aegyptius	Hae II	PuGCGCPy PyCGCGPu
Haemophilus aegyptius	Hae III	GGCC CCGG
Haemophilus haemolyticus	Hha I	GCGC GCGC
Haemophilus influenzae RD	Hind II	G TPyPuAC CAPuPyTG
Haemophilus influenzae RD	Hind III	AAGCTT TTCGAA
Haemophilus parainfluenzae	Hpa I	GTTAAC CAATTG
Haemophilus parainfluenzae	Hpa II	CCGG GGGC
Providencia stuartii 164	Pst I	CTGCAG GACGTC
Streptomyces albus G	Sal I	GTCGAC CAGCTG
Xanthomonas oruzae	Xor II	CGATCG GCTAGC
Bacillus globigii RUB562	Bgl II	AGATCT TCTAGA
Providencia alcalifaciens	Pal I	GGCC CCGG
Proteus vulgaris	Pvu II	CAGCTG GTCGAC
Thermus aquaticus UTI	Taq I	TCGA AGCT

3.4.1.2. უკუტრანსკრიპტაზა ანუ რნმ-დამოკიდებული დნმ-პოლიმერაზა

1970 წელს ჰ. ტემინმა (H. Temin) და დ. ბალტიმორმა (D. Baltimore) ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად ორ ამერიკულ ლაბორატორიაში დაადგინეს, რომ გენეტიკური ინფორმაცია შეიძლება გადაეცეს არამარტო ერთი მიმართულებით – დნმ-დან რნმ-სკენ და შემდეგ ცილისკენ, არამედ უკუმიმართულებითაც, სახელდობრ რნმ-დან დნმ-სკენ.

აღმოჩნდა, რომ ინფორმაციის გადაცემის ასეთი გზა ხორციელდება განსაკუთრებული ფერმენტის – უკუტრანსკრიპტაზას (რნმ-დამოკიდებული დნმ-პოლიმერაზას) საშუალებით, რომელსაც ხშირად ასევე უწოდებენ რევერტაზას. მისი გამოყოფა ხდება რნმ-შემცველი ონკოგენური ვირუსებიდან, რომლებიც ცხოველებში იწვევენ სიმსივნეს. ყველა ვირუსს, რომელიც შეიცავს ფერმენტ უკუტრანსკრიპტაზას, ეწოდება რეტროვირუსი.*

გენეტიკურ ინჟინერიაში ჩვეულებრივ იყენებენ ფერმენტს, რომელიც გამოყოფილია ფრინველის მიელობლასტოზის ვირუსიდან. იგი შედგება ორი პოლიპეტიდისაგან. უკუტრანსკრიპტაზას გააჩნია პოლიმერაზული აქტიურობა $5' \rightarrow 3'$ მიმართულებით, ე.ი. გააჩნია მ-რნმ-ს მატრიცაზე დნმ-ს სინთეზის უნარი. მას ასევე გააჩნია მ-რნმ – დნმ პიბრიდიდან (დუპლექსიდან) მ-რნმ-ს თანმიმდევრობის სპეციფიკურად მოცილების და ერთჯაჭვიან დნმ-ზე მეორე ჯაჭვის ისევ დაშენების უნარი (სურ. 108). მუშაობისათვის მას სჭირდება „ფალია“ (პრაიმერი) $3'$ -OH ბოლოთი.

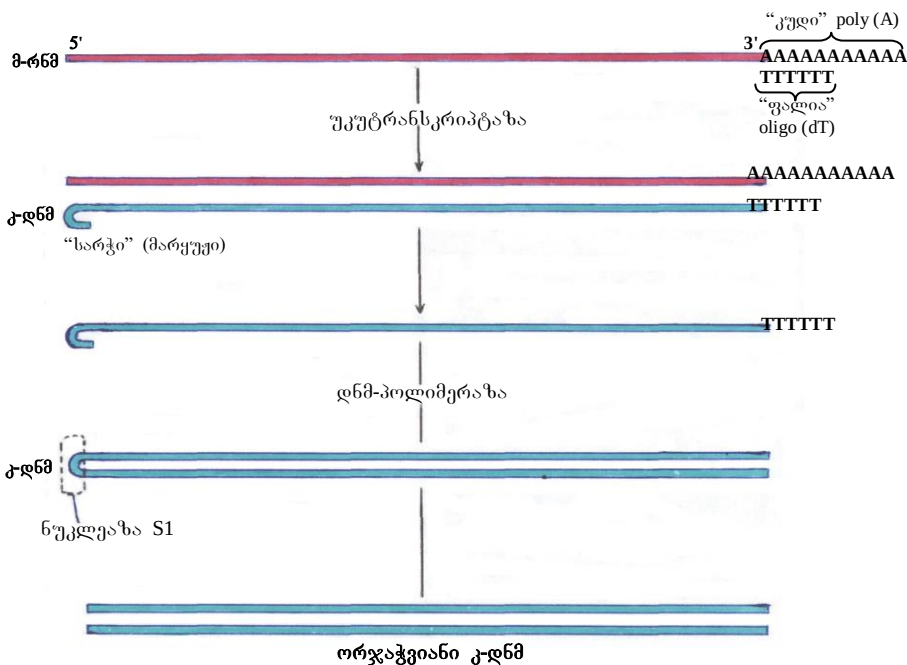


სურ. 108. ფერმენტ უკუტრანსკრიპტაზას (რევერტაზას) მუშაობის სქემა

* reverse transcriptase [ინგლ.] – უკუტრანსკრიპტაზა.

გენეტიკურ ინჟინერიაში უკუტრანსკრიპტაზა გამოყენებულია გენების ასლების კლონირებისა და მიღებისათვის აუცილებელი კომპლემენტური დნმ-ს (კ-დნმ) სინთეზის დროს, ასევე ჰიბრიდიზაციული ზონდების შექმნისას.

მ-რნმ-დან გენის ასლის მიღებისათვის (სურ. 109) „ფალიად“



სურ. 109. მ-რნმ-ზე ორჯაჭვიანი კ-დნმ-ს სინთეზი

(პრაიმერად) იყენებენ ოლიგონუკლეოტიდ poly (dT), რომელიც მ-რნმ-ს 3'-ბოლოზე არსებულ პოლიადენილურ (poly A) ჯაჭვს („კუდს“) უკავშირდება კომპლემენტური პრინციპით. შემდეგ ერთჯაჭვიანი კ-დნმ-ს სინთეზს იწყებს უკუტრანსკრიპტაზა. გაუგებარი მიზეზების გამო ერთჯაჭვიანი კ-დნმ-ს ბოლოში უკუტრანსკრიპტაზა წარმოქმნის „სარჭს“ (მარყუქს) 3'-OH ბოლოთი. ამის შემდეგ ახდენენ მ-რნმ-ს ჰიდროლიზს (დაშლას) ტუტით (NaOH) და იწყებენ კ-დნმ-ს მეორე ჯაჭვის სინთეზს. ამ სინთეზის პრაიმერს („ფალიას“) წარმოადგენს „სარჭის“ (მარყუქის) 3'-OH ბოლო. პოლიმერიზაციას აწარმოებენ ფერმენტი დნმ-პოლიმერაზა I-ით ან იგივე უკუტრანსკრიპტაზით. ბოლო ეტაპზე ახდენენ „სარჭის“ ჰიდროლიზს ნუკლეაზა S1-ის საშუალებით და ღებულობენ კ-დნმ-ს სრულ ორჯაჭვიან მოლეკულას.

3.4.1.3. მოდიფიცირებადი მეთილაზები

მოდიფიცირებადი მეთილაზები – არის ფერმენტები, რომლებიც მეთილის (CH_3) ჯგუფს აერთებენ გარკვეულ ნუკლეოტიდებთან. ისინი გამოყენებულია შეცნობის საიტების მოდიფიკაციისათვის, რათა დაცული იქნან რესტრიქტაზების მოქმედებისაგან.

მოდიფიცირებადი მეთილაზების მოქმედების მოლეკულური მექანიზმი მეთილის ჯგუფის S-ადენოზინ – L-მეთიონინიდან შეცნობის საიტის გარკვეულ ციტოზინზე ან ადენინზე გადატანაში მდგომარეობს. ამის მაგალითს წარმოადგენს რესტრიქტაზა BamHI-ის მოდიფიცირებული შეცნობის საიტი.* ლაბორატორიულ პირობებში დნმ-ს ერთი ჯაჭვის მოდიფიცირება შეიძლება, მაგრამ ესეც საკმარისია შეცნობის საიტისათვის რესტრიქტაზის მოქმედებისადმი გამძლეობის უნარის მისანიჭებლად.

გარდა აღნიშნული ფერმენტებისა, გენეტიკურ ინჟინერიაში იყენებენ უკვე ნახსენებ დნმ-პოლიმერაზა I-სა და დნმ-ლიგაზას, აგრეთვე ტერმინალურ დეზოქსინუკლეოტიდილტრანსფერაზას (ახდენს დნმ-ს ბოლოების დაშენებას), ტუტე ფოსფატაზას (ახდენს დნმ-ს ჰიდროლიზს ფოსფატური ჯგუფების მიხედვით), ნუკლეაზა S1-ს (შლის დნმ-ს ერთჯაჭვიან მონაკვეთებს), დეზოქსირიბონუკლეაზა I-პანკრეატულ დნმ-აზას (დნმ-ს ნებისმიერ პრეპარატებს შლის ნუკლეოტიდებამდე), რნმ-ლიგაზას (“კერავს” რნმ-სა და დნმ-ს ერთჯაჭვიან ფრაგმენტებს) და სხვა.

3.4.2. საჭირო გენის მიღება

გენეტიკური ინჟინერიის ძირითად მიზანს საჭირო გენის მიღება, მისი შეყვანა უჯრედში და ამ გზით ცოცხალი ორგანიზმისათვის ახალი მემკვიდრული ნიშნის ან თვისების მინიჭება წარმოადგენს.

საჭირო გენის მიღება შეიძლება სამი სხვადასხვა გზით: 1) გამოყოფა ბუნებრივი გენეტიკური მასალიდან – დნმ-დან; 2) ქიმიურ-ფერმენტული სინთეზი; 3) ფერმენტული სინთეზი (უკუტრანსკრიპტაზას გამოყენებით) უჯრედიდან გამოყოფილი მ-რნმ-ს საშუალებით.

3.4.2.1. გენის გამოყოფა დნმ-დან

ორგანიზმიდან გამოყოფილ დნმ-ს, რომელშიც იმყოფება საჭირო გენი, რესტრიქციული ენდონუკლეაზების საშუალებით (“საფანტი თოვის” მეთოდი – shol-gun) ყოფენ ფრაგმენტებად. შემდეგ ამ მრ-

* 5'... GGATCC ...3'
3'... CCTAGG ... 5'

ვალრიცხოვან ფრაგმენტებს უერთებენ **ვექტორულ*** მოლეკულებს. წარმოქმნილი ჰიბრიდული ვექტორები **ტრანსფორმაციის მეთოდით** გადააქვთ ბაქტერიაში (ჩვეულებრივ *E.coli*) და ამრავლებენ. ე.ი. ქმნიან **კლონოთეკას**, ანალოგიურად იმისა, როგორც იქმნება **გენების ბანკი.**** გამოყოფილი დნმ-ს ფრაგმენტების ასეთნაირად დიდი რაოდენობით გამრავლების შემდეგ იწყებენ საჭირო გენის ძებნას.

ამ ამოცანას წყვეტენ შემდეგი მეთოდებით: 1) **საჭირო გენის სელექტიურ არეზე გამორჩევის მეთოდი**; 2) **რადიოაქტიურად ნიშანდებულ პრეპარატთან დნმ-ს ჰიბრიდიზაციის მეთოდი**; 3) **იმუნოლოგიური მეთოდები**.

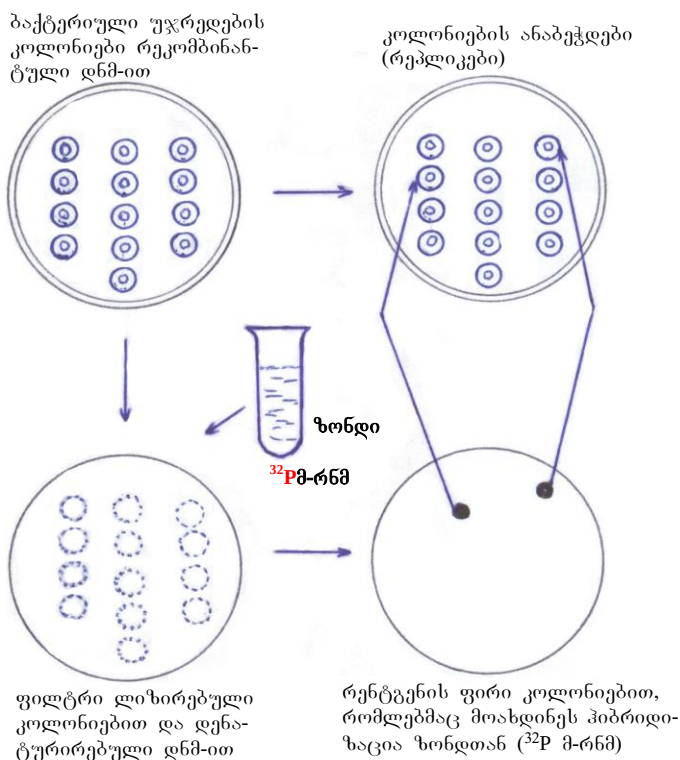
საჭირო გენის სელექტიურ არეზე გამორჩევის მეთოდი. თუ გამოსაყოფი გენი უჯრედს ანიჭებს რომელიმე ნივთიერებისადმი გამძლეობის უნარს, მაშინ ყოველი კლონის ბაქტერიას თესვენ შესაბამის სელექტიურ არეზე. ამ უკანასკნელზე გადარჩება მხოლოდ იმ კლონის ბაქტერიები, რომლებიც ატარებენ ამ ნივთიერებისადმი გამძლე გენის შემცველი დნმ-ს ფრაგმენტის მქონე ვექტორებს. მაგალითად, თუ წარმოებს გენის ძებნა, რომელიც აკონტროლებს უჯრედის გამძლეობას ანტიბიოტიკი ამპიცილინისადმი, მაშინ კოლონიებს წარმოქმნის (ე.ი. გადარჩება) მხოლოდ იმ კლონის ბაქტერიები, რომლებიც შეიცავენ დნმ-ფრაგმენტებს ამპიცილინის გენით. რა თქმა უნდა, ამ დროს დარწმუნებული უნდა იყოს მკვლევარი, რომ ვექტორს არ გაქონია თავისი საკუთარი ამპიცილინისადმი გამძლე გენი.

რადიოაქტიურად ნიშანდებულ პრეპარატთან დნმ-ს ჰიბრიდიზაციის მეთოდი. როდესაც უცხო გენი არ ელინდება (მჟღავნდება) რეკომბინანტის უჯრედებში, მაშინ მას ეძებენ მოცემული მეთოდით. იგი წარმოადგენს ყველაზე უნივერსალურს და ფართოდ გავრცელებულს. საჭირო გენის აღმოსაჩენად იგი შეიძლება გამოყენებულ იქნას ნებისმიერი თანმიმდევრობის რეკომბინანტულ კლონებში, ოღონდ უნდა არსებობდეს **დნმ-ს ან რნმ-ს კომპლემენტური რადიოაქტიური სინჯები – ე.წ. ზონდები**.

არსებობს ჰიბრიდიზაციის რამდენიმე მეთოდი. განვიხილოთ ერთ-ერთი – **კოლონიების ჰიბრიდიზაციის მეთოდი** (სურ. 110). პეტრის ჯამზე მყარი არით, ათავსებენ სტერილური ნიტროცელულოზის ფილტრებს და სტანდარტული წესით მათზე გადააქვთ ბაქტერიული უჯრედები რეკომბინანტული დნმ-ით. ფილტრზე უჯრედების კოლონიების წარმოქმნის შემდეგ, მათგან სხვა პეტრის ჯამზე ანალოგიური საკვები არით აკეთებენ **ანაბეჭდებს (რეპლიკებს)** და ღებულობენ კოლონიების “ცნობათა” ბიბლიოთეკას, საიდანაც შემდეგ იღებენ უჯრედებს საძიებელი რეკომბინანტული დნმ-ით. შემდეგ ფილტრები პეტ-

* ვექტორის შესახებ დაწვრილებით ნათქვამია ქვემოთ გვ. 283-289.

** იხ. ქვემოთ გვ. 299-300.



სურ. 110. კოლონიების ჰიბრიდიზაციის მეთოდი

რის ჯამიდან გადააქეთ 0.5N NaOH-ის ხსნარში დასველებულ ქაღალდის (ვატმანის) ფურცლებზე, სადაც უჯრედები იშლება (ლიზირდება), ხოლო განთავისუფლებული დნმ განიცდის დენატურაციას (იყოფა ორ ჯაჭვად). ამის შემდეგ ფილტრებს აშრობენ დნმ-ს ფიქსაციისათვის, მერე რეცხავენ, ამუშავენ ქლოროფორმით, ისევ აშრობენ და იწყებენ ჰიბრიდიზაციის პროცედურას. ამისათვის ფილტრებს ასველებენ რადიოაქტიური ფოსფორით (^{32}P) ნიშანდებულ რნმ-ში ან დნმ-ში, აჩერებენ 15-20 საათს 37°C ტემპერატურაზე. პრეპარატს გარეცხვით აცილებენ რადიოაქტიურ ნიშანს და ატარებენ რადიოაგროგრაფირებას რენტგენულ ფირებზე 70°C ტემპერატურის პირობებში. ექსპოზიციის გარკვეული დროის შემდეგ ფირებს ამჟღავნებენ და ადარებენ საკონტროლო პეტრის ჯამებს (რეპლიკებს). თუ ასეთნაირად გაანალიზებულ კოლონიებში არის კოლონია, რომელიც შეიცავს დნმ-ს ფრაგმენტს ნიშანდებული ზონდის კომპოლოგიური ნუკლეუ-

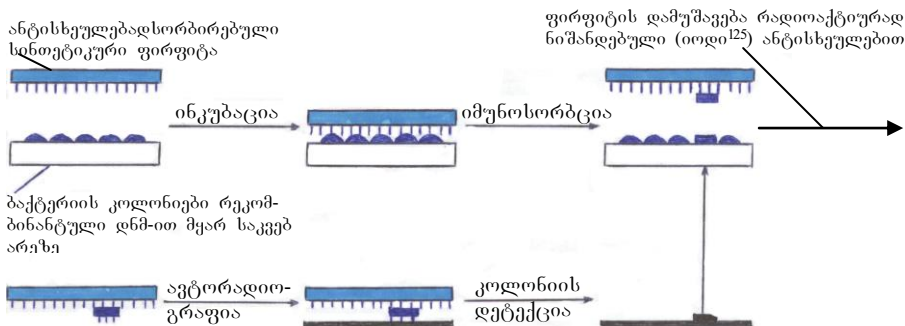
ოტიდების თანმიმდევრობით, მაშინ ფირზე ამ კოლონიის ადგილზე ჩნდება შავი ლაქა. საძიებელი გენის მატარებელი კოლონიის დადგენის შემდეგ შეიძლება სამუშაოს შემდგომი გაგრძელება. რეკომბინანტულ (ჰიბრიდულ) ვექტორში დნმ-ს ფრაგმენტი შეიძლება იყოს უფრო დიდი და იმისათვის, რომ დადგინდეს დნმ-ს ფრაგმენტის კონკრეტული მონაკვეთი, რომელიც შეესაბამება საძიებელ გენს, ჩვეულებრივ იყენებენ ჰიბრიდიზაციის მეთოდს საუზერნის მიხედვით ანუ ბლოტ-ჰიბრიდიზაციას. მას ატარებენ შემდეგნაირად: გამორჩეული კოლონიიდან გამოყოფენ დნმ-ს და მას რესტრიქტაზების საშუალებით ჭრიან პატარა ნაწილებად. შემდეგ ამ ნაწილებს ყოფენ ზომების მიხედვით აგარიზებულ გელში ელექტროფორეზის საშუალებით. ამის შემდეგ, როდესაც დამთავრდება დნმ-ს დაყოფა, იგი პირდაპირ გელიდან გადააქვთ ნიტროცელულოზურ ფილტრებზე და მათზე ამაგრებენ. მერე ახდენენ ფილტრთან დაკავშირებული დნმ-ს ზემოთ აღწერილი ხერხით ჰიბრიდიზაციას იგივე რადიოაქტიურ ზონდთან (^{32}P დნმ ან ^{32}P მ-რნმ). მიღებულ რადიოაგტოგრაფზე გამოჩნდება მხოლოდ ის ზოლები (დნმ-ს რესტრიქტები), რომლებსაც გააჩნია ზონდთან დნმ-ს ჰომოლოგიური თანმიმდევრობები. ბოლოს, დნმ-ს ჰომოლოგიურ ფრაგმენტს იღებენ გელიდან და ატარებენ მის შემდგომ შესწავლას. ასეთნაირად ხდება საჭირო გენის გამოყოფა.

ჰიბრიდიზაციის მეთოდებზე ლაპარაკისას აუცილებელია კიდევ ერთი მეთოდის – *in situ* ჰიბრიდიზაციის მეთოდის ხსენება. იგი გამოიყენება დნმ-ს ფრაგმენტებზე ან მთელ ქრომოსომებზე გენების ლოკალიზაციისათვის ანუ გენების განლაგების ადგილის დადგენისათვის. ამისათვის ქრომოსომების პრეპარატებს ამზადებენ ციტოლოგიაში მიღებული მეთოდიკით. ჩვეულებრივ ეს მეტაფაზური ქრომოსომებია. აუცილებელია ასევე რადიოაქტიური ნიშნის მქონე დნმ-ს ზონდების მომზადება. ნიშანდებული დნმ გადააქვთ ქრომოსომების პრეპარატზე და ზემოდან ადებენ ფოტოემულსიას. შემდეგ ახდენენ პრეპარატების ექსპონირებას სიბნელეში და გამჟღავნებას. ქრომოსომების მონაკვეთებს, რომლებიც გამოყენებული ზონდის ჰომოლოგიური იქნება, გაუჩნდება შავი ლაქები.

იმუნოლოგიური მეთოდები. მათ იყენებენ იმ შემთხვევაში, თუ გენებს გააჩნიათ ექსპრესიონის უნარი. ერთ-ერთი მეთოდი – პირდაპირი იმუნოსელექციის მეთოდი მდგომარეობს იმაში, რომ ამზადებენ საკვებ არეს საძიებელი გენის შესაბამისი ცილის ანტისხეულებით.* ასეთი საკვები არის მქონე პეტრის ჯამზე თესვენ ბაქტერიების უჯრედებს დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულებით. როდესაც წარმოიქმნება კოლონიები, ახდენენ უჯრედების ლიზის (ფაგის ან ლიზო-

* ანტისხეული – არის იმუნოგლობულინების ჯგუფის ცილები, რომლებიც წარმოიქმნება ორგანიზმში ზოგერთი ნივთიერების (ანტიგენების) მოხვედრისას. მისი დანიშნულებაა ამ ნივთიერებების ნეიტრალიზება.

უკანასკნელ პერიოდში ფართო გავრცელება მოიპოვა რადიო-მუზოდეტექციის მეთოდი. ის მდგომარეობს შემდეგში: ბაქტერიის კოლონიებს დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულებით თესავენ მყარი საკვები არის ზედაპირზე. შემდეგ ახდენენ მათ ლიზისს და ლიზატზე ზემოდან ფრთხილად ათავსებენ სპეციფიკური ანტისხეულებად-სორბირებულ სინთეტიკურ ფირფიტებს (სურ. 111). ინკუბაციის დროს



სურ. 111. რადიომუწნოდეტექციის მეთოდი

უჯრედის ღიზისის შემდეგ განთავისუფლებელი შესაბამისი ანტიგენები** უკავშირდება ფირფიტაზე ადსორბირებულ ანტისხეულებს ანუ ადგილი აქვს იმონოსორბციას. წარმოქმნილი ანტიგენ-ანტისხეულას კომპლექსის და შესაბამისად, საძიებელი გენის მატარებელი კოლონიის მდებარეობას საზღვრავენ იგივე, მაგრამ რადიოაქტიურად (იოდი-125) ნიშანდებული ანტისხეულებით ფირფიტის დამუშავების გზით. შემდეგ ახდენენ ავტორადიოგრაფიას და რენტგენულ ფორზე პრეციპიტაციის ადგილის გაშვების მიხედვით ადგენენ საძიებელი გენის მატარებელი ბაქტერიის კოლონიას.

რესტრიქტაზების საშუალებით დნმ-დან გენების გამოყოფის მეთოდს გააჩნია არსებითი ნაკლოვანებები. ჯერ ერთი, ძნელია ფრაგმენტების ისეთნაირად შერჩევა, რომ ზუსტად ამოიჭრას დნმ-დან საჭირო გენი. როგორც წესი, გენთან ერთად “გვერდებსე” რჩება ზედმე-

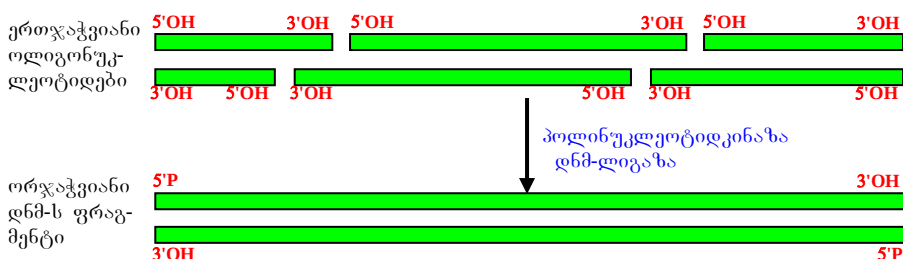
* პრეციპიტაცია - დალექვა.

**** ანტიგენი** – მაღალმოლეკულური კოლოიდური ნივთიერება, რომელიც ორგანიზმში შეყვანისას წარმოქმნის მასთან მარეაგირებელ სპეციფიკურ ანტისხეულებს.

ტი ნუკლეოტიდები, რომლებიც ხელს უშლიან მიღებული გენის შემდგომ გამოყენებას. და პირიქით, ფერმენტები საჭირო გენს ჩამოჭრიან ნაწილს, რითაც მას ხდიან ფუნქციონალურად უვარგისს; მეორე, ეუკარიოტული ორგანიზმების გენებს გააჩნიათ რთული – “მოზაიკური” (ეკზონ-ინტრონული) აგებულება, რაც შემდგომ მიკროორგანიზმებში გამრავლებისას ხელს უშლის მათ ნორმალურ ფუნქციონირებას, რადგანაც ბაქტერიებში არ ხდება ზედმეტი ნაწილების – ინტრონების მოცილება. ამიტომ გენების მიღების ეს ხერხი კარგია პროკარიოტებისათვის, მაგრამ არ ვარგა ეუკარიოტული უჯრედებისათვის; მესამე, თუ გენი შეადგენს მთელი (ტოტალური) დნმ-ს უმნიშვნელო ნაწილს, მაშინ შეიძლება წარმოიქმნას სირთულეები მოცემული კონკრეტული გენის იზოლაციისა და იდენტიფიკაციის საქმეში.

3.4.2.2. გენის ქიმიურ-ფერმენტული სინთეზი

გენის ქიმიურ-ფერმენტული სინთეზის ძირითადი პრინციპები დამუშავებულ იქნა 60-იანი წლების ბოლოს **გ. კორანას (G. Chorana)** მიერ. ისინი ითვალისწინებს რამდენიმე ეტაპს. პირველ ეტაპზე ქიმიურად ასინთეზებენ 10-12 წვერიან ერთჯაჭვიან ოლიგონუკლეოტიდებს,* რომლებიდანაც შემდეგ ქმნიან დნმ-ს ორჯაჭვიან ფრაგმენტებს. ამასთან, კომპლემენტური ჯაჭვების მეზობელი ოლიგონუკლეოტიდები ერთმანეთს უნდა გადაფარავდნენ ნაწილობრივ 5-6 ნუკლეოტიდით. შემდეგ ფერმენტ პოლინუკლეოტიდკინაზას საშუალებით ასდენენ ოლიგონუკლეოტიდების 5'-OH ბოლოების ფოსფორილირებას და რიგ-რიგობით აერთებენ მოლეკულებს გადაფარული კომპლემენტური თანმიმდევრობების საშუალებით. ბოლოს მეზობელ ოლიგონუკლეოტიდებს “კერავენ” ფერმენტ დნმ-ლიგაზით (სურ. 112).

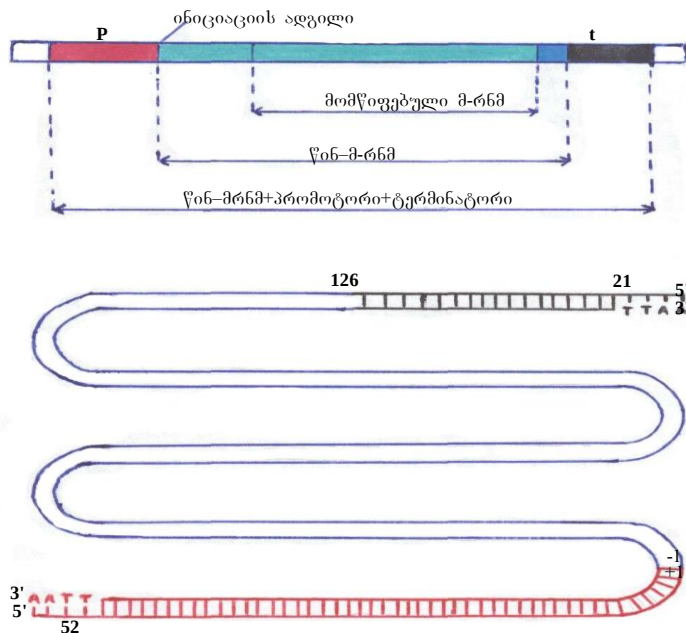


სურ. 112. გენის ქიმიურ-ფერმენტული სინთეზის სქემა

პირველად ქიმიურ-ფერმენტული გზით გენის სინთეზი განხორციელებულ იქნა 1969 წელს **გ. კორანასა** და მისი თანამშრომლების

* ოლიგონუკლეოტიდების ქიმიური სინთეზის მეთოდზე დაწვრილებით ნათქვამია ნაწილში – „მოლეკულური ბიოლოგიის საფუძვლები.“

მიერ. მაგრამ გენი არ იყო ფუნქციონალურად აქტიური, რადგანაც არ შეიცავდა აუცილებელ რეგულატორულ ელემენტებს. ამავე მეცნიერმა თანამშრომლებით 1976 წელს მოახდინა პირველი სრული აქტიური გენის – საფუარების თიროზინის ტ-რნმ-ს გენის სინთეზი (სურ. 113), რომელიც წარმოადგენს 199 ნუკლეოტიდის წყვილისგან



სურ. 113. საფუარების თიროზინული ტ-რნმ-ს გენის სინთეზი
(P – პრომოტორი, t – ტერმინატორი)

(126 ნ.წ. – სტრუქტურული ნაწილი, 52 ნ.წ. – პრომოტორი, 21 ნ.წ. – ტერმინატორი, 5'-ბოლოზე მდებარეობს AATT მონაკვეთი) შემდგარ დნმ-ს ორჯაჭვიან ფრაგმენტს.

მაგრამ გენების მიღების ასეთი გზა საკმაოდ რთულია. ამასთან, აუცილებელია სრული ინფორმაცია მის ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობაზე ანუ გენის პირველადი სტრუქტურის ცოდნა. ამიტომ მეთოდის გამოყენება დამოკიდებულია ასეთი ინფორმაციის მიღების შესაძლებლობებზე. გენში ნუკლეოტიდების თანმიმდევრობა განისაზღვრება ნუკლეინის მჟავების სეკვენირების მეთოდებით.* იგი შეიძლება განსაზღვრულ იქნას აგრეთვე კოდირებადი ცილის პირველადი სტრუქტურის მიხედვითაც. ცილის ამინომჟავური შედგენილობის ცოდნისას,

* იხ. ნაწ. II – „მოლეკულური ბიოლოგიის საფუძვლები“ გვ. 162-167.

გენეტიკური კოდის საშუალებით, ადვილად შეიძლება შესაბამისი გენის რნმ-ს და დნმ-ს სტრუქტურების შედგენა.

სინთეზის ქიმიურ-ფერმენტულ მეთოდს იყენებენ არამართო გენების მისაღებად, არამედ პრომოტორების, პრაიმერების, აგრეთვე გენების ვექტორულ მოლეკულებთან დაკავშირებისათვის აუცილებელი თანმიმდევრობების (ლინკერები, ადაპტორები და სხვა) მისაღებადაც. დღეისათვის ქიმიურ-ფერმენტული სინთეზის მეთოდით მიღებულია სომატოსტატინის, ინსულინის A- და B-ჯაჭვის, პროინსულინის და სხვა გენები.

3.4.2.3. გენის შერმენტული სინთეზი

ეს მეთოდი გენების მიღების ყველაზე პოპულარული მეთოდია. იგი დაფუძნებულია ფერმენტ უკუტრანსკრიპტაზას (რევერტაზას) უნივერსალურ უნარზე მოახდინოს ორჯაჭვიანი კომპლემენტური დნმ-ს (კ-დნმ-ს) სინთეზი მ-რნმ-ს მატრიცაზე. მოკლედ ეს მეთოდი მდგომარეობს შემდეგში. უჯრედიდან გამოჰყოფენ მ-რნმ-ს მოლეკულებს, რომელშიც არის მისაღები გენის მიერ კოდირებული მ-რნმ-ც. ამჟამად მ-რნმ-ს გამოყოფის მეთოდები საკმაოდ კარგადაა დამუშავებული. ყველაზე უკეთესია მათი გამოყოფა ისეთი უჯრედიდან, რომლებიც სპეციალიზებულია ერთი რომელიმე ცილის სინთეზზე. მაგალითად, ცხოველების ერთობლასტების უჯრედებში, საიდანაც წარმოიქმნება სისხლის უჯრედები (ერთოროციტები), უპირატესად ხდება ერთი გლობინური მ-რნმ-ს სინთეზი. გამოყოფილ მ-რნმ-ზე უკუტრანსკრიპტაზას (რევერტაზას) საშუალებით ახდენენ კ-დნმ-ს სინთეზს, რომლის მექანიზმი აღწერილია ზემოთ. ასეთნაირად სინთეზირებულ გენებს არ შეუძლიათ ნორმალური ფუნქციონირება, რადგანაც მომწიფებული მ-რნმ შეიცავს მხოლოდ სტრუქტურულ ინფორმაციას ცილების შესახებ, მაგრამ არ არის რეგულატორული ელემენტები. შემდეგ მათთან აერთებენ რეგულატორულ მონაკვეთებს (უბნებს) და 20-50 ნუკლეოტიდის სიგრძის ქიმიური გზით სინთეზირებულ ან უჯრედიდან გამოყოფილ კომპლემენტურ ბოლოებს. ბოლოს გენებს აერთებენ ვექტორთან, შეჰყავთ ბაქტერიის უჯრედში და ამრავლებენ ანუ ახდენენ კლონირებას.

რათა დავრწმუნდეთ იმაში, რომ სწორედ ის გენია მიღებული რომელიც საჭიროა, არსებობს რამდენიმე ხერხი. განვიხილოთ ზოგიერთი მათგანი. თუ ცნობილია გენის მიერ კოდირებადი ცილის პირველადი სტრუქტურა, მიზანშეწონილია მიღებული გენის ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობების გაშიფვრა და დარწმუნება იმაში, რომ იგი აკოდირებს მოცემული ცილის პოლიპეპტიდურ ჯაჭვს. თუ მხედველობაში მივიღებთ დნმ-ს სექვენირების თანამედროვე მეთოდების სრულყოფილებას და სისწრაფეს, იგი ამჟამად ძალიან მარტივი გზაა. მეო-

რე ხერხი მდგომარეობს იმაში, რომ ჩატარდეს ჰიბრიდიზაცია მიღებული გენსა და კოდირებადი ცილის ინდივიდუალურ მ-რნმ-ს შორის და დავრწმუნდეთ მათ სრულ კომპლემენტურობაში. ამ ხერხს შედარებით იშვიათად იყენებენ, რადგანაც ძნელია კოდირებადი ცილის ინდივიდუალური მ-რნმ-ს მიღება. ამ მეთოდის უფრო მარტივი ვარიანტი მდგომარეობს იმაში, რომ ჰიბრიდიზაციაში იყენებენ ჯამურ (ინდივიდუალურ ფრაქციებად დაუჭრელ) მ-რნმ-ს, ახდენენ ჰიბრიდიზაციას გენთან, ხოლო შემდეგ იკვლევენ მ-რნმ-ის ცილა-სინთეზირებად სისტემაში პოლიპეპტიდების სინთეზის წარმართვის უნარს. თუ გენი შეესაბამება მ-რნმ-ს, მაშინ იგი ბლოკირდება და კოდირებადი ცილა არ სინთეზირდება, რაც დგინდება შესაბამისი ცილოვანი ზოლის უქონლობით პოლიაკრილამიდურ გელში ელექტროფორეზით გაყოფის შემდეგ.

ფერმენტული მეთოდით პირველად გენები სინთეზირებულ იქნა 1972 წელს აშშ-ში (ადამიანისა და ბოცვერის გლობინის გენი). ამჟამად ამ მეთოდით მიღებულია ინსულინის, სომატოტროპინის, ინტერფერონის, ალბუმინის, იმუნოგლობულინების და სხვა ცილების მაკოდირებელი გენები.

საჭირო გენის მიღების ყველა ზემოთ აღწერილი მეთოდის გამოყენება მოითხოვს მკვლევარების განსაკუთრებულ მაღალ კვალიფიკაციას, მაღალხარისხოვან და დიდი რაოდენობის რეაქტივებს, სპეციფიკურ ხელსაწყოებს და მოწყობილობებს. ამიტომ იმისათვის, რომ წარმატებით წარიმართოს გამოკვლევები გენეტიკური ინჟინერიაში აუცილებელია არამარტო სურვილი, არამედ მომზადების ძალიან მაღალი დონე შესაბამისი მატერიალური ბაზით.

3.4.3. გენეტიკური კონსტრუქცია (შერჩევა)

გენეტიკურ ინჟინერიაში გენების გადატანის ძირითად იარაღს წარმოადგენს ვექტორები.

ვექტორი ეწოდება დნმ-ს მოლეკულას, რომელსაც გააჩნია რეციპიენტის უჯრედში უცხო გენეტიკური ინფორმაციის გადატანის, გამრავლებისა და შენახვის უნარი.

ვექტორი წარმოადგენს უცხო დნმ-ს რეციპიენტის უჯრედებში გადატანის თავისებურ სატრანსპორტო საშუალებას (ერთგვარ მოლეკულურ „ტაქს“).^{*} თავისი როლის ეფექტური შესრულებისათვის ვექტორი უნდა აკმაყოფილებდეს გარკვეულ მოთხოვნებს:

1) იყოს მცირე ზომის, რათა მის დნმ-ში შეიძლებოდეს სასურველი გენის/გენების ჩართვა;

^{*} vehicle [ინგლ] – ოთხთვალა.

2) იყოს რეპლიკონი,* ე.ი. ჰქონდეს რეპლიკაციის უნარი, რათა სტაბილურად არსებობდეს რეციპიენტის (პატრონის) უჯრედში;

3) ჰქონდეს ამპლიფიკაციის ე.ი. მრავალჯერადი გაორმაგებისა და დიდი რაოდენობით ასლების წარმოქმნის უნარი, რათა მასში ჩართული გენი უჯრედში ასევე წარმოდგენილი იყოს მრავალი ასლებით და მაშასადამე, მისი შესატყვისი ცილა – დიდი რაოდენობით;

4) ჰქონდეს ამა თუ იმ რესტრიქტაზას შეცნობის უნიკალური საიტი, რათა ამ საიტში ჩართოს საჭირო გენი/გენები;

5) უნდა უზრუნველყოს მისი მოლეკულის შედგენილობაში ჩართული უცხო დნმ-ს ექსპერსია (მუშაობა);

6) ჰქონდეს სელექტიური მარკერი,** ე.ი. შეიცავდეს გენს, რომლის ფუნქცია უჯრედს ანიჭებს ადვილად გასარჩევ ნიშანს (მაგალითად, ანტიბიოტიკებისადმი გამძლეობას), რაც ხელს უწყობს უჯრედების, რომლებმაც მიიღეს უცხო გენი, გამორჩევის ეფექტურობის გადიდებას;

7) უცხო დნმ-ს შეყვანამ არ უნდა დაარღვიოს მისი არსებითი ფუნქციები;

8) ჰქონდეს შეყვანილი უცხო დნმ-ს შესაბამისი ორგანიზმის უჯრედებში გადაცემის შესაძლებლობა.

ბუნებაში ვექტორების ყველაზე ხელსაყრელ კანდიდატებს წარმოადგენენ – პლაზმიდების, ვირუსების, მათ შორის ფაგების, მიტოქონდრიების და ქლოროპლასტების დნმ-ს მოლეკულები. უშუალოდ ვექტორებად მათ პრაქტიკულად ვერ იყენებენ. იმისათვის, რომ ისინი პასუხობდნენ ზემოთ აღნიშნულ მოთხოვნებს, აუცილებელია მათი მოდიფიცირება ან კომბინირება. ამასთან ვექტორების კონსტრუირება ხდება რაღაც კონკრეტული მიზნისათვის. მაგალითად, არის ვექტორები, რომლებიც ემსახურება მხოლოდ გენების ამპლიფიკაციას (გამრავლებას) ან სექვენირებას; არის ვექტორები დნმ-ს პატრონის ქრომოსომაში გადატანისა და ინტეგრაციისათვის და ა.შ.

პლაზმიდური ვექტორები. ყველაზე გავრცელებულს წარმოადგენს პლაზმიდური ვექტორები. მათ ღებულობენ ბაქტერიებიდან *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium tumefaciens* და სხვა. როგორც ცნობილია პლაზმიდები არის დნმ-ს ორჯაჭვიანი რგოლური მოლეკულებისაგან შემდგარი არაქრომოსომული გენეტიკური ელემენტები.

ერთ-ერთი პირველი პლაზმიდური ვექტორი **PSC 101***** შემოთავაზებულ იქნა სტენლი კოენის (S. Cohen) მიერ 1973 წელს. ამ ყველაზე მარტივ ვექტორს გაჩნია რესტრიქტაზა EcoRI-ის მხოლოდ ერთი

* რეპლიკონი – დნმ-ს მონაკვეთი, რომელსაც გააჩნია დამოუკიდებელი (ავტონომიური) რეპლიკაციისათვის აუცილებელი რეგულატორული ელემენტები.

** marqueur [ფრანგ.] – აღნიშვნა.

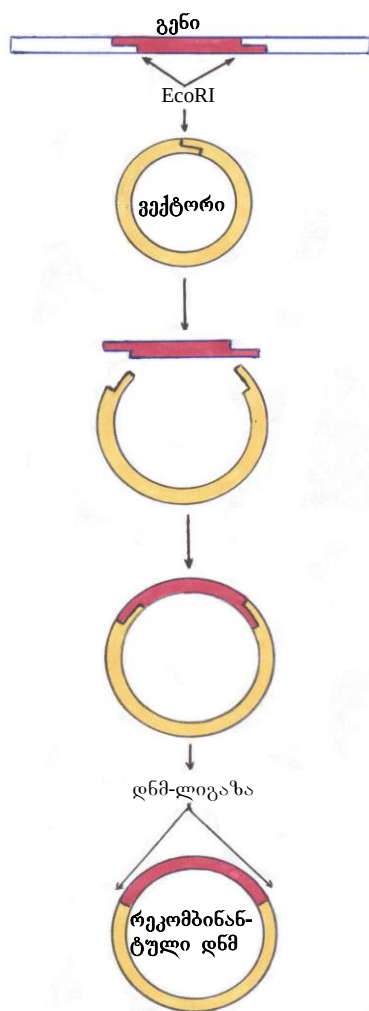
*** P – ნიშნავს პლაზმიდას, SC – სტენლი კოენის სახელისა და გვარის პირველი ასოებია.

შეცნობის საიტი. იგი მიღებულია ბაქტერია Ecoli-ის პლაზმიდის მექანიკური გახლეჩის გზით. შეიცავს ანტიბიოტიკი ტეტრაციკლინისადმი გამძლეობის გენს. ზომა შეადგენს 9.1 ათას ნუკლეოტიდის წყვილს. რესტრიქტაზით მისი გაჭრისას ანტიბიოტიკისადმი გამძლეობის გენი არ იჭრება. ამიტომ ამ სელექტიური მარკერით ადვილად შეიძლება მოიძებნოს კლონები პლაზმიდით. ვექტორის ნაკლოვან მხარეს წარმოადგენს მცირე რაოდენობის ასლების (6-8 ასლი) წარმოქმნის უნარი.

მეორე პლაზმიდურ ვექტორს წარმოადგენს **დ. ჰელინსკის (D.R.Helinski)** მიერ 1974 წელს ბაქტერია Ecoli-დან მიღებული პლაზმიდი **Col EI**. იგი შეიცავს ანტიბიოტიკი კოლიცინისადმი გამძლეობის გენს. წარმოადგენს პატარა ზომის (E.coli-ს ქრომოსომის 1/1000 ნაწილს) რგოლურ (წრიულ) მოლეკულას. რესტრიქტაზა EcoRI-ით იხლეჩება მხოლოდ ერთ ადგილას. ავლენს ამპლიფიკაციისადმი დიდ უნარს (ასლების რაოდენობა უჯრედში აღწევს 3 ათასს). ნაკლოვან მხარეს წარმოადგენს საიმედო სელექტიური მარკერის უქონლობა.

ორივე პლაზმიდი დიდ ინტერესს იწვევს მხოლოდ გენეტიკური ინჟინერიის განვითარების ისტორიის თვალსაზრისით. ისინი გახდნენ დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულების მიღების თანამედროვე სქემების დამუშავების საფუძველი (სურ. 114). ამ პლაზმიდებს, ჰქონდათ რა რესტრიქტაზა EcoRI-ის თითო გამოცნობის საიტი, იყენებდნენ დნმ-ს ფრაგმენტების კლონირებისათვის. ამ მიზნით რგოლურ ვექტორულ მოლეკულებს რესტრიქტაზით ხლეჩდნენ და ხდიდნენ ხაზობრივს, რის შედეგად წარმოიქმნებოდა ერთჯაჭვიანი “მწეებარე” AATT ბოლოები. ასეთივე ბოლოები ჰქონდათ დნმ-ს ფრაგმენტებსაც, რაც შესაძლებელს ხდიდა ამ მოლეკულების გაერთიანებას მათი კომპლემენტური ურთიერთმოქმედების გამო. ბოლოს კოვალენტური ბმების აღდგენას ახდენდნენ დნმ-ლიგაზას საშუალებით. დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულების მიღების აღნიშნული სქემა გახდა კლასიკური.

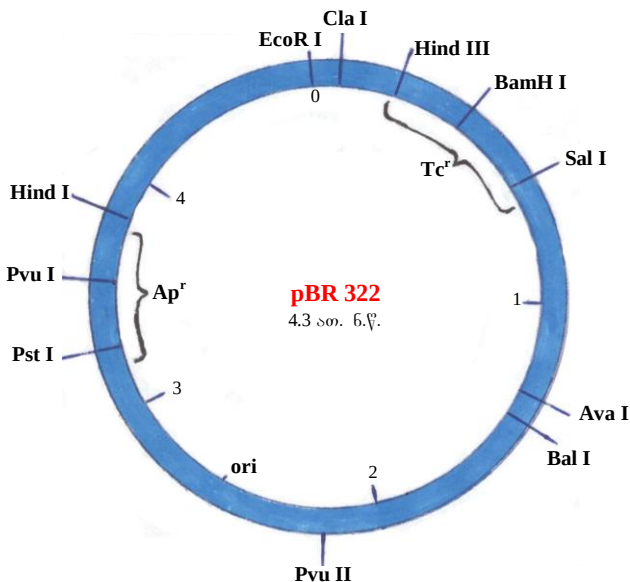
ამჟამად ყველაზე ფართო გავრცელება მოიპოვა ვექტორმა **pBR 322** (სურ. 115). იგი კონსტრუირებულია სამი პლაზმიდის (Col EI, pSC 101 და RI drd) საფუძველზე. ვექტორი შეიცავს ანტიბიოტიკების – ტეტრაციკლინისა და ამპიცილინისადმი გამძლეობის ორ გენს, აგრეთვე რამდენიმე რესტრიქტაზას – Hind III, Sal I, BamH I, EcoRI, Pvu I, Pst I და სხვა შეცნობის საიტს. უნდა აღინიშნოს, რომ პირველი სამი რესტრიქტაზას შეცნობის საიტი მდებარეობს ტეტრაციკლინის გენის (Tc^r) დნმ-ში, ხოლო რესტრიქტაზების Pst I, Pvu I – ამპიცილინის გენის (Ap^r) დნმ-ში. ეს საშუალებას იძლევა ჩატარდეს ტრანსფორმაციების გამორჩევა ერთი ანტიბიოტიკისადმი გამძლეობის მიხედვით, ხოლო კლონების რეკომბინანტული დნმ-ით – მეორე ანტიბიოტიკისადმი გამძლეობის მიხედვით. აღნიშნული ვექტორის სიგრძე შეადგენს 4,3



სურ. 114. დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულების მიღების სქემა

ათასი ნუკლეოტიდის წყვილს.

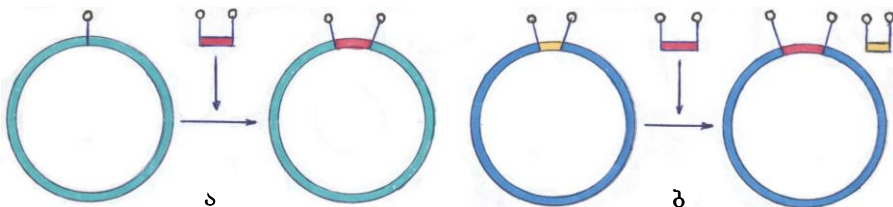
ზაბჰური ვექტორები. პირველი ფაგური ვექტორები კონსტრუირებულ იქნა ა. რამბახისა (A. Rambach) და პ. ტიოლეს (P. Tiollais) მიერ 1974 წელს ფაგ ლიამბდას (λ) საფუძველზე. აღნიშნულ ფაგს გააჩნია ერთი ქრომოსომა, რომელიც წარმოადგენს ცილოვან გარსში – კაპსიდაში ჩასმულ დნმ-ს მოლეკულას. ფაგ λ -ს დნმ-ს მოლეკულას



სურ. 115. ვექტორ pBR 322-ის ფიზიკური რუკა

აქვს საზოგადოებრივი ფორმა, სიგრძით შეადგენს 48519 ნუკლეოტიდის წყვილს, მასში გამოყოფილია დაახლოებით 61 გენი. ქრომოსომის ბოლოებზე გააჩნია 12 ნუკლეოტიდისგან შემდგარი ერთჯაჭვიანი კომპლემენტური მონაკვეთები – **cos-საიტები**. ისინი უზრუნველყოფენ დნმ-ს საზოგადოებრივი მოლეკულების რეგულურ (წრიულ) მოლეკულებად გარდაქმნას.

ფაგური ვექტორები იყოფა **ჩანერგვის ვექტორებად** და **ჩანაცვლების ვექტორებად** (სურ. 116). პირველს გააჩნია კონკრეტული რეს-

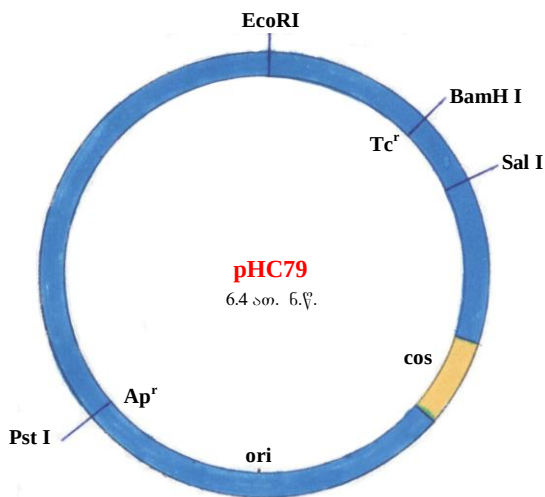


სურ. 116. ჩანერგვის (ა) და ჩანაცვლების (ბ) ფაგური ვექტორები

ტრიქტაზას მხოლოდ ერთი შეცნობის საიტი. ამიტომ მათში, ისე როგორც პლაზმიდურ ვექტორებში, დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულის

სიგრძე ვექტორებისა და კლონირებადი ფრაგმენტების სიგრძის ჯამის ტოლია. ჩანაცვლების ვექტორებს გააჩნია რესტრიქტაზას 2 შეცნობის საიტი. ამიტომ ასეთ ვექტორებში დნმ-ს კლონირებადი ფრაგმენტები ჩაისმება მოცემული საიტებით შემოსაზღვრული მონაკვეთების ნაცვლად. ფაგური ვექტორების მაქსიმალური ტევადობა* შეადგენს 22 ათასი ნუკლეოტიდის წყვილს.

კოსმიდები. გენეტიკურ ინჟინერიაში დიდი ზომის გენების კლონირების საქმეში დიდ ინტერესს იწვევს **კოსმიდებად** წოდებული ვექტორები. ისინი მიღებულია პლაზმიდური რეპლიკონისა და ფაგლიამბდას cos-საიტის ერთ გენომში გაერთიანების გზით. კოსმიდები არსებითად წარმოადგენენ მოძრავ cos-საიტებს. მათ შორის შეიძლება ჩაშენებული იქნას 51 ათასი ნუკლეოტიდის წყვილამდე ზომის ნებისმიერი დნმ. ყველაზე მეტად კოსმიდების კონსტრუირებისათვის იყენებენ პლაზმიდას pBR322. მაგალითად, **ბ. ჰონმა (B. Hohn)** და **ჯ. კოლინზმა (J. Collins)** ამ პლაზმიდის საფუძველზე შექმნეს კოსმიდა pHC79 ზომით 6,4 ათასი ნუკლეოტიდის წყვილი (სურ. 117). მასში შესაძლე-



სურ. 117. კოსმიდა pHC79-ის სქემატური აგებულება

ბელია 40 ათ.ნ.წ.-მდე ზომის დნმ-ს კლონირება, გააჩნია ამპიცილინისა და ტეტრაციკლინისადმი გამძლეობის სელექტიური მარკერი. დიდი ტევადობის გამო კოსმიდებს ფართოდ იყენებენ გენების ბანკის შექმნაში.

* **ვექტორის ტევადობა** – დნმ-ს ფრაგმენტის მინიმალური და მაქსიმალური ზომა, რომელიც შეიძლება ჩაშენებულ იქნას ვექტორში მისი ფუნქციების დარღვევის გარეშე.

ფაზმიდები. ფაზმიდები ეწოდება ფაგებსა და პლაზმიდებს შორის ჰიბრიდებს, რომლებიც ვითარდებიან როგორც ფაგებად, ისე პლაზმიდებად. კლონირების ტევადობის მიხედვით ფაზმიდები უტოლდება ფაგურ ვექტორებს და მნიშვნელოვნად ჩამორჩება კოსმიდებს. ფაზმიდები თავის შედგენილობაში შეიცავენ ფაგის ლიტიური განვითარებისათვის აუცილებელ ყველა გენს და პლაზმიდების რეპლიკაციისა და სელექციისათვის აუცილებელ გენებს.

ამჟამად არსებობს ძალიან ბევრი ვექტორი, მათ შორის ეუკარიოტებისთვისაც, კერძოდ მცენარეებისათვისაც.*

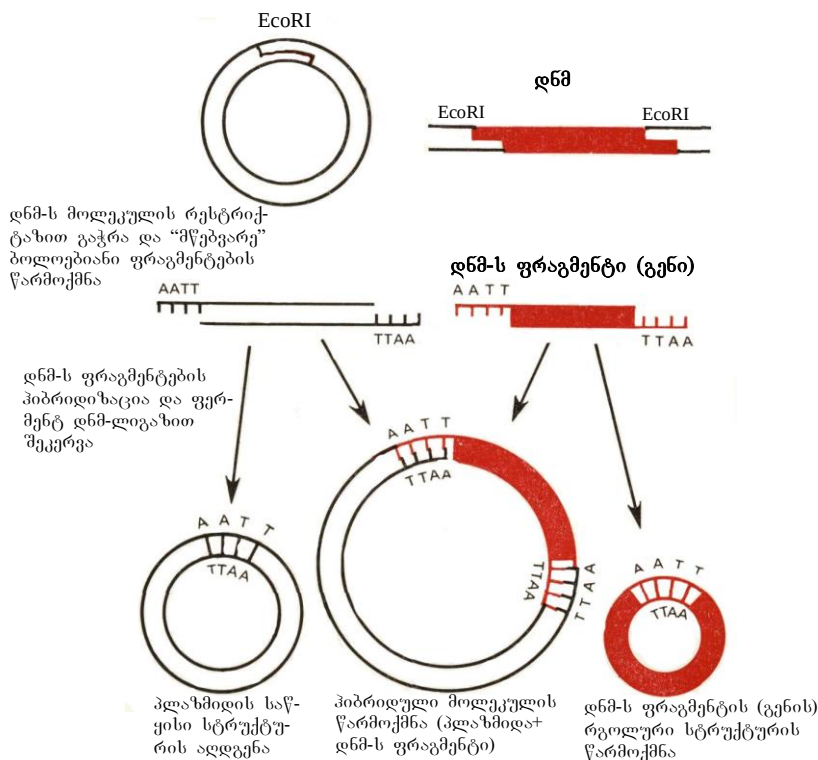
3.4.4. საჭირო გენის ვექტორში შეყვანა (ჩაშენება)

ამა თუ იმ გზით მიღებულ საჭირო გენს, რომელიც შეიცავს ინფორმაციას გარკვეული ცილის სტრუქტურაზე, თავისთავად არ შეუძლია ამ ინფორმაციის რეალიზება. საჭიროა დამატებითი მექანიზმები, რომლებიც წარმართავენ მის მოქმედებას. ამიტომ შემდგომ ეტაპს გენეტიკურ ინჟინერიაში წარმოადგენს **საჭირო გენის შეყვანა (ჩაშენება) ანუ გადატანა ვექტორის შემადგენლობაში**. გენი ვექტორთან ერთად ქმნის **რეკომბინანტულ დნმ-ს** ანუ რეკომბინანტს**.

ვექტორში გენის შეყვანისათვის, ე.ი. ვექტორსა და გენს შორის დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულის მიღებისათვის, ჩვეულებრივ მათ ამუშავენ ერთი და იგივე რესტრიქტაზით და ერთმანეთში ურევენ “მწებვარე” ბოლოების შესაერთებლად. მაგალითად, თუ უნდათ გენის (დნმ-ს ფრაგმენტის) ვექტორ pSC 101-ში ჩასმა (ჩაშენება) (სურ. 118), მაშინ შეიძლება გამოყენებულ იქნას რესტრიქტაზა EcoRI. ეს რესტრიქტაზა ვექტორის დნმ-ს ჭრის მხოლოდ ერთ ადგილას და თუ ვექტორზე გადასატანი დნმ-ს ფრაგმენტიც ასევე გაიჭრება ამ რესტრიქტაზით, მაშინ ორივე მოლეკულაში წარმოიქმნება ხაზობრივი დნმ ერთნაირი “მწებვარე” AATT ბოლოებით. სპეციალურ რეაქციულ ნარევეში კომპლემენტურობის საფუძველზე ეს ბოლოები ერთმანეთს უერთდება, შემდეგ დნმ-ლიგაზით “იკერება” და წარმოიქმნება ვექტორისა და დნმ-ს ფრაგმენტისაგან (გენისაგან) შემდგარი დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულა. ამასთან შეიძლება მოხდეს აგრეთვე ვექტორების თავის თავში ჩაკეცვა, დნმ-ს ფრაგმენტების (გენების) რგოლურ სტრუქტურად ჩამოყალიბება ან რამდენიმე პატარა ფრაგმენტის ერთ დიდ ფრაგმენტად გაერთიანება. საჭირო რეკომბინანტის მოძებნისათვის

* მცენარეთა ვექტორები განხილულია ქვემოთ გვ. 315.

** **რეკომბინანტული დნმ** – არის ნებისმიერი წყაროდან გამოყოფილი დნმ-ს ორი ან მეტი ფრაგმენტის გაერთიანების გზით in vitro (სინჯარაში) წარმოქმნილი დნმ-ს მოლეკულა. რეკომბინანტული დნმ წარმოიქმნება როგორც გენსა და ვექტორს შორის, ისე ვექტორულ გენსა და რაციპიენტული უჯრედის გენომს შორის.



სურ. 118. ვექტორში გენის შეყვანა (ჩაშენება)

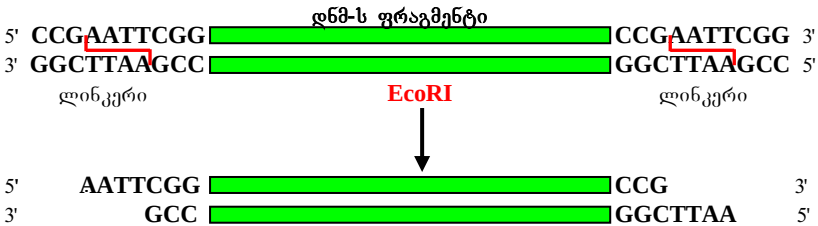
არსებობს მათი გამოვლენის სხვადასხვა ხერხი.*

გენეტიკურ-ინჟინერულ მუშაობაში “მწებვარე” ბოლოების მქონე დნმ-ს ფრაგმენტების დაკავშირების გარდა, ძალიან ხშირად დგება აგრეთვე “გლუვი” (სწორი) ბოლოების, “მწებვარე” და “გლუვი” ბოლოების ან “მწებვარე” მაგრამ არაკომპლემენტური ბოლოების მქონე დნმ-ს ფრაგმენტების დაკავშირების აუცილებლობა. გენეტიკურ ინჟინერიაში დამუშავებულია სპეციალური მეთოდები დნმ-ს ასეთი მოლეკულების დაკავშირებისათვის. არსებობს დნმ-ს ფრაგმენტების დაკავშირების ლინკერული, ადაპტორული და კონექტორული მეთოდები.

ლინკერები ეწოდება სინთეტიკურ ოლიგონუკლეოტიდებს, რომლებიც წარმოადგენენ რესტრიქციის საიტებს გარკვეული რესტრიქტაზებისათვის. ასეთ ოლიგონუკლეოტიდებს ჯერ მიაკერებენ დნმ-ს ფრაგმენტის “გლუვ” ბოლოებს, ხოლო შემდეგ ამუშავებენ შესაბამი-

* იხ. გვ 276.

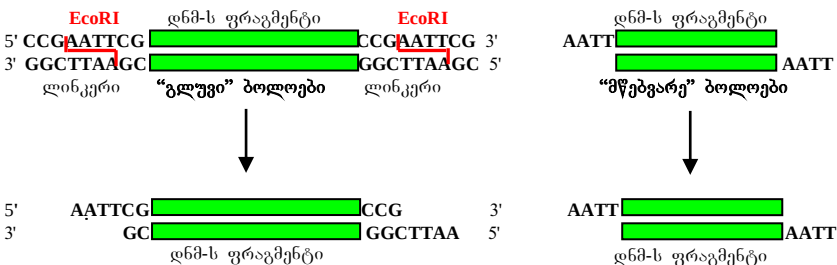
სი რესტრიქტაზით და ღებულობენ დნმ-ს ფრაგმენტებს საჭირო “მწებარე” ბოლოებით (სურ. 119):



სურ. 119. “გლუვი” ბოლოებიან დნმ-ს ფრაგმენტზე “მწებარე” ბოლოების მიკერება ლინკერების საშუალებით

“მწებარე” მაგრამ არაკომპლემენტური ბოლოების დაკავშირებისას ჯერ ეკზონუკლეაზების საშუალებით აცილებენ ამ “მწებარე” ბოლოებს, ხოლო შემდეგ მოქმედებენ როგორც წინა შემთხვევაში.

ამ მეთოდს იყენებენ აგრეთვე სწორი (“გლუვი”) და “მწებარე” ბოლოების მქონე დნმ-ს ფრაგმენტების დაკავშირებისათვის (სურ. 120):

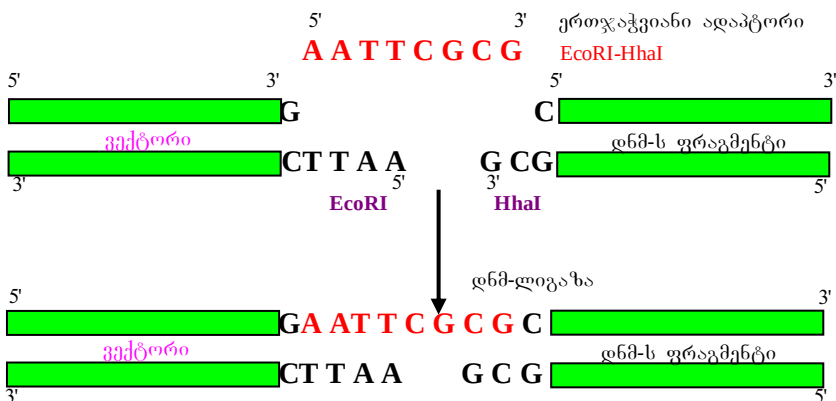


სურ. 120. “გლუვი” და “მწებარე” ბოლოების მქონე დნმ-ს ფრაგმენტების დაკავშირება ლინკერების საშუალებით

ადაპტორები ეწოდება ერთ- ან ორჯაჭვიან სინთეტიკურ ოლიგონუკლეოტიდებს, რომლებიც განკუთვნილია შეუთავსებელი ბოლოების – ე.ი. სხვადასხვა “მწებარე” ბოლოების მქონე დნმ-ს ფრაგმენტების დაკავშირებისათვის. მათ იყენებენ როცა ვექტორების და დნმ-ფრაგმენტების საფეხურისებური ბოლოები წარმოქმნილია სხვადასხვა რესტრიქტაზებით.

ერთჯაჭვიან ადაპტორებს იყენებენ 5'- და 3'-გამოწეული ბოლოე-

ბის მქონე დნმ-ს ფრაგმენტების დაკავშირებისათვის. მაგალითად, რესტრიქტაზების EcoRI და HhaI მიერ წარმოქმნილი ბოლოების “შეპირებას” ახდენენ ერთჯაჭვიანი ადაპტორ EcoRI-HhaI-ის საშუალებით (სურ. 121):

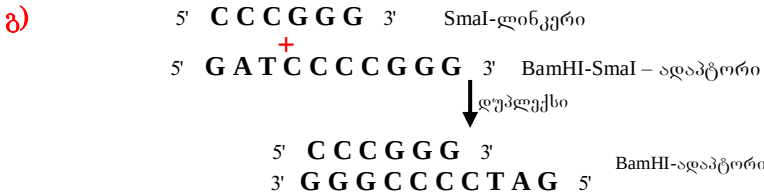
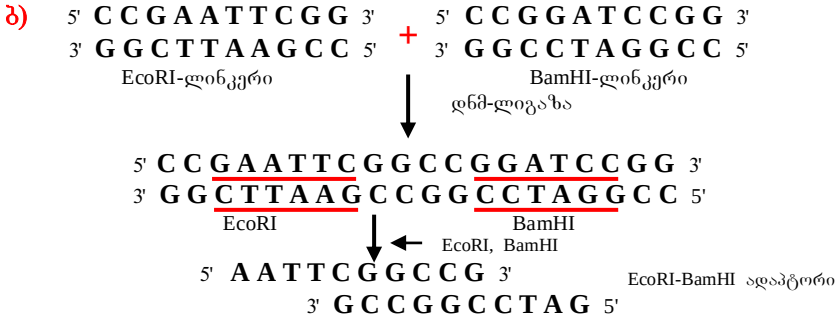
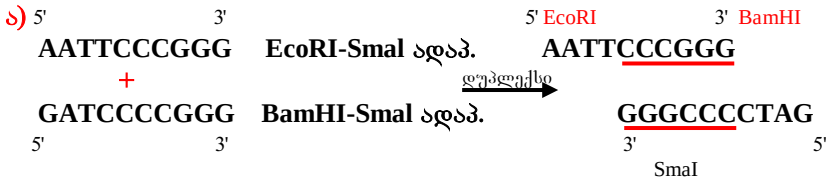


სურ. 121. ერთჯაჭვიანი ადაპტორის გამოყენება შეუთავსებელი ბოლოების მქონე დნმ-ს ფრაგმენტების დაკავშირებისათვის

ორჯაჭვიან ადაპტორებს ღებულობენ ორი ერთჯაჭვიანი ადაპტორის (ა), ორი ლინკერის (ბ) ან ადაპტორისა და ლინკერის (გ) კომბინაციის გზით (სურ. 122):

კონექტორული მეთოდი ფერმენტ ტერმინალური ტრანსფერაზას საშუალებით 3' ბოლოებზე ერთჯაჭვიანი ჰომოპოლიმერული კომპლემენტური მონაკვეთების მიშენების გზით დნმ-ს ნებისმიერი ორჯაჭვიანი ფრაგმენტების დაკავშირების საშუალებას იძლევა (სურ. 123). ეს მდგომარეობს შემდეგში. დნმ-ს ფრაგმენტებს პირდაპირი ან საფეხურისებრი ბოლოებით ამუშავებენ ფერმენტ ტერმინალური (ბოლო) ტრანსფერაზას საშუალებით ფრაგმენტების 3'-ბოლოებზე აერთებენ (მიაშენებენ) 10-30 ნუკლეოტიდისაგან შემდგარ ერთჯაჭვიან ჰომოპოლიმერულ მონაკვეთებს – poly(A), poly(T), poly(G), poly(C). აღნიშნული მონაკვეთები დნმ-ს სხვადასხვა ფრაგმენტში ქმნის კომპლემენტურ თანმიმდევრობებს, რის საშუალებითაც ეს ფრაგმენტები ერთმანეთს უკავშირდება. სამუშაოს ამთავრებენ ფერმენტები დნმ-პოლიმერაზა I, ეკზონუკლეაზა III და დნმ-ლიგაზა, რის შედეგად წარმოიქმნება დნმ-ს რეკომბინანტული მოლეკულები.

უნდა აღინიშნოს, რომ კონექტორული მეთოდის გამოყენების დროს გამოირიცხებულია ერთი და იგივე მოლეკულის თავის თავში ჩა-



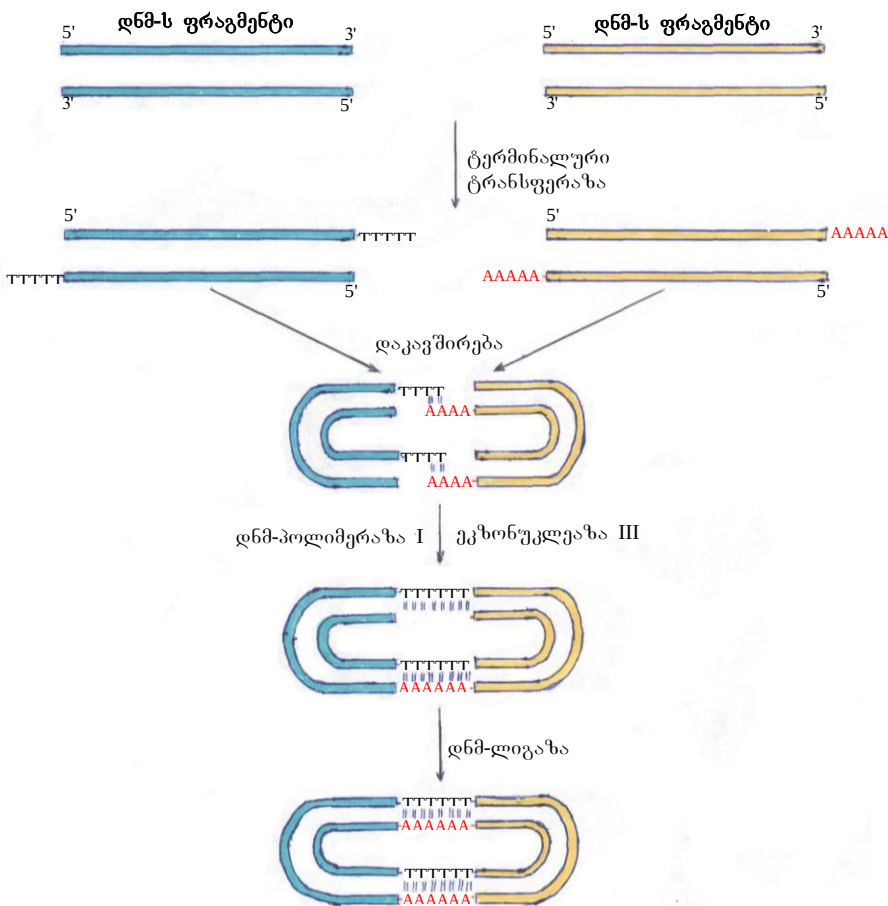
სურ. 122. ორჯაჭვიანი ადაპტორების მიღების სხვადასხვა გზები

კეტვა ან დნმ-ს ცალკეული ფრაგმენტების უფრო დიდ ფრაგმენტებად გაერთიანება.

3.4.5. ვექტორში შეყვანილი საჭირო გენის რეციპიენტის (პატრონის) უჯრედში გაღატანა

სინჯარაში (in vitro) შექმნილი (მიღებული) რეკომბინანტული დნმ-ს, ე.ი. ვექტორის შემადგენლობაში შეყვანილი გენის (გენების) ფუნქციონირებისათვის აუცილებელია მათი გაღატანა (ჩაშენება) რეციპიენტის ანუ პატრონის უჯრედებში.

რეციპიენტის უჯრედში გენის (გენების) გაღატანისათვის (ჩაშენებისათვის) არსებობს რამდენიმე ხერხი, კერძოდ, ტრანსფორმაციის,



სურ. 123. დნმ-ს ფრაგმენტების დაკავშირების კონექტორული მეთოდი

ტრანსფექციის, ვირუსებითა და ბაქტერიოფაგებით ინფექციის, პროტოპლასტების შერწყმის, ლიპოსომებისა და მიკროინექციის მეთოდები.

მაგალითად, პლასმიდური ვექტორის საფუძველზე მიღებული რეკომბინანტული დნმ რეციპიენტის უჯრედში შეჰყავთ გენეტიკური ტრანსფორმაციის მეთოდით. ტრანსფორმაცია – არის მოვლენა, რომლის დროსაც ადგილი აქვს დნმ-ს ერთი უჯრედიდან მეორე უჯრედში გადატანას. იგი პირველად აღმოაჩინა ფ. გრიფიტმა (F. Griffith)

1928 წელს.* ტრანსფორმაცია მეტად რთული პროცესია, მოიცავს რამდენიმე ეტაპს და განხორციელებისათვის საჭიროებს რიგ პირობებს: ტრანსფორმირებადი დნმ-ს და „კომპეტენტური“ უჯრედების არსებობას, ტრანსფორმირებადი დნმ-ს რეციპიენტის დნმ-ში ინტეგრაციას (ჩანერგვას) და გენების ექსპრესიას (მუშაობას).

დნმ ტრანსფორმაციისათვის ვარგისად ითვლება იმ შემთხვევაში, თუ მისი მოლეკულური მასა შეადგენს არა ნაკლებ 0.3 მლნ დალტონს, ხოლო სტრუქტურა წარმოადგენს ორჯაჭვიანს.

“კომპეტენტური” ეწოდება უჯრედებს, რომლებსაც გააჩნიათ ტრანსფორმაციის უნარი. საქმე იმაშია, რომ ყველა უჯრედს არ გააჩნია უცხო დნმ-ს მიღების უნარი. უმეტეს ბაქტერიებში უჯრედების “კომპეტენტურობა” დგება ზრდის მხოლოდ გარკვეულ ეტაპზე. წრფივი დნმ-ს ბაქტერიულ უჯრედში შეღწევის მექანიზმი** შემდეგია (სურ. 124): თავდაპირველად წრფივი დნმ ადსორბირდება ანუ “მიეწებება” უჯრედების ზედაპირზე. ეს ხდება დნმ-ს მოლეკულის ერთ-ერთი ბოლოს უჯრედის ზედაპირზე რეცეპციის*** წერტილთან კონტაქტის გზით, შემდეგ მთელი მოლეკულა ადსორბირდება უჯრედზე და სწრაფად (ერთ წამში დაახლოებით 55 ნუკლეოტიდი) შეაღწევს შიგნით. უნდა აღინიშნოს, რომ თუ როგორ ხდება დნმ-ს უჯრედის გარსზე გადატანა (ტრანსპორტი) ჯერ გარკვეული არ არის. არსებობს სხვადასხვა ჰიპოთეზა. უჯრედში შეღწევის შემდეგ დნმ იყოფა ფრაგმენტებად და ხდება ერთჯაჭვიანი. შემდეგ ადგილი აქვს დნმ-ს ფრაგმენტის უჯრედის ქრომოსომულ დნმ-თან კონტაქტს (სინაპსის)**** წყალბადური ბმების საშუალებით და ამის შემდეგ – რეკომბინაციულ პროცესს ე.ი. მონაკვეთების ურთიერთგაცვლას, რომლის შედეგად დნმ-ს ფრაგმენტი ჩაერთვება რეციპიენტის ქრომოსომაში კოვალენტური ბმების წარმოქმნით.

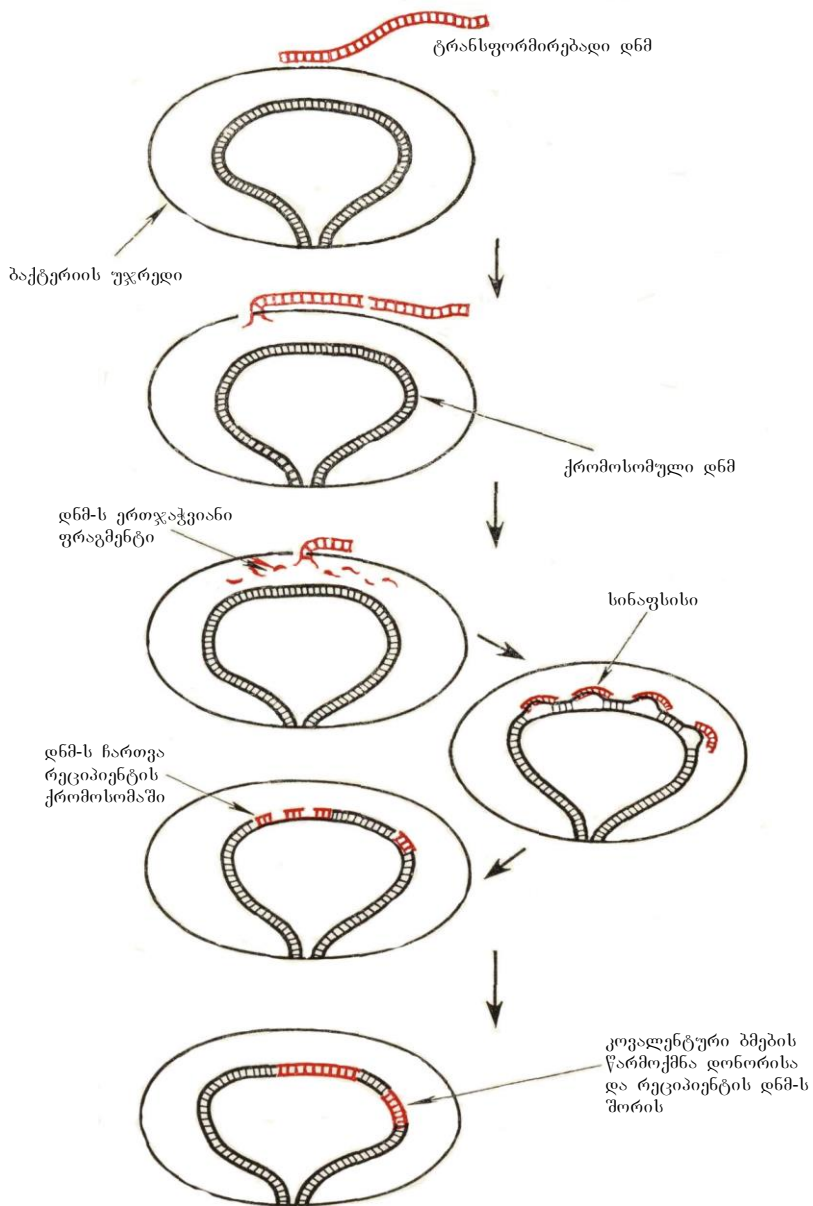
რეკომბინანტული დნმ-ს ტრანსფორმირებას ყველაზე მეტად ახდენენ ნაწლავის ჩხირის ბაქტერია Ecoli-ს უჯრედში. ამ ბაქტერიას ბუნებრივი გენეტიკური ტრანსფორმაცია არ გააჩნია. მაგრამ 1970 წელს “კომპეტენტური” უჯრედების მისაღებად დამუშავებულ იქნა კალციუმის ქლორიდის (CaCl_2) გამოყენებით დნმ-ს ბაქტერიაში შეყვანის ეფექტური მეთოდი. ამისათვის იღებენ ბაქტერია Ecoli-ს უჯრედებს ინტენსიური ზრდის ფაზაში, ათავსებენ CaCl_2 (0,05 M)-ის შემცველ ხსნარში და აყოვნებენ 0°C ტემპერატურაზე 40 წუთის განმავლობაში. უჯრედებს უმატებენ დნმ-ს და აგრძელებენ დაყოვნებას იმა-

* იხ. ნაწ. II – „მოლეკულური ბიოლოგიის საფუძვლები“, გვ. 124.

** ძირითადად ანალოგიურს წარმოადგენს პლაზმიდური დნმ-ს შეღწევის მექანიზმიც.

*** **receptio** [ლათ.] – მიღება.

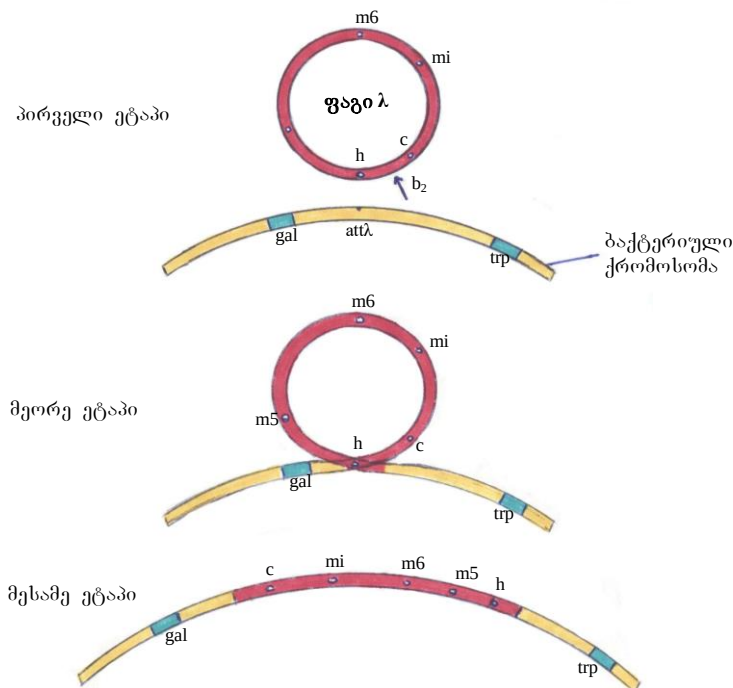
**** **სინაპსისი** – კონიუგაცია ანუ ჰომოლოგიური ქრომოსომების ერთმანეთთან დაახლოება. შემდეგ შესაძლებელია ცალკეული მონაკვეთების ურთიერთგაცვლა – კროსინგოვერი.



სურ. 124. წრფივი დნმ-ს ბაქტერიულ უჯრედში ტრანსფორმაციის პროცესის სქემა

ვე ტემპერატურაზე კიდევ დაახლოებით 30 წუთი. შემდეგ ბაქტერიები სწრაფად გადააქვთ 42°C ტემპერატურის ხსნარში და ბოლოს აყოვნებენ 10-20 წუთს.

ფაგური ან ვირუსული ვექტორების საფუძველზე მიღებული რეკომბინანტული დნმ რეციპიენტის უჯრედში შეჰყავთ **ტრანსფექციის მეთოდით**. **ტრანსფექცია** – არის ვირუსის ან ფაგის ყველა გენის გადაცემა უჯრედში. 125-ე სურათზე წარმოდგენილია ფაგური ქრომო-



სურ. 125. ფაგური ქრომოსომის ბაქტერიულ ქრომოსომაში ჩაშენება

სომის ბაქტერიულ ქრომოსომაში ჩაშენების მექანიზმი. იგი შედგება სამი ეტაპისაგან. პირველ ეტაპზე ფაგ λ-ს რგოლური ქრომოსომა ემაგრება ბაქტერიულ ქრომოსომას *attλ* წერტილთან. მეორე ეტაპზე ფაგის ქრომოსომა წყდება *h* და *c* გენებს (*b₂* უბანი) შორის, ხოლო ბაქტერიული ქრომოსომა – *gal* და *trp* გენებს შორის, რის შედეგადაც ადგილი აქვს მონაკვეთების გაცვლას და მათი ბოლოების შეერთებას. ბოლო მესამე ეტაპზე წარმოიქმნება უწყვეტი გენეტიკური სტრუქტურა, რომელიც მოიცავს ბაქტერიის რგოლურ ქრომოსომაში *gal* და *trp* გენებს შორის ჩაშენებულ ფაგ λ-ს გენომს.

ამჟამად უცხო დნმ-ს ეუკარიოტულ უჯრედებში შეყვანის ყველაზე პერსპექტიულ და მოხერხებულ მეთოდს წარმოადგენს **დნმ-ს ლიპოსომებში ჩაწობის მეთოდი**. ლიპოსომები წარმოადგენს ლიპიდების მცირე მემბრანულ ბუშტებს. რეკომბინანტული დნმ შეჰყავთ ლიპოსომებში, რომლებიც უჯრედთან კონტაქტის დროს ერწყმიან მის მემბრანას და მთელი შიგთავსი აღწევს უჯრედში. უცხო დნმ-ს რეციპიენტის უჯრედებში შეყვანის სხვა მეთოდები განხილულია ქვემოთ მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის საკითხების განხილვისას.

3.4.5.1. გენების კლონირება

გენების კლონირება – არის ვექტორში ჩაშენებული უცხო დნმ-ს ფრაგმენტების (კლონების) რეციპიენტის უჯრედებში მრავალჯერადი ასლის გადაღების (ამპლიფიკაციის) პროცესი.*

დნმ-ს კლონირებას ახდენენ, ან კვლევითი მიზნით, დნმ-ს გარკვეული ფრაგმენტების დიდი რაოდენობის პრეპარატების მისაღებად მათი გენეტიკური და ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების, აგრეთვე პირველადი სტრუქტურის შესწავლისათვის, ან პრაქტიკული მიზნით, გარკვეული გენის დიდი რაოდენობით მიღებისათვის, რათა მიღწეულ იქნას მისი გადიდებული მუშაობა (ექსპერსია) და შესაბამისად, კოდირებადი პროდუქტის მაქსიმალური სინთეზი.

კლონირების პროცედურა მოიცავს რამდენიმე ეტაპს: 1) გენების (დნმ-ს ცალკეული ფრაგმენტების) გამოყოფა; 2) დნმ-ს ცალკეული ფრაგმენტების ვექტორში “ჩაყვება” (ჰიბრიდული (რეკომბინანტული) დნმ-ს წარმოქმნა); 3) ჰიბრიდული (რეკომბინანტული) დნმ-ს (საჭირო გენის შემცველი) პატრონის უჯრედებში შეყვანა; 4) ამ გენის ასლების გადაღება ახალ პატრონში მისი ექსპერსიის (მუშაობის) უზრუნველყოფით. კლონირების საბოლოო შედეგი დიდადაა დამოკიდებული ვექტორის ტიპზე. პლაზმიდური ვექტორები უზრუნველყოფენ შეილევლი რეკომბინანტული დნმ-ს დაგროვებას როგორც თვით რეციპიენტის უჯრედში, ისე მის ყველა თაობაში.

ქლორამფენიკოლის მაღალი კონცენტრაციის ხსნარით ბაქტერიის უჯრედის დამუშავებისას ხერხდება ზოგიერთი პლაზმიდის **ამპლიფიკაცია (ასლების რიცხვის გამრავლება)**. ამ დროს ბლოკირებულია ბაქტერიული ქრომოსომის რეპლიკაცია, ხოლო პლაზმიდების რეპლიკაცია გრძელდება. ასეთი გზით შეიძლება უჯრედში 1000-3000-მდე რეკომბინანტული დნმ-ს ასლის მიღება.

* გენების კლონირებას ზოგჯერ უწოდებენ გენეტიკურ-ინჟინრული მუშაობის მთელ პროცედურას (იხ. გვ. 267).

3.4.5.2. გენების ბანკის შექმნა

გენების კლონირებასთან დაკავშირებულია გენების ბანკის შექმნა. იმისათვის, რომ შესწავლილ იქნას გენომის სტრუქტურა ან მისი ცალკეული გენები, ან იყოს ზუსტად დახასიათებული (გამოკვლეული) გენები გენეტიკური ინჟინერიისათვის, აუცილებელი ხდება დნმ-ს ფრაგმენტების ვექტორებში გადატანა ანუ ჩაშენება. **ორგანიზმის ინდივიდუალური გენების ერთობლიობას დნმ-ს ფრაგმენტების სახით გადატანილს ვექტორების შემადგენლობაში, გენების ბანკი ანუ ბიბლიოთეკა ეწოდება.**

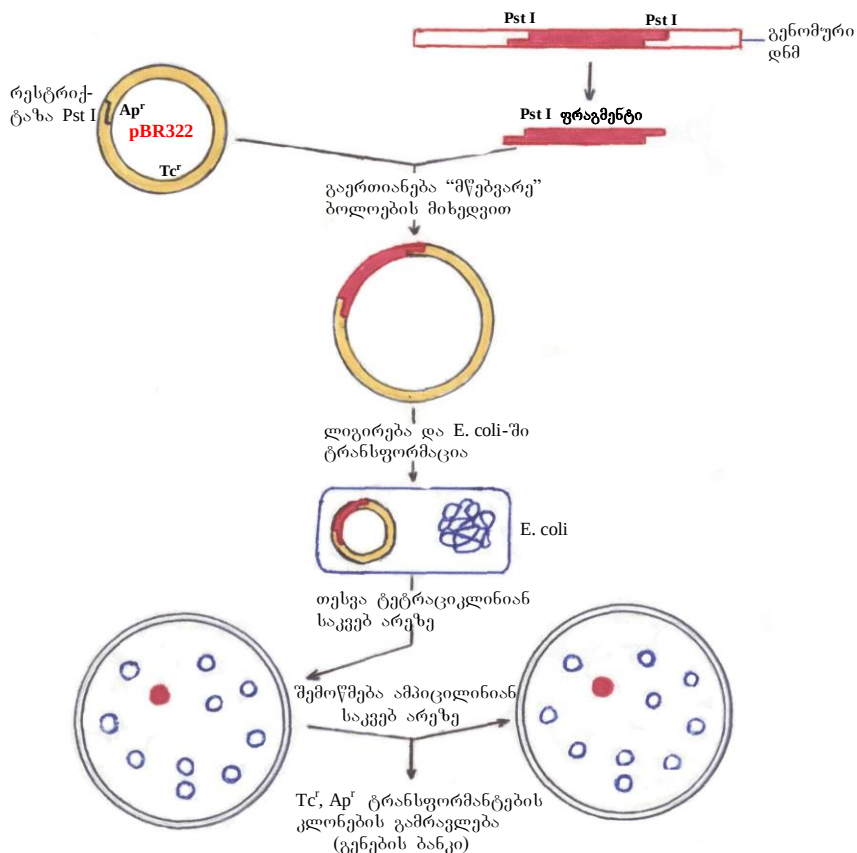
გენების ბანკის შექმნისათვის იყენებენ გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებს. თავდაპირველად ორგანიზმის უჯრედებიდან გამოჰყოფენ და ასუფთავებენ გენომურ (ბირთვულ) დნმ-ს, შემდეგ მას ყოფენ ფრაგმენტებად რესტრიქტაზების ან ჰიდროლიზამიური მეთოდების საშუალებით. უმჯობესია უკანასკნელი, რადგანაც უზრუნველყოფს დნმ-ს მოლეკულაზე წვევტის წერტილების თანაბარ განაწილებას და იძლევა ფრაგმენტების ზომის რეგულირების საშუალებას. მიღებული ფრაგმენტები ზემოთ აღწერილი ხერხებით შეჰყავთ ვექტორებში. ამ შემთხვევაში ვექტორებად ყველაზე უკეთესია კოსმიდების გამოყენება, რადგანაც ისინი ყველაზე ტევადია, ე.ი. შეუძლიათ ყველაზე დიდი ზომის დნმ-ს ფრაგმენტების ჩართვა.

რეკომბინანტული მოლეკულები შემდეგ გენეტიკური ტრანსფორმაციის მეთოდით შეჰყავთ ნაწლავის ჩხირის ბაქტერია *E.coli*-ს უჯრედებში.

გენების ბანკი შეიძლება იყოს **სრული** და **ნაწილობრივი**. რაც უფრო სრულია გენების ბანკი, მით მეტი **კლონების (დნმ-ს ფრაგმენტების)** შექმნაა საჭირო. ბუნებრივია, რომ კლონების რაოდენობა დამოკიდებული იქნება ორგანიზმის გენომის ზომაზე და ვექტორში ჩაშენებული დნმ-ს ფრაგმენტების სიდიდეზე. ამიტომ გენების ბანკის შექმნისას ცდილობენ რაც შეიძლება დიდი ზომის დნმ-ს ფრაგმენტების ჩაშენებას. ვექტორების ტევადობიდან გამომდინარე დნმ-ს ფრაგმენტების ყველაზე ოპტიმალურ ზომას წარმოადგენს 10^7 დალტონი.

მაგალითად, გამოანგარიშებულია, რომ ნაწლავის ჩხირის ბაქტერია *E.coli*-სათვის გენების სრული ბანკის მიღებისათვის საჭირო კლონების (დნმ-ს ფრაგმენტების) რაოდენობა უნდა იყოს ~80, დროზოფილასათვის – ~30 ათასი, ხოლო ბოცვრისათვის – 600 ათასი.

გენების პირველი ბანკი მიღებულ იქნა 1976 წელს **ლ. კლარკისა (L. Clark)** და **ჯ. კარბონის (J. Carbon)** მიერ ნაწლავის ჩხირის ბაქტერიისათვის. ამჟამად ეს სამუშაო ტარდება ორგანიზმების ყველა სახეობისათვის. 126-ე სურათზე ნაჩვენებია გენების ბანკის შექმნის ზოგადი სქემა პლაზმიდა pBr322-ის საფუძველზე.



სურ.126. გენების ბანკის შექმნის ზოგადი სქემა პლასმიდა pBR322-ის საფუძველზე

გენების ბანკი ანუ ბიბლიოთეკა წარმოადგენს ორგანიზმში გენებისა და ცილების რეგულაციის, სტრუქტურისა და ფუნქციონირების შესწავლისათვის საჭირო მასალის წყაროს. ისინი ასევე შეიძლება გამოყენებულ იქნას გადაშენების პირას მისული სახეობების გენოფონდის შენარჩუნებისათვის, და რა თქმა უნდა, გენეტიკურ ინჟინერიაში და ბიოტექნოლოგიაში გამოყენებული ახალი გენეტიკური სტრუქტურების კონსტრუირებისათვის.

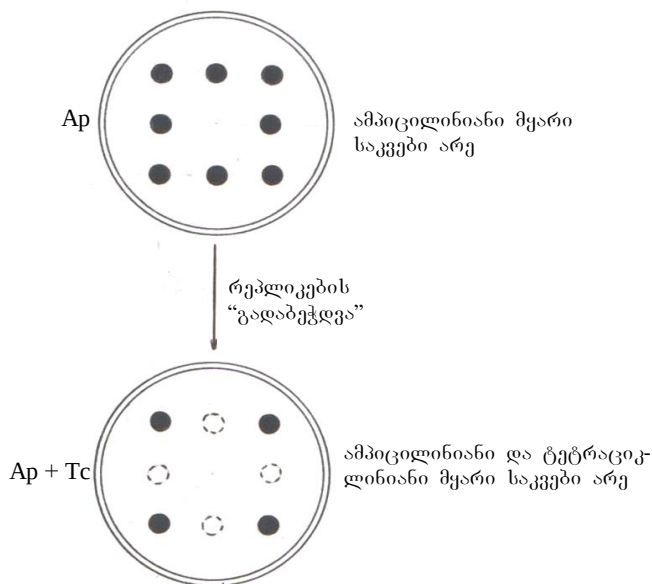
3.4.6. საჭირო გენის მატარებელი უჯრედების გამოორჩევა (სკრინინგი*)

ამ ეტაპის აუცილებლობა განპირობებულია რამდენიმე მიზეზით. მთავარს მათ შორის წარმოადგენს ის, რომ ტრანსფორმაციის, ტრანსფექციის, პროტოპლასტების შერწყმის და უჯრედში გენის (გენების) შეყვანის სხვა მეთოდების გამოყენებისას უჯრედების მხოლოდ მცირე რაოდენობაში ნამდვილად ხვდება (გადადის) რეკომბინანტული დნმ. რეკომბინანტული დნმ-ს მატარებელი უჯრედების გამოორჩევის ყველაზე მარტივი მეთოდი დაფუძნებულია ვექტორის შემადგენლობაში შემაჯავლი მარკირებადი გენების გამოყენებაზე. როგორც აღნიშნული იყო, პლაზმიდურ ვექტორებს მარკერის სახით გააჩნიათ გენები, რომლებიც განსაზღვრავენ ბაქტერიის გამძლეობას რამდენიმე ანტიბიოტიკისადმი (ამპიცილინი, ტეტრაციკლინი და სხვა). ამასთან ვექტორების მონაკვეთები, რომლებშიც ერთვება უცხო დნმ (გენი), ე.ი. რესტრიქციის საიტები, განლაგებულია ერთ-ერთ ასეთ გენში. რეკომბინანტული დნმ-ს წარმოქმნა იწვევს ანტიბიოტიკისადმი გამძლეობის კონკრეტული გენის ფუნქციონირების გამორთვას. მაგალითად, რეციპიენტის უჯრედებიდან, პლაზმიდა pBR322-ში არსებული (შეყვანილი) რეკომბინანტული დნმ-ს მატარებელი უჯრედების გამოორჩევისათვის, მათ თესავენ ამპიცილინიან და ტეტრაციკლინიან მყარ საკვებ არეებზე. თუ „მწებვარე“ ბოლოების წარმოქმნისათვის გამოყენებული იყო რესტრიქტაზა BamH1, რომელიც ტეტრაციკლინისადმი გამძლეობის გენის ინაქტივირებას ახდენს, რეკომბინანტული დნმ-ს მატარებელი ბაქტერიის უჯრედები კოლონიას იძლევიან მხოლოდ ამპიცილინიან საკვებ არეზე (სურ. 127). უჯრედები, რომლებიც შეიცავენ მხოლოდ ვექტორის (უცხო გენის გარეშე) მოლეკულებს, იზრდებიან ორივე ანტიბიოტიკის (ამპიცილინის და ტეტრაციკლინის) მონაწილეობით. უვექტორო უჯრედები, ისე როგორც ვექტორის გარეშე უცხო გენის შემცველი უჯრედები, საერთოდ არ იზრდება ამ საკვებ არეებზე.

რეკომბინანტული დნმ-ს მატარებელი უჯრედების გამოორჩევის მეორე მეთოდს – **in situ** ჰიბრიდიზაციის მეთოდს** იყენებენ მარკირებადი გენების უქონლობისას იმ შემთხვევაში, როცა საჭირო გენი მიღებულია მ-რნმ-ს მატრიცაზე ფერმენტ უკუტრანსკრიპტაზას საშუალებით. ამ დროს რეციპიენტის უჯრედების (ბაქტერიების) კოლონიებს ზრდიან მყარი საკვები არის ზედაპირზე მოთავსებულ ნიტროცელულოზის ფილტრებზე და მათგან აკეთებენ ასლს, ფილტრის ახალ საკვებ არეზე „გადაბეჭდვით.“ ამის შემდეგ ახდენენ ფილტრზე დარ-

* **skringing** [ინგლ] – გაცრა, გაცხრილვა.

** ლათ. – ადგილში, ადგილმდებარეობაში.



სურ. 127. რეკომბინანტული დნმ-ს მატარებელი უჯრედების გამორჩევა

(პუნქტირული რგოლებით აღნიშნულია ზედა პეტრის ჯამში რეკომბინანტული დნმ-ს მატარებელი ბაქტერიების კოლონიების განლაგების ადგილები)

ჩენილი კოლონიების უჯრედების ლიზის ტუტის საშუალებით, ლიზირებული უჯრედებიდან გამოყოფილი დნმ-ს გაცხელებით დენატურირებასა და ფილტრზე ფიქსირებას. ბოლოს, ამ ფილტრზე გადააქვთ უჯრედში შეყვანილი გენის კომპლემენტური მ-რნმ-ს რადიოაქტიური პრეპარატი და ახდენენ ჰიბრიდიზაციას დენატურირებულ დნმ-თან. ზედმეტი არაკომპლემენტური მ-რნმ ჩამოირეცხება. ფილტრზე **რნმ-დნმ-ჰიბრიდების** არსებობა, რომელიც მიუთითებს გენეტიკურად შეცვლილი უჯრედების არსებობასა და განლაგების ადგილზე, დგინდება რადიოავტოგრაფიის საშუალებით ფოტომულსის გაშავების მიხედვით.

ამჟამად დამუშავებულია სხვა მეთოდებიც, კერძოდ, **იმუნოლოგიური, იმუნოფერმენტული**, რომლებიც საჭირო გენის მატარებელი უჯრედების ეფექტური გამორჩევის საშუალებას იძლევა.

3.4.7. გადატანილი უცხო (საჭირო) გენის ექსპრესია (მუშაობა)

რეციპიენტის უჯრედის გენოტიპის სტაბილურ ცვლილებას, გამოწვეულს მასში გადატანილი უცხო დნმ-ს მატარებელი რეკომბინანტული დნმ-ით, ყოველთვის არ ახლავს ფენოტიპის შესაბამისი ცვლილება (გამოვლენა). ეს დაკავშირებულია **გადატანილი გენის ექსპრესიასთან (მუშაობასთან)**. გენების ექსპრესიის საფუძველს წარმოადგენს გენეტიკური ინფორმაციის უცხო დნმ-დან ცილებში გადატანა, რომელიც ხორციელდება ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის გზით. ტრანსკრიპცია ანუ დნმ-ს მატრიცაზე რნმ-ს სინთეზის პროცესი, როგორც ცნობილია, დამოკიდებულია ფერმენტ რნმ-პოლიმერაზასა და რეგულატორულ მონაკვეთ – პრომოტორის ნათესაობაზე, ხოლო ტრანსლაცია ანუ რიბოსომებში მიმდინარე მ-რნმ-ს მატრიცაზე ცილის სინთეზის პროცესი დამოკიდებულია მ-რნმ-ს სტაბილურობაზე და მისი რიბოსომებთან დაკავშირების უნარზე. მაშასადამე, რეციპიენტის უჯრედების ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის სისტემის გენების ექსპრესიისათვის “ცნობილი” უნდა იქნას შეყვანილი გენებისა და ვექტორების რეგულატორული მონაკვეთების (პრომოტორები, რიბოსომასთან დაკავშირების საიტები და ტრანსკრიპციის ტერმინატორები) ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობები. გენების ექსპრესია ყველაზე კარგად ხორციელდება მათი ახლონათესაურ ორგანიზმებში გადატანისას, რადგანაც ამ დროს არ არსებობს სხვაობა დონორისა და რეციპიენტის უჯრედების ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის სისტემებს შორის. მაგრამ ჰეტეროლოგიურ* უჯრედებში (ეუკარიოტები→პროკარიოტები) გენების ექსპრესია, როგორც წესი არ ხდება. ცნობილია ამის რამდენიმე მიზეზი:

1. არსებობს მკვეთრი განსხვავება პრო- და ეუკარიოტული გენების პრომოტორული მონაკვეთების პირველად სტრუქტურას შორის, რის გამოც ჰეტეროლოგიურ რნმ-პოლიმერაზას არ გააჩნია ტრანსკრიპციის სასტარტო წერტილის მოძებნის უნარი. ასეთი წინააღმდეგობის დაძლევისათვის: ა) ახდენენ რეგულატორული უბნის ქიმიური სინთეზის გზით მიღებული საჭირო რეგულატორული უბნით *in vitro* პირობებში ხელოვნურ შეცვლას; ბ) რეციპიენტის ერთ-ერთი ოპერონის სტრუქტურულ ნაწილში შეჰყავთ უცხო გენი. გარდა ამისა, ჰეტეროლოგიურ უჯრედებში გენების ექსპრესიისათვის აუცილებელია აგრეთვე უცხო გენებისათვის რეციპიენტის უჯრედის რიბოსომასთან დაკავშირების საიტების და ტრანსკრიპციის ტერმინატორების მიერთება.

2. ეუკარიოტულ გენებში არატრანსლირებადი მონაკვეთების

* ჰეტერო [ბერძნ. heteros] – სხვა.

(უბნების) ანუ ინტრონების არსებობა. ბაქტერიის უჯრედებს, რომლებშიც არ არის წინ-მ-რნმ-ს სპლაისინგის სისტემა, არ შეუძლია ფუნქციონალურად აქტიური ეუკარიოტული ცილების სინთეზი. იმისათვის, რომ გადაილახოს ეს ბუნებრივი ბარიერი, აუცილებელია შესაბამისი გენებიდან ინტრონების მოცილება. ყველაზე მარტივად ეს მიიღწევა ეუკარიოტული მ-რნმ-ს უკუტრანსკრიპციით, ე.ი. როცა გენის ასლს ღებულობენ უკვე სპლაისინგის გავლის შემდეგ.

3. უცხო უჯრედში მ-რნმ-ს არასაკმარისი სტაბილურობა. მ-რნმ-ს გაძლიერებული ფერმენტული დეგრადაციის გამო მასზე სინთეზირებული ცილების რაოდენობა შეიძლება ძალიან ძლიერ შემცირდეს.

4. რეციპიენტის უჯრედში უცხო ცილების პროტეოლიტური* დაშლა. ეს გარემოება განსაკუთრებით დიდ მნიშვნელობას იძენს ბაქტერიულ უჯრედში მოკლე პოლიპეპტიდური ჰორმონების სინთეზის დროს.

5. სინთეზირებული ცილის უცხო უჯრედიდან ტრანსპორტირების უქონლობა. ეს გართულება ხდება ძირითადად ისეთი ცილების სინთეზის დროს, რომლებიც ჩვეულებრივ არ სეკრეტირდებიან** უჯრედებიდან და მათი გენები არ აკოდირებენ ტრანსმემბრანული გადატანისათვის აუცილებელი ამინომჟავების განსაკუთრებულ სასიგნალო თანმიმდევრობებს. ასეთი გენების სეკრეტირებადი ცილის ოპერონის შიგნით ჩაშენებისას შესაძლებელი ხდება შემადგენელი პოლიპეპტიდის სინთეზი. ამ დროს აუცილებელ ცილას ღებულობენ სპეციფიკური პროტეინაზას საშუალებით, რომლებიც მისგან აცილებენ ზედმეტ ამინომჟავურ ნაშთებს.

6. ბაქტერიის უჯრედებში ცილების სპეციფიკური პოსტრანსლაციური მოდიფიკაციების უქონლობა.

ჰეტეროლოგიურ სისტემებში გენების ექსპრესიის აქ განხილული დაბრკოლებები ძირითადად ეხება ექსპრემენტებს, რომელთა დროსაც გენების გადატანა ხდება უმაღლესი ორგანიზმებიდან ბაქტერიის უჯრედებში. ჩამოთვლილი სირთულეების უმეტესობა აცილებულია უმაღლესი ეუკარიოტების – საფუარების უჯრედების გამოყენებისას. ამიტომ მომავალში საფუარები გენეტიკური ინჟინერიის ყველაზე გავრცელებული ობიექტი გახდება. უნდა აღინიშნოს, რომ გენეტიკურ ინჟინერიაში ყველაზე გავრცელებული ობიექტი ბაქტერია *E.coli* მთლიანად ვერ პასუხობს ყველა მოთხოვნებს (შეიცავს ძნელად მოსაცილებელ ენდოტოქსინს). ვარაუდობენ, რომ ბიოტექნოლოგიის მიზნებისათვის ყველაზე შესაფერისი წარმოადგენს *Bacillus subtilis*. გენეტიკური თვისებების შესწავლის შემდეგ ალბათ იგი მთლიანად შეცვლის ბაქტერია *E.coli*-ს.

* ცილების ჰიდროლიზი პროტეაზებით.

** სეკრეცია – უჯრედის მიერ გარკვეული ნივთიერებების გამოშვება და გამოყოფა.

3.5. მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის ისტორია, მნიშვნელობა, ამოცანები და პრობლემები

3.5.1. მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის ისტორია და მნიშვნელობა

მცენარეთა გენეტიკურმა ინჟინერიამ განვითარება გაცილებით გვიან დაიწყო, ვიდრე ცხოველების და მით უმეტეს, ბაქტერიების. ამის ძირითადი მიზეზი მცენარეების მოლეკულურ, ბიოქიმიურ და გენეტიკურ დონეზე უფრო სუსტი შესწავლა და აღნიშნული ორგანიზმების გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებთან შედარებით მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდების უფრო მეტი სირთულეა.

მცენარეში უცხო გენების გადატანის პირველი ექსპერიმენტები თარიღდება 1980 წლით, ე.ი. მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის ისტორია ითვლის რამოდენიმე ათეულ წელს. გენეტიკურ-ინჟინერული სამუშაოები მცენარეებში ჯერ კიდევ მნიშვნელოვანწილად იმყოფება ძიების სტადიაში და სანამ დამუშავებული მეთოდური ხერხები შევა წინასწარდასახული ნიშნების მქონე მცენარეების ექსპერიმენტური კონსტრუირების პრაქტიკაში, საჭიროა ჯერ კიდევ ბევრი ტექნიკური სირთულის გადალახვა და რიგი ფუნდამენტური პრობლემების გადაწყვეტა. თუმცა საბოლოო შედეგი ამ ძალისხმევის ღირსია. მით უმეტეს, ამ დარგში მოკლე პერიოდში მიღწეულ წარმატებებს გააჩნია უდიდესი მეცნიერული და პრაქტიკული მნიშვნელობა და ისინი მეტად შთამბეჭდავია.

პირველი ტრანსგენური მცენარეები, ე.ი. მცენარეები, რომელთა გენომში მუშაობს სხვადასხვა წარმოშობის უცხო გენები, მათ შორის ბაქტერიების, საფუარების, ძუძუმწოვრების, ადამიანის, ევოლუციურად შორეულ (არანათესაურ) მცენარეთა სახეობების, მოწმობენ ბიოტექნოლოგიის ამ მეთოდის დიდ შესაძლებლობებზე.

ამჟამად მთლიანად გადაწყვეტილია საკითხი, თუ როგორ იქნას გადატანილი უცხო გენები მცენარეებში და როგორ მოხდეს მათი ექსპერსია. ტარდება სამუშაოები რამდენიმე მცენარეზე დამუშავებული მეთოდური ხერხების ყველა მნიშვნელოვან სასოფლო-სამეურნეო კულტურაში, პირველ რიგში ერთლებნიანებში, გავრცელებისა და ახალი ძვირფასი ნიშნების მაკონტროლებელი გენების იდენტიფიკაციისა და კლონირების საქმეში.

მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდებით მცენარეთა სამეურნეო ნიშნების გაუმჯობესების მიზნით პირველი დადებითი შედეგები მიღებულ იქნა 1983 წელს.* ამ წელს პარკოსნების (ღობიოს) სამარაგო ცილა – ფაზეოლინის გენის მზესუმზირას გენომში გადა-

* ეს წელი ითვლება მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის დაბადების წლად.

ტანის შედგენად მიღებულ იქნა მსოფლიოში პირველი უნიკალური მცენარე **“სანბინი” (“Sunbeen”)***.

უკანასკნელ წლებში მიღებულ იქნა ტრანსგენური მცენარეები, რომლებიც ხასიათდებიან ჰერბიციდებისადმი, მავნებლებისადმი და სხვათა მიმართ გამძლეობით.

მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის მნიშვნელობაზე და შესაძლებლობებზე შეიძლება მოხდეს მსჯელობა შემდეგი მაგალითით. მცენარეთა კლასიკურ სელექციას გააჩნია ერთი ძირითადი შეზღუდვა – ის დამოკიდებულია შესაჯვარებელი მცენარეების სქესობრივ შეთავსებაზე. ამიტომ წარმატებული შეჯვარებები შესაძლებელია მხოლოდ სახეობის ფარგლებში. ამ შეზღუდვებში არის აშკარა უარყოფითი მხარე და იგი პირველ რიგში უშუალოდ ეხება ადამიანის კვების პრობლემებს.

როგორც ცნობილია ადამიანის ორგანიზმში უნდა იყოს 10 შეუცვლელი** ამინომჟავა (ფენილალანინი, ლეიცინი, ვალინი, მეთიონინი, ცისტეინი, ტრეონინი, ტრიპტოფანი, ლიზინი და სხვა). ისინი ორგანიზმში შედიან გარედან – საკვების ცილებიდან. დანარჩენი ამინომჟავა – შესაცვლელი ამინომჟავა (სერინი, პროლინი, ალანინი და სხვა) მიიღება ადამიანის ორგანიზმის მიერ წარმოებული მეტაბოლიტებისაგან. მაგრამ მარტო ამ შეუცვლელი ამინომჟავების არსებობა საკვებში არაა საკმარისი. აუცილებელია ისინი წარმოადგენილი იყვნენ თანაბარი პროპორციით.

ადამიანისათვის აუცილებელია ყოველდღიურად დაახლოებით 30 გრამი მაღალხარისხოვანი ბალანსირებული ცილის (მაგ. კვერცხის ან ხორცის) მიღება. მცენარეული ცილა კი, მაგალითად ხორბლის, მცირე რაოდენობით შეიცავს ზოგიერთ შეუცვლელ ამინომჟავას, კერძოდ ლიზინს. ამის შედეგად შეზღუდულია ყველა სხვა შეუცვლელი ამინომჟავას გამოყენება. ასე, გაანგარიშებულია, რომ 30 გრ ხორბლის ცილა კალორიულობის მიხედვით ექვივალენტურია მხოლოდ 12-13 გრ მაღალხარისხოვანი – ბალანსირებული ცხოველური ცილის.

ანალოგიური ამინომჟავური დეფიციტი დამახასიათებელია მცენარეთა სხვა სახეობებისათვისაც, განსხვავება მხოლოდ მათ სახეებშია. მაგალითად, პარკოსნების ცილა მდიდარია ლიზინით, მაგრამ მასში მცირე რაოდენობითაა გოგირდშემცველი ამინომჟავები – მეთიონინი და ცისტეინი. ამიტომ პარკოსნების 30 გრამი ექვივალენტურია მხოლოდ 14 გრამი მაღალხარისხოვანი – ბალანსირებული ცხოველური ცილის. აქედან გამომდინარე, სხვადასხვა წარმოშობის ცილების ერთმანეთში შერევით ადამიანი წვეტს ამინომჟავური შედგენილო-

* sunbeen [ინგლ.] – sunflower (მზესუმზირა) + been (პარკოსნები). აღნიშნული მცენარე წარმოადგენს მზესუმზირას, რომლის გენომში მუშაობს პარკოსნების გენი.

** შეუცვლელი პქვია იმიტომ, რომ მათი არსებობა საკვებში აუცილებელია და მათ გარეშე ხდება მთელი რიგი ფუნქციების დარღვევა.

ბის მიხედვით სრულფასოვანი კვების პრობლემას. მაგალითად, კარგ კომბინაციას წარმოადგენს ხორბლის ცილის პარკოსნების ცილასთან შერევა, რადგანაც ისინი ერთმანეთს ავსებენ. 15 გრ ხორბლის ცილისა და 15 გრ პარკოსნების ცილის ნარევი ჯამში იძლევა 30 გრ კვებისათვის მაღალხარისხოვან – ბალანსირებულ ცილას.

მზესუმზირას სამარაგო ცილები ანალოგიურია ხორბლის სამარაგო ცილების – ორივე მცირე რაოდენობით შეიცავს ლიზინს. ამიტომ პარკოსნების სამარაგო ცილების მაკოდირებელი გენების გადატანამ მზესუმზირაში, ე.ი. მაღალხარისხოვანი ცილების მასინთეზირებელი უნიკალური მცენარე “სანბინის” მიღებამ, ჩასახა იმედი, რომ ფუნდამენტური პრობლემის გადაწყვეტასთან ერთად მცენარეში ახალი გენების შეყვანის გზების დამუშავებისას, გადაწყვეტილ იქნება ეკონომიკური და კვებითი ღირებულების თვალსაზრისით გაუმჯობესებული ნიშნების მქონე (ამ შემთხვევაში ამინომჟავური შედგენილობის მიხედვით ბალანსირებული) მცენარეების მიღების ამოცანებიც.

რა თქმა უნდა, გენეტიკური ინჟინერია არ უნდა იქნას განხილული, როგორც ყოვლისშემძლე – სოფლის მეურნეობის წინაშე მდგარი ყველა პრობლემის გადამწყვეტი. მაგრამ მთელი სიმტკიცით შეიძლება ითქვას, რომ ბიოტექნოლოგიის ამ მძლავრად განვითარებად მეთოდს განხია უდიდესი პერსპექტივები სოფლის მეურნეობაში.

3.5.2. მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის ამოცანები და პრობლემები

მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის ფუნდამენტური ამოცანები იგივეა რაც მცენარეთა ტრადიციული სელექციის: მაღალი და მყარი მოსავლიანობის, მოსავლის მაღალი ხარისხის, არახელსაყრელი გარემო პირობებისადმი გამძლეობის, დაავადებებისა და მავნებლებისადმი იმუნიტეტის, მედიცინაში, პარფიუმერიაში და კვების მრეწველობაში აუცილებელი ნივთიერებების მაქსიმალური დაგროვების უნარის და სხვა სასარგებლო ნიშან-თვისებების მქონე მცენარეების კონსტრუირება.

მცენარე გენეტიკური ინჟინერიის კვლევის ობიექტი გახდა არც თუ ისე დიდი ხნის წინათ. ამის ერთ-ერთ მიზეზს წარმოადგენს მრავალი წლის განმავლობაში მცენარეებში ისეთი მოლეკულური ობიექტის უქონლობა, როგორიცაა მაგალითად ხილის ბუჩი დროზოფილა. ბუნებრივია, ამან გააღებინა იქონია მცენარეთა მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევების ტემპებზე. უკანასკნელ წლებში მცენარეებში დროზოფილას როლის რეალურ კანდიდატს წარმოადგენს ორლებნიანი მცენარე **არაბიდოპსისი**. მეცნიერების ინტერესი ამ მცენარისადმი აიხსნება იმით, რომ იგი ხასიათდება გენერაციის ძალიან მოკლე ციკლით,

გენომის მცირე ზომით (ბაქტერიული გენომის სულ რამდენიმე მეათედ) და გენების კლონირების სიადვილით.

მცენარეებთან მუშაობას გააჩნია ერთი საკმაოდ მნიშვნელოვანი უპირატესობა – ისინი შეიძლება რეგენირებული იქნან ზრდასრულ, გამრავლების უნარის მქონე (ფერტილურ) მცენარეებად არადიფერენცირებული უჯრედული მასიდან ე.ი. კალუსიდან, ან იზოლირებული უჯრედებიდან და ქსოვილებიდან. ამის გამო მეცნიერების წინაშე იშლება დიდი შესაძლებლობები მთელ ორგანიზმში შეყვანილი გენების შესასწავლად. ამასთან კულტივირებადი მცენარეების სასოფლო-სამეურნეო მაჩვენებლების გაუმჯობესების მიზნით შესაძლებელია გენეტიკური ინჟინერიის ახალი მეთოდების შეთავსება სელექციის კლასიკურ მეთოდებთან.

მაგრამ ჰიბრიდული დნმ-ს ახალი ტექნოლოგიის გამოყენების გზაზე იქმნება სერიოზული წინააღმდეგობა – მცენარის განვითარების პროცესში გენების მუშაობის რეგულაციაზე საფუძვლიანი ცოდნის უქონლობა. მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის შემდგომი პროდუქტიული განვითარებისათვის აუცილებელია ფუნდამენტური გამოკვლევები მოლეკულურ, უჯრედულ და ორგანულ დონეზე, კერძოდ, ბიოქიმიაში, ფიზიოლოგიაში და მცენარეთა განვითარების ბიოლოგიაში.

წინა თავებში განხილული იყო გენეტიკური ინჟინერიის ძირითადი პრინციპები. ქვემოთ განიხილება მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის ძირითადი პრინციპები.

უპირველეს ყოვლისა საჭიროა დაზუსტდეს თუ რას მოიცავს ცნება **“მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერია.”** ზოგიერთი მკვლევარი ამ ცნებიდან გამორიცხავს უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურას და მხედველობაში აქვს მხოლოდ უცხო დნმ-ს გამოყოფა, მცენარის უჯრედში შეყვანა და ექსპრესია (მუშაობა). სხვები მცენარეთა გენეტიკურ ინჟინერიას განმარტავს უბრალოდ როგორც გენების შეყვანას მცენარეში. ეს განმარტება საკმაოდ ზუსტია, მაგრამ მეტად ვიწრო.

უფრო ფართო წარმოდგენა **“მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის”** ცნებაზე მოიცავს სამუშაოებს უჯრედულ დონეზე და ითვალისწინებს უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურის, მოლეკულური ბიოლოგიისა და გენეტიკური მასალის გადატანის ყველა ასპექტს.

სქესობრივი შეჯვარების გზით გენეტიკური მასალის გადატანის ჩვეულებრივ ადგილი აქვს შეჭიდული გენების მთელი ბლოკების (კლასტერის) შეცვლას. გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდები კი ცალკეული გენების გადატანის საშუალებას იძლევა. მცენარეების გაუმჯობესებაში მაქსიმალური წარმატებების მოპოვებისათვის აუცილებელია გენეტიკური ფაქტორების, კერძოდ რთულ პოლიგენურ ნიშნებზე პასუხისმგებელი ფაქტორების კომბინაციების გადატანის მიღწევა.

ვარაუდობენ, რომ უმეტესი ძირითადი პროდუქტი მცენარის უჯრედებში კოდირებულია რამდენიმე გენით (მულტიგენური ოჯახებით). ამასთან, ხშირად ძნელია იმის დადგენა, თუ როგორ მუშაობს ამ მულტიგენური ოჯახის თითოეული გენი. შეიძლება თუ არა ამ ოჯახიდან, მაგალითად სამარაგო ცილების გენების ოჯახიდან, მხოლოდ ერთი გენის შეცვლა? ჯერჯერობით ეს დაკავშირებულია დიდ სირთულეებთან, მაგრამ უკვე ახლა მკვლევარს შეუძლია ერთი მცენარის გარკვეული სამარაგო ცილების მაკოდირებელი ცალკეული გენების მეორე, არამონათესავე მცენარეში მუშაობის (ექსპრესიის) მიღწევა.

ჰიბრიდის მემკვიდრულ აპარატში საწყისი მცენარეების ნიშნები ფიქსირდება შემთხვევითი წესით, რაც სელექციონერს აიძულებს ჩაატაროს ერთდროულად მრავალრიცხოვანი შეჯვარებები და გამოარჩიოს უფრო პერსპექტიული მცენარე. ეს სამუშაო საჭიროებს ათწლეულებს. პრინციპში გენეტიკური ინჟინერიის სპეციალისტებიც იმავე გზით მიდიან. მაგრამ ამ დროს გამოირიცხულია შემთხვევითობები შესაქმნელი მცენარეების გენეტიკურად ახალ კომბინაციებში, რაც სელექციის კონკრეტული პროგრამის შესაბამისი გარკვეული გენის მცენარეში მიზანმიმართული შეყვანით ხორციელდება.

იმისათვის, რომ გამოირიცხოს გენების შემთხვევითი კომბინაციები, აუცილებელია მცენარის კონსტრუირების დროს გადაწყდეს სამი ძირითადი ამოცანა: 1) სასურველი ნიშნის მიღებაზე პასუხისმგებელი კონკრეტული გენის დადგენა და გამოყოფა, 2) ამ გენის მცენარის უჯრედის მემკვიდრულ აპარატში ჩართვის მეთოდების დამუშავება, 3) შეცვლილი გენომის მქონე ცალკეული უჯრედებიდან სრულფასოვანი მცენარის რეგენერაცია.

ამრიგად, მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის მეთოდები მიმართულია მცენარეებში სასურველი ნიშან-თვისებების მიღებისაკენ მათში შესაბამისი გენების პირდაპირი შეყვანის გზით, ნაცვლად მრავალრიცხოვან შეჯვარებებში ხანგრძლივი მუშაობისა ტრადიციული სელექციის დროს.

გენეტიკური ინჟინერიის ძირითადი პრინციპი მდგომარეობს გენებით მანიპულაციაში, რათა მიღწეულ იქნას გენის გადიდებული მუშაობა (ექსპრესია) კოდირებული პროდუქტის დიდი რაოდენობით მიღების მიზნით. ეს პრინციპი ხორციელდება გენების კლონირების საშუალებით. კლონირების პროცედურა, როგორც ზემოთ იყო ნათქვამი, მოიცავს რამდენიმე ეტაპს: 1) საჭირო გენების (დნმ-ს ცალკეული ფრაგმენტების) გამოყოფა რესტრიქტაზების საშუალებით, 2) ნებისმიერი წარმოშობის დნმ-ს ცალკეული ფრაგმენტების პლასმიდის (ვექტორის) შემადგენლობაში ერთიან მოლეკულად “შეკერვა” ლიგაზების საშუალებით, 3) საჭირო გენის შემცველი ჰიბრიდული პლასმიდური (ვექტორული) დნმ-ს შეყვანა პატრონის უჯრედებში, 4) ამ გენის ასლის გადაღება ახალ პატრონში მისი ექსპრესიის (მუშაობის) უზ-

რუნგელყოფით.

მცენარის გენებთან მანიპულაციის მეთოდების განვითარებაში არსებითი ნახტომი იყო მცენარის უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურის მეთოდების დამუშავება. ახალი მიდგომების უმეტესობა ეფუძნება მცენარის უნიკალურ თვისებას – **ტოტიპოტენტურობას**, ანუ ცალკეული მცენარეული უჯრედის უნარს, უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში გამოზრდისას მიღებულ იქნას მთლიანი მცენარე.*

დნმ-ს მცენარის უჯრედებში შეყვანისას ძირითად დაბრკოლებას წარმოადგენს უჯრედის გარსი. მაგრამ იგი შეიძლება გადალახულ იქნას მცენარის პროტოპლასტების, ე.ი. მცენარის ერთი რომელიმე კონკრეტული ნაწილიდან (მაგ. ფოთლიდან) აღებული, ცელულოზური ფერმენტებით დამუშავების გზით გარსმოცილებული ცალკეული მცენარის უჯრედების გამოყენებით. საკვებ არეში პროტოპლასტები ინარჩუნებენ სიცოცხლისუნარიანობას და კულტივირების გარკვეულ პირობებში წარმოქმნიან ახალ უჯრედულ გარსს და იყოფიან.**

უჯრედული ინჟინერიის მეთოდების დამუშავებაში მნიშვნელოვანი პროგრესი მიღწეულ იქნა მას შემდეგ რაც პირველად შემოთავაზებულ იქნა პროტოპლასტების შერწყმის მეთოდი. სომატური ჰიბრიდიზაციის დროს, როცა ერთმანეთს ერწყმის სხვადასხვა ნიშნის მქონე უჯრედების პროტოპლასტები, ბირთვულ და ციტოპლაზმატურ გენომურ ურთიერთმოქმედებებს შეუძლიათ გამოიწვიონ სომატურად ჰიბრიდული უჯრედებიდან მცენარეთა ახალი სახეობების წარმოშობა.***

უკანასკნელ წლებში დამუშავებული და გადაწყვეტილი იქნა ახალი მეთოდური ხერხები და გენეტიკური ინჟინერიის განვითარების პირველ ეტაპზე წარმოშობილი მრავალი ამოცანა.

ამიტომ, ამჟამად წინა პლანზე დგება მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის ორი ძირითადი პრობლემა. **პირველი – ახალი სასარგებლო ნიშან-თვისებების შეძენის მიზნით მცენარეებში გადასატანი გენების იდენტიფიკაცია და გამოყოფა. მეორე – უცხო გენების გადატანის (მცენარეებში მათი შემდგომი ექსპრესიით) მარტივი და ხელმისაწვდომი მეთოდების დამუშავება.**

ამრიგად, მკვლევარების ძირითადი ძალისხმევა მცენარეთა გენეტიკურ ინჟინერიაში მიმართულია იქითკენ, თუ რა და როგორ იქნას გადატანილი მცენარის გენომში. ამ ამოცანების გადაწყვეტაზე

* ტოტიპოტენტურობის შესახებ დაწვრილებითი ინფორმაცია იხილეთ IV ნაწილში – “უჯრედული ინჟინერია.”

**ყველა საკითხი, რომელიც ეხება პროტოპლასტებს დაწვრილებით განხილულია IV ნაწილში – “უჯრედული ინჟინერია.”

*** მცენარეთა სომატური ჰიბრიდიზაციის საკითხები განხილულია IV ნაწილში – “უჯრედული ინჟინერია.”

დიდადაა დამოკიდებული ბიოტექნოლოგიის აღნიშნული მეთოდის განვითარების ტემპები.

როგორც უკვე აღინიშნა, მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის პირველი, ყველაზე უფრო რთული და საპასუხისმგებლო პრობლემა მდგომარეობს მცენარეში ახალი სასარგებლო ნიშან-თვისებების გამომწვევი მცენარეული ან ნებისმიერი სხვა წარმოშობის გენების შერწყმასა და გამოყოფაში.

სერიოზული სირთულეები წარმოიქმნება იმასთან დაკავშირებით, თუ **რომელი** გენების კლონირება უნდა მოხდეს რომ მიღწეული იქნას მცენარეების გაუმჯობესება. კულტურული მცენარეებისათვის ყველაზე სასურველი ნიშან-თვისებების რიცხვს მიეკუთვნება დაბალი ტემპერატურის, გვაღვის ან ნიადაგში მარილების გადიდებული კონცენტრაციების მიმართ გამძლეობა, ანუ გარემო პირობების სტრესული ფაქტორებისადმი ტოლერანტობა; პერბიციდების, პესტიციდებისა და ჩაწოლისადმი გამძლეობა; დაავადებებისადმი რეზისტენტობა; სხვადასხვა სახის მავნებლებისადმი გამძლეობა; ადრემწიფადობა და ა.შ.

ამდენად, ცნობილია ამოცანები, მაგრამ ცნობილია სირთულეებიც, რომლებიც დაკავშირებულია ამ ნიშან-თვისებების მაკოდირებული გენების გამოყოფასთან. თუ ნიშანი განსაზღვრულია (დეტერმინირებულია) ერთი გენით, მაშინ ეს შედარებით მარტივი ამოცანაა, თუმცა ცალკეული გენების გამოვლენაც ძალიან შრომატევადი პროცესია.

ამჟამად გენეტიკური ინჟინერიისათვის ყველაზე რეალურ სამიზნეს წარმოადგენს მცენარის იმ ნიშან-თვისებების შეცვლა, რომლებიც კოდირებულია ცალკეული მარტივი გენებით. ამიტომ ცალკეულ მარტივ გენებთან მუშაობა წარმოადგენს მეცნიერების ძირითად მიზანს. აქედან გამომდინარე, სპეციალისტები ძირითადად შემოფარგლული არიან პერბიციდების დეჰიდრატაციის ფერმენტების, სამარაგო ცილების, ფოტოსინთეზის გზების ფერმენტების და ა. შ. მაკოდირებული გენების კლონირებით. ვარაუდობენ, რომ უმოკლეს ვადაში გადასაწყვეტი საკითხების წრე არსებითად გაიზრდება.

მაგრამ ზემოთ ჩამოთვლილი მცენარისათვის სასურველი ნიშან-თვისებების უმეტესობა კოდირდება არა ერთი, არამედ ნატივი რეგულატორული მექანიზმებით მართვადი რთული კომპლექსური გენებით. ასეთ შემთხვევაში ამოცანა მნიშვნელოვნად გართულებულია. ამგვარად, გაცილებით რთულადაა საქმე ისეთ ნიშან-თვისებებთან მუშაობისას, როგორიცაა აზოტფიქსაცია, დამლაშებისადმი ტოლერანტობა ან ადრემწიფადობა. ამ რთულ ნიშნებზე პასუხისმგებელი გენები ან უფრო სწორად გენების კლასტერები (ბლოკები) ჯერ კიდევ არასაკმარისადაა შესწავლილი იმისათვის, რომ განხორციელდეს მათი გადატანა ერთი სახის მცენარიდან მეორეში.

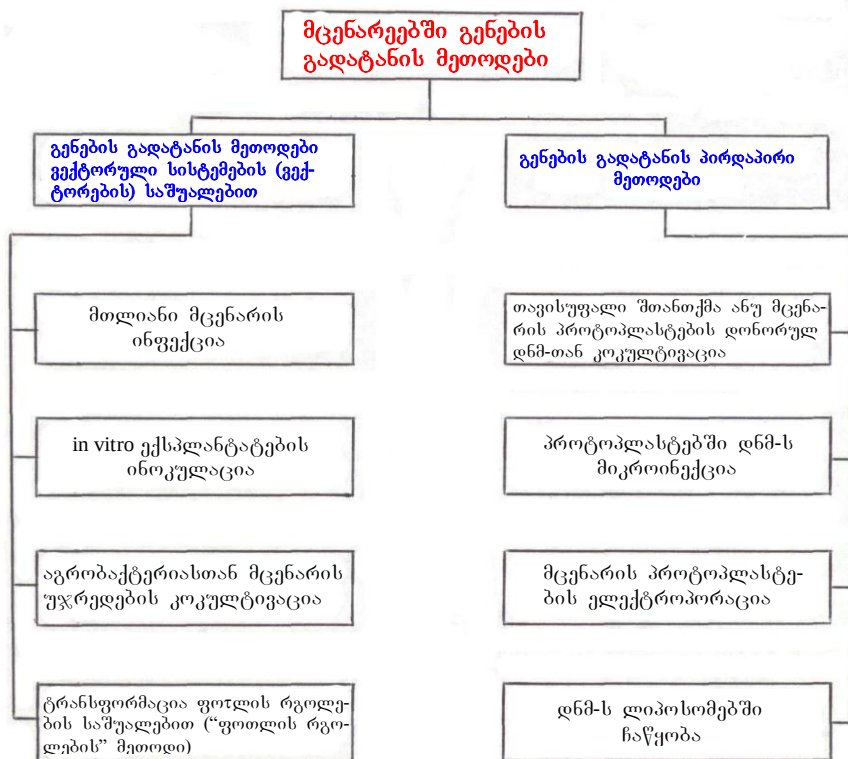
მცენარეებში გენების (მცენარეული წარმოშობისაც კი) კლონირება საკმაოდ რთული ამოცანაა, რაც განპირობებულია მცენარის გენომების სპეციფიკით. მცენარის გენომის შემადგენლობაში შეიძლება იყოს ათეული და ასეულ ათასი გენი. გარდა ამისა, მცენარის გენომის სტრუქტურა უფრო რთული და ნაკლებად შესწავლილია, ვიდრე მაგალითად ბაქტერიული გენომის სტრუქტურა. ხოლო რიგი მნიშვნელოვანი ნიშან-თვისება, როგორც უკვე აღინიშნა, კოდირებულია მრავალი გენით. დიდ სირთულეს წარმოადგენს აგრეთვე თვით მცენარეში გენების გამოყოფის პროცესი. გარკვეული ნიშან-თვისების მაკოდირებელი ცალკეული მცენარეული გენის იდენტიფიკაცია წარმოადგენს ძალიან შრომატევად სამუშაოს. მცენარის გენომები ძალიან დიდია და გააჩნიათ განმეორებების მაღალი ხარისხი. გარდა ამისა, მცენარის უჯრედები მდიდარია სტანდარტული ფერმენტული რეაქციების მაინიმიზირებელი პოლისაქარიდებით.

მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის მეორე პრობლემას წარმოადგენს საკითხი **როგორ** განხორციელდეს გენის გადატანა და მისი ექსპრესია ახალ გენეტიკურ გარემოცვაში. მისი არსი მდგომარეობს იმაში, რომ ამჟამად მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიისათვის ძირითად წინააღმდეგობას წარმოადგენს მცენარის გენომში ახალი გენების გადატანის ეფექტური მეთოდების უქონლობა და შესაბამისი სისტემის უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურის მიღებისა და მცენარის რეგენერაციის სირთულე. აგრეთვე ის, რომ სერიოზულ ამოცანად რჩება მცენარის განვითარების სასურველ სტადიაზე უცხო გენეტიკური ინფორმაციის სტაბილური გადაცემა (ინტეგრაცია) და გადატანილი გენების ექსპრესია, რისთვისაც აუცილებელია მცენარეული პრომოტორებისა და მცენარეული გენების რეგულაციის მექანიზმების უფრო დეტალური ცოდნა.

უკანასკნელ პერიოდში მკვლევართა დიდი არმიის ძალისხმევით შედეგად მცენარეებში გენების გადატანის მეთოდები მეტად მრავალფეროვანი გახდა.

3.6. მცენარეებში გენების გადატანის მეთოდები

მცენარეებში გენების გადატანის მეთოდები იყოფა ორ ჯგუფად: 1) გენების გადატანის მეთოდები ვექტორული სისტემების (ვექტორების) საშუალებით, 2) გენების გადატანის პირდაპირი მეთოდები (სურ. 128). პირველ ჯგუფს მიეკუთვნება: მთლიანი მცენარის ინფექცია



სურ. 128. მცენარეებში გენების გადატანის მეთოდების სქემა

ცია; *in vitro* ექსპლანტატების ინოკულაცია; აგრობაქტერიასთან მცენარის უჯრედების კოკულტივაცია; ტრანსფორმაცია ფოთლის რგოლების საშუალებით ("ფოთლის რგოლების" მეთოდი). მეორე ჯგუფს მიეკუთვნება: თავისუფალი შიანთქმა ანუ მცენარის პროტოპლასტების დონორულ დნმ-თან კოკულტივაცია; პროტოპლასტებში დნმ-ს მიკროინექცია; მცენარის პროტოპლასტების ელექტროფორაცია; დნმ-ს ლიპოსომებში ჩაწეობა და სხვა.

3.6.1. გენების გადატანის მეთოდები ვექტორული სისტემების (ვექტორების) საშუალებით

მცენარეებში ვექტორული სისტემების (ვექტორების) საშუალებით გენების გადატანის მექანიზმის ახსნისათვის აუცილებელია განხილულ იქნას მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიისათვის ვექტორების შექმნის პრინციპები, მცენარეებში აგრობაქტერიით გამოწვეული სიმსივნეწარმოქმნის პროცესები, აგრობაქტერიის პლაზმიდების თავისებურებები და აგრობაქტერიის პლაზმიდების საფუძველზე ვექტორების კონსტრუირების საკითხები.

3.6.1.1. მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიისათვის ვექტორების შექმნის პრინციპები

ვექტორი, როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული, არის დნმ-ს (ან რნმ-ს) რეკომბინანტული მოლეკულა, რომელშიც შესაძლებელია უცხო გენის ჩაშენება და რომელიც შეიცავს ავტონომიური რეპლიკონის ელემენტებსა და სასიგნალო თანმიმდევრობებს, რაც აუცილებელია, როგორც წესი, საკუთარ რეგულატორულ ელემენტებს მოკლებული, ჩაშენებული გენის ექსპერსიის უზრუნველყოფისათვის.

ასევე ცნობილია გენეტიკური ინჟინერიის ვექტორისადმი წაყენებული ზოგადი მოთხოვნები. ეს მოთხოვნები მთლიანად ეხება მცენარეულ ვექტორებსაც.

იდეალური მცენარეული ვექტორი უნდა ფლობდეს შემდეგ თვისებებს:

- 1) იყოს მოლეკულურად კლონირებადი;
- 2) გააჩნდეს გენეტიკური ინფორმაციის აქცეპტირების (მიღების) უნარი;
- 3) შეიცავდეს სპეციფიკურ საიტს მასში უცხო გენის ინტეგრაციისათვის;
- 4) ჰქონდეს პატრონის უჯრედებში გადატანის უნარი;
- 5) აუცილებელია ვექტორისა და პატრონის უჯრედში კლონირებისათვის განკუთვნილი დნმ-ს სტაბილურობა და შეთავსებადობა;
- 6) უზრუნველყოს დიდი რაოდენობით ასლების რეპლიკაცია და მცენარის უჯრედებში უცხო დნმ-ს ექსპერსია;
- 7) თუ საჭიროა ტრანსფორმირებული მცენარის მემკვიდრული ცვალებადობა, მაშინ ვექტორი სტაბილურად უნდა იყოს ახალ პატრონში;
- 8) ვექტორული მოლეკულის მცენარის უჯრედში ან მცენარეში არსებობა ადვილად უნდა სელექტირებდეს,* რაც ვექტორულ მო-

* სელექტური [ლათ. selectio] – გამორჩევა.

ლეკულაში სელექტიური მარკერის ჩართვის აუცილებლობაზე მიუთითებს;

9) იყოს შეთავსებადი ნორმალური, ჯანსაღი მცენარის ფენოტიპთან, ე.ი. დნმ-ს ეს ფრაგმენტი არ უნდა იყოს პათოგენური;

10) კლონირებადი გენი სტაბილურად უნდა გადაეცემოდეს ტრანსფორმირებული მცენარის თაობას როგორც სომატური, ისე სქემ-სობრივი გზით;

11) ჰქონდეს მცენარის შიგნით სისტემური გავრცელების უნარი, რათა უზრუნველყოს შეყვანილი დნმ-ს გამოვლენა მცენარის სხვადასხვა ორგანოებში;

12) ჰქონდეს ნებისმიერი გენის (მისი წარმოშობის მიუხედავად) მცენარის უჯრედებში შეყვანის, დამაგრებისა და ექსპრესირების უნარი;

13) ვექტორისათვის მეტად სასურველ თვისებას წარმოადგენს პატრონთა ფართო სპექტრი, რათა ის გამოყენებულ იქნას მცენარეთა ფართო წრისათვის, პირველ რიგში ყველაზე ძვირფასი სასოფლო-სამეურნეო კულტურებისათვის.

მცენარეებისათვის პოტენციური ვექტორები შეიძლება კლასიფიცირებული იქნას შემდეგ კატეგორიებად:

1) პატრონ-მცენარის გენომში ინტეგრირების უნარის მქონე, ბუნებრივი მცენარეული ვექტორების საფუძველზე მიღებული ვექტორები – აგრობაქტერიის პლაზმიდები (Ti და Ri);

2) მცენარეული პათოგენების საფუძველზე მიღებული ვექტორები, რომლებიც ხასიათდებიან უცხო დნმ-ს (ან რნმ-ს) მცენარეში შეყვანის ბუნებრივი უნარით – ფიტოვირუსები, ვიროიდები;

3) ვექტორები, რომლებსაც შეუძლიათ არსებობა როგორც დამოუკიდებელ რეპლიკონებს მცენარის უჯრედებში – მიტოქონდრიალური და ქლოროპლასტური დნმ;

4) მცენარის გენომის არასტაბილური სტრუქტურების საფუძველზე მიღებული ვექტორები – ტრანსპოზონები.

ჯერჯერობით მცენარეთა გენეტიკურ ინჟინერიაში ყველაზე ფართო გავრცელება მოიპოვა პლაზმიდურმა ვექტორებმა.

3.6.1.2. აგრობაქტერიის პლაზმიდები, როგორც მცენარეში გენების გაღატანის ბუნებრივი ინსტრუმენტი

მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის პრობლემასთან უშუალოდ დაკავშირებულია სიმისენეწარმოქმნის პროცესი. აღმოჩნდა, რომ მცენარის ზოგიერთი სიმისენეწები, მაგალითად, ეწ. გვირგვინისებრი გაღები წარმოადგენენ მცენარის უჯრედების გენეტიკური ტრანსფორმაციის შედეგს, ე.ი. მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის შედეგს

ბუნებაში. მისი ახსნისათვის აუცილებელია გვირგვინისებრი გალების წარმოქმნის მექანიზმის გაცნობა.

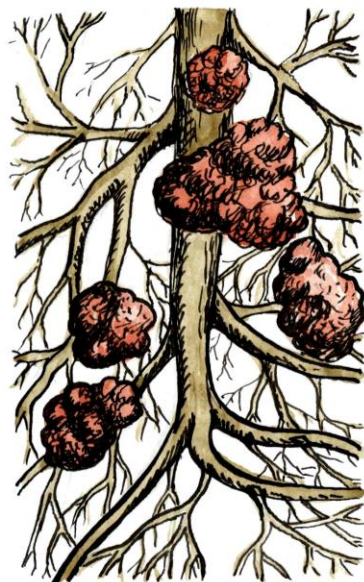
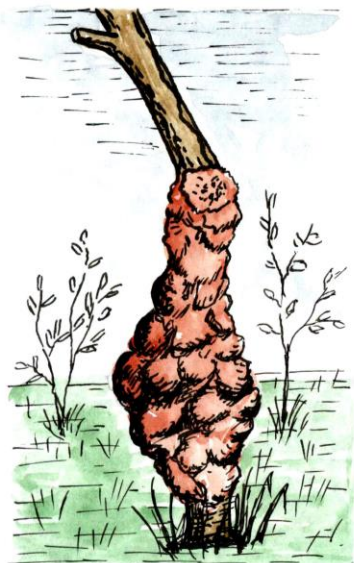
უმაღლესი მცენარეები წარმოადგენენ მრავალრიცხოვანი უჯრედების გაერთიანებას. სხვადასხვა კლასის ცხოველური ორგანიზმების (ნემატოდები, მწერები, ტკიპები), პრიმიტიული მცენარეების (სოკოები), აგრეთვე ბაქტერიებისა და ვირუსების წარმომადგენლები სხვადასხვანაირი ხერხებით გავლენას ახდენენ ამ გაერთიანებაზე და იწვევენ მცენარის უჯრედების, ქსოვილების, ორგანოების ნორმალური განვითარების დარღვევას ან შეცვლას. ძალიან ხშირად ზემოქმედების შედეგად წარმოიქმნებიან სიმსივნეები – **გალები**.

სიმსივნეწარმოქმნის (გალებწარმოქმნის) დროს შეინიშნება სხვადასხვანაირი ანომალიები: იცვლება მცენარის ნორმალური ორგანოების სიდიდე, რაოდენობა და განლაგება; წარმოიქმნება ცალკეული უჯრედების მკვეთრი ცვალებადობები – ჩვეულებრივ უჯრედის კედლის გარკვეულ ზონებში, აგრეთვე ქსოვილებში და ქსოვილთა კომპლექსში მიმართული ზრდის სტიმულაციის შედეგად; პარაზიტები იწვევენ ზოგიერთი ან მრავალი უჯრედის (ძირითადად ახალგაზრდა მცენარეებში) მიმართულ ზრდას. შემდეგ ხდება ამ უჯრედების დაყოფა, ინტენსიური ზრდა, შერწყმა და პოლიპლოიდიზაცია. ამ პროცესების კომბინაციის შედეგად წარმოიქმნება დაახლოებით 15 ათასი სხვადასხვა სახის გალი, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან ფორმის, ფერის, სიდიდის, გამრავლების და შინაგანი აგებულების მიხედვით (სურ. 129).

დადგენილ იქნა, რომ მცენარეთა სიმსივნეები გამოწვეულია აგრობაქტერიის (*Agrobacterium*) გვარის წარმომადგენელი ნიადაგის ბაქტერიებით. აგრობაქტერიის ვირულენტური (ავადმყოფობის გამომწვევი) შტამები მცენარეში იწვევენ სამი სახის სიმსივნეს: 1) **“გვირგვინისებრი გალი”** (crown gall; გამომწვევი აგენტი – *Agrobacterium tumefaciens**); 2) **“წვერისებრი ფესვი”** (hairy root; გამომწვევი აგენტი – *Agrobacterium rhizogenes*); 3) **“ღეროსებრი გალი”** (cane gall; გამომწვევი აგენტი – *Agrobacterium rubi*). ყველა ეს სიმსივნე წარმოადგენს ტიპიურ **ნეოპლაზმებს**, ე.ი. ავთვისებიან ახალწარმონაქმნებს, რომლებსაც შეუძლიათ ავტონომიური გამრავლება გამომწვევი აგენტის – ბაქტერიის გარეშე.

ბ. ბერგის (B. Berg) განმარტებით აგრობაქტერიები მიეკუთვნება **რიზობიაცეს (Rhizobiaceae)** ოჯახს, რომელიც შედგება ორი გვარისაგან – **აგრობაქტერია (Agrobacterium)** და **რიზობიუმი (Rhizobium)**. მართალია ორივე გვარის ბაქტერიებს გააჩნია უმაღლეს მცენარეებთან ურთიერთმოქმედების უნარი, მაგრამ იწვევენ სხვადასხვანაირ ახალწარმონაქმნებს. აგრობაქტერიები ინფიცირების შემდეგ მცენარე-

* ნიშნავს „კიბოს გამომწვევი მინდვრის ბაქტერია.“



სურ. 129. გვირგვინისებრი გალების სხვადასხვა სახეები

ში წარმოქმნიან სიმსივნეებს, ხოლო რიზობიუმის შტამები წარმოადგენენ რა სიმბოზიურ ორგანიზმებს, იწვევენ ფესვის კოჟრების წარმოქმნას, რომლებსაც გააჩნიათ აზოტფიქსაციის უნარი პარკოსნებში.

აგრობაქტერიებით მცენარეების დასენიანების შემდეგ, ერთი ან რამოდენიმე უჯრედიდან განვითარებული სიმსივნეები სწრაფად იზრდება მსხვილ წარმონაქმნებად, რომელთა დიამეტრი ზოგიერთი სახეობის მცენარეებში მეტრამდე აღწევს. ტიპიური არაორგანიზებული სიმსივნე წარმოადგენს მეტ-ნაკლებად მომრგვალო ფორმის არადიფერენცირებული უჯრედების მასას, რომელიც შეიძლება იყოს გლუვი ან ხორკლიანი, პარენქიმული ან გამერქნებული. ზოგჯერ ასეთი სიმსივნეების პერიფერიებზე წარმოიქმნება ღეროების (ტერატომების) ან ფესვების მსგავსი სტრუქტურები.

ყველაზე სრულყოფილად შესწავლილია “გვირგვინისებრი გალები”. ისინი წარმოადგენენ ნამდვილ ავთვისებიან სიმსივნეებს, რომლებსაც კულტურალურ არეში ზრდა შეუძლიათ ნორმალური ქსოვილების ზრდისათვის აუცილებელი ზრდის ჰორმონების გარეშე. მათი შენახვა ჯანსაღ მცენარეში სიმსივნის გამოწვევის უნარის შენარჩუნებით შეიძლება მრავალი წლის განმავლობაში.

A. tumefaciens-ის პატრონთა წრე ფართოა და მოიცავს შიშველთესლოვანების 7 ტესტირებული ოჯახიდან 6-ს, ორლებნიანების 110 ტესტირებული ოჯახიდან 48-ს და რამოდენიმე ერთლებნიან მცენარეს. როგორც ჩანს, აგრობაქტერიის შესაბამისი შტამების ან დასენიანების სწორი პირობების შერჩევისას პრინციპში ყველა ორლებნიან მცენარეში შესაძლებელია გვირგვინისებრი გალების ტიპის სიმსივნეების გამოწვევა. არც ერთი უმდაბლესი მცენარე არ წარმოადგენს გვირგვინისებრი გალების პატრონს. ბუნებრივი რეზისტენტობა (გამძლეობა) გააჩნიათ აგრეთვე ერთლებნიან მცენარეებს: სიმინდს, ხორბალს, ბრინჯს, ჭვავს, შვრიას, შაქრის ღერწამს და სხვა. ისინი არ არიან მგრძნობიარე *A. tumefaciens*-ით დასენიანების მიმართ.

A. tumefaciens-ი ინფიცირებს (აზიანებს) 600-ზე მეტი სახეობის კულტურულ მცენარეს, უწინარეს ყოვლისა, ვარდისებრთა ოჯახს, კაკლისებრთა მრავალ მცენარეს, რიგ მნიშვნელოვან სასოფლო-სამეურნეო კულტურას (ხეილოვნები, კურკოვნები, ციტრუსოვნები, პარკოსნები, ვაზი, ჩაი, პომიდორი, მხესუმზირა, თამბაქო და სხვა), რაც სიმსივნეწარმოქმნის პრობლემას პრაქტიკულ ინტერესსაც ანიჭებს. ზოგიერთი მცენარე იმდენად მგრძნობიარეა გვირგვინისებრგალებიანი დაავადებების მიმართ, რომ იღუპება კიდევაც (მაგ. ვაზი). ზოგადად კი სიმსივნე არ კლავს მცენარეს, მაგრამ არსებითად აქვეითებს მის საერთო ზრდას, ცხოველყოფელობას, მოსავლიანობას. ზრდის სოკოვანი ინფექციებისა და სტრესული პირობების მიმართ მგრძნობიარობას და ამ გზით სერიოზულ ზარალს აყენებს სოფლის მეურნეობას.

გვირგვინისებრი გალის, როგორც მცენარეთა დაავადების (რომელიც აღწერილი იყო ჯერ კიდევ არისტოტელეს მიერ), შესწავლა სპეციალისტების – ფიტოპათოლოგების მიერ დაიწყო XX საუკუნის დასაწყისში. ამ დაავადების ბაქტერიული ბუნება პირველად აღმოჩენილ იქნა **ე. სმიტისა (E. E. Smith)** და **კ. ტაუნსენდის (G. O. Townsend)** მიერ 1907 წელს.

გვირგვინისებრი გალების როგორც მცენარეთა სიმსივნური დაავადებების მიმართ მკვლევართა მკვეთრი ინტერესი მნიშვნელოვანწილად განპირობებული იყო ორი ცნობილი მეცნიერის – ამერიკელი ფიტოპათოლოგის **ერვინ სმიტისა (E. Smith)** და დანიელი ვეტერინარისა და ონკოლოგის **კარლ იენსენის (K. Jensen)** გამოკვლევებით. XX საუკუნის დასაწყისში ამ მეცნიერებმა სრულიად სხვადასხვა მიზეზით ივარაუდეს, რომ დაავადება “გვირგვინისებრი გალი,” როგორც მოდელი ექსპერიმენტებში, შეიძლება წარმატებით იქნას გამოყენებული ზოგადად სიმსივნური მდგომარეობის გაგებისათვის გარკვეული ფუნდამენტური ბიოლოგიური კონცეფციების გამოვლენის მიზნით.

1949 წელს არმან ბრაუნმა (A. Braun) სამედიცინო გამოკვლევების როკფელერის ინსტიტუტში (აშშ) წარმატებას მიაღწია გვირგვინისებრი გალების ქსოვილების, საქაროზისა და არაორგანული მარილების შემცველ, ხელოვნურ საკვებ არეზე კულტივირებისას. აღმოჩნდა, რომ სიმსივნის ინდუქციისათვის საკმარისია მხოლოდ ბაქტერიის მცენარესთან ხანმოკლე კონტაქტი. ხოლო თვით მისი განვითარება შეიძლება წარიმართოს ბაქტერიის გარეშეც, ე.ი. დასენიანების შემდეგ სიმსივნური უჯრედების გამრავლება ბაქტერიებისაგან დამოუკიდებლად მიმდინარეობს.

ნორმალური უჯრედები და ქსოვილები კულტურაში იზრდებიან ნელა და მხოლოდ ჰორმონების – ციტოკინინებისა და აუქსინების მონაწილეობით, ხოლო გალების ქსოვილი იზრდება სწრაფად ჰორმონების დამატების გარეშეც: საკმარისია მხოლოდ დრო და დრო მისი ახალ საკვებ არეში გადატანა. ამ დაკვირვებებმა ა. ბრაუნს მისცა უფლება დაესკვნა, რომ *A. tumefaciens*-ის ზემოქმედების შემდეგ მცენარის უჯრედები რაღაცნაირად **ტრანსფორმირდებიან (გარდაიქმნებიან) სიმსივნურ უჯრედებად**. ამის საფუძველზე მეცნიერმა ივარაუდა, რომ ბაქტერიას პატრონის უჯრედში შეჰყავს რაღაც ფაქტორი, რომელიც შედარებით მოკლე დროში – სულ რაღაც 36 საათში იწვევს ნორმალური მცენარეული უჯრედების გარდაქმნას გვირგვინისებრი გალების უჯრედებად. ამ **ფაქტორს ეწოდა TIP.*** TIP ფაქტორი პასუხისმგებელია მხოლოდ სიმსივნის პირველად ინდუქციაზე, მაგრამ არა მის შემდგომ განვითარებაზე. ამ ფაქტორის მოქმედების შედეგად იცვლება ან მოლიანად წყდება მცენარეული ქსოვილების ზრდისა და დიფუ-

* **Tumor Inducing Princip** [ინგლ.] – სიმსივნეწარმოშობი საწყისი.

რენცირების ნორმალური პროცესები.

შემდეგში მკვლევარების ყურადღება ფოკუსირებულ იქნა ამ ჰიპოთეზურ და მოუხელთებელ ბაქტერიების მიერ პროდუცირებად და სიმსივნეწარმოქმნის პროცესზე პასუხისმგებელ სიმსივნეწარმოქმნელ ფაქტორზე. დიდი ხნის განმავლობაში ჰიპოთეზურ სიმსივნეწარმოქმნელ ფაქტორად თვლიდნენ ბაქტერიის უჯრედების სხვადასხვა კომპონენტებს, ტოქსინებს, მცენარეთა ზრდის სტიმულატორებს, ენდოანტიგენებს, ქრომოსომის დნმ-ს, ბაქტერიოფაგებს, რნმ-ს მოლეკულებს და ა.შ., მაგრამ არც ერთი მათგანი ვერ დადასტურდა.

1971 წელს ამერიკელმა მკვლევარებმა **რ. ჰამილტონმა (R.H. Hamilton)** და **მ. ფოლიმ (M.Z. Fall)** აღმოაჩინეს, რომ გვირგვინისებრი გალების გამოქვეყნი ბაქტერიების გარკვეული შტამები სიმსივნეწარმოქმნის უნარს კარგავენ 36°C ტემპერატურაზე კულტივირების დროს. შემდეგი გამოკვლევებით გაირკვა, რომ თავისი ქიმიური ბუნებით TIP ფაქტორი წარმოადგენს ნუკლეინის მჟავას. ამის შემდეგ მკვლევარებმა დაიწყეს ონკოგენურ შტამებში არსებული და არაონკოგენურ შტამებში არარსებული დნმ-ს ფრაქციების დადგენა და გამოკვლევა.

ნებისმიერ ბაქტერიულ უჯრედში შეიძლება იყოს დნმ-ს სამი ფრაქცია: ქრომოსომული, პროფაგური* და პლაზმიდური.

ჯოზეფ შელის (J. Schell), **მარკო ვან-მონტაგიუს (M. Van-Montagu)** და მათი თანამშრომლების მიერ გენტის უნივერსიტეტიდან (ბელგია) დადგენილ იქნა, რომ *A. tumefaciens*-ის ონკოგენურობა განპირობებულია მათში დიდი ზომის, სიგრძით 50-80 მკმ და მოლეკულური წონით 112-156 მეგადალტონი, კოვალენტურად შეკრული, რგოლური პლაზმიდური დნმ-ს არსებობით. ასეთი პლაზმიდა შეადგენს ბაქტერიაში არსებული დნმ-ს დაახლოებით 5-8% და ჩვეულებრივ უჯრედში არსებობს 1-2 ასლის სახით. სწორედ ეს დიდი პლაზმიდები მონაწილეობენ გვირგვინისებრი გალების წარმოქმნის პროცესში.

ამ პლაზმიდებმა მიიღეს სახელწოდება **Ti-პლაზმიდა.**** მათი ყოველმხრივი შესწავლა დაიწყო მსოფლიოს მრავალ ლაბორატორიაში. **ჯ. შელის, მ. ვან-მონტაგიუს** და მათი თანამშრომლების გარდა ამ მიმართულებით განსაკუთრებით ბევრის გაკეთება მოახერხეს ამერიკელებმა **ეუგენიო ნესტერმა (E.W. Nester)**, **მერი-დელ ჩილტონმა (M.D. Chilton)**, **მილტონ გორდონმა (M.P. Gordon)** და მათმა თანამშრომლებმა ვაშინგტონის უნივერსიტეტში სიეტლში და **რობერტ შილპერტმა (R.D. Shilperurt)** და მისმა თანამშრომლებმა ლეიდენის უნივერსიტეტში ჰოლანდიაში.

1977 წელს **მ. ჩილტონმა** დაამტკიცა, რომ გვირგვინისებრი გალის სიმსივნე წარმოიქმნება აგრობაქტერიის Ti-პლაზმიდის გარკვეუ-

* პროფაგი – მასპინძლის ქრომოსომაში ინტეგრირებული ფაგის გენომი.

** Tumor inducing [ინგლ.] – სიმსივნემაგვარი.

ლი ფრაგმენტის მცენარის დნმ-ში ჩართვის შედეგად. Ti-პლაზმიდის დნმ-ს ამ ფრაგმენტმა, რომელიც კოვალენტურად დაკავშირებული აღმოჩნდა ტრანსფორმირებული მცენარის უჯრედების ქრომოსომალურ დნმ-თან, მიიღო **T-დნმ-ს*** სახელწოდება. ამჟამად T-დნმ კარტირებულია, მასში იდენტიფიცირებულია სხვადასხვა ტიპის Ti-პლაზმიდის სათვის საერთო მაღალკონსერვატიული უბანი.

ამრიგად, **სიმსივნეწარმოქმნელი საწყისი (TIP)**, რომლის შესახებ ვარაუდი პირველად გამოთქვა **ა. ბრაუნმა** 1947 წელს, აღმოჩნდა **დნმ-ს მოლეკულა**, ხოლო გვირგვინისებრი გალით დაავადებისას, ინდუქციის მოლეკულური საწყისი აღმოჩნდა უმაღლესი მცენარის უჯრედების გენომში ბაქტერიის პლაზმიდური დნმ-ს სტაბილური ჩართვა.

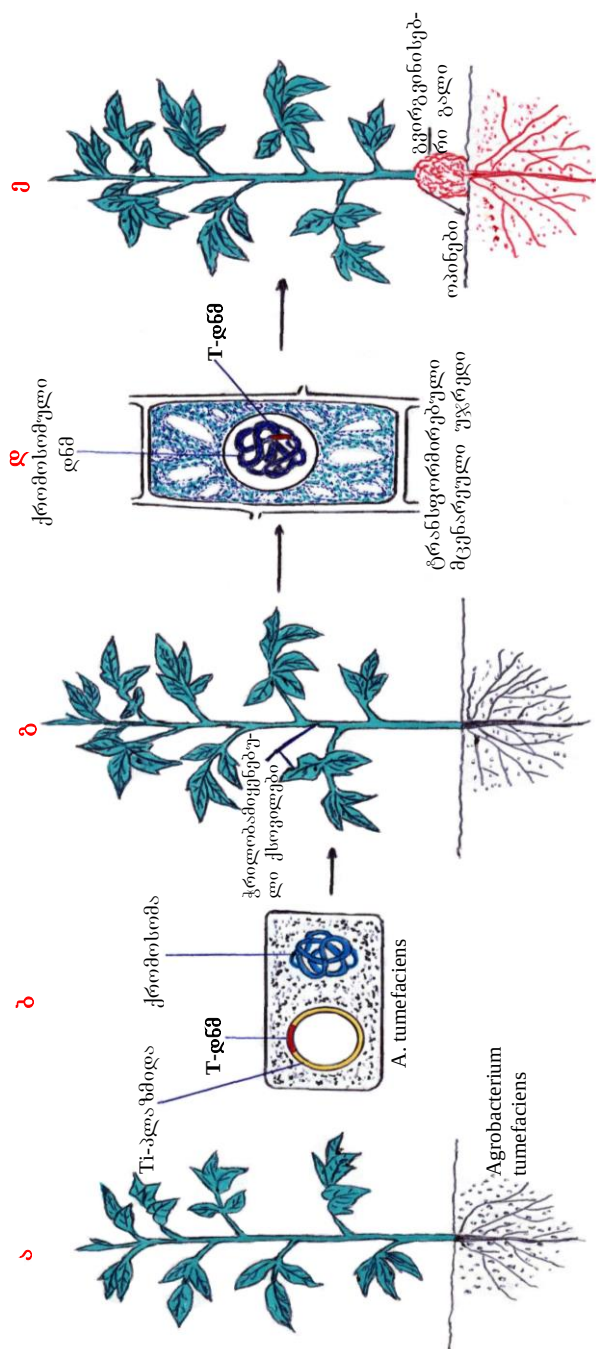
აგრობაქტერიის მიერ გამოწვეული სიმსივნეების ინდუქციის (წარმოქმნის) მოლეკულური მექანიზმების აღმოჩენისთანავე, მცენარის ამ დაავადების შესწავლას ყურადღება მიაქცევს მოლეკულურმა ბიოლოგებმა, ფიტოპათოლოგებმა და გენეტიკური ინჟინერიის სპეციალისტებმა.

აღმოჩნდა, რომ **აგრობაქტერიით გამოწვეული ინფექციური პროცესი – არის გენეტიკური ინჟინერიის ბუნებრივი ფორმა.**

ექსპერიმენტული მონაცემების საფუძველზე დადგენილია, რომ გვირგვინისებრი გალების ინდუქციის პროცესი რთულია – შედეგბარი იგი ეტაპისაგან, მოიცავს რიგ ფაქტორებს და ზოგადად მდგომარეობს შემდეგში (სურ. 130): **სპეციფიკური Ti-პლაზმიდის მატარებელი აგრობაქტერიები დაზიანებული, ჭრილობამიყენებული ქსოვილიდან შეღწევის გზით ასენიანებს მცენარეს. პლაზმიდური დნმ შედის მცენარის უჯრედში. T-დნმ ამოიჭრება Ti-პლაზმიდიდან და ინტეგრირდება (ჩაშენდება) მცენარის უჯრედის ქრომოსომაში (სურ. 131).** შედეგად ბაქტერიული დნმ-ს ფრაგმენტი (T-დნმ) ხდება მცენარის მემკვიდრეული აპარატის ნაწილი და მცენარის გენებთან ერთად იწვევს ექსპრესირებას (მუშაობას). მათი ექსპრესია ინდუცირებს სიმსივნეწარმოქმნის პროცესს. ეს კი იწვევს მცენარის უჯრედებში რამოდენიმე ახალი თვისების წარმოშობას, სახელდობრ: 1) იწვევს უჯრედების არაკონტროლირებადი დაყოფა, რის შედეგადაც წარმოიქმნება სიმსივნე; 2) სიმსივნურ უჯრედებში სინთეზირდება უჩვეულო, ბუნებაში არარსებული, ოპინებად წოდებული ნაერთები (ამინომჟავები), რომელთა მიხედვით შესაძლებელია სიმსივნური უჯრედების ტესტირება; 3) იწვევს სიმსივნური მცენარეული უჯრედების ჰორმონდამოუკიდებელი ზრდა.

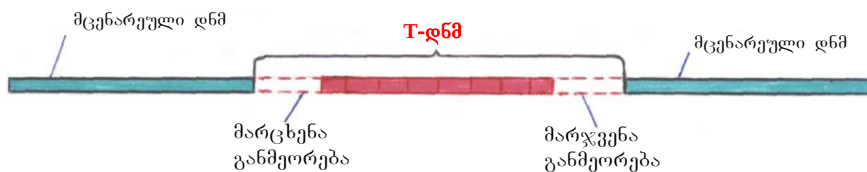
გვირგვინისებრი გალების სიმსივნეების ინდუქციის შესწავლის პირველ ექსპერიმენტებშიც ნათელი იყო, რომ ისინი წარმოიქმნებიან

* **Transfer** [ინგლ.] – გადატანილი.



სურ. 130. გვირგვინსებრი გალის ინდუქციის ეტაპები

- ა - *A. tumefaciens*-ის უჯრედები არსებობენ მცენარის რიზოსფეროში;
- ბ - ბაქტერიის უჯრედებში ქრომოსომასთან ერთად არის Ti-პლაზმიდა;
- გ - აგრობაქტერიები დაზიანებული, კრილობამოქცეული ქსოვილებიდან უღელწევის გზით ასეზიანებს მცენარეს;
- დ - Ti-პლაზმიდა შეაღწევს მცენარის უჯრედში და T-დნმ ჩაშენდება (ინტეგრირდება) მცენარის უჯრედის ქრომოსომაში;
- ე - ეს იწვევს გვირგვინსებრი გალების წარმოქმნას და ოპინების სინთეზს.



სურ. 131. T-დნმ-ს მცენარის დნმ-ში ჩაშენება (ინტეგრირება)

მხოლოდ პოტენციური პატრონ-მცენარის მექანიკური (ჭრილობით მიყენებული) დაზიანების შედეგად. დაზიანებულ ეპიდერმისზე აგრობაქტერიის გადატანით სიმსივნეების გამოწვევის (ინდუცირების) ყველა ცდა უშედეგო იყო. პატრონ-მცენარის მექანიკური დაზიანება წარმოადგენს *A. tumefaciens*-ის სიმსივნეების წარმოქმნის ზოგადი პროცესის აუცილებელ წინაპირობას – **სიმსივნეების ინდუქცია იწყება ჭრილობების მიყენების ადგილზე.**

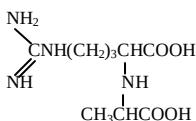
დაზიანების ზონაში გვხვდება სამი სახის უჯრედი: 1) **დაშლილი უჯრედები**, რომელთა შემადგენელი ნაწილების (სახელები მათ შორის დარღვეულია) ქიმიურ ნაერთებს შორის მიმდინარეობს მრავალრიცხოვანი სხვადასხვანაირი რეაქციები (ყველა ეს უჯრედი იღუპება); 2) **დაზიანებული უჯრედები**, მაგრამ სრულიად ახალ პირობებში (ჭრილობების კიდევთან) მოხვედრილი; მათში შეცვლილია გაზთა ცვლა და წყლის შემცველობა, სხვა უჯრედებთან შედარებით დარღვეულია სხვადასხვა ნივთიერებების გრადიენტები; 3) **ცხოველ-მყოფელი უჯრედები**, მაგრამ ჭრილობების მიყენებისას მექანიკური და ოსმოსური სტრესის ქვეშ ნამყოფი; მიუხედავად ამისა, მათ შეუძლიათ თავიანთი თვისებების აღდგენა.

დაზიანებიდან 1-4 დღის შემდეგ მცენარეებში ჭრილობის კიდეებზე იწყება უჯრედების დაყოფა. დაზიანების შესახებ სიგნალი იწვევს ფერმენტების აქტიურობის გადიდებას, რომელსაც თან ახლავს დნმ-ს მზადება სინთეზისა და დაყოფისათვის და საბოლოოდ შესაბამისი ცილების სინთეზი. ადგილი აქვს უჯრედების ხელმოკრულ დიფერენცირებას. ისინი იმყოფებიან ტრანსფორმაციისათვის განსაკუთრებული მზადყოფნის მდგომარეობაში. ქრომოსომებში Ti-პლაზმიდის T-დნმ-ს ინტეგრაციის შემდეგ ეს უჯრედები გარდაიქმნება სიმსივნურ უჯრედებად. მის შედეგად წყდება უჯრედების დიფერენცირებული ზრდა. იწყება შეუკავებელი, უკონტროლო დაყოფა და დედიფერენცირებული ზრდის გამო მცენარეთა პროლიფერირებული ქსოვილები წარმოქმნიან სიმსივნეებს – გვირგვინისებრ გაღებს, რომელთა უჯრედებში სინთეზირდება უჩვეულო ამინომჟავები – **ოპინები.**

ოპინების სინთეზი წარმოადგენს T-დნმ-ს მცენარის უჯრედებში

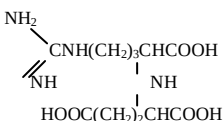
ექსპრესიის მეორე ფენოტიპურ ნიშანს. ოპინები* წარმოადგენენ მხოლოდ მცენარეთა გვირგვინისებრი გაღების ქსოვილებში აღმოჩენილ ახალი კლასის დაბალმოლეკულურ ბიოლოგიურად აქტიურ ნაერთებს (სურ. 132), რომელთაგან პირველი (ლიზოპინი) აღმოჩენილ იქ-

ოქტოპინის ოჯახი



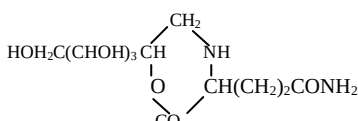
ოქტოპინი

ნოპალინის ოჯახი

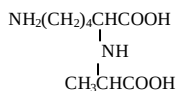


ნოპალინი

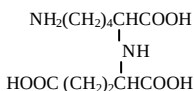
აგროპინის ოჯახი



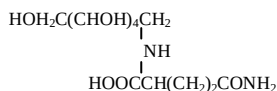
აგროპინი



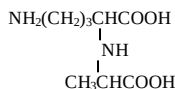
ლიზოპინი



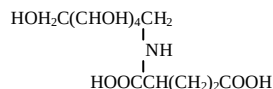
ნოპალინის მჟავა



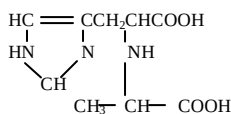
მანოპინი



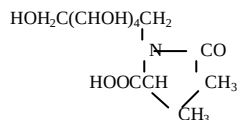
ოქტოპინის მჟავა



მანოპინის მჟავა



პისტოპინი



პისტოპინი

სურ. 132. ოპინების სტრუქტურა

ნა 1956 წელს. შემდეგ აღმოჩენილ იქნა ოქტოპინი და მისი წარმოებულები, ნოპალინი და მისი წარმოებულები, აგროპინი და მისი წარმოებულები (სურ. 132).

სიმსივნეები ოპინების სინთეზს იწყებენ უკვე რამოდენიმე დღის ასაკიდან. ოპინების ტიპი განისაზღვრება სიმსივნის გამომწვევი ბაქ-

* მეტაბოლიზმის ჩვეულებრივი მონაწილეების – ამინომჟავებისა და სხვადასხვა კეტომჟავების ან შაქრების წარმოებულები. მიეკუთვნებიან ზრდის ნივთიერებებს.

ტერიული შტამით, რადგანაც ამა თუ იმ ოპინის სინთეზისათვის აუცილებელი გენეტიკური ინფორმაცია ლოკალიზებულია აგრობაქტერიის პლაზმიდებში. აქედან გამომდინარე, იმის მიხედვით, თუ აგრობაქტერიის ზემოქმედებით მცენარის უჯრედები როგორი სახის ოპინების სინთეზს იწყებენ, გამოჰყოფენ ბაქტერიების ოქტოპინურ, ნოპალინურ, აგროპინურ და ა.შ. შტამებს.

ოპინების სინთეზი დამოკიდებულია ოპინსინთეტაზას ფერმენტებზე. ოქტოპინს ასინთეზებს ფერმენტი ოქტოპინსინთეტაზა, ნოპალინს – ნოპალინსინთეტაზა, აგროპინს – აგროპინსინთეტაზა და ა.შ.

მართალია ოპინების სინთეზი არ წარმოადგენს მცენარეებში სიმსივნეწარმოქმნის მიზეზს, მაგრამ მათი როლი მცენარისა და აგრობაქტერიის ურთიერთდამოკიდებულების პროცესში სულაც არ წარმოადგენს მეორეხარისხოვანს. როგორც ჩანს, მათი საშუალებით ონკოგენურ ბაქტერიებს უკავიათ პათოგენისათვის ხელსაყრელი გარემოელი ეკოლოგიური ნიში.

ოპინების მნიშვნელობა არ შემოიფარგლება მხოლოდ აგრობაქტერიის გარკვეულ საკვებზე მოთხოვნილების დაკმაყოფილებაში. ისინი ამავე დროს არსებით როლს ასრულებენ სიმსივნემატარებელი პლაზმიდების უჯრედიდან უჯრედში, ინფიცირებული შტამიდან არაინფიცირებელ შტამში გადატანის პროცესში. რაც, როგორც ჩანს, იწვევს ამ დაავადების გამომწვევის გავრცელებას და დაზიანების მასშტაბების გაფართოებას.

ამრიგად, მოცემულ შემთხვევაში, ადგილი აქვს განსაკუთრებული სახის პარაზიტის მავალით: პარაზიტი (ბაქტერია) არა უბრალოდ იყენებს პატრონ-მცენარის საკვებ ნივთიერებებს, არამედ ცვლის კიდეც მის ნივთიერებათა ცვლას ამ პატრონის გენომში ახალი გენეტიკური ინფორმაციის შეყვანის გზით. ასეთი უჩვეულო გზით პარაზიტი აღწევს ორ მიზანს: ერთის მხრივ, ის ღებულობს პატრონ-მცენარის მეტაბოლიზმზე გავლენის შესაძლებლობას, წარმართავს რა მას თვით ბაქტერიისათვის სასარგებლო მიმართულებით; მეორე მხრივ, ის ამას აკეთებს ისეთნაირად, რომ აღწევს სელექტიურ უპირატესობას ყველა სხვა კონკურენტი ორგანიზმის წინაშე, რადგანაც მხოლოდ გარკვეულ აგრობაქტერიებს და ზოგჯერ მათ არაონკოგენურ ნათესავებს შეუძლიათ ოპინების დაშლა.

აღწერილი უჩვეულო ფიტოპათოგენური ურთიერთობა აგრობაქტერიებისა და მცენარის უჯრედებს შორის აღინიშნება თავისებური ტერმინით – **“გენეტიკური კოლონიზაცია”**. ისინი წარმოადგენს წარმატებული გენეტიკური ინჟინერიის მაგალითს განხორციელებულს არა ლაბორატორიაში მკვლევარის, არამედ თვით ბუნების მიერ.

აგრობაქტერიის Ti-პლაზმიდის T-დნმ-ს ინტეგრაცია (ჩანერგვა) მცენარის ქრომოსომაში, როგორც უკვე აღნიშნული იყო, იწვევს მესამე, ახალი მემკვიდრული ნიშნის – **სიმსივნის უჯრედების ჰორმონ-**

დამოუკიდებელი ზრდის წარმოშობას. ინფიცირებული მცენარის უჯრედში იცვლება ზრდისა და განვითარების პროცესის რეგულირებაში საკვანძო როლის შემსრულებელი – რეგულატორული ჰორმონების ორი კლასის – აუქსინებისა და ციტოკინინების ნორმალური მეტაბოლიზმი. გვირგვინისებრი გალების სიმსივნური უჯრედების ჰორმონდამოუკიდებელი ზრდა მდგომარეობს იმაში, რომ ნორმალური უჯრედების ზრდასთან განსხვავებით ისინი იძენენ კულტურალურ საკვებ არეზე ზრდის უნარს ჰორმონების – აუქსინებისა და ციტოკინინების დამატების გარეშე.

ასეთი ჰორმონალური რეგულაცია კულტურალურ არეში მიუთითებს იმაზე, რომ სიმსივნური მცენარის უჯრედებში უნდა სინთეზირებდეს საკუთარი ენდოგენური ჰორმონისმაგვარი ნივთიერებები. რიგი ექსპერიმენტული მონაცემები მოწმობს იმაზე, რომ გვირგვინისებრი გალების უჯრედების ზრდა არაა დამოკიდებული მცენარის ფიტოჰორმონებზე მათში საკუთარი ფიტოჰორმონების – აუქსინებისა და ციტოკინინების პროდუცირების გამო.

ამრიგად, გვირგვინისებრი გალების ფენომენი ილუსტრირებს და ასაბუთებს ბუნებაში პარაზიტიზმისა და სიმბიოზის არსებობას, რომლის დროსაც ერთი პარტნიორი არა მარტო გენეტიკურად ევუება მეორე პარტნიორის-პატრონის თვისებას, არამედ სპეციფიკურად ცვლის პატრონის ზოგიერთ თვისებას მის გენომში საკუთარი გენების ჩაშენების გზით.

ამ მოვლენის ბიოლოგიური არსი მდგომარეობს იმაში, რომ Ti-პლაზმიდა მოქმედებს როგორც ახალი გენების მცენარეებში გადატანის ბუნებრივი ინსტრუმენტი და აქედან გამომდინარე, შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას ექსპერიმენტულ ვექტორად მცენარის გენომში ნებისმიერი დნმ-ს გადატანისათვის.

ამჟამად მსოფლიოს მრავალი ქვეყნის მეცნიერების მიერ, ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, შექმნილია მრავალი ვექტორი აგრობაქტერიის პლაზმიდების გამოყენებით.

3.6.1.3. ვექტორების შექმნა აგრობაქტერიის პლაზმიდების საფუძველზე

მცენარეთა გენეტიკურ ინჟინერიაში ყველაზე ფართო გავრცელება მოიპოვა *A. tumefaciens*-ის Ti-პლაზმიდების და *A. rhizogenes*-ის Ri-პლაზმიდების საფუძველზე მიღებულმა ვექტორებმა. ვიდრე განვიხილავდეთ ამ პლაზმიდების საფუძველზე კონსტრუირებული ვექტორების საკითხს, აუცილებელია მათი ზოგიერთი მახასიათებლების (პლაზმიდების აგებულების თავისებურებები, პლაზმიდური გენების ფუნქციები, T-დნმ-ს *vir*-უბნის სტრუქტურა, ფუნქციები და სხვა) განსახილვერა.

3.6.1.3.1. აბრობაქტერიის პლაზმიდები და მათი ზოგიერთი მახასიათებელი

აბრობაქტერიის პლაზმიდები. **Ti-პლაზმიდა*** წარმოადგენს სიმსივნე “გვირგვინისებრი გალის” გამომწვევი ნიადაგის ბაქტერია *A. tumefaciens*-ის ყველა ვირულენტური შტამის შემადგენელ ნაწილს.

როგორც უკვე აღნიშნული იყო, Ti-პლაზმიდა არის მსხვილი, კოვალენტურად შეკრული წრიული მოლეკულა. მისი სიგრძე შეადგენს 50-80 მკმ, ხოლო მოლეკულური წონა 112-156 მეგადალტონს. ეს ნიშნავს, რომ პლაზმიდას გააჩნია 150-200 ცილის კოდირების უნარი. Ti-პლაზმიდის T-უბანი შეადგენს პლაზმიდის მთელი გენომის 5-8%-ს და აკოდირებს 10-15 ცილას. ჩვეულებრივ ბაქტერიის უჯრედებში აღნიშნული პლაზმიდა წარმოდგენილია 1-2 ასლით.

სხვადასხვა აბრობაქტერიის Ti-პლაზმიდები არაერთნაირია. მათ კლასიფიცირებას ახდენენ ოპინების ტიპის მიხედვით. ყველა შესწავლილ Ti-პლაზმიდას ყოფენ 3 კლასად: 1) „ოქტოპინური“ ტიპის, რომლებიც აკოდირებენ ოქტოპინის, აგროპინის და სხვა მეტაბოლიზმს; 2) „ნოპალინური“ ტიპის, რომლებიც აკოდირებენ ნოპალინის, ნოპალინის მჟავის და სხვა მეტაბოლიზმს; 3) „აგროპინური“ ტიპის, რომლებიც აკოდირებენ აგროპინის, მანოპინის და სხვა მეტაბოლიზმს (ცხრილი 12).

დაავადება „წვერისებრი ფესვის“ გამომწვევი ბაქტერია *A. rhizogenes* შეიცავს პლაზმიდას, რომელსაც ჰქვია **Ri-პლაზმიდა.**** ამ პლაზმიდით გამომწვეული დაავადება „წვერისებრი ფესვი“ ხასიათდება მეორადი ფესვების ფართო პროლიფერაციით*** - წარმოიქმნება ადვენტიური ფესვების სიმსივნური უჯრედები. მას გააჩნია ნაკლები მოცულობა, ვიდრე გვირგვინისებრ გალებს. ცალსახად დადგენილია, რომ სინდრომი „წვერისებრი ფესვი“ წარმოიქმნება გვირგვინისებრი გალების სრულიად ანალოგიური პროცესის შედეგად – *A. rhizogenes*-ის Ri-პლაზმიდის T-დნმ-ს პატრონ-მცენარის ქრომოსომაში ინტეგრაციით. ძირითადი განსხვავება მათ შორის მდგომარეობს იმაში, რომ „გვირგვინისებრი გალის“ დაავადებას საფუძვლად უდევს სიმსივნური ზრდა, ხოლო „წვერისებრი ფესვის“ – დიფერენცირებული ქსოვილების პროლიფერაცია.

ცნობები *A. rhizogenes*-ის Ri-პლაზმიდებზე ამჟამად ისეთი ფარ-

* თანამედროვე ნომენკლატურით აღინიშნება – pTi შესაბამისი ასოებითა და ციფრობრივი აღნიშვნებით.

** **Root inducing** [ინგლ.] – ფესვმაინდუცირებელი. თანამედროვე ნომენკლატურით აღნიშნული პლაზმიდა აღინიშნება – pRi შესაბამისი ასოებითა და ციფრობრივი აღნიშვნებით.

*** **პროლიფერაცია** [ლათ. proles – შთამომავლობა; fero – დამაქვს] – ორგანიზმის ქსოვილის ზრდა უჯრედების გამრავლების გზით.

ოპინიებისა და აბროგატორიის პლასმიდების ტიპები
ცხრილი 12

მცენარის დაავადება	ბაქტერიის სახეობა	პლასმიდა	პლასმიდების და მათი შესაბამისი სიმსივნეების ტიპები, სიმსივნეების მოთხოვლობა	სიმსივნეებში სინთეზირებული ოპინები
გვირგვინისებრი გაღი	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Ti	ოქტოპინური სორკლიანი	ლიზოპინი ოქტოპინი ოქტოპინის მჟავა პისტოპინი აგროპინი მანოპინი მანოპინის მჟავა აგროპინის მჟავა
			ნოპალინური გლუვი, ხშირად ტერატომა	ნოპალინი ნოპალინის მჟავა აგროცინოპინები A და B
			აგროპინული ანუ “ნულოვანი ტიპი”	აგროპინი მანოპინი მანოპინის მჟავა აგროპინის მჟავა აგროცინოპინები C და D
წვერისებრი ფესვი	<i>Agrobacterium rhizogenes</i>	Ri	აგროპინული	აგროპინი მანოპინი მანოპინის მჟავა აგროპინის მჟავა აგროცინოპინი A
			მანოპინური	მანოპინი მანოპინის მჟავა აგროპინის მჟავა აგროცინოპინი C

თო არ არის როგორც Ti-პლაზმიდის შემთხვევაში, მაგრამ არსებული მონაცემებით შეინიშნება ძალიან ბევრი მსგავსი კანონზომიერება.

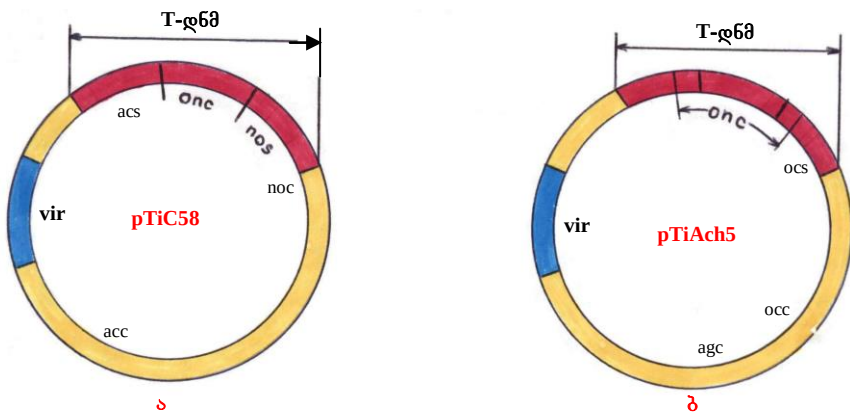
კლასიფიკაციის მიხედვით Ri-პლაზმიდები იყოფა 2 კლასად: 1) „აგროპინური“ ტიპის, რომლებიც აკოდირებენ აგროპინის, მანოპინის და სხვა მეტაბოლიზმს; 2) „მანოპინური“ ტიპის, რომლებიც აკოდირებენ მანოპინის, მანოპინის მჟავის და სხვა მეტაბოლიზმს (ცხრილი 12).

Ri-პლაზმიდებს გენეტიკურ ინჟინერიაში Ti-პლაზმიდებთან შედარებით გააჩნიათ გარკვეული უპირატესობა, რადგანაც მცენარეები უკეთ რეგენერირებენ სიმსივნური ფესვებიდან. Ri-პლაზმიდები განიხილება როგორც პლაზმიდების ბუნებრივი უვნებელი („განიარაღებული“) ვარიანტი.

პლაზმიდების VIR-უბნის ფუნქცია. აგრობაქტერიის ვირულენტობისათვის Ti-პლაზმიდაში (ან Ri-პლაზმიდაში) ონკოგენური (onc) ფუნქციის განმსაზღვრელი T-უბნის გარდა აუცილებელია კიდევ სხვა უბანი, რომელიც განსაზღვრავს სიმსივნური ტრანსფორმაციისათვის აუცილებელ პროცესებს: ბაქტერიის ურთიერთქმედებას მცენარის უჯრედებთან, Ti-პლაზმიდის დნმ-ს გადატანას, დნმ-ს ქრომოსომაში ინტეგრაციას, ე.ი. ვირულენტურობის (vir) ფუნქციებს. ექსპერიმენტების შედეგად დადგენილ იქნა, რომ ეს ფუნქციები კოდირდება Ti-პლაზმიდის **vir-უბნით**, რომელიც წარმოადგენს დიდ სეგმენტს ზომით დახლოებით 30 ათას ნუკლეოტიდის წყვილი (რაც შეადგენს მთელი Ti-პლაზმიდის თითქმის მეექვსედ ნაწილს) და Ti-პლაზმიდის საერთოდ მიღებულ რუქაზე ლოკალიზებულია მარცხნივ T-დნმ-ს უბნიდან (სურ. 133). ტერმინი „**vir-უბანი**“ (სიტყვიდან **ვირულენტურობა**) პირველად შემოღებულ იქნა ჰოლანდიელი მკვლევარების მიერ. Ti-პლაზმიდის ეს უბანი წარმოადგენს ყველაზე უფრო მაღალკონსერვატულს. იგი შედგება ხუთი ცალკეული ლოკუსისაგან* (A, B, C, D, E). ამასთან virB ლოკუსი მოიცავს ექსპრესიის ექვს დამოუკიდებელ ერთეულს (სურ. 134). vir-უბნის მიერ ვირულენტობის ფუნქციის განხორციელების შესახებ არსებობს რამოდენიმე ჰიპოთეზა. ერთ-ერთი მათგანის მიხედვით – vir-უბანი აკოდირებს სისტემას, რომელიც პასუხისმგებელია Ti-პლაზმიდის ან უკიდურეს შემთხვევაში მისი ნაწილის მცენარის უჯრედში გადატანაზე. მეორის მიხედვით – vir-უბანი აკოდირებს „ინსერციულ სისტემას“, რომელიც T-დნმ-ს ჩააშენებს მცენარის გენომში.

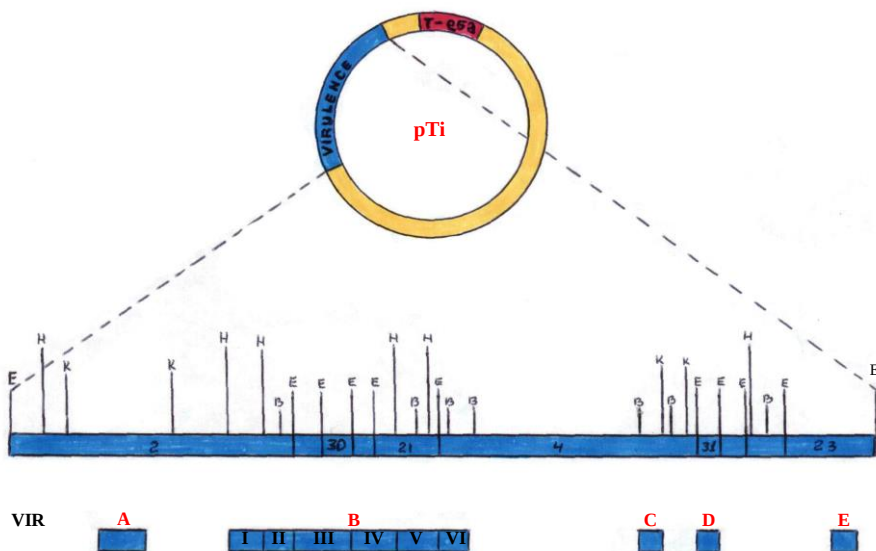
T-დნმ-ს სტრუქტურა და ფუნქციები. როგორც უკვე აღნიშნული იყო, Ti-პლაზმიდის დამახასიათებელ თავისებურებას წარმოადგენს

* ლოკუსი – გენების მიერ დაკავებული ადგილი დნმ-ში; ზოგჯერ ერთ ლოკუსში იმყოფება ერთ პროცესზე პასუხისმგებელი რამოდენიმე გენი.



სურ. 133. ნოპალინური (ა) და ოქტოპინური (ბ) Ti-პლაზმიდის გენეტიკური რუკა

(**onc** – ონკოგენები; **nos** – ნოპალინსინთეზას გენები; **acs** – აგროცინოპინსინთეზას გენები; **noc**, **occ**, **agc**, **acc** – გენები, რომლებიც ახორციელებენ ოპინების – ნოპალინის, ოქტოპინის, აგროპინის და აგროცინის კატაბოლიზმს; **vir** – გენები, რომლებიც პასუხისმგებელია ვირულენტობაზე)



სურ. 134. Ti-პლაზმიდის vir-უბნის რუკა

მასში მონაკვეთი **T-დნმ-ს*** არსებობა (სურ. 135). T-დნმ-ს ზომა შედარებით მცირეა, ვარირებს პლაზმიდის ტიპის მიხედვით და აღწევს 4.5-15 მეგადალტონს, რაც პლაზმიდის მთელი გენომის 5-8%-ს შეადგენს. T-დნმ-ს (აკოდირებს 10-15 ცილას) ძირითად ფუნქციას წარმოადგენს მცენარის გენომში გადატანა, ჩაშენება (დოკალიზებულია ბირთვში) და უჯრედის ტრანსფორმირება (მისთვის უცხო პროლუქტების სინთეზის უნარის მინიჭება).**

T-დნმ-ს ბოლოები შემოსაზღვრულია ნუკლეოტიდების გარკვეული თანმიმდევრობებით – 25 წყვილი ნუკლეოტიდისაგან შემდგარი პირდაპირი კიდურა განმეორებებით (სურ. 135). T-დნმ-ს შიგნით დოკა-

GCTGGT	TGGCAGGATATATTG	TGGTGTAAAC	AAATT	1
GTGTTT	TGACAGGATATATTG	CCGGTAAACCTAAG		2
AGCGGC	GCGCAGGATATATTCAAT	TGTAAATGGCTT		3
CTGAC	TGGCAGGATATATACCG	TTGTATTTGAGCT		4

სურ. 135. T-დნმ-ს კიდურა განმეორებები

(1 – ნოპალინური T-დნმ-ს მარცხენა საზღვარი; 2 – ნოპალინური T-დნმ-ს მარჯვენა საზღვარი; 3 – ოქტოპინური T-დნმ-ს მარცხენა საზღვარი; 4 – ოქტოპინური T-დნმ-ს მარჯვენა საზღვარი)

ლიზებულია გენები, რომლებიც აკონტროლებენ უჩვეულო ამინომჟავების – ოპინების: ოქტოპინის (ocs), ნოპალინის (nos), აგროპინის (ags) და სხვა სინთეზს, აგრეთვე ონკოგენები, რომლებიც აკოდირებენ ფიტოჰორმონების – აუქსინების, ციტოკინინების და სხვა სინთეზს.

T-დნმ-ს გადატანა და ინტეგრაციის მემბანიზმი. ჯერჯერობით ამ რთული მექანიზმის ყველა დეტალი ცნობილი არ არის. ეს პროცესი დამოკიდებულია როგორც აგრობაქტერიის ქრომოსომულ გენებზე, რომლებიც უზრუნველყოფენ ბაქტერიული უჯრედების მცენარის უჯრედებთან მიერთებას, ისე პლაზმიდურ გენებზე.

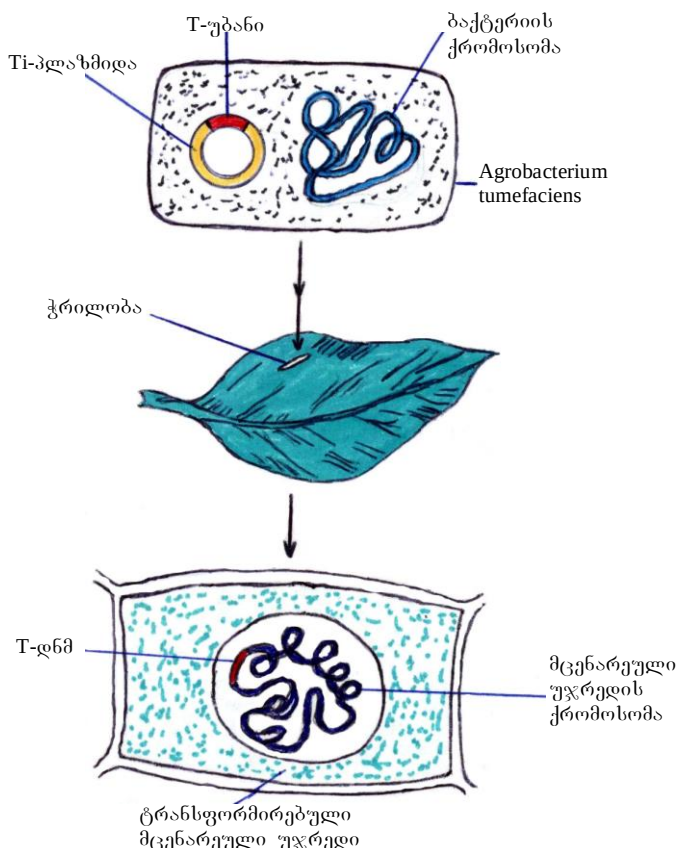
ქსოვილებზე ჭრილობის*** მიყენების შემდეგ აღვილი აქვს ერთი მხრივ, ბაქტერიის ჩანერგვასა და მათ გამრავლებას უჯრედშორისებში, ხოლო მეორე მხრივ – მეტაბოლიზმის აქტივაციას, რომელიც ხელს უწყობს უჯრედების მომზადებას ტრანსფორმაციისათვის (ე.ი. „კომპეტენტურობისათვის“). „კომპეტენტური“ უჯრედების არსებობისას პლაზმიდური დნმ ჯერ კიდევ უცნობი მექანიზმის მიხედვით შე-

* თუ ეს მონაკვეთი მდებარეობს ბაქტერიულ უჯრედში, მაშინ წერენ ან ამბობენ – **T-უბანი (რაიონი ან მონაკვეთი)**, ხოლო თუ ტრანსფორმირებული მცენარის უჯრედში მაშინ – **T-დნმ**.

** სიმისინის უჯრედებში იმყოფება T-დნმ-ს ერთიდან ხუთამდე ასლი.

*** ქსოვილებზე ჭრილობების მიყენება წარმოადგენს აუცილებელ პირობას. დაუზიანებელ უჯრედებზე აგრობაქტერიის გადატანის გზით სიმისინეწარმოქმნის ყველა ცდა უშედეგო აღმოჩნდა.

დის მცენარის უჯრედში და მისი ფრაგმენტი T-დნმ ჯერ მრავლდება, ხოლო შემდეგ ინტეგრირდება (ჩაშენდება) მცენარის უჯრედის ქრომოსომაში (ხურ. 136). ერთ-ერთი ჰიპოთეზის მიხედვით T-დნმ მცე-



ხურ. 136. T-დნმ-ს მცენარის უჯრედებში გადატანის სქემა

ნარის ბირთვის დნმ-ში ჩაერთვება საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაციის გზით. მეორე ჰიპოთეზის მიხედვით ეს ხდება *E. coli*-ში შეჯვარებისას პლაზმიდის სქესობრივი F ფაქტორის გადატანის მექანიზმის მსგავსად.

T-დნმ-ს ექსპრესია. T-დნმ-ს გენების ექსპრესია განპირობებულია იმით, რომ T-დნმ-ს გენებს გააჩნია ეუკარიოტული ტიპის პრომოტორები, და მაშასადამე, ისინი ადვილად გამოიცნობა მცენარის რე-

გულატორული ელემენტებისა და რნმ-პოლიმერაზას მიერ.

3.6.1.3.2. ვექტორების კონსტრუირება Ti-პლაზმიდების საფუძველზე

Ti-პლაზმიდებისადმი ინტერესი პირველ რიგში დაკავშირებულია იმასთან, რომ სიმსივნის ინდუქციის პროცესში Ti-პლაზმიდის ფრაგმენტი გადაიტანება, ინტეგრირდება და სტაბილურად რეპლიცირდება უმაღლესი მცენარეების უჯრედებში. მაშასადამე, სიმსივნის მაინდუცირებელი Ti-პლაზმიდები წარმოადგენენ მოხერხებულ ექსპერიმენტულ ვექტორულ სისტემებს უცხო (საჭირო) გენების უმაღლესი მცენარეების უჯრედებში შეყვანისათვის. Ti-პლაზმიდის საშუალებით მცენარეში გენების გადატანის ბუნებრივი სისტემების გამოვლენამ სტიმული მისცა ამ პლაზმიდების მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიისათვის როგორც ვექტორებად გამოყენების შესაძლებლობების გამოკვლევებს.

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარეობს, რომ Ti-პლაზმიდის T-დნმ-ს გააჩნია მახასიათებლები, რომლებიც მეტად სასურველია გენეტიკური ინჟინერიის უნივერსალური ვექტორისათვის, სახელდობრ: პატრონთა ფართო სპექტრი, ინფექციის ეფექტური გზა, ტრანსკრიპციული აქტიურობა და გენეტიკური სტაბილურობა; მისი მოცულობა საკმაოდ დიდია: T-დნმ-ში ჩაშენებული უცხო დნმ-ს საკმაოდ დიდი ფრაგმენტები (სიგრძით 50 და მეტი ათასი ნ.წ.) ეფექტურად გადაიტანება და ინტეგრირდება მცენარის ქრომოსომის დნმ-ში.

მაგრამ სანამ მცენარეებში გენების გადატანის ბუნებრივი Ti-პლაზმიდური სისტემის გამოყენება შეიძლებოდა როგორც ეფექტური ექსპერიმენტული ვექტორული სისტემა, აუცილებელია მისი მოდიფიკაცია.

Ti-პლაზმიდის მოდიფიცირებულ T-დნმ-ს უნდა:

- 1) ჰქონდეს T-დნმ-ს მოსაზღვრე მონაკვეთები (T-დნმ-ს “ბოლოები”) ინტაქტურ მდგომარეობაში მისი მცენარის ბირთვულ დნმ-ში ნორმალური ინტეგრაციისათვის;
- 2) შეიცავდეს რესტრიქციის ერთ ან რამოდენიმე უნიკალურ საიტს, მის შემადგენლობაში მცენარეული ან უცხო წარმოშობის ახალი გენების კლონირების მოხერხებულობისათვის;
- 3) ჰქონდეს პრომოტორული სისტემა, რომელიც შესაძლებელს გახდის კლონირებული დნმ-ს ექსპრესიას;
- 4) შეიცავდეს T-დნმ-ს არსებობის დამადასტურებელ გენეტიკურ მარკერებს, რაც ტრანსფორმირებული უჯრედების სელექციის საშუალებას იძლევა;

5) არ შეიცავდეს ფუნქციებს, რომლებსაც შეუძლიათ გავლენა მოახდინონ ტრანსფორმირებული მცენარის უჯრედების დიფერენციაზე და სრულყოფილი მცენარის რეგენერაციაზე, ე.ი. არ შეიცავდეს სიმსივნური ფენოტიპის გამომწვევ გენებს; აქედან გამომდინარე, აუცილებელია T-დნმ-ს სიმსივნეწარმოქმნის ფუნქციის ინაქტივაცია მისი გადატანისა და ინტეგრაციის თვისებების შეუცვლელად;

6) ხასიათდებოდეს უცხო დნმ-ს ვექტორში შეყვანის (ჩაშენების) მარტივი ხერხით;

7) ჰქონდეს Ti-პლაზმიდური თანმიმდევრობების კლონირებული უცხო გენით მცენარეში შეყვანის საიმედო ხერხები.

ამ საკითხების გადაწყვეტა შესაძლებელია Ti-პლაზმიდების სა-ფუძველზე ე.წ. “შუალედი” ვექტორების კონსტრუირების გზით.

განვიხილოთ თანმიმდევრობით თუ როგორი ცვლილებების შეტანაა საჭირო Ti-პლაზმიდაში, რათა ის გახდეს მცენარეთა გენეტიკურ ინჟინერიაში ვექტორად გამოყენებისათვის ვარგისი და როგორია “შუალედი” ვექტორის კონსტრუირების ეტაპები.

უპირველეს ყოვლისა, აუცილებელია დაზუსტდეს T-დნმ-ს რომელ უბანში შეიძლება კლონირებისათვის შერჩეული უცხო გენის შეყვანა. Ti-პლაზმიდური დნმ-ს მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიისათვის ექსპერიმენტალურ ვექტორად გამოყენების შესაძლებლობების განხილვისას საყურადღებოს წარმოადგენს ის ფაქტი, რომ ინტეგრირებადი T-უბნის მნიშვნელოვანი ნაწილი (ნოპალინური პლაზმიდების შემთხვევაში – ნახევარზე მეტი) არ წარმოადგენს არსებითს სიმსივნის ინდუქციისათვის, ე.ი. სიმსივნის წარმოქმნისათვის აუცილებელია T-დნმ-ს არა ყველა, არამედ მხოლოდ მისი გარკვეული ნაწილი ამისათვის საჭირო გენებით. მაშასადამე, დანარჩენი ნაწილების დაკარგვა ან მათში მცენარისათვის სასურველი “უცხო” გენების ჩაშენება ხელს არ შეუშლის სიმსივნეწარმოქმნის პროცესს, ხოლო სიმსივნეწარმოქმნის მაკონტროლებელი გენების მოცილება გავლენას არ ახდენს T-დნმ-ს გადატანისა და ინტეგრაციის მექანიზმზე.

T-უბნის ფარგლებში არ არის ლოკალიზებული არც ერთი ფუნქცია, რომელიც აუცილებელია T-დნმ-ს მცენარის ქრომოსომაში გადატანისა და ინტეგრაციისათვის. T-დნმ-ს ვექტორული თვისებების უზრუნველყოფისათვის ერთადერთ მოთხოვნას წარმოადგენს T-უბნის უშუალოდ მარცხნივ და მარჯვნივ განლაგებული დნმ-ს მოკლე სეგმენტების (პირდაპირი კიდურა განმეორებები სიგრძით 25 ნ.წ.), რომელთა საშუალებით ის შედის მცენარის ქრომოსომაში, ინტაქტურ მდგომარეობაში შენარჩუნება და T-დნმ-ს მცენარის ქრომოსომაში ჩანერგვისა და სტაბილური არსებობის პროცესისათვის აუცილებელი Ti-პლაზმიდის ფუნქციების, სახედლობრ, Ti-პლაზმიდის vir-ფუნქციის უზრუნველყოფა.

უცხო გენის T-დნმ-ს უბანში ჩაშენებამ უნდა გამოიწვიოს T-დნმ-ს ზომის, მაგრამ არა მისი საზღვრების შეცვლა. ამრიგად, შეიძლება მოხდეს, რომ ამ “ბოლოებს” შორის ჩაშენებული დნმ-ს ნებისმიერი სეგმენტი, ასევე გადატანილი იქნება იმ პირობით, თუ უცხო დნმ-ს ფრაგმენტების T-დნმ-ს უბანში ჩაშენების დროს არ იქნება ინაქტივირებული T-დნმ-ს ის ფუნქციები, რომლებიც არსებითია მისი გადატანისა და სტაბილურად შენარჩუნებისათვის. ე.ი. უცხო გენის ჩაშენება შეიძლება Ti-პლაზმიდის T-დნმ-ს “არასასიცოცხლო მნიშვნელობის” ნაწილში.

Ti-პლაზმიდის ექსპერიმენტულ ვექტორად გამოყენების მიზნით მოდიფიკაციის დროს აუცილებელია გათვალისწინებულ იქნას T-დნმ-ს კონსტრუირებულ უბანში რესტრიქციის უნიკალური საიტების არსებობა. ასეთი რესტრიქციის უნიკალური საიტები მოდიფიცირებული Ti-პლაზმიდის ფარგლებში შეიძლება შექმნილ იქნას ხელოვნურ Ti-კონსტრუქციებში რესტრიქტაზებით EcoRI, HinfIII, BamHI და სხვა გაჭრის საიტების მქონე პოლილინკერების ჩართვის გზით.

ვექტორული მოლეკულების კონსტრუირებისას აუცილებელია მცენარეებში ექსპრესირებადი პრომოტორების არსებობა. წინააღმდეგ შემთხვევაში ვექტორულ მოლეკულაში კლონირებული უცხო გენის ექსპრესირება მცენარის უჯრედში არ მოხდება. მცენარეში Ti-პლაზმიდური ვექტორების საშუალებით შეყვანილი უცხო გენები თავისთავად არ ექსპრესირდებიან. ამ საკითხის გადასაწყვეტად აუცილებელია T-დნმ-ს ნოპალინ (nos)- და ოქტოპინ (ocs) სინთეზაზური გენის პრომოტორული თანმიმდევრობების მქონე ექსპრესიული ვექტორების შექმნა და ამგვარად “ქიმერული” გენების კონსტრუირება, რომლებიც შედგებიან მცენარის უჯრედისათვის გამოსაცნობი ექსპრესიის სიგნალებისა და უცხო გენის სტრუქტურული ნაწილისაგან.

ვექტორის T-დნმ-ში ჩართული გენის (გენების) ექსპრესიის გამოვლენისათვის, განსაკუთრებით ტრანსფორმაციის დაბალი ეფექტურობის პირობებში, უპირველეს ყოვლისა, უნდა იყოს ტრანსფორმირებული და არატრანსფორმირებული მცენარის უჯრედების გამორჩევის შესაძლებლობა, ე.ი. ვექტორს უნდა ჰქონდეს სელექტიური მარკერი. გარდა T-დნმ-ის მარკერებისა (რომელთა ექსპრესია შეიძლება მოდიფიცირებულ იქნას Ti-პლაზმიდის გენეტიკური ინჟინერიის პროცესში), აუცილებელია გენეტიკური მარკერების გამოყენება, რომელთა სელექტირება შეიძლება მოხდეს მცენარის უჯრედების ღონეზე. მცენარეებისათვის სელექტიურ მარკერად შეიძლება გამოყენებულ იქნას მაგალითად, ანტიბიოტიკებისადმი გამძლეობა.

მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიისათვის Ti-პლაზმიდის ვექტორად გამოყენებას არ შეიძლება ჰქონდეს პრაქტიკული მნიშვნელობა, სანამ T-დნმ რჩებოდა სიმსივნეწარმოქმნელი. მთლიანად ნორმალუ-

რი, ფერტილური მცენარეების რეგენერაცია შესაძლებელია მხოლოდ T-დნმ-ს onc-გენების დელეციის ან ინაქტივაციის შემთხვევაში. სელექტიური გამორჩევის განხორციელებისათვის იმ შემთხვევაში, როცა ინაქტივირებულია ან დელეცირებულია onc-გენები როგორც სიმსივნური ზრდის მაჩვენებლები, T-დნმ-ს შემადგენლობაში, როგორც უკვე აღნიშნული იყო, სელექტიური მარკერის სახით შეჰყავთ “ქიმერული” გენები, რომლებიც განსაზღვრავენ მაგალითად, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობას ან იყენებენ ოპინის წარმოქმნის შესახებ ტესტს.

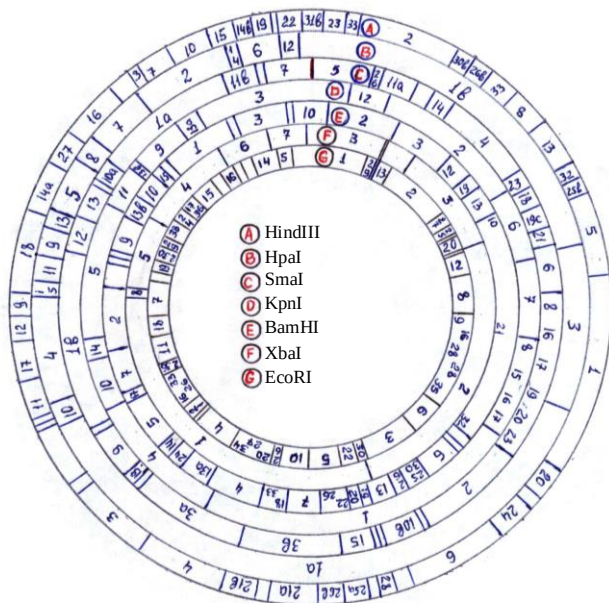
ზემოთაღნიშნული ცვლილებების განხორციელების შემდეგ Ti-პლაზმიდები შეიძლება გამოყენებულ იქნას ექსპერიმენტულ ვექტორად და მათი საშუალებით შესაძლებელია განხორციელდეს დნმ-ს დიდი თანმიმდევრობების (არანაკლებ 15 ათასი ნ.წ.) მცენარის უჯრედების ბირთვში სტაბილური გადატანა.

აუცილებელია აგრეთვე დაზუსტდეს, თუ როგორ უნდა ჩაშენდეს უცხო დნმ-ს ფრაგმენტი (გენი) Ti-პლაზმიდის შესაბამის საიტში. პირველ ეტაპს ნებისმიერ ასეთ პროექტში წარმოადგენს სასურველი ნიშნის მაკოდირებელი დნმ-ს თანმიმდევრობების იდენტიფიკაცია და გამოყოფა. შემდეგ ისინი უნდა ჩაშენდეს T-დნმ-ში.

დნმ-ს უცხო თანმიმდევრობების პროკარიოტულ კლონირებად ვექტორებში შეყვანა – საკამოდ მარტივი პროცედურაა, რომელიც შესაბამისი ფერმენტებით ვექტორის ერთ ან რამოდენიმე ფრაგმენტებად დაჭრასა და ლიგაზით შემდგომ “შეკერვაში” მდგომარეობს, რაც იწვევს გენის ვექტორული პლაზმიდის უნიკალურ საიტში შეყვანას.

ბაქტერიების გენეტიკურ ინჟინერიაში გამოყენებული ვექტორების უმეტესობას გააჩნია პატარა ზომა – 3-დან 15 ათასამდე ნ.წ. პროკარიოტებში ყველაზე ფართოდ გამოყენებული ვექტორ pBR322-ის ზომა სულ 4,4 ათასი ნ.წ. ტოლია. Ti-პლაზმიდებთან, როგორც მცენარის უჯრედებში გენეტიკური ინფორმაციის გადატანის ბუნებრივ ვექტორებთან მუშაობას ართულებს მათი დიდი ზომები – 100-150 მეგადალტონი ე.ი. 200 ათასამდე ნ.წ. დიდი ზომების გამო მათ გააჩნია რესტრიქტიული ენდონუკლეაზებით გახლეჩის ძალიან ბევრი საიტი. ასე, ნოპალინურ Ti-პლაზმიდა C58-ში (pTiC58) რესტრიქტაზა EcoRI-ით გახლეჩის საიტების რიცხვი აღწევს 50-ს (სურ. 137), რაც პრაქტიკულად გამორიცხავს მის სრულყოფილ აწეობასა და უშუალოდ მასში უცხო გენების კლონირების შესაძლებლობას – რესტრიქტაზებით გაჭრისა და შესაბამისი უცხო გენის შეყვანის შემდეგ ფუნქციონირებადი სრულყოფილი პლაზმიდის აწეობის შანსი ძალიან უმნიშვნელოა.

vir- და onc-გენების პლაზმიდის სხვადასხვა რაიონში ლოკალიზაციის გამო, შეუძლებელია აგრეთვე “მინი-Ti” კლონირებადი ვექტორის კონსტრუირება T-უბნის შესაბამის (მოხერხებულ) ადგილებში კლონირების უნიკალური საიტებითა და T-დნმ-ს გადატანისა და მისი



სურ. 137. ნოპალინური პლაზმიდა pTiC58-ის რესტრიქტიული რუკა (მეგადალტონი)

(აღრიცხვის საწყისად მიღებულია SmaI-ის შეცნობის საიტი 7 და 5 SmaI – ფრაგმენტებს შორის)

სტაბილური არსებობისათვის აუცილებელი ყველა ფუნქციის შენარჩუნებით. გარდა ამისა, აგრობაქტერიის ტრანსფორმაციის განსაკუთრებით დაბალი სიხშირე (10^{-9}) ამ ორგანიზმს ლიგირებული დნმ-ს ტრანსფორმაციისათვის ხდის უვარგის რეციპიენტად.

ამრიგად, ბუნებრივი Ti-პლაზმიდების, როგორც მცენარეთა უჯრედებისათვის ვექტორების, პრაქტიკული გამოყენება დაკავშირებულია ტექნიკური ხასიათის რიგ სირთულეებთან, რომლებიც განპირობებულია Ti-პლაზმიდების დიდი ზომებით, რაც შეუძლებელს ხდის გენების კლონირებას უშუალოდ T-დნმ-ში.

მაგრამ ეს სირთულეები აღვილი დასაძლევია მაგალითად, ე.წ. „შუალედი“ ვექტორების (intermediata vector) საშუალებით.*

“შუალედი” ვექტორი – არის Ti-პლაზმიდის T-უბნის შემცველი მცირე ზომის პლაზმიდა, საჭირო გენის E.coli-ს უჯრედებში კლონი-

* არსებობს აგრეთვე “ბინალური ვექტორები.” მათი სისტემა მოიცავს ერთ აგრობაქტერიაში ორი შეთავსებადი პლაზმიდის ურთიერთმოქმედებას, რომელთაგან ერთი შეიცავს vir-უბანს, ხოლო მეორე – T-დნმ-ს.

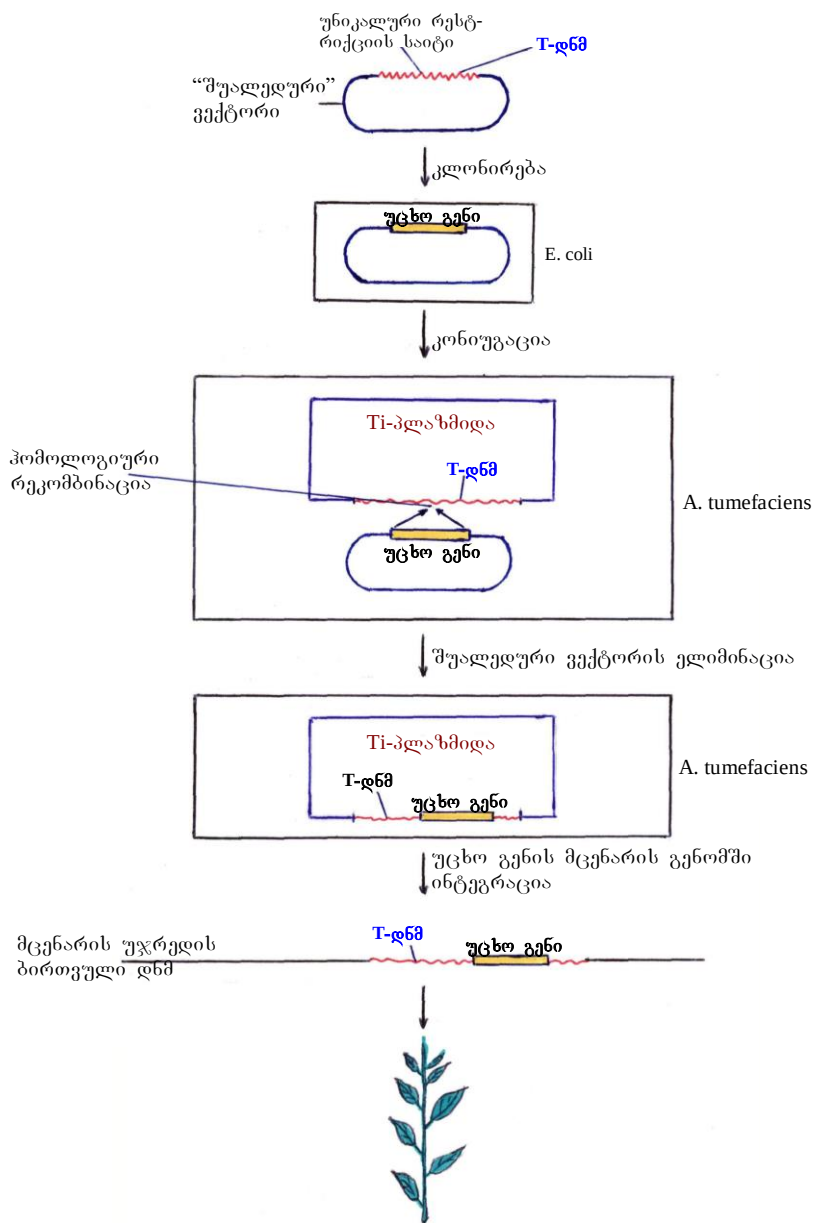
რებითა და ჰომოლოგიური რეკომბინაციის გზით მისი აგრობაქტერიის უჯრედებში შემდგომი გადატანით. “შუალედი” ვექტორი შედგება *E.coli*-ში კლონირებადი პლაზმიდისაგან, რომელშიც ჩაშენებულია *Ti*-პლაზმიდის *T*-უბნის შესაბამისი ფრაგმენტი. ამ შემთხვევაში საჭირო გენის კლონირებას ჩვეულებრივი მეთოდებით ახდენენ *E.coli*-ს უჯრედებში “შუალედი” ვექტორის უნიკალურ რესტრიქციულ საიტში (სურ. 138).

შუალედ ვექტორად იყენებენ როგორც *E.coli*-ს, ისე *A. tumefaciens*-ს უჯრედებში რეპლიცირების უნარის მქონე მცირე ზომის პლაზმიდებს. გარდა ამისა, როგორც აღნიშნული იყო, “შუალედი” ვექტორი უნდა შეიცავდეს *Ti*-პლაზმიდის *T*-უბნის ფრაგმენტს. კლონირება ტარდება ამ ფრაგმენტის უნიკალურ რესტრიქციულ საიტში ისეთნაირად, რომ კლონირებადი გენი ორივე მხრიდან ფლანკირებული (შემოსაზღვრული) აღმოჩნდეს *T*-დნმ-ს თანმიმდევრობებით. შემდეგ მიღებული რეკომბინანტული პლაზმიდა გადააქვთ (ჩვეულებრივ კონიუგაციის გზით) *Ti*-პლაზმიდის მატარებელ *A. tumefaciens*-ის უჯრედებში. *Ti*-პლაზმიდის და შუალედი ვექტორის *T*-დნმ-ს თანმიმდევრობებს შორის *in vivo* ჰომოლოგიური რეკომბინაციის შედეგად ადგილი აქვს კლონირებადი გენის ჩართვას *T*-დნმ-ს მოცემულ კონკრეტულ მონაკვეთში, რაც შემდეგ განაპირობებს მის გადატანას და სტაბილურ ინტეგრაციას მცენარის გენომში.

ასეთი *Ti*-პლაზმიდების გამორჩევისათვის იყენებენ ან აგრობაქტერიის უჯრედებიდან “შუალედი” ვექტორის ელიმინაციას, ან *Ti*-პლაზმიდის *A. tumefaciens*-ის სხვა შტამში კონიუგაციის პროცესს. განსაკუთრებულ შემთხვევებში არჩევენ ვარიანტებს, რომლებსაც შენარჩუნებული აქვთ კლონირებადი გენი ან მასთან შეჭიდული სელექტიური მარკერი.

ამრიგად, “შუალედი” ვექტორის საშუალებით კლონირება საჭიროებს შემდეგი ეტაპების ჩატარებას (სურ. 138):

- 1) უცხო გენის კლონირება *E. coli*-ში “შუალედი” ვექტორის შემადგენლობაში;
- 2) “შუალედი” ვექტორის უცხო გენით *E.coli*-დან *A. tumefaciens*-ში გადატანა;
- 3) *A. tumefaciens*-ის უჯრედებში უცხო გენის *Ti*-პლაზმიდის *T*-დნმ-ში ინტეგრირება;
- 4) *T*-დნმ-ს შემადგენლობაში უცხო გენის შემცველი *Ti*-პლაზმიდის მუტანტური ვარიანტის გამორჩევა;
- 5) სიმსივნის ინდუქცია მცენარეებში;
- 6) ტრანსფორმირებული უჯრედების იდენტიფიკაცია მცენარეთა უჯრედის კულტურაში;
- 7) მთლიანი მცენარის რეგენერაცია.



სურ. 138. "შუალედური" ვექტორის საშუალებით უცხო გენის გადატანის ეტაპები

“შუალედ” ვექტორებად შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას პლაზმიდები, რომლებსაც არ გააჩნიათ აგრობაქტერიის უჯრედებში სტაბილური რეპლიცირების უნარი, მაგალითად, ფართოდ გამოყენებული ვექტორი pBR322.

“შუალედი” ვექტორების საშუალებით მოხერხდა ბაქტერიული ტრანსპოზონ Tn5-ის კანამიციინსადმი გამძლეობის გენის და ბაქტერიის სტრეპტომიციინსა და სულფომინამიდისადმი გამძლეობაზე პასუხისმგებელი გენების თამბაქოს გენომში გადატანა, პარკოსნების ფაზეოლინის გენების და ბარდის რიბულოზობიფოსფოკარბოქსილზას მცირე სუბერთეულის გენების სხვადასხვა მცენარეების გენომში გადატანა, გენეტიკურ-ინჟინრულ მუშაობაში აუცილებელი დიდი რაოდენობის მუტანტების მიღება და სხვა.

3.6.1.4. კონსტრუირებული ვექტორების მცენარის უჯრედში შეყვანის მეთოდები

Ti-პლაზმიდების საფუძველზე კონსტრუირებული ვექტორების მცენარის უჯრედებში შეყვანის ანუ ვექტორული სისტემების საშუალებით გენების გადატანის რამოდენიმე მეთოდი არსებობს (სურ. 128). ქვემოთ განხილულია თითოეული მათგანი.

მთლიანი მცენარის ინფექცია აგრობაქტერიის შესაბამისი შტამით აუცილებლად ითვალისწინებს ქსოვილებზე (ჩვეულებრივ ფოთლის ან ღეროს) წინასწარ ჭრილობის მიყენებას. ხშირად მიმართავენ ღეროს დეკაპიტაციას (აჭრიან წვეროს). ინფექციისათვის იყენებენ *A. tumefaciens*-ის (კონსტრუირებული Ti-პლაზმიდებით) 2 დღე-ღამურ კულტურას, რომლის სუსპენზია (1.10^8 უჯ/მლ) გადააქვთ ჭრილობის ზედაპირზე.

in vitro ექსპლანტატების ინოკულაციის დროს ადგილი აქვს ქსოვილური ექსპლანტატების (მაგ. სტაფილოს რგოლი, თამბაქოს ღეროს ნაწილი, არაბიდოპსისის გაღივებული თესლები) კულტივირებას სტერილურ პირობებში აგრობაქტერიების კონსტრუირებული Ti-პლაზმიდით სუსპენზიებთან. შემდეგ ექსპლანტატები გადააქვთ ანტიბიოტიკების (კლაფორანი ან კარბენიცილინი) შემცველ საკვებ არეზე ბაქტერიების მოსაცილებლად.

აგრობაქტერიასთან მცენარის უჯრედების კოკულტივაცია ტარდება შემდეგნაირად: საკვებ არეში, რომელშიც მოთავსებულია 2-ან 3-დღიანი, უჯრედის გარსის რეგენერირებადი და დაყოფადაწყობული პროტოპლასტები (10^5 - 10^6 უჯ/მლ) შეაქვთ აგრობაქტერიის ახალი ღამის კულტურა ან აგრობაქტერიის სფეროპლასტები (10^7 - 10^8 უჯ/მლ) და ახდენენ კულტივირებას 36-48 საათის განმავლობაში. ამ პერიოდში ბაქტერიული უჯრედები (ან სფეროპლასტები) უკავშირდებიან მცენარის უჯრედებს და ადგილი აქვს T-დნმ-ის მცენარის გენომ-

ში გადატანისა და ინტეგრაციის პროცესს.

ტრანსფორმაცია ფოთლის რბოლების საშუალებით („ფოთლის რბოლები“ მეთოდი) ძალიან მოხერხებულია იმ მცენარეებისათვის, რომლებსაც საკვებ არეზე კალუსის წარმოქმნისა და მთლიანი მცენარის რეგენერაციის უნარი გააჩნიათ. სტერილური ფოთლებიდან ჭრიან რგოლებს, რომლებსაც ინოკულირებენ კონსტრუირებული Ti-პლაზმიდის შემცველი აგრობაქტერიებით. ამისათვის ფოთლის რგოლებს სპეციალური წესით ათავსებენ ფოთლის უჯრედებიდან მცენარის ყლორტის რეგენერაციის მასტიმულირებელი საკვები არის შემცველ პეტრის ჯამებზე.

ამრიგად, აგრობაქტერიის Ti-პლაზმიდები შეიძლება წარმატებით იქნას გამოყენებული ვექტორად მცენარის უჯრედებში გენების გადატანისათვის. ასეთი ტიპის ვექტორებისათვის ძირითადად შემზღუდულ ფაქტორებს მცენარეთა გენეტიკურ ინჟინერიაში მუშაობის დროს წარმოადგენს: ა) პატრონთა წრე ძირითადად შეზღუდულია ორლებნიანი მცენარეებით;* ბ) „შუალედური“ ვექტორების კონსტრუირების შედარებითი სირთულე; გ) სიმსივნური ზრდის გარდა სხვა ბუნებრივი სელექტიური მარკერების უქონლობა. მიუხედავად ამისა, შეიძლება ითქვას, რომ ყველა ძირითადი ტექნიკური წინააღმდეგობა, რაც დაკავშირებულია Ti-პლაზმიდების მცენარეულ ვექტორებად გამოყენებასთან ამჟამად მთლიანად დაძლეულია.

მნიშვნელოვან ინტერესს როგორც ვექტორები მცენარეებისათვის იწვევს აგრეთვე სიმსივნე „წვერისებრი ფესვის“ მაინდუცირებელი *A. rhizogenes*-ის Ri-პლაზმიდები. ტრანსფორმირებული ფესვების ინდუქციის მექანიზმი გვირგვინისებრი გალების წარმოქმნის მექანიზმის ანალოგიურია: ვირულენტურ პლაზმიდებს გააჩნიათ *A. tumefaciens*-ის Ti-პლაზმიდასთან ჰომოლოგიის დიდი უბნები, აქვთ თავიანთი T-დნმ, რომელიც გადაიტანება და ინტეგრირდება მცენარე-პატრონის გენომში.

3.6.2 მცენარის უჯრედებში გენების გადატანის პირდაპირი მეთოდები

ვექტორული სისტემების (ვექტორების) გამოყენებასთან ერთად მცენარეთა გენეტიკურ ინჟინერიაში ფართოდ იყენებენ აგრეთვე **მცენარის უჯრედებში გენების პირდაპირი გადატანის მეთოდებს**. ასეთი მეთოდების არსი საჭირო გენის მატარებელი იზოლირებული „შიშველი“ დნმ-ს სხვადასხვა ხერხებით მცენარის გარსმოცილებულ უჯრე-

* უკანასკნელ წლებში აღმოჩენილია აგრობაქტერიის ერთლებნიან მცენარეებში გამოყენების პრინციპული შესაძლებლობები.

დებში ე.ი. პროტოპლასტებში* შეყვანაში მდგომარეობს. აქედან გამომდინარე, აღნიშნული მეთოდები გამოიყენება მხოლოდ იმ მცენარეებთან მუშაობის პროცესში, რომელთაგან შესაძლებელია პროტოპლასტების მიღება. განსაკუთრებით დიდი მნიშვნელობა აქვთ ამ მეთოდებს ერთლებნიანი მცენარეებისათვის (ბუნებრივია იმათთვის, რომლებშიც შესაძლებელია პროტოპლასტების მიღება), რადგანაც მათში გართულებულია აგრობაქტერიების, როგორც გენეტიკური ინფორმაციების გადამტანების გამოყენება. ბოლო დრომდე, როცა აღმოჩენილი იქნა აგრობაქტერიების ერთლებნიან მცენარეებში გამოყენების პრინციპული შესაძლებლობები, გენების გადატანის პირდაპირი მეთოდები ითვლებოდა ერთლებნიან მცენარეებში უცხო გენების გადატანის ერთადერთ საშუალებად.

თავისუფალი შთანთქმის მეთოდი ანუ მცენარის პროტოპლასტების ღრწოვულ ღმ-თან კოკულტივაცია მსგავსია ადრე ცხოველებისათვის დამუშავებული ანალოგიური მეთოდის და მდგომარეობს მცენარის პროტოპლასტებზე გარკვეული კონცენტრაციის (ჩვეულებრივ 2-10⁶ უჯ/მლ) იზოლირებული ტრანსფორმირებადი დნმ-ს (მათ შორის pTi, სხვა ვექტორული პლაზმიდები), პოლიეთილენგლიკოლის (40% -იანი ხსნარი; მოლ. მასა. 1500) და მატარებლის სახით თიშუსის დნმ-ს დამატებაში. პოლიეთილენგლიკოლი ხელს უწყობს დნმ-ს პროტოპლასტებთან დაკავშირებას, რომლებიც შემდეგ პინოციტოზით** შთანთქავენ დნმ-ს უჯრედის შიგნით. ასეთ არეში პროტოპლასტებს ინკუბირებენ 30 წთ-ის განმავლობაში 26°C ტემპერატურაზე, შემდეგ თანდათანობით აცილებენ პოლიეთილენგლიკოლს და კულტივირებენ საკვებ არეზე ჯერ სამი დღის განმავლობაში სიბნელეში 25°C ტემპერატურაზე, ხოლო შემდეგ სინათლეზე. ერთი კვირის შემდეგ უჯრედების მიკროკოლონიებს სელექტიურ არეზე გადარგავენ და იწყებენ ტრანსფორმირებული კალუსების, ხოლო შემდეგ მცენარეების გამოჩენას.

პროტოპლასტებში დნმ-ს მიკროინექციის მეთოდი*** პირველად დამუშავებული იქნა დნმ-ს ცხოველურ უჯრედებში შეყვანისათვის. ამჟამად მას წარმატებით იყენებენ სხვადასხვა ლაბორატორიებში უცხო დნმ-ს მცენარის პროტოპლასტებში შეყვანისათვის. ეს მეთოდი პოტენციურად წარმოადგენს უცხო გენების უმაღლეს მცენარეებში

* პროტოპლასტები დაწვრილებით განხილულია IV ნაწილში – “უჯრედული ინჟინერია.”

** პინოციტოზი (ბერძნ. pino - ვსვამ, შევიწოვ და cito – უჯრედი) – არის უჯრედის მიერ სითხის მიტაცება და შთანთქმა.

*** არსებობს აგრეთვე მთლიან მცენარეში დნმ-ს ინექციის მეთოდი. ამისათვის ორგანიზმის განვითარების გარკვეულ სტადიაზე შპრიცით ქსოვილში (მაგ. განვითარებადი თავთავის ზედა ღეროში გენერაციულ უჯრედში მეთილის დაწყებად 2 კვირით ადრე) შეჰყავთ უცხო გენი. წარმოქმნილ თესლს შემდეგ აანალიზებენ სელექტიური ნიშნის (მარკერის) მიხედვით.

შეყვანის ყველაზე უნივერსალურ საშუალებას, რადგანაც რეციპიენტად შეიძლება გამოყენებული იქნას ობიექტების ფართო წრე – გამოყენება როგორც ცალკეული კულტურალური უჯრედები, ისე მცერის, ემბრიონების და სხვადასხვა ქსოვილების სომატური უჯრედებიც. მცენარის პროტოპლასტების მიკროინექციის განხორციელებისათვის ჩვეულებრივ იყენებენ „ელექტროდული მილის“ მიკრონემსებს გარე დიამეტრით 2 მკმ და შიგა დიამეტრით 1-1,25 მკმ. მცენარის პროტოპლასტების მიკროინექციის პროცედურა წარმოდგენილია 139-ე სურათზე. იზოლირებული პროტოპლასტების კულტივირების მე-2-5 დღეს მინის მიკრონემსით ჰიდრაულიკურ სისტემიანი მიკრომანიპულატორის საშუალებით პროტოპლასტის ციტოპლასმაში ან უკეთეს შემთხვევაში უშუალოდ ბირთვში (დაფიქსირებული სპეციალური მოწყობილობით) შეჰყავთ 0,1-1,0 მკმ იზოლირებული დნმ-ს (მაგ. იზოლირებული ვექტორული პლასმიდები) შემცველი ბუფერული ხსნარი (ინექციის მოცულობა ყოველ პროტოპლასტში 10^8 - 10^9 მლ). პროტოპლასტები ინექციამდე და ინექციის შემდეგ მიკროკოლონიების მიღებამდე კულტივირდება სინათლეზე 3-4 კვირის განმავლობაში საერთოდ მიღებული მეთოდის თანახმად. შემდეგ მიკროკოლონიები სილიდით 0,5-1,0 მმ გადააქვთ სელექტიურ არეებზე და ახდენენ ტრანსფორმირებული მცენარეების გამორჩევას. ტრანსფორმაციის სიხშირე საკმაოდ მაღალია – 40%-მდე. ინექციის მეთოდის სრულყოფით საფასებით შესაძლებელია ტრანსფორმაციის სიხშირის 100%-მდე მიყვანა, ისე როგორც ამას ადგილი აქვს ცხოველურ უჯრედებში. უნდა აღინიშნოს, რომ ინექტირებული უცხო დნმ-ს მცენარის პროტოპლასტის გენომში ჩაშენების მექანიზმი ჯერ კიდევ მთლიანად ნათელი არ არის. აღნიშნული მეთოდის ნაკლოვან მხარეს მიეკუთვნება შედარებით დაბალი პროდუქტიულობა (50-მდე ინექცია საათში) და საკმაოდ რთული მოწყობილობების აუცილებლობა.

მცენარის პროტოპლასტების ელექტროფორაციის (ელექტროშოკის) მეთოდი ასევე პირველად დამუშავებულ იქნა ცხოველთა უჯრედებისათვის. ამჟამად მოდიფიცირებული სახით მას ჰქვია უცხო დნმ-ს მცენარის პროტოპლასტებში შეყვანა პროტოპლასტების მემბრანებში დნმ-ს უკეთ შეღწევის ხელშეწყობი მაღალი ძაბვის ელექტრული იმპულსების საშუალებით. პროტოპლასტებისა და იზოლირებული უცხო დნმ-ის (მაგ. ვექტორული პლასმიდების) ნარევი გადააქვთ ელექტროფორაციის კამერაში და ატარებენ მაღალი ძაბვის დენის მოკლე იმპულსებს (ჩვეულებრივ სამი იმპულსი 10 წმ-ის ინტერვალით, ძაბვა 1-1,2 kV/სმ, ხანგრძლივობა 1-30 წამი). დენის გაფლის პერიოდში პროტოპლასტების მემბრანაში წარმოიქმნება ხვრედები (ფორები), რომელთა გზით ელექტრული შოკის პროცესში ან მის შემდეგ დნმ-ს მოლეკულები შეადწევენ უჯრედის შიგნით. შემდეგ პროტოპლასტები გადააქვთ შესაბამის საკვებ არეში კულტივირების

სათვის. ელექტროფორაციის ეფექტურობა დგინდება ელექტროშოკიდან 24-48 საათის შემდეგ. გადარჩენილი უჯრედები ქმნიან მიკროკოლონიებს, რომლებიც 10-14 დღის შემდეგ გადააქვთ სელექტიურ არეებზე და არჩევენ ტრანსფორმირებულ მცენარეებს.

დნმ-ს ლიპოსომებში ჩაწობის მეთოდი მდგომარეობს მცენარის უჯრედებში შეყვანისათვის განკუთვნილი იზოლირებული უცხო დნმ-ს ინკაფსულირებაში სფეროსებურ სხეულში, რომლის გარსი შედგება ფოსფოლიპიდებისაგან (ლიპოსომებისაგან). შემდეგ ასეთი ლიპოსომები შეჰყავთ პროტოპლასტებში ლიპოსომებისა და პროტოპლასტების ნარევის პოლიეთილენგლიკოლით დამუშავების გზით. ეს უკანასკნელი ხელს უწყობს ლიპოსომების პროტოპლასტებთან დაკავშირებას, რომლებიც შემდეგ პინოციტოზით შთანთქავენ ლიპოსომებს და მათ შიგთავსს. მცენარეებში გენების შეყვანის ახალი სისტემის უპირატესობას წარმოადგენს: ლიპოსომების დაბალი ტოქსიკურობა მცენარის უჯრედებისათვის; სხვადასხვა სახეობის მცენარეებში მისი გამოყენების შესაძლებლობა; ლიპოსომებში ჩაწობილი ნუკლეინის მჟავების დაცვა კულტურალურ არეში არსებული სხვადასხვა ფერმენტების (ნუკლეაზების) დამშლელი მოქმედებისაგან; მცენარის პროტოპლასტებში ნუკლეინის მჟავების შეყვანის მაღალი ეფექტურობა.

დასასრულს, უნდა აღინიშნოს, რომ მცენარეებში გენების პირდაპირი გადატანის ყველა ჩამოთვლილი მეთოდი მუდმივად განიცდის სრულყოფას. ასე მაგალითად, მცენარეებში გენების პირდაპირი გადატანის პირველი შრომების პუბლიკაციიდან დღემდე გასულ პერიოდში მისი ეფექტურობა გაიზარდა 1000-ჯერ და მეტად. უკანასკნელ პერიოდში მუშავდება მცენარეებში გენების პირდაპირი გადატანის ახალი მეთოდები, რომლებიც ხსნიან პროტოპლასტების გამოყენების აუცილებლობას, რასაც მეტად დიდი მნიშვნელობა აქვს, განსაკუთრებით ერთლებნიანი მცენარეებისათვის, რადგანაც მათში გაძნელებულია პროტოპლასტების მიღება. მათ მიეკუთვნება: **გენების შეყვანა უშუალოდ ემბრიონებში, მტვრის მარცვლებში ან თესვებში, “საფანტისანი თოფის” მეთოდი, მიკროლაზერის მეთოდი** და სხვა.

ამრიგად, მცენარეთა გენეტიკურ ინჟინერიას მცენარეთა მრავალი სახეობისათვის გააჩნია გენების გადატანის საკმაოდ საიმედო მეთოდები. ამასთან ერთად რიგი მცენარეებისათვის, მათ შორის უმეტესობა სამეურნეო-ძვირფასი მარცვლოვანი კულტურებისათვის, დღეისათვის საიმედო და მაღალეფექტური მეთოდები ჯერ დამუშავებული არ არის. ექსპერიმენტები ამ მიმართულებით მიმდინარეობს მთელ მსოფლიოში, და ალბათ უმოკლეს მომავალში ასეთი მეთოდები დამუშავებული და გამოყენებული იქნება მცენარეთა სელექციაში მეტად საინტერესო ტრანსგენური მცენარეების მისაღებად.

ნაწილი IV

უჯრედული ინჟინერია

4.1. იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურის როლი ბიოტექნოლოგიაში

უჯრედული ინჟინერია არის ბიოტექნოლოგიის მეთოდი, რომელიც ლაბორატორიული გზით სინჯარაში (in vitro) უჯრედის დონეზე ამუშავებს ცოცხალი ორგანიზმების გამრავლებისა და გენეტიკური აპარატის კონსტრუირების (გენომთან მანიპულირების) ხერხებს, ამ ორგანიზმებში ახალი სასარგებლო ნიშან-თვისებების წარმოქმნის მიზნით.

უჯრედული ინჟინერია დაფუძნებულია იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურის გამოყენებაზე (სურ. 140).

იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურა* ეწოდება ორგანიზმიდან იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტივირებას (გამოზრდას) ხელოვნურ საკვებ არეზე სტერილურ (ასეპტიკურ) პირობებში.

ტერმინ “იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურის” ქვეშ იგულისხმება მცენარის: 1) იზოლირებული ორგანოების (ფესვის წვერო,¹ ღეროს მერისტემა,² ფოთლების პრიმორდიუმი,³ ახალგაზრდა ყვავილების ნაწილები,⁴ ნაყოფების ქსოვილები,⁵ მტვრიანები, მტვერი და ა.შ.), 2) იზოლირებული ნასკვების, თესლკვირტების, ჩანასახების, 3) კალუსური ქსოვილების, 4)

* ხშირად მას ასევე უწოდებენ: „იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურას“, „უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურას“, „უჯრედულ კულტურებს“, „ქსოვილების კულტურას“ ან „უჯრედულ ტექნოლოგიას“.

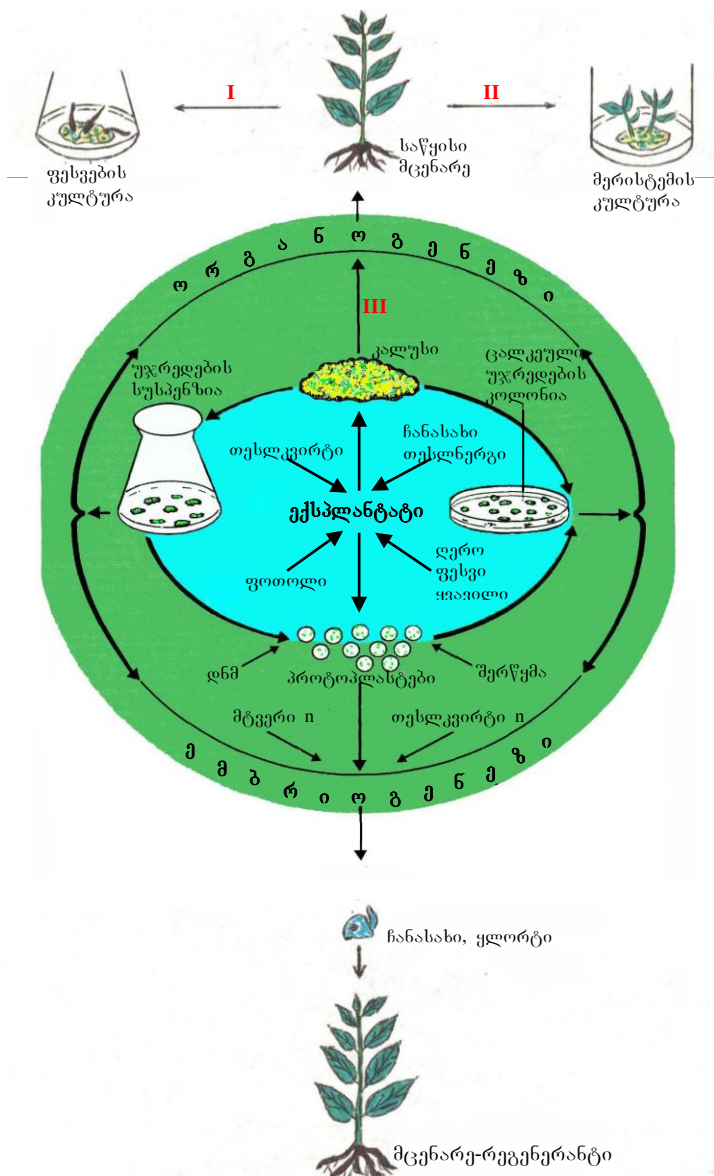
¹ ძირითადად ხდება ახალგაზრდა აღმონაცენების, ზრდასრული მცენარის, მიწისზედა ორგანოების დაფესვიანებით მიღებული ადვენტური, კალუსიდან განვითარებული, გაუღივებელი თესლების ჩანასახების ფესვის წვეროს კულტივირება.

² ხდება აგრეთვე ღეროს სეგმენტების და ცალკეული ქსოვილების (ამონაჭრების) კულტივირება.

³ ხდება აგრეთვე მთლიანი ფოთლების, ფოთლების ფრაგმენტების, სტერილური აღმონაცენების ფოთლების, აპიკალური კვირტების განვითარებული ფოთლების და სხვა კულტივირება.

⁴ საყვავილე კვირტები, ყვავილსაჯდომი, ყვავილის ყუნწი, ჯამის ფოთოლაკები, გვირგვინის ფურცლები, ბუტკო.

⁵ საწნე ტომსიკები, მეზოკარპიუმი (აღბელო), ეპიკარპიუმი (ფლაველო), პერიკარპიუმი.



სურ. 140. უჯრედული ინჟინერიის ობიექტები და პროცესები

(I) – საწყისი მცენარიდან ფესვის კულტურაზე გადასვლა; **(II)** – საწყისი მცენარიდან მერისტემის კულტურაზე გადასვლა; **(III)** – საწყისი მცენარიდან ექსპლანტისაგან და უკან ან ორგანოგენეზის, ან ემბრიოგენეზის გზით მცენარე-რეგენერანტისაგან გადასვლა.

სუსპენზიური კულტურების, 5) იზოლირებული პროტოპლასტების კულტივირება ანუ გამოზრდა.

ამჟამად მცენარეთა იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურის მეთოდს განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება ბიოტექნოლოგიაში მისი ფართო გამოყენების შესაძლებლობების გამო.

ამ მეთოდის საშუალებით წყდება მრავალი თეორიული პრობლემა და საკითხი: მცენარის უჯრედის დაბერების თავისებურებები; ციტოდიფერენცირებისა და მორფოგენეზის პროცესები; მცენარის უჯრედში გენების მოქმედების მექანიზმები; სომაკლონური ცვალებადობის მექანიზმები; მცენარეების არახელსაყრელი გარემო პირობებისადმი (დამლაშება, მჟავე არე, დაბალი ტემპერატურა და სხვა) და პათოგენებისადმი გამძლეობის მექანიზმები; სინათლის გავლენა ქლოროფილის წარმოქმნაზე; უმაღლესი და უმაღლესი მცენარეების ურთიერთდამოკიდებულება; ფიტოჰორმონების, ნახშირწყლების, ვიტამინების, მინერალური ნივთიერებების როლი კალუსოგენეზის, ორგანოგენეზის, სომატური ემრიოგენეზის დროს; მეორადი მეტაბოლიზმის რეგულაცია; მცენარეებში სიმსივნეწარმოქმნის მექანიზმი და ა.შ.

პრაქტიკული თვალსაზრისით ამ მეთოდის ბიოტექნოლოგიაში გამოყენების 3 ძირითად მიმართულებას გამოვყოფენ:

1. იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების გამოყენება მცენარეთა კლონური მიკროგამრავლებასა და სარგავი მასალის ვირუსოვანი ინფექციებისა და სხვა პათოგენებისაგან გაჯანსაღებაში.

კლონური მიკროგამრავლების მეთოდი საშუალებას იძლევა კლიმატური პირობებისაგან დამოუკიდებლად ერთი მერისტემისაგან მთელი წლის განმავლობაში მიღებულ იქნას მილიონამდე მცენარე.

2 იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების გამოყენება მცენარეთა სელექციაში.

ამ მიმართულების მეთოდები იყოფა ორ ჯგუფად (ცხრილი 13):

1) ახალი გენოტიპების კონსტრუირების მეთოდები ანუ საკუთრივ უჯრედული სელექცია, 2) სელექციური პროცესის დაჩქარებისა და გადავილების მეთოდები ანუ დამხმარე მეთოდები სელექციაში.

პირველ ჯგუფში შედის შემდეგი მეთოდები: სომაკლონური ვარიანტების გამოყენება; ინდუცირებული მუტანტების მიღება; სომატური ჰიბრიდიზაცია; ტრანსგენური მცენარეების მიღება.

მეორე ჯგუფში შედის შემდეგი მეთოდები: *in vitro* განაყოფიერება; იზოლირებული განაყოფიერებული თესლკვირტების, ნასკვებისა და მოუშწიფებელი ჰიბრიდული ჩანასახების კულტურა; ლეტალური ჰიბრიდების ქსოვილებიდან მცენარეთა რეგენერაცია; ჰაპლოიდების მიღება; ახალი ჯიშების, ჰიბრიდების, ხაზების კლონური მიკროგამრავლება; მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვა (სურ. 141).

3. მცენარეთა იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების გა-

**იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების მეთოდები
მცენარეთა სელექციაში**

ცხრილი 13

ახალი გენოტიპების კონსტრუირების მეთოდები ანუ საკუთრივ უჯრედული სელექცია	სელექციური პროცესის დაჩქარებისა და ბაადვილების მეთოდები ანუ დამხმარე მეთოდები სელექციაში
1. სომაკლონური ვარიანტების გამოყენება 2. ინდუცირებული მუტანტების მიღება 3. სომატური ჰიბრიდიზაცია 4. ტრანსგენური მცენარეების მიღება ა) ბირთვული გენების გადატანა ბ) ციტოპლაზმური გენების გადატანა	1. in vitro განაყოფიერება (პროგამური შეუთავსებლობის დაძლევა) 2. იზოლირებული განაყოფიერებული თესლკვირტების, ნასკვებისა და მოუმწიფებელი ჰიბრიდული ჩანასახების კულტურა (პოსტგამური შეუთავსებლობის დაძლევა) 3. ლეტალური ჰიბრიდების ქსოვილებიდან მცენარეთა რეგენერაცია (მორფოგენეზი ჰიბრიდული ქსოვილების კულტურაში) 4. პაპლოიდების მიღება 5. ახალი ჯიშების, ჰიბრიდების, ხაზების კლონური მიკროგამავლება (ხელოვნური თესლების შექმნის ჩათვლით) 6. მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვა (უჯრედებისა და ქსოვილების ბანკი)

მოყენება მეორადი სინთეზის ნივთიერებების* მისაღებად.

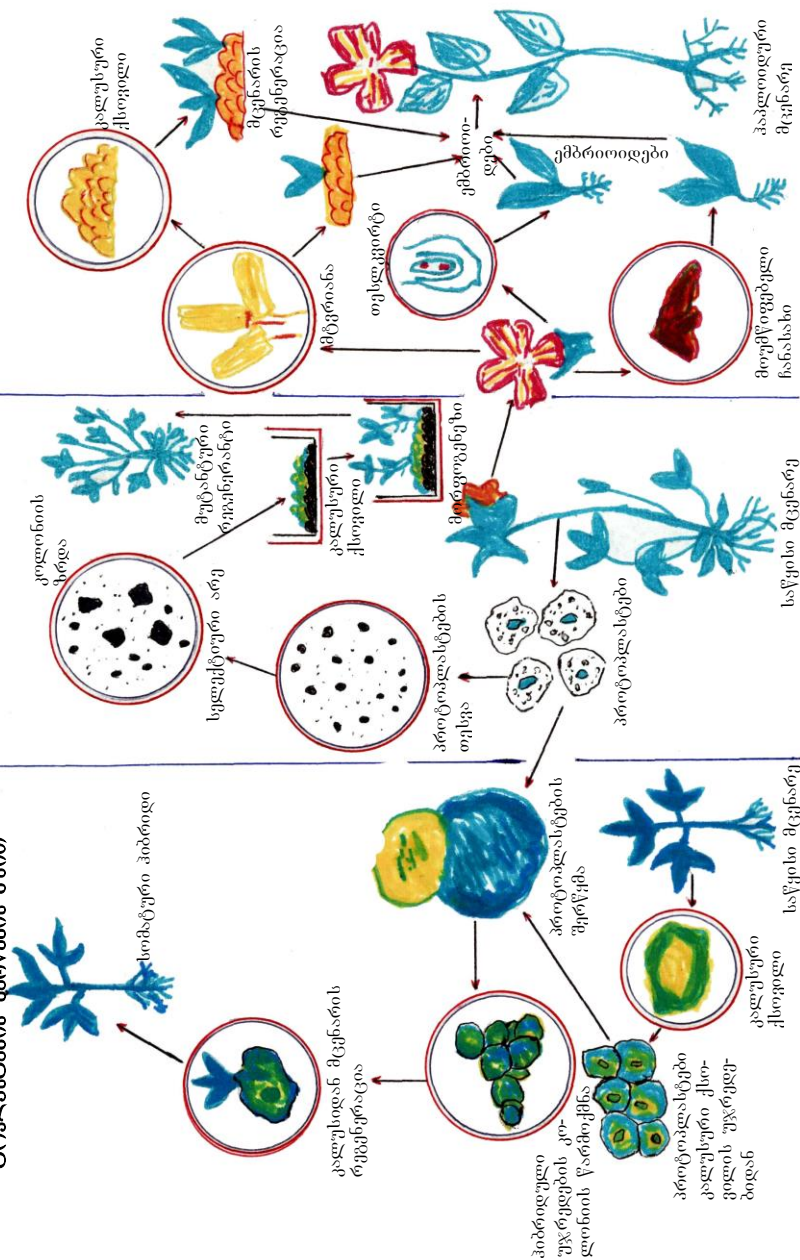
მეორადი სინთეზის ნივთიერებებს მიეკუთვნება ალკალოიდები, გლუკოზიდები, ჰორმონები, ეთეროვანი ზეთები, სტეროიდები, კაროტინოიდები, ტერპენოიდები, ფენოლები და სხვა. ისინი წარმოადგენენ ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს და ფართოდ გამოიყენება მედიცინაში, სოფლის მეურნეობაში, პარფიუმერიაში, კვების მრეწველობაში და ეროვნული მეურნეობის სხვა დარგებში. აღნიშნული მეთოდი დაფუძნებულია იზოლირებული მცენარის უჯრედებისა და ქსოვილების მიერ სინჯარაში (in vitro) ამ ნივთიერებების პროდუქციების (სინთეზირების) უნარზე. მაგალითად, იაპონიაში თამბაქოს უჯრედებისაგან ღებულობენ ნიკოტინის მჟავას, რუსეთში და ზოგი-

* მათ ასევე უწოდებენ: „მეორადი ცვლის პროდუქტებს“, „მეორადი ცვლის ნივთიერებებს“, „ბიოსინთეზის მეორად პროდუქტებს“, „მეორადი მეტაბოლიზმის პროდუქტებს“, „მეორად ნაერთებს“, „მეორად მეტაბოლიტებს.“

სიზოგადობა პიკოტონების მიხედვით პრ-
ტოპლასტების ფორმის გზით

სელემცია უჯრედულ დონეზე

ჰაპლოიდების მიხედვით მეთოდები



სურ. 141. უჯრედული ინჟინერიის მეთოდები მცენარეულ სელექციაში

ერთ სხვა ქვეყნებში: დიოსგენინს – დიოსკორეას მცენარის უჯრედებისაგან, აიმოლინს – რეუვოლფის უჯრედების კულტურისაგან, ჟენ-შენის ალკალოიდს – მცენარე ჟენ-შენის ფესურების უჯრედებისაგან და სხვა. უნდა აღინიშნოს, რომ კულტივირებადი უჯრედების პროდუქტიულობა, უჯრედული სელექციის შედეგად, შეიძლება გაცილებით სჭარბობდეს მთლიანი მცენარის პროდუქტიულობას. ბიოტექნოლოგიური მეთოდებით მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღების უპირატესობა მდგომარეობს აგრეთვე მოცემულ გარემო პირობებში გაერცელების უნარს მოკლებული მცენარეების ამ მიზნით გამოყენებისა და პროდუქციის მთელი წლის განმავლობაში მიღების შესაძლებლობაში.

4.2. იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროპაგირატების კულტურის მეთოდის განვითარების ისტორია

მცენარეთა იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურის მეთოდის განვითარების წინაისტორიად შეიძლება ჩაითვალოს პერიოდი 1892 წლიდან 1902 წლამდე. XIX საუკუნის ბოლოსა და XX საუკუნის დასაწყისში გერმანელი მეცნიერები **ჰ. ფიოხტინგი (H. Vochting, 1892)**, **კ. რეჰინგერი (K. Rechinger, 1893)**, **გ. ჰაბერლანდტი (G. Haberlandt, 1902)** ცდილობდნენ მცენარისაგან იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილების, ბუხუსების გამოზრდას კნოპის მიხედვით მინერალური მარილებისა და საქაროზას შემცველ ხსნარებზე. *in vitro* ხანგრძლივად მზარდი კულტურები მათ ვერ მიიღეს. გ. ჰაბერლანდი აკვირდებოდა ფოთლის მეზოფილის უჯრედების ცოცხლად შენარჩუნებას რამდენიმე დღის განმავლობაში. კ. რეჰინგერმა დაადგინა ალვის ხის ღეროს სეგმენტების, ბაბუაწვერას ფესვების კალუსის წარმოქმნის უნარი.

მიუხედავად იმისა, რომ ამ მკვლევარებმა ვერ მიაღწიეს ექსპერიმენტულ წარმატებებს, მათ გამოთქვეს რიგი მოსაზრებები და ჰიპოთეზები, რომლებმაც დადასტურება ჰპოვეს შემდეგში. **ჰ. ფიოხტინგი**, სწავლობდა რა მცენარის პოლარობას, მივიდა დასკვნამდე, რომ იგი დამახასიათებელია არა მარტო მცენარის ორგანოებისათვის, არამედ ცალკეული უჯრედებისათვისაც. **გ. ჰაბერლანდტი** წამოაყენა ჰიპოთეზა ყოველი ცოცხალი უჯრედის ტოტიპოტენტურობის შესახებ.

1922 წელს ამერიკელმა მკვლევარმა **ვ. რობინსმა (W.J. Robbins)** და მისგან დამოუკიდებლად გერმანელმა მეცნიერმა **ვ. კოტემ (W. Kotte)** აჩვენეს პომიდორისა და სიმინდის ფესვის წვეროს მერისტემის ხელოვნურ საკვებ არეზე კულტივირების შესაძლებლობა.

მცენარეთა იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურის მეთოდის განვითარების ისტორია იწყება ორი ცნობილი მეცნიერის – **ფილიპ უაიტისა (P.R. White) (ა.შ.შ)** და **როჟე გოტრეს (R. J. Cantheret) (საფრანგეთი) შრომებით (1932-1934 წ.წ.)**. ამ მეცნიერებმა დაიწყეს ვ. რობინსისა და ვ. კოტეს ცდების განმეორებითა და ანალიზით და წავიდნენ კიდევ უფრო შორს – დაადგინეს, რომ თუ კულტივირებადი ფესვების წვეროები პერიოდულად იქნება გადატანილი (გადათესილი) ახალ საკვებ არეზე, მაშინ მათ შეუძლიათ ზრდა და კულტივირება განუსაზღვრელად დიდხანს. **რ. გოტრემ** 1934 წელს კულტურაში შეიყვანა ახალი ობიექტები – მერქნიანი მცენარეების კამბიალური წარმოშობის კალუსური ქსოვილები. **ფ. უაიტმა** 1939 წელს აჩვენა მცენარის სიმსივნის გამომწვევი

ქსოვილების განუსაზღვრელი ზრდის უნარი სუბკულტივირების* დროს.

1940-1960 წლებში რ. გოტრესა და ვ. უაიტის მოსწავლეებმა და მიმდევრებმა მნიშვნელოვნად განამტკიცეს მიღწევები ამ მიმართულებით. გაიზარდა რიცხვი იმ მცენარეთა სახეობებისა, რომელთა უჯრედები და ქსოვილები კულტივირებულ იქნა *in vitro* პირობებში. დამუშავებულ იქნა მრავალი საკვები არის შედგენილობა. გარკვეულ იქნა, რომ უჯრედული კულტურების ნორმალური ზრდა-განვითარებისათვის აუცილებელია ვიტამინები და ზრდის სტიმულატორები. ამერიკელი მეცნიერების **ფ. სკუგისა (F. Skhoog)** და **კ. მილერის (C. Miller)** ცდებით 1953 წელს აღმოჩენილ იქნა ზრდის სტიმულატორების ახალი კლასი – ციტოკინინები. დამუშავებულ იქნა უჯრედული სუსპენზიების დიდი რაოდენობით მიღებისა და გამოზრდის მეთოდი, აგრეთვე სუსპენზიიდან გამოყოფილი ცალკეული უჯრედების კულტივირების მეთოდი და სხვა.

1960-1975 წლებში ყველაზე მნიშვნელოვანი მოვლენა იყო ნოტინგემის უნივერსიტეტის (ინგლისი) პროფესორის **ედვარდ კოჩინგის (E. Coching)** მიერ პექტოლიზური და ცელულოზური ფერმენტების ნარევის გამოყენებით პომიდორის ფესვისა და ნაყოფების ქსოვილებიდან იზოლირებული პროტოპლასტების მიღების მეთოდის დამუშავება. ამ პერიოდში დადგენილ იქნა აგრეთვე პროტოპლასტების შერწყმის გზით სომატური უჯრედების პიბრიდიზაციის და მათში ვირუსული რნმ-ს, უჯრედის ორგანელების, ბაქტერიების უჯრედების შეყვანის მეთოდები. დამუშავებულ იქნა მერისტემის კულტურის მეთოდი (**G. Morel, 1959; P. Бутенко, 1960, 1964**), რომელიც საშუალებას იძლევა სწრაფად და მაღალი კოეფიციენტით კლონურად გამრავლდეს მცენარეები ასეპტიკურ პირობებში. ინდოელმა მეცნიერებმა **ს. გუჰამ და ს. მაგეშვარი (S. Guha, S. Mageshwari)** 1966 წელს საფუძველი ჩაუყარეს იზოლირებული მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების კულტურაში მუშაობას ჰაპლოიდური და დიპლოიდური მცენარეების მიღების მიზნით.

1976 წლიდან დღემდე გრძელდება *in vitro* ტექნიკის, კულტივირებადი ობიექტების ბიოლოგიისა და მათ ბაზაზე ახალი ტექნოლოგიების შექმნის სწრაფი განვითარება. დამუშავებულია იზოლირებული პროტოპლასტების ელექტროშერწყმის, იმობილიზებული უჯრედების კულტივირებისა და პიბრიდული უჯრედების სელექციის სხვადასხვა მეთოდები. იზოლირებული პროტოპლასტებისა და ვექტორების გამოყენებით დადგენილია ორლებნიან მცენარეებში გენების გადატანის ეფექტური მეთოდები და სხვა.

* განმარტება იხ. გვ 396.

4.3. ბიოტექნოლოგიური ლაბორატორიის ორგანიზაციის სპეციფიკა და იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტივირების პირობები

4.3.1. ბიოტექნოლოგიური ლაბორატორიის ორგანიზაციის სპეციფიკა

4.3.1.1. ლაბორატორიის შენობა, მოწყობილობა და ხელსაწყოები

იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურაში მუშაობის ჩატარებისათვის აუცილებელია **სპეციალური ბიოტექნოლოგიური ლაბორატორიის ორგანიზაცია,*** რომლის სპეციფიკას განსაზღვრავს მუშაობის ძირითადი პირობა – **მკაცრი სტერილურობის დაცვა**. ბიოტექნოლოგიურმა ლაბორატორიამ უნდა უზრუნველყოს შემდეგი ოპერაციების ჩატარება: საკვები არეების მომზადება, სტერილიზაცია და შენახვა; გამოსაყენებელი ჭურჭლის, ინსტრუმენტებისა და მასალების რეცხვა, სტერილიზაცია და შენახვა; ასეპტიკური მანიპულაციები მცენარეულ ობიექტთან; კულტურების გამოზრდა გარკვეულ რეგულირებად პირობებში; მიღებული შედეგების ანალიზი.

აქედან გამომდინარე, ბიოტექნოლოგიური ლაბორატორიის შენობას, თუ პირობები ამის საშუალებას იძლევა, აუცილებლად უნდა ჰქონდეს შემდეგი ოთახები:

1. **სამრეცხაო ოთახი;**
 2. **საკვები არეების, ინსტრუმენტებისა და მასალების სტერილიზაციის ოთახი;**
 3. **საკვები არეების მომზადების ოთახი;**
 4. **სტერილურ (ასეპტიკურ) პირობებში ოპერაციების ჩატარების ოთახი ანუ ბოქსი (“საოპერაციო” ოთახი);**
 5. **კულტურების გამოზრდის ოთახი (“კულტურალური” ოთახი);**
 6. **მიღებული შედეგების დამუშავებისა და შენახვის ოთახი.****
- სამრეცხაო ოთახში** უნდა იყოს ღრმა სარეცხელები ცივი და

* იმის გამო, რომ ბიოტექნოლოგიური ლაბორატორიის ორგანიზაცია ძირითადად დამოკიდებულია კვლევის ხასიათსა და ობიექტზე, აქ განხილულია ორგანიზაციის მხოლოდ ზოგადი პრინციპები და არა რომელიმე ერთი ამოცანის გადასაწყვეტი ლაბორატორიის დაგეგმვის ტიპი, ხელსაწყოებისა და მოწყობილობების კომპლექტი.

** თუ პირობები არ იძლევა საშუალებას იყოს ამდენი ოთახი, მაშინ გამონაკლისის სახით შეიძლება ერთ ოთახში რამდენიმე ოპერაციის შეთავსებით შესრულება (მაგ., შეიძლება სამრეცხაო ოთახისა და საკვები არეების, ინსტრუმენტებისა და მასალების სტერილიზაციის ოთახის შეთავსება და სხვა).

ცხელი წყლით, ჭურჭლები დისტილირებული და ბიდისტილირებული წყლით. სარეცხელები მზადდება მჟავაგამძლე მასალისაგან, რადგანაც ჭურჭლის რეცხვისას შეიძლება გამოყენებულ იქნას ძლიერი მჟავეები და ტუტეები. ჭურჭლის მჟავეებით დამუშავებისათვის სასურველია ცალკე იყოს სპეციალური ნაკეთური, ემალირებული კიუვეტები და ჭურჭლები. სამრეცხაო ოთახში იდგმება სტელაჟები ჭურჭლის გასაშრობად, კარადები სარეცხი საშუალებებისა და დამხმარე მასალების შესანახად, საშრობი კარადები 100-130°C ტემპერატურით, დისტილატორი, ჭურჭელი სარეცხი საშუალებების მოსათავსებლად, მოწყობილობა დაჭირხნული ჰაერით პიპეტების გასაშრობად. თუ ჭურჭლის გასარეცხად იყენებენ ქრომპიკის ხსნარს (კონცენტრირებული გოგირდმჟავას კალიუმის ბიოქრომატთან ნარევი), მისი შენახვა აუცილებელია ექსიკატორში ამწოვ კარადაში.

საკვები არეების, ინსტრუმენტებისა და მასალების სტერილიზაციის ოთახში უნდა იყოს ავტოკლავები (ვერტიკალური და ჰორიზონტალური), საშრობი კარადები 140-200°C ტემპერატურით (მშრალი ჰაერით სტერილიზაციისათვის), აპარატები დისტილირებული და ბიდისტილირებული წყლის მისაღებად, მაგიდები სტერილური საკვები არეებისა და მასალების დასაწყობად, სტელაჟები მათ შესანახად, ვენტილატორები ჰაერის გასაახლებლად და სხვა. ამ ოთახის სამრეცხაო ოთახთან შეთავსება შეიძლება მხოლოდ იმ შემთხვევაში, თუ კი მუშაობის პირობა ჭურჭლის რეცხვისა და სტერილიზაციის დროში გაყოფის საშუალებას იძლევა, რადგანაც ჭურჭლის რეცხვისათვის გამოყენებული ძლიერი მჟავეები და ტუტეები შეიძლება მოხვდნენ საკვებ არეებში და გამოიწვიონ კულტურების ტოქსიკაცია.

საკვები არეების მომზადების ოთახში უნდა იყოს ლაბორატორიული მაგიდები, ჭურჭლისა და ქიმიური რეაქტივების შესანახი კარადები, ქიმიური რეაქტივებისა და საკვები არეების შესანახი მაცივრები, ქიმიური ჭურჭელი, ინსტრუმენტები, კულტურალური სინჯარები, ელექტროქურები, მაგნიტური სანჯღრეველები, სხვადასხვანაირი სასწორები, pH-მეტრები, ბიდისტილატორი (რედისტილატორი), წყლის აბაზანა, მემბრანული ფილტრები და სხვა.

სტერილურ (ასეპტიკურ) პირობებში ოპერაციების ჩატარების ოთახი ანუ ბოქსი (“საოპერაციო” ოთახი) ყველაზე უფრო მნიშვნელოვანია ლაბორატორიაში. დღეისათვის ასეპტიკურ პირობებში მუშაობის ჩატრებისათვის ყველაზე უფრო მოხერხებულია სპეციალური კამერების – **ლამინარული ბოქსების*** გამოყენება, სადაც სტერილურობა უზრუნველყოფილია ბაქტერიული ფილტრების საშუალებით. ასეთ ლამინარ-ბოქსებს ამზადებენ მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში და ისინი სავსებით მისაწვდომია ფართო გამოყენებისათვის. ლამინარ-

* საჭიროების შემთხვევაში ოთახში იდგმება რამდენიმე ცალი.

ბოქსის უქონლობის შემთხვევაში აუცილებელია **სპეციალური ოთახის ანუ ბოქსის მოწყობა**. ის უნდა იყოს ჰერმეტიკულად დახურული კარით და იზოლირებული დასენიანების წყაროსაგან, არ უნდა ჰქონდეს ფანჯრები და გაზის გაყვანილობები. მაგიდების, ჭერის, კედლების და იატაკის ზედაპირი უნდა იყოს სწორი და დაფარული მასალით, რომელზეც ნაკლებად ჯდება მტვერი, ადვილია გარეცხვა და დეზინფიცირება. ჰაერის სტერილიზაციისათვის იდგმება კონდიციონერები, რომლებიც ჰაერს ფილტრებზე ან ბაქტერიოციდულ ნათურებზე გავლით აწოდებენ. სტერილური ოთახის წინ სასურველია იყოს ტამბური ხალათების, ფეხსაცმელების, ქუდების, თავსაფრების შესანახად და დამატებითი სტერილურობის უზრუნველსაყოფად.

კულტურების გამოზრდის ოთახი („კულტურალური“ ოთახი) არის ოთახი, რომელიც უზრუნველყოფილია მოწყობილობებით (კონდიციონერები, ამწოვი ვენტილატორები, ლუმინესცენცირებული ნათურები და სხვა) ჰაერის კონდიცირებისათვის, ტემპერატურის (ყველაზე მეტად $25 \pm 2^\circ\text{C}$), შეფარდებითი ტენიანობის ($\sim 70\%$), სინათლის ინტენსიობის (1-ზე ნაკლებიდან 5-10 ათას ლუქსამდე) რეგულირებისათვის. სიბნელეში კულტივირებისათვის იყენებენ თერმოსტატებს. უფრო დაბალი ან მაღალი ტემპერატურის პირობებში კულტივირებისათვის იყენებენ სპეციალურ კამერებს რეგულირებადი ტემპერატურით. ჭურჭლებს იზოლირებული უჯრედული კულტურებით ათავსებენ სტელაჟებზე. ამავე ოთახში შეიძლება მოთავსდეს სხვადასხვა დანადგარები (სანჯღრეველები წრიული ბრუნვით, ფერმენტატორები და სხვა) უჯრედული სუსპენზიების კულტივირებისათვის.

ყველა ოთახში უნდა იყოს გაყვანილი მაღალი ძაბვის (220/380V) ხაზები და დამიწების კონტურები. გარდა ამისა, სამრეცხაო, სტერილიზაციისა და საკვები არეების მომზადების ოთახებს უნდა მიეწოდებოდეს ცივი და ცხელი წყალი.

ლაბორატორია აღნიშნულის გარდა შეიცავს აგრეთვე სხვადასხვა სამუშაოების (ბიოქიმიური, ციტო- და ჰისტოლოგიური გამოკვლევები და სხვა) შესრულებისათვის აუცილებელ მოწყობილობებსა და ხელსაწყოებს (მაგალითად, ფიტოტრონის კამერა, ცენტროფუგა, მაგიდის ცენტროფუგა, ულტრაცენტროფუგა, გორიავეის ან ფუქსი-როზენტალის კამერა, ინვერტირებული მიკროსკოპი, ფონობრიუნის მანიპულატორი, მიკროსამძვდლო, მიკროაპლიკატორი, ჰომოგენიზაციის პატარა როდინი, მანიპულატორების კომპლექტი, ელექტროფორეზის ხელსაწყო, ვაკუუმის ტუმბო, ულტრაიისფერ სხივებში გელების გაშუქების დანადგარი და მრავალი სხვა).

განსაკუთრებულ შემთხვევაში ლაბორატორიის ოთახები შეიძლება იყვნენ განცალკევებული და მდებარეობდნენ სხვადასხვა ადგილას.

4.3.1.2. ჭურჭელი, ინსტრუმენტები და მასალები

4.3.1.2.1. ჭურჭელი

იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურაში მუშაობისათვის აუცილებელია გარკვეული ჭურჭელი, რომლის მრავალფეროვნება და რაოდენობა დამოკიდებულია ექსპერიმენტების მიმართულებასა და მასშტაბებზე. მუშაობაში გამოყენებული ჭურჭელი შეიძლება დაიყოს ოთხ ჯგუფად:

1. ჭურჭელი საკვები არეების მომზადებისათვის:

კოლბები ერლენმეიერის – 1, 2, 3, 5 ლ.;
კოლბები საზომი – 25, 50, 100, 200, 500 მლ და 1 ლ.;
კოლბები ბუნზენის – 0.5; 1, 2 ლ.;
ჭიქები ქიმიური – 50, 100, 200, 250, 500 მლ და 1 ლ.;
ცილინდრები საზომი – 10, 25, 50, 100, 250 მლ; 0.5, 1, 2 ლ.;
სინჯარები გრადუირებული – 5, 10 მლ.;
ბიურეტები ავტომატური – 20, 50, 100 მლ.;
პიპეტები მორის – 1, 2, 5, 10, 15, 20 მლ.;
მიკროპიპეტები გრადუირებული – 0.1, 0.2 მლ.;
მიკროპიპეტები ნახევრადავტომატური;
ბუნიკები მიკროპიპეტებისათვის;
პიპეტები პასტერის;
საათის მინები, ძაბრები, სხვადასხვა ზომის მინის ჩხირები;
ზეიცის ფილტრები, მინის და მემბრანის ფილტრები.

2. ჭურჭელი საკვები არეებისა და ბიდისტილირებული წყლის შენახვისათვის:

კოლბები ბრტყელძირიანი – 0.5, 1, 2, 3, 5 ლ.;
ბოთლები მუქი მინის – 1, 3, 5, 10, 20 ლ ქვედა ტუბუსით ან მის გარეშე;
ფლაკონები – 25, 50, 100, 250, 500 მლ.

3. ჭურჭელი ასეპტიკური ოპერაციების განხორციელებისათვის:

ჭიქები თავსახურით – 0.5, 1, 2 ლ.;
პეტრის ჯამები;
კოლბები ერლენმეიერის – 0.5 და 1 ლ დისტირებული წყლის სტერილიზაციისათვის;
შპრიცები (სხვადასხვა ზომის);
მიკროშპრიცები;
მიკროსინჯარები;
პიპეტები, საწვეთელები, სანთურები;
ჭურჭლები ბამბისათვის;
ჭიქები ფაიფურის ინსტრუმენტების სტერილიზაციისათვის.

4. ჭურჭელი იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების გამოზრდისათვის:

კოლბები ერლენმეიერის – 100, 150, 250 მლ და 0.5, 1, 2 ლ;
კოლბები ერლენმეიერის ფართოყელიანი – 100, 150, 250 მლ;
პეტრის ჯამები მაღლები;
პეტრის ჯამები დაბლები სხვადასხვა დიამეტრის;
პეტრის ჯამები პლასტიკატის;
ჯამები კუპრაკის;
სინჯარები ბიოლოგიური მრგვალძირიანი;
სინჯარები ბრტყელძირიანი;
სინჯარები ცენტროფუგის;
ფლაკონები დასახრახნი სახურავით;
მინები სასაგნე ფოსოთი და ფოსოს გარეშე;
მინები საფარი;

სინჯარები გვერდითი ტუბუსით როლერზე უჯრედული სუსპენზიების გამოზრდისათვის.

კულტურალური ჭურჭლები სპეციალური მიზნებისათვის (უჯრედული სუსპენზიების დამგროვებელი და გამდინარე კულტივირებისათვის).

4.3.1.2.2. ჭურჭლის რეცხვა

ჭურჭელი მზადდება „პირექსის“ ტიპის სიცხე- და მჟავაგამძლე ბოროსილიკატური მინისაგან და ხასიათდება მაღალი ტემპერატურისა და მექანიკური დაზიანებისადმი გადიდებული გამძლეობით. სპეციალური მიზნებისათვის მზადდება პლასტმასის, წინასწარ გასტერილებული ერთჯერადი გამოყენების ჭურჭელი (პეტრის ჯამები, კოლბები, პიპეტები და სხვა). ჭურჭელმა საკვებ არეში არ უნდა გამოჰყოს ისეთ ნივთიერება, რომელსაც შეუძლია გავლენა მოახდინოს საკვები არეების შედგენილობაზე ან იყოს ტოქსიკური უჯრედებისა და ქსოვილებისათვის.

მთელი ჭურჭელი გულდასმით ირეცხება. მინის ჭურჭლის გასუფთავების ყველაზე გავრცელებულ და საიმედო მეთოდს წარმოადგენს მისი დამუშავება კონცენტრირებული კალიუმის ბიქრომატიანი გოგირდმჟავით (ქრომპიკით) 4-6 სთ განმავლობაში, შემდგომი ჩარეცხვით ცხელი წყლის ძლიერი ნაკადით 5 წთ განმავლობაში, ორჯერადი გამოვლებით დისტილირებული წყლით და ერთჯერადი – ბიდისტილირებული წყლით. სინჯარების, პეტრის ჯამების, პატარა კულტურალური ჭურჭლების დამუშავება შეიძლება ჩატარდეს ემალირებულ ან პოლიეთილენის კიუვეტებში, მჟავაგამძლე სახელურიან ვედროებში, პიპეტების – ფართო სქელკედლიან მინის ცილინდრებში. დიდი ზომის კოლბების და ბოთლების (მათ შორის დისტილირებული და ბიდისტილირებული წყლის რეზერვუარებსაც) შიგნითა მხარეს

რამოდენიმეჯერ ასველებენ ქრომიკით და 20-30 წუთის შემდეგ ისეთ-ნაირად რეცხავენ, როგორც სხვა ჭურჭელს. ქრომიკის გარდა ჭურჭლის გასარეცხად იყენებენ სხვადასხვა სარეცხ საშუალებებს. თუ მუშაობის დამთავრების შემდეგ ჭურჭელი მაშინვე არ ირეცხება, მაშინ აგარ-აგარის ნაწილაკების კედლებზე მიხმობის თავიდან აცილების მიზნით აუცილებელია მისი დასველება ცხელ წყალში.

გარეცხვის შემდეგ ჭურჭელს აშრობენ საშრობ კარადაში 100-130°C ტემპერატურის პირობებში. შენახვის დროს ჭურჭელს ხურავენ ბამბის საცობებით, ფოლგის ან ცელოფანის ხუფით. თუ სუფთა ჭურჭელს დიდხანს არ იყენებენ, მაშინ გამოყენების წინ მას გამოავლენენ ბიდისტილირებულ წყალს.

4.3.12.3. მასალა და ინსტრუმენტები

ასეპტიკურ პირობებში მუშაობისათვის იყენებენ შემდეგ ინსტრუმენტებს:

ლანცეტები ანატომიური, თვალის საშუალო და პატარა ზომის მახვილობლოებიანი;

დანები რეზექციული;

მაკრატლები სამედიცინო ქირურგიული;

პინცეტები ანატომიური 15, 20, 25 სმ ზომის, ქირურგიული – 15, 20 სმ, მოლუნული – 9, 15 სმ, თვალის გაფართოებული ბოლოებით საფარი მინებისათვის;

საცობის ბურღები (სხვადასხვა დიამეტრის);

სამართებლები და დამჭერები მათთვის;

პლატინის მარყუქები მინის სახელურით;

ნემსები (მუცლის და მინის);

შპადელები (სხვადასხვა ზომის).

იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტივირებისათვის საჭიროა რიგი მასალა. აუცილებელია იყოს დიდი რაოდენობით არაჰიგროსკოპული ბამბა და დოლბანდი. ბამბას იყენებენ საცობების, პიპეტებისა და მინის მიღებისათვის ტამპონების დასამზადებლად, სამუშაო მაგიდების სტერილიზაციისათვის. დოლბანდი აუცილებელია ბამბის საცობების შეხვევისათვის, ფილტრაციისათვის, ტომსიკების, შემოსაკრავების, თავსაფრების დამზადებისათვის. საკვები არეების გამოშრობისაგან დაცვის მიზნით იყენებენ ცელოფანის, ალუმიინის ფოლგის ან პოლიეთილენის აპისაგან დამზადებულ პატარა ხუფებს და რეზინის რგოლებს მათ დასამაგრებლად. ავტოკლაავში სტერილიზაციის დროს ჭურჭლის შესახვევად აუცილებელია მკვრივი შესახვევი, პერგამენტის და ცელოფანის ქაღალდები, მსხვილი ძაფები და ხეზი. სინჯარებს კულტურებით ათავსებენ სხვადასხვა ტიპისა და ზომის შტატივებში. მასალებიდან აღნიშნულის გარდა აუცილებელია იყოს სხვადასხვა სიმკვრივის ნეილონის ქსოვი-

ლი, სხვადასხვა ზომის ნახერცებიანი ლითონის საცრები (სუსპენზიური კულტურების გასაფილტრად), აგრეთვე ლეიკოპლასტირი, მწებავი ლენტი (პარაფილმი) და სხვა.

4.3.2. იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტივირების პირობები

4.3.2.1. სტერილიზაციის მეთოდები

იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების წარმატებით კულტივირების ერთ-ერთ ძირითად პირობას წარმოადგენს – **მკაცრი სტერილურობის დაცვა**, რადგანაც ამ დროს განვითარებული მიკროორგანიზმები იწვევენ საკვები არის შედგენილობის არსებით ცვლილებას და მცენარეიდან იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების დაზიანებას. ამიტომ ყველა სამუშაო ტარდება სტერილურ პირობებში. ჩვეულებრივ ასტერილებენ ბოქსებს ან ლამინარ-ბოქსებს, კულტივირებისათვის გამოყენებულ ჭურჭელს, ყველა აუცილებელ ინსტრუმენტსა და მასალას, საკვებ არეებს, მცენარეულ მასალას და ა.შ.

სტერილიზაცია ტარდება შემდეგი მეთოდებით: 1) **ტენიანი სიმ-ხურვალით** (ავტოკლავირება, ტინდალიზაცია, დუღილი, პასტერიზაცია); 2) **მშრალი სიმ-ხურვალით** (გახურება ცხელი ჰაერით საშრობ კარადაში, გამოწვა); 3) **სხვადასხვა ქიმიური ნივთიერებებით, ფილტრაციით, ცენტროფუგირებით, ულტრაიისფერი სხივებით.**

4.3.2.1.1. ბოქსის ან ლამინარ-ბოქსის სტერილიზაცია

ლამინარ-ბოქსი წარმოადგენს კამერას ლამინარულ ნაკადით. აქ სტერილურობა მიიღწევა ბაქტერიული ფილტრების საშუალებით, რომელთა გავლის შემდეგ იჭირხნება ჰაერი. მუშაობის დაწყებამდე 2 საათით ადრე ლამინარ-ბოქსს ასხივებენ ბაქტერიოციდული ულტრაიისფერი ნათურებით 30 წუთის განმავლობაში. წინასწარ ლამინარ-ბოქსში ათავსებენ სპირტქურას, ასანოს, ფაიფურის ჭიქებს 96%-იანი სპირტით და სტერილური წყლით, სხვა აუცილებელ საგნებს. ლამინარ-ბოქსის შიგნითა ზედაპირს, სპირტქურას, სინჯარებს საკვები არეებით და სხვა საგნებს, წმენდენ 70-96%-იანი ეთილის სპირტით.

ბოქსის ანუ “საოპერაციო” ოთახის* სტერილიზაცია შედგება ორი ეტაპისაგან. პირველ რიგში ოთახს (ბოქსს) ასუფთავებენ ტალახისა და მტვერისაგან. ტალახს აცილებენ მაგიდების სამუშაო ზედაპირის, კედლების, იატაკის, ყოველნაირი კუთხეების საპნიანი წყლით გულდასმით გარეცხვის გზით. სტერილიზაციის მეორე ეტაპს წარმო-

* ბოქს ანუ „საოპერაციო“ ოთახს იყენებენ ლამინარ-ბოქსის უქონლობისას.

ადგენს ულტრაიისფერი დასხივება, რომელიც დამლუპველად მოქმედებს მიკროორგანიზმების მზარდ ფორმებზე. დასხივების წყაროდ იყენებენ ბაქტერიოციდულ ულტრაიისფერ ნათურებს. დასხივებას ახდენენ წინააღმდეგ (დამით) 0.5-2 საათის განმავლობაში (შენობის ზომიდან გამომდინარე), რადგანაც ამ დროს წარმოიქმნება ადამიანისა და მცენარის უჯრედებისათვის ტოქსიკური ოზონი და აზოტის ქანგი. გარდა ამისა, თვით ულტრაიისფერი სხივები მავნედ მოქმედებს ადამიანის ორგანიზმზე. მტვერისა და მიკროორგანიზმების სპორების მოსაცილებლად ოთახს (ბოქს) პერიოდულად ამუშავებენ წყლის ორთქლით ან იყენებენ ეთილენგლიკოლშემცველ პრეპარატებს ემულსიების სახით. ხსნარების აორთქლებას ახდენენ ღია ფაიფურის ჯაშში ელექტროქურაზე. უჯრედებისა და ქსოვილების სოკოვანი ინფექციისაგან დაცვის მიზნით პერიოდულად ატარებენ ოთახის (ბოქსის) დეზინფექციას ფორმალდეჰიდისა და წყლის ორთქლის ნარევით ან ფორმალდეჰიდის ხსნარის გაფრქვევით. ბოქსის წინ ტამბურში ფესსაცმელებისათვის რეკომენდებულია მადეზინფიცირებელ ხსნარში (ქლორამინი) დასველებული ხალიჩის დადება. ევექტური დასხივებისათვის აუცილებელია ბოქსის ანუ “საოპერაციო” ოთახის კარგი პერმეტიზაცია.

ბოქსში ან ლამინარ-ბოქსში მომუშავემ მკაცრად უნდა დაიცავს მუშაობის შემდეგი წესები. **მუშაობის დაწყებამდე** აუცილებელია ხელების დეზინფექცია, მათი გულდასმით დაბანა საპნით და ჯაგრისით ცხელი წყლის ქვეშ. **უშუალოდ მუშაობის წინ** აუცილებელია ბოქსის კარების მჭიდროდ დახურვა ან ლამინარ-ბოქსის მინის ჩარჩოს აწევა, სტერილური ხალათის ჩაცმა, ქუდის (ან თავსაფრის) დახურვა ან დოლბანდის შემოსაკრავის გაკეთება, აუცილებლობის დროს ნიღაბის აფარება, ხელების დამატებითი დეზინფექცია და ბოქსში ან ლამინარ-ბოქსში არსებული ყველა საგნის (მაგიდები, ჭიქები, სპირტქურები, როზეტები, კულტურალური ჭურჭლები – კოლბები, სინჯარები, პეტრის ჯამები, ფლაკონები და სხვა) გაწმენდა 70%-იანი სპირტით. **მუშაობის პროცესში** აკრძალულია კარების გაღება და ბოქსში შესვლა ან სხვისი ხელების შეყოფა ლამინარ-ბოქსში. თავი უნდა შევიკავოთ ზედმეტი ლაპარაკისა და მოძრაობებისაგან; პერიოდულად უნდა ჩატარდეს ხელების დეზინფექცია 70%-იანი სპირტით; ინსტრუმენტი გამოიყენება მხოლოდ ერთჯერადი ოპერაციისათვის და არ გამოიყენება იგი, თუ გაჩნდა ეჭვი მისი არასტერილურ ზედაპირთან შეხების შესახებ. კულტივირების ობიექტებთან მუშაობისას აუცილებელია ღია პეტრის ჯამების თავზე ხელების მოძრაობის თავიდან აცილება. კულტურალური ჭურჭლის გახსნის წინ საჭიროა მისი ყელის მსუბუქად მოწვა. მუშაობის დროს კულტურალური ჭურჭელი უნდა გვეჭიროს დახრილად, მათში მტვერის პირდაპირი მოხვედრის თავიდან აცილების მიზნით. არ შეიძლება შემთხვევით დავარდნილი ასეპტიკუ-

რი ქსოვილის გამოყენება. მუშაობის ბოლოს საჭიროა ჭურჭლის საცობის შემოწვა სპირტქურის აღზე. ოპერაციების შესრულება აუცილებელია ჩატარდეს რაც შეიძლება სწრაფად, იმ დროის მინიმუმადე დაყვანით, რომლის დროსაც კულტურალური ჭურჭლები ღიად რჩებიან. **მუშაობის დამთავრების შემდეგ** აუცილებელია კულტურალური ჭურჭლების საცობების, პეტრის ჯამების გვერდების მწებვი ლენტით ანუ პარაფილმით დაწებვა, მათი მოთავსება “კულტურალურ” ოთახში, ბოქსის ან ლამინარ-ბოქსის დაღაგება, მაგიდების დეზინფექცია განზაფებული სპირტით და სხვა.

4.3.2.12. ჭურჭლისა და მასალის სტერილიზაცია

სტერილიზაციის წინ ყველა ჭურჭელს გულდასმით რეცხავენ დეტერგენტებისა და ქრომპიკის ხსნარის საშუალებით. გარეცხილ ჭურჭელს ავლებენ დისტილირებულ წყალს და ასტერილებენ მშრალი სიმხურვალით საშრობ კარადაში. გასტერილებული ჭურჭლის ჰაერიდან დასენიანების თავიდან აცილების მიზნით სტერილიზაციის წინ მათ ფუთავენ შესახვევ ქაღალდში. სტერილიზაციის ხანგრძლივობა შეადგენს 150°C ტემპერატურის დროს – 2.5 საათს, 160°C ტემპერატურის დროს – 2 საათს, 170°C ტემპერატურის დროს – 1 საათს. ამ დროს იღუპება როგორც ბაქტერიები, ისე მათი სპორებიც. 175°C-ზე ზევით ტემპერატურის აწევა დაუშვებელია, რადგანაც ამ დროს მუქდება ბამბის საცობები, ხოლო შესახვევი ქაღალდი იწყებს მტვრევას.

კიდევ უფრო მკაცრ სტერილიზაციას აღწევენ ავტოკლავში წნევის ქვეშ, რადგანაც ტენიანი სიმხურვალე უფრო ეფექტურად კლავს მიკროორგანიზმებს და მათ სპორებს, ვიდრე მშრალი. სტერილიზაცია უფრო მოხერხებულია ჩატარდეს ჰორიზონტალურ ელექტრულ ავტოკლავში წნევის რეგულირებით.

ავტოკლავირებისათვის მომზადებული ჭურჭელი ჯერ გახვეული უნდა იყოს ფოლგაში ან სუფთა შესახვევ ქაღალდში, შემდეგ – ცელოფანში და თუ აუცილებელია შემოჭერილი ხეხით (ჭიქებს თავსახურავებით ახვევენ თითო-თითოდ, პეტრის ჯამებს თითო-თითოდ ან რამდენიმე ცალს ერთად); აპარატებს (აპარატის ნაწილებს სუსპენზიის კულტივირებისათვის, ფილტრებს და ა.შ.) ასევე ახვევენ ქაღალდში; მინის მილების გამოსასვლელ ბოლოებს ხურავენ ბამბის ტამპონებით; გრადუირებული პიპეტების ზედა ნაწილს ხურავენ ბამბის ტამპონებით (დახლოებით 2 სმ-ზე) და ყოველ მათგანს ცალ-ცალკე ახვევენ ქაღალდში; პასტერის პიპეტებს (ბამბის ტამპონებიანი) ასტერილებენ მინის პანელში (მაგ., 0.5-1 ლიტრიან მინის ცილინდრში) და ხურული თავსახურით; პიპეტების წვეროების დამტვრევის თავიდან აცილების მიზნით პანელის ფსკერზე დებენ ბამბას; გასასტერილიზებული ობიექტები ავტოკლავში არ უნდა ჩაიტვირთოს მჭიდროდ, რადგანაც ეს ართულებს მათ ფენებს შორის ორთქლის უკეთ გაგლას და

თანაბარ გაცხელებას.

ყველა მასალა – ბამბა, დოლბანდი, ბამბის საცობები, ქაღალდი (შესახვევი, ცელოფანის, პერგამენტის, ფილტრის), ალუმინის ფოლგა, ხალათები, ქუდები, თავსახურები, ხეზი და ა.შ. ასევე სტერილდება ავტოკლავში სპეციალურ ლითონის კონტეინერებში.

ჭურჭლისა და მასალის ავტოკლავირება რეკომენდებულია ჩატარდეს 2 ატმ (133°C) წნევის ქვეშ, 25-30 წუთის განმავლობაში.

4.3.2.13. ინსტრუმენტების სტერილიზაცია

ინსტრუმენტების სტერილიზაციას ახდენენ საშრობ კარადაში მათი მშრალი გაცხელების გზით ან წყალში გამოხარშვით. პირველი წესის დროს ინსტრუმენტებს (ლანცეტები, პინცეტები, ნემსები და ა.შ.) რეცხავენ, ახვევენ ქაღალდში და ათავსებენ საშრობ კარადაში 2 საათის განმავლობაში 140°C ტემპერატურის პირობებში. მეორე წესით მოხერხებულია შპრიცების, მაკრატლების, დანების, საცობის ბურღების და სხვათა სტერილიზაცია. ამ დროს ინსტრუმენტების მჭრელ ნაწილებს ახვევენ დოლბანდში ან ბამბაში, რათა ისინი დაცული იქნას დარტყმისაგან და ათავსებენ მდულარე წყალში ბორაკის ან 1%-იანი ნატრიუმის ბიკარბონატის დამატებით. შპრიცებს ათავსებენ ცივ წყალში. არ შეიძლება ლითონის ინსტრუმენტების სტერილიზაცია ავტოკლავირებით, რადგანაც ორთქლის მოქმედებით ისინი იჟანგება და ბლავდება. ზოგიერთ ინსტრუმენტს (პინცეტები, ლანცეტები, მარყუქები და სხვა) კიდევ ერთხელ ასტერილდებენ ბოქსში ან ლამინარ-ბოქსში უშუალოდ მუშაობის წინ და მუშაობის დროს, მათი 96%-იანი ეთილის სპირტიანი ფაიფურის ჭიქაში მოთავსებითა და შემდეგ სპირტქურის ალში შემოწვით. ამის შემდეგ, თითოეულ ინსტრუმენტს დაუყოვნებლივ ათავსებენ დასტად დაწყობილ და წინასწარ ავტოკლავში გასტერილებულ მკვრივი შესახვევი ქაღალდის ფურცლებზე. სტერილურ ინსტრუმენტს იყენებენ მხოლოდ ერთჯერადი მანიპულაციისათვის. განმეორებითი გამოყენების წინ მას ისევ ათავსებენ სპირტში და შემოწვავენ. ძალიან წვრილ ინსტრუმენტებს (ნემსები, საპარსი სამართებელი) შემოწვის დროს შეუძლიათ დაკარგონ თავიანთი თვისებები. ამიტომ მათ ასტერილდებენ სპირტში მოთავსებით.

4.3.2.14. მცენარეული მასალის სტერილიზაცია

იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების წარმატებით კულტივირების ძირითად პირობას წარმოადგენს მცენარეული მასალის სტერილიზაცია, რომელიც გარე ზედაპირზე, შიგნითა ნაწილების დაუზიანებლად, სოკოვანი და ბაქტერიული სპორების მოსპობაში მდგომარეობს. მასტერილიზებელი ნივთიერების სახეობა, მისი კონცენტრაცია და გამოყენების ხანგრძლივობა დამოკიდებულია

მცენარეული ქსოვილის სიმკვრივეზე და მგრძნობიარობაზე. მასტერილიზებული ნივთიერების სწორი შერჩევა მდგომარეობს იმაში, რომ მან დამღუპველად იმოქმედოს ყველა მიკროორგანიზმზე და ამავე დროს მინიმალურად ან სრულებით არ დააზიანოს ქსოვილი. სხვა მნიშვნელოვან პირობას წარმოადგენს ის, რომ მასტერილიზებული ნივთიერება ადვილად უნდა სცილდებოდეს მცენარეულ მასალას დისტილირებული წყლით გარეცხვისას ან განიცდიდეს დაშლას. წინააღმდეგ შემთხვევაში ადგილი ექნება ქსოვილების მოწამვლას. ამიტომ წარმატებით მუშაობისათვის ჩვეულებრივ იყენებენ მოცემული ობიექტის სტერილიზაციის უკვე ცნობილ ხერხს, ანდა ამუშავენ მას ექსპერიმენტულად ყოველი კონკრეტული შემთხვევისათვის, რადგანაც სხვადასხვა მცენარის ერთი და იგივე ორგანო სტერილიზაციის სხვადასხვა პირობებს საჭიროებს.

სტერილიზაციის წინ მცენარეულ მასალას წინასწარ ასუფთავებენ. ძირხვენებს, ტუბრებს, მცენარის მსხვილ ღეროებს, მერქნიანი მცენარეების ზოგიერთ თესლებს გულდასმით რეცხავენ საპნიანი ჯაგრისით თბილ გამდინარე წყალში, ძირხვენებსა და ტუბრებს აცილებენ კანს, ყლორტებს – ქერქს. ყლორტების წვეროს ზედა ფოთლებს რეცხავენ დისტილირებული წყლით და რამდენიმე წამით ათავსებენ 70%-იანი ეთილის სპირტში (ეთანოლში). მერქნიანი მცენარეების ყლორტებისა და ფოთლების ზედაპირს ასუფთავებენ ეთანოლში დასველებული ბამბით, ხოლო თესლებსა და ნაყოფებს ავლებენ ეთანოლში. შემდეგ მცენარეულ მასალას მრავალჯერ ავლებენ სტერილურ წყალში და გადააქვთ ძირითად მასტერილიზებელ ხსნარში. უჯრედებისა და ქსოვილების დამუშავება ეთანოლით ძირითად მასტერილიზებელ ხსნარში მოთავსების წინ მნიშვნელოვნად ადიდებს მასტერილიზებული ნივთიერების მოქმედების ეფექტურობას. სტერილიზაციის ეფექტურობას შესამჩნევად ზრდის აგრეთვე მასტერილიზებელ ხსნარში (განსაკუთრებით ძნელად სველებად შებუსული ან ცვილით დაფარული ქსოვილების შემთხვევაში) ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებების (დეტერგენტის) უმნიშვნელო რაოდენობის, მაგ., ტვინ-80 (1 ლ-ზე რამოდენიმე წვეთი) და ჩვეულებრივი სარეცხი საშუალებების (სარეცხი ფხვნილი, საპონი) დამატება.

მცენარეული მასალის ზედაპირული სტერილიზაციისათვის ყველაზე მეტად იყენებენ ქიმიურ ნივთიერებებს, რომლებიც შეიცავენ აქტიურ ქლორს (ნატრიუმის ან კალციუმის ჰიპოქლორიტი, ქლორამინი), ვერცხლისწყალს (სულემა, დიაციდი), წყალბადის ზეჟანგს, ეთილის სპირტს. გარდა ამისა, იყენებენ ბრომს, ფენოლს, ვერცხლის ნიტრატს, გოგირდმჟავას და განსაკუთრებულ შემთხვევაში ანტიბიოტიკებს.

ნატრიუმის ჰიპოქლორიტს (NaClO) მცენარეული მასალის სტერილიზაციისათვის იყენებენ ძირითადად 0.5-5%-იანი ხსნარების სახით

1-20 წუთის განმავლობაში. რადგანაც ეს ნივთიერება წარმოადგენს უჯრედის შხამს, ობიექტის წყლით გარეცხვამდე აუცილებელია მისი ნარჩენების მოცილება 0.01 N მარილმჟავას (HCl) საშუალებით. ამის შემდეგ საჭიროა დისტილირებული წყლით რეაჯერადი გარეცხვა. იზოლირებულ ჩანასახებს ასტერილებზე 2-3%-იან ხსნარში 5 წუთის განმავლობაში, კენწრულ მერისტემებს – 0.5%-იან ხსნარში 5 წუთის განმავლობაში, მტვრიანებს – 5-10%-იან ხსნარში 10-15 წუთის განმავლობაში ეთილის სპირტით წინასწარი გასტერილების შემდეგ, მშრალ თესლებს – 3-5%-იან ხსნარში 1 საათის განმავლობაში და ა.შ.

კალციუმის ჰიდროქლორიტი ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) ნაკლებად ტოქსიკურია მცენარის ქსოვილებისათვის, ვიდრე ნატრიუმის ჰიპოქლორიტი. ის ფართოდ გამოიყენება მცენარის სხვადასხვა ორგანოების – ძირხველების, ტუბერების, ყლორტების, თესლების, ფესვების, კვირტების, ნასკვების, ფოთლების, ყვავილების, ნაყოფების სტერილიზაციისათვის. დასამუშავებლად ძირითადად იყენებენ 5-10%-იან ხსნარს 5-8 წუთის განმავლობაში. დამუშავების შემდეგ აუცილებელია ორ-სამჯერადი გარეცხვა დისტილირებული წყლით.

ქლორამინი მცენარეულ ქსოვილებზე მოქმედებს სუსტად, ვიდრე ნატრიუმის და კალციუმის ჰიპოქლორიტი. მტვრიანებისა და ახალგაზრდა ჩანასახებისათვის იყენებენ 0.1-6%-იან ხსნარებს, დამუშავების ხანგრძლივობა შეადგენს 1-3 წუთს. მშრალი თესლებისათვის დამუშავების ხანგრძლივობა 1 საათამდე იზრდება. დამუშავების შემდეგ სტერილური დისტილირებული წყლით გარეცხვა ორ-სამჯერადია.

ყველაზე აქტიურ ქლორშემცველ ხსნარებს იყენებენ ერთჯერადად და მათ უშუალოდ მუშაობის წინ ამზადებენ.

სულემა (HgCl_2) წარმოადგენს ეფექტურ მასტერილიზებელ საშუალებას მრავალი მცენარეული მასალისათვის. მაგრამ ნივთიერების ტოქსიკურობა მოითხოვს განსაკუთრებულ ყურადღებას როგორც შენახვის, ისე კონკრეტული ობიექტისათვის კონცენტრაციისა და სტერილიზაციის ხანგრძლივობის შერჩევის დროს. სულემის სტერილიზაციის ეფექტურობა მნიშვნელოვნად მატულობს ხსნარში ზედაპირულად აქტიური ნივთიერების ტვინ-80-ს რამდენიმე წუთის დამატების დროს. სტერილიზაციისათვის ძირითადად იყენებენ 0.1%-იან ხსნარს, დამუშავების ხანგრძლივობა ძირხვენებისა და ტუბერებისათვის – 10-20 წუთი, თესლებისა და მერქნიანი მცენარეების ყლორტებისათვის – 10-15 წუთი, ფოთლებისა და ბალახოვანი მცენარეების ღეროებისათვის – 4-8 წუთი, ჩანასახებისათვის – 1-3 წუთი.

ლიაციდს (ეთანოლმერკურქლორიდი და ცეტილპირიდინქლორიდი, დეტერგენტის სახით დამატებული ტვინ-80) ამზადებენ შემდეგნაირად: ცალკე ცხელ წყალში (დახლოებით 300 მლ) ხსნიან 330 მგ ეთანოლმერკურქლორიდს და 600 მგ ცეტილპირიდინქლორიდს, შემდეგ

მათ ერთმანეთში შეურევენ და სითხის მოცულობა დაჰყავთ 1 ლიტრამდე, ბოლოს უმატებენ რამდენიმე წვეთ დეტერგენტ ტეინ-80-ს. დიაციდს ინახავენ სიბნელეში მჭიდროდ დახურულ კოლბაში. მცენარეული მასალის სტერილიზაციისათვის ძირითადად გამოიყენება 0.1%-იანი ხსნარი. დამუშავების ხანგრძლიობა აპიკალური მერისტემებისათვის – 3-8 წუთი, ჩანასახებისათვის – 8-10 წუთი, მტვრიანებისათვის – 5-10 წუთი.

გერცხლისწყლის პრეპარატების ხსნარებში სტერილიზაციის შემდეგ აუცილებელია მცენარეული მასალის 5-15 წუთის ხანგრძლივობით 4-5 ჯერ გარეცხვა დისტილირებულ წყალში. სულემისა და დიაციდის ხსნარები შეიძლება გამოყენებულ იქნას რამდენიმეჯერ.

წყალბადის ზეჟანგი (H_2O_2) ყველაზე მეტად გამოიყენება თესლების სტერილიზაციისათვის 2-10%-იანი ხსნარის სახით 20-60 წუთის განმავლობაში (ზოგჯერ გამოიყენება ღეროებისა და ფოთლების სტერილიზაციისათვის). წყალბადის ზეჟანგის, როგორც მასტერილიზებული ნივთიერების უპირატესობას წარმოადგენს ის, რომ მის შემდეგ არაა საჭირო ქსოვილების ხანგრძლივი გარეცხვა სტერილური წყლით. საკმარისია ერთჯერადი გარეცხვა. ქსოვილებში დარჩენილი ზეჟანგი არატოქსიკურია და სწრაფად იშლება.

ეთილის სპირტს (C_2H_5OH) ფართოდ იყენებენ (90-96%-იანი) მცენარეული მასალის წინასწარი სტერილიზაციისა და სხვა მასტერილიზებული საშუალებების მოქმედების გაუმჯობესებისათვის. დამუშავება ხდება მცენარეული მასალის ზედაპირის სპირტით გაწმენდის ან სპირტქურის აღში შემოწვის ან მცენარეული მასალის სპირტში რამდენიმე წამით მოთავსების გზით. ზოგჯერ ასეთი სტერილიზაცია საკმარისია ზოგიერთ ნაყოფებთან, თესლებთან, ყლორტებთან, ნასკვებთან მუშაობის დროს.

ბრომი (Br) 1%-იანი წყალხსნარის სახით წარმოადგენს ეფექტურ მასტერილიზებელ საშუალებას, განსაკუთრებით თესლებისათვის. მაგრამ ის გამოყენებულ უნდა იქნას ძალიან ფრთხილად და მხოლოდ მშრალ თესლებზე, რადგანაც ტოქსიკურია და აზიანებს ჩანასახებს. დამუშავების შემდეგ აუცილებელია მცენარეული მასალის გულმოდგინე გარეცხვა დისტილირებული წყლით.

ზოგიერთ შემთხვევაში მცენარეული მასალის სტერილიზაციის ოპტიმალური შედეგების მიღებისათვის იყენებენ რამდენიმე ნივთიერების კომბინაციას, მაგალითად, სულემა-ზეჟანგი, ნატრიუმის ჰიპოქლორიტ-კალციუმის ჰიპოქლორიტი, ეთილის სპირტი-სულემა და ა.შ.

ანტიბიოტიკები იშვიათად გამოიყენება მცენარეული მასალის ზედაპირული სტერილიზაციისათვის, რადგანაც მათი ბაქტერიოლოგიური მოქმედება ძალიან შეზღუდულია. ძირითადად ამ ნივთიერებებს იყენებენ იმ შემთხვევაში, როცა მცენარეული მასალის ინფიცირება დაკავშირებულია სოკოებისა და ბაქტერიების სპორების ქსოვი-

ლების შიგა ნაწილებში არსებობასთან (მაგ., ციტრუსოვნები, ჩაი, ტროპიკული მცენარეები), რის შედეგადაც შეუძლებელი ხდება მასალის ჩვეულებრივი წესით სტერილიზაცია და სპორები, ხედებიან რაკულტივირების დროს ხელსაყრელ პირობებში, ღივდებიან და იწყებენ სწრაფ გამრავლებას საკვებ არეებზე. ამ პროცესის ჩახშობისათვის ხშირად საკვებ არეში შეჰყავთ ანტიბიოტიკები: პენიცილინი, სტრეპტომიცინი, ბიომიცინი, ტეტრაციკლინი, ტეტრამიცინი, ამპიცინი, ნისტატინი და სხვა. რადგანაც ანტიბიოტიკები წარმოადგენენ თერმოლაბილურ ნივთიერებებს, მათ ასტერილებენ მხოლოდ გაფილტვრის მეთოდით ზეიცის ფილტვრების საშუალებით და შეჰყავთ გაცივებულ საკვებ არეში. ანტიბიოტიკების გამოყენებისას აუცილებელია გულდასმით შეირჩეს კონცენტრაცია, რომელიც გამოიწვევს მიკროორგანიზმების დაღუპვას, მაგრამ არ იქნება ტოქსიკური ქსოვილებისათვის. ეს მნიშვნელოვანია კიდევ იმიტაც, რომ ანტიბიოტიკებს სხვადასხვა კონცენტრაციების დროს გააჩნიათ იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების ზრდის მასტიმულირებელი ან დამორეგულელებელი ზეგავლენის უნარი.

მცენარეული მასალის **სტერილიზაციის პროცედურას** ატარებენ შემდეგნაირად: სამი-ოთხი სტერილური თავდახურული ჭურჭლიდან ერთს ავსებენ მასტერილიზებელი ხსნარით, დანარჩენს – სტერილური წყლით. გაწმენდილ და დისტილირებულ წყალში გარეცხილ მცენარეულ მასალას ჯერ, თუ აუცილებელია, რამდენიმე წამი ათავსებენ ეთილის სპირტში, ხოლო შემდეგ – მასტერილიზებელ ხსნარში და აფიქსირებენ სტერილიზაციის დაწყების დროს. ღეროების, კალმების, ფოთლების, კვირტების და სხვა ნაწილების (მონაკვეთების) სტერილიზაციის დროს რეკომენდირებულია მათი ბოლოების (გადანაჭერების) პარაფინირება, რათა თავიდან იქნას აცილებული გამტარ ჭურჭლებში მასტერილიზებული ხსნარის მოხვედრა, რომელსაც შეუძლია გამოიწვიოს ქსოვილების დაზიანება. თუ პარაფინირება არ ტარდება, მაშინ აუცილებელია ბოლოების (გადანაჭერების) მოცილება ლანცეტის საშუალებით. პატარაობიექტების (თესლები, კვირტები, ნაყოფები და სხვა) სტერილიზაცია და გარეცხვა მოხერხებულია ჩატარდეს ძაფშემოჭერილ დოლბანდის ტომსიკებში, რომლებიც პინცეტით გადააქვთ ერთი ჭურჭლიდან მეორეში. სტერილიზაციის დროის დამთავრების შემდეგ მცენარეული მასალა სტერილური პინცეტის საშუალებით გადაქვთ სტერილურ წყლიან ჭურჭლებში, თითოეულ მათგანში 5-10 წუთი დაყოვნებით. ასეთნაირად გასტერილიზებული, გარეცხილი და სტერილურ პეტრის ჯამებში ან სხვა ჭურჭლებში მოთავსებული მცენარეული მასალა მზადაა შემდგომი ოპერაციებისათვის.

4.3.2.15. საკვები არეების სტერილიზაცია

საკვები არე, რომელიც არ შეიცავს თერმოლაბილურ ნივთიერებებს, სტერილდება ავტოკლავირებით 0.75-1 ატმ* (115-120°C) წნევის ქვეშ 15-20 წუთის განმავლობაში ჭურჭელში საკვები არის 25-50 მლ მოცულობის დროს და 30-40 წუთის განმავლობაში ჭურჭელში საკვები არის 2-4 ლიტრამდე (დიდ კოლებში) მოცულობის დროს.**

თერმოლაბილური ნივთიერებების (ვიტამინები, ანტიბიოტიკები, ამინომჟავები, მცენარეული ექსტრაქტები, ცილები, ზოგიერთი ზრდის სტიმულატორები)*** შემცველი საკვები არეების სტერილიზაციისათვის იყენებენ ცივი სტერილიზაციის მეთოდს. ამ მიზნით თერმოლაბილურ ნივთიერებებს ატარებენ ვირუსებისა და ბაქტერიების აღსორბირების უნარის მქონე სტერილურ წერილფორებიან ბაქტერიულ ფილტრებში (ზეიცის ან ბერკეფელდის ფილტრები, შამბერლენის სანთლები, მემბრანული ფილტრები და სხვა) და სტერილურ პირობებში უმატებენ ადრე გასტერილებულ დანარჩენ საკვებ არეს. არსებობს აგრეთვე წყვეტილი სტერილიზაცია – ტინდალიზაცია ადვილად ჰიდროლიზებადი ნივთიერებების სტერილიზაციისათვის. მას ატარებენ კოხის აპარატში ატმოსფერული წნევის (100°C) ქვეშ. საკვებ არეს ადუღებენ 10 წუთის განმავლობაში, შემდეგ აცივებენ მას და ამ პროცედურას იმეორებენ ორჯერ დღე-ღამის გამოშვებით.

საკვები არის მცირე მოცულობების სტერილიზაცია შეიძლება საყოფაცხოვრებო სწრაფმხარშავი ქვაბების გამოყენებითაც. თერმოგამძლე ჭურჭლებს საკვები არით დგამენ ქვაბის ძირში მოთავსებულ ქსოვილგადაფარებულ ცხაურაზე, სტერილიზაციის ხანგრძლივობა 15-20 წუთი, რის შემდეგ სწრაფმხარშავი ქვაბი უნდა გაცივდეს ნელა ნორმალური წნევის დამყარებისათვის.

მზა საკვები არეების შენახვა რეკომენდირებულია 10°C ტემპერატურაზე. ოთახის ტემპერატურის პირობებში საკვებ არეში ინფექცია ვლინდება 5-10 დღის შემდეგ. ამიტომ თუ სტერილურობის მტკიცე გარანტია არაა, ახდენენ საკვებ არიანი კულტურალური ჭურჭლების სტერილურობის კონტროლს.

* ავტოკლავში წნევამ არ უნდა აიწიოს 1 ატმ-ზე ზევით, რადგანაც ეს იწვევს შაქრებისა და საკვები არის სხვა კომპონენტების დაშლას.

** დიდი მოცულობის სითხეების სტერილიზაცია მოხერხებულია ჩატარდეს ვერტიკალურ ავტოკლავში, პატარა მოცულობის – ჰორიზონტალურში. საკვები არის ავტოკლავირების დამთავრების შემდეგ უნდა მოხდეს წნევის ნელი დაწვეა აპარატში და სახურავის მხოლოდ მაშინ გაღება, როცა აპარატის შიგა წნევა გაუთანაბრდება გარეთას. წინააღმდეგ შემთხვევაში, წნევის მკვეთრი ცვალებადობის გამო სითხე ჭურჭელში სწრაფად დუღდება, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს საცობების დასველება ან მათი ამოვადება კი. შემდეგ ასეთ სველ საცობებზე გამორიცხული არაა ბაქტერიის სპორების განვითარება, რაც შეიძლება საკვები არის ინფიცირების წყარო გახდეს.

*** იშლებიან ავტოკლავირების დროს.

4.3.2.2. საკვები არემის შედგენის ძირითადი პრინციპები

იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების წარმატებით კულტივირებისათვის აუცილებელია **სრულფასოვანი (ობტიმალური) ხელოვნური საკვები არეები**. საკვები არეების შედგენილობაზე მნიშვნელოვნადაა დამოკიდებული მცენარის უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების *in vitro* ნორმალური ზრდა და ფუნქციონირება.

4.3.2.2.1. საკვები არემის კომპონენტები

კულტივირებისათვის გამოყენებული საკვები არეები უნდა შეიცავდეს მცენარისათვის აუცილებელ ყველა ნივთიერებას, რომლებიც შეიძლება დაიყოს ოთხ ჯგუფად:

1. **მაკროელემენტები** (ძირითადი არაორგანული ნივთიერებები) – **აზოტი, ფოსფორი, გოგირდი, კალიუმი, კალციუმი, მაგნიუმი, რკინა**.
2. **მიკროელემენტები** (უმნიშვნელო არაორგანული ნივთიერებები) – **ბორი, თუთია, სპილენძი, მანგანუმი, ნიკელი, კობალტი, იოდი** და სხვა.
3. **ნახშირწყლები** – **საქაროზა, გლუკოზა, მანიტოლი, სორბიტოლი, ქსილოზა**.

4. **ორგანული ნივთიერებები** – **ფიტოჰორმონები, ვიტამინები, მცენარეული ექსტრაქტები, ამინომჟავები** და სხვა.

აზოტი უმეტესი საკვები არის შედგენილობაში წარმოდგენილია ნიტრატების სახით და მხოლოდ ზოგიერთ შემთხვევაში – ამონიუმის მარილების სახით. **ფოსფორი** ძირითადად გამოიყენება ორთოფოსფატის სახით. **ზოგჯერ** ფოსფორის წყარო შეიძლება იყოს სხვადასხვა ფოსფატები. **გოგირდი** საკვები არის შედგენილობაში შეჰყავთ სულფატის, სულფიტის, ცისტეინის, გლუტამინის ან მეთიონინის სახით. **კალიუმი** საკვებ არეში ძირითადად წარმოდგენილია კალუმის მარილების სახით. ის აუცილებელია სწრაფად მზარდი ახალგაზრდა ქსოვილებისათვის. **კალციუმს** საკვებ არეში იყენებენ ქლორიდის სახით. კალციუმისადმი მომთხოვნია ძირითადად ხნიერი ქსოვილები. **მაგნიუმს** საკვებ არეში იყენებენ სულფატის სახით. **რკინა** შეჰყავთ არაორგანული მარილებისა (FeSO_4 , $\text{Fe}(\text{SO}_4)_3$ და სხვა) და ორგანული მჟავების (ლიმონმჟავა რკინა) სახით. უჯრედში რკინის შეთვისების გაუმჯობესებისათვის საკვები არეების შედგენილობაში შეჰყავთ რკინის აჯასპის აგენტები, ისეთები, როგორიცაა ეთილენდიამინტეტრაამრის მჟავა (ედტა) ან მისი ნატრიუმის მარილი – ტრილონი-B ($\text{Na}_2\text{ედტა} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

მიკროელემენტების ხსნარების საკვებ არეში შეტანა განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტივირებისათვის თხევად არეში (აგარიზებულ საკვებ არეში

მიკროელემენტების უქონლობა არც ისე იგრძნობა, რადგანაც თვით აგარში არის მრავალი მიკროელემენტი). მათი უქონლობა არსებითად ამცირებს კულტურების ზრდის ინტენსიურობას. არსებობს მიკროელემენტების მრავალი ხსნარი. ყველაზე მეტად იყენებენ ჰელერისა და მურასიგე-სკუგის ხსნარებს.

ნახშირწყლები წარმოადგენენ საკვები არეების შეუცვლელ კომპონენტებს, რადგანაც უმეტეს შემთხვევაში იზოლირებულ უჯრედებს, ქსოვილებსა და პროტოპლასტებს არ გააჩნიათ ავტოტროფული კვების უნარი. ყველაზე მეტად ნახშირწყლების წყაროდ იყენებენ საქაროხას ან გლუკოხას 20-40 მგ/ლ კონცენტრაციით. პოლისაქარიდებს, როგორც წესი, არ იყენებენ. მაგრამ რადგანაც ზოგიერთი ქსოვილი (მაგ., სიმსივნის) შეიცავს აქტიური ჰიდროლიზის უნარის მქონე ფერმენტებს (ამილაზა და სხვა), მათ შეუძლიათ ზრდა ხსნადი სახამებლის შემცველ არეებზეც.

ფიტოჰორმონები აუცილებელია უჯრედების დედიფერენცირებისა* და უჯრედის დაყოფის ინდუქციისათვის. ამიტომ კალუსური ქსოვილების მისაღებად საკვები არეების შედგენილობაში აუცილებლად უნდა შედიოდეს **აუქსინები (იწვევენ უჯრედის დედიფერენცირებას) და ციტოკინინები (იწვევენ დედიფერენცირებული უჯრედების დაყოფის ინდუქციას).** ღეროსეული მორფოგენეზის** ინდუქციის დროს აუქსინების შემცველობა შეიძლება შემცირებული ან მთლიანად გამოორციხული იქნას. ჰორმონების გარეშე საკვებ არეზე იზრდება სიმსივნის და “შეგუებული”*** ქსოვილები. ორივე ჰორმონისადმი ან ერთ-ერთი მათგანისადმი ავტონომიური დამოკიდებულება დაკავშირებულია ამ ქსოვილების მიერ საკუთარი ჰორმონების პროდუქციების უნარზე. აუქსინების წყაროდ საკვებ არეებში იყენებენ 2,4-დიქლორფენოქსიმირის მჟავას (2,4-დ) 0.1-2.0 მგ/ლ კონცენტრაციით, β -ინდოლილმირის მჟავას (იმმ) 0.1-10 მგ/ლ კონცენტრაციით, α -ნაფტილმირის მჟავას (ნმდ) 0.1-2.0 მგ/ლ კონცენტრაციით და სხვა. იმმ თითქმის 300 ჯერ ნაკლებ აქტიურია, ვიდრე 2,4-დ და 30-ჯერ ნაკლები – ვიდრე ნმდ. კალუსის წარმოქმნის ინდუქციებისათვის ჩვეულებრივ აუქსინების მაღალ კონცენტრაციებს იყენებენ, ხოლო შემდგომი გადათესვისას მათ ამცირებენ, რადგანაც კალუსურ ქსოვილს ზრდა შეუძლია აუქსინების 10-ჯერ ნაკლები კონცენტრაციების დროსაც. ციტოკინინების წყაროდ საკვებ არეში იყენებენ კინეტინს (6-ფურფურილამინოპურინი) 0.001-5.0 მგ/ლ კონცენტრაციით, 6-ბაპ-ს (6-ბენზილდამინოპურინი) 0.1-1.0 მგ/ლ კონცენტრაციით, ზეატინს (6-ამინოპურინი) 0.01-1.0 მგ/ლ კონცენტრაციით და სხვა. 6-ბაპ-ი და ზეატინი, კინეტინთან შედარებით უფრო მაღალ აქტიურობას იჩენენ უჯრედებისა და ქსოვი-

* იხ. გვ. 495.

** იხ. გვ. 404.

*** იხ. გვ. 397.

ლების ზრდისა და ორგანოგენეზის ინდუქციაში. აუქსინებისა და ციტოკინინების გარდა ცალკეული საკვები არეები შეიცავენ ჰიბერელინის მჟავას (ჰმ) და აბციზინის მჟავას (ამ). როგორც წესი, მათი არსებობა საკვებ არეში არ წარმოადგენს აუცილებელს, მაგრამ ზოგიერთ შემთხვევაში ისინი სტიმულს აძლევენ იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების ზრდას.

ვიტამინები შედის უმეტესი საკვები არის შედგენილობაში. ყველაზე მეტად იყენებენ თიამინს (B_1), პირიდოქსინს (B_6), ნიკოტინის მჟავას (PP), ასკორბინის მჟავას (C), ფოლის მჟავას (BC), ბიოტინს (H), რიბოფლავინს (B_2), ციანკობალამინს (B_{12}), კალციუმის პანტოტენატს, მეზონოზიტს და სხვა. საკვები არეების შემადგენლობაში შეყვანილი ვიტამინების დიდი უმრავლესობა შედის სხვადასხვა მნიშვნელოვანი რეაქტივების მკატალიზირებელი ფერმენტების შედგენილობაში. მაგალითად, თიამინი (ვიტამინი B_1) მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ნახშირწყლების გარდაქმნის პროცესებში. ის აუცილებელია თითქმის ყველა უჯრედული კულტურისათვის. საკვები არის შედგენილობაში შეჰყავთ 0.1-10 მგ/ლ კონცენტრაციით. პირიდოქსინი (ვიტამინი B_6) მონაწილეობს ამინომჟავების დეკარბოქსილირებისა და ამინირების პროცესებში. საკვებ არეში შეჰყავთ 0.1-1 მგ/ლ კონცენტრაციით. ნიკოტინის მჟავა (ვიტამინი PP) მონაწილეობს იდებს ჟანგვა-აღდგენით პროცესებში. საკვებ არეში მას იყენებენ 0.5-1 მგ/ლ კონცენტრაციით და ა.შ.

მცენარეულ ექსტრაქტებს ანუ გაურკვეველი შედგენილობის წვენებს (ქოქოსის რძე; ცხენისწაბლის, ბერძნული კაკლის, სიმინდის ენდოსპერმი, საფუარას ექსტრაქტი; ფორთოხლის, პომიდორის წვენი და სხვა) გააჩნიათ ზრდის გააქტიურების თვისებები. საკვებ არეში მათ უმატებენ კალუსისა და სუსპენზიური კულტურების წარმოქმნისა და ზრდის ინდუქციისათვის. ზრდის გააქტიურების ყველაზე მეტი თვისება გააჩნია ქოქოსის რძეს – მოუმწიფებელი ქოქოსის კაკლის თხევად ენდოსპერმს. საკვებ არეში იგი შეჰყავთ 5-15%-ს რაოდენობით ავტოკლავირების წინ. საკვები არეების მინერალური შედგენილობის სრულყოფისა და ციტოკინინების ნ-ბაპ-ი და ზეატინი გამოყენების გამო უკანასკნელ პერიოდში უმეტეს შემთხვევაში არაა აუცილებელი მცენარეული ექსტრაქტების გამოყენება.

ამინომჟავებს საკვებ არეებში იყენებენ აზოტის წყაროდ. უჯრედული კულტურების ზრდაზე მასტიმულირებელ გავლენას ახდენენ მხოლოდ α -კონფორმაციის ამინომჟავები. ყველაზე მეტად იყენებენ გლიცინს, ასპარაგინისა და გლუტამინის მჟავას, არგინინს, ალანინს და სხვა. იყენებენ აგრეთვე რამდენიმე ამინომჟავის ნარევს (მაგალითად, ტორისა და რეინერტის მიხედვით ამინომჟავების ნარევი შედგება 18 ამინომჟავისაგან). მრავალი კულტურისათვის დამუშავებულია ამინომჟავების ოპტიმალური ნარევი. ძალიან ხშირად ამინომჟავების

ნარევის ნაცვლად იყენებენ კაზეინის ჰიდროლიზატს (როგორც მჟავურს, ისე ფერმენტულს) 100-500 მგ – 2 გრ/ლ კონცენტრაციით.

მყარი საკვები არეების მომზადებისათვის იყენებენ აგარ-აგარს (მაღაიურად ნიშნავს ქელეს). ის წარმოადგენს ზღვის წყალმცენარეებისაგან მიღებულ პოლისაქარიდს. წყალთან წარმოქმნის გელს, რომელიც ღლდება 96-100°C ტემპერატურაზე და მყარდება 40-45°C ტემპერატურაზე (მჟავე არეში კარგავს გელის წარმოქმნის უნარს). არასასურველი მინარევების უმცირეს რაოდენობას შეიცავენ ბაქტერიული აგარი “Difco,” “Bacto-Agar” და სხვა. ჩვეულებრივ საკვებ არეს უმატებენ 0.5-0.7% აგარ-აგარს. არსებობს აგრეთვე სხვა გელწარმოქმნელი ნივთიერებებიც – ბიოგელები, პოლიაკრილამიდური გელები, სილიკატ-გელები, პლასტმასები, მაგრამ ისინი პრაქტიკაში ფართოდ არ გამოიყენება.

4.3.2.2. საკვები არეების მომზადება და შენახვა

ამჟამად მშრალი ფხენილების სახით ამზადებენ რამდენიმე ტიპის მზა საკვებ არეს (მაგ., უაიტს, მურასიგე-სკუგის, ჰელერის და სხვა), რომლებიც შეიცავენ ყველა აუცილებელ კომპონენტს ფიტოჰორმონების, ვიტამინების, ნახშირწყლებისა და აგარ-აგარის გარდა. მზა საკვები არეები მეტად ხელსაყრელია მუშაობისათვის. ფხენილის საჭირო რაოდენობას ხსნიან მითითებული მოცულობის ბიდისტილირებულ წყალში, ხსნარს უმატებენ ფიტოჰორმონებს, ვიტამინებს, ნახშირწყლებს, აგარ-აგარს, საკვებ არეს ასხამენ კულტურალურ ჭურჭლებში და ავტოკლავირებენ. მაგრამ მათ გააჩნია რიგი უარყოფითი მხარეც. ისინი ძვირია, მათი გამოყენება შეუძლებელია ისეთ გამოკვლევებში, სადაც აუცილებელია საკვები არის კომპონენტების ვარირება.

საკვები არეების მომზადებისათვის* იყენებენ მაღალი ქიმიური სიწმინდის, ვარგისიანობის ვადაშემოწმებულ რეაქტივებს. მიკროელემენტებისა და ფიტოჰორმონების აწონვისას საჭიროა განსაკუთრებული სიფრთხილე და სიზუსტე, რადგანაც თუნდაც უმნიშვნელო შეცდომა არსებით გავლენას ახდენს უჯრედებისა და ქსოვილების ზრდასა და ფუნქციონირებაზე. დაუშვებელია აგრეთვე მარილების ჯვარედინი გაბინძურება უსუფთაო შპადელებით.

მინერალური მარილები უმჯობესია აიწონოს მინის ჭიქებში, ხოლო მიკროელემენტები, ვიტამინები, ფიტოჰორმონები, ამინომჟავები

* საკვები არეების მომზადებისას გათვალისწინებულ უნდა იქნას ქიმიური ნივთიერებების რიგი თვისებები. ზოგიერთი მათგანი არ იხსნება წყალში, მაგრამ კარგად იხსნება სხვა სითხეებში – მჟავაში, სპირტში ან სხვაში და შემდეგ, მომზადების ბოლოს, შეჟავთ საკვებ არეში. აუცილებელია აგრეთვე ცალკეულ ნივთიერებებს შორის ქიმიური ურთიერთმოქმედების შესაძლებლობების გათვალისწინება, რაც იწვევს მათ დაჟანგვას, დაშლას ან ახალი შენაერთების წარმოქმნას.

და სხვა დამატებები – საათის მინებზე. ნახშირწყლებისა და აგარ-აგარის აწონვა შეიძლება პერგამენტის ქაღალდზე. ჩვეულებრივ დროის ეკონომიისა და მუშაობაში მოხერხებულობისათვის – ამზადებენ მინერალური მარილების კონცენტრირებულ ხსნარებს, ცალკე მაკროელემენტების, მიკროელემენტების, კალციუმის ქლორიდის* და რკინის აჯასის ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -სა და $\text{Na}_2\text{ედტა-ს}$ ხსნარი).** მაკროელემენტების კონცენტრირებულ ხსნარებს ამზადებენ 10-ჯერ მეტ კონცენტრაციებში, ვიდრე საჭიროა კულტივირებისათვის და ინახავენ მუქი მინის ქილებში, მაცივარში $2-4^\circ\text{C}$ ტემპერატურის პირობებში, 4-6 კვირის განმავლობაში. მიკროელემენტების კონცენტრირებულ ხსნარებს ამზადებენ 100-ჯერ მეტ კონცენტრაციებში და ინახავენ პატარა შუშებში – 20°C ტემპერატურის პირობებში. მომზადებულ კონცენტრირებულ ხსნარებს უკეთებენ ეტიკეტებს საკვები არის სახელწოდებისა და მისი დამზადების თარიღის მითითებით. მუშაობის დაწყების წინ აუცილებელია კონცენტრირებული ხსნარების შემოწმება ნალექის, გაჭუჭყიანების და ხილული ინფექციის არსებობაზე. დაუშვებელია გაჭუჭყიანებული და ინფიცირებული ხსნარების გამოყენება.

ვიტამინების ხსნარებს ასევე ამზადებენ კონცენტრირებული (100 ჯერ) სახით. ამისათვის იღებენ 10-ჯერად წონაკებს (თითოეული ვიტამინი ცალ-ცალკე) და ხსნიან 10 მლ წყალში. იმის გამო, რომ ვიტამინები სწრაფად იშლება, მათ ხსნარებს ამზადებენ საკვები არის მომზადებამდე არა უმეტეს ერთი კვირით ადრე და ინახავენ პენიცილინის ფლაკონებში გაყინულ (-20°C) მდგომარეობაში.

აუქსინების (2,4-დ, ნმმ, იმმ და სხვა) ხსნარებს თავდაპირველად ხსნიან მცირე რაოდენობის ეთანოლში და შემდეგ დაჰყავთ საჭირო მოცულობამდე წყლით. ციტოკინინების (კინგინი, ზეატინი, 6-ბაპ-ი და სხვა) წინასწარ ხსნიან მცირე მოცულობის 0.5 N HCl-ში ან KOH-ში და წყლის აბაზანაში გათბობისას უმატებენ საჭირო რაოდენობის წყალს. აბსციზინის მჟავას წყლის დამატებამდე ხსნიან 70%-იან ეთანოლში. ამ ხსნარებს ინახავენ მაცივარში $2-4^\circ\text{C}$ ტემპერატურის პირობებში (არა უმეტეს 1 თვე).

კაზეინის ჰიდროლიზატისა და საფუარას ექსტრაქტის ხსნარებს ამზადებენ უშუალოდ საკვები არის მომზადების წინ.

მაცივარში შენახვის დროს გაყინულ ხსნარებს აღლობენ და სრულად ხსნიან წყლის აბაზანაში.

საკვები არის ყველა კომპონენტი მზადდება ბიდისტილირებულ წყალში.

* რადგანაც კალციუმის იონები ფოსფატთან წარმოქმნიან ცუდადხსნად ნაერთს, საკვები არის მომზადების დასაწყისში არ შეიძლება CaCl_2 -ის შერევა ფოსფატთან.

** რკინის აჯასს ამზადებენ ცალკე, რადგანაც იწვევს დაჟანგვას. მაგალითად, 1 ლიტრ ხსნარს ღებულობენ 745 მგ $\text{Na}_2\text{ედტა-ს}$ და 557 მგ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -ს თანმიმდევრული გახსნითა და 5 წუთის განმავლობაში დუდილის შედგებად.

საკვები არეების მომზადებისას აუცილებელია მუშაობის გარკვეული წესის დაცვა. აგარ-აგარის საჭირო რაოდენობას ათავსებენ ტემპერატურაგამძლე ქიმიურ ჭიქაში და უკეთესი გაჯირჯევის მიზნით 10-15 წუთით ასხამენ საკვები არის ნახევარი მოცულობის ცივი ბიდისტილირებულ წყალს, აცხელებენ 100°C ტემპერატურამდე და ურევენ მის ერთგვაროვან კოლოიდურ ხსნარად გადაქცევამდე. ცალკე ჭურჭელში (სახოში ცილინდრი) ათავსებენ საჭირო რაოდენობის მაკრო- და მიკროელემენტების, ნახშირწყლების, ვიტამინების, ფიტო-ჰორმონების, ამინომჟავების და სხვა დამატებების კონცენტრირებულ ხსნარებს. შემდეგ აერთიანებენ წინასწარ მომზადებულ დაახლოებით ერთნაირ ტემპერატურამდე დაყვანილ საკვებ არესა და აგარ-აგარს. უმატებენ თბილ ბიდისტილირებულ წყალს საჭირო მოცულობამდე, ათავსებენ კოლბაში და ფრთხილად ურევენ ჯოხის საშუალებით ან მსუბუქი ნჯღრევით სანჯღრეველაზე. ბოლოს არის pH დაჰყავთ საჭირო პარამეტრამდე მჟავის (1N HCl) ან ტუტის (1N KOH ან 1N NaOH) წვეთ-წვეთობით დამატებისა და pH-ის მუდმივი შემოწმების გზით.

მომზადებულ საკვებ არეს ასხამენ წინასწარ გასტერილბულ კულტურალურ ჭურჭლებში და თავს ახურავენ სტერილური საცობებს ან ხუფებს. თუ საჭირო არაა საკვები არის ზუსტი დოზირება, მაშინ ერთ ჭურჭელში ასხამენ მის გარკვეულ მოცულობას (დაახლოებით ჭურჭლის 1/3-ს) და, იყენებენ რა მას როგორც ეტალონს, ასხამენ ყველა სხვა დანარჩენ ჭურჭელში. საკვები არის ზუსტ მოცულობას ზომავენ პიპეტით, ცილინდრით ან სხვადასხვანაირი დოზატორებით. სტერილური საკვები არეების ინფიცირებისაგან დაცვის მიზნით ჭურჭლებს ხურავენ წინასწარ ავტოკლავირებული საცობებით, რომლებსაც ამზადებენ დოლბანდის ორმაგი ფენით დაფარული არაჰიგროსკოპული ბამბისაგან. ისინი კარგად ატარებენ ჰაერს და ხელს უშლიან საკვები არიდან ტენის აორთქლებას. საცობებად იყენებენ აგრეთვე (განსაკუთრებით სუსპენზიური კულტურებისათვის) რბილი ალუმინის ფოლგის ხუფებს, რომლებიც გამოიყენება მხოლოდ ერთჯერადი კულტივირებისათვის. ჰაერი ხუფიდან საკვებ არეში შედის ჭურჭლის ყელის ირგვლივ ფოლგაზე არსებული წვრილი არხების გზით. არ შეიძლება კულტურალური ჭურჭლების დახურვა რეზინის ან კორპის საცობებით. ეს იწვევს უჯრედებისა და ქსოვილების ამოხუთვას. ჭურჭლებს საკვები არით (შესაბამისი ეტიკეტით), სტერილიზაციის დროს ბამბის საცობების დასველებისა და ამოვარდნისაგან დაცვის მიზნით ახვევენ ცელოფანში ან მკერძე ქაღალდში, კრავენ ხეზით, ათავსებენ სპეციალურ შტატივებზე (სინჯარებს) ან ლითონის დარბეზე (კოლბებს) და დგამენ ავტოკლავში.

თუ საკვებ არეში შედის თერმოლაბილური ნივთიერებები, მაშინ ისინი სტერილდება ცივი სტერილიზაციის მეთოდით, ხოლო დანარჩენი საკვები არე მთელი მოცულობით სტერილდება ავტოკლავში,

რის შემდეგ სტერილურ პირობებში სტერილური პიპეტით მას უმატებენ გასტერილებული თერმოლაბილური ნივთიერების ხსნარს და მიღებულ არეს ასხამენ ჭურჭლებში.

გასტერილებული საკვები არე გამოყენებული უნდა იქნას 2-3 დღის განმავლობაში. მაცივარში 2-4°C ტემპერატურის პირობებში საკვები არე ინახება ორ კვირამდე. მუშაობის წინ ის უნდა გათბეს ოთახის ტემპერატურამდე.

4.3.2.2.3. ყველაზე უფრო გამოყენებული საკვები არემის შემდგენილობა და ახალი არის დამუშავება

მცენარეთა იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტივირებაში წარმატება განისაზღვრება საკვები არის შედგენილობით. დღეისათვის დამუშავებულია საკვები არეების მრავალი შედგენილობა. უმეტესობა მათგანი წარმოადგენს ძირითადი სტანდარტული საკვები არეების (უაიტის, ჰელერის, მურასიგე-სკუგის, ჰამბორგის B₅, შენკი-ჰილდებრანდტის და სხვა) მოდიფიკაციებს, რომლებიც შედგენილია იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტივირების კონკრეტული პირობებისათვის.

მე-14,-15,-16,-17,-18,-19 ცხრილებში მოყვანილია ზოგიერთი ყველაზე უფრო გამოყენებული საკვები არეების და მიკროელემენტების ხსნარების შედგენილობა.

თუ ლიტერატურაში მოყვანილი არ არის საჭირო ინფორმაცია საკვებ არეზე, მაშინ ოპტიმალური საკვები არის შესარჩევად (ახალი არის დასამუშავებლად) მუშაობას იწყებენ ფართოდ გამოყენებული სტანდარტული არეების, ისეთების როგორიცაა მურასიგე-სკუგის, ჰამბორგი B₅-ის, შენკი-ჰილდებრანდტის და სხვა გამოყენებით, ხოლო შემდეგ არჩევენ ფიტოჰორმონების, ვიტამინების და სხვა დამატებების კონცენტრაციებს. მაგალითად, აუქსინისა და ციტოკინინის კონცენტრაციების შერჩევისათვის რეკომენდირებულია აუქსინის ხუთი კონცენტრაციისა და ციტოკინინის ხუთი კონცენტრაციის გამოყენება, რაც საერთო ჯამში იძლევა 25 სხვადასხვა კომბინაციას (იხ. ქვემოთ).

		კ ი ნ ე ტ ი ნ ი მგ/ლ				
		0	0.5	2.5	5	10
2.4-დ მგ/ლ	0	1	2	3	4	5
	0.5	6	7	8	9	10
	2.5	11	12	13	14	15
	5	16	17	18	19	20
	10	21	22	23	24	25

**ყველაზე მეტად გამოყენებული სტანდარტული არეების
შედგენილობა**

ცხრილი 14

შედგენი- ლობა	საკვები არე (რაოდენობა მგ/ლ-ში)				
	უაიტის (White)	ჰელერის (Heller)	მურასიგე და სკოგის (მს) (Murashige, Skoog)	ჰამბორგი და ეველეი- ენგის B₅ (Gamborg., Eveleigh)	შენკი და ჰილდებრან- დტის (შპ) (Shenk, Hil- debrandt)
NH ₄ NO ₃	-	-	1650	-	-
KNO ₃	80	-	1900	2500	2500
NaNO ₃	-	600	-	-	-
CaCl ₂ ·2H ₂ O	-	75	440	150	200
MgSO ₄ ·7H ₂ O	750	250	370	250	400
KH ₂ PO ₄	-	-	170	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	-	134	300
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	300	-	-	-	-
Na ₂ SO ₄	20	-	-	-	-
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	19	125	-	150	-
KCL	65	750	-	-	-
KJ	0,75	0,01	0,83	0,75	1
H ₃ BO ₃	1,5	1	6,2	3	5
MnSO ₄ ·4H ₂ O	5	0,1	22,3	-	-
MnSO ₄ ·7H ₂ O	-	-	-	10	10
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	3	1	8,6	2	1
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	-	-	0,25	0,25	0,1
MoO ₃	0,001	-	-	-	-
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,01	0,03	0,025	0,025	0,2
CoCl ₂ ·6H ₂ O	-	-	0,025	0,025	0,1
ALCL ₃	-	0,03	-	-	-
NiCl ₂ ·6H ₂ O	-	0,03	-	-	-
FeCL ₃ ·6H ₂ O	-	1	-	-	-
Fe (SO ₄) ₃	2,5	-	-	-	-
FeSO ₄ ·7H ₂ O	-	-	27,8	28,0	15
Na ₂ ედტა 2H ₂ O	-	-	37,3	-	20
მეზონოზიტი (ინოზიტოლი)	-	-	100	100	1000
თიამინი HCL	0,01	-	0,1	10	5
ნიკოტინის მჟავა	0,05	-	0,5	1	5
პირიდოქსინი HCL	0,01	-	0,5	1	0,5
გლიცინი	3	-	2	-	-
2,4-დ	-	-	-	2	0,5
კინეტინი	-	-	0,2	-	0,1
იძმ	-	-	2	-	-
პარაკლორფენო- ქსიმრისმჟავა	-	-	-	-	2
საქაროზა	20000	-	30000	20000	30000
pH	5,6-5,8	5,6-5,8	5,6-5,8	5,5	5,9

**სხვადასხვა უჯრედებისა და ქსოვილების კულტივირებისათვის
გამოყენებული საკვები არეების შემადგენილობა**

ცხრილი 15

შედგენი- ლობა	საკვები არე (რაოდენობა მგ/ლ-ში)				
	ჰილდებრა ნდტი,რაი- კერი, და- ბერის (Hildebrand t, Raiker, Dugger)	ნიჩის (Nitch)	მილერის (Miller)	მორელი და მიულერის (Morel, Mu- ller)	ლინსმაი- ერი და სკუგის (Linsmaier, Skoog)
NH ₄ NO ₃	-	-	400	-	1650
KNO ₃	80	125	80	125	1900
CaCl ₂ ·2H ₂ O	-	-	-	-	440
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	-	1000	-
MgSO ₄ ·7H ₂ O	180	-	35	125	370
NaH ₂ PO ₄	33	-	-	-	-
KH ₂ PO ₄	-	125	12	125	170
KCL	6,5	-	65	1000	-
MnSO ₄ ·4H ₂ O	4,5	3	4,4	0,1	22,3
Na ₂ SO ₄	800	-	-	-	-
KJ	3	-	0,8	0,1	0,83
H ₃ BO ₃	0,38	0,5	1,6	1	6,2
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	400	500	100	500	-
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	6	0,5	1,5	1	8,6
CuSO ₄ ·5H ₂ O	-	0,025	-	0,03	0,25
NiCl ₂ ·6H ₂ O	-	-	-	0,03	-
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	-	0,025	-	-	0,25
ALCL ₃	-	-	-	0,03	-
CoCl ₂ ·6H ₂ O	-	-	-	-	0,025
FeCl ₃ ·6H ₂ O	-	-	-	1	-
FeSO ₄ ·7H ₂ O	-	27,8	-	-	27,86
Na ₂ ედტა	-	-	25	-	37,3
Feტარტარატი. 5H ₂ O	40	10	-	-	37,26
მეზონინოზიტი	-	-	-	100	100
თიამინი HCL	0,1	-	0,1	1	-
ნიკოტინის მჟავა	-	-	0,5	1	-
პირიდოქსინი HCL	-	-	0,1	1	-
ბიოტინი	-	-	-	0,01	-
Ca.პანტოტანატი	2,5	-	-	1	-
გლიცინი	3	-	2	-	0,2
კინეტინი	-	-	0,2	-	2,0
2,4-დ	6,0	0,1	-	-	0,4
იძმ	-	-	2,0	-	-
ნძმ	0,1	-	-	1	-
ჰიპერვლინის მჟავა	-	-	-	0,1	-
ქოქოსის რძე	150 მგლ	-	-	-	-
საქაროზა	20000	50000	20000	20000	30000
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	5,6

**შპირატუსად იზოლირებული მტვრინების, მტვრის მარცვლების
და ჩანასახების კულტივირებისათვის გამოყენებული საკვები
არეების შედგენილობა**

ცხრილი 16

შედგენი- ლობა	საკვები არე (რაოდენობა მგ/ლ-ში)				
	ვასი- ლის (Vasil)	ნიჩი და ნიჩი (Nitch, Nitch)	ჩუ, ვონგის და სხვათა (Chu Wang, Sun, Hsil, Yin, Chu, Bi)	რიჯვენის (Rijven)	რაგჰავანი და ტორის (Raghavan, Torry)
KNO ₃	80	950	2830	-	63
NH ₄ NO ₃	-	720	-	-	-
MgSO ₄ ·7H ₂ O	360	185	185	49	63
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	463	-	-
CaCl ₂ ·2H ₂ O	-	166	166	55	-
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	260	-	-	-	480
KH ₂ PO ₄	-	68	400	340	60
KCL	65	-	-	-	42
MnSO ₄ ·4H ₂ O	3	25	4,4	0,45	-
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	165	-	-	-	-
H ₃ BO ₃	0,5	10	1,6	0,062	0,56
KJ	-	-	0,8	-	-
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,5	10	1,5	0,287	-
K ₂ HPO ₄	-	-	-	87	-
Na ₂ MoO ₃ ·2H ₂ O	0,025	0,25	-	-	-
CoCl ₂	0,025	-	-	-	-
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	-	0,024	-
Na ₂ SO ₄	200	-	-	-	-
FeSO ₄ ·7H ₂ O	-	27,8	27,8	-	-
FeCu ₄ H ₄ O ₆	-	-	-	3,08	-
CuCL ₂ ·2H ₂ O	-	-	-	0,27	-
ZnCL ₂	-	-	-	0,42	-
Na ₂ ედტა 2H ₂ O	-	37,8	37,5	-	-
Feციტრატო. 5H ₂ O	10	-	-	15	-
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	-	-	-	0,12	1,55
მეზონინოზიტი	-	100	-	-	-
ნიკოტინის მჟავა	-	5	0,5	-	0,5
პირიდოქსინი HCL	0,25	0,5	0,5	-	0,1
თიამინი HCL	0,25	0,5	1	-	0,1
Ca.პანტოტანატი	0,25	-	-	-	-
მჟავა	-	0,5	-	-	-
ბიოტინი	-	0,05	-	-	-
გლიცინი	7,5	2	2	-	-
ნიკოტინამიდი	1,25	-	-	-	-
ადენინსულფატი	-	-	-	-	0,001
იძმ	2	0,1	-	-	0,1
კინეტინი	-	-	-	-	0,001
საქაროზა	10000	20000	50000	12000	20000
pH	5,5	5,5	5,8	6,0	4,9-5,0

**შპირატესად იზოლირებული პროტოკლასტების კულტივირება
ბისატმის გამომწენებული საკვები არემების შემზენილოზა**
ცხრილი 17

შედგენი- ლობა	საკვები არე (რადენობა მგ/ლ-ში)				
	ნაგატა, ტაკებეს (Nagata, Takebe)	ნინი და ოჰიამის (Nitch, Ohyama)	ევანსი, კიტსი, კოკინგის (Evans, ke- ats, Cocking)	შეპარდი, ტოტენის (Shepard, Tetten)	ნეგი, მალეგის K ₃ (Nagy, Maliga)
NH ₄ NO ₃	825	-	-	82,5	250
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	-	-	134
KNO ₃	950	500	80	167	2500
CaCL ₂ ·2H ₂ O	220	-	-	22	900
CaCL ₂	-	1000	-	-	-
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1233	250	750	447	250
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	-	-	300	180	-
KH ₂ PO ₄	680	25	-	68	-
Na ₂ SO ₄	-	-	200	180	-
H ₃ BO ₃	6,2	1	1,5	2	3
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	-	-	19	14,9	150
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3	2,5	5	4,1	10
KCL	-	-	65	58,5	-
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	1	3	2,3	2
MoO ₃	-	-	0,001	-	-
KJ	0,83	-	0,75	-	0,75
MnCL ₂ ·4H ₂ O	-	-	-	2	-
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,025	-	0,03	0,25
CaHPO ₄	-	-	-	-	50
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,0025	0,01	0,003	0,025
CoCL ₂ ·6H ₂ O	-	-	-	-	0,025
Na ₂ ელტა 2H ₂ O	37,3	37,3	-	3,7	37,3
Fe ₂ (SO ₄) ₃	-	-	2,5	2,3	-
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8	27,8	-	2,8	27,8
მეზონოზიტი	100	100	-	39,7	100
თიამინი HCL	1	0,5	0,1	0,19	10
ნიკოტინის მუავა	-	5	0,5	-	1
პირიდოქსინი HCL	-	0,5	0,1	0,1	1
ფოლის მუავა	-	0,5	-	-	-
ბიოტინი	-	0,05	-	-	-
ნიკოტინამიდი	-	-	-	0,45	-
გლიცინი	-	2	3	2,7	-
2,4-დ	-	1	1	-	0,1
ნძმ	1	-	-	1,2	1
ნ-ბაპი	-	1	1	0,4	0,2
საქაროზა	10000	ან } 0,6M	0,059 M	ვარიტებს	0,4 M
მანიტოლი	0,7 M		-	-	-
სორბიტოლი	-		0,7 M	-	-
ქსილოზა	-	-	-	-	250
pH	5,8	5,6	5,8	5,6	5,6

**შპირატესად სუსპენზიური კულტურების
კულტივირებისათვის გამოყენებული
საკვები არემების შეფხმნილობა**

(ცხრილი 18

შედგენი- ლობა	საკვები არე (რაოდენობა მგ/ლ-ში)				
	ერიკ- სონის (Erik- sson)	ჰამბორ- გი, ვმპ- ლენგის PRL-4 (Gamborg Eveleigh)	ნეშის (Nash)	ფილიპის SCN (Phillips)	ტოკაიამა, მი- სავა, კო, მისა- ტოს (Takayama, Misava, Ko, Mi- sato)
NH ₄ NO ₃	1200	-	-	-	1650
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	200	-	-	-
KNO ₃	1900	1000	-	-	1900
NaNO ₃	-	-	850	-	-
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	150	110	100	22
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	250	250	35	370
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	-	90	-	-	-
KH ₂ PO ₄	340	-	140	300	340
NaH ₂ PO ₄	-	30	-	-	-
ZnNa ₂ ·ედტა	15	-	-	-	-
KCL	-	300	750	65	-
H ₃ BO ₃	0,63	3	0,2	1,5	6,2
KJ	-	0,75	0,1	-	0,83
MnSO ₄ ·4H ₂ O	0,025	10	1	4,5	22,3
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,0025	0,25	0,02	0,04	0,025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,0025	0,25	0,01	0,025	0,025
Na ₂ ·ედტა·2H ₂ O	37,3	18,6	-	-	37,3
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	-	3	0,5	1,5	10,6
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8	13,9	-	-	27,3
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	-	0,25	0,02	0,25	0,25
Fe(ციტრატი·5H ₂ O	-	-	5	-	-
Fe·Na ₂ ·ედტა	-	-	-	32	-
თიამინი HCL	0,5	10	0,5	0,1	0,4
პირიდოქსინი HCL	0,5	1	0,5	0,1	-
Ca პანტოტენატი	-	-	1	-	-
ნიკოტინის მჟავა	0,5	1	1	0,5	-
მეზონინოზიტი	-	100	100	100	-
გლიცინი	2	-	-	2	-
კაზეინის	-	2000	-	-	-
პიდროლიზატი	-	-	-	-	-
იძმ	1	-	-	-	-
2,4-დ	-	2	1,1	-	0,1
კინეტინი	0,02	-	0,5	-	-
საქაროზა	40000	20000	20000	30000	30000
pH	5,8	6,2	6,0	6,0	6,3

მიკროელემენტების ზოგიერთი ხსნარების შედგენილობა
ცხრილი 19

შედგენი- ლობა	საკვები არე (რაოდენობა მგ/ლ-ში)		
	ჰელერის (Heller)	მურასიგე და სკუგის (Murashige, Skoog)	ნიტის (Nitsh)
FeCl ₃ ·6H ₂ O	1	-	-
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1	8,6	500
H ₃ BO ₃	1	6,2	500
MnSO ₄ ·4H ₂ O	0,1	22,3	3000
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,03	0,025	25
AlCl ₃	0,03	-	-
NiCl ₂ ·6H ₂ O	0,03	-	-
KJ	0,01	0,83	-
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	-	0,25	25
CoCl ₂ ·6H ₂ O	-	0,025	-
H ₂ SO ₄	-	-	0,5 მლ

შემდეგ აქედან შეარჩევენ კონცენტრაციას, რომლის დროსაც საუკეთესოდ მიმდინარეობს ზრდა. ამის შემდეგ, უკვე ამ კონცენტრაციის ფარგლებში კვლავ იკვლევენ აუქსინისა და ციტოკინინის სხვადასხვა კონცენტრაციების მოქმედებას. ანალოგიურად ხდება სხვა დამატებების დროსაც. შეიძლება აგრეთვე ოდნავ შეიცვალოს არაორგანული ნივთიერებების შემცველობა, მაგალითად, მარილების შემცველობის ორჯერ შემცირება და ა.შ.*

4.3.2.3. არის pH-ის და კულტივირების ზოგიერთი შიზიკური ფაქტორის მნიშვნელობა

მცენარეთა იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების წარმატებით კულტივირებისათვის მნიშვნელოვან ფაქტორს წარმოადგენს **საკვები არის pH**. მის სიდიდეზე მნიშვნელოვნადაა დამოკიდებული ბიოლოგიური მაკრომოლეკულების, პირველ რიგში ცილების (განსაკუთრებით ფერმენტების) სტრუქტურა და აქტიურობა, საკვები არის მთელი რიგი კომპონენტების მდგრადობა და შეთვისებადობა, რკინის სხვადასხვა ნაერთების უჯრედებში შეღწევადობა, მძიმე მეტალების ფოსფატებისა და მარილების დაღეჟა და სხვა. pH-ისადმი ყველაზე მეტ მგრძნობიარეს წარმოადგენენ იმპ, ჰიბერელინის მჟავა, თიამინი, ტრიპტოფანი და სხვა. pH-ის დაბალი სიდი-

* თანამედროვე ლაბორატორიებში საკვები არეების კომპონენტების ოპტიმალური შედგენილობის შერჩევისათვის იყენებენ მათემატიკურ (კომპიუტერულ) მეთოდს.

დის დროს არ ხდება აგარ-აგარის ქელატინიზაცია და ა.შ.

უმეტესი მცენარის უჯრედებისა და ქსოვილებისათვის pH-ის ოპტიმალური მნიშვნელობა მდებარეობს 5.0-5.8 შორის. საკვები არის ძალიან მჟავე (pH 3.5) ან ძალიან ტუტე (pH 9) რეაქცია თრგუნავს უჯრედებისა და ქსოვილების ზრდას. ჩვეულებრივ მზა საკვები არის pH-ის დადგენა ხდება მისი გატუტინებით (1N KOH ან NaOH-ს ხსნარით) ან გამჟავებით (1N HCl-ს ხსნარით). მხედველობაშია მისაღები ის, რომ ავტოკლავირების დროს არის pH შეიძლება შეიცვალოს. pH-ის ოპტიმალური მნიშვნელობის დადგენას განსაკუთრებული ყურადღება ექცევა სუსპენზიური კულტურების საკვები არეების შედგენის დროს, რადგანაც ამ კულტურებს მეტაბოლიტების გამოყენების გამო გააჩნიათ არის pH-ის მყარად შეცვლის უნარი.

საკვები არეების შედგენის და მათზე ამა თუ იმ ობიექტის კულტივირების დროს აუცილებლად გათვალისწინებულ უნდა იქნას ზოგიერთი ფიზიკური ფაქტორის (აერაციის, ოსმოსური წნევის, ტემპერატურის, განათების, არის გამდინარეობის, აირის შედგენილობის და ა.შ.) გავლენა.

აერაციის პირობებს დიდი მნიშვნელობა აქვთ იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების წარმატებით კულტივირებისათვის. კერძოდ, იგი განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია სუსპენზიური კულტურებისათვის. გათვალისწინებული უნდა იქნას, რომ აერაციის უკეთესი პირობები იქმნება მყარ საკვებ არეებზე, ვიდრე თხევადზე.

ოსმოსურ წნევას უჯრედისათვის ნატიურ პირობებში დიდი მნიშვნელობა აქვს. ზრდისა და განვითარების გარკვეულ ეტაპებზე უჯრედები ხასიათდებიან ოსმოსური წნევის გარკვეული გრადიენტებით. ეს პირობა შენარჩუნებულია უჯრედებისა და ქსოვილების კულტივირების დროსაც. მაგრამ ამასთან, გათვალისწინებულ უნდა იქნას თუ რომელი ნივთიერების ხარჯზე ხდება ოსმოსური წნევის შენარჩუნება, რადგანაც ის შეიძლება მოხდეს კვების ელემენტების ან სხვა შენაერთების ხარჯზე.

ტემპერატურული ფაქტორი მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს უჯრედებისა და ქსოვილების ზრდაზე ასეპტიკურ პირობებში. ეს აიხსნება იმით, რომ უჯრედი (ქსოვილი) იზოლირებულია დედა მცენარისაგან. ტემპერატურა უშუალოდ გავლენას ახდენს რიგ პროცესებზე და განსაკუთრებით ფერმენტების აქტიურობაზე. უმეტესი კულტივირებადი უჯრედებისა და ქსოვილებისათვის ტემპერატურული ოპტიმუმი შეადგენს 24-27°C, ცალკეული უჯრედებისა და ქსოვილებისათვის 2-3° გადახრით.

განათების პირობა არ წარმოადგენს უმნიშვნელოს და გარკვეულ გავლენას ახდენს იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების ზრდაზე. თუმცა მათ არ ახასიათებთ ავტოტროფუ-

ლი კვება. ამ დროს სინათლე ცვლის გენეტიკური ინფორმაციის ათვისებასა და რეალიზაციას და გავლენას ახდენს უჯრედების მიტოზურ აქტიურობასა და ზრდაზე. რეკომენდირებულია უჯრედებისა და ქსოვილების კულტივირება გაფანტულ სინათლეზე ან ლუმინესცენტრირებული ნათურების ქვეშ.

დიდი მნიშვნელობა აქვს აგრეთვე *in vitro* კულტურაში **გამდინარე არეების** გამოყენებას, რომლებიც უზრუნველყოფენ კვების პირობების დინამიურობასა და მეტ მუდმივობას. კვების ეს წესი გაცილებით ახლოსაა დედა მცენარეზე უჯრედის კვების პირობებთან. გამდინარე საკვები არის უპირატესობა არაგამდინარე მყარ და თხევად საკვებ არეებთან შედარებით შეინიშნება სხვადასხვა უჯრედული კულტურების კულტივირების დროს.

აირის შედგენილობა (O_2 , N_2 , CO_2) უჯრედის ზრდის ნატიურ პირობებში მნიშვნელოვნად განსხვავდება *in vitro* პირობებში აირის შედგენილობაზე. დადგენილია, რომ აირის შედგენილობისაგან (ჟანგბადი, აზოტი, ნახშირორჟანგი) დამოკიდებულებით მკვეთრად იცვლება როგორც უჯრედის დაყოფის ინტენსიურობა (ზრდის სიჩქარე), ისე დიფერენცირებისა და ფორმათაწარმოშობის პროცესები.

4.4. მცენარის უჯრედის ტოტიპოტენტურობა და ცალკეული უჯრედების კულტივირება

იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტივირების მეთოდი დაფუძნებულია მცენარის უჯრედის მნიშვნელოვანი თვისების – ტოტიპოტენტურობის გამოყენებაზე.

ტოტიპოტენტურობა* – არის მცენარის უჯრედის თვისება, მოახდინოს ბირთვის გენეტიკური ინფორმაციის სრული რეალიზაცია და წარმოქმნას მთლიანი მცენარე.

ტოტიპოტენტურობის თვისება ცხოველებში გააჩნია განაყოფიერებულ კვერცხუჯრედს და ნაწლავდრუიანების ზოგიერთი უჯრედს (მაგ. ჰიდრას სომატური უჯრედები საწყისს აძლევენ ახალ ორგანიზმს), ხოლო მცენარეებში – სათანადო პირობების არსებობისას ყველა უჯრედს.

მცენარის უჯრედის ტოტიპოტენტურობის შესახებ მოსაზრებას გამოთქვამდნენ ჯერ კიდევ უჯრედული თეორიის ფუძემდებლები **მ. შლეიდენი (M.J. Schleiden)** და **თ. შვანი (T.H. Schwann)**. პირველად ტოტიპოტენტურობის შესახებ ჰიპოთეზა წამოაყენა გ. ჰაბერლანდტმა 1902 წელს. მაგრამ მან ვერ შეძლო მისი პრაქტიკული დასაბუთება. ამ მეცნიერის მიხედვით მცენარის ყოველ უჯრედს შეუძლია საწყისი მისცეს ახალ ორგანიზმს და თუ იგი არ ხდება, ეს მხოლოდ იმიტომ, რომ მცენარის ორგანიზმი ახშობს უჯრედის განვითარების პოტენციას. მცენარიდან უჯრედის იზოლაცია ხელს უწყობს ამ პოტენციის გამოვლენას.

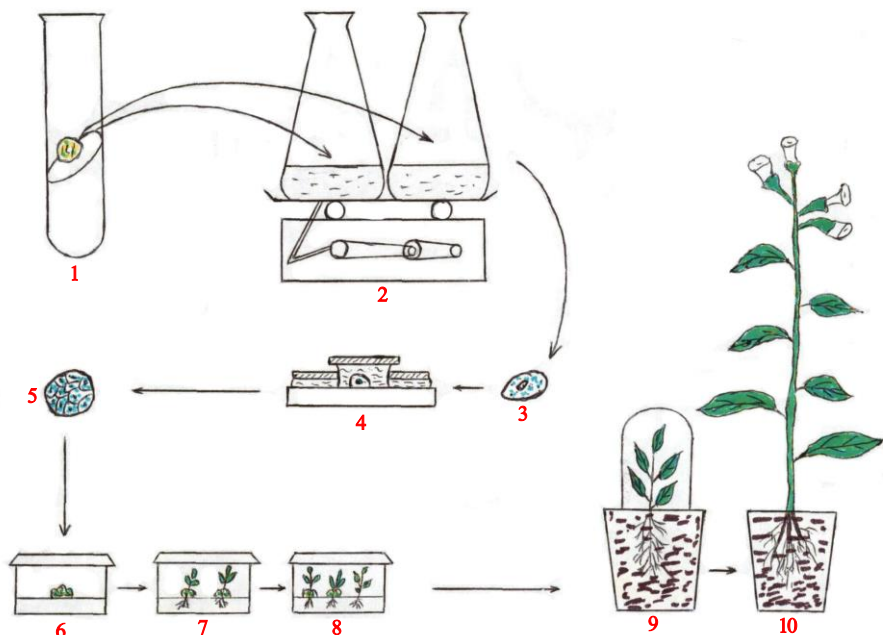
ცალკეული იზოლირებული უჯრედის ტოტიპოტენტურობის დასამტკიცებლად აუცილებელია მისი *in vitro* პირობებში კულტივირება (გამოზრდა), რისთვისაც საჭიროა შემდეგი ოპერაციების ჩატარება: 1) ცალკეული უჯრედის იზოლაცია, 2) იზოლირებული უჯრედის გამრავლება, ე.ი. ერთუჯრედიანი კლონების** მიღება, 3) ცალკეული იზოლირებული უჯრედიდან მთლიანი მცენარის გამოზრდა.

პირველი შრომები უჯრედების იზოლაციასა და ერთუჯრედიანი კლონების მიღებაში განხორციელებული იქნა ვისკონსიის უნივერსიტეტის (აშშ) მეკლევართა ჯგუფის – **გ. მიუირის (W. Muir)**, **ა. ჰილდებრანდტის (A. Hildebrandt)**, **ა. რაიკერის (A. Riker)** და სხვთა მიერ 1954 წელს. თამბაქოს ცალკეული უჯრედები გამოყოფილი იქნა თხევად საკვებ არეში მოთავსებული ფხვიერი კალუსის ქსოვილებიდან. ჭურჭლები საკვები არეთი და კალუსით ინჯდრეოდა მუდმივი სიჩქარით შეიკერზე (კოლბები პლატფორმიან სანჯდრეველაზე). შემდეგ ხდებოდა ცალკეული უჯრედების გამოყოფა და კულტივირება (გა-

* totus [ლათ.] – მთლიანი, მთელი; potentia [ლათ.] – ძალა.

** კლონი – ერთი უჯრედიდან წარმოშობილი კულტურა.

მოზრდა). იზოლირებული უჯრედის ტოტიპოტენტურობის მაილუსტრირებელი ექსპერიმენტი მოტანილია 142-ე სურათზე.



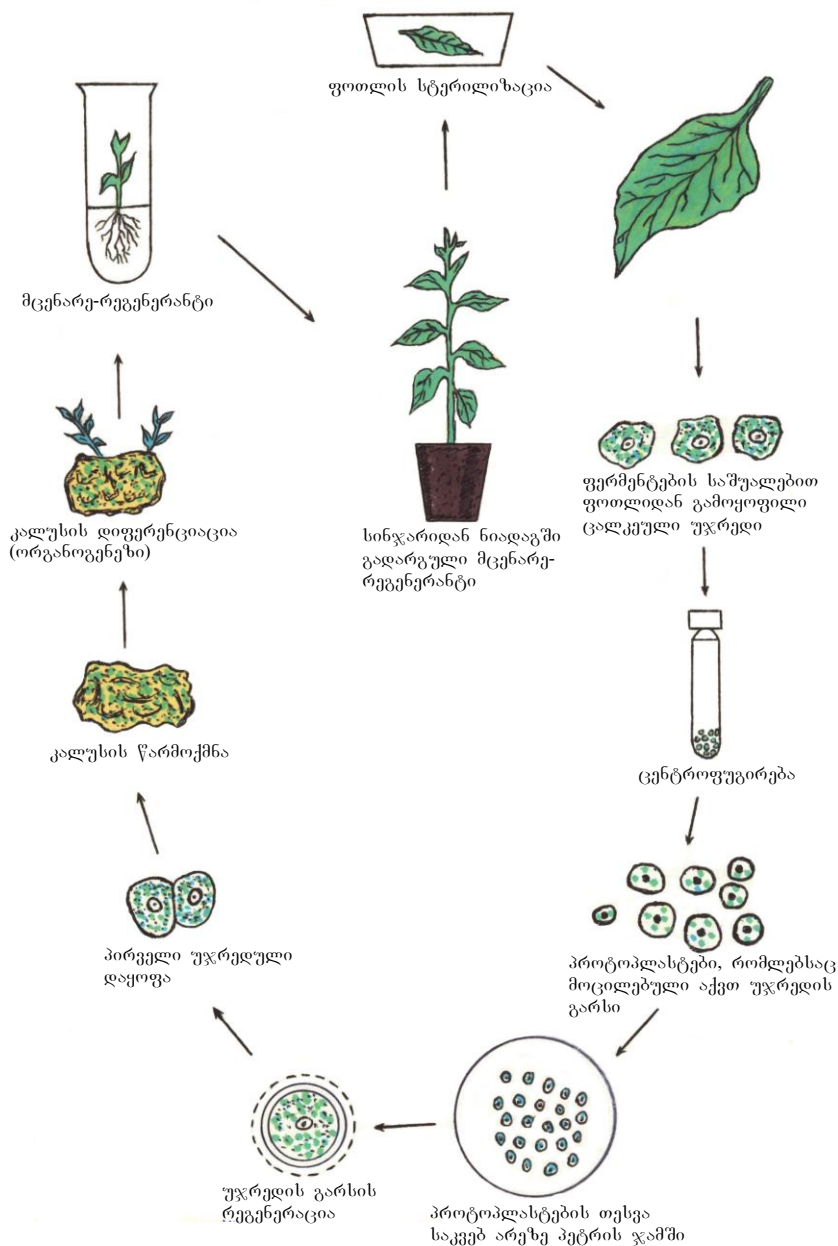
სურ. 142. იზოლირებული უჯრედის ტოტიპოტენტურობის მაილუსტრირებელი ექსპერიმენტი

(1 – კალუსი, 2 – შეიკერი სუსპენზიით, 3 – იზოლირებული უჯრედი, 4 – მიკროკამერა, 5 – კალუსური უჯრედების კლონი, 6 – კალუსის კულტივირება აგარიზებულ არეზე, 7-10 მცენარე-რეგენერანტების განვითარება)

ამჟამად სრულყოფილად დამუშავებულია *in vitro* პირობებში ცალკეული უჯრედების კულტივირების ტექნიკა და მეთოდოლოგია. 143-ე სურათზე ნაჩვენებია ცალკეული უჯრედიდან (პროტოპლასტიდან) მცენარის რეგენერაციის სქემა.

ცალკეული უჯრედების იზოლირება ხდება კალუსის ქსოვილიდან, უჯრედული სუსპენზიიდან,* უშუალოდ მცენარის ქსოვილიდან (მაგ., ფოთლის მეზოფილიდან, მისი ფერმენტებით ან სპეციალური ლანცეტით დამუშავების შემდეგ), იზოლირებული პროტოპლასტების კულტურიდან (უჯრედის გარსის აღდგენის შემდეგ) და სხვა.

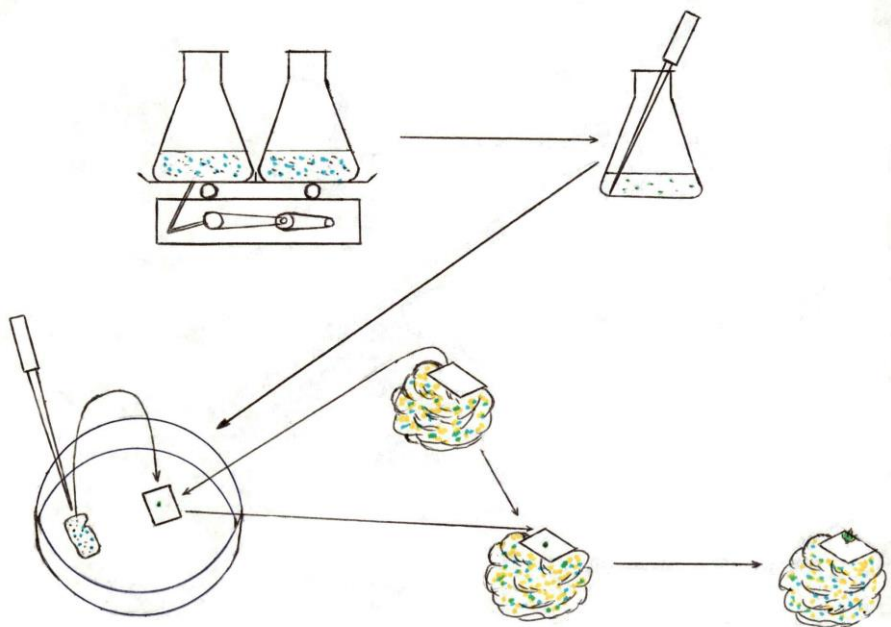
* სუსპენზია (ლათ. *suspensio* – დაკიდება) – არის სისტემა შემდგარი ორი ფაზისაგან – მყარი და თხევადი, სადაც წვრილი მყარი ნაწილაკები შეტივტივებულია თხევადში.



სურ. 143. ცალკეული უჯრედიდან (პროტოპლასტიდან) მცენარის რეგენერაციის სქემა

ცალკეული უჯრედის კულტივირების პროცესში ერთუჯრედიანი კლონების მიღების გაადვილების* მიზნით დამუშავებულია რამდენიმე მეთოდი: „ბიძა-ქსოვილების“ მეთოდი, პლეიტინგის მეთოდი, მიკროკამერის მეთოდი, „კონდიციონირებული არეების“ მეთოდი, „მკვება-ვი ფენის“ მეთოდი, მიკროწვეთის მეთოდი და სხვა.

„ბიძა-ქსოვილების“ მეთოდი. აღნიშნული მეთოდი (სურ. 144) დამუშავებულია გ. მიშირის, ა. ჰილდებრანტის და ა. რაიკერის მიერ

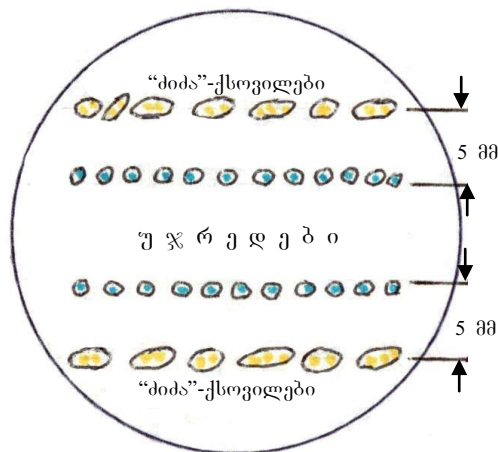


სურ. 144. ცალკეული უჯრედების კულტივირება „ბიძა-ქსოვილების“ მეთოდით

1954 წელს. ცალკეული იზოლირებული უჯრედები გადააქვთ სტერილურ ფილტრის ქაღალდზე. უჯრედების იზოლირებამდე 2-3 დღით ადრე ფილტრის ქაღალდები ასეპტიკურად თავსდება კალუსური ქსოვილი – „ბიძის“ თავზე. ფილტრის ქაღალდების ასეთი წინასწარი დამუშავება აუცილებელია მათი დასველებისა და დედა კალუსიდან საკვები ნივთიერებების აღსორცისათვის. იზოლირებული უჯრედის ტენიან ფილტრის ქაღალდზე მოთავსების შემდეგ, უკანასკნელი უჯ-

* საკვებ არეზე მოთავსებული ცალკეული იზოლირებული უჯრედი მრავლდება ძნელად.

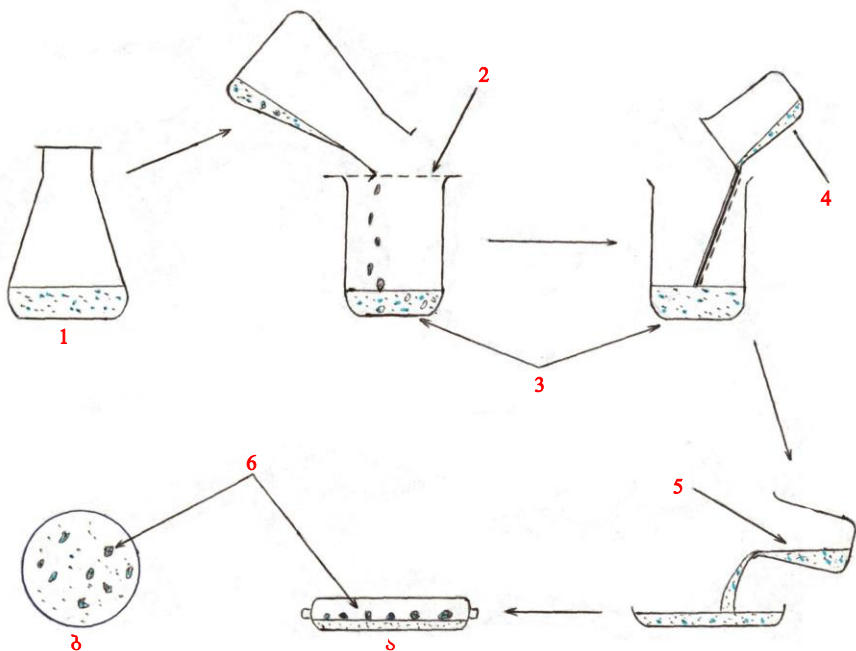
რედთან ერთად გადააქვთ კულტურალურ ჭურჭელში კალუსური ქსოვილი-„ძიძის“ თავზე. უჯრედის ფილტრის ქაღალდზე და შემდეგ კალუსური ქსოვილი – „ძიძის“ თავზე გადატანის პროცედურა უნდა ჩატარდეს სწრაფად უჯრედისა და ფილტრის ქაღალდის გამოშრობის თავიდან აცილების მიზნით. ფილტრის ქაღალდზე მოთავსებული იზოლირებული უჯრედი არ კონტაქტირებს „ძიძა“-კალუსთან, მაგრამ მიუხედავად ამისა, მისგან ქაღალდის ბარიერში დიფუზიის გზით ღებულობს ყველა აუცილებელ საკვებ ნივთიერებებსა და უჯრედის დაყოფის მაინდუცირებელ ფაქტორებს. „ძიძა“-ქსოვილის დაბერებისას ფილტრის ქაღალდი უჯრედით ან უჯრედების კოლონიით გადააქვთ ახალგაზრდა კარგად მზარდ კალუსურ ქსოვილზე. დამუშავებულია ამ მეთოდის გამარტივებული მოდიფიკაცია, სადაც იზოლირებული უჯრედები და „ძიძა“-ქსოვილები თავსდება აგარიზებულ საკვებ არეზე გარკვეული მანძილის (5 მმ) დაცილებით (სურ. 145).



სურ. 145. „ძიძა-ქსოვილების“ მეთოდის გამარტივებული მოდიფიკაცია

პლეტინგის* მეთოდი. ეს მეთოდი დამუშავებულ იქნა გერმანელი მეცნიერის **ლ. ბერგმანის (L. Bergman)** მიერ 1959 წელს. მისი არსი მდგომარეობს შემდეგში (სურ. 146). ერთმანეთში ურევენ თანაბარი რაოდენობის კარგად მზარდი კალუსური ქსოვილიდან მიღებული ცალკეული უჯრედების სუსპენზიასა და გამდნარ, 30-40°C ტემპერატურამდე გაცივებულ, 0.6-1%-იან აგარიზებულ საკვებ არეს და ნარევის ასხამენ სტერილურ პეტრის ჯამებში დაახლოებით 1 მმ სისქის ფენით. საკვები არის გამოშრობისა და კულტურის ინფიცირების თავი-

* **Plating** [ინგლ.] – უჯრედების თესვა აგარიზებულ საკვებ არეში.

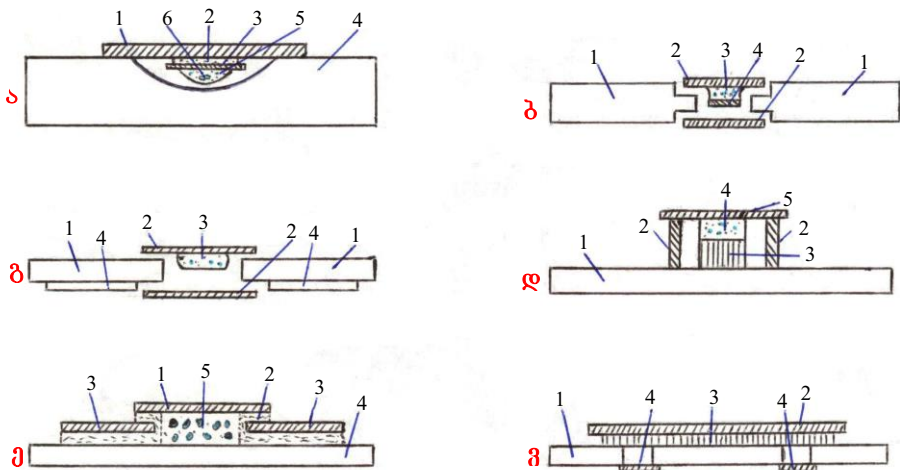


სურ. 146. ცალკეული უჯრედების კულტივირება პლეიტინგის მეთოდით

(1 – უჯრედული სუსპენზია, 2 – ფილტრი, 3 – ფილტრირებული ცალკეული უჯრედებითა და უჯრედული აგრეგატებით, 4 – გამდნარი აგარიზებული არე, 5 – აგარიზებული არე ცალკეული უჯრედებით, 6, ბ – უჯრედების კულტივირება, უჯრედული კოლონიები)

დან აცილების მიზნით პეტრის ჯამებს წებავენ პარაფილმით ან გადაასხამენ პარაფინს და ახდენენ კულტივირებას 22-25°C ტემპერატურაზე სიბნელის ან გაფანტული სინათლის პირობებში.

მიკროკამერის მეთოდი. მეთოდი დაფუძნებულია სტერილური მინერალური ზეთით გარემოცული ცალკეული უჯრედების თხევადი საკვები არის წვეთში კულტივირებაზე. დამუშავებულია მიკროკამერების ოთხი ძირითადი ტიპი (სურ. 147). პირველი ტიპის მიკროკამერების მოწყობას საფუძვლად უდევს „დაკიდული წვეთის“ პრინციპი (ჰარისონის კამერა, მაქსიმოვის კამერა, უაიტის კამერა, ჰოლდინის კამერა და სხვა), მეორე ტიპის – „მჯდომარე წვეთის“ პრინციპი (გოტრეს კამერა, ჯონსის კამერა და სხვა), მესამე ტიპს წარმოადგენენ სპეციალური კამერები თხევადი მინისაგან (განკუთვნილია ძირითადად ადამიანისა და ცხოველების უჯრედების კულტივირებისათვის) და მეოთ-

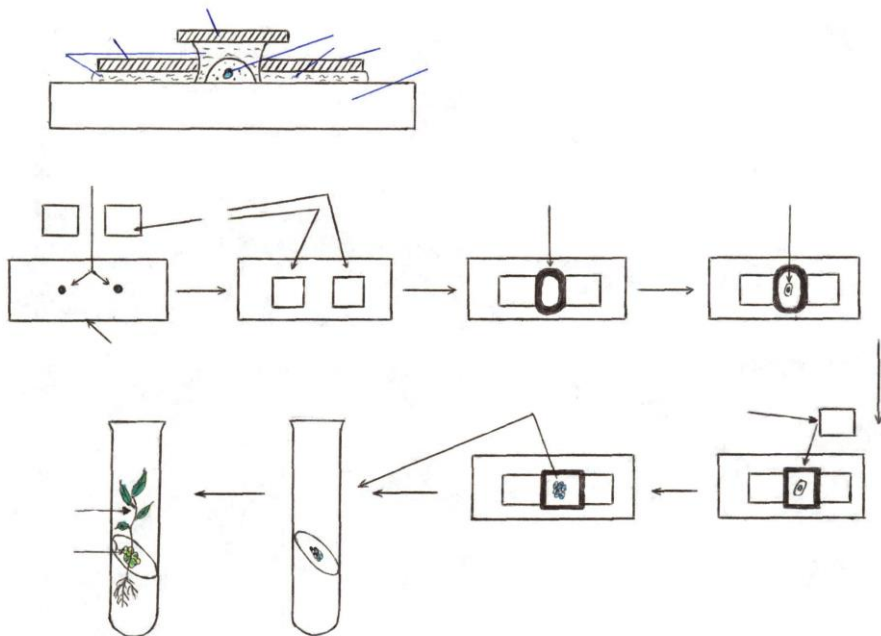


სურ. 147. ცალკეული უჯრედების კულტივირებისათვის გამოყენებული მიკროკამერის ტიპები

(ა - მაქსიმოვის: 1 - დიდი საფარი მინა; 2 - ვაზელინის ზეთი; 3 - პატარა საფარი მინა; 4 - სასაგნე მინა ბუდით; 5 - სუსპენზიის წვეთი; 6 - ქსოვილის ნაწილი; ბ - უაიტის: 1 - სასაგნე მინა; 2 - საფარი მინა; 3 - სუსპენზიის წვეთი; 4 - პატარა საფარი მინა; გ - ჰოლდინის: 1 - სასაგნე მინა ნახვრეტით; 2 - საფარი მინა; 3 - სუსპენზიის წვეთი; 4 - ფირფიტები; დ - გორტეს: 1 - სასაგნე მინა; 2 - რგოლი; 3 - მინის დისკო; 4 - სუსპენზიის წვეთი; 5 - საფარი მინა; ე - ჯონსის: 1 - საფარი მინა; 2 - ვაზელინის ზეთი; 3 - საფარი მინა; 4 - სასაგნე მინა; 5 - სუსპენზიის წვეთი; ზ - ჰოლდინის: 1 - სასაგნე მინა ორი ნახვრეტით; 2 - დიდი საფარი მინა; 3 - ქარსიანი ფირფიტა ჭრილით; 4 - საფარი მინა)

ხე ტიპს - პერფუზიული* კამერები (ჰოლდინის კამერა). მაგალითად, მიკროკამერის მეთოდი, დამუშავებული ჯ. ჯონსის (J. Jones et al) მიერ ვისკონსინის უნივერსიტეტში (აშშ) 1960 წელს, მდგომარეობს შემდეგში (სურ. 148). სასაგნე მინაზე პარაფინის ზეთის საშუალებით ერთმანეთისაგან მცირე დაშორებით აწებებენ ორ საფარ მინას, რომელთა შორის კვადრატული ფორმით ასხამენ პარაფინის ზეთს. ამ უკანასკნელის კამერაში (ე.ი. პარაფინის ზეთის კვადრატის შიგნით) გადააქვთ თხევადი საკვები არის წვეთი იზოლირებული უჯრედით. კამერას ზემოდან აფარებენ მესამე საფარ მინას. მიკროკამერის მეთოდის გამოყენებით ი. ვასილმა და ა. ჰილდებრანტმა 1965 წელს პირველად აჩვენეს თამბაქოს იზოლირებული უჯრედიდან ნორ-

* უზრუნველყოფენ უჯრედების კულტივირებისათვის საჭირო საკვები არის პერიოდულ ან მუდმივ განახლებას



სურ. 148. ცალკეული უჯრედების კულტივირება მიკროკამერის მეთოდით
 (1 – სასაგნე მინა; 2 – პარაფინის ზეთის წვეთი; 3 – საფარი მინა; 4 – ოთხკუთხედი პარაფინის ზეთისაგან; 5 – საკვები არის წვეთი ერთი იზოლირებული უჯრედით; 6 – მესამე საფარი მინა; 7 – უჯრედული კოლონია, მისი კულტივირების გაგრძელება აგარიზებულ არეში; 8 – კალუსი; 9 – აღმონაცენი)

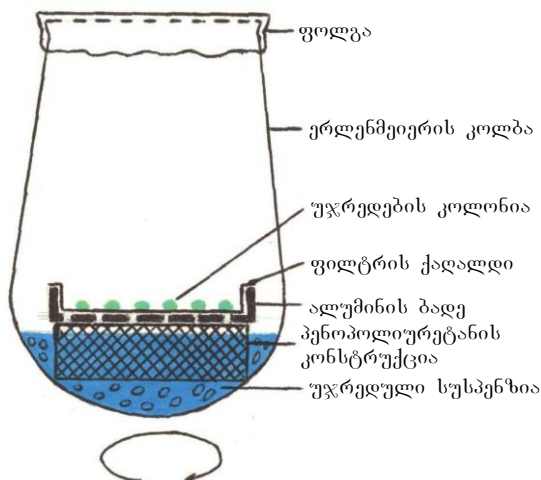
მალური მცენარის მიღების შესაძლებლობა (სურ. 140), ე.ი. მათ მიერ დასაბუთებულ იქნა მცენარის უჯრედის ტოტიპოტენტურობა.

„კონდიციონირებული არეების“ მეთოდი. აქტიურად მზარდი უჯრედები არა მარტო აღსორბიერებენ ნივთიერებებს საკვები არიდან, არამედ გარკვეული სახით ცვლიან – „კონდიციონირებენ“ მას, საკუთარი ბიოსინთეტიკური მოქმედების პროდუქტების გამოყოფით. ასეთი საკვები არეები სტიმულს აძლევენ ცალკეული უჯრედების დაყოფასა და ზრდას. აღნიშნული მეთოდის არსი ცალკეული უჯრედის ინტენსიურად მზარდი უჯრედული კულტურის საკვებ არეში მოთავსებაში მდგომარეობს. ამისათვის ახდენენ უჯრედული სუსპენზიის ზრდის ექსპონენციალურ* ფაზაში გაფილტვრას ბაქტერიულ ფილტრში.

„მკვებავი ფენის“ მეთოდი. აღნიშნული მეთოდის გამოყენება ასევე დაკავშირებულია ფენომენთან, რომელსაც ჰქვია „კონდიციონირე-

* იხ. გვ. 410.

ბის ფაქტორის მოქმედება.“ ერლენმეიერის კოლბაში (სურ. 149), რო-



სურ. 149. ცალკეული უჯრედების კულტივირება „მკვებაგი ფენის“ მეთოდით

მელშიც მოთავსებულია უჯრედული სუსპენზია, გადააქვთ სითხის დონის სიმაღლის პენოპოლიურეტანის კონსტრუქცია, ამ უკანასკნელზე დგამენ ალუმინის ბადეს, ხოლო მასზე – ფილტრის ქაღალდს იმავე სუსპენზიიდან იზოლირებული უჯრედით. ფილტრის ქაღალდი უჯრედული სუსპენზიიდან იწოვს ყველა აუცილებელ საკვებ ნივთიერებასა და უჯრედის დაყოფის მაინდუცირებელ ფაქტორებს.

„მიკროწვეთის“ მეთოდი. მეთოდი დამუშავებულია **ი.ი. გლეხას (Ю.Ю. Глеха)** მიერ 1978 წელს, რომლის გამოყენებით ცალკეული მეზოფილური პროტოპლასტებიდან მან შეძლო კოლონიების და მთლიანი მცენარის მიღება.

ცალკეული უჯრედების კულტივირება, გარდა უჯრედების ტოტიპოტენტურობის დამტკიცებისა, საშუალებას იძლევა გამოკვლეულ იქნას უჯრედის დაბერების, ზრდის დიფერენციაციისა და დედიფერენციაციის, უმაღლესი მცენარეების ბიოქიმიისა და გენეტიკის, უჯრედსა და გარემოს შორის ურთიერთდამოკიდებულების, კლონური მასალის გამოზრდისას გენეტიკური და ფიზიოლოგიური სტაბილურობისა და ცვალებადობის და ა.შ. თავისებურებების თეორიული საკითხები. ცალკეული უჯრედების კულტივირებას ასევე გააჩნია დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობაც. კერძოდ, ის ფართოდაა გამოყენებული საინტერესო ნიშან-თვისებების მატარებელი უჯრედების სელექციასა და ქსოვილთა კლონების შექმნაში.

4.5. კალუსური ქსოვილების კულტურა

4.5.1. კალუსობენეზი

4.5.1.1. კალუსური ქსოვილების წარმოქმნის სპეციფიკა

კულტივირებადი მცენარეული უჯრედის ძირითად ტიპს წარმოადგენს კალუსური ქსოვილი (კალუსი).

კალუსური ქსოვილი (კალუსი) – არის არადიფერენცირებული უჯრედების მასა, რომელიც წარმოიქმნება მცენარის ორგანოების უჯრედების არაორგანიზებული პროლიფერაციის* გზით** (სურ. 150).



სურ. 150. სტაფილოს კალუსური ქსოვილი

კალუსი შეიძლება წარმოიქმნას არა მარტო უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში, არამედ მცენარეთა დაზიანებისა (მაგ. ჭრილობები, მავნებლებით დაზიანება და ა.შ.) და მცენარის*** დროსაც. სიტყვა „კალუსი“ (Callus) ლათინურია და ნიშნავს – კოჟრს, სქელ ტყავს.

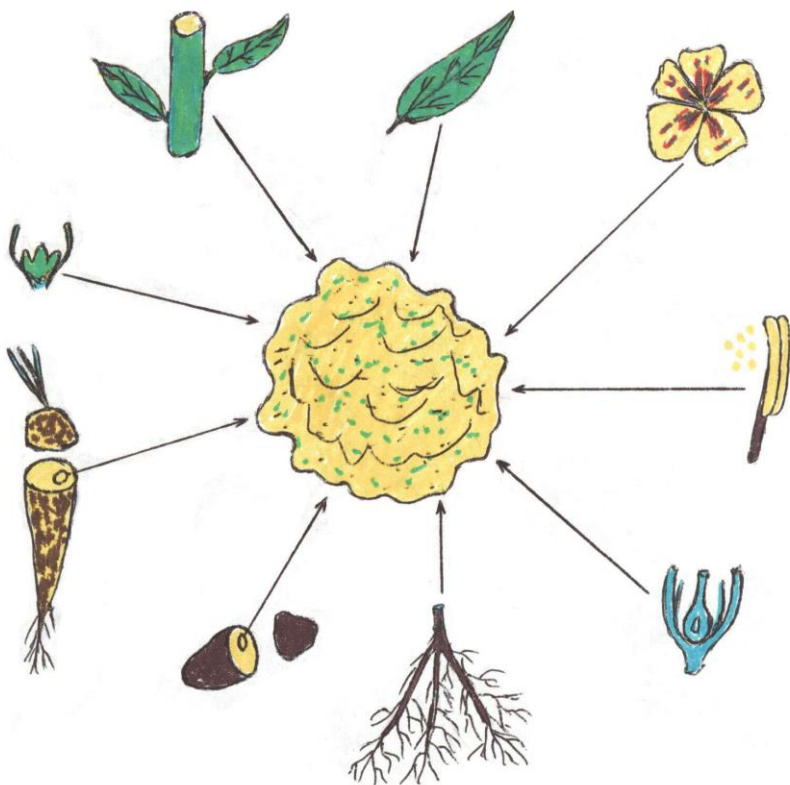
უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში კალუსური ქსოვილი მიიღება მცენარის ექსპლანტატის**** (სურ. 151), ყველა საკვები ნივთიერებისა და ორი ჰორმონის – ციტოკინინებისა და აუქსინების შემ-

* პროლიფერაცია – უჯრედებისა და ქსოვილების ახალწარმოქმნა უკვე არსებულის გამრავლების გზით.

** არსებობს კალუსის სხვა განმარტებაც: კალუსი – არის ქსოვილების არაორგანიზებული მასა, რომელიც შედგება დედიფერენცირებული უჯრედებისაგან.

*** კალუსი ხელს უწყობს ჭრილობების შეხორცებას და სპირისა და სანამყენის შეზრდას.

**** ექსპლანტატი (ანუ ექსპლანტი) – არის დამოუკიდებლად კულტივირებადი ან პირველადი კალუსის მისაღებად გამოყენებული მცენარის ქსოვილის ან ორგანოს ფრაგმენტი. ამჟამად კალუსური ქსოვილი მიიღება მცენარის პრაქტიკულად ნებისმიერი ქსოვილიდან ან ორგანოდან.



სურ. 151. მცენარის ორგანოებისა და ქსოვილების ტიპები, საიდანაც შეიძლება მიღებულ იქნას კალუსი

ცველ, ხელოვნურ საკვებ არეზე მოთავსებით. ჰორმონების გარეშე საკვებ არეში უჯრედების დაყოფა არ მიმდინარეობს და კალუსური ქსოვილი არ წარმოიქმნება, ე.ი. უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში კალუსური ქსოვილის წარმოქმნისათვის აუცილებელ პირობას წარმოადგენს საკვებ არეში აუქსინებისა და ციტოკინინების არსებობა. ეს აიხსნება იმით, რომ მცენარის სპეციალიზებულ ქსოვილებს, რომლებიც შედგებიან დიფერენცირებული უჯრედებისაგან არ შეუძლიათ დაყოფა, რადგანაც დიფერენცირებისას* უჯრედები იფარება სქელი მეორადი უჯრედული გარსით და კარგავენ დაყოფის

* ყოველი მცენარის უჯრედი გადის ზრდის სამ ფაზას: 1) დაყოფის, 2) გაჭიმვის და 3) დიფერენცირების. ბოლო ფაზაში ადგილი აქვს მეორადი უჯრედული გარსის გასქელებას და უჯრედის მიერ დაყოფის უნარის დაკარგვას.

უნარს. იმისათვის, რომ დიფერენცირებულმა უჯრედებმა კვლავ დაიწყონ დაყოფა, აუცილებელია მათი **დედიფერენცირება ანუ სპეციალიზებული, დაყოფის უნარო უჯრედების გადასვლა პროლიფერაციაზე**. დედიფერენცირება თითქოსდა დიფერენცირებულ უჯრედებს გარდაქმნის მერისტემურად, ე.ი. ეს უჯრედები კარგავენ თავიანთ სპეციალიზაციას.

უჯრედების დედიფერენცირების გამოწვევა ხდება აუქსინების საშუალებით, ხოლო ციტოკინინები იწვევენ უკვე დედიფერენცირებული უჯრედების პროლიფერაციას (გამრავლებას).

დედიფერენცირებული უჯრედების გამრავლება იწვევს ანარქიულ, არაორგანიზებულ ზრდას, რის შედეგადაც წარმოიქმნება კალუსური ქსოვილი. ამრიგად, სპეციალიზებული, დიფერენცირებული უჯრედების გადაქცევა კალუსურად დაკავშირებულია უჯრედული დაყოფის ინდუქციასთან, რომლის უნარი უჯრედმა დაკარგა დიფერენცირების პროცესში.

უჯრედის დიფერენცირებული მდგომარეობიდან დედიფერენცირებულ მდგომარეობაში და აქტიურ დაყოფაში გადასვლა განპირობებულია გენების აქტიურობის შეცვლით. ერთი ჯგუფის გენების გააქტიურება და მეორე ჯგუფის გენების რეპრესირება იწვევს უჯრედის ცილების შედგენილობის ცვლილებას. კალუსურ ქსოვილებში ჩნდება სპეციფიკური ცილები და ერთდროულად ქრება ან რაოდენობაში მცირდება ცილები, რომლებიც დამახასიათებელია დიფერენცირებული უჯრედებისათვის.

დედიფერენცირებული უჯრედების არაორგანიზებულ ანარქიულ გამრავლებაზე გადასვლისას, რაც იწვევს კალუსური ქსოვილის წარმოქმნას, უჯრედებში მიმდინარეობს რიგი ბიოქიმიური და ციტოლოგიური ცვლილებები. დედიფერენცირება იწყება სამარაგო ნივთიერებების მოხმარებითა და სპეციალიზებული უჯრედის ორგანელების დაშლით. დედიფერენცირების ინდუქციიდან 6-12 საათის შემდეგ ფხვიერდება და იჯირფვება უჯრედის გარსი, იზრდება თავისუფალი რიბოსომების რიცხვი, მატულობს გოლჯის აპარატის ელემენტების რაოდენობა, იზრდება ბირთვაკების ზომა და რიცხვი და ა.შ. ყველა ეს ცვლილება ხორციელდება 48-72 საათის განმავლობაში, რომლის შემდეგ იწყება დაყოფის პროცესი.

კალუსურ უჯრედებს აქვთ თავიანთი ონტოგენეზი. რიგი დაყოფების შემდეგ კალუსური უჯრედი გადადის დაჭიმვის ფაზაში, შემდეგ იგი დიფერენცირდება როგორც კალუსური ქსოვილი და ამით მთავრდება მისი სასიცოცხლო ციკლი. დაახლოებით ეს შეადგენს 3-4 კვირას. შემდეგ იგი ბერდება და კვდება.

კალუსური ქსოვილის წარმოქმნა ხდება პირველადი და მეორადი მერისტემის არეში, აგრეთვე ამ მერისტემების ან მეორადი ჭურჭლოვანი ქსოვილების მომიჯნავე პარენქიმაში. ეს პროცესი დამოკი-

დებულია ექსპლანტატის ზომაზე და მის შემადგენელ უჯრედებზე. რაც უფრო დიდია ექსპლანტატის ზომა, მით უფრო რთული და მრავალფეროვანია უჯრედები. ამის გამო წარმოიქმნება უფრო რთული დამოკიდებულება ფრაგმენტის ძირითად ქსოვილსა და კალუსის ზრდის საწყისის მიმცემ უჯრედებს შორის. პარენქიმის ან კამბიალური ქსოვილიდან კალუსური ქსოვილის ინიციატია აქტიურდება ექსპლანტატზე ჩამოყალიბებული ჭურჭლოვანი ქსოვილის არსებობისას, ჩვეულებრივ ექსპლანტატს გააჩნია 5-10 მმ³ ზომა და 20-100 მგ მასა. მრავალ ქსოვილს ახასიათებს ფიზიოლოგიური პოლარობა. ამის გამო კალუსური ქსოვილი უფრო ინტენსიურად წარმოიქმნება ექსპლანტატის იმ მხარეზე, რომელიც დედა მცენარეში ფესვისკენაა მიმართული. ამიტომ კალუსური ქსოვილის მიღებისას ექსპლანტატებს საკვებ არეში ათავსებენ აპიკალური მხრით. პოლარობის გაგდენის გამოორიცხვისათვის ექსპლანტატებს ათავსებენ საკვები არის ტანგენციალურად.

იმისათვის, რომ კალუსური ქსოვილი დიდხანს შევინარჩუნოთ ანუ არ მოხდეს კალუსური უჯრედების დაყოფის უნარის დაკარგვა, დაბერება და სიკვდილი, აუცილებელია მისი გადატანა (გადათესვა) დაახლოებით 4-6 კვირის შემდეგ ახალ საკვებ არეზე. ამ პროცესს ეწოდება პასირება (კულტივაცია). თვით ახალ საკვებ არეზე გადატანილი კალუსური უჯრედების ან ქსოვილების გამოზრდის პროცესს ჰქვია სუბკულტივირება. ხოლო კალუსური ქსოვილის ნაწილს, რომელიც გადააქეთ ახალ საკვებ არეზე ეწოდება – ტრანსპლანტანტი.

პასირებად კალუსს შემდგომ ათეული წლების განმავლობაში შეინარჩუნოს ზრდის უნარი. მაგ., რ. გოტრეს მიერ ჯერ კიდევ 1939 წელს მიღებული სტაფილოს კალუსი დღესაც აგრძელებს ზრდას.

4.5.12. კალუსური ქსოვილების დახასიათება

კალუსური ქსოვილები ხასიათდებიან შემდეგი მახვენებლებით:

I. მაკროსკოპული დახასიათება:

1. შეფერილობა – თეთრი, კრემისფერი, მუქი-ყავისფერი,
2. კონსისტენცია – ფაშარი, მკვრივი, მშრალი;

II. მორფოლოგიური დახასიათება:

1. უჯრედების ფორმა – მომრგვალო, წაგრძელებული,
2. უჯრედების ზომა – 20-დან 200 მიკრომეტრამდე, ზოგჯერ 1000 მიკრომეტრამდე,

3. ბირთვულ-პლაზმური თანაფარდობის მინიმალური სიდიდე;

III. ფიზიოლოგიური დახასიათება:

1. არაორგანიზებული ზრდა – არ არის უჯრედების ერთიანი დაყოფა,

2. **განუსაზღვრელი ზრდა** – 1939 წელს მიღებული სტაფილოს კალუსი დღემდე იზრდება,

3. **უჯრედული ციკლი** უფრო ხანგრძლივია, ვიდრე *in vivo* (ბუნებრივად),

4. **ფიზიოლოგიური ჰეტეროგენურობა** – კალუსში უჯრედები იმყოფებიან სხვადასხვანაირ ფიზიოლოგიურ მდგომარეობაში (სხვადასხვანაირი მეტაბოლიტური მდგომარეობა, ახალგაზრდა, ხნიერი და სხვა),

5. **სამგანზომილებიანი ზრდა** – ზრდა მიმდინარეობს სხვადასხვა მიმართულებით (ეს დიდი მინუსია, რადგანაც შეუძლებელია კალუსის დახასიათება);

IV. გენეტიკური დახასიათება:

1. **გენეტიკური ჰეტეროგენურობა** – საწყისი მცენარისათვის დამახასიათებელი დიპლოიდური უჯრედების გარდა, გვხვდება 3, 4, 5 და მეტი ქრომოსომული ანაწილების მქონე პოლიპლოიდური და ანეპლოიდური უჯრედები. წარმოიქმნება აგრეთვე გენური მუტაციები და ქრომოსომული აბერაციები.

4.5.13. „შეგუბების“ მოვლენა. ჰორმონდამოუკიდებელი მცენარეული ქსოვილები

კალუსურ ქსოვილებს დაეოფა შეუძლიათ მხოლოდ ჰორმონების შემცველ საკვებ არეში. მაგრამ ხანგრძლივი კულტივირებისას ისინი რიგ შემთხვევებში იძენენ უჰორმონო საკვებ არეში ზრდის უნარს, ე.ი. აუქსინებისა და ციტოკინინების მიმართ ხდებიან ავტონომიური. ასეთ ქსოვილებს „შეგუბულ“ ანუ „ქიმიური“ სიმსივნეები ეწოდება. პირველად „შეგუბების“ მოვლენა აღმოჩენილ იქნა **რ. გოტრეს (R. Gautheret)** მიერ 1937 წელს. „შეგუბულ“ ქსოვილებს უმეტეს შემთხვევაში არ გააჩნია ნორმალური რეგენერაციის უნარი და წარმოქმნიან მხოლოდ ტერატომებს,* თუმცა ზოგჯერ მიიღება ნორმალური მცენარე-რეგენერანტები.

უნდა აღინიშნოს, რომ ყველა კალუსურ ქსოვილს კულტივირების პროცესში (ზოგიერთ კულტურას უკვე მეოთხე პასაჟიდან) მნიშვნელოვნად უქვეითდება, ხოლო შემდეგ კი მთლიანად ეკარგება რეგენერაციის უნარი. ძველი გადათესილი კულტურიდან მცენარე-რეგენერანტის მიღება ვერ ხერხდება.

ჯერჯერობით არ არის გარკვეული პასუხი „შეგუბების“ გამომწვევ მიზეზებზე. შესაძლებელია იგი დაკავშირებული იყოს უჯრედებზე ჰორმონების ხანგრძლივ მოქმედებასთან, რომლებიც ხელს უწყო-

* ტერატომა – მახინჯი ორგანოსმაგვარი სტრუქტურა.

ბენ მათ დედიფერენცირებულ ან აქტიურად პროლიფერად მდგომარეობაში ყოფნას.

„შეგუებული“ ქსოვილების გარდა, რომლებიც წარმოადგენენ ქიმიურ სიმსივნეებს, არსებობს მცენარეული წარმოშობის სიმსივნეები, გამოწვეული ბაქტერიებითა და ვირუსებით (გვირგვინისებრი გაღები, წვეროსებრი გაღები, ღეროსებრი გაღები და სხვა) და გენეტიკური სიმსივნეები, რომლებიც წარმოიქმნება სხვადასხვა მცენარის სახეობათაშორის ჰიბრიდებზე

„შეგუებული“ და სიმსივნური მცენარეული ქსოვილების საერთო თავისებურებას წარმოადგენს მათი ჰორმონდამოუკიდებლობა, ე.ი. უნარი გაიზარდონ უჰორმონო საკვებ არეში. მათში მიმდინარეობს საკუთარი ჰორმონების ინტენსიური სინთეზი, ამიტომ არ საჭიროებენ ამ უკანასკნელთა შეტანას საკვებ არეში. ეს წარმოადგენს ამ ქსოვილების ძირითად განმასხვავებელ თავისებურებას კალუსური ქსოვილებისაგან, რომლებისთვისაც ჰორმონების არსებობა საკვებ არეში წარმოადგენს აუცილებელ პირობას უჯრედების დედიფერენცირებისა და პროლიფერაციისათვის. „შეგუებულ“ ქსოვილებში ჰორმონდამოუკიდებლობა მიიღწევა ჰორმონების შენებაში მონაწილე ფერმენტული ცილების სინთეზზე პასუხისმგებელი გენების აქტიურობის შეცვლის შედეგად. სიმსივნურ ქსოვილებში ჰორმონდამოუკიდებლობა დაკავშირებულია მცენარის უჯრედში ამ პროცესზე პასუხისმგებელი ბაქტერიული და ვირუსული გენის გადატანასთან.

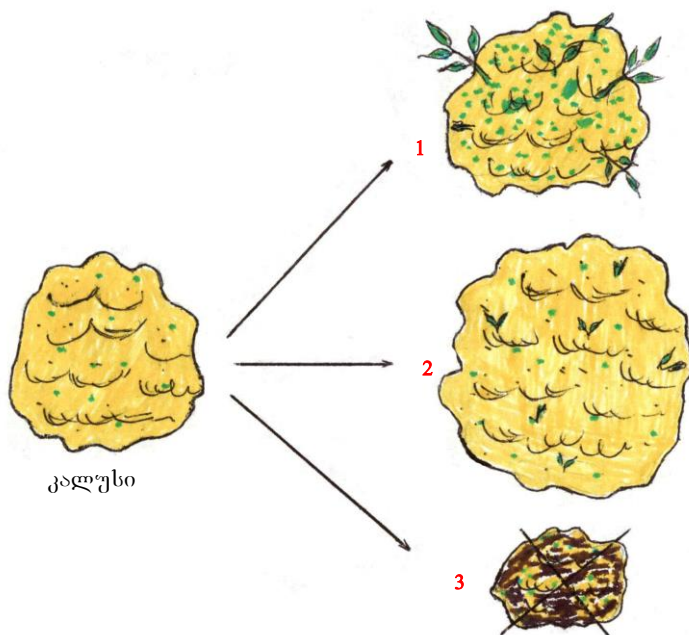
„შეგუებული“ ქსოვილები წარმოადგენენ ძლიერ ვაკუოლიზებული პარენქიმული უჯრედების ერთგვაროვან მასას, აქვთ ფაშარი სტრუქტურა, ოთახის პირობებში გამოზრდისას ხშირად იშლებიან ცალკეულ კოშტებად. სინათლეზე მოთავსებისას სწრაფად და ინტენსიურად ღებულობენ მწვანე ფერს, ამასთან ხდებიან უფრო კომპაქტური და არ იშლებიან კოშტებად. დამახასიათებელ თავისებურებას წარმოადგენს აგრეთვე უჯრედების დიდი ზომა და ძალიან მსხვილი ბირთვაკი.

სიმსივნური ქსოვილი თავისი სტრუქტურის მიხედვით უფრო კომპაქტური და მკვრივია, ვიდრე „შეგუებული“. სინათლეზე მოთავსებისას ძალიან სუსტად მწვანდება. ხასიათდება მკაცრად ლოკალიზებული ზრდის ცენტრების უქონლობით. სიმსივნური ქსოვილების *in vitro* კულტივირება, „შეგუებული“ ქსოვილების ანალოგიურად, უმეტეს შემთხვევაში ასევე არ იძლევა ნორმალურ მცენარე-რეგენერანტებს.

4.5.2. კალუსური ქსოვილის მორფოგენეზი და მცენარის რეგენერაცია

4.5.2.1. კალუსური ქსოვილის განვითარების გზები

კალუსური ქსოვილის შემდგომი განვითარება შეიძლება წარიმართოს სამი გზით (სურ. 152):



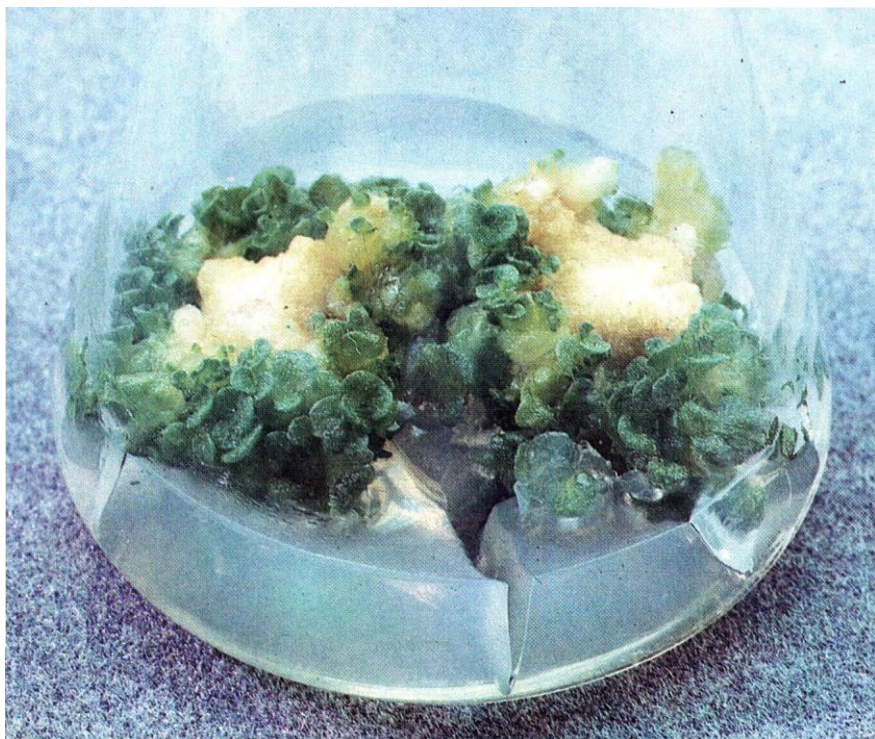
სურ. 152. კალუსური ქსოვილის განვითარების გზები

- (1 – მეორადი დიფერენცირება, მორფოგენეზი, მცენარის რეგენერაცია;
2 – დედიფერენცირება, მორფოგენეზისა და რეგენერაციის დაქვეითება ან დაკარგვა, რიგ შემთხვევაში „შეგუება“; 3 – ჩეულებრივი ონთოგენეზი, დაბერება, სიკვდილი)

1. მეორადი დიფერენცირება, მორფოგენეზი და მთლიანი მცენარის რეგენერაცია (სურ. 153).

2. კალუსური ქსოვილის შემდგომი დედიფერენცირება და მის მიერ მორფოგენეზისა და რეგენერაციის უნარის დაქვეითება ან მთლიანი დაკარგვა. რიგ შემთხვევაში ასეთ მტკიცე დედიფერენცირებას თან ახლავს „შეგუება“.

3. კალუსური უჯრედების ჩეულებრივი ონთოგენეზი, რომე-



სურ. 153. კალუსის უჯრედებიდან რეგენერირებული თამბაქოს მრავალრიცხოვანი აღმონაცენი

ლიც მთავრდება მათი დაბერებითა და სიკვდილით.

კალუსური ქსოვილის განვითარების ეს გზები დამოკიდებულია სხვადასხვა პირობაზე: საკვები არის შედგენილობა, კულტივირების ხანგრძლივობა და სხვა. მაგრამ პირობებთან ერთად ძალიან ბევრია დამოკიდებული თვით უჯრედზე, მის „კომპეტენტურობაზე“. მაგალითად, მორფოგენების ინდუქციის დროს არა ყველა კალუსური უჯრედი, არამედ მხოლოდ ერთი ყოველი ოთხასიდან იძლევა მცენარის რეგენერაციას. დანარჩენი უჯრედები ვითარდება სხვა გზით.

ბიოტექნოლოგიისათვის ყველაზე საინტერესოს წარმოადგენს განვითარების პირველი გზა, რომელსაც **მორფოგენები** ეწოდება.

მორფოგენები – არის მცენარის ინდივიდუალური განვითარების დროს მორფოლოგიური სტრუქტურების შექმნის პროცესი.

მორფოგენების დროს მცენარეში მიმდინარეობს ფორმათწარმოშობის პროცესი, ე.ი. ორგანოების (ორგანოგენები), ქსოვილების (ჰისტოგენები) და უჯრედების (ციტოგენები ანუ უჯრედული დიფერენცირება) ჩასახვა, ზრდა და განვითარება.

კალუსური ქსოვილების კულტურაში მორფოგენეზი – არის უჯრედების არაორგანიზებული მასიდან ორგანიზებული სტრუქტურების წარმოქმნის (ფორმირების), საბოლოო ჯამში მთლიანი მცენარის განვითარების პროცესი.

კალუსური ქსოვილის მორფოგენეზის უნარი ეფუძნება უჯრედის ტოტიპოტენტურობის თვისებას.

ტოტიპოტენტურობა ყველა მცენარეულ ორგანიზმში ერთნაირად არ ვლინდება. იგი ყველაზე ადვილად ვლინდება ორლებნიან ბალახოვან მცენარეებში, შემდეგ – ორლებნიან მერქნიან მცენარეებში და ყველაზე უფრო ძნელად – მარცვლოვან მცენარეებში (განსაკუთრებით ერთლებნიანებში).

კალუსური ქსოვილიდან რეგენერირებულ მცენარეებს გ. შირვინისა (G. Shirvin) და ტ. იანიჩის (T. Janich) წინადადებით (1976 წ.) ეწოდება კალიკლონები.

4.5.2.2. მორფოგენეზის საფუძველი

მორფოგენეზის უჯრედულ საფუძველს წარმოადგენს ციტოდიფერენცირება. რეგენერაცია იწყება უჯრედის მეორადი დიფერენცირებიდან. ამასთან კალუსური უჯრედები ხელახლა იძენენ სპეციალიზებული უჯრედის სტრუქტურასა და ფუნქციას.

მეორად დიფერენცირებას ყოველთვის არ სდევს მცენარის რეგენერაცია. მორფოგენეზთან ერთად ვლინდება მეორადი დიფერენცირების სხვა გამოვლინებებიც:

1. ჰისტოდიფერენცირება, რომლის პროცესში კალუსური უჯრედი გარდაიქმნება ფლოემის ან ქსილემის ელემენტად.

2. დაყოფის ციკლიდან გამოსული და მეორადი ნივთიერებების სინთეზზე სპეციალიზებადი კალუსური უჯრედების დიფერენცირება.

უჯრედული დიფერენცირება დაკავშირებულია გენების აქტივობასთან. მეორადი დიფერენცირებისას გარკვეული გენები განიცდიან რეპრესირებას, სხვები – გააქტიურებას, ზოგიერთები კი – ამპლიფიცირებას ანუ გამრავლებას. შედეგად ადგილი აქვს მორფოგენეზისათვის დამახასიათებელი განსაკუთრებული ცილების სინთეზს. მაგ., ცილა გლიკოპროტეინი წარმოადგენს მორფოგენეზის მარკერს. მისი ხნიერ უჯრედებშიც კი შეყვანის დროს ადგილი აქვს მორფოგენეზს.

სიმინდის ჰიბრიდების ანალიზის საფუძველზე 1986 წელს მეცნიერები მივიდნენ იმ დასკვნამდე, რომ მორფოგენეზი განპირობებულია ორი ბირთვული გენით.

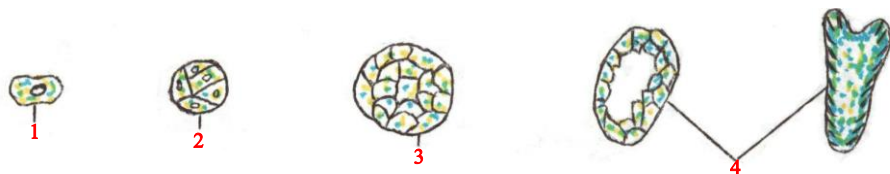
4.5.2.3. მორფოგენეზის ფორმები

ფორმის მიხედვით არსებობს ორი ტიპის in vitro მორფოგენეზი:

1. ორგანოგენეზი, ე.ი. ფესვის, ვეგეტატიური და გენერაციული

კვირტების ჩანასახების წარმოქმნა.

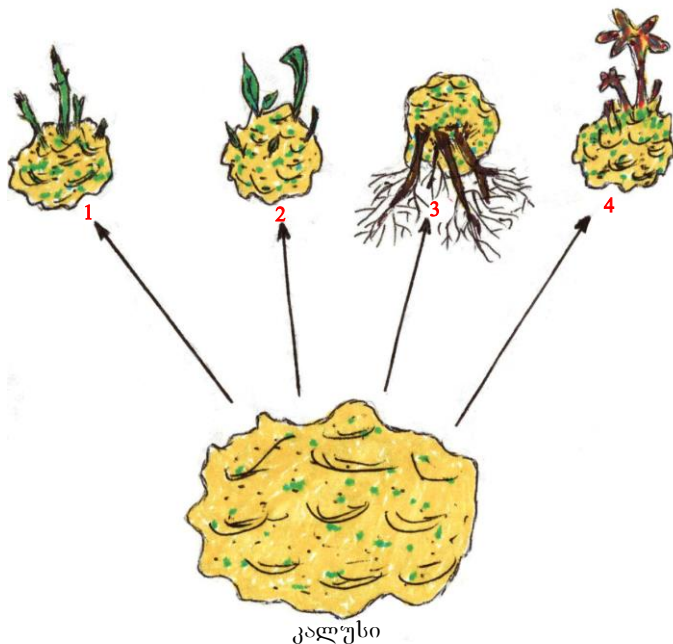
2. **სომატური ემბრიოგენეზი** (ანუ **ემბრიოიდიზაცია**), ე.ი. კალუსის უჯრედებიდან უსქესო გზით ჩანასახისმაგვარი სტრუქტურების (ემბრიოიდების) წარმოქმნა (სურ. 154).



სურ. 154. სომატური ემბრიოგენეზის პროცესი

(1 – უჯრედი-ინიციალი, 2 – დაქუცმაცება, 3 – იზოდიამეტრული ფორმის, მცირე ზომის, ერთმანეთთან მჭიდროდ დაკავშირებული უჯრედების სფეროსებური მასა, 4 – სფეროსებური მასა თანდათან დეზულობს ჩანასახისათვის დამახასიათებელ აგებულებას)

ორგანოგენეზი წარმოადგენს ვეგეტატიური გამრავლების მსგავს პროცესს. არჩევენ მის სხვადასხვა სახეს (სურ. 155). თუ ორგანოგენეზი



სურ. 155. ორგანოგენეზის სახეები კალუსური ქსოვილების კულტურაში

(1 – ღეროსეული ორგანოგენეზი, 2 – ფოთლისეული ორგანოგენეზი, 3 – ფესვისეული ორგანოგენეზი, 4 – ყვავილისეული ორგანოგენეზი)

ნების დროს წარმოიქმნება ღერო, მას **ღეროსეული ორგანოგენები** ეწოდება, თუ ფესვები – **ფესვისეული ორგანოგენები**, თუ ფოთლები – **ფოთლისეული ორგანოგენები**, თუ ყვავილები – **ყვავილისეული ორგანოგენები** და ა.შ.

სომატური ემბრიოგენების დროს ადგილი აქვს ჩანასახისმაგვარი სტრუქტურების წარმოშობას, რომლებსაც გააჩნიათ როგორც ჩანასახოვანი ფესვები, ისე ღეროსეული კვირტებიც, რომლებისაგანაც შემდეგში ვითარდება მთლიანი მცენარე.

ღეროსეული ორგანოგენების შემთხვევაში მთლიანი მცენარის მიღებისათვის ფესვების წარმოსაქმნელად აუცილებელია მათი გადათესვა აუქსინიან საკვებ არეზე.

თუ მხოლოდ ფესვისეული ორგანოგენები არსებობს, მაშინ მისგან მთლიანი მცენარის მიღება შეუძლებელია.

4.5.2.4. მორფოგენების ინდუქცია

მორფოგენები წარმოადგენს უჯრედული ინჟინერიის ქვაკუთხედს.

მორფოგენებზე გადასვლა დამოკიდებულია მრავალ ფაქტორზე:

1. გენეტიკური,
2. ეპიგენეტიკური,
3. უჯრედების კომპეტენტურობა მორფოგენების მასტიმულირებელი სიგნალის მიღების დროს,
4. გარემო პირობები.

გენეტიკურ ფაქტორებს მიეკუთვნება – შერჩეული სახეობის გენოტიპი (ყველა მცენარე ერთნაირად არ რეაგირებს მორფოგენებზე).

ეპიგენეტიკურ* ფაქტორებს მიეკუთვნება – მცენარის ორგანოს (ექსპლანტატის) შერჩევა. მორფოგენები დამოკიდებულია ექსპლანტატის ასაკზე (უკეთესია ახალგზრდა), ადგილმდებარეობაზე (უკეთესია აპიკალური), ფიზიოლოგიურ მდგომარეობაზე (უკეთესია მოუძვინფებელი) და ა.შ.

რეგენერაციის უნარი ყველა უჯრედს არა აქვს. იგი ახასიათებს მხოლოდ იმათ, რომლებსაც გააჩნია მორფოგენების მასტიმულირებელი სიგნალების მიღების უნარი. უჯრედის **“კომპეტენტურობა”** – შემთხვევითი თვისებაა და მას ფლობს კალუსის მხოლოდ ერთი უჯრედი ყოველი ოთხასიდან. მორფოგენების სტიმულის მიღების შემდეგ უჯრედი განიცდის დეტერმინაციას** და აქვს უნარი შემდეგში განვითარდეს მცენარედ.

გარემო პირობებს მიეკუთვნება – საკვები არის შედგენილობა,

* **ეპიგენები** – ორგანიზმის თანდათანობითი სტრუქტურული დიფერენცირება სასქესო უჯრედებიდან მისი განვითარების დროს.

** **დეტერმინაცია** – უჯრედთა განვითარების წარმართვა განსაზღვრულ სტრუქტურათა წარმოქმნის გზით.

კულტივირების ხანგრძლიობა, სინათლე, ტემპერატურა, ტენიანობა, ჰორმონალური შედგენილობა და სხვ

4.5.2.5. მორფოგენეზის სტიმულები

მორფოგენეზის ყველაზე მძლავრ სტიმულს წარმოადგენს ჰორმონები. დიდი მნიშვნელობა აქვს აუქსინებისა და ციტოკინინების თანაფარდობას. საკვებ არეში აუქსინებთან შედარებით ციტოკინინების მეტი შემცველობისას ადგილი აქვს ღეროსეული ორგანოგენეზის სტიმულს, ხოლო პირიქით – ფესვისეული ორგანოგენეზის სტიმულს. დადგენილია, რომ ღეროსეული ორგანოგენეზის ინდუქციისათვის საკვებ არეში ციტოკინინების შემცველობა დაახლოებით 10-ჯერ უნდა სჭარბობდეს აუქსინების შემცველობას (მაგ., 2 მკ კინეტინი – 0.2 მკ იმმ), ხოლო ფესვისეული ორგანოგენეზის ინდუქციისათვის პირიქით – აუქსინები უნდა სჭარბობდეს ციტოკინინებს დაახლოებით 10-ჯერ. აუქსინებისა და ციტოკინინების ამ თვისებებს პირველად მიაქციეს ყურადღება ფ. სკუემა და კ. მილერმა 1957 წელს. ამ ნივთიერებებს უჯრედული დიფერენცირების რეგულატორებს უწოდებენ.

აუქსინებიდან მორფოგენეზის სტიმულს ყველაზე უკეთ იწვევს იმმ, შემდეგ – ნმმ და 2,4-დ. ციტოკინინებიდან საუკეთესოა ზეატინი, შემდეგ 6-ბაპ-ი და კინეტინი.

ჰორმონების გარდა მორფოგენეზის სტიმულს იწვევენ: აზოტმჟავავერცხლი, ამონიუმის ნიტრატი, იონები NH_4^+ , NO_3^- , K^+ , სორბიტი, ამინომჟავები – სერინი, თიროზინი, პროლინი და სხვა.

მორფოგენულ კალუსს აქვს მწვანე წერტილები და მომრგვალო ფორმის უჯრედები. ღეროსეული ორგანოგენეზის დროს პირველად წარმოიქმნება ღეროს კვირტი, რომელიც შემდეგ აუქსინებით მდიდარ საკვებ არეზე გადათესვისას ფესვიანდება და საწყისს აძლევს მთლიან მცენარეს.

სომატური ემბრიოგენეზის, ისე როგორც ორგანოგენეზის, ინდუცირება შესაძლებელია საკვებ არეში ფიტოჰორმონების ბალანსის ცვლილებით. ამ პროცესს ხელს უწყობს ციტოკინინების სიჭარბე აუქსინებზე. აუცილებელ პირობას წარმოადგენს აგრეთვე საკვები არიდან 2,4-დ-ს გამორიცხვა.

4.5.2.6. მეორად დიფერენცირებაზე ბალანსის პროცესი

მორფოგენეზი იწყება შესაბამისი გარემო პირობების გავლენით კალუსური ქსოვილების მასაში გარკვეული ინიციალური უჯრედების* გამოყოფით, რომლებიც ასრულებენ ზიგოტის როლს სომატური

* ინიციალური უჯრედები – ზრდის წერტილების უჯრედებია, რომლებიც დაყოფის შემდეგ რჩება მერისტემული.

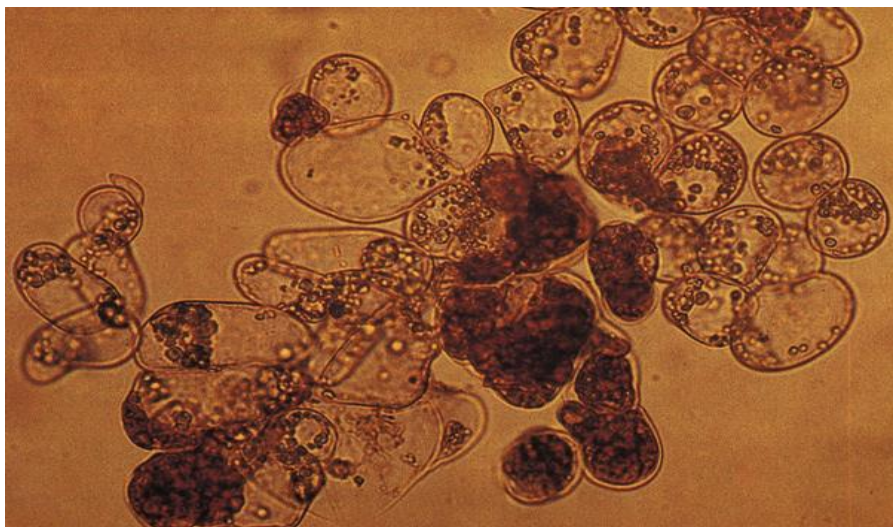
ემბრიოგენეზის დროს ან **მერისტემული კერის** როლს ორგანოგენეზის დროს. ისინი სხეებისაგან იზოლირებული ხდებიან, მათში იწყება ბირთვის ზრდა, სქელდება უჯრედის გარსი, გარკვეულ პერიოდში წყდება გამრავლება – მიმდინარეობს მზადება დაყოფისათვის: იზრდება სუნთქვის ფერმენტების აქტიურობა, ადგილი აქვს დნმ-ის და რნმ-ის სინთეზს, სამარაგო ნივთიერებების ხარჯვას. შემდეგ ეს ინიციალური უჯრედები იყოფა დაქუცმაცების გზით და წარმოიქმნება იზოდიამეტრული ფორმის მქონე მცირე ზომის უჯრედების სფეროსებური მასა. თუ ამ მასიდან იწყება ორგანოგენეზი, მაშინ მას **მერისტემული კერა** ეწოდება, ხოლო თუ იგი საწყისს აძლევს სომატურ ემბრიონებს, მაშინ მას **გლობულარული პროემბრიო** ეწოდება. შემდეგ ისინი გადაიქცევიან მშთანთქმელ ცენტრად და იწყებენ საკვები ნივთიერებების მიზიდვას, ახლომდებარე უჯრედები კი კვდებიან. მერისტემულ კერაში ხდება ღეროს, ფესვის, ფოთლის ან საყვავილე კვირტის ჩანასახების დიფერენცირება, ხოლო გლობულარულ პროემბრიოში ბიპოლარული ემბრიოდული სტუქტურების განვითარება.

მერისტემული კერა ან გლობულარული პროემბრიო შეიძლება წარმოიქმნას კალუსური ქსოვილის როგორც პერიფერიაზე, ისე შიგნით. ჩვეულებრივ არ აღინიშნება მათი ლოკალიზაციის გარკვეული კანონზომიერება.

4.6. უჯრედული სუსპენზიის კულტურა (სუსპენზიური კულტურები)

4.6.1. სუსპენზიური კულტურების მიღების ხერხები

სუსპენზიური კულტურების (უჯრედული სუსპენზიის კულტურის) ქვეშ იგულისხმება ცალკეული უჯრედების ან მათი მცირე ჯგუფების გამოზრდა (კულტივირება) თხევად საკვებ არეში ჩაკიდულ მდგომარეობაში, მათი აერაციისა და არევის პირობების ხელშემწყობი აპარატურის გამოყენებით (სურ. 156).



სურ. 156. თხევად საკვებ არეში კულტივირებადი თამბაქოს უჯრედები

სუსპენზიური კულტურების მიღების ჩვეულებრივ ხერხს წარმოადგენს კალუსური ქსოვილის გადატანა კოლბაში ან სპეციალურ კულტურალურ ჭურჭელში (ფერმენტატორში) მოთავსებულ თხევად საკვებ არეში, სადაც უჯრედების არევა წარმოებს სანჯღრეველას ან სხვადასხვა ტიპის როლერის საშუალებით. სუსპენზიური კულტურების ინიციაციისათვის* აუცილებელია თხევადი საკვები არის ყოველ 60-100 მლ-ზე კალუსური ქსოვილის ახალი მასის 2-3 გრამი. პირველადი სუსპენზიის მისაღებად უჯრედების არევის სიჩქარე წრიულ სანჯღრეველაზე უნდა იყოს 100-200 ბრუნი/წუთში.

* ინიციაცია – დაწყება.

სუსპენზიური კულტურები შეიძლება მიღებულ იქნას აგრეთვე პირდაპირ მცენარის ორგანოს ფრაგმენტიდანაც (ექსპლანტატიდანაც). მაგალითად, სტაფილოს, პეტუნიის, ძირხვენების, კარტოფილის ტუბერების სამარაგო პარენქიმის რგოლებიდან. მაგრამ ასეთი გზა გაცილებით რთული და ხანგრძლივია. დასაწყისში ექსპლანტატის უჯრედებმა ჯერ უნდა წარმოქმნან პირველადი კალუსი და მხოლოდ ამის შემდეგ ზედაპირული კალუსური უჯრედები თხევად საკვებ არეში მოხვედრისა და იქ გამრავლებისას საწყისს აძლევენ სუსპენზიაში ზრდის უნარის მქონე ხაზებს.*

წარმატებები სუსპენზიური კულტურების მიღებაში დიდადაა დამოკიდებული იმაზე, თუ რამდენად კარგადაა შერჩეული და მომზადებული კალუსური ქსოვილი: იგი უნდა იყოს ფაშარი, ადვილად იშლებოდეს მცირე უჯრედულ აგრეგატებად (არაუმეტეს 10-12 უჯრედი) და ცალკეულ უჯრედებად. სტრუქტურირებული, მკვრივი კალუსი არაუფექტურია. სუსპენზიური კულტურის მისაღებად იყენებენ სიცოცხლისუნარიან, ინტენსიურად პროლიფერირებად კალუსურ ქსოვილს. სუსპენზიის კულტივირებისას აუცილებელია საკვები არიდან ციტოკინინების მთლიანი გამორიცხვა ან მათი კონცენტრაციის შემცირება და აუქსინების კონცენტრაციის გადიდება. ოპტიმალურ პირობას წარმოადგენს აგრეთვე საკვები არიდან Ca^{++} იონების გამორიცხვა და ტრანსპლანტანტის დამუშავება ფერმენტ პექტინაზით, რომელიც შლის ცალკეულ უჯრედების ერთმანეთთან შემწყობებელ კალციუმის პენქტინატს.

უპირატესად ცალკეული უჯრედებისა და წვრილი აგრეგატებისაგან შემდგარი სუსპენზიური კულტურების** მისაღებად, სუბკულტივირების წინ აუცილებელია პირველადი სუსპენზიის გაფილტვრა 2-3 ფენიან დოლბანდში, სხვადასხვა ზომის ფორებიან ნეილონის ან ლითონის საცერში კალუსის ქსოვილის მსხვილი, მკვრივი ნაწილების (ექსპლანტატის ნარჩენების) ან ძალიან დიდი აგრეგატების მოსაცილებლად. გაფილტვრა რეკომენდირებულია ჩატარდეს მომდევნო სუბკულტივირებების დროსაც – უჯრედული სუსპენზიის მიერ სასურველი მახასიათებლების მიღებამდე. **ინოკულატის***** მინიმალური მოცულობა, რომელიც სუსპენზიაში უჯრედების ნორმალურ გამრავლებას უზრუნველყოფს, ჩვეულებრივ შეადგენს კულტივირების დასაწყისში სუსპენზიის საერთო მოცულობის 10-20%. ინოკულატის მოცულობის გადიდება იწვევს უჯრედული პოპულაციის ზრდის დაქვეითებას, რადგანაც ამ დროს ადგილი აქვს ჟანგბადის უკმარისობასა და

* ხაზი – ერთი უჯრედის თაობა.

** ამისათვის იყენებენ აგრეთვე სხვა ხერხებსაც – ლიაუ და ბოლისა (D. Liao, H. Boll, 1970) და ნეგრუტი და ჯაკობსის (T. Negrutiu, J. Jacobs, 1977) მეთოდები.

*** ინოკულუმი – სუსპენზიური კულტურის ნაწილი, რომელიც გამოყენებულია ახალ საკვებ არეზე გადასათესად.

საკვებ არეში მეტაბოლიზმის ტოქსიკური ნივთიერებების დაგროვებას სუსპენზიური კულტურების კულტივირების აუცილებელ პირობას საკვები არის მუდმივი არევა ან ნჯღრევა წარმოადგენს. თუ სუსპენზიური კულტურა იმყოფება უმოძრაო მდგომარეობაში, მაშინ სუსპენზიის უჯრედების დაყოფა კალუსური ქსოვილის წარმოქმნას იწვევს.

4.6.2. სუსპენზიური კულტურების კულტივირების ხერხები

სუსპენზიური კულტურების კულტივირებისათვის (გამოზრდისათვის) იყენებენ ღია ან დახურულ სისტემებს, პერიოდულ ან უწყვეტ რეჟიმში.

კულტივირების დახურულ სისტემაში უჯრედული მასა (ინოკულუმი) თავსდება საკვები არის გარკვეულ მოცულობაში და გამოზრდის ბოლომდე რჩება სისტემაში.

კულტივირების ღია სისტემაში უჯრედული მასა (ინოკულუმი) თავსდება საკვები არის გარკვეულ მოცულობაში და გამოზრდის პროცესში ადგილი აქვს უჯრედული მასის ნამატის ნაწილის გამოტანას.

კულტივირების პერიოდული (დამგროვებელი) რეჟიმის დროს სისტემაში საკვები არე მუდმივი მოცულობით რჩება.

კულტივირების უწყვეტი რეჟიმის დროს სისტემაში პერიოდულად ან განუწყვეტლივ მიეწოდება ახალი საკვები არე, ხოლო ძველი იმავე მოცულობით სცილდება.

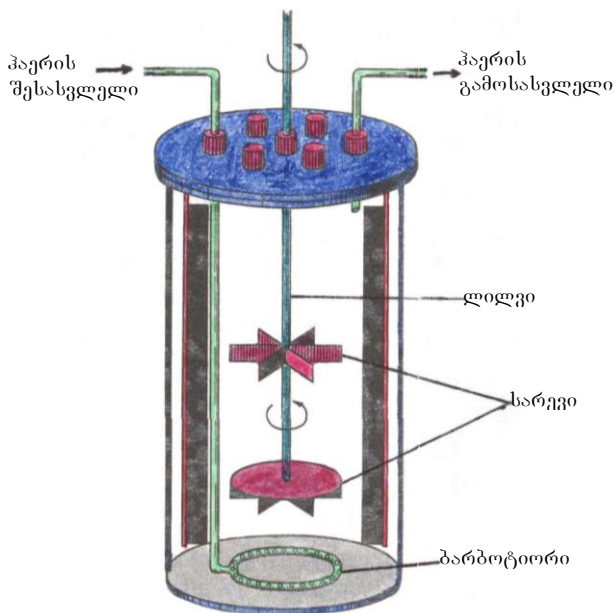
კულტივირების უწყვეტი რეჟიმი იყოფა გამდინარე და ნახევრადგამდინარე რეჟიმად.

ნახევრადგამდინარე რეჟიმის დროს სისტემაში ახალი საკვები არე მიეწოდება დროის გარკვეული ინტერვალით.

გამდინარე რეჟიმის დროს სისტემაში ახალი საკვები არე მიეწოდება განუწყვეტლივ.

სუსპენზიური კულტურების კულტივირებისათვის იყენებენ სხვადასხვა აპარატურას – კულტურალურ ჭურჭლებს: კოლბები სანჯღრეველებზე, როლერებით მბრუნავი სპეციალური ჭურჭლები, ფერმენტატორები და სხვა. ყველაზე ფართო გავრცელება მოიპოვა სხვადასხვა კონსტრუქციის ფერმენტატორებმა ანუ კულტივატორებმა (სურ. 157). ფერმენტატორები გამოყენებულია დიდი მოცულობის უჯრედული ბიომასის კულტივირებისათვის. მათ შეიძლება ჰქონდეთ 20000 ლიტრამდე მოცულობა. მუშავდება კონსტრუქციები, რომლებიც შედგება რამდენიმე ფერმენტატორის სისტემისაგან. ამ აპარატურაში შესაძლებელია საკვები არის, ტემპერატურის, pH-ის, აერაციის, გაზის შედგენილობის, არევის სიჩქარის და სხვათა რეგულირება.

სუსპენზიური კულტურების კულტივირებისათვის გამოყენებული



სურ. 157. ფერმენტატორი

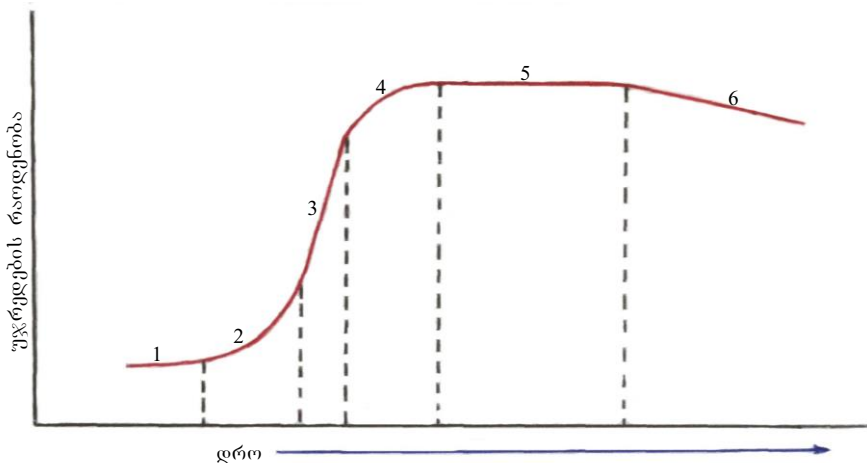
საკვები არეები ძირითადად იგივეა, რაც კალუსური კულტურებისათვის. შედგენილია აგრეთვე რიგი საკვები არეები, რომლებიც უპირეტესად გამოყენებულია სუსპენზიური კულტურების კულტივირებისათვის (ცხრილი 18).

4.6.3. სუსპენზიურ კულტურაში ზრდის ციკლის ფაზები

სუსპენზიური კულტურა წარმოადგენს ცალკეული უჯრედებისა და პატარა უჯრედული აგრეგატების პოპულაციას. ჰეტეროგენურობის მიუხედავად კულტივირების დროს მას, ისე როგორც კალუსურ კულტურას, ახასიათებს გარკვეული ზრდის ციკლი,* რომელიც ხასიათდება S-მსგავსი მრუდე ფორმით (სურ. 158) და მოიცავს შემდეგ ფაზებს:

1. **ლატენური ფაზა ანუ ლაგ-ფაზა.** ამ პერიოდში უჯრედები არ მრავლდება, ასევე არ არის მათი ხილული ზრდა, მაგრამ მიმდინარეობს უჯრედების დაყოფისათვის მზადების აქტიური პროცესი.

* **ზრდის ციკლი** – სუსპენზიური კულტურების გამოზრდის ციკლში უჯრედთა პოპულაციის ზრდა; **გამოზრდის ციკლი** – პერიოდი ინოკულატის ახალ საკვებ არეში მოთავსებიდან მომდევნო სუბკულტივირებამდე.



სურ. 158. სუსპენზიურ კულტურაში უჯრედთა ზრდის ციკლის ფაზები
 (1 – ლაგ-ფაზა; 2 – ექსპონენციალური ფაზა; 3 – ხაზობრივი ფაზა; 4 – ზრდის შენელების ფაზა; 5 – სტაციონალური ფაზა; 6 – კვდომის ფაზა)

2. ექსპონენციალური ანუ ლოგარითმული ფაზა. ხასიათდება უმაღლესი მიტოზური აქტიურობით და უჯრედთა ზრდით. ამასთან, უჯრედთა ზრდა მიმდინარეობს აჩქარებით.

3. ხაზობრივი ფაზა. ის ძალიან მოკლეა და უჯრედთა ზრდის სიჩქარე პრაქტიკულად მუდმივია.

4. ზრდის შენელების ფაზა ანუ ადრეული სტაციონალური ფაზა. ამ პერიოდში მკვეთრად ეცემა მიტოზური აქტიურობა. აღინიშნება უჯრედული პოპულაციის უმაღლესი ჰეტეროგენურობა და მეორადი ნივთიერებების სინთეზის დაწყება.

5. სტაციონალური ფაზა. ამ ფაზაში ზრდის მრუდი გამოდის პლატოზე, სუსპენზიური კულტურა აღწევს მშრალი მასის მაქსიმუმს. კულტურალურ არეში გროვდება სუსპენზიური კულტურის ზრდის დამთრგუნველ უჯრედთა ცხოველმყოფელობის პროდუქტები. უჯრედების ზრდის სიჩქარე ნულის ტოლია. იწყება უჯრედთა დეგრადაციის პერიოდი.

6. უჯრედთა კვდომის ანუ დეგრადაციის ფაზა. ამ დროს უჯრედთა მასობრივი კვდომის გამო ცოცხალი უჯრედების რიცხვი და მასა იწყებს შემცირებას. ამ ფაზის თავიდან აცილებისათვის აუცილებელია სუსპენზიური კულტურების სუბკულტივირება ახალ საკვებ არეში.

ჩვეულებრივ კულტივირების დაწყებიდან ზრდის სტაციონალურ

უზამდე გადის 21-28 დღე. ზრდის ციკლის ხანგრძლივობა დამოკიდებულია კულტივირების პირობებზე, საწყისი კულტურის სპეციფიკაზე და ა.შ.

4.6.4. სუსპენზიური კულტურების მახასიათებლების პირითადი პარამეტრები

სუსპენზიურ კულტურებთან მუშაობისათვის აუცილებელია მათი მახასიათებლების ცოდნა, რისთვისაც იყენებენ შემდეგ პარამეტრებს:

1. **უჯრედული პოპულაციის სიმკვრივე** – უჯრედების კონცენტრაცია 1 მლ მოცულობის სუსპენზიურ კულტურაში.
2. **სუსპენზიურ კულტურაში უჯრედული პოპულაციის გაორმაგების მინიმალური დრო.**
3. **ნედლი ნივთიერების მასა** – ადგენენ სუსპენზიური კულტურის წინასწარ აწონილ ნეილონის ფილტრზე მოთავსებისა და საკვები არის მოსაცილებლად წყლით გარეცხვის შემდეგ.
4. **მშრალი ნივთიერების მასა** – ადგენენ უჯრედთა ნედლი ბიომასის გარკვეული წონაკის დღე-ღამის განმავლობაში 60-70°C-ზე გამოშრობის შემდეგ.
5. **უჯრედების რაოდენობა** – ადგენენ ერთუჯრედიანი სუსპენზიური კულტურის* 1 მილილიტრში უჯრედთა დათვლის გზით.
6. **უჯრედების ზომა** – ადგენენ უჯრედების სიგრძისა და სიგანის გაზომვით მიკროსკოპის ქვეშ ოკულარ-მიკრომეტრისა და ობიექტ-მიკრომეტრის საშუალებით.
7. **კულტურის ცხოველყოფილობა** – ადგენენ სუსპენზიური კულტურის 1 მილილიტრში ცხოველყოფელ უჯრედთა რაოდენობის უჯრედთა საერთო რაოდენობასთან შეფარდების გზით. ცხოველყოფელი (ანუ ცოცხალი) უჯრედები ხასიათდებიან ციტოპლაზმური ჭიმებისა და ბირთვის არსებობით, პრეპარატების ევანსის ღილას ან 0.01% ფლუორესცინაცეტატის საღებავებით დამუშავებისას ციტოპლაზმის მოძრაობით.

4.6.5. სუსპენზიური კულტურის მნიშვნელობა

სუსპენზიურ კულტურებს გააჩნიათ შემდეგი პრაქტიკული გამოყენება:

1. **ბიოლოგიურად აქტიური მეორადი სინთეზის ნივთიერებე-**

* ერთუჯრედიან სუსპენზიურ კულტურას ღებულობენ საწყისი სუსპენზიური კულტურის 5-10 %-იანი ქრომის მჟავით დამუშავების გზით.

ბის* მიღების წყარო;

2. საწყისი მასალა უჯრედული სელექციისათვის;

3. მოდელური სისტემა ზრდის, ფიზიოლოგიური თავისებურებების, უჯრედთა დიფერენცირების, მათი ბიოსინთეტიკური თავისებურების, პოპულაციური ურთიერთდამოკიდებულების, მეორადი მეტაბოლიზმის გზების, გენების ექსპრესიის და სხვათა შესასწავლად.

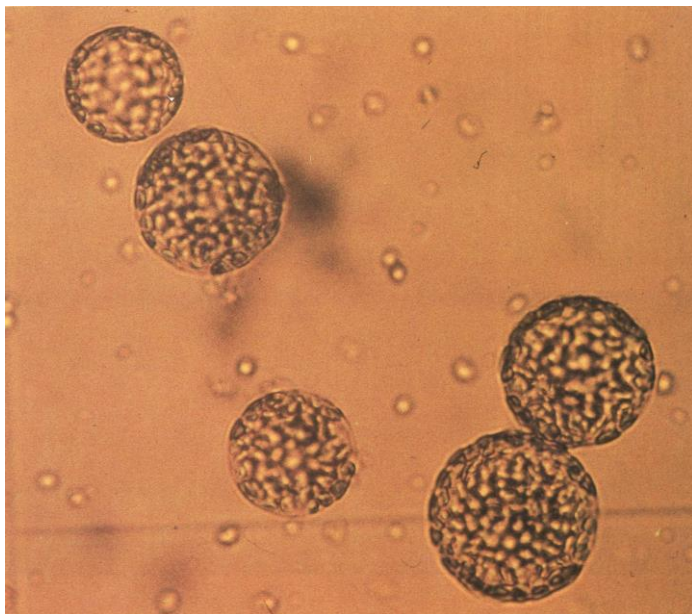
* მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღება იხ. გვ. 497.

4.7. პროტოპლასტების კულტურა

4.7.1. პროტოპლასტების ბამოჟოზა (იზოლაცია)

პროტოპლასტი* ეწოდება მცენარის უჯრედს, რომელსაც მოცილებული აქვს გარსი.

პროტოპლასტს აქვს დამახასიათებელი სფერული ფორმა (სურ. 159). მისი ზედაპირი დაცულია პლაზმალემით** (ციტოპლაზმური მემ-



სურ. 159. ღობიოს ფოთლებიდან იზოლირებული პროტოპლასტები

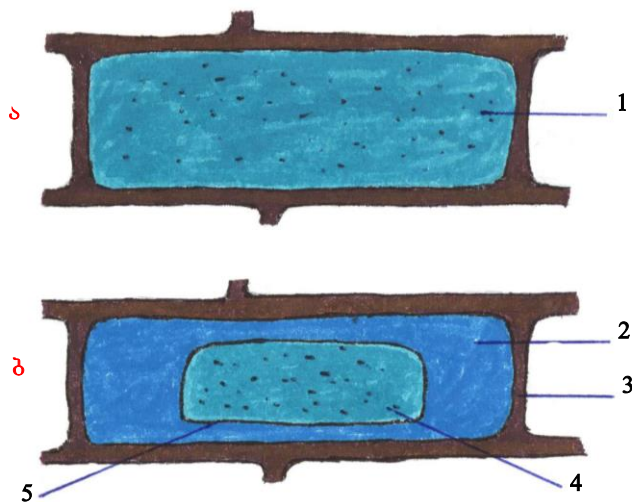
ბრანიტ) და გამოირჩევა სტრუქტურული მთლიანობით, მეტაბოლიზმის, ბიოსინთეზისა და ენერგიის ტრანსფორმაციის განხორციელების უნარით. პირველად ეს ტერმინი გამოიყენა ჯ. ჰანსტეინმა (J. Hanstein) 1880 წელს.

მცენარის უჯრედში პროტოპლასტი მიიღება პლაზმოლიზის*** დროს (სურ. 160). ამ უკანასკნელს კი ადგილი აქვს უჯრედზე ჰიპერ-

***protos** [ბერძნ.] – პირველი; **plastos** [ბერძნ.] – წარმოქმნილი.

** **პლაზმალემა** – პროტოპლასტის გარეთა შრე, რომელიც ესაზღვრება მცენარის უჯრედის გარსს.

*** **პლაზმოლიზი** – პროტოპლასტის გარეთა შრის (პლაზმალემის) მოცილება მცენარის უჯრედის ჰიპერტონიკურ გარემოში.



სურ. 160. პლაზმოლიზი უჯრედში

- (ა - ტურგორული უჯრედი, ბ - პლაზმოლიზებული უჯრედი;
 1 - პროტოპლასტი წნევით ეკერის უჯრედის კედელს,
 2 - კონცენტრირებული ხსნარი, 3 - უჯრედის კედელი,
 4 - შეკუმშული პროტოპლასტი, 5 - უჯრედის მემბრანა)

ტონული ხსნარების (ე.ი. ისეთი ხსნარების, რომელთა ოსმოსური წნევა მაღალია უჯრედის წნევის ოსმოსურ წნევაზე) მოქმედებისას. ამ ხსნარებს პლაზმოლიტიკებს უწოდებენ. პლაზმოლიზის დროს ადგილი აქვს უჯრედიდან წყლის გამოყოფას (გაუწყლოებას). უჯრედის გარსი წყლისათვის ადვილად შესაღწევი წარმონაქმნია, მაგრამ სტრუქტურულად საკმაოდ მკვრივია, რის გამოც ძალიან ძნელად იცვლის ფორმას უჯრედიდან წყლის გამოყოფისას (გაუწყლოებისას). პროტოპლასტი კი, კარგავს რა წყალს მცირდება მოცულობაში, შორდება უჯრედის გარსს, იკუმშება და გროვდება უჯრედის ცენტრში.

4.7.1.1. პროტოპლასტების გამოყოფის (იზოლაციის) ხერხები

პირველად პროტოპლასტების გამოყოფა განხორციელებულ იქნა ჯ. კლერკერის (G. Clerker) მიერ 1892 წელს მექანიკური მეთოდით. მან პროტოპლასტები გამოჰყო წყლის მცენარე ელოდეას (Stratiotes aloides) ფოთლის ქსოვილებიდან. ამ მეთოდის დროს ჯერ ახდენდნენ უჯრედების პლაზმოლიზს, შემდეგ კი სამართებლის ან სხვა ინსტრუმენტის საშუალებით მექანიკურად ჭრიან უჯრედის გარსს და პრო-

ტოპლასტები გარეთ გამოდიან. პლაზმოლიტიკად შეიძლება გამოყენებულ იქნას 1 M საქაროზისა და 0.02 M KCL-ის ხსნარის ნარევი. აღნიშნულ მეთოდს გააჩნია გარკვეული შეზღუდვები: 1) შესაძლებელია გამოიყოს მხოლოდ მცირე რაოდენობის პროტოპლასტები; 2) ძნელია პროტოპლასტების გამოყოფა მერისტემული და მომწიფებული ქსოვილებიდან; 3) მეთოდი ხანგრძლივი და შრომატევადია.

1960 წელს ე. კოკინგმა (E.C. Coking) პირველად მოახდინა პროტოპლასტების ფერმენტული მეთოდით მიღების შესაძლებლობის დემონსტრირება. მან პროტოპლასტები გამოჰყო პომიდორის აღმონაცენის ფესვების წვეროდან, უჯრედების ფერმენტ ცელულაზით დამუშავების გზით. მექანიკურ მეთოდთან შედარებით პროტოპლასტების გამოყოფის ფერმენტულ მეთოდს აქვს გარკვეული უპირატესობა: 1) შესაძლებელია ერთდროულად გამოიყოს დიდი რაოდენობის პროტოპლასტები; 2) პროტოპლასტები არ განიცდიან ძლიერ ოსმოსურ შეკუმშვას; 3) უჯრედები უფრო ინტაქტური და დაუზიანებელი არიან; 4) მეთოდი შედარებით სწრაფია.

დღეისათვის უჯრედის გარსის მოსაცილებლად იყენებენ სამი ტიპის ფერმენტულ პრეპარატს – ცელულაზებს, ჰემიცელულაზებს და პექტინაზებს. მათ ღებულობენ სოკოების კულტურებიდან და ლოკოკინას კუჭის წვენიდან. ფერმენტების პირველი კომერციული პრეპარატები მიღებულ იქნა 1968 წელს იაპონელი მეცლევარების – ი. ტაკებესა და მისი თანამშრომლების (I. Takebe et al) მიერ.

აღნიშნული ფერმენტების მოქმედება მიმართულია უჯრედის გარსის ძირითადი კომპონენტების დაშლისაკენ. მცენარეებში ამ კომპონენტებს წარმოადგენს ცელულოზა, ჰემიცელულოზა და პექტინოვანი ნივთიერებები. მიკროფიბრილებში განლაგებული ცელულოზის მოლეკულები ქმნიან ფაშარ, მაგრამ მტკიცე სტრუქტურულ ჩონჩხს, რომელიც მოთავსებულია ჰემიცელულოზის, პექტინოვანი ნივთიერების, ცილებისა და ლიპიდებისაგან შემდგარ ამორფულ მატრიქსში. უჯრედის გარსში ზოგადად ცელულოზაზე მოდის მშრალი მასის 30%-მდე, ამდენივე – პექტინოვან ნივთიერებებზე, ცილებზე და ლიპიდებზე, ჰემიცელულოზა კი შეადგენს 40%. სხვადასხვა ტიპის ქსოვილების უჯრედებში ეს თანაფარდობა სხვადასხვაა გამომდინარე ფუნქციონალური თავისებურებებიდან, ასაკიდან, მეორადი გასქელებიდან და სხვა. ამიტომ ფერმენტების სახეობას, მათ კომბინაციას და კონცენტრაციას ყოველი ტიპის ქსოვილისა და მცენარისათვის არჩევენ ინდივიდუალურად.

პროტოპლასტების გამოყოფის პროცედურა შედგება სამი ეტაპისაგან: 1) უჯრედების დამუშავება ფერმენტებით; 2) უჯრედის გარსიდან გამოცალკევებული პროტოპლასტების გამოყოფა; 3) ინტაქტური პროტოპლასტების მოცილება უჯრედის სხვა ნაწილებიდან.

პროტოპლასტებს გამოჰყოფენ მცენარის სხვადასხვა ნაწილი-

დან,* აგრეთვე კალუსიდან და სუსპენზიური კულტურებიდან. ხშირად იყენებენ ფოთლის მეზოფილს, რომელიც იძლევა მრავალ ერთგვაროვან პროტოპლასტს. 161-ე სურათზე ნაჩვენებია მცენარის უჯრედებიდან პროტოპლასტების გამოყოფისა და კულტივირების ზოგადი სქემა.

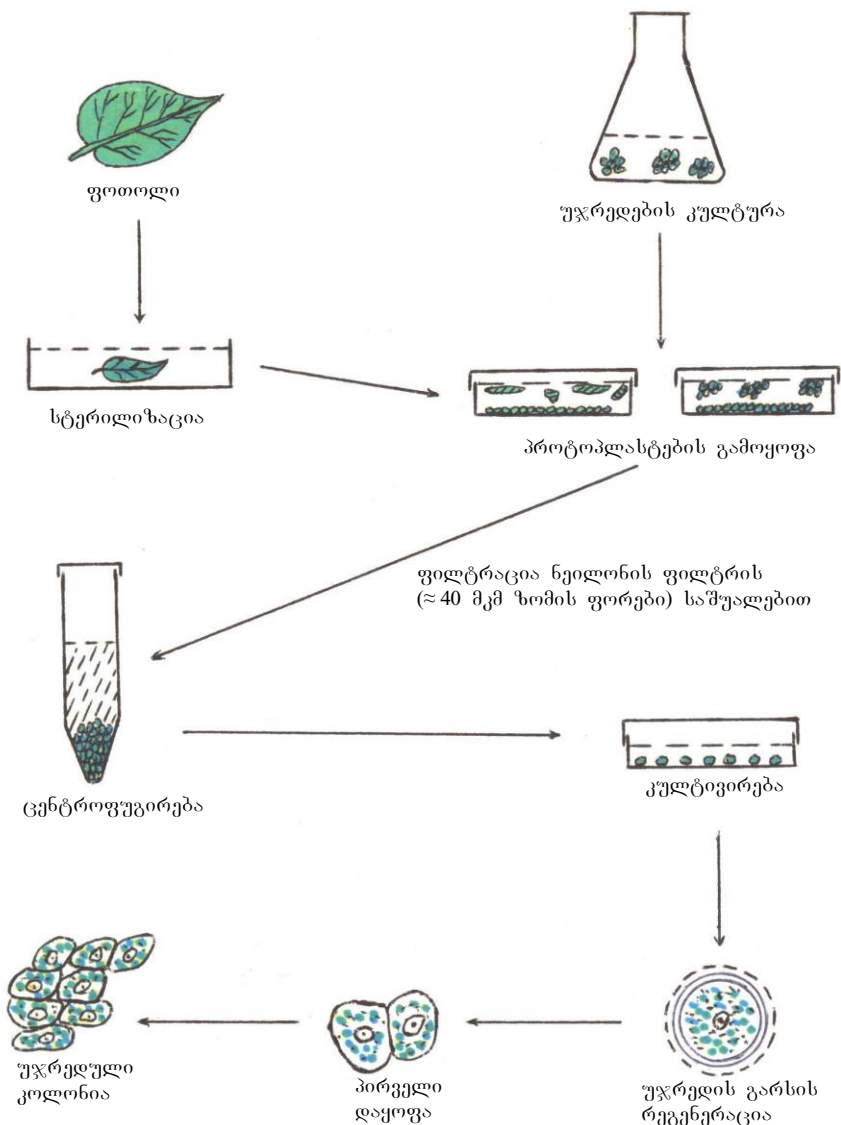
4.7.12. პროტოპლასტების გამოყოფის (იზოლაციის) პირობები

პროტოპლასტების იზოლაციის მიზნით ახალგაზრდა მცენარის ფოთლებს ასტერილებენ ჯერ 70%-იან სპირტში ერთ წუთის, ხოლო შემდეგ ნატრიუმის ჰიპოქლორიტის 2%-იან ხსნარში 20-30 წუთის განმავლობაში. ამის შემდეგ ფოთლებს რეცხავენ გამოხდილი წყლით, აცილებენ ქვედა ეპიდერმისს, ჭრიან წვრილ ნაწილებად და გადააქვთ პეტრის ჯამში მოთავსებული ფერმენტების ნარევიში. პროტოპლასტების იზოლაციის ოპტიმალური პირობები ინდივიდუალურია სხვადასხვა ქსოვილისათვის და ყველა კონკრეტულ შემთხვევაში წინასწარ ხდება ფერმენტთა შემადგენლობის, მათი კონცენტრაციის, თანაფარდობის და დამუშავების დროის შერჩევა. მაგ., თამბაქოს ფოთლებს ამუშავებენ 0.5% პექტინაზს + 2% ცელულაზას ნარევით, სორბიტის 13%-იან ხსნარში 14-18 საათის განმავლობაში.

პროტოპლასტების წარმატებით იზოლირების მეტად მნიშვნელოვან ფაქტორს წარმოადგენს ოსმოსური სტაბილიზატორის შერჩევა. ამ მიზნით ყველაზე ხშირად იყენებენ შაქრებს – გლუკოზა, საქაროზა, ქსილოზა, სორბიტი, მანიტი და სხვა, ნაკლებად – CaCl_2 , Na_2HPO_4 , KCl მარილების ხსნარებს. ოსმოსურ ნივთიერებებს (ოსმოტიკებს) იყენებენ 0.3-0.8 მოლი/ლ კონცენტრაციით. ოსმოტიკების ზუსტი კონცენტრაციის შერჩევა ყოველთვის წინასწარ ხდება კონკრეტული მცენარისა და მისი ფიზიოლოგიური მდგომარეობისათვის. საკვები არე უნდა იყოს რამდენადმე ჰიპერტონული, რათა პროტოპლასტები იყვნენ მსუბუქად პლაზმოლიზებულ მდგომარეობაში. ასეთ პირობებში მუხრუჭდება მეტაბოლიზმი და უჯრედის გარსის რეგენერაცია. ყველაზე მეტად პროტოპლასტების იზოლირება მიმდინარეობს სიბნელეში ან სუსტი განათების დროს, pH უნდა იყოს 5.4-6.2, ტემპერატურა ვარირებს ფართო ფარგლებში. მაგ., თამბაქოსათვის აუცილებელია 25°C , პომიდორისათვის – 27°C , ხორბლისთვის – 14°C .

ენზიმოლოგიური იზოლაციის შემდეგ პროტოპლასტებს აცილებენ დაუშლელი ქსოვილების ნარჩენებს, უჯრედების ნაგლეჯებს და

* ამჟამად დამუშავებულია პროტოპლასტების გამოყოფის პირობები მცენარის თითქმის ნებისმიერი ორგანოდან: ფოთლებიდან, ღეროს აპექსიდან, ფესვებიდან, კოლუპტილიდან, ნაყოფებიდან, ყვავილის ფურცლებიდან, მტვრიანებიდან, ტუბერიდან, ენდოსპერმიდან, ალეირონის შრიდან და სხვა.



სურ. 161. მცენარის უჯრედებიდან პროტოპლასტების გამოყოფისა და კულტივირების ზოგადი სქემა

რეცხავენ ფერმენტების მოსაცილებლად. ამ მიზნით იყენებენ ორ მეთოდს – ცენტროფუგირებით ფილტრაციას და ფლოტაციას. ცენტრო-

ფუფიერებით ფილტრაციის დროს გაუწმენდავი პროტოპლასტების ნარევის ატარებენ ~40 მკმ ზომის ფორებიან ფილტრში. ამ დროს ფილტრზე რჩება უჯრედების დაუშლელი კოშტები და მათი დიდი ნაგლეჯები. წყლიან ფაზაში დარჩენილი პროტოპლასტების, უჯრედების წვრილი ნაგლეჯებისა და ფერმენტების ნარევის ცენტროფუგირება ხდება ისეთნაირად, რომ დაიღეჟოს პროტოპლასტები, ხოლო დანარჩენი ნაწილი დარჩეს სუპერნატანტზე. განმეორებითი (საჭიროებისას მესამეჯერ) ცენტროფუგირებით პროტოპლასტები მთლიანად ირეცხება ფერმენტებისაგან და შესაძლებელია მათი გადატანა კულტივირების არეში. სუსტი და ნაზი პროტოპლასტებისათვის იყენებენ **ფლოტაციის მეთოდს**. იგი ეფუძნება იმას, რომ პროტოპლასტებს გააჩნია უფრო დაბალი სიმკვრივე, ვიდრე უჯრედების ორგანელებს ან უჯრედის გარსის ნარჩენებს. ამ დროს ადგილი აქვს გაუწმენდავი პროტოპლასტების შერევას საქაროზის ან სორბიტის ხსნართან და შემდეგ ცენტროფუგირებას შესაბამის სიჩქარეზე (40-80-დან 350 გ-მდე), რის შედეგადაც სუფთა პროტოპლასტები რჩება ზევით, ხოლო ნაგლეჯები ილექება ფსკერზე. საბოლოოდ პროტოპლასტებს აცილებენ და გადააქვთ კულტივირების არეში. მცენარის პროტოპლასტებს გააჩნია სფერული ფორმა, ხოლო ზომა ვარირებს 15-დან 60 მიკრომეტრამდე.

4.7.2. პროტოპლასტების კულტივირება

4.7.2.1. პროტოპლასტების კულტივირების ხერხები

პროტოპლასტების კულტივირებისათვის იყენებენ ორ ხერხს: 1) **თხევადი წვეთების მეთოდი** და 2) **პლატირების* მეთოდი**.

პირველ შემთხვევაში პროტოპლასტების სუსპენზია წვეთების სახით თავსდება თხევად საკვებ არეში პლასტიკურ პეტრის ჯამზე. მეთოდი უზრუნველყოფს კარგ გაზოაცვლას. გარდა ამისა, ადვილია საჭირო კონცენტრაციის ახალი საკვები ხსნარის დამატება. თუმცა ამ ხერხით კულტივირებისას ხშირად ადგილი აქვს ყოველი წვეთის ცენტრში პროტოპლასტების აგრეგაციას. დიდი რაოდენობით დაგროვებისას ისინი წარმოქმნიან მნიშვნელოვანი სიდიდის ფენოლურ და სხვა ტოქსიკურ შენაერთებს, რაც ხელს უშლის წარმატებით კულტივირებას. ეს მეთოდი ასევე არახელსაყრელია იმ შემთხვევაში, როცა საჭიროა პროტოპლასტების ინდივიდუალური კოლონიის განვითარებაზე დაკვირვება. მეთოდი დამუშავებულ იქნა **კ. კაოსა და მისი თანამშრომლების მიერ (K.Kao et al)** მიერ 1971 წელს.

მეორე შემთხვევაში პროტოპლასტების სუსპენზიის გარკვეულ

* **პლატირება** [ინგლ. **plating**] – უჯრედების თესვა აგარიზებულ საკვებზე.

მოცულობას ასხამენ თხევად საკვებ არეში პლასტიკურ პეტრის ჯამზე და უმატებენ იმავე მოცულობის 1% აგარ-აგარიან იგივე საკვებ არეს. ტემპერატურა არ უნდა აღემატებოდეს 45°C. შემდეგ პეტრის ჯამებს წებავენ პარაფილმით და აჩერებენ გადაბრუნებულ მდგომარეობაში 28°C ტემპერატურაზე. ამ დროს პროტოპლასტები ფიქსირდება გარკვეულ მდგომარეობაში და ფიზიკურად დაცილებულია ერთმანეთისაგან. ამ მეთოდს აქვს მნიშვნელოვანი უპირატესობა. შესაძლებელია დავაკვირდეთ ერთი კონკრეტული პროტოპლასტის განვითარების ყველა პროცესის თანმიმდევრობას – უჯრედის გარსის ფორმირება, უჯრედების დაყოფა, მცენარის ზრდა და განვითარება. მეთოდის უარყოფითი მხარე მდგომარეობს იმაში, რომ შესაძლებელია მოხდეს პროტოპლასტების გარკვეული დაზიანება თბილ აგარ-აგართან მათი შერევის დროს. მეთოდი დამუშავებულია **ტ. ნაგატასა და ი. ტაკებეს (T. Nagata, I. Takebe)** მიერ 1971 წელს.

არსებობს ამ მეთოდების რამდენიმე ვარიანტი.

4.7.2.2. პროტოპლასტების კულტივირების პირობები

კვების მხრივ იზოლირებულ პროტოპლასტებს ისეთივე მოთხოვნები აქვთ როგორც მთლიან უჯრედებს. ამიტომ პროტოპლასტების კულტივირების დროს გამოყენებული საკვები არეები უჯრედულ კულტურებში გამოყენებული საკვები არეების მსგავსია. ყველაზე ხშირად იყენებენ **მურასიგე-სკუვის, ნაგატა და ტაკებეს, ჰამბორგის და სხვა საკვებ არეებს**, რომლებსაც უმატებენ ვიტამინებისა და ფიტოჰორმონების კომპლექსს (ყველაზე ეფექტურია – 2.4-დ, ნმმ, იმმ, 6-ბაპ-ი, კინეტინი). საკვები არის რეაქცია უნდა იყოს შედარებით მჟავა (pH 5.6-5.8). პროტოპლასტების კულტივირების აუცილებელ პირობას მათი სტაბილურობის შენარჩუნების მიზნით წარმოადგენს უჯრედის გარსის წარმოქმნამდე საკვები არის უზრუნველყოფა **ოსმოსური წნევის** შესაბამისი სიდიდით. ოსმოტიკებად ჩვეულებრივ იყენებენ შაქრებს: გლუკოზას, მანიტოლს, სორბიტოლს, საქაროზას, ქსილოზას და სხვა. **კულტივირების ტემპერატურა** ცვალებადობს დიდ ფარგლებში სახეობის სპეციფიკიდან გამომდინარე (მაგალითად, ხორბლისათვის ოპტიმალურს წარმოადგენს 22°C, თამბაქოსათვის 25°C). ჩვეულებრივ პროტოპლასტები ვერ უძლებენ ოპტიმალური ტემპერატურიდან ყველაზე უმნიშვნელო გადახრასაც კი. **სინათლის მაღალი ინტენსივობა** დამდუჟებლად მოქმედებს ახალიზოლირებულ პროტოპლასტებზე. განათების ოპტიმალური მაჩვენებელი ცვალებადობს ფართო საზღვრებში. მაგალითად, სტრომოზასათვის ოპტიმალურს წარმოადგენს 80 ათასი ლუქსი, ხოლო იონჯა კოლონიებს ქმნის აბსოლუტურ სიბნელეში. პროტოპლასტების წარმატებით კულტივირების მნიშვნელოვან ფაქტორს წარმოადგენს მათი **დათესვის სიხშირე**. ძალიან დაბალი

სიხშირისას პროტოპლასტები ხშირად არ იყოფა. მეორე მხრივ, ძალიან მაღალი სიხშირისას პროტოპლასტების მიერ გამოყოფილი ნივთიერებათა ცვლის პროდუქტები უარყოფით გავლენას ახდენენ ზრდაზე. უმეტეს შემთხვევაში პროტოპლასტების ოპტიმალური სიხშირე კულტურაში შეადგენს 5.10^3 - 5.10^4 პროტოპლასტს 1 მლ საკვებ არეზე.

4.7.2.3. უჯრედის გარსის ფორმირება (რეპარაცია), პროტოპლასტებიდან უჯრედებისა და მცენარეების რეგენერაცია

პროტოპლასტებში უჯრედის გარსის წარმოქმნა იწყება მაშინვე, ფერმენტთა ხსნარის მოცილების შემდეგ. ხელმეორედ სინთეზირებული უჯრედის გარსი კარგად ჩანს ფლუორესცენტრირებულ მიკროსკოპში. ამ პერიოდში შეიმჩნევა პლაზმალემასთან დაკავშირებული ენდოპლაზმატური რეტიკულუმის გადიდება. ყველა სინთეზირებული ნივთიერება პროტოპლასტიდან გადადის ახალი გარსის სინთეზის ადგილებში. პირველად ჩნდება ცელულოზოვანი მიკროფიბრილები, რომლებიც თანდათან ყალიბდებიან ტიპიურ უჯრედულ გარსად. ბევრ შემთხვევაში უკვე 2-4 დღის შემდეგ პროტოპლასტი კარგავს სფერულ ფორმას და მასში ხდება უჯრედის გარსის აღდგენა. ზოგიერთ კულტურებში გარსი ჩნდება კულტივირების დაწყებიდან 8-24 საათის შემდეგ. ზოგიერთში კი იგი რამდენიმე კვირის ან თვის შემდეგაც არ იწყება. პროტოპლასტის გარსის სინთეზის ერთ-ერთ ძირითად განმსაზღვრელ ფაქტორს საკვებ არეში წარმოადგენს საქაროზა. მის გარეშე უჯრედის გარსის სინთეზი არ მიმდინარეობს.

პროტოპლასტებიდან უჯრედებისა და მცენარეების რეგენერაცია წარმოადგენს გაცილებით რთულ პროცესს, ვიდრე უჯრედის გარსის ფორმირება. პროტოპლასტები, რომლებსაც არა აქვთ რეგენერირებული უჯრედული გარსი, კარგავენ ნორმალური მიტოზური დაყოფისა და უჯრედული კოლონიის წარმოქმნის უნარს. მაგრამ მარტო უჯრედული გარსის ფორმირება არ წარმოადგენს უჯრედის დაყოფაზე გადასვლისა და მცენარის რეგენერაციის საკმარის პირობას. ობიექტიდან და კულტივირების პირობებიდან გამომდინარე, უჯრედის დაყოფასა და მცენარის რეგენერაციას იწყებენ გარსაღდგენილი პროტოპლასტების 0.1-დან 80%-მდე. პირველი დაყოფა აღინიშნება პროტოპლასტების კულტივირების დაწყებიდან 2-7 დღის შემდეგ. უჯრედების თანმიმდევრული დაყოფისა და ზრდის შედეგად წარმოიქმნებიან მცენარე-რეგენერანტები.

მცენარეების რეგენერაცია ხორციელდება ან ემბრიოგენეზის, ან კალუსის განვითარების და შემდეგ მისგან მორფოგენეზის ინდუქციის გზით. ასე მაგალითად, **ჰ. გრამბოუს (H. Grambow)** მიერ 2.4-დ შემცველ საკვებ არეში სტაფილოს პროტოპლასტების კულტივირებისას 8-10 დღის შემდეგ წარმოიქმნებოდა უჯრედების ჯგუფი, რომლებიც

საწყისს აძლევდა ემბრიოდებს, ამ უკანასკნელიდან კი ვითარდებოდა აღმონაცენები და შემდეგ მთლიანი მცენარეები. ხოლო **ტ. კამეია და ჰ. უშიმიას (T. Kameya, H. Uchimiya)** მიერ ქოქოსის რძის, კაზეინის ჰიდროლიზატის ან კინეტინის შემცველ საკვებ არეში სტაფილოს პროტოპლასტების კულტივირებისას 4-8 კვირის შემდეგ ვითარდებოდა კალუსის მასები, რომლებშიც მიმდინარეობდა ემბრიოდების ღიფერენცირება, შემდეგ კი – მორფოგენეზის ინდუქცია.

პირველი ცნობა პროტოპლასტების კულტურაში მცენარის რეგენერაციის შესახებ გამოქვეყნებულ იქნა **ი. ტაკებესა და მისი თანამშრომლების (I. Takebe et al)** მიერ 1971 წელს იაპონიაში.

მცენარეს, რომელიც რეგენერირებულია პროტოპლასტის კულტურიდან **ჯ. შეპარდისა და მისი თანამშრომლების (J. Shepard et al)** წინადადებით (1980 წ.) ეწოდება პროტოკლონი.

პროტოკლონებს აქვთ სელექციური მნიშვნელობა, რადგანაც ისინი ხასიათდებიან სხვადასხვა ხარისხით გამოხატული პროტოკლონური ცვალებადობით. პროტოკლონების მნიშვნელობაზე ლაპარაკობს მაგალითად, ამერიკელი მეკლევარის **ჯ. შეპარდისა და მისი თანამშრომლების** შრომები კარტოფილის კულტურაზე. კარტოფილის ჯიშ “Rosset Berbank”-ის მეზოფილური პროტოპლასტებიდან რეგენერირებული 10 ათასი პროტოკლონიდან გამოყოფილ იქნა 60 ხაზი. ისინი ხასიათდებოდა სტაბილურად გაუმჯობესებული რიგი ნიშნებით, მათ შორის დაავადებისადმი გამძლეობით, გადიდებული მოსავლიანობით, ტუბერების ადრეული სიმწიფით და სხვა. საუკეთესო პროტოკლონებიდან მიღებულ იქნა კარტოფილის ორი ახალი ჯიშ.

4.7.2.4. პროტოპლასტების კულტურის მნიშვნელობა

პროტოპლასტების კულტურის გამოყენებით შესაძლებელია გადაწყვეტილ იქნას სხვადასხვა თეორიული და პრაქტიკული საკითხი:

1. უჯრედის გარსის სინთეზის თავისებურებები;
2. პლაზმადების ფუნქციები;
3. პროტოპლასტების მეტაბოლიზმის თავისებურებები;
4. მცენარეებში ტრანსკრიპციის რეგულაციის მექანიზმი;
5. მცენარეების ტრანსფორმაციის თავისებურებები;
6. დაუზიანებელი და ფუნქციონალურად აქტიური ციტოპლაზმური სტრუქტურებისა და ორგანელების მიღება;
7. უჯრედული სელექციისა და მუტაგენეზის სპეციფიკა;
8. სომატური ჰიბრიდების* მიღება და სხვა.

* დეტალურად განხილულია ქვემოთ გვ. 451.

4.8. მცენარეების კლონური მიკროგამრავლება და ბაჯანსაღება

4.8.1. კლონური მიკროგამრავლების მნიშვნელობა

დღეისათვის მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის ერთ-ერთ ყველაზე განვითარებულ პრაქტიკულ მეთოდს წარმოადგენს მცენარეთა **კლონური მიკროგამრავლება**, რომელიც დაფუძნებულია უჯრედის ტოტიპოტენტურობის თვისებაზე.

კლონური მიკროგამრავლება არის უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში მცენარეთა მსობრივი უსქესო გამრავლება.

ტერმინი „კლონი“ (ბერძ. *clon* – ტოტი) შემოღებულ იქნა ა. ვებერის (A. Webber) მიერ 1903 წელს. სიტყვა „მიკრო“ ხაზს უსვამს პროცესის მინიატურიზაციას ვეგეტატიური გამრავლების ტრადიციულ ხერხებთან (დაკალმება, გადაწვევა, მენობა, უღვაშებით გამრავლება და ა.შ.) შედარებით.

არჩევენ აღნიშნული მეთოდის პრაქტიკული გამოყენების სამ მთავარ მიმართულებას:

1. გენეტიკურ-სელექციური მუშაობა;
2. მცენარეთა სწრაფი კლონური გამრავლება;
3. სარგავი მასალის ვირუსოვანი და სხვა ინფექციებისაგან გათავისუფლება.

ამ მეთოდის ძირითადი უპირატესობა ვეგეტატიური გამრავლების ჩვეულებრივ ხერხებთან შედარებით მდგომარეობს შემდეგში:

1. ძალიან დიდი რაოდენობის (მილიონამდე) გენეტიკურად ერთგვაროვანი სარგავი მასალის მიღების შესაძლებლობა;
2. ვირუსებისა და სხვა პათოგენური მიკროორგანიზმებისაგან გაჯანსაღებული სარგავი მასალის მიღება;
3. ჩვეულებრივი წესით ძნელად გასამრავლებელი მცენარეების გამრავლება;
4. მცენარის ძვირფასი კლონის სწრაფი გამრავლების შესაძლებლობა;
5. ლაბორატორიულ პირობებში მთელი წლის განმავლობაში მუშაობის ჩატარება და გარკვეული ვადისათვის მცენარეთა ნერგების გამოშვების დაგეგმვა;
6. იუვენილური ფაზიდან გამოსვლის გარეშე მცენარეთა გამრავლების შესაძლებლობა;
7. სადედე მცენარეების და კალმების გასამრავლებელი ფართობების, მათ შორის სასათბურე ფართობების ეკონომია;
8. სინჯარული მცენარეების ხანგრძლივი შენახვის შესაძლებლობა და ძვირფასი, იშვიათი და გადაშენების პირას მისული მცე-

ნარეების „ბანკის“ შექმნა;

9. მცენარეული მასალის (სინჯარული მცენარეების სახით) გაცვლა საერთაშორისო მასშტაბით საკარანტინო მაგნებლებისა და დაავადებების შემოტანის რისკის გარეშე;

10. მცენარეთა ტრანსპორტირების მოხერხებულობა.

კლონური მიკროგამრავლების აუცილებელ პირობას წარმოადგენს, მეთოდის ყველა ეტაპზე – ექსპლანტატიდან მინდორში მცენარემდე, გენეტიკური სტაბილურობის უნარის მქონე ობიექტების გამოყენება. ამ პირობას ყველაზე მეტად აკმაყოფილებს აპიკალური მერისტემა და ღეროს იდლიური კვირტები. ისინი მუდამ იმყოფებიან ემბრიონალურად აქტიურ მდგომარეობაში. მათ ახასიათებთ გენეტიკური ცვალებადობისადმი მაღალი მდგრადობა, რაც ალბათ დნმ-ს რეპარაციული სისტემის მაღალი აქტივობისა და შეცვლილი უჯრედების ნეგატიური სელექციის შედეგია. მცენარის ონთოგენეზში სომატური უჯრედების დიფერენცირება იწვევს გენომის სტაბილურობის დაცვას (ენდოპოლიპლოიდია, გენის ამპლიფიკაცია, ცვალებადობა დნმ განმეორებების დონეზე და სხვა). შემდეგ ნორმიდან ეს გენეტიკური გადახრები მრავლდება კალუსის წარმოქმნისა და კალუსური უჯრედების სუბკულტივირების დროს, შედეგად გენეტიკური ჰეტეროგენურობა უმაღლესი მცენარეების კულტივირებადი უჯრედების არსებობის ნორმა ხდება.

4.8.2. კლონური მიკროგამრავლების პირითაღი ხერხები

დღეისათვის გამოყოფენ კლონური მიკროგამრავლების შემდეგ ხერხებს:

1. იდლიური მერისტემის განვითარების (პროლიფერაციის) აქტივაცია.

2. ადვენტურ (დამატებითი)* ყლორტების კალუსიდან წარმოქმნის ინდუქცია.

3. ადვენტური (დამატებითი) ყლორტების უშუალოდ ექსპლანტატის ქსოვილებიდან წარმოქმნის ინდუქცია.

4. სომატური ემბრიოგენეზის ინდუქცია

პრაქტიკაში ყველაზე მეტად გავრცელებულია პირველი ხერხი.

იდლიური მერისტემის განვითარების (პროლიფერაციის) აქტივაცია დაფუძნებულია აპიკალური ღომინირების** მოხსნაზე, რაც შეიძლება განხორციელდეს იქნას: 1) მთავარი ყლორტის აპექსის მოცი-

* ადვენტური [ლათ. *adventivus* – უცხო] ანუ დამატებითი ყლორტები – არის ყლორტები, რომლებიც წარმოქმნილია მცენარის უჯრედებიდან და ქსოვილებიდან, საიდანაც ჩვეულებრივ არ ხდება მათი განვითარება.

** აპიკალური ღომინირება – ყლორტის გვერდითი კვირტების ზრდის ჩახშობის მოვლენა ტერმინალური კვირტების არსებობისას.

ლებით და სინჯარაში მიკროდაკალმებით და 2) საკვებ არეში ციტოკინინების შეტანით.

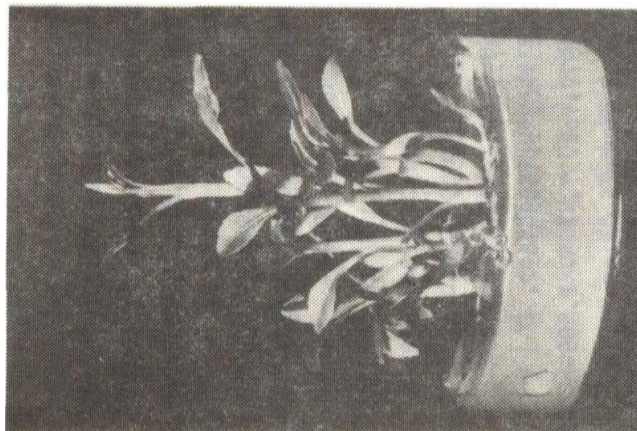
ამ დროს ადგილი აქვს მრავალრიცხოვანი იდლიური კვირტების პროლიფერაციას, რის შედეგადაც ერთი მერისტემიდან წარმოიქმნება ყლორტების მთელი კონა (სურ. 162).

საქმე იმაშია, რომ ჩვეულებრივ აპიკალური დომინირების სახეობებში ფოთლის იდლიაში განლაგებული კვირტები გარკვეულ პერიოდამდე იმყოფებიან მიმინარე მდგომარეობაში. ტერმინალური კვირტის დაზიანების ან მოცილების დროს ადგილი აქვს მის ქვეშ არსებული კვირტის ყლორტად განვითარების სტიმულირებას. აპიკალური დომინირების მოვლენის რეგულირება ხდება აგრეთვე ფიტოჰორმონების (ციტოკინინების) საშუალებით. სახელდობრ, კინეტინი ხსნის აპიკალურ დომინირებას და იწვევს მრავალრიცხოვანი იდლიური ყლორტების განვითარებას.

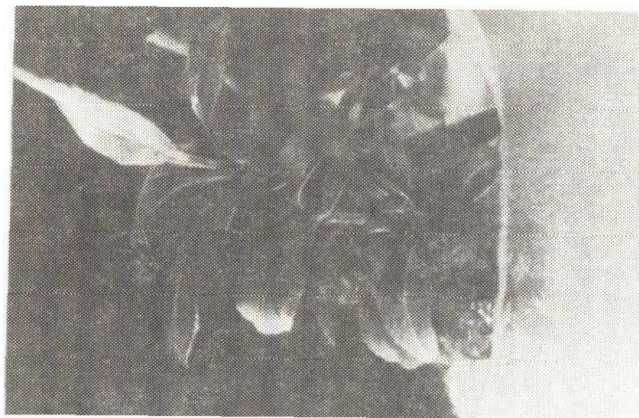
აღნიშნული მეთოდი უკვე ფართოდაა დანერგილი წარმოებაში. თეორიულად წლის განმავლობაში შეიძლება მიღებული იქნას 100 ათასიდან – 1 მილიონამდე სარგავი მასალა (იმ პირობით, რომ ყოველ 2 თვეში შეიძლება 1 ყლორტის მიღება, რომელიც შემდგომში იძლევა 10 “მიკროკალამს”). ის გამოყენებულია რიგი ბოსტნეული, ხეხილოვანი, კენკროვანი და დეკორაციული კულტურების სარგავი მასალის წარმოებისას. ფართოდ გამოიყენება აგრეთვე უვირუსო სარგავი მასალის მიღების დროსაც.

მაგრამ ამ მეთოდით ხანგრძლივად გამრავლება არ შეიძლება, რადგანაც დიდი ხნის განმავლობაში ციტოკინინების ზემოქმედება იწვევს ყლორტების ანომალიურ მორფოლოგიებს (არ ფესვიანდებიან, ხშირად იღუპებიან, იხშობა ყლორტების პროლიფერაცია და ა.შ.).

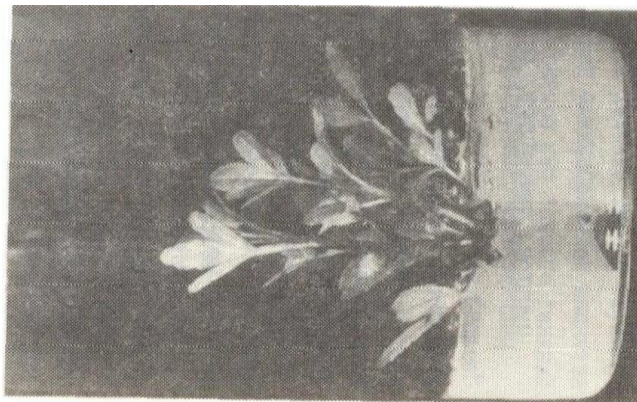
ადგენტური ყლორტების კალუსიდან წარმოქმნის ინდუქციისას ექსპლანტატს იღებენ მცენარის დიფერენცირებული ქსოვილიდან. აღნიშნული მეთოდი დაფუძნებულია ექსპლანტატის უჯრედების უნარზე ხელოვნურ საკვებ არეში განიცადონ დედიფერენცირება და გარდაიქმნან კალუსურ უჯრედებად, რომლებიც შემდეგ აქტიურად იყოფიან, განიცდიან პროლიფერაციას და გარკვეულ პირობებში გადდიან ორგანოგენეზში ანუ დიფერენციაციასა და ორგანოების წარმოქმნაში (სურ. 163). დედიფერენცირებული ქსოვილის ფრაგმენტს ათავსებენ კალუსოგენეზის საკვებ არეში (ციტოკინინებთან ერთად აუცილებლად უნდა იყოს აუქსინები). აუცილებლად გათვალისწინებული უნდა იყოს კალუსური უჯრედების ციტოგენეტიკური ცვალებადობა და ე.წ. “შეგუება”. მეთოდი წარმოადგენს თეორიულად ყველაზე პერსპექტიულს გამრავლების კოეფიციენტის მიხედვით, რადგანაც კალუსური კულტურა ტოტიპოტენტური უჯრედების მიღების განუსაზღვრელი წყაროა. გარდა ამისა, კალუსური ქსოვილების კულტივირებისას ადგილი აქვს ვირუსების ელიმინაციას, რაც საშუალებას იძლევა მი-



ა



ბ



გ

სურ. 162. ივლიური მერისტემიდან განვითარებული ლიმონ ქართულის (ა),
მეიერის (ბ) და ტრიფოლიატას (გ) ყლორტების კონა



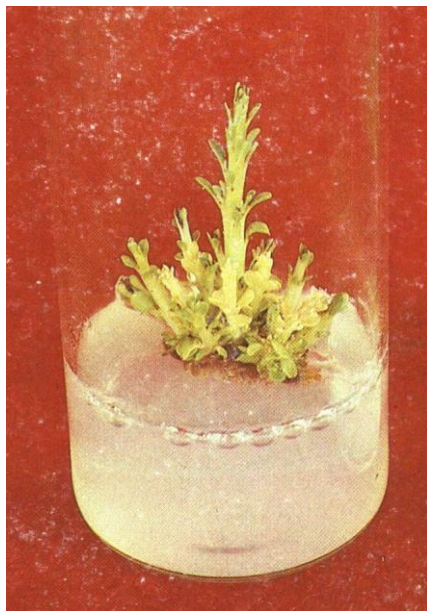
სურ. 163. ადვენტური ყლორტების წარმოქმნა კარტოფილის კალუსიდან

ღებულ იქნას გაჯანსაღებული მაღალხარისხოვანი სარგავი მასალა. ეს მეთოდი შეიძლება გამოყენებულ იქნას მხოლოდ იმ მცენარეებში, რომლებსთვისაც დამახასიათებელია გენეტიკური სტაბილურობა ან განსხვავება მცენარესა და რეგენერანტებს შორის არ აღემატება ბუნებრივი ცვალებადობის ზღვარს (ასპარაგუსი, ქრიზანთემა, ჰერბერა, მიხაკი, მარწყვი და სხვა).

ადვენტური ყლორტების უშუალოდ ექსპლანტატის ქსოვილებიდან წარმოქმნის ინდუქცია დაფუძნებულია მცენარის იზოლირებული ნაწილების უნარზე ხელსაყრელ პირობებში აღიდგინონ ორგანოები რომლებიც აკლიათ და ამით მოახდინონ ახალი მცენარის რეგენერაცია. ადვენტური ყლორტების განვითარება უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში შეიძლება განხორციელდეს როგორც მერისტემული ქსოვილების (ყლორტების აპიკალური და ილიური მერისტემები, ფესვების მერისტემები, ინტერკალური მერისტემები* და სხვა), ისე არამერისტემული (სპეციალიზებული) ქსოვილების საშუალებით. ამიტომ აღნიშნული მეთოდით მიკროგამრავლების დროს შეინიშნება ორი მოვლენა: 1) კვირტების წარმოქმნა არსებული მერისტემიდან;

* **ინტერკალური მერისტემა (ანუ ჩართული მერისტემა)** – წარმოშობი ქსოვილი, რომელიც მდებარეობს არა ორგანოს წვეროზე, არამედ ქსოვილების არეებს შორის (მაგ. მარცვლოვანთა ღეროში).

2) სპეციალიზებული (არამერიტემული) უჯრედების რედიფერენცია-
ცია,* მერიტემული კერების წარმოშობა და კვირტების დიფერენცია-
ცია (სურ. 164).



სურ. 164. ადვენტური ყლორტების წარმოქმნა კარტოფილის ღეროდან

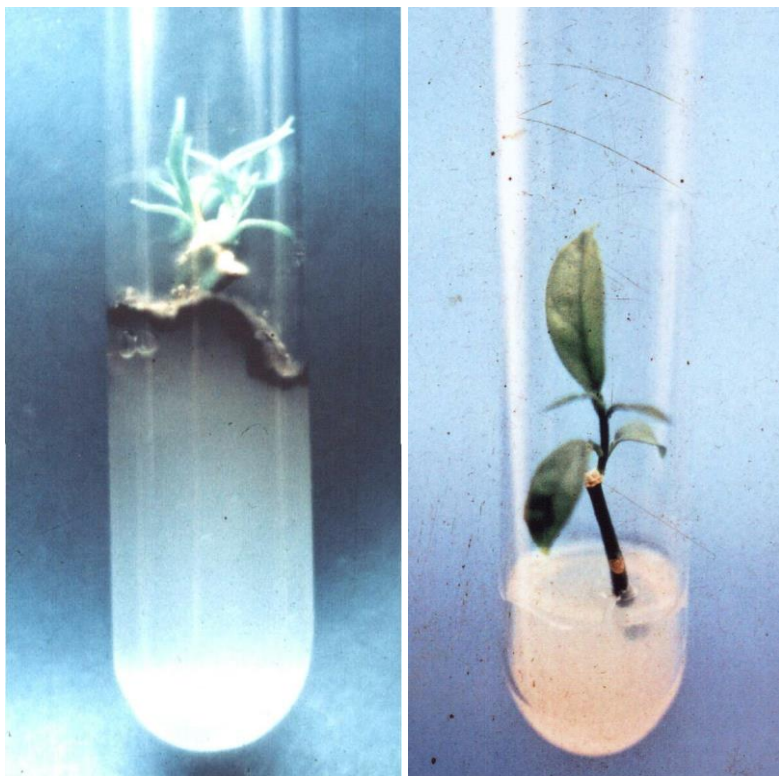
აღნიშნული ხერხით მიკროგამრავლების დროს მცენარის თით-
ქმის ყველა ორგანო შეიძლება გამოყენებულ იქნას საწყისი ექსპლან-
ტატის გამოსაყოფად.

დადგენილია, რომ მცენარეების დაახლოებით 350 სახეობაში ად-
ვენტური ყლორტები ვითარდება ფოთლების ქსოვილებიდან. ადვენტუ-
რი ყლორტების განვითარება შესაძლებელია აგრეთვე ყვავილებიდან,
ლებნიებიდან, საყვავილე კვირტებიდან, ღეროდან, ბოლქვებიდან და
სხვა. აღნიშნული ხერხი წარმოადგენს ძირითადს შროშანისებრთა,
სუმბულისებრთა, ნარგიზისებრთა და სხვა ოჯახის მრავალი სახეო-
ბის მცენარეთა გასამრავლებლად.

სომატური ემბრიოგენეზის ინდუქცია დაფუძნებულია კულტივი-
რებადი ქსოვილების სომატური უჯრედებიდან ჩანასახის პარკის გა-
რეთ – ასექსუალურად სომატური ჩანასახების წარმოქმნის უნარზე.

* **რედიფერენცია** – სპეციალიზებული უჯრედების გადასვლა დიფერენცირების ერ-
თი მდგომარეობიდან მეორეში უშუალოდ ან წინასწარი დაყოფით.

ის გვაგონებს ზიგოტურ ემბრიოგენეზს. ქსოვილების კულტურაში ემბრიოიდების ფორმირება მიმდინარეობს ორ ეტაპად. პირველ ეტაპზე ხდება ექსპლანტატის უჯრედების დედიფერენცირება. აქ აუცილებელია საკვებ არეში მაღალი კონცენტრაციის აუქსინის ან ციტოკინინის არსებობა, რადგანაც ისინი სტიმულს აძლევენ დედიფერენცირებული უჯრედების გადაქცევას ემბრიონალურ უჯრედებად. მეორე ეტაპზე აუცილებელია საკვები არიდან აუქსინების მთლიანად გამოორიცხვა ან მათი კონცენტრაციის მკვეთრად შემცირება (სურ. 165).



სურ. 165. სომატური ემბრიოგენეზის გზით წარმოქმნილი მცენარეები

ამჟამად სომატური ემბრიოგენეზი გამოყენებულია როგორც მიკროგამრავლების ერთ-ერთი ხერხი ჯადვარისებრთა უმეტესი მცენარეებისათვის. ციტრუსოვანთა უმეტეს სახეობას ბუნებრივ პირობებში აქვთ მიდრეკილება ადვენტური პოლიემბრიონიის პროცესისადმი და

შეუძლიათ წარმოქმნან 40-მდე ჩანასახი ერთ თესლში. ეს ჩანასახები ვითარდებიან თესლკვირტის ნუცელუსის უჯრედებიდან. ნუცელუსისა და გაუნაყოფიერებელი თესლკვირტის სხვა ქსოვილების კულტივირებისას შესაძლებელია მივიღოთ ადვენტური ჩანასახები და შესაბამისად მცენარე.

4.8.3. კლონური მიკროგამრავლების ეტაპები

მცენარეთა კლონური მიკროგამრავლების პროცესი შედგება ოთხი ეტაპისაგან (სურ. 166, 167):

1. მცენარე-დონორის შერჩევა, ექსპლანტატის იზოლაცია, სტერილიზაცია და მისი *in vitro* საკვებ არეზე ზრდისათვის პირობების შექმნა ანუ კულტურაში შეყვანა.

2. საკუთრივ გამრავლება, გზებით: ა) ექსპლანტატის ყველა იდლიური კვირტის განვითარების ინდუქცია ყლორტის აპიკალური დომინირების ჩახშობით; ბ) აპიკალური დომინირების მატარებელი ყლორტების მიკროდაკალმება; გ) მიკროტუბერებისა და მიკრობოლქვების წარმოქმნის სტიმულაცია; დ) ფოთლის, ფესვის, ღეროს ქსოვილების, ყვავილის ელემენტების და სხვათა მიერ ადვენტური კვირტების წარმოქმნის ინდუქცია.

3. გამრავლებული ყლორტების დაფესვიანება და სინჯარული მცენარეების ადაპტაცია *in vitro* პირობებისადმი.

4. კულტურალური ჭურჭლიდან ამოღებული მცენარეების ჯერ სათბურის პირობებში ნიადაგში ან ხელოვნურ სუბსტრატზე გამოზრდა, ხოლო შემდეგ სარეალიზაციოდ ან ნიადაგში გადასარგავად მომზადება.

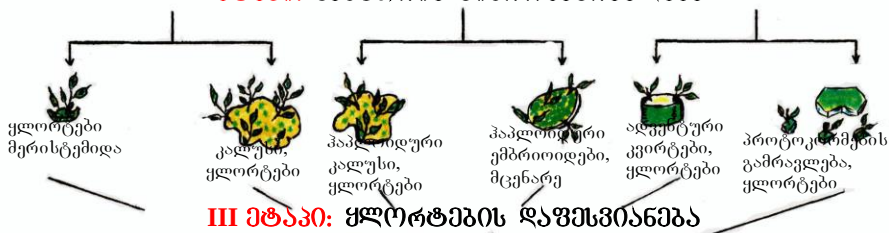
პირველ ეტაპზე მთავარი მნიშვნელობა ენიჭება მასალის სტერილიზაციას, რადგანაც საკვები არეები წარმოადგენენ საუკეთესო სუბსტრატს ბაქტერიული და სოკოვანი მიკროფლორის განვითარებისათვის. რიგი მცენარეებისათვის ტექნოლოგიის ძირითად სირთულეს ამ ეტაპზე წარმოადგენს ექსპლანტატის ზრდის პროცესების ინჰიბირების საშიშროება, მათ მიერ საკვებ არეში გამოყოფილი ტოქსიკური ნივთიერებების (მაგ., ფენოლები) ზემოქმედებით. ინჰიბირებას განიცდის უჯრედის დაყოფა და ზრდა. აუცილებელია ექსპლანტატის გარეცხვა დისტილირებული წყლით ან ასკორბინის მჟავით და ანტიოქსიდენტებით.

მეორე ეტაპზე განმსაზღვრელ როლს ასრულებენ შემდეგი ფაქტორები: 1) გენოტიპი (სახეობრივი და ჯიშური თავისებურებები) და მშობელი (დონორი) მცენარის ფიზიოლოგიური მდგომარეობა; 2) ექსპლანტატის აგებულება და ზომა (იყენებენ კენწრულ ან გვერდით კვირტებს, ღეროსა და ფესვების სეგმენტებს ფოთლების ნაწილებს, მტვრიანებს, ყვავილის ელემენტებს და სხვა სიგრძით 1-1.5 სმ); 3) ექს-

I ეტაპი: კულტურაში შეყვანა



II ეტაპი: საპუტრივ მიკროგამრავლება



III ეტაპი: ყლორტების დაფესვინება



IV ეტაპი: მცენარის მომზადება ნიადაგში გადასარბავად



სურ. 167. მცენარეთა კლონური მიკროგამრავლების სქემა

პლანტატის წარმოშობა (იუვენილურ ექსპლანტატებს გააჩნიათ ყლორტების ფორმირების მეტი პოტენცია); 4) ექსპლანტატების იზოლირების ვადები (უკეთესია “შესვენებიდან გამოსვლა – აქტიური ზრდის დაწყება” ფაზაში); 5) საკვები არის შედგენილობა (მთავარ როლს ასრულებს ციტოკინინებისა და აუქსინების ოპტიმალური თანაფარდობა, უფრო მეტად იყენებენ 6-ბაპ-ს 1-დან 10 მგ/ლ-მდე, იმპ-ს, ნიპ-ს – 5 მგ/ლ-მდე); 6) კულტივირების პირობები (ოპტიმალურია 22. . 28°C ტემპერატურა, 12. . 16 საათიანი განათება, 3. . 5 ათასი ლუქსი,

ლურჯი სპექტრი ხელს უწყობს პროლიფერაციას, მწვანე – ანელებს განვითარებას, წითელი – ხელს უწყობს დაფესვიანებას, აუცილებელია აერაცია).

მესამე ეტაპზე ჩვეულებრივ ცვლიან საკვები არის ძირითად შედგენილობას (ნახევრამდე ამცირებენ მურასიგე-სკუვის საკვები არის მარილების კონცენტრაციას ან მოლიანად ცვლიან მას უაიტის საკვები არით), ამცირებენ შაქრების რაოდენობას 0.5-1%-მდე, აცილებენ ციტოკინინებს და უმატებენ აუქსინებს (იძმ ან ნძმ 1-2 მგ/ლ-მდე).

მცენარეების ადაპტაციის პირობები სრულყოფილად არ არის დამუშავებული. თავდაპირველად დაფესვიანებულ სინჯარულ მცენარეებს გადარგავენ თხევად საკვებ არეში შემდგომი დაფესვიანებისათვის. ერთი კვირის შემდეგ მცენარეებს გადარგავენ ავტოკლავირებულ ნიადაგში. აქ მაღალი ტენიანობის შენარჩუნების მიზნით მათ ახურავენ მინის ჭურჭელს, რომელსაც 7-10 დღის შემდეგ გადახდიან. მცენარეებს კიდევ ერთი კვირა აჩერებენ სპეციალურ ბოქსებში და მხოლოდ ამის შემდეგ რგავენ სათბურში. დიდი მნიშვნელობა აქვს ოპტიმალური სუბტრატის შერჩევას, ტენიანობის გადიდებას, ფოტოპერიოდის და სინათლის ხარისხს. განათების ინტენსიუობას ზრდიან 8-10 ათას ლუქსამდე. აუცილებელია ოპტიმალური ტემპერატურა და გაზების ხელსაყრელი შედგენილობა.

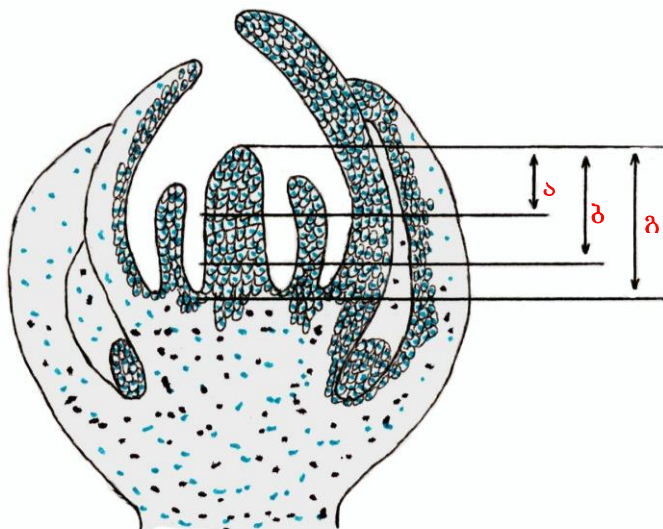
4.8.4. გაჯანსაღებული (უზირუსო) სარბავი მასალის მიღება

კულტივირებადი მცენარეების უმრავლესობა, განსაკუთრებით ვეგეტატიურად მრავლებადი, განუწყვეტლივ განიცდიან ვირუსებისა და სხვა პათოგენური მიკროორგანიზმების მიერ გამოწვეული ინფექციური დაავადებების ზემოქმედებას. მცენარეების დაავადება იწვევს მოსავლიანობის შემცირებას და მისი ხარისხის დაქვეითებას. დადგენილია, რომ პათოგენებისაგან თავისუფალ მცენარეებში მოსავლიანობა შეიძლება გაიზარდოს 300%-ით. მარტო ვირუსოვანი დაავადებები წარმოადგენენ ვეგეტატიურად მრავლებად სასოფლო-სამეურნეო მცენარეებში მოსავლის 10-დან 50%-მდე დაკარგვის მიზეზს.

მცენარეების გაჯანსაღების სხვადასხვა მეთოდი არსებობს: მცენარეების ვაქცინაცია არაპათოგენური ვირუსოვანი შტამებით – საწყისი პათოგენების მუტანტებით; გამძლე ველურ ფორმებთან ჰიბრიდიზაცია; გენური ინჟინერიის საშუალებით გამძლე ტრანსგენური მცენარეების მიღება; თერმოდამუშავება და სხვა.

დღეისათვის სხვადასხვა ინფექციური დაავადებებისაგან მცენარეთა გაჯანსაღების ყველაზე ეფექტურ მეთოდს წარმოადგენს **კლონური მიკროგამრავლება აპიკალური მერისტემის კულტურის გამოყენებით.**

1949 წელს მეცნიერების კ ლიმასეს (K. Limasse) და მ. კორნოეს (M. Kornoae) მიერ შემწნეულ იქნა, რომ ბევრ შემთხვევაში მცენარის მერისტემული ქსოვილები არ შეიცავენ ვირუსებს. შემდეგში დადგენილ იქნა, რომ ინფიცირებულ მცენარეში ვირუსების რაოდენობა მცირდება წვეროს მიმართულებით (სურ. 168), ხოლო თვით მერისტემა



სურ. 168. კარტოფილის აპიკალური მერისტემის სიგრძივი ჭრილი

ა - L, A, Y, X, M ვირუსისაგან თავისუფალი ზონა (0,1 მმ-მდე);

ბ - L, A, Y, X ვირუსისაგან თავისუფალი ზონა (0,1-0,15 მმ);

გ - L, A, Y ვირუსისაგან თავისუფალი ზონა (0,15-0,20 მმ)

შეიძლება მთლიანად თავისუფალი იყოს ვირუსოვანი ინფექციისაგან. ამას ხსნიან შემდეგი შესაძლო მიზეზებით: 1) ვირუსები მცენარეში ვრცელდება ჭურჭლების გამტარი სისტემით, რომელიც არაა განვითარებული მერისტემაში; 2) ადგილი აქვს ვირუსების რეპლიკაციის ინჰიბირებას ენდოგენური, მეტაბოლიტურად აქტიური აუქსინის ბუნების ნივთიერებებით, რომლებიც სინთეზირდებიან მერისტემის დაყოფის უჯრედების ზონაში.

პირველად მცენარეების გაჯანსაღების იდეა, მათი მერისტემების in vitro კულტურაში გამოზრდის გზით, წამოაყენეს გ. მორელმა (G. Morel) და ტ. მარტინმა (T. Martin) 1952 წელს.

აპიკალური მერისტემის კულტურის მეთოდმა ფართო გავრცელება მოიპოვა არა მარტო ვირუსებისაგან, არამედ მიკოპლაზმებისაგან, ბაქტერიებისაგან და სოკოებისაგან თავისუფალი მცენარეების მისაღებად.

ვირუსებისაგან მცენარეების გაჯანსაღების მეთოდები დამუშავებულია და ფართოდ იყენებენ მრავალ ბოსტნეულ კულტურაში (კარტოფილი, ასპარაგუსი, ყვავილოვანი კომბოსტო, მდოგვი, ნიორი და სხვა), ხეხილოვან და კენკროვან კულტურაში (ვაშლი, მარწყვი, ხურტკმელი, ოღო და სხვა), მეყვავილეობაში (ხმალები, გეორგინები, მიხაკები, ქრიზანთემები, ნარცისები, ზამბახები და სხვა) და სხვა.

თვით ვირუსისაგან თავისუფალი აპიკალური მერისტემა წარმოადგენს დაყოფის ფაზაში მყოფი უჯრედების კონუსს სიმაღლით 0.1 მმ (100 მიკრომეტრი) და სიგანით 0.25 მმ (250 მიკრომეტრი). პრაქტიკულად ასეთი ზომის ექსპლანტატის გამოყოფა დაუზიანებლად ძალიან ძნელია. მეორე სირთულე მდგომარეობს ასეთი მცირე ზომის ექსპლანტატიდან მცენარის სუსტ რეგენერაციაში. ამიტომ კულტივირებისათვის იყენებენ 1 მმ-მდე (1000 მიკრომეტრამდე) ზომის, რამდენიმე ფოთლის ჩანასახის (პრიმორდიუმი) მქონე ექსპლანტატებს, რომლებიც წარმოადგენენ მცენარის განვითარების მაინდუცირებელი ფიტოჰორმონების სინთეზის წყაროს. ყველა კონკრეტულ შემთხვევაში ექსპლანტატის ზომა უნდა იყოს ოპტიმალური, რათა მცენარემ შეძლოს რეგენერაცია და ამასთანავე არ შეიცავდეს ვირუსებს.

გაჯანსაღების ეფექტურობის გადიდების მიზნით ხშირად მიმართავენ აპიკალური მერისტემის მეთოდის, თერმო- და ქიმიური თერაპიის მეთოდთან ერთად გამოყენებას. თერმოთერაპიის მეთოდი დამყარებულია ექსპლანტატის თერმულ დამუშავებაზე, რაც იწვევს ვირუსების ინაქტივაციას, ხოლო ქიმიური თერაპიის მეთოდი – საკვებ არეში სპეციალური ნივთიერებების-ვირუსების ინჰიბიტორების დამატებაზე.

მერისტემების გამოსაყოფ საწყის მასალად იყენებენ ახალგაზრდა აღმონაცენებს ან ახალგაზრდა ყლორტებს. მერისტემის გამოყოფის წინ აწარმოებენ ყლორტების წვეროების სტერილიზაციას 96%-იან ეთილენის სპირტში რამდენიმე წამის, ხოლო შემდეგ 5%-იან კალციუმის ჰიპოქლორიტის ხსნარში 5-20 წუთის ან 0,1%-იანი დიაციდის (ან სულემის) ხსნარში 3-5 წუთის განმავლობაში მოთავსებით. მასალის ექსპლანტირებისათვის (გამოყოფისათვის) იყენებენ ბიოკულარულ მიკროსკოპს 20-40 ჯერადი გადიდებით. მერისტემების გამოყოფას აწარმოებენ პრეპარირებული ან ჩვეულებრივი ნემსების საშუალებით. 169-ე სურათზე ნაჩვენებია აპიკალური მერისტემის კულტურის გზით ვირუსებისაგან თავისუფალი მცენარის მიღების სქემა, ხოლო 170-ე სურათზე – უვირუსო მცენარის გამოზრდისა და გამრავლების სქემა კარტოფილის მაგალითზე.

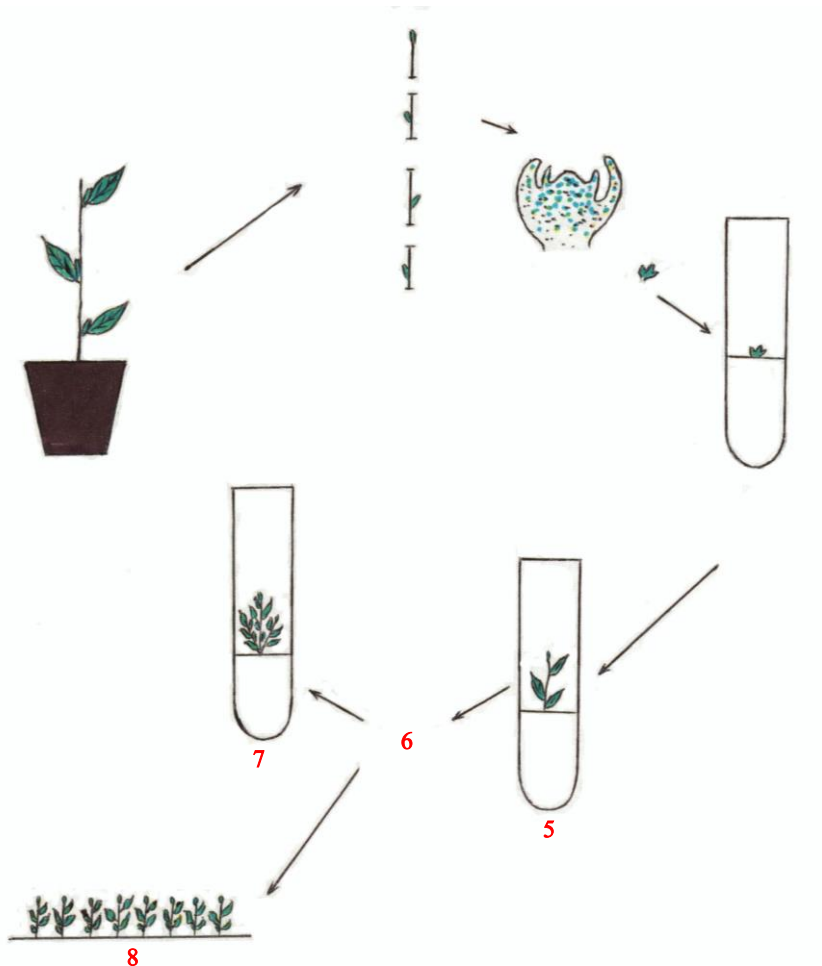
ვირუსისაგან თავისუფალი გაჯანსაღებული მასალის მიღების შემდეგ კომერციული მიზნით იყენებენ მხოლოდ იმ მცენარეებს, რომლებმაც გაიარეს 18 თვის განმავლობაში (პერიოდი, რომლის დროსაც ვირუსი შეიძლება დაუბრუნდეს აქტიურობას) ვირუსების არარსებო-

1

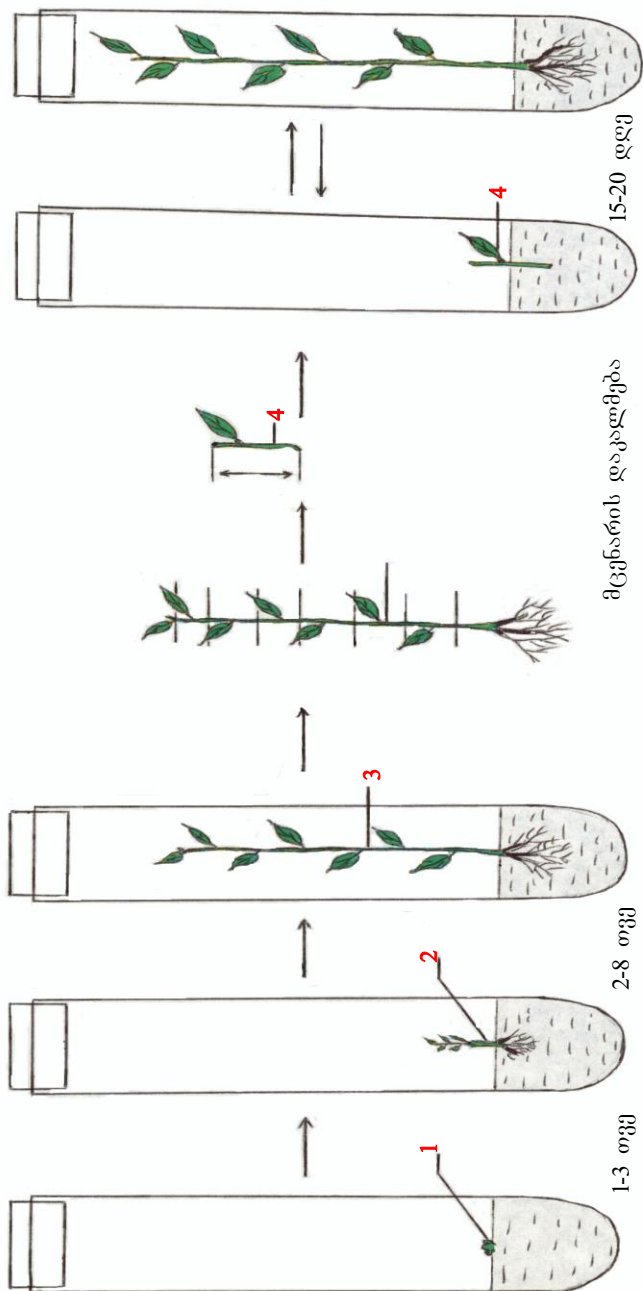
2

3

4



სურ. 169. აპიკალური მერისტემის კულტურის გზით ვირუსებისაგან
თავისუფალი მცენარის მიღება



სურ. 170. უფორუსო მცენარის გამოზრდისა და გამრავლების სქემა
(კარტოფილის მაგალითზე)

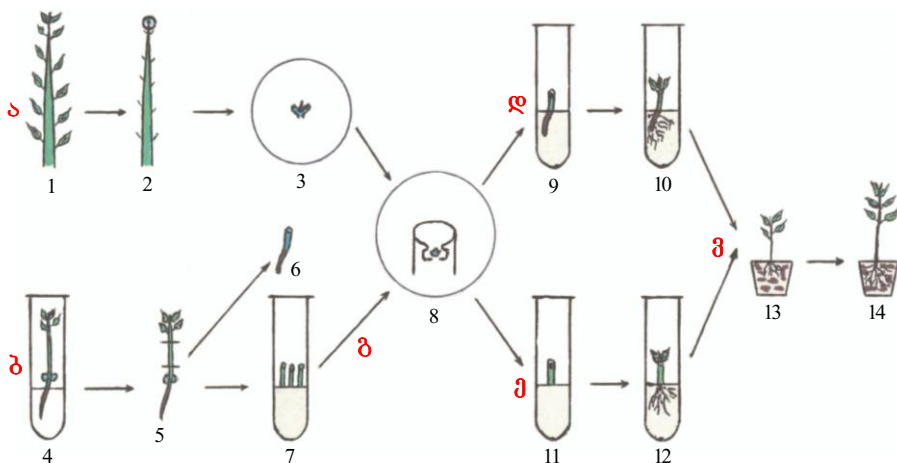
(1 – ექსპლანტატი (მერისტემული ქსოვილი 0,1-0,2 მმ), 2 – აღმონაცენი, 3 – მცენარე, 4 – კალაში)

ბის დამადასტურებელი სპეციალური ტესტები. ასეთ ტესტებად იყენებენ გარკვეული ვირუსის მოქმედებისათვის დამახასიათებელ ვიზუალურ სიმპტომებს. იყენებენ აგრეთვე იმუნოფერმენტულ, სეროლოგიურ და ელექტრონულ-მიკროსკოპულ ანალიზებს.

უვირუსო მცენარეები გარკვეული დროის შემდეგ ისევ განიცდიან დასენიანებას. ამიტომ ვირუსისაგან თავისუფალ მცენარეთა ჯიშების ფართო მასშტაბით დანერგვისას აუცილებელია დასენიანების კერიდან მათი იზოლაცია და უვირუსო მცენარეებით მთლიანი ჯიშთაცვლის ჩატარება. 171-ე სურათზე მოტანილია ქ. სოჭის მერისტემული კულტურების საწარმოში (რუსეთი) დამუშავებული მიხაკის და სხვა ყვავილოვან კულტურათა უვირუსო მცენარეების წარმოების სქემა.

ციტრუსოვანი მცენარეების, ატმის, ვაშლის, მსხლის და სხვა გაჯანსაღებისათვის იყენებენ **მიკრომენობის მეთოდს**. ციტრუსოვნებისათვის ამ ტექნიკის გამოყენების აუცილებლობა განპირობებულია მცირე ზომის მერისტემის სუსტ ეფექტთან, უფრო უკეთესი შედეგები მიიღება ციტრუსოვანთა 0.14-0.18 მმ ზომის აპიკალური მერისტემის, თესლიდან მიღებულ სინჯარულ საძირეზე მენობის დროს. აღნიშნული მეთოდი მოიცავს რამდენიმე ეტაპს: საძირე მასალის მომზადება, სანამყენე მასალის მომზადება, მიკრომენობა, დამყნობი მცენარეების **in vitro** პირობებში გამოზრდა, მიკროდამყნობი მცენარეების ნიადაგში გადარგვა, მიღებული მცენარეების ტესტირება ვირუსების არსებობაზე.

ლ. შენგელია და რ. ბუტენკოს (Л. Шенгелия, Р. Бутенко) მიხედვით იგი ტარდება შემდეგნაირად (სურ. 172): საძირე მცენარე-ტრიფოლიატას ნაყოფებს ზედაპირულად ასტერილებენ ეთანოლით და გამოწვით, რის შემდეგ მათგან სტერილურ პირობებში გამოყოფენ თესლებს. დაზიანებული ნაყოფების შემთხვევაში მათგან ამოღებულ თესლებს ასტერილებენ ქლორამინის 10%-იან ხსნარში 15-20 წუთით ან ლიაციდის 0.2%-იან ხსნარში 10-12 წუთით ჩაშვების გზით, შემდეგ სამჯერ რეცხავენ დისტილირებული წყლით. თესლების სწრაფი გაღივებისათვის მათ საკვებ არეზე მოთავსების წინ ან მთლიანად აცილებენ კანს ან აჭრიან თესლის ქალაძურ ნაწილს. თესლის გაღივებისათვის იყენებენ მურასიგე-სკუვის საკვები არის 0.5 ნორმას, რომელსაც უმატებენ 3%-იან საქაროზას და 0.8-1%-იან აგარს. ავტოკლავირებაზე საკვები არის pH დაჰყავთ 5.7-მდე 1N KOH-ით. ყოველ სინჯარაში ათავსებენ თითო თესლს, რის შემდეგ სინჯარები რჩება ბნელ კამერაში 25°C ტემპერატურისა და 70%-იანი ჰაერის შეფარდებითი ტენიანობის პირობებში. მენობისათვის იყენებენ საძირის 2 კვირიან ნათესარს. ასეპტიკურ პირობებში თესლიდან აღმოცენებული მცენარე გამოაქვთ სინჯარიდან, აცილებენ ყლორტის ზედა ნაწილს, ტოვებენ ლეზნისზედა მუხლის 1-1.5 სმ სიგრძის მონაკვეთს, ამოკლებენ ფესვებს 4-6 სმ-მდე, აცილებენ ლეზნების ფოთლებს და იდლიურ კვირ-



სურ. 172. ციტრუსოვან მცენარეთა მიკრომცენობის მეთოდის სქემა

(ა - საჩიურე მასალის მომზადება: 1 - მსხმოიარე მცენარეებიდან ახალგაზრდა ყლორტების აღება, 2 - აპიკალური მერისტემის სტერილიზაცია, 3 - ლუბის ქვეშ აპიკალური მერისტემის გამოყოფა; ბ - საძირე მასალის მომზადება: 4 - საძირის ნათესარეების სტერილური აღება, 5 - ნათესარის დანაწევრება საძირედ და კალმებად, 6 - საძირის მომზადება მიკრომცენობისათვის, 7 - საძირის ღეროს კალმის დამუშავება იმ-ს ხსნარში და შემდგომი მომზადება მიკრომცენობისათვის; გ - 8 - მიკრომცენობა; დ - 9 - მიკროდამცენილი საძირე თხევად საკვებ არეში, 10 - ნამყენი მცენარის განვითარება; ე - 11 - საძირის ღეროს კალამი ნამყენით 0.6 %-იანი აგარის არეზე, 12 - ნამყენის განვითარება; ზ - 13 - მიკროდამცენილი მცენარის გადატანა ნიადაგში, 14 - მიკროდამცენილი მცენარის შემდგომი განვითარება)

ტებს. ტექნიკურად მიკრომცენობას ატარებენ “გადაბრუნებული T-ს” მეთოდით. ლეზნისზედა მუხლზე გადანაჭერიდან ქვემოთ ღეროს გასწვრივ კეთდება დაახლოებით 1 მმ სიგრძის ვერტიკალური ჭრილი, ჰორიზონტალურ ჭრილს ასევე აქვს დაახლოებით 1 მმ სიგანე. ჭრილი კეთდება ქერქში კორტიკალური (კანი, საფევი, ლაფანი) შრის გავლით კამბიუმამდე. ჭრილის “სარტყლები” რამდენადმე ამოწეულია, რითაც გაშიშვლებულია კორტიკალური ზედაპირი. ასეთი სახით საძირე მზადდაა მცენობის ჩასატარებლად. მიკრომცენობისათვის იყენებენ ასევე საძირის ნათესარებიდან მოჭრილ კალმებსაც. 2 სმ სიგრძის ასეთ კალმებს 24 საათის განმავლობაში ათავსებენ 10 მგ.დ⁻¹ იმ-ს შემცველ ხსნარში და მეორე დღეს მათზე ახდენენ მიკრომცენობას. საჩიურედ იყენებენ 3-5 სმ სიგრძის ახალგაზრდა ყლორტებს. მათ აცილებენ დიდი ზომის ფოთლებს, ამოკლებენ 1-1.5 სმ-მდე და ზედაპირულად ასტერილებენ 6-8 წთ 10%-იან ქლორამინის ხსნარში ან 3-4 წთ

0.2%-იან დიაციდის ხსნარში მოთავსებით, სტერილიზაციის შემდეგ მათ რეცხავენ ავტოკლავირებული დისტილირებული წყლით. ახალგაზრდა ფოთლებს და ფოთლის ჩანასახებს აცილებენ პრეპარირებული ნემსების საშუალებით, რის შემდეგ ბინოკულარული ლუპის ქვეშ 32-ჯერადი გადიდებისას გამოპყოფენ 0.14-0.18 მმ სიგრძის ყლორტის წვეროს, რომელიც შედგება აპიკალური მერისტემისა და 2-3 ფოთლის პრიმორდიუმისაგან. მიკრომყნობა ტარდება ბინოკულარული ლუპის ქვეშ 32-ჯერადი გადიდებისას. სანამყენეს ყლორტის წვეროს საძირის ტრილში ათავსებენ ისეთნაირად, რომ სანამყენეს ბაზალური ნაწილი ეხებოდეს საძირის კორტიკალურ ზედაპირს. შემდეგ სანამყენეს მჭიდროდ “მიამაგრებენ” საძირეს ქერქის “სარტყლების” მიჭერით. ყველა ჩამოთვლილი სამუშაო ტარდება მკაცრი სტერილურობის დაცვით, რათა აცილებულ იქნას სანამყენე მასალის დასენიანება პათოგენური მიკროორგანიზმებით. მიკროდამყნილ მცენარეებს ზრდიან სინჯარებში მურასიგე-სკუგის ხელოვნურ საკვებ არეში შემდეგი ნივთიერებების (მგ/ლ⁻¹) დამატებით: საქაროზა – 75.10³, თიამინი-HCl – 0.5, პირიდოქსინი HCl – 0.1, ნიკოტინის მჟავა – 0.5, მეზონიოზიტი – 100. საძირეზე დამყნილ მცენარეებს ზრდიან თხევად საკვებ არეში ფიტტრის ხიდებზე, ხოლო საძირის ღეროს კალმებზე დამყნილებს – 0.6% აგარ-აგარიან საკვებ არეზე. მიკროდამყნილ მცენარეებიან სინჯარებს ათავსებენ ფიტოტრონის კამერაში 25°C მუდმივი ტემპერატურისა და 16-საათიანი განათების პირობებში. განათების ინტენსიობა 1000-1500 ლუქსია, ჰაერის შეფარდებითი ტენიანობა – 70%. 4-6 კვირის შემდეგ, როცა მცენარეს ექნება ორი კარგად განვითარებული ფოთოლი, მას გადარგავენ ქოთნებში, რომლებშიც მოთავსებულია ორთქლით სტერილიზებული ტორფის, ქვიშის და მაკრო- და მიკროელემენტების შემცველი ნიადაგის ნარევი. გადარგვის წინ მცენარეს აწრობენ 1 კვირის განმავლობაში განათების უფრო მაღალი ინტენსიობის – 10000-12000 ლუქსი პირობებში მოთავსებით. ტენის დანაკარგების შემცირებისათვის ქოთნებს 1 კვირის განმავლობაში ხურავენ მინის ჭიქებით, რის შემდეგ ჭიქებს წამოსწევენ, ხოლო კიდევ 1 კვირის შემდეგ აცილებენ. მცენარეები აგრძელებენ ზრდას სათბურის სტანდარტულ პირობებში. აღნიშნული მეთოდით შესაძლებელია 33-45%* გახარებული ნამყენის მიღება, რომლის 90% ადვილად ეგუება ნიადაგში გადარგვას.

მიკრომყნობის მეთოდით მიღებული ციტრუსოვანი მცენარეები თავისუფალია ვირუსებისაგან, ისინი მოკლებულია იუვენილურ ნიშნებს, ჩქარდება მათი ყვავილობა და ნაყოფმსხმოიარობა – ყვავილობას იწყებენ მყნობიდან ერთი წლის შემდეგ, ხოლო 4-5 წლის შემდეგ აქტიურად მსხმოიარობენ. ციტრუსოვნებში გავრცელებული შვიდი ვი-

* ზოგიერთ ექსპერიმენტებში 65%-მდე.

რუსიდან ხუთისათვის – გაჯანსაღება აღწევს 100%, ხოლო ორისათვის – 80-98%. ამჟამად ტარდება კვლევები მიკრომენობის ტექნიკის სრულყოფისათვის.

მცენარეთა კომერციული მიკროგამრავლება, სარგავი მასალის მიწოდების მხრივ, სწრაფად მზარდი წარმოება ხდება. ამჟამად კლონური მიკროგამრავლების ტექნოლოგია ლაბორატორიულ დონეზე მსოფლიოში დამუშავებულია მცენარეთა 300-ზე მეტი სახეობისათვის. მე-20 ცხრილში მოტანილია იმ სამეურნეო-მედიკალური მცენარეების

სამეურნეო-მედიკალური მცენარეების მიკროგამრავლება

ცხრილი 20

მცენარეთა ჯგუფები	დეკორატიული	ხეხილ-განი	ტყის	პარკო-სნები	ბოსტნეული	სამეურნეო
ოჯახები	29	18	14	8	21	19
სახეობები	88	65	47	54	51	29

ოჯახებისა და სახეობების რაოდენობრივი მონაცემები, რომლებისთვისაც დამუშავებულია მიკროგამრავლების ტექნოლოგია. მაგრამ კომერციული ლაბორატორიები ჯერჯერობით მსოფლიოში მცირეა. მსოფლიო ბაზრის მოთხოვნილება ამ ლაბორატორიებით დაკმაყოფილებულია 25-35%-ით. ჯერ კიდევ ბევრია შრომატევადი სამუშაოები და მაღალი დანახარჯები. მომავალში აუცილებელია ყველა პროცესის ავტომატიზაცია და შრომატევადი პროცედურების რობოტიზაცია, in vitro-ში დაფესვიანების უარყოფა, ex vitro (“სინჯარის შემდეგ”) ჰიდრო- და აეროპონიკის ტექნიკის ჩართვა და სხვა.

4.9. სომაკლონური ვარიანტების გამოყენება

იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურის პრაქტიკული მნიშვნელობის ერთ-ერთ ძირითად მაჩვენებელს წარმოადგენს მათი გამოყენება მცენარეთა სელექციაში.

ადამიანისათვის აუცილებელი კვების პროდუქტების წარმოების დონის ამაღლების არატრადიციული ტექნოლოგიების სოფლის მეურნეობაში დანერგვის აუცილებლობა, უკანასკნელ წლებში სულ უფრო მეტი სიმწვავეთ იგრძნობა. სელექციურ პროცესში ძალიან დიდი პერსპექტივები გააჩნია მცენარეთა უჯრედული ინჟინერიის ტექნოლოგიებს. მცენარეთა სელექციაში ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მიმართულებას წარმოადგენს **უჯრედული სელექცია, რომლის დროსაც ახალი მემკვიდრული ნიშნების მატარებელ მცენარეთა გამორჩევა ხდება in vitro კულტივირებადი უჯრედების დონეზე სელექტიური სისტემების (სელექტიური არეების)* საშუალებით.**

დღეისათვის სელექციაში დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობის მქონე, გენეტიკურად მრავალფეროვანი ფორმების მიღების საინტერესო წყაროს წარმოადგენს **სომაკლონური ვარიანტები.**

სომაკლონური ვარიანტები – არის უჯრედული კულტურიდან რეგენერირებული მცენარე-რეგენერანტები, რომლებისთვისაც დამახასიათებელია სომაკლონური ცვალებადობა.**

სომაკლონური ცვალებადობა – არის უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში უჯრედების მიერ არაორგანიზებული ზრდის სტადიის გაგლის პროცესში წარმოშობილი გენეტიკური ცვალებადობა.

რ. ბუტენკოს (Р. Бутенко) განმარტებით, სომაკლონური ვარიანტები – არის მცენარის უჯრედების ბირთვული და ორგანელური გენომების ცვალებადობის ფენოტიპური გამოხატულება.

დიდი ხნის განმავლობაში მიაჩნდათ, რომ in vitro კულტივირებადი მცენარის უჯრედები წარმოადგენენ გენეტიკურად სტაბილურს – მკაცრად ერთგვაროვანს. მაგრამ დადგენილ იქნა, რომ კალუსურ, სუსპენზიურ და პროტოპლასტურ უჯრედებს აქვთ გამოხატული **გენეტიკური ჰეტეროგენურობა (არასტაბილურობა)**, რაც მათი უჯრედულ სელექციაში გამოყენების საფუძველი გახდა.

კულტივირებადი უჯრედების გენეტიკური არასტაბილურობის და მაშასადამე, სომაკლონური ვარიანტების წარმოშობის ძირითად მი-

* **სელექტიური სისტემა (სელექტიური არე) – არის გარკვეული ტიპის ცვალებადობის გამორჩევის ხელშეწყობი პირობა.**

** **მცენარე-რეგენერანტებს, რეგენერირებულს უჯრედული კულტურებიდან ავსტრალიელი მეცნიერების პ. ლარკინისა (P. Larkin) და გ. სკოუკროფტის (W. Scowcroft) წინადადებით (1981 წ.) ეწოდება სომაკლონები.**

ზეზს წარმოადგენენ:

1. საწყისი ექსპლანტატის სომატური უჯრედების გენეტიკური ჰეტეროგენურობა. ბევრ მცენარეში დიფერენცირებული ქსოვილები ხასიათდებიან სხვადასხვა პლოიდობის უჯრედების არსებობით და მხოლოდ მცენარის ონთოგენეზში აქტიურად პროლიფირებადი უჯრედები, ისეთები როგორიცაა, კენწრული მერისტემები, კამბიუმი და სხვა, რჩებიან ყოველთვის დიპლოიდური.

2. ხანგრძლივი პასირების შედეგად უჯრედულ კულტურებში გენეტიკური ცვლილების დაგროვება.

3. მცენარის ქსოვილის იზოლირების და მათი საკვებ არეში მოთავსების დროს კორელაციური კავშირების დარღვევა.

4. კულტივირების პირობების გაგლეზა, სახელდობრ, ფიტოჰორმონების მუტაგენური მოქმედება. საკვები არის ეგზოგენური ფიტოჰორმონები არღვევენ კულტივირებადი უჯრედების ჰორმონალურ ბალანს. შედეგად იცვლება უჯრედის ციკლის, კერძოდ, მიტოზის კინეტიკა და ჩნდება ქრომოსომების საწყისი რიცხვისაგან განსხვავებული რიცხვის მქონე უჯრედები. ყველაზე უფრო აქტიური მუტაგენური ფიტოჰორმონები არიან 2,4-დ და კინეტინი. ანალოგიური ზემოქმედება კულტივირებად უჯრედებზე შეუძლიათ მოახდინონ საკვები არის სხვა კომპონენტებმაც: მინერალური ელემენტები, საქაროზა, ვიტამინები, ქოქოსის რძე და სხვა, აგრეთვე კულტივირების რეჟიმმაც.

სომაკლონური ცვალებადობის გენეტიკური ბუნება და წარმოშობის მექანიზმი ჯერჯერობით ნაკლებადაა ცნობილი. დღეისათვის წარმოდგენილია სომაკლონური ცვალებადობის წარმოშობის პროცესის ახსნის რამდენიმე მექანიზმი, მათ მიეკუთვნება: უხეში კარიოლოგიური დარღვევები (პოლიპლოიდია, ანეუპლოიდია); ქრომოსომული გარდაქმნები (ტრანსლოკაცია, დელეცია, ინვერსია, დუპლიკაცია); სომატური კროსინგოვერი, შვილეული ქრომატიდების გაცვლა; ციტოპლაზმონის (მიტოქონდრიონისა და პლასტომის) ცვალებადობა; გენების ამპლიფიკაცია (ანუ დოზის გადიდება) და რედუქცია; მობილური გენეტიკური ელემენტების გადაადგილება; ადრე რეპრესირებული გენების აქტივაცია.

პირველად სომაკლონური ვარიანტი მიღებულ იქნა რუსი მეცნიერების **ნ. ზაგორსკასა (Н. Загорска)** და **ლ. შამინას (Л. Шаминна)** მიერ 1970 წელს თამბაქოში. მაგრამ სომაკლონური ვარიანტების მიღების შესაძლებლობებზე საყოველთაო ინტერესი გაჩნდა გაცილებით გვიან – ავსტრალიელი მეცნიერების **პ. ლარკინის (P.Larkin), ვ. სკოუკროფტის (W. Skowcroft)** და სხვა მიერ 1984 წელს სომაკლონურ ცვალებადობაზე, როგორც გენეტიკური მრავალფეროვნების წყაროზე მცენარეთა ახალი ფორმების შექმნაში, შრომის გამოქვეყნების შემდეგ.

ნამდვილი გენური მუტაციებისაგან სომაკლონური ვარიანტები განსხვავდებიან მაღალი სიხშირითა (სამი რიგით მაღალი) და ცვა-

ლებადობის კომპლექსურობით. მათში ძალიან ფართოა ცვალებადობის სპექტრი – ჩნდებიან ცვალებადობები სხვადასხვა ბიოქიმიური, მორფოლოგიური, სამეურნეო, ხარისხობრივი, ციტოგენეტიკური ნიშნებით. უდავოა, რომ ყველა ცვალებადობების რეალიზება არ ხდება – ზოგიერთი მათგანი ონთოგენეზის პროცესში თანდათან ქრება. მაგრამ სომაკლონურ ვარიანტებში გამოვლენილი ცვალებადობების უმეტესობა წარმოადგენს უნიკალურს. ასეთი ცვალებადობები დღეისათვის არ შეიძლება მიღებულ იქნას არც ერთი სხვა გზით.

სომაკლონური ვარიანტები საწყისისაგან განსხვავდებიან არა მარტო მონოგენური და თვისობრივი ნიშნებით, არამედ პოლიგენური და რაოდენობრივი ნიშნებითაც, ისეთებით, როგორიცაა, ზრდის ინტენსივობა, პროდუქტიულობა, გარემოს არახელსაყრელი ფაქტორებისადმი გამძლეობა და სხვა. ზოგჯერ მათში ჩნდება ნიშან-თვისებების ისეთი შეთავსება, რომელთა გაერთიანება ერთ გენოტიპში შეუძლებელია ან ძალიან ძნელია ტრადიციული სელექციური მეთოდებით. მაგალითად, რუსეთში მიღებულ იქნა ბრინჯის ახალი ჯიში, რომელშიც შეთავსებულია ადრემწიფადობა და გრძელმარცვლიანობა, ხოლო ჩინეთში – ბრინჯის ჯიში, რომელშიც შეთავსებულია ადრემწიფადობა და დაბალი ტემპერატურისადმი გამძლეობა.

დღეისათვის მიღებულია დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობის მქონე ძვირფასი სამეურნეო ნიშნების მატარებელი მრავალი სასოფლო-სამეურნეო მცენარის მრავალრიცხოვანი სომაკლონური ვარიანტები. ასე, მიღებულია სომაკლონური ვარიანტები: კარტოფილში – ალტერნარიისადმი და ფიტოპტორის სხვადასხვა რასისადმი გამძლე, მაღალი ფერტილურობისა და მოსავლიანობის, ცილების მაღალი შემცველობის და სხვა; შაქრის ღერწაშში – ვირუსი fiji-ს, სკრელოსპორისა და ნაცრისადმი გამძლე, მაღალი მოსავლიანობის, შაქრების გადიდებული შემცველობის, გვალვავარგამძლე და სხვა; ბრინჯში – პიკულიარიზისადმი გამძლე, ადრემწიფადი და გრძელმარცვლიანი; თამბაქოში – თამბაქოს მოზაიკის ვირუსისადმი გამძლე; ხორბალში და ქერში – შაქრებისა და ცილების გადიდებული შემცველობის და ა.შ.

სომაკლონური ვარიანტები ხელს უწყობენ სელექციური პროცესის ციკლის შემცირებას. ამერიკელი მეცნიერების **მ. ევანსის (M. Evans), 5. შარპის (N. Sharp)** და სხვა მონაცემებით სომაკლონური ვარიანტების გამოყენება 2-ჯერ აჩქარებს ახალი ჯიშების მიღების პროცესს თესლით მრავლებად სასოფლო-სამეურნეო მცენარეებში.

სამუშაოები სომაკლონური ვარიანტების გამოყენებაში ტარდება მსოფლიოს მრავალ სამეცნიერო დაწესებულებაში სხვადასხვა მცენარეების გამოყენებით.

დღეისათვის მიღებულია სომაკლონური ვარიანტების და მათი თაობების შემდეგი აღნიშვნები: **R** ან **Ro** – აღინიშნება მცენარე-რეგენერანტები; **R₁**, **R₂** და ა.შ. – მცენარე-რეგენერანტების თვითაღამ-

ტვერის შემდეგ პირველი, მეორე და შემდგომი თაობა. ზოგჯერ იყენებენ შემდეგ აღნიშვნებს: **SC₁** (სომაკლონი) – მცენარე-რეგენერატი; **SC₂, SC₃** და ა.შ. – თვითდამტვერვის შემდეგ პირველი და შემდგომი თაობა.

4.10. ინდუცირებული მუტანტების მიღება

უჯრედულ სელექციაში გენეტიკური მრავალფეროვნების მისაღებად სომაკლონური ვარიანტების გარდა ფართო გავრცელება მოიპოვა ინდუცირებულმა* მუტანტებმა.

ინდუცირებული მუტანტები – არის ხელოვნური მუტაციის შედეგად მიღებული, შეცვლილი მემკვიდრული ნიშნების მქონე ორგანიზმები.

ხელოვნური მუტაცია – არის მუტაგენური ფაქტორებით ანუ მუტაგენებით** დამუშავების შედეგად უჯრედის გენეტიკურ მასალაში უცერად წარმოშობილი მემკვიდრული ცვალებადობა.

ხელოვნური მუტაციის წარმოშობის პროცესს ინდუცირებული მუტაგენები ეწოდება.

ინდუცირებული მუტანტების უჯრედულ სელექციაში გამოყენება დაწყებულ იქნა არც ისე დიდი ხნის წინათ. უჯრედულ სელექციაში აღნიშნული ხერხის ეფექტურობის დამაჯერებელ დადასტურებას წარმოადგენს 1973-1975 წლებში პ. მალიგასა და მისი თანამშრომლების (P. Maliga et al) კლასიკური შრომები კალუსური ქსოვილის კულტურის გზით თამბაქოს სტრეპტომიცინგამძლე მცენარეების მიღებაში.

ინდუცირებული მუტანტების მიღებისათვის აუცილებელია:

1. ინდუცირებული მუტაგენებისათვის ობიექტის შერჩევა;
2. ობიექტის დამუშავება მუტაგენური ფაქტორებით ანუ მუტაგენებით;

3. სელექტიური სისტემების (სელექტიური არეების) შემუშავება;
4. დამუშავებული ობიექტების კულტივირება სელექტიურ სისტემაზე (სელექტიურ არეზე) და ინდუცირებული მუტანტების გამოჩენა;
5. ცვალებადობის გენეტიკური ბუნების დასაბუთება.

ინდუცირებული მუტაგენების ობიექტად ყველაზე მეტად იყენებენ კალუსურ და სუსპენზიურ კულტურებს, იზოლირებულ პროტოპლასტებს. ობიექტის შერჩევა დამოკიდებულია ამა თუ იმ მცენარისათვის დამუშავებული ტექნოლოგიების არსებობაზე და კვლევის საბოლოო მიზნებზე.

კალუსური ქსოვილი წარმოადგენს შედარებით ადვილად მისაწვდომ მასალას. როგორც წესი, მას იყენებენ ახალგამოყოფილ ან პასირებადს, რომელსაც არა აქვს დაკარგული რეგენერაციის უნარი. კალუსურ კულტურებს, როგორც ობიექტს ინდუცირებული მუტაგენებისათვის, გარკვეულ უპირატესობასთან ერთად გააჩნია არსებითი ნაკლოვანებებიც. მათთვის დამახასიათებელია შედარებით ნელი ზრდა, გენეტიკური არასტაბილურობა და რეგენერაციის უნარის და-

* სიტყვა “ინდუცირებულის” სინონიმებია – “ხელოვნური” და “ექსპერიმენტული.”

* მუტაგენური ფაქტორები ანუ მუტაგენები – არის მუტაციის გამომწვევი ქიმიური და ფიზიკური ფაქტორები.

კარგვა, მუტაგენებისა (განსაკუთრებით ქიმიური მუტაგენები) და სელექტიური არეების ტოქსიკური ნივთიერებების მოქმედების არატოლფასოვანი ეფექტი ყველა უჯრედისათვის და ა.შ. სუსპენზიურ კულტურებს ასევე გააჩნიათ გარკვეული ნაკლოვანებები, რაც დაკავშირებულია მათ მაღალ აგრეგირებასთან, რომელიც ამცირებს ცალკეული უჯრედების რიცხვს და შესაბამისად – მუტაგენების მოქმედების ეფექტს. დღეისათვის საუკეთესო ობიექტს წარმოადგენს იზოლირებული პროტოპლასტები. ისინი გენეტიკურად და ფიზიოლოგიურად შედარებით ერთგვაროვანი პოპულაციაა, მაღალი რეპროდუქციული უნარით.

გარდა აღნიშნული ობიექტებისა პრაქტიკაში იყენებენ აგრეთვე სხვა ობიექტებსაც: იზოლირებული მტვერი, თესვები, ჩანასახები, ფოთლების სეგმენტები, მერისტემული და ღეროსეული ქსოვილები და ა.შ.

ბუნებრივ პირობებში მუტაციური ცვალებადობის სიხშირე მცენარის უჯრედებში ძალიან დაბალია და შეადგენს 10^{-5} - 10^{-8} მისი გადიდებისათვის ხელოვნურ პირობებში, ე.ი. ექსპერიმენტებში იყენებენ ინდუცირებულ მუტაგენებს – აწარმოებენ ობიექტის უჯრედების დამუშავებას სხვადასხვა მუტაგენური ფაქტორებით ანუ მუტაგენებით.

ფართოდაა გავრცელებული უნივერსალური ფიზიკური და ქიმიური მუტაგენური ფაქტორების გამოყენება, რომლებსაც გააჩნიათ უჯრედის გენომზე ზემოქმედების ფართო სპექტრი. უნივერსალურ ფიზიკურ ფაქტორებს მიეკუთვნება ულტრაიისფერი სხივები, მაიონიზირებული გამოსხივება (რენტგენის სხივები, γ -სხივები), სწრაფი ელექტრონების, პოზიტრონების, პროტონების, α -ნაწილაკების, ნეიტრონების ტიპის კორპუსკულარული გამოსხივება, აგრეთვე ულტრაბერა. აღნიშნული მუტაგენური ფაქტორები ან უშუალოდ აზიანებენ დნმ-ს მოლეკულას, ან იწვევენ დესტრუქციულ პროცესებს დნმ-ის მოლეკულაში, რომელიც წარმოიქმნება ამ დროს წარმოშობილი თავისუფალი რადიკალების ზემოქმედებით. ქიმიურ ფაქტორებს მიეკუთვნება სხვადასხვა ქიმიური ორგანული და არაორგანული შენაერთები: ნუკლეინის მჟავების შედგენილობაში შემავალი აზოტოვანი ფუძეების ინჰიბიტორები (კოფეინი, ეთილურეტანი, თეობრომინი, აზაგუანინი, აზასერინი და სხვა), ნუკლეინის მჟავებში ჩართული აზოტოვანი ფუძეების ანალოგები (5-ბრომურაცილი, 5-ქლორურაცილი, 2-ამინოპურინი და სხვა), აღკვირებადი შენაერთები (დიმეთილსულფატი-დმს, დიეთილსულფატი-დეს, ნიტროზოეთილშარდოვანა-ნეშ, ნიტროზომეთილშარდოვანა-ნმშ, იპრიტი, ფენოლი და სხვა), მჟანგავები, აღმდგენელები და თავისუფალი რადიკალები (აზოტისმჟავა, ზეჟანგები, ალდეჰიდები, მძიმე ლითონების მარილები, ჟანგბადი და სხვა) და აკრიდინული საღებავები. ეს ნივთიერებები თრგუნავენ ცალკეული ნუკლეოტიდების სინთეზს, წყვეტენ დნმ-ს ძაფს, იწვევენ ნუკლეინის მჟავების დეზამი-

ნირებას და ა.შ., რის შედეგადაც უჯრედში წარმოიშობა მუტაციური ცვალებადობა.

ინდუცირებული მუტაციის მაქსიმალური სიხშირე მიიღწევა მუტაგენური ფაქტორის ოპტიმალური დოზის დროს. ფიზიკური მუტაგენის ზემოქმედების დოზები გამოისახება რადიაციის ტიპის შესაბამისი გამოსხივების ერთეულებში (რენტგენი, რადი და ა.შ.), ხოლო ქიმიური მუტაგენის ზემოქმედების დოზა – გარკვეულ ტემპერატურაზე მუტაგენის კონცენტრაციასა და ექსპოზიციაში. მუტაგენის დოზის შერჩევისას ორიენტირებას აკეთებენ დასამუშავებელი ობიექტის უჯრედების გადარჩენის უნარიანობაზე, რომელიც დამოკიდებულია როგორც მუტაგენის დოზაზე, ისე მოცემული უჯრედის მუტაგენის ლეტალური ეფექტისადმი მგრძნობიარობაზე. როგორც წესი, სელექციურ მუშაობაში იყენებენ ისეთ დოზებს, რომლებიც უზრუნველყოფენ უჯრედების გადარჩენას 0.1-დან 50-80%-მდე ღიაპაზონში.

მუტაგენურ ფაქტორებთან მუშაობისას აუცილებელია გარკვეული პირობების დაცვა: ზემოქმედების ქვეშ მყოფი ბიოლოგიური მასალა უნდა იყოს დისკრეტული ანუ შემდგარი ცალკეული ნაწილებისაგან (უჯრედებისაგან); უჯრედული სუსპენზია შეძლებისდაგვარად უნდა იყოს მოკლებული კოშტებს-კონგლომერატებს, რადგანაც კონგლომერატის ნებისმიერი უჯრედის ინდუცირებული მუტაცია შეიძლება მოდიანად დაიკარგოს მისი საკვებ არეში კულტივირებისას; ქიმიური მუტაგენებით დამუშავება უნდა ჩატარდეს ბუფერულ ხსნარებში, მოცემული მუტაგენისათვის pH-ის ყველაზე ოპტიმალურ პირობებში; ქიმიური მუტაგენებით დამუშავების შემდეგ კულტივირებამდე ბიოლოგიური მასალა უნდა გაირეცხოს სტერილური წყლით ან ახალი საკვები არით.

ინდუცირებული მუტანტების გამოყოფისათვის იყენებენ სელექტიურ სისტემებს (სელექტიურ არეებს). მათი დამუშავება საშუალებას იძლევა შეიქმნას ისეთი ხელოვნური პირობები, რომელშიც ვლინდება არა საერთოდ შეცვლილი მუტანტები, არამედ მუტანტები, რომლებსაც გააჩნია გარკვეული მიმართულების ცვალებადობები. დღეისათვის დამუშავებულია სელექტიური სისტემები, რომლებიც საშუალებას იძლევა გამოვლინდეს ანტიბიოტიკებისადმი, ჰერბიციდებისადმი, ამინომჟავებისა და მათი ანალოგებისადმი, ნუკლეინის მჟავების სინთეზის ინჰიბიტორებისადმი, სტრესული ფაქტორებისადმი და სხვა გამძლე მუტანტები.

ობიექტების მუტაგენური ფაქტორებით დამუშავების შემდეგ, მიმართავენ მათ კულტივირებას სელექტიურ სისტემაზე (სელექტიურ არეზე) და აწარმოებენ ინდუცირებული მუტანტების გამორჩევას.

ბიოლოგიური ობიექტების კულტივირებას სელექტიურ სისტემაზე (სელექტიურ არეზე) ახდენენ შემდეგი მეთოდით: 1) ობიექტიდან ცალკეული უჯრედების გამოყოფა და მათი გამოზრდა მიკროკამერა-

ში ან მიკროწვეთში, 2) ობიექტის ყველა უჯრედის მასობრივი თესვა საკვებ არეში.

ინდუცირებული მუტანტების გამორჩევისათვის არსებობს შემდეგი ხერხები:

1. პირდაპირი (პოზიტიური) სელექცია, რომლის დროსაც სელექტიურ სისტემაში გადარჩება უჯრედების მხოლოდ გარკვეული საძებნი მუტანტური ტიპი. პირდაპირ სელექციას იყენებენ მარილებისადმი, პერბიციდებისადმი, ანტიბიოტიკებისა და მათი ანალოგებისადმი, სოკოების ტოქსინებისადმი და სხვა გამძლე მუტანტების მისაღებად. მუტანტების პირდაპირი სელექციის პრინციპული სქემა მდგომარეობს შემდეგში: ა) ობიექტის მიღება და მისი დამუშავება მუტაგენით; ბ) ობიექტის კულტივირება სლექტიურ არეზე – საძებნი მუტანტური უჯრედების გამორჩევა; გ) მუტანტური უჯრედების კულტივირება სარეგენერაციო საკვებ არეში.

2. არაპირდაპირი (ნეგატიური) სელექცია, რომლის დროსაც იქმნება პირობა, სადაც შერჩევით იღუპება ველური ტიპის დაყოფის ფაზაში მყოფი უჯრედები და გადარჩება მეტაბოლურად არააქტიური მუტანტური უჯრედები. ეს ხერხი ეფექტურია პირობითად ლეტალური მუტანტების – აუქსოტროფული* და ტემპერატურაგამძლე მუტანტების გამორჩევისათვის. ველური ტიპის უჯრედების შერჩევითი დაღუპვისათვის ყველაზე მეტად იყენებენ ნუკლეინის მჟავების ანალოგებს (5-ბრომდეზოქსიურედანი, 5-ფტორდეზოქსიურედანი), ამინომჟავების ანალოგებს (ფტორფენილალანინი) და ისეთ ტოქსიკურ ნივთიერებებს როგორიცაა ნატრიუმის არსენატი. გადარჩენილი მუტანტური უჯრედების კულტივირებას შემდეგ ახდენენ ამინომჟავებით, ვიტამინებით, ექსტრაქტებით და სხვ. გამდიდრებულ საკვებ არეებზე, სადაც ისინი მრავლდებიან.

მუტანტური უჯრედების გამორჩევა ჯერ კიდევ არ წარმოადგენს ინდუცირებული მუტანტების მიღების სამუშაოს დასასრულს. აუცილებელია კიდევ სომატური უჯრედების დონეზე მიღებული ცვალებადობის გენეტიკური ბუნების დამატებითი დასაბუთება. ამისათვის არსებობს რიგი კრიტერიუმები.

ინდუცირებული მუტაგენების ეფექტურობის შეფასებისათვის ხშირად იყენებენ მუტაციის სასარგებლო სიხშირეს, რომელსაც საზღვრავენ მიღებული მუტანტების რაოდენობის შეფარდებით კულტივირებული უჯრედების საერთო რაოდენობასთან.

დღეისათვის უჯრედულ სელექციაში მიღებულია მრავალრიცხოვანი მეცნიერული და პრაქტიკული მნიშვნელობის ინდუცირებული მუტანტები: ამინომჟავებისა და მათი ანალოგებისადმი გამძლე (სიმინდი, ქერი, ბრინჯი, თამბაქო, პეტუნია და სხვა); პერბიციდებისადმი

* **აუქსოტროფული მუტანტები** – მუტანტები, რომლებიც საჭიროებენ საკვები არის დამატებით კომპონენტებს მათი სინთეზის უნარის დაკარგვის გამო.

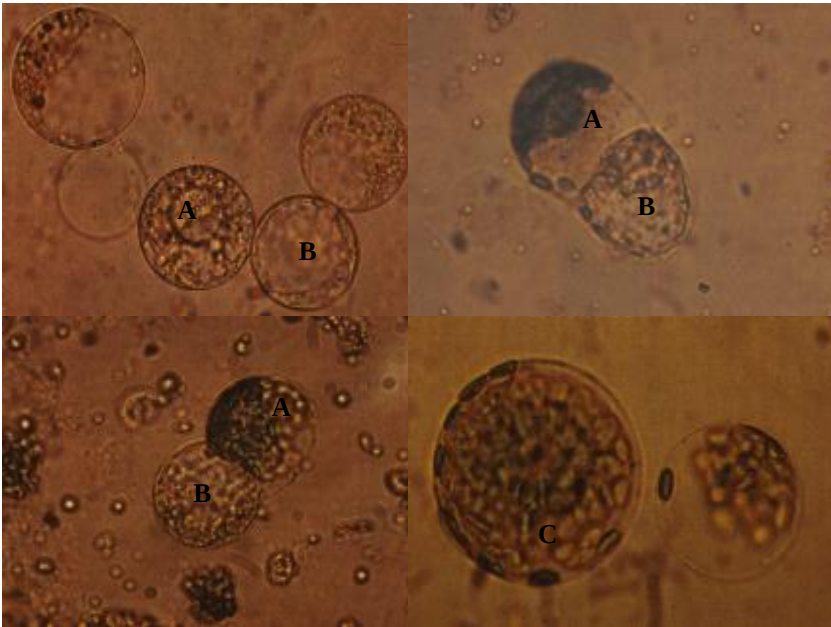
გამძლე (ფორთოხალი, იონჯა, თამბაქო, პომიდორი, სოია, სტაფილო, და სხვა); დამლაშებისადმი გამძლე (თამბაქო, ლემა, ბრინჯი, იონჯა და სხვა); გვალვამძლე (თამბაქო, პომიდორი, სოია და სხვა); დაავადებებისადმი გამძლე (კარტოფილი, თამბაქო, ბრინჯი, სიმინდი და სხვა) და ა.შ.

4.11. სომატური ჰიბრიდიზაცია

4.11.1. სომატური ჰიბრიდიზაციის მნიშვნელობა

სომატური ჰიბრიდიზაცია ეწოდება ჰიბრიდიზაციას, რომლის დროსაც მშობელთა წვეილებად იყენებენ არა სასქესო უჯრედებს (გამეტებს), არამედ გარსმოცილებულ სომატურ უჯრედებს ანუ იზოლირებულ პროტოპლასტებს.

სომატური ჰიბრიდიზაცია დაფუძნებულია პროტოპლასტების უნარზე, მოკლე დროის განმავლობაში სანამ უჯრედის გარსს წარმოქმნიდნენ, შეერწყან ერთმანეთს და წარმოქმნან ჰიბრიდული უჯრედები, შემდეგ კი – ჰიბრიდული მცენარეები (სურ. 173).



სურ. 173. ლობიოსა (A) და შაქრის ჭარხლის (B) პროტოპლასტების შერწყმისა და ჰიბრიდული უჯრედის (C) წარმოქმნის პროცესი

მცენარეებს, რომლებიც მიღებულია პროტოპლასტების შერწყმის გზით განხორციელებული სომატური ჰიბრიდიზაციის შედეგად, ეწოდება სომატური ჰიბრიდები.

ტერმინი “სომატური ჰიბრიდები” პირველად შემოღებულ იქნა გერმანელი მკვლევარის გეორგ მელხერსის (G. Melchers) მიერ 1978 წელს, როცა მან მიიღო სომატური ჰიბრიდები კარტოფილისა და პომიდორის პროტოპლასტების შერწყმის გზით.

ლიტერატურაში ზოგჯერ ხმარობენ აგრეთვე სხვა ტერმინ-სინონიმებს: “პარასექსუალური* ჰიბრიდიზაცია” (შემოიღო პ. კარლსონმა (P. Carlson et al) 1972 წელს), შესაბამისად – “პარასექსუალური ჰიბრიდები” და “არასქესობრივი ჰიბრიდიზაცია” (შემოიღო ი. გლეზამ (Yu. Cleba) 1979 წელს), შესაბამისად – “არასქესობრივი ჰიბრიდები.”

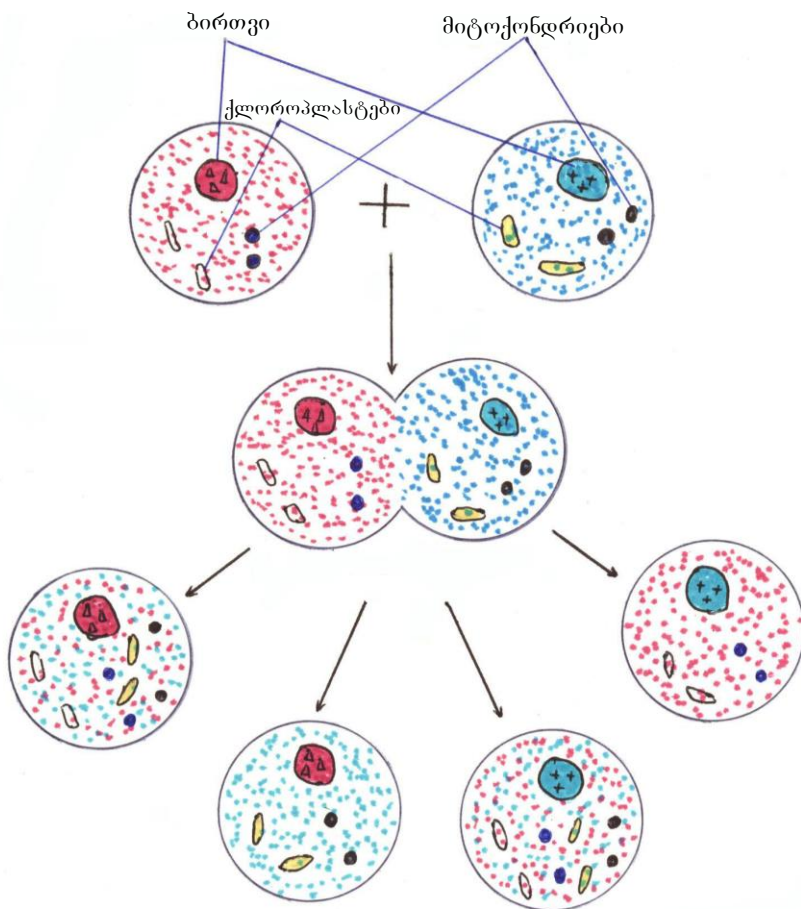
სომატური ჰიბრიდიზაციის აღსანიშნავად იყენებენ ნიშნებს: +, ან (X), ან $\otimes$, განსხვავებით ნიშნისა X, რომელსაც იყენებენ სქესობრივი ჰიბრიდიზაციის აღსანიშნავად. ამრიგად, მშობელთა ფორმების (შესაბამისად A და B) აღნიშვნისას სომატური ჰიბრიდები გამოისახება ფორმულით: (A+B), ან (A(x)B), ან (A $\otimes$ B), მაშინ როცა სქესობრივი ჰიბრიდები გამოისახება ფორმულით: (AxB).

ძირითადი განსხვავება სქესობრივ და სომატურ ჰიბრიდებს შორის მდგომარეობს იმაში, რომ სქესობრივი ჰიბრიდიზაციის დროს ადგილი აქვს მდედრობითი და მამრობითი ბირთვული გენომების შერწყმას და მხოლოდ მდედრობითი ციტოპლაზმონის (ქლოროპლასტური და მიტოქონდრიალური გენომების) არსებობას, სომატური ჰიბრიდიზაციის დროს – როგორც მდედრობითი და მამრობითი ბირთვული გენომების, ისე მდედრობითი და მამრობითი ციტოპლაზმონების შერწყმას. გარდა ამისა, სასქესო უჯრედებს როგორც წესი, ქრომოსომების ჰაპლოიდური რიცხვი აქვთ, ხოლო სომატურ უჯრედებს, თუ ისინი იზოლირებული არ არიან ჰაპლოიდური მცენარეებიდან – ქრომოსომების დიპლოიდური რიცხვი. ამიტომ სომატური ჰიბრიდები წარმოადგენენ ამფიდიპლოიდებს და არ საჭიროებენ ჰიბრიდების ფერტილიზაციის აღსადგენად ქრომოსომების რიცხვის ინდუცირებულ გაორმაგებას.

მცენარეების პროტოპლასტების შერწყმა, გარდა ჰიბრიდის წარმოქმნისა, იწვევს აგრეთვე ე.წ. ციბრიდის წარმოქმნას. ციბრიდი (“ციტოპლაზმური ჰიბრიდი”) – არის მცენარე, რომელიც შეიცავს ერთ-ერთი მშობლის ბირთვს და ან ორივე მშობლის, ან ალტერნატიული მშობლის ციტოპლაზმას (სურ. 174). ტერმინი შემოთავაზებულ იქნა ჯ. პაუერის (J.B. Power et al) მიერ 1975 წელს.

მცენარეთა სომატური ჰიბრიდიზაცია იზოლირებული პროტოპლასტების შერწყმის გზით წარმოადგენს სელექციისათვის გენეტიკური მრავალფეროვნების შექმნის მძლავრ ხერხს. ამ მეთოდის უპირატესობა მდგომარეობს იმაში, რომ ფართოვდება საჭირო გენების შორეულ ტაქსონომიურ მცენარეებში გადატანის შესაძლებლობა. იგი

* პარა [ბერძნ.] – ახლო, გვერდით.



სურ. 174. ციბრიდის მიღების სქემა

საშუალებას იძლევა გადაიღახოს ტაქსონომიურად შორეული სახეობების შეუჯვარებლობის ბუნებრივი ბარიერი. ეს განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია მაშინ, როცა შეუძლებელია სქესობრივი შეჯვარების ჩატარება, ხოლო უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურა, რომელიც ხელს უწყობს პროგამური და პოსტგამური შეუჯვარებლობის დაძლევას, საქმეს ვერ შევლის.

სომატური ჰიბრიდების მიღება შესაძლებელი გახდა იზოლირებული პროტოპლასტების შერწყმისა და მათი საკვები არეზე კულტი-

ვირების ხერხების დამუშავების შემდეგ. კულტივირების შემდეგ იზოლირებული პროტოპლასტები და მათი შერწყმის პროდუქტები წარმოქმნიან ახალ უჯრედულ გარსს, ახდენენ რიგ თანმიმდევრულ დაყოფებს და გარდაიქმნებიან კალუსური უჯრედების კოლონიად, შემდეგ ღეროს ან ემბრიონიდების ჩანასახად და ბოლოს – მცენარედ.

პირველი სომატური ჰიბრიდი მიღებულ იქნა **პ. კარლსონის (P. Carlson)** მიერ 1972 წელს თამბაქოს ორი სახეობის *Nicotinia glauca*+*N. langsdorffii* პროტოპლასტების შერწყმის შედეგად.

4.11.2. პროტოპლასტების შერწყმის ხერხები და შერწყმული პროტოპლასტების გამორჩევის (სკრინინგის) მეთოდები

არსებობს პროტოპლასტების შერწყმის ორი ხერხი: 1) **სპონტანური შერწყმა**, 2) **ინდუცირებული შერწყმა**. პროტოპლასტების იზოლირებისას უჯრედული გარსის ფერმენტული დაშლის გამო მათი შერწყმა შეიძლება განხორციელდეს **სპონტანურად**. პროტოპლასტების სპონტანური შერწყმა მიმდინარეობს პასიურად – პლაზმოდესმების* გაფართოების შედეგად. იგი უფრო მეტად შეიმჩნევა აქტიური დაყოფის ფაზაში მყოფი უჯრედებიდან და სუსპენზიური კულტურებიდან პროტოპლასტების იზოლირებისას.

პროტოპლასტების ინდუცირებული შერწყმა NaNO_3 -ის ჰიპოტონური ხსნარის ზემოქმედებით პირველად შემჩნეულ იქნა ცნობილი ციტოლოგის **ე. კიუსტერის (E. Kuster)** მიერ 1909 წელს.

დღეისათვის სომატური ჰიბრიდების მიღების მიზნით პროტოპლასტების ინდუცირებული შერწყმა შეიძლება განხორციელდეს ორი მეთოდით: 1) **იზოლირებული პროტოპლასტების კულტივირების საკვებ არეში შერწყმის მასტიმულირებელი ნივთიერებების დამატება ანუ “ფიუზოგენის” (შერწყმის ინდუქტორის) მეთოდი**; 2) **შერწყმა ელექტროდენის საშუალებით**.

ზოგიერთი ნივთიერება პროტოპლასტებზე დამატებისას იწვევს შერწყმის პროცესის გაადვილებასა და სტიმულირებას. პირველად პროტოპლასტების ინდუცირებული შერწყმა საკვებ არეში NaNO_3 ხსნარის – შერწყმის ინდუქტორის დამატებით განხორციელებულ იქნა **ე. კოკინგის (E. Cocking)** ლაბორატორიაში 1970 წელს. პროტოპლასტების ყველაზე ეფექტური და კონტროლს დაქვემდებარებული შერწყმა ხდება pH მაღალი (9-11) მაჩვენებლის და Ca^{++} იონების მაღალი კონცენტრაციის (100-300 mM) მქონე ხსნარების გამოყენებისა და პოლიეთილენგლიკოლის (პეგ) (მოლ.მასა 1500-6000) კონცენტრირებუ-

* **პლაზმოდესმები** – პროტოპლაზმური ჭიმები, რომლებიც გადიან მცენარის უჯრედების გარსის არხებში და აკავშირებენ მეზობელი უჯრედების პროტოპლასტებს.

ლი ხსნარებით პროტოპლასტების წინასწარი აგლუტინაციის* დროს.

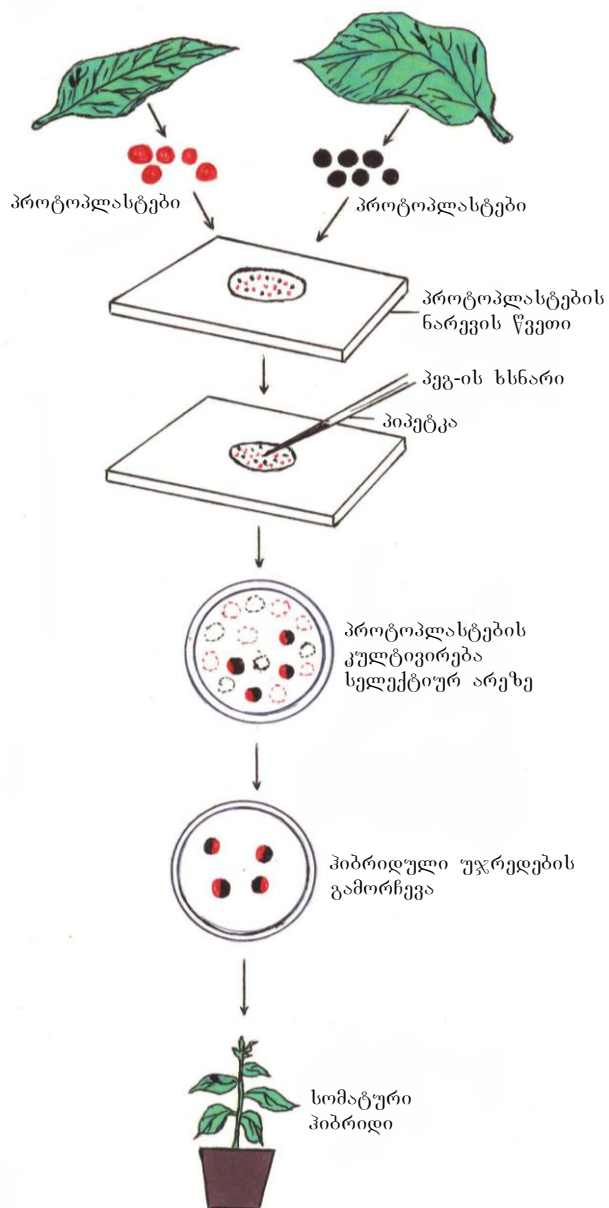
აღნიშნული მეთოდის მაგალითად შეიძლება განვიხილოთ **კ. კაოს (K.N. Kao)** მეთოდის (სურ. 175): ორი მშობლის პროტოპლასტების ნარევი ცალკეული წვეთების სახით გადააქვთ მინის ზედაპირზე, ტოვებენ დაღეჟვისათვის 5-15 წუთს და უმატებენ პეგ-ის ხსნარს უჯრედების სუსპენზიის ერთ წვეთზე ხსნარის სამი წვეთის ანგარიშით. პეგ-ის ხსნარს ამზადებენ 1 გრ პეგ-ის (მოლ. მასა 1540) დამატებით 2 მლ ხსნარში, რომელიც შეიცავს 0.1 mM გლუკოზას, 10.5 mM CaCl_2 და 0.7 mM KH_2PO_4 (pH 5.5). 10-15 წუთის შემდეგ პრეპარატს უმატებენ pH მაღალი მაჩვენებლისა (10-10.5) და Ca^{++} მაღალი (70 mM) შემცველობის 0.5 მლ მოცულობის ხსნარს, ჩვეულებრივ ქლორიდის მარილის (CaCl_2) სახით. პროცედურას იმეორებენ 15 წუთის შემდეგ. კიდევ 15 წუთის შემდეგ პროტოპლასტებს რეცხავენ 5 წუთის ინტერვალით ხსნარის ფრთხილი გამოწოვითა და საკვები არის დამატებით. გარეცხვისათვის საჭირო საკვები არის საერთო მოცულობა 15-20 მლ-ია. კულტივირებისათვის პროტოპლასტების სუსპენზია გადააქვთ პეტრის ჯამებში 2-2 მლ მოცულობით თითოეულში ან ჯერ აურევენ აგარიზებულ საკვებ არეში ($t=40^\circ\text{C}$) და შემდეგ ასხამენ პეტრის ჯამებში 5-5 მლ მოცულობით თითოეულში.

პროტოპლასტების შერწყმის მექანიზმი მოცემულ მეთოდში მდგომარეობს შემდეგში: პროტოპლასტებს ჩვეულებრივ უარყოფითი მუხტი აქვთ (სახეობების მიხედვით ვარირებს -10-დან -30-მდე mB). უარყოფითად დამუხტული პროტოპლასტები ერთმანეთისაგან განიზიდებიან. pH-ის მაღალი მაჩვენებლისა და Ca^{++} იონების მაღალი კონცენტრაციის დროს ადგილი აქვს ნორმალური ზედაპირული მუხტის ნეიტრალიზებას, ხოლო პეგ-ის მონაწილეობა იწვევს **პროტოპლასტების აგლუტინაციას** (სურ. 176ბ), **პლაზმალემის გახლეჩას** (სურ. 176გ), **მემბრანების განვლადობისა და დენადობის გაზრდას და შერწყმას** (სურ. 176დ).

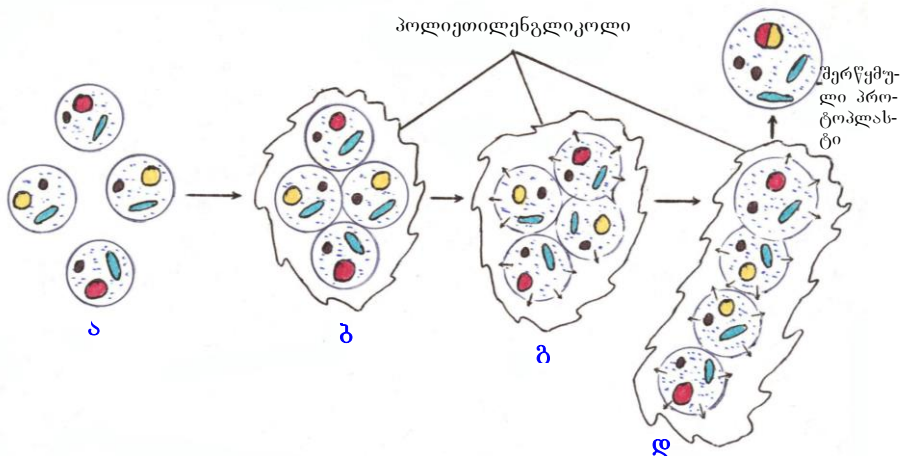
შერწყმის ეფექტურობა განხილული მეთოდის დროს შეადგენს 10-30%. მეთოდის უარყოფით მხარეს წარმოადგენს ის, რომ ძალიან ძნელია დიდი რაოდენობით ერთდროულად შერწყმული პროტოპლასტების მიღება.

ამჟამად სულ უფრო ფართოდ იყენებენ პროტოპლასტების შერწყმის მეორე მეთოდს – **შერწყმა ელექტროდენის საშუალებით**, რომელიც დამუშავებულია **უ. ციმერმანის (U. Zimmerman et al)** მიერ 1974 წელს. მეთოდის პრინციპი დაფუძნებულია არაერთგავროვანი ელექტრული ველის გამოყენებაზე, რომელიც წარმოიქმნება 100 ვოლტი ძაბვისა და 50 კც სიხშირის ცვალებადი დენის მიერ სპეციალურ კამერაში, სადაც ათავსებენ იზოლირებულ პროტოპლასტებს და

* აგლუტინაცია [ლათ. *agglutination*] – შეწყობა.



სურ. 175. მცენარეთა სომატური ჰიბრიდების მიღების სქემა



სურ. 176. პოლიეთილენგლიკოლის საშუალებით პროტოპლასტების შერწყმის სქემა და ეტაპები

(ა - პროტოპლასტების პოპულაცია; ბ - პროტოპლასტების აგლუტინაცია;
გ - ციტოპლაზმური ჭიმების წარმოქმნა; დ - პროტოპლასტების შერწყმა)

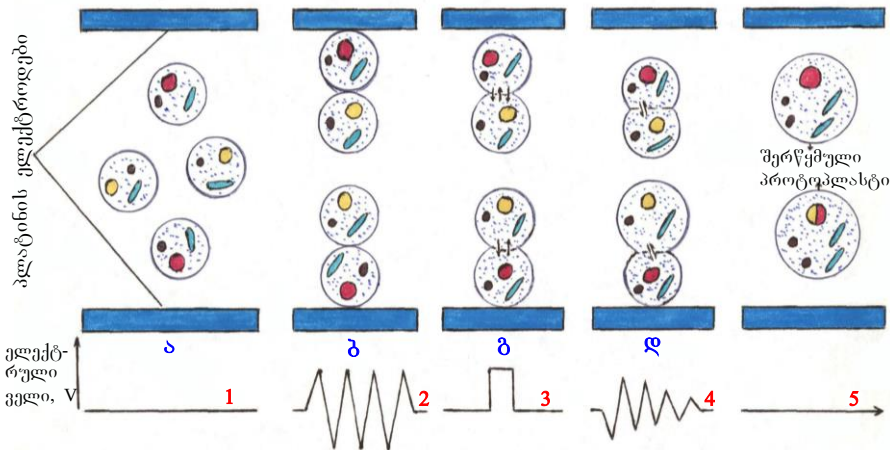
შეჰყავთ პლატინის ელექტროდები.

შერწყმის მექანიზმი მოცემულ მეთოდში მდგომარეობს შემდეგში: ელექტრული ველის მოქმედებისას პროტოპლასტები ლაგდებიან ძეწკვისებურად ელექტროდებს შორის, განიცდიან აგლუტინაციას (სურ. 177ბ), წარმოქმნიან ციტოპლაზმურ ჭიმებს (სურ. 177გ) და დამატებითი იმპულსის (კვადრატული ტალღა, ძაბვა $750 \text{ B} \cdot \text{სმ}^{-1}$ ხანგრძლიობა 50 მიკროწამი) გატარებისას ადგილი აქვს შერწყმას (სურ. 177დ).

ამრიგად, პროტოპლასტების შერწყმა მიმდინარეობს სამ ეტაპად: 1) პროტოპლასტების აგლუტინაცია (შეწებება), 2) პლაზმაღემის გახლეჩა და პროტოპლასტებს შორის ციტოპლაზმური ჭიმების წარმოქმნა, 3) მემბრანების შერწყმა შეწებების ადგილებში.

პროტოპლასტების შერწყმის შედეგად წარმოიქმნება ჰომო- და ჰეტეროკარიონები. ჰომოკარიონი - არის უჯრედი, რომელშიც მონაწილეობს ორი ან მეტი იდენტური გენეტიკური ბუნების ბირთვი. ჰეტეროკარიონი - არის უჯრედი, რომელშიც მონაწილეობს ორი ან მეტი სხვადასხვა გენეტიკური ბუნების ბირთვი.

შერწყმის პროცესის შემდეგ ახდენენ შერწყმული პროტოპლასტების გამოჩენას (სკრინინგს) დანარჩენი პროტოპლასტებისაგან. ამისათვის არსებობს სხვადასხვა მეთოდი: 1) შერწყმული პროტოპლასტების მექანიკური იზოლაცია, 2) გენეტიკური კომპლემენტაცია, 3)



სურ. 177. ელექტროდენის საშუალებით პროტოპლასტების შერწყმის სქემა და ეტაპები

(ა - პროტოპლასტები პლატინის ელექტროდებს შორის; ბ - დიელექტროფორეზი და აგლუტინაცია; გ - ციტოპლაზმური ჭიმების წარმოქმნა; დ - პროტოპლასტების შერწყმა; 1, 5 - დენი არ არის; 2 - ცვალებადი დენი (100 ვოლტი, 50 ჰც), 3 - ძლიერი იმპულსი (750 B/სმ, 50 მიკროწამი), 4 - დენის დაცემა)

“ფიზიოლოგიური კომპლემენტაცია,” 4) ფიზიკური გამდიდრება და სხვა.

შერწყმული (ჰიბრიდული) პროტოპლასტების მექანიკური იზოლაცია მოიცავს რამდენიმე ხერხს: 1) შერწყმული პროტოპლასტების ვიზუალური იდენტიფიკაცია, 2) შერწყმული პროტოპლასტების მექანიკური გამორჩევა, 3) შერწყმული პროტოპლასტების კულტივირება. ეს მეთოდი გამოიყენება მშობელთა უჯრედების მორფოლოგიური სხვადასხვაობის დროს, მაგალითად, ერთი მშობლის პროტოპლასტებს გამოპყოფენ ქლოროფილით მდიდარი მეზოფილის უჯრედებიდან, ხოლო მეორე მშობლის - უფერული კალუსური უჯრედებიდან. შერწყმული უჯრედები ადვილი გასარჩევია მშობელთა უჯრედებისაგან. შერწყმული პროტოპლასტების გამორჩევა შეიძლება ჩატარდეს ნახევრადავტომატური პიპეტის საშუალებით ინვერტირებული მიკროსკოპის გამოყენებით. იყენებენ აგრეთვე პროტოპლასტების ცოცხლად შეღებვას ფლუორესცენტრიული საღებავებით.

გენეტიკური კომპლემენტაცია დაფუძნებულია მშობელთა ფორმების გამოყენებაზე, რომელთა უჯრედები იღუპებიან კულტივირების გარკვეულ პირობებში, მაგრამ მათ საფუძველზე მიღებული ჰიბრიდული უჯრედები ამ პირობებში გადარჩებიან გენების კომპლემენტაცი-

ის* წყალობით. მაგალითად, **გ. მელხერსი (G. Melchers)** და **გ. ლაბიბი (G. Labib)** უჯრედებს იღებდნენ თამბაქოს ქლოროფილდეფექტური მშობელი ფორმებიდან, შერწყმისა და კულტივირების შემდეგ ღებულობდნენ მუქმწვანე რეგენერანტებს.

ფიზიკური გამდიდრება დაფუძნებულია მასზე, რომ ცენტროფუგირების საშუალებით შეიძლება სხვადასხვა ხვედრითი სიმკვრივის მქონე პროტოპლასტების ფრაქციებად დაყოფა. შერწყმულ პროტოპლასტებს აქვთ შუალედური სიმკვრივე.

4.11.3. შერწყმული პროტოპლასტების ციტოლოგიური თავისებურებები

პროტოპლასტების შერწყმა მიმდინარეობს როგორც წვეილად, ისე სხვადასხვა რიცხვის მონაწილეობით. დიდი მრავალბირთვიანი შერწყმის პროდუქტები იშლება. იზოლირებული პროტოპლასტების შერწყმა წარმოებს შემთხვევით და ამის გამო ერთნაირი სიხშირით წარმოიშობა როგორც ჰომოკარიონები, ისე ჰეტეროკარიონები. შერწყმის შემდეგ პირველ საათებში აღგილი აქვს ორი უჯრედის ციტოპლაზმის შერევა. მერე უჯრედული გარსის რეგენერაციის შემდეგ წარმოებს ორი ბირთვის სინქრონული დაყოფა მათი შერწყმის გარეშე, ორბირთვიანი შვიდეული უჯრედების შემდგომი წამოშობით. შემჩნეულია აგრეთვე ბირთვების შერწყმაც უჯრედების დაყოფის დროს.

სომატური ჰიბრიდების უჯრედების ციტოლოგიურმა და კარიოლოგიურმა შესწავლამ აჩვენა, რომ ბევრ შემთხვევაში მშობელთა გენომების სრული ინტეგრაცია** არ ხდება. შემჩნეულია ერთ-ერთი მშობლის ქრომოსომების ელიმინაცია (დაკარგვა), სხვადასხვა ანომალიები მიტოზის დროს: ქრომოსომების ფრაგმენტები, რგოლური ქრომოსომები, არატიპიური გრძელი ქრომოსომები და სხვა.

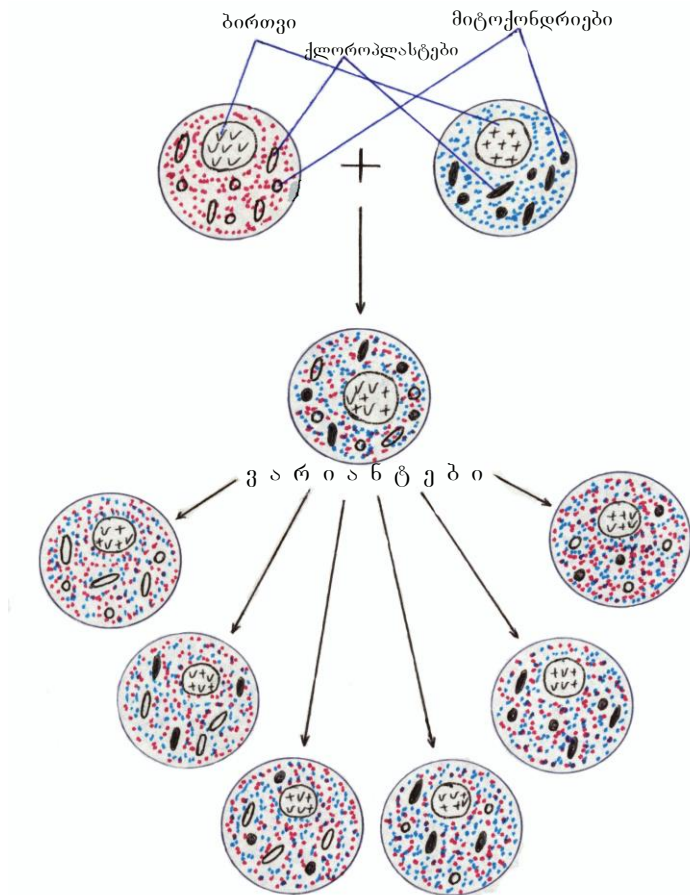
სომატური ჰიბრიდიზაციის დროს ბირთვული გენები შეიძლება მემკვიდრულად გადაეცეს როგორც **ორმშობლიანი** – (ჰიბრიდში შენარჩუნებულია ორივე მშობლის გენომი) – ასეთ ჰიბრიდებს ჰქვია **“სიმეტრიული,”** ისე **ერთმშობლიანი** (ჰიბრიდში შენარჩუნებულია ერთი მშობლის გენომი) – ასეთ ჰიბრიდებს ჰქვია **“ასიმეტრიული.”** მაგ., არაბიდოპსისი+ტურნეფსი პროტოპლასტების შერწყმისას, ჰიბრიდში შენარჩუნებულია ძირითადად არაბიდოპსის ქრომოსომები.

ციტოპლაზმური გენომების (პლასტომის, ქრომოსომებში და მიტოქონდრიებში ლოკალიზებული, მიტოქონდრიებში ლოკალიზებული) მემკვიდრეობის ბედი სომატური ჰიბრიდიზაციის დროს პრინციპულად განსხვავდება ასეთისაგან სქესობრივი ჰიბრიდიზაციის დროს.

* **გენების კომპლემენტაცია** – დომინანტი არააღელური გენების ისეთი ურთიერთმოქმედება, რომელიც იწვევს სრულიად ახალი ნიშნის განვითარებას.

** **ინტეგრაცია** [ლათ. **integratio**] – გაერთიანება.

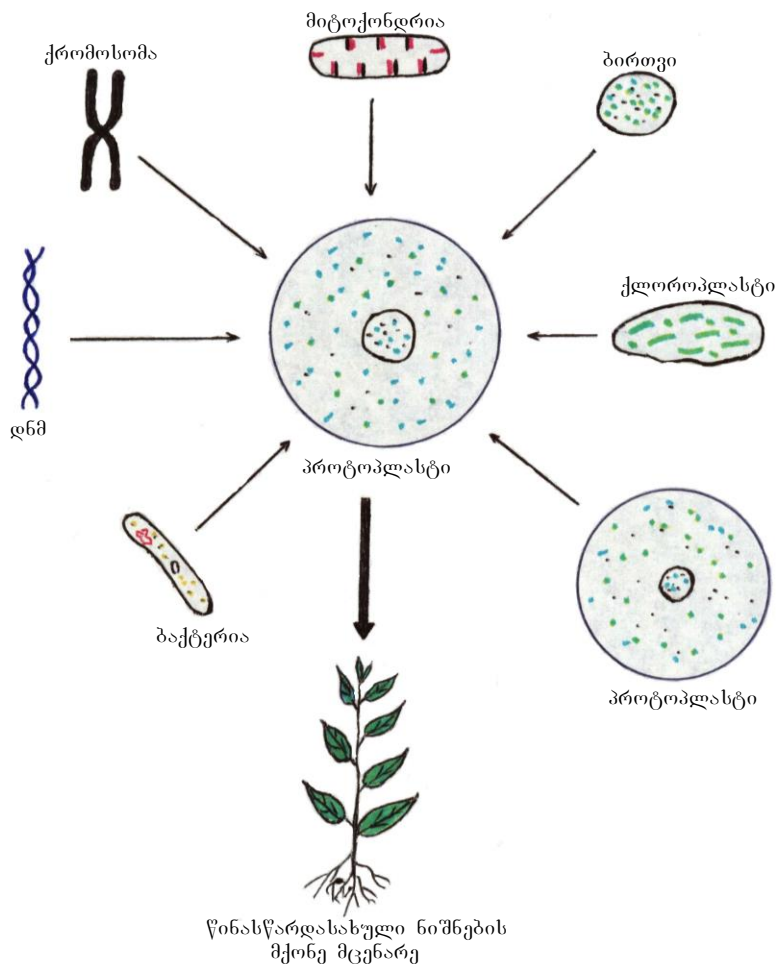
როგორც ცნობილია, სქესობრივი ჰიბრიდიზაციის დროს ციტოპლაზმური გენომები მემკვიდრეობენ მდებარეობით ხაზით, ხოლო სომატური ჰიბრიდიზაციის დროს ისინი მემკვიდრეობენ ორმშობლიანი (ე.ი. ჰიბრიდში შენარჩუნებულია ორივე მშობლის ციტოპლაზმური გენომი). უჯრედის ორგანელების გენომების ელიმინაციის ან სეგრეგაციის (დაცილების) შედეგად შეიძლება მიღებულ იქნას ბირთვული და ციტოპლაზმური გენების სხვადასხვანაირი უწყველო კომბინაციები (სურ.178).



სურ. 178. ბირთვული და ციტოპლაზმური გენომების მესაძლო კომბინაციების სქემა სომატური ჰიბრიდიზაციის დროს

უჯრედში უცხო გენეტიკური მასალის გადასატანად პროტოპლასტები გამოიყენება არა მარტო სომატური ჰიბრიდიზაციის განსა-

ხორციელებლად, არამედ დნმ-ს ან უჯრედის სხვა ორგანოების შესაყვანად. ამჟამად მუშავდება იზოლირებულ პროტოპლასტებში ცალკეული ქრომოსომების, დნმ-ს, მიტოქონდრიების, ბირთვის, ქლოროპლასტების, ბაქტერიული უჯრედების და სხვა შეყვანის მეთოდები და მანიპულაციის პირობები (სურ. 179). ამ მეთოდების შედეგები



სურ. 179. პროტოპლასტში დნმ-ს, უჯრედის ორგანოების და ბაქტერიული უჯრედების შეყვანა

უმეტეს შემთხვევაში ჯერ შესწავლილი არ არის. მაგრამ უჯრედების ასეთი ბიოლოგიური კონსტრუირება შეიძლება ძალიან სასარგებლო

და პერსპექტიული იყოს გარკვეული ნიშნების მქონე მცენარეების მისაღებად.

4.11.4. სომატური ჰიბრიდიზაციის მდგომარეობა მცენარეთა შორეულ სახეობებში

სომატური ჰიბრიდიზაცია საშუალებას იძლევა ერთმანეთს შეეჯვაროს მცენარეთა ისეთი სახეობები და ფორმები, რომელიც შეუძლებელია სქესობრივი გზით, ე.ი. იგი სქესობრივი ჰიბრიდიზაციის დროს მცენარეთა შეუჯვარებლობის დაძლევის საშუალებას იძლევა. მან უჭკველად გაამდიდრა უჯრედული ბიოლოგია, გამოავლინა ახალი შესაძლებლობები ფუნდამენტური კვლევისათვის ციტოლოგიის, მოლეკულური ბიოლოგიის, მცენარეთა ფიზიოლოგიის და სხვა დარგში.

დღეისათვის სომატური ჰიბრიდიზაციის მეთოდით მიღებულია სახეობათაშორისი, გვარობათაშორისი, ოჯახთაშორისი, ტრიბათაშორისი და სამეფოთაშორისი ჰიბრიდები. მაგრამ ბევრ შემთხვევაში ამ გზით მიღებული ჰიბრიდული მცენარეები ამა თუ იმ ხარისხით არანორმალურია.

განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს სამეფოთაშორისი სომატური ჰიბრიდები, რომლებიც მიღებულია თავისი ერთროცისა და საფუარა სოკოს, სტაფილოსა და ადამიანის, თამბაქოსა და ადამიანის, პარკოსნებისა და ადამიანის და სხვა პროტოპლასტების შერწყმის შედეგად.

მიღებულია ჰიბრიდული უჯრედები ოჯახთაშორისი სომატური შეჯვარების შედეგად. მაგ. სოია+თამბაქო, ჩინური თამბაქო+ბარდა, ჩინური თამბაქო+ხახვი, თამბაქო+პარკოსნები. მაგრამ მათში ჯერ ვერ მოხერხდა მორფოგენეზის ინდუცირება.

ტრიბათაშორისი* სომატური ჰიბრიდიზაციის შედეგად (არაბიდოპსისი+ტურნეფსი, ლემა+ჩინური თამბაქო, კარტოფილი+თამბაქო და სხვა) მიღებულია როგორც უჯრედული ხაზები, ისე რეგენერანტებიც. რეგენერირებული მცენარეები ხასიათდებოდნენ ანომალიებით მორფოლოგიასა და განვითარებაში. ზოგიერთი მათგანი სიმეტრიულია, ზოგიერთი – ასიმეტრიული.

გვარებათაშორისი ჰიბრიდების მიღება სქესობრივი შეჯვარების გზით ძალიან რთული ან შეუძლებელია. პირველი გვარობათაშორისი სომატური ჰიბრიდი (კარტოფილი+თამბაქო) მიღებულ იქნა **გ. მელხერსის (G. Melchers)** მიერ 1978 წელს. დღეისათვის მიღებულია გვარობათაშორისი ჰიბრიდები, როგორც სიმეტრიული (მაგ. ფორთოხა-

* ტრიბა წარმოადგენს ტაქსონომიურ ერთეულს, რომელსაც უკავია შუალედური მდგომარეობა ოჯახსა და გვარს შორის.

ლი+ტრიფოლიატა; ფორთოხალი+*Severina disticha*), ისე ასიმეტრიული (მაგ. კარტოფილი+პომიდორი (“ტოპატო” ან “პომატო”); პეტუნია+თამბაქო; რაფსი+ბოლოკი). ისინი ხასიათდებოდნენ ციტოგენეტიკური არასტაბილურობითა და სტერილურობით.

პირველი **სახეობათაშორისი** ფერტილური სომატური ჰიბრიდები მიიღო **ო. შიდერმა (O. Shieder)** 1978 წელს ლემას (*Datura innoxia*) ქლოროფილდეფექტური მუტანტის პროტოპლასტების ორი სხვა სახეობის *D. discolor* და *D. stramonium*-ს პროტოპლასტებთან შერწყმის გზით. სქესობრივი შეჯვარება ამ სახეობებს შორის არ ხდება. მოცემული ჰიბრიდები (*D. innoxia*+*D. discolor* და *D. innoxia*+*D. stramonium*) არიან ამფიდიპლოიდები, წარმოადგენენ მეტად საინტერესოს ალკალოიდ სკოპოლამინის მისაღებად გამოყენებული ლემას სამრეწველო ჯიშების სელექციაში, რადგანაც მათში მშობელ ფორმებთან შედარებით 20-25%-ით მაღალია ალკალოიდის შემცველობა. მიღებულია აგრეთვე თამბაქოს სომატური ჰიბრიდები (*N. tabacum*+*N. nesophila*; *N. tabacum*+*N. stoktonii*). ეს მცენარეები წარმოადგენენ ამფიდიპლოიდებს. ისინი ჩართულია სელექციურ მუშაობაში. სელექციური მნიშველობის მქონე კარტოფილის პირველი სახეობათაშორისი ჰიბრიდები მიღებულ იქნა **რ. ბუტენკოსა (Р. Бутенко)** და **ა. კუჩკოს (А. Кучко)** მიერ 1979 წელს კულტურული კარტოფილისა (*S. tuberosum*) და ველური კარტოფილის (*S. chacoense*) პროტოპლასტების შერწყმის შედეგად. კარტოფილის სახეობათაშორის სომატურ ჰიბრიდიზაციაში მუშაობამ ფართო გავრცელება მოიპოვა. სელექციური მიზნით ძვირფასი ჰიბრიდების მისაღებად სომატურ შეჯვარებაში ჩართულია ველური კარტოფილის სხვადასხვა სახეობები. ამჟამად კვლევები სახეობათაშორის სომატურ ჰიბრიდიზაციაში მიმდინარეობს პომიდორში, ციტრუსოვნებში, პარკოსნებში, მარცვლოვანებში, დეკორაციულ მცენარეებში და სხვა.

ამრიგად, სომატური ჰიბრიდიზაცია ფილოგენეზურად დაცილებული შეჯვარებების განხორციელების საშუალებას იძლევა, რომლის რეალიზაცია შეუძლებელია სქესობრივი ჰიბრიდიზაციით. გარდა ამისა, ამ დროს შესაძლებელია არა მარტო ბირთვული, არამედ ციტოპლაზმატური გენომების რეკომბინაცია.

4.12. ტრანსგენური მცენარეების მიღება

იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურა ფართოდ გამოიყენება თანამედროვე ბიოლოგიის ერთ-ერთ ინტენსიურად განვითარებად დარგში – **მცენარეთა გენეტიკურ ინჟინერიაში**, რომლის ამოცანას წარმოადგენს ლაბორატორიული გზით სინჯარაში რეკომბინანტულ (ჰიბრიდული) დნმ-ს მოლეკულების სახით ფუნქციონალურად აქტიური გენეტიკური სტრუქტურების კონსტრუირება, ამ მოლეკულების მცენარის უჯრედში შეყვანა და მათი ნორმალური ექსპრესიის (მუშაობის) პირობების შექმნა. გარდა ამისა, ის მოიცავს მცენარის უჯრედში შორეული ტაქსონომიური სახეობების როგორც ბირთვული, ისე ციტოპლაზმური გენების შეყვანას, რაც შეუძლებელია სქესობრივი ჰიბრიდიზაციის დროს. გენომის ასეთი რეკონსტრუქციის გზით მიღებულ მცენარეებს **ტრანსგენური მცენარეები ანუ ტრანსფორმატორები ეწოდება**, ხოლო თვით უცხო დნმ-ს რეციპიენტის უჯრედში შეყვანის პროცესს – **ტრანსფორმაცია**.

რეციპიენტის სახით, რომელიც თავის გენომში იერთებს უცხო დნმ-ს, იყენებენ იზოლირებულ პროტოპლასტებს, იზოლირებულ უჯრედებს, ქსოვილების ფრაგმენტებს, მიკროსპორებს, ზიგოტურ ჩანასახებს განვითარების ადრეულ სტადიაზე, ადვენტიურ კვირტებს და სხვა.

არსებობს ტრანსგენური მცენარეების მიღების რამდენიმე მეთოდი: ტრანსფორმაცია აგრობაქტერიის საშუალებით, კოკულტივაციის მეთოდი, დნმ-ს ინექცია უჯრედში და მთლიან მცენარეში, მცენარეული უჯრედების ელექტროფორაციის მეთოდი და სხვა.

დღეისათვის მიღებულია უნიკალური ტრანსგენური მცენარეები, მაგალითად, თამბაქოს, პომიდორის, შაქრის ჭარხლის ჰერბიციდგამძლე მცენარეები; ბამბის, თამბაქოს ინსექტიციდგამძლე ტრანსგენური მცენარეები და ა.შ.*

* ტრანსგენური მცენარეების მიღებასთან დაკავშირებული ყველა საკითხი განხილულია ნაწილში – “გენეტიკური ინჟინერია.”

4.13. *in vitro* განაყოფიერება (პროგამური შეუთავსებლობის დაძლევა)

შორეული ჰიბრიდიზაცია, რომელიც წარმოადგენს მცენარეთა სელექციის ერთ-ერთ ძირითად მეთოდს, აწყდება მრავალ სირთულეს (სახეობათა შეუჯვარებლობა, ჰიბრიდული თესლების აღმოუცენებლობა, ჰიბრიდების სტერილურობა და სხვა), რომელთა მთავარი მიზეზი ტაქსონომიურად შორეული პარტნიორების გენეტიკური ანუ ფიზიოლოგიური შეუთავსებლობაა.

შეუთავსებლობა ვლინდება ჰიბრიდების მიღების სხვადასხვა ეტაპზე: 1) განაყოფიერებამდე, და ეწოდება პროგამური შეუთავსებლობა; 2) განაყოფიერების შემდეგ, და ეწოდება პოსტგამური შეუთავსებლობა.

პროგამური შეუთავსებლობა შორეული ჰიბრიდიზაციის დროს შეიძლება გამოვლინდეს: 1) როგორც სამტვრე მილის ზრდის შეჩერება ჯერ კიდევ ბუტკოს ღინგზე, მათი სეკრეტების უქონლობის ან შეუთავსებლობის გამო; 2) როგორც მტვრის მარცვლის ბუტკოში ჩაზრდის უუნარობა; 3) როგორც მამრობითი გამეტის კვერცხუჯრედთან შერწყმის უუნარობა; 4) როგორც პარტნიორების განსხვავება ბუტკოს სვეტის სიგრძისა და სამტვრე მილის სიგრძის მიხედვით და ა.შ.

დღეისათვის მცენარეთა სელექციაში პროგამური შეუთავსებლობის დაძლევის მრავალნაირი მეთოდი არსებობს (მაგ., მშობელთა ფორმებში პლოიდობის შეცვლა, რეციპროკული შეჯვარების გამოყენება, ყვავილების ფიტოჰორმონებით დამუშავება, ნარევი მტვრით დამტვერიანება და სხვა). მათ შორის ერთ-ერთ ყველაზე ეფექტურს წარმოადგენს *in vitro* განაყოფიერება. ის ხორციელდება ორ ვარიანტად: პირველი ვარიანტის მიხედვით ყვავილობამდე 2-3 დღით ადრე კასტრირებული მდედრობითი მცენარის ბუტკოს სვეტი ასეპტიკურ პირობებში მოკლდება ან მთლიანად იჭრება, ხოლო ნასკვი თავსდება ხელოვნურ საკვებ არეზე. მეორე ვარიანტის მიხედვით (მას პლაცენტარულ განაყოფიერებას უწოდებენ) – ნასკვი იხსნება და ხელოვნურ საკვებ არეზე გადააქვთ პლაცენტის* ნაწილები განაყოფიერებისათვის გამზადებული თესლკვირტებით.

ყვავილობის დღეს ახდენენ მამრობითი მცენარის კოკრების ზედაპირულ სტერილიზაციას. შემდეგ ასეპტიკურად იღებენ მტვრიანებს, გადააქვთ პეტრის ჯამში და აშრობენ მტვრის მარცვლების გამოცვენამდე. გამზადებული მტვრის მარცვალი პირველი ვარიანტის მიხედვით გადააქვთ სტერილურ პირობებში ნასკვის გადანაჭერზე, მეო-

* პლაცენტა – ნასკვში თესლკვირტის ჩასახვისა და მიმაგრების ადგილი. ის აუცილებელია ჩანასახისა და ენდოსპერმის ნორმალური განვითარებისათვის. პლაცენტა წარმოადგენს მეტაბოლურად აქტიურ ქსოვილს, მაშასადამე, ჩანასახისა და ენდოსპერმის უჯრედების დაყოფის მასტიმულირებელი ენდოგენური ფიტოჰორმონების წყაროს.

რე ვარიანტის მიხედვით – გადააქვთ საკვებ არეზე თესლკვირტებიან პლაცენტასთან ახლოს ან უშუალოდ პლაცენტას ქსოვილებზე.

განაყოფიერებული თესლკვირტები გაუნაყოფიერებელი თესლკვირტებისაგან განსხვავებით სწრაფად მატულობენ ზომაში.

პროგამური შეუთავსებლობის დაძლევის აღნიშნული მეთოდი დამუშავებულ იქნა ემბრიოლოგების **პ. მაგეშვარისა (P. Maheswari)** და **კ. კანტას (K. Kanta)** მიერ 50-60-იან წლებში, უფრო გვიან – **მ. ზენკტელერის (M. Zenkteler)** მიერ 1965-1980 წლებში.

კულტივირებისათვის საკვებ არედ ყველაზე მეტად იყენებენ ნიჩის არეს საქაროზისა და კაზეინის ჰიდროლიზატის დამატებით.

in vitro განაყოფიერების გზით მიღებულ იქნა ცხოველმყოფელი თესლები ყაყაჩოსებრთა ოჯახის სხვადასხვა გვარში; სახეობათაშორისი ჰიბრიდები ყაყაჩოსებრთა ოჯახში; სახეობათაშორისი და გვარეობათაშორისი ჰიბრიდები ძაღლყურძენასებრთა, მისაკისებრთა, მარცვლოვანთა ოჯახში და ა. შ.

მცენარეთა სელექციის პრაქტიკული ამოცანების გადაწყვეტის გარდა, in vitro განაყოფიერებას იყენებენ აგრეთვე თეორიული საკითხების შესასწავლად. მაგალითად, მტვრიანას ფიზიოლოგიის პრობლემები, განაყოფიერების პროცესები და სხვა.

4.14. იზოლირებული განაყოფიერებული თესლკვირ- ტების, ნასკვებისა და მოუმწიფებელი ჰიბრიდული ჩანასახების კულტურა (პოსტბამური შეუთავსებლობის დაკლება)

პოსტბამური შეუთავსებლობა შორეული ჰიბრიდიზაციის დროს შეიძლება გამოვლინდეს: 1) როგორც ჰიბრიდული ჩანასახების ზრდისა და განვითარების შეჩერება ჩანასახისა და ენდოსპერმის განვითარების ტემპების შეუთავსებლობის ან მდებარეობითი მცენარის ქსოვილების ტოქსიკურობის გამო; 2) როგორც პირველადი ფესვის ან ჩანასახის კვირტების ზრდის ბლოკირება და სხვა.

პოსტბამური შეუთავსებლობის დასაძლევად დღეისათვის ყველაზე მეტად იყენებენ იზოლირებული განაყოფიერებული თესლკვირტების, ნასკვებისა და მოუმწიფებელი ჰიბრიდული ჩანასახების ხელოვნურ საკვებ არეზე კულტივირების მეთოდს.

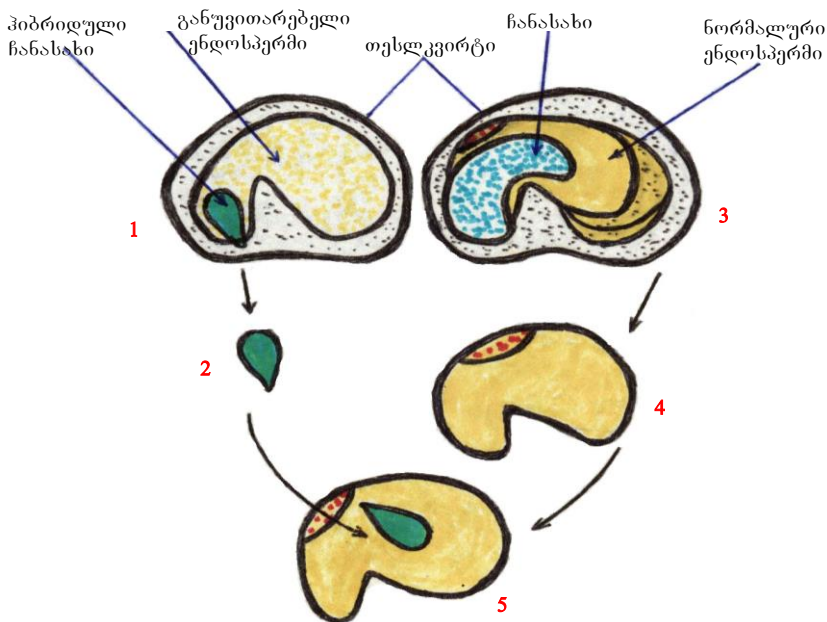
პირველი ცნობები იზოლირებული განაყოფიერებული თესლკვირტების კულტივირების შესახებ გაკეთებულ იქნა ნ. მაგეშვარისა (N. Maheshwari) და მისი თანამშრომლების მიერ 1958 წელს ყაყაჩოს მცენარეში. ამ მიზნით აღნიშნულ მცენარეში დამტკვერიდან 2-6 დღის შემდეგ ხდებოდა თესლკვირტების გამოყოფა. თესლკვირტები შეიცავდნენ ზიგოტას ან ორუჯრედიან პროემბრიოს და ენდოსპერმის რამდენიმე ბირთვს (თესლები ნორმალურად ვითარდებოდა პლაცენტის არსებობისას). თესლკვირტების კულტივირება ხდებოდა საკვებ არეზე, რომელიც შეიცავდა მინერალურ მარილებს ნიჩის მიხედვით, ვიტამინებს უაიტის მიხედვით, 5% საქაროზას (ზრდის ნივთიერებებს არ იყენებდნენ). ჩანასახების განვითარებას აჩქარებდა საკვებ არეში კინეტინის ან კაზეინის ჰიდროლიზატის დამატება. იზოლირებული განაყოფიერებული თესლკვირტების კულტურა წარმატებით გამოიყენება ბამბის, პაპაიას, წითელი მოცხარის, მიხაკის, პეტუნიას და სხვა მცენარეების შემთხვევაში.

განაყოფიერებული ნასკვების კულტივირება ტექნიკურად უფრო ადვილია, ვიდრე – თესლკვირტების კულტივირება. პირველი გამოკვლევა ამ მიმართულებით ჩატარებულ იქნა პ. ნიჩის (P. N. Nitshi) მიერ 1949-1951 წლებში პომიდორის მცენარეში. ამჟამად განაყოფიერებული ნასკვების კულტურას ფართოდ იყენებენ კომბოსტოსნაირთა (კომბოსტო, მდოგვი, რაფსი, თაღგამურა და სხვა) შორეული ჰიბრიდიზაციის დროს. დედა მცენარეზე დამტკვერილ ნასკვებს 3-7 დღის შემდეგ გამოჰყოფენ, უკეთებენ სტერილიზაციას და გადააქვთ კულტურაში მურასიგე-სკუვის საკვებ არეში კაზეინის ჰიდროლიზატის დამატებით. 3-4 კვირის შემდეგ ახდენენ ნასკვიდან განვითარებული ჰიბრიდული ჩანასახების გამოყოფას და მურასიგე-სკუვის ან ჰამბორგის საკვებ

არეში გადატანას ზრდის სტიმულატორების გარეშე, სადაც ისინი ვითარდებიან ჰიბრიდულ მცენარედ.

განვითარებელი ჰიბრიდული ჩანასახების* კულტივირებას ხელოვნურ საკვებ არეზე ეწოდება ემბრიოკულტურა. პირველად იზოლირებული მოუმწიფებელი ჰიბრიდული ჩანასახების წარმატებით კულტივირება ჩატარებულ იქნა **ფ. ლაიბახის (F. Leibach)** მიერ 1925 წელს სელის მცენარეში. კულტივირებისათვის თესლებს იღებენ ახალი ნაყოფებიდან, ახდენენ სტერილიზაციას და ასეპტიკურ პირობებში მათგან სპეციალური ინსტრუმენტის საშუალებით გამოჰყოფენ ჩანასახებს, რომლებიც შემდეგ გადააქვთ საკვებ არეში. საკვებ არედ იყენებენ მურასიგე-სკუგის, უაიტის, ჰამბორგის და სხვა მოდიფიცირებულ არეებს. ნახშირწყლებიდან ყველაზე მეტად იყენებენ საქაროზას. ჩანასახის ზრდასა და განვითარებაზე მასტიმულირებელ მოქმედებას ახდენენ ამინომჟავები (ხშირად იყენებენ გლუტამინს და კახეინის პიდროლიზატს) და ვიტამინები (B, C, ინოზიტოლი, ბიოტინი და სხვა). რიგ შემთხვევაში საკვებ არეს უმატებენ ქოქოსის რძის მოუმწიფებელი ენდოსპერმის ექსტრაქტებს, ქერის ენდოსპერმს, პომიდორის, ქაღვის ნაყოფების წვენებს და სხვა. კულტივირებას ახდენენ 25. . 30°C ტემპერატურის პირობებში. ზოგიერთ შემთხვევაში (მაგ., ციტრუსოვნები) ჩანასახების ნორმალური განვითარება მიმდინარეობს სიბნელეში. ჰიბრიდული მცენარეების კულტივირებისას (მაგ. მარცვლოვანები, ლოტოსი, სამყურა და სხვა) მიმართავენ საწყის მცენარეთა (უფრო მეტად მდებრობითი) ახალგაზრდა ენდოსპერმზე ჩანასახების წინასწარი ტრანსპლანტაციის ტექნიკას, რომლებსაც შემდეგ ათავსებენ საკვებ არეზე (სურ. 180). ეს უზრუნველყოფს ბუნებრივთან მიახლოებულ პირობებს, რადგანაც ენდოსპერმი შეიცავს ტრანსპლანტირებული ჩანასახების გაღივებაზე აქტიურად მოქმედ ფიტოჰორმონებს. მოუმწიფებელი ჰიბრიდული ჩანასახების კულტივირებას ფართოდ იყენებენ ხეხილოვანი მცენარეების, ბამბის, მზესუმზირას, საკვები ბალახების, პომიდორის, ხახვის, მარცვლოვნების, თამბაქოს და სხვა ჰიბრიდიზაციის დროს.

* პოსტგამური შეუთავსებლობის დასაძლევად გარდა მოუმწიფებელი ჰიბრიდული ჩანასახების კულტივირებისა, მცენიერებასა და პრაქტიკაში ფართოდ მიმართავენ აგრეთვე ემბრიოკულტურის მეორე სახეს – **იზოლირებული მომწიფებელი ჩანასახების კულტივირებას.** მას იყენებენ განვითარებელი თესლებიდან ჩანასახების გაღივებისათვის, სელექციური პროცესის დასაჩქარებლად თესლების მოსვენების მდგომარეობიდან გამოყვანისათვის, ძვირფასი ჰიბრიდების მიკროგამრავლებისათვის (ჩანასახის კალუსოგენეზის გზით), ემბრიოგენეზის ფიზიოლოგიის შესწავლისათვის და ა.შ.



სურ. 180. ჰიბრიდული ჩანასახის ტრანსლაცია “ბიბა“- ენდოსპერმზე
 (1, 2 – ჰიბრიდული ჩანასახის გამოყოფა განუვითარებელ ენდოსპერმიანი თესლ-
 კვირტიდან; 3 – ნორმალური ენდოსპერმის გამოყოფა ნორმალურად განუვითარებული
 თესლკვირტიდან; 4 – ჩანასახმოცილებული ნორმალური ენდოსპერმი; 5 – ნორმალურ
 ენდოსპერმში ტრანსპლანტირებული ჰიბრიდული ჩანასახი)

4.15. ჰაპლოიდების მიღება

4.15.1. ჰაპლოიდების მნიშვნელობა

ჰაპლოიდი* – არის ორგანიზმი რომლის უჯრედში ქრომოსომათა ორჯერ ნაკლები რიცხვია (n), ვიდრე საწყის დიპლოიდურ ($2n$) ორგანიზმში.

ჰაპლოიდური მცენარეების გამოყენება უკანასკნელ წლებში მეცნიერთა სულ უფრო მეტ ყურადღებას იპყრობს. იგი გენეტიკურ-სელექციური მუშაობის მთელი რიგი თეორიული და პრაქტიკული საკითხების გადაწყვეტის საშუალებას იძლევა (სურ. 181). ჰაპლოიდებს



სურ. 181. ჰაპლოიდების გამოყენება გენეტიკურ-სელექციურ მუშაობაში

* haploos [ბერძ.] – ერთეული, მარტივი; eidos [ბერძ.] – სახეობა.

იყენებენ მცენარეთა გენეტიკური ანალიზისათვის: სახეობათა გენომური შედგენილობის გაშიფვრა და მათი ტაქსონომიური მდგომარეობის დაზუსტება, გენების ურთიერთმოქმედების შესწავლა, ნიშანთა შეჭიდულობის ჯგუფების და პლაზმურ-ბირთვული თანაფარდობის განსაზღვრა, რაოდენობრივ ნიშნებზე და პოლიგენების ლოკალიზაციაზე მოქმედი გენების რიცხვის დადგენა, მემკვიდრეობაში ციტოპლაზმის როლის გამოვლენა და სხვა; პაპლოიდები უზრუნველყოფენ თვითდამტვერილი მცენარეების ტოლფას, ჰეტეროზისულ სელექციაში დიდი მნიშვნელობის მქონე, სტაბილური ჰომოზიგოტური მცენარეების დაჩქარებულ მიღებას; პაპლოიდები საშუალებას იძლევა სწრაფად მოიძებნოს საჭირო კომბინაცია, ამოკლებენ ჯიშების გამოყვანის დროს და ამცირებენ სასელექციო მასალის რაოდენობას; პაპლოიდები მოხერხებულია მუტაგენეზისათვის, რადგანაც პაპლოიდურ ღონეზე ადვილია რეცესიული მუტაციის გამოვლენა, მათში დომინირების მოვლენის უქონლობის გამო, აქ ყოველი გენი წარმოდგენილია ერთადერთი ალელით და ფენოტიპი მთლიანად ასახავს მათ გენოტიპს; პაპლოიდები უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში სელექციისათვის ახალი უნიკალური გენოტიპების მიღების საშუალებას იძლევა; პაპლოიდებს იყენებენ აპომიქსის წარმოშობისა და გენეტიკური მიზნების გამორკვევისათვის; პაპლოიდები წარმოადგენენ შესაფერის საწყის მასალას ციტოგენეტიკასა და სელექციაში ფართოდ გამოყენებული მონოსომიკებისა და პოლიჰაპლოიდების მიღებაში; პაპლოიდურ უჯრედს აქვს უნიკალური უპირატესობა უჯრედების დაყოფისა და დიფერენცირების შესწავლის საქმეში და საშუალებას იძლევა გამოკვლეულ იქნას თაობათა ცვლა და ა.შ.

4.15.2. პაპლოიდების მიღების ხერხები

პაპლოიდები შეიძლება წარმოიქმნას სპონტანურად, მაგრამ მათი ასეთი წარმოშობის სიხშირე ძალიან დაბალია და შეადგენს დაახლოებით 1.10^{-5} – 1.10^{-6} პაპლოიდების წარმოშობის სიხშირის გადიდებისათვის იყენებენ სხვადასხვა ექსპერიმენტულ მეთოდებს: დამტვერვისა და განაყოფიერების პროცესებზე ფიზიკური და ქიმიური ფაქტორებით ზემოქმედება; სახეობათაშორისი და გვარეობათაშორისი ჰიბრიდიზაციის განხორციელება (ბირთვულ-ციტოპლაზმატური შეუთავსებლობის გამო ხშირად აქვს ადგილი მამრობითი გენომის ელიმინაციას და მდედრობითი ტიპის პაპლოიდური ჩანასახის განვითარებას – “ბუღბოზუშ” მეთოდი); უცხო დამამატვერიანებლების გამოყენება (ხშირად აქვს ადგილი კვერცხუჯრედის განვითარების ინდუქციას); მცენარეების დამუშავება მაიონიზირებული გამოსხივებით; ტემპერატურული შოკების გამოყენება; პოლიემბრიონული თესვების სელექცია; იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურის გამო-

ყენება და ა.შ. ამჟამად ყველაზე უფრო ეფექტურს წარმოადგენს უკანასკნელი მეთოდი, რომელიც უზრუნველყოფს დიდი რაოდენობით ჰაპლოიდების მიღებას.

იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურის მეთოდის გამოყენებით ჰაპლოიდების მიღების სამი ხერხი არსებობს:

1. ანდროგენეზი-ჰაპლოიდების მიღება იზოლირებული მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების (მიკროსპორების) ხელოვნურ საკვებ არეზე კულტივირებისას, ე.ი. ჰაპლოიდების მიღება იზოლირებული მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების კულტურაში.

2. გინოგენეზი – ჰაპლოიდების მიღება იზოლირებული გაუნაყოფიერებელი ნასკვებისა და თესლკვირტების ხელოვნურ საკვებ არეზე კულტივირებისას, ე.ი. ჰაპლოიდების მიღება იზოლირებული გაუნაყოფიერებელი ნასკვებისა და თესლკვირტების კულტურაში.

3. პართენოგენეზი – ჰაპლოიდების მიღება მშობელთა ქრომოსომების შეუთავსებლობის გამო მამრობით ქრომოსომა ელიმინირებულ ჰიბრიდული ჩანასახის ხელოვნურ საკვებ არეზე კულტივირებისას, ე.ი. ჰაპლოიდების მიღება მამრობით ქრომოსომა ელიმინირებულ ჰიბრიდული ჩანასახის კულტურაში.

ანდროგენეზის შედეგად მიღებულ მცენარეებს ეწოდება ანდროგენული ჰაპლოიდები, გინოგენეზის შედეგად – გინოგენული ჰაპლოიდები, ხოლო პართენოგენეზის შედეგად – პართენოგენული ჰაპლოიდები.

4.15.2.1. ანდროგენეზი

იზოლირებული უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში ჰაპლოიდური მცენარეები პირველად მიღებულ იქნა 1964 წელს ინდოელი მკვლევარების ს. გუჰა (S. Guha) და ს. მაგეშვარის (S. Maheshwari) მიერ ლემას მოუმწიფებელი მტვრიანების კულტივირების დროს.

4.15.2.1.1. ანდროგენეზის ტიპები

ანდროგენეზი შეიძლება იყოს ორი ტიპის:

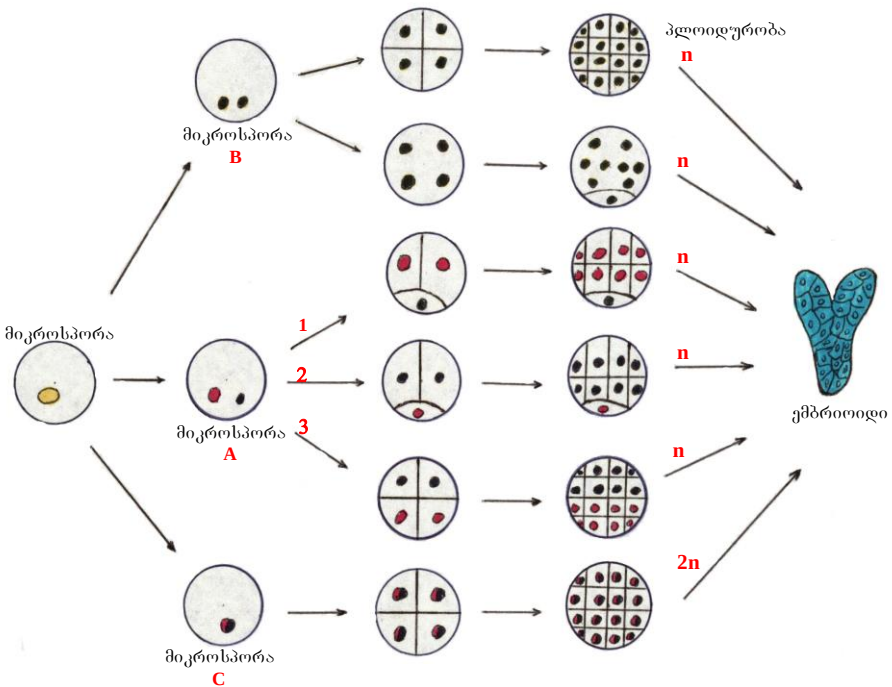
1) პირდაპირი ანდროგენეზი – ჰაპლოიდური მცენარეები წარმოიქმნება მტვრის მარცვლის ემბრიოგენეზის პროცესში: მტვრიანას შიგნით ცალკეული მტვრის მარცვლები (მიკროსპორები) ასინქრონულად იყოფა და წარმოიქმნება ემბრიოიდები (ჩანასახისმაგვარი სტრუქტურები), რომლებიც შემდეგ ღივდება და იძლევა ჰაპლოიდურ მცენარეებს. ანდროგენული მცენარეების წარმოშობის ასეთი გზა დამახასიათებელია ძაღლყურძენასებრთა ოჯახის ზოგიერთი გვარისათვის – თამბაქო, ლემა და სხვა.

2) არაპირდაპირი (ანუ კალუსური) ანდროგენეზი – ჰაპლოიდუ-

რი მცენარეები წარმოიქმნება მტვრიანას ან მტერის მარცვლის (მიკროსპორის) კალუსური ქსოვილის ორგანოგენეზის ან ემბრიოგენეზის პროცესში: მტერის მარცვლის უჯრედები დედიფერენცირდება, იყოფა, წარმოიქმნება კალუსური ქსოვილი, რომელშიც შემდეგ ან ემბრიოდები ვითარდება ან ხდება ორგანოგენეზის ინდუცირება ჰაპლოიდური მცენარეების შემდგომი ფორმირებით. ანდროგენული ჰაპლოიდების წარმოშობის ასეთი გზა დამახასიათებელია მარცვლოვანთათვის – ქერი, ბრინჯი, ხორბალი, ასპარაგუსი და სხვა.

ჰაპლოიდების მისაღებად უფრო პერსპექტიულს წარმოადგენს პირდაპირი ანდროგენეზი, რადგანაც ამ დროს კალუსური ქსოვილი შეიძლება წარმოიქმნას არა მარტო მიკროსპორიდან, არამედ მტვრიანას სომატური უჯრედებიდანაც, რის შედეგად ვითარდება სხვადასხვა პლოიდობის კეტეროზიგოტული მცენარეები.

ანდროგენეზის პროცესში მტერის მარცვლის ემბრიოიდების ფორმირებისას მიკროსპორები (მტერის მარცვლები) განიცდიან ცვლილებებს, რომელიც შეიძლება განხორციელდეს სამი გზით (სურ. 182):



სურ. 182. მტერის მარცვლის ემბრიოდების ფორმირების სქემა

გზა A. მიკროსპორის* ბირთვი იყოფა და წარმოიქმნება ვეგეტატიური და გენერაციული ბირთვი, შემდეგ შეიძლება წარიმართოს შემდეგი პროცესები: 1) იყოფა მხოლოდ ვეგეტატიური ბირთვი, საიდანაც ვითარდება ჰაპლოიდური ემბრიოიდი; 2) იყოფა მხოლოდ გენერაციული ბირთვი, საიდანაც ვითარდება ჰაპლოიდური ემბრიოიდი; 3) იყოფა როგორც ვეგეტატიური, ისე გენერაციული ბირთვი, საიდანაც ვითარდება ჰაპლოიდური ემბრიოიდი.

გზა B. მიკროსპორის ბირთვი იყოფა და წარმოიქმნება 2 სხვადასხვა ღირებულების გენერაციული ბირთვი. შემდეგ ისინი იყოფა და წარმოქმნიან ჰაპლოიდურ ემბრიოდებს.

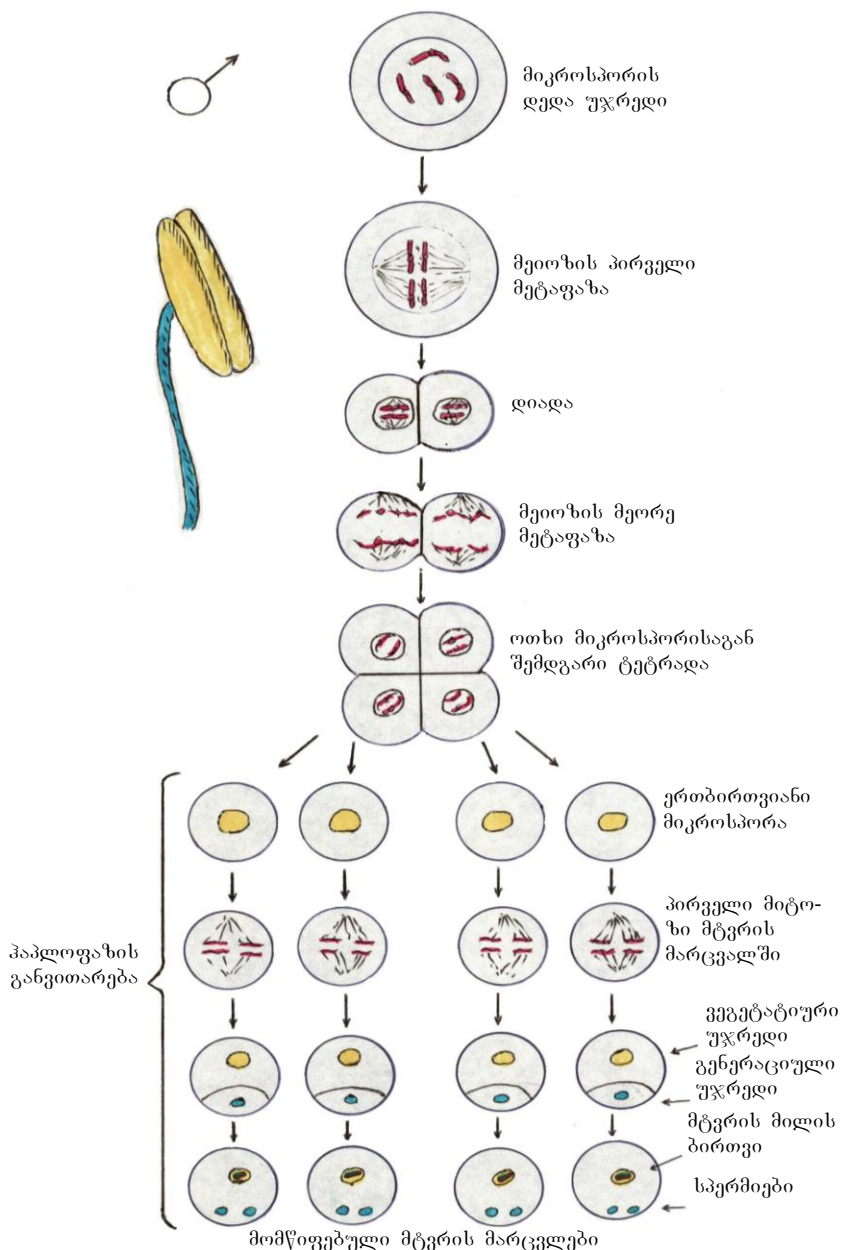
გზა C. მიკროსპორის ბირთვის დაყოფის შემდეგ აღგილი აქვს ვეგეტატიური და გენერაციული ბირთვების შერწყმას, რის შედეგადაც წარმოიქმნება დიპლოიდური ემბრიოიდი, შემდეგ კი – დიპლოიდური მცენარე.

4.15.2.12. ანდროგენეზის მეთოდები

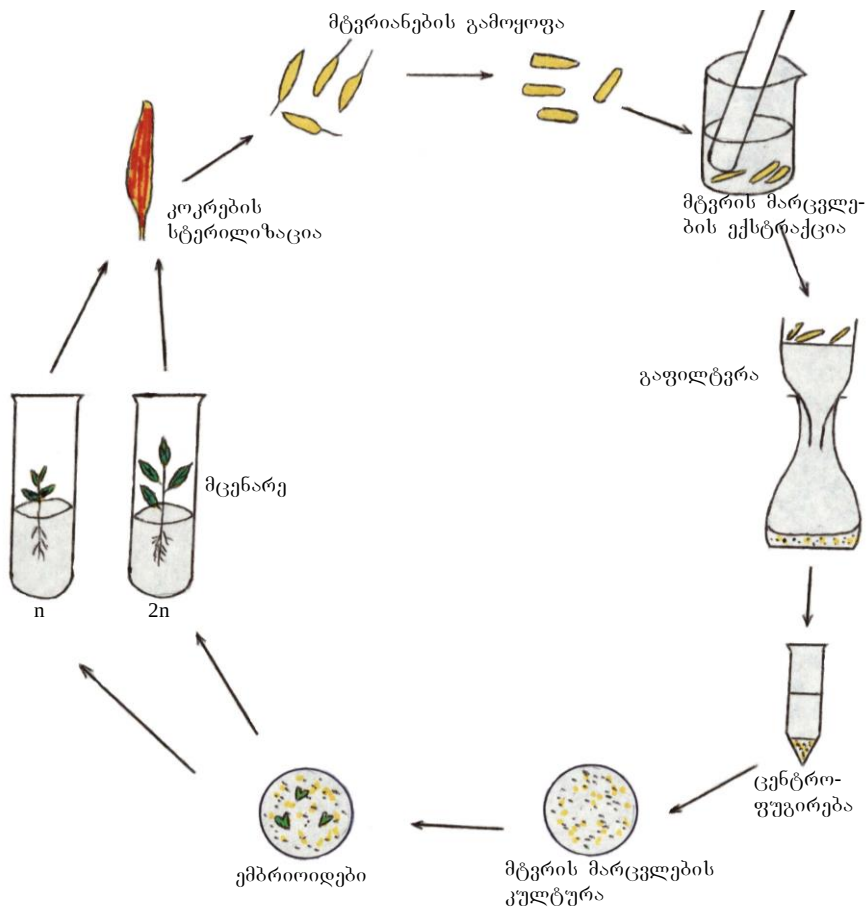
ანდროგენეზის დროს ჰაპლოიდების მისაღებად ყველაზე მეტად იყენებენ მტვრიანებს, რომლებსაც სტერილურად გამოჰყოფენ კოკრუბიდან განვითარების შესაფერის ფაზაში და ახდენენ კულტივირებას ხელოვნურ საკვებ არეზე (**მტვრიანების კულტურის მეთოდი**). მაგრამ მტვრიანების კულტივირებას გააჩნია რიგი უარყოფითი მხარეც: ჯერ ერთი, ამ მეთოდის დროს შესაძლებელია მცენარეების წარმოშობა არა მარტო მიკროსპორის უჯრედებიდან, არამედ მტვრიანას სომატური უჯრედებიდანაც, რადგანაც მტვრიანაში მიკროსპორა (მტვრის მარცვალი) მოთავსებულია მისი სომატური უჯრედების შიგნით, რის გამოც წარმოიშობა სხვადასხვა პლოიდობის მცენარეები; მეორე, მტვრიანას კედლებს შეუძლიათ ანდროგენეზის მაინჰიბირებელი ნივთიერებების პროდუცირება. ამიტომ უფრო ეფექტურს, მაგრამ შრომატევადს წარმოადგენს მტვრის მარცვლების კულტივირება, რადგანაც ისინი თავისუფალია მტვრიანას სომატური უჯრედებისაგან (**მტვრის მარცვლების კულტურის მეთოდი**).

უკანასკნელ პერიოდში მცენარეთა ზოგიერთი სახეობისათვის (თამბაქო, კომბოსტო, პეტუნია, ლემა და სხვა) დამუშავებულია მტვრის მარცვლების კულტურაში ჰაპლოიდების მიღების მეთოდიკა, რომელიც მოიცავს შემდეგ პროცედურებს (სურ. 184): მოჭრილი კოკრების სტერილიზაცია, მტვრიანების გამოყოფა, მტვრის მარცვლის ექსტრაქცია თხევად საკვებ არეში, ხსნარის გაფილტვრა მტვრიანას

* ბუნებრივ პირობებში ნორმალურად მომწიფებული მიკროსპორა შეიცავს ერთ ვეგეტატიურ ბირთვს და ორ გენერაციულ ბირთვს-სპერმიებს. მტვრის მარცვლების ფორმირების თანმიმდევრობა ბუნებრივ პირობებში ყვავილედან მცენარეებში ნაჩვენებია **183-ე** სურათზე.



სურ. 183. მტერის მარცვლების ფორმირება ყვავილოვან მცენარეებში



სურ. 184. ანდროგენეზი მტვრის მარცვლების კულტურაში

მსხვილი ფრაგმენტების მოსაცილებლად, სამჯერადი ცენტროფუგირება მტვრის მარცვლებისა და მტვრიანასაგან უცხო ფრაგმენტების მოსაცილებლად, მტვრის მარცვლების თესვა პეტრის ჯამში თხევად საკვებ არეში, წარმოშობილი ემბრიონიდების პასირება აგარიზებულ საკვებ არეზე, სადაც ემბრიონიდები ვითარდებიან მცენარედ.

4.15.2.13. ანდროგენეზის ხელშეწყობი ფაქტორები

იზოლირებული მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების წარმატებით კულტივირება ხელოვნურ საკვებ არეზე დამოკიდებულია მრავალ

ვალ ფაქტორზე:

1) მიკროსპორის (მტვრის მარცვლის) განვითარების სტადია. მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების წარმატებით კულტივირების ერთ-ერთ ყველაზე მნიშვნელოვან პირობას წარმოადგენს ბუტკოს იზოლირების მომენტი სათვის მიკროსპორის განვითარების სტადია. იგი სხვადასხვა სახეობისათვის სხვადასხვაა. უმეტეს შემთხვევაში იზოლირების ოპტიმალური ვადაა – მიკროსპორის ე.წ. „საშუალო“ ან „გვიანი“ სტადია. ამ დროს ტეტრადისაგან განთავისუფლებული მიკროსპორები განიცდიან ვაკუოლიზაციას და ემზადებიან პირველი მიტოზისათვის. მაგრამ ბევრი სახეობისათვის ოპტიმუმი ვარირებს ტეტრადის სტადიიდან – ორბირთვიან სტადიამდე. მაგალითად, მარცლოვანებსა და კომბოსტოში საუკეთესო შედეგები მიიღება როცა მიკროსპორა იმყოფება ერთბირთვიან სტადიაში, თამბაქოში – პირველი მიტოზის სტადიაში, ძაღლყურძენასებრთა ოჯახში – პირველი მიტოზის დასრულების სტადიაში და ა.შ. მიკროსპორის განვითარების სტადიის ანალიზისათვის არსებობს რამდენიმე მეთოდი.

2) მცენარის გენოტიპი. მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების კულტივირების პროცესი მნიშვნელოვნად დამოკიდებულია მცენარის გენოტიპზე. დღეისათვის ჰაპლოიდური მცენარეები მიღებულია 450-ზე მეტ სახეობასა და ჰიბრიდში. ჰაპლოიდები ყველაზე ადვილად წარმოიქმნება სახეობებში ძაღლყურძენასებრთა ოჯახიდან (ლემა, თამბაქო, პომიდორი, კარტოფილი და სხვა), მარცვლოვანთა ოჯახიდან (ხორბალი, ბრინჯი, ჭვავი და სხვა), ჯვაროსანთა ოჯახიდან (კომბოსტო, რაფსი, მღოვვი, ბოლოკი და სხვა). ბევრი სხვა ოჯახის მცენარეები წარმოადგენენ უფრო რთულ ობიექტს. ჰაპლოიდური ემბრიოიდების წარმოშობის სისწორე სახეობებში ცვალებადობს დიდ ფარგლებში და შეადგენს საკმაოდ დაბალს. ყველაზე ხელსაყრელ მცენარეშიც კი, მაგ., ლემა, მიკროსპორების მხოლოდ 8% ვითარდება ემბრიოიდად.

3) მცენარე-დონორის მოვლა-მოყვანის პირობები. ანდროგენეზის პროცესზე ძლიერ გავლენას ახდენს კულტივირებადი მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების მცენარე-დონორის მოვლა-მოყვანის პირობები. ამიტომ დადებითი შედეგები შეიძლება მიღებულ იქნას მცენარეების მხოლოდ რეგულირებად გარემო პირობებში (ტემპერატურა, ფოტოპერიოდულობა, სინათლის ინტენსივობა და სხვა) მოყვანისას. თითოეული სახეობისათვის ოპტიმალური პირობა სხვადასხვაა, ამიტომ არ არსებობს ერთიანი ზოგადი რეკომენდაცია. მაგალითად, თამბაქოსათვის ოპტიმალურს წარმოადგენს მოკლე დღე (8 სთ) და სინათლის მაღალი ინტენსივობა (11 ათასი ლუქსი), ქერისათვის – დაბალი ტემპერატურა (12°C) და სინათლის მაღალი ინტენსივობა (20 ათასი ლუქსი), საშემოდგომო ჭვავისათვის – 16 საათიანი განათება, სინათლის საშუალო ინტენსივობა (6 ათასი ლუქსი), 20°C ტემპერატურა დღისით და 18°C ტემპერატურა ღამით.

4) **მცენარე-დონორის ასაკი.** ბუტონების იზოლირება უკეთესია მცენარიდან, რომელიც იმყოფება ყვავილობის პერიოდის დასაწყისში. მუშაობის ხანგრძლივი დროის შემთხვევაში, ბუტონების იზოლირება ხდება მცენარიდან და თავსდება პირობებში, რომელიც ანელებს მტერის მარცვლების მომწიფებას.

5) **ბუტონების ან მტვრიანების წინასწარი დამუშავება.** იზოლირებული მტვრიანებისა და მტერის მარცვლების კულტივირების მას-ტიმულირებელ პირობას წარმოადგენს ბუტონების ან მტვრიანების წინასწარი დამუშავება დაბალი დადებითი ტემპერატურით (საშუალოდ 3...7°C). დამუშავების ხანგრძლივობა სხვადასხვა სახეობისათვის ვარირებს 2-დან 28 დღემდე. მაგალითად, ძაღლყურძენისებრთა ოჯახის ზოგიერთი მცენარის ბუტონებს ათავსებენ მაცივარში 3°C ტემპერატურაზე 48 საათის განმავლობაში, ხოლო ქერის მოჭრილ თავთავენს – 4°C ტემპერატურაზე 28 დღის განმავლობაში და ა.შ. დაბალი დადებითი ტემპერატურის ზემოქმედება ხელს უწყობს მიკროსპორის განვითარების პროცესის შეჩერებას და მათი ცხოველყოფილობის შენარჩუნებას (ცივი დამუშავებისას იშლება მტერის მარცვლის უჯრედების შემკვრელი მატრიქსი, იზრდება მიკროსპორის უჯრედის გარსის გამტარობა, ჩერდება პირველი ჰაპლოიდური მიტოზი და, შესაბამისად მტერის მარცვლის განვითარება), რაც იწვევს ჰაპლოიდური ემბრიოიდების წარმოშობის სიხშირის გადიდებას, ზოგჯერ დადებით ეფექტს იძლევა ბუტონებისა და მტვრიანების დამუშავება მაღალი ტემპერატურით (მაგ., რაფსი) ან თანმიმდევრული ცივი და მაღალტემპერატურიანი დამუშავება (მაგ., მდოგვი).

6) **კულტივირების საკვები არე.** საკვები არის შედგენილობა ასრულებს მნიშვნელოვან როლს მიკროსპორის დაყოფის ინდუქციაში. მტვრიანების კულტივირებისათვის იყენებენ მურასიგე-სკუვის ((ძირითადად ძაღლყურძენისებრთა ოჯახი), ნიჩის (ლემა, თამბაქო), უაიტის (პომიდორი, შროშანისებრთა ოჯახი) და სხვა საკვებ არეებს. იყენებენ მყარ (ხშირად აგარ-აგარის ნაცვლად, რომელიც წარმოადგენს ტოქსიკურს ზოგიერთი სახეობის მტვრიანისათვის, იყენებენ გაწმენდილ აგაროზას), თხევად და ორფაზიან (მყარი საკვები არის ზემოთ ასხამენ თხევად არეს) საკვებ არეებს. საქაროზას კონცენტრაცია ასეთ არეებში ზოგი სახეობისათვის (მაგალითად, პომიდორი, წიწაკა, ლემა, თამბაქო, ხახვი, ტიტა და სხვა) საჭიროა დაბალი (2-4%), ხოლო სხვა სახეობისათვის (მაგ., ქერი, ხორბალი, რაფსი, კომბოსტო, ჭვავი და სხვა) – მაღალი (8-12%). მიკროსპორიდან მცენარის წარმოშობის პროცესი საჭიროებს რკინის იონების აუცილებელ მონაწილეობას. საკვებ არეს ჰორმონებს უმატებენ მცენარის სახეობასთან დამოკიდებულებით. უმეტეს შემთხვევაში იყენებენ აუქსინებს, ციტოკინინებს ან ბუნებრივი წარმოშობის რაიმე სუბსტრატს. მაგალითად, ციტოკინინები ეფექტურია ლემასა და კარტოფილისათვის, აუქსინები –

თამბაქოსა და პომიდორისათვის, ხოლო მარცვლოვნებისათვის ეფექტურია აუქსინებიც და ციტოკინინებიც. ხშირად მტვრიანების კულტივირებისას (განსაკუთრებით მარცვლოვნებში) იყენებენ კარტოფილის ექსტრაქტს. პაპლოიდების წარმოშობის ეფექტურობის გადიდების მიზნით მტვრიანების კულტურაში (მაგ., თამბაქო, კარტოფილი, ლემა, ჭვავი და სხვა) ბოლო დროს საკვებ არეს უმატებენ გააქტივებულ ნახშირს, რომელიც ახდენს კულტურაში მტვრიანას მობერებული ქსოვილების მიერ გამოყოფილი ზრდის ინჰიბიტორების (ფენოლები და სხვა) აღსორბირებას.

7) **კულტივირების პირობები.** მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების კულტივირებას ძირითადად ახდენენ 25-დან 30°C-მდე ტემპურატურის, უწყვეტი განათების, მოკლე ან გრძელი დღის, ან ემბრიონების ანდა კალუსის გამოჩენამდე სიბნელის პირობებში.

4.15.2.14. ანდროგენული ჰაპლოიდების ციტო-გენეტიკური თავისებურებები და პრაქტიკული გამოყენება

მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების კულტივირების დროს მიღებული მცენარეების ციტო-გენეტიკური თავისებურებები დამოკიდებულია იმაზე, თუ რა გზით არიან წარმოშობილი ისინი – პირდაპირი ანდროგენეზის გზით, თუ არაპირდაპირი (კალუსური) ანდროგენეზის გზით. პირდაპირი ანდროგენეზის დროს შეიძლება მიღებულ იქნას ნამდვილი ჰაპლოიდები, არაპირდაპირი ანდროგენეზის დროს კი – პოლიპლოიდები (დი-, ტრი-, ტეტრაპლოიდები და ა.შ.) და ანეუპლოიდები (მონოსომიკები, ნულისომიკები და ა.შ.). მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების კულტურაში ნამდვილი ჰაპლოიდების წილი რეგენერანტებს შორის ჯერ კიდევ ძალიან დაბალია. გარდა პლოიდობის გადიდებისა, შეიძლება წარმოიშვას სხვა გენეტიკური ცვლილებებიც წოდებული **გამეტოკლონურ ვარიანტებად**. გამეტოკლონური ცვალებადობის ერთ-ერთ გამოვლინებას წარმოადგენს მცენარე-ალბინოსების (მაგ., მარცვლოვანებში) წარმოშობა. ანდროგენული ჰაპლოიდების ალბინიზმი წარმოადგენს ცხოველმყოფელი ჰაპლოიდური მცენარეების მიღების ერთ-ერთ ხელშემშლელ პრობლემას. ასეთი ქლოროფილდეფექტური მცენარეები განვითარების ადრეულ სტადიაში ილუპებიან და შეიძლება შეიცავდნენ ქრომოსომების როგორც ჰაპლოიდურ, ისე დიპლოიდურ რიცხვს. ხშირად მათი წარმოშობა დამოკიდებულია გენოტიპზე, მცენარე-დონორის მოყვანის ტემპერატურაზე, საკვები არის შედგენილობაზე, მტვრიანებისა და მტვრის მარცვლების კულტივირების ტემპერატურაზე. ალბინიზმის მიზეზი შეიძლება იყოს მუტაცია ან რეცესიული გენების ექსპერსია.

ანდროგენული ჰაპლოიდები წარმოადგენს ძვირფას ექსპერიმენტალურ მასალას მცენარეთა გენეტიკასა და სელექციაში კვლევის ჩა-

ტარებისათვის. ქრომოსომების რიცხვის კოლხიციანით გაორმაგების შემდეგ ადვილად მიიღება ჰომოზიგოტური დიპლოიდური მცენარეები (მათ უწოდებენ **დიჰაპლოიდებს** და აღნიშნავენ – **DH**), რომლებსაც წარმატებით იყენებენ კულტურული მცენარეების დასახული ნიშნების მქონე ახალი ჯიშების სელექციაში. ჰომოზიგოტურ დიჰაპლოიდებს განსაკუთრებით დიდი მნიშვნელობა აქვთ ჰეტეროზისულ სელექციაში. დიჰაპლოიდების გამოყენებით სელექციური მუშაობა მიმდინარეობს მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში, განსაკუთრებით იაპონიაში და ჩინეთში. მაგალითად, ჩინეთში ამ გზით მიღებულია ხორბლის 25 ჯიშში; ბრინჯის 85 ჯიშში და პერსპექტიული ფორმა; სიმინდის პერსპექტიული ფორმები; წიწაკას მაღალმოსავლიანი, იმუნური და მაღალხარისხიანი ჯიშები; თამბაქოს რიგი მაღალპროდუქტიული ჯიშები და ა.შ. ანდროგენული ჰაპლოიდების გამოყენებით დიდი მიღწევებია მოპოვებული კარტოფილის, რაფის, ჭვავის და სხვა კულტურების სელექციაში. ანდროგენულ ჰაპლოიდებს წარმატებით იყენებენ არა მარტო პრაქტიკულ სელექციაში, არამედ გენეტიკურ ინჟინერიასა და უჯრედულ სელექციაშიც. მტერის მარცვლები ზოგიერთ შემთხვევაში წარმოადგენს უფრო ხელსაყრელ ობიექტს კვლევისათვის გენეტიკურ ტრანსფორმაციაში, ვიდრე პროტოპლასტები.

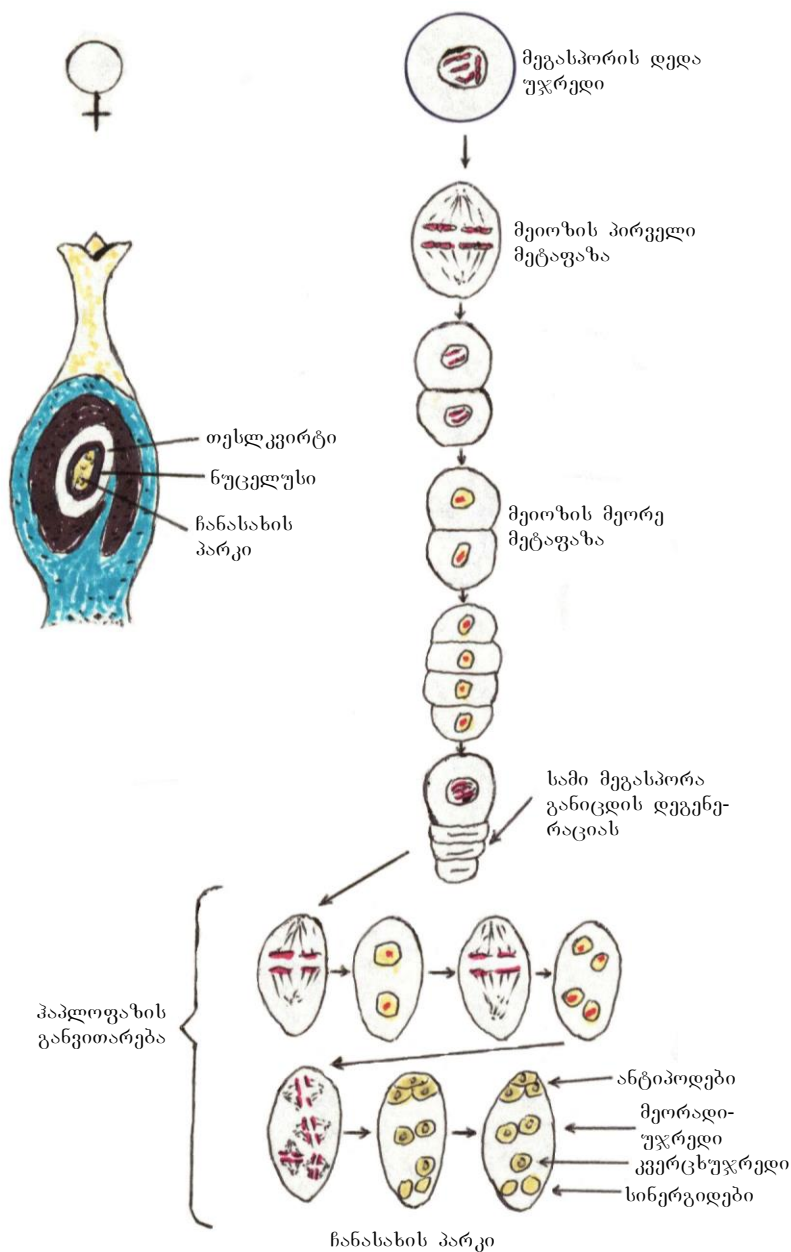
4.15.2.2. ბიომჟნეზი

იზოლირებული გაუნაყოფიერებელი ნასკვებისა და თესლკვირტების კულტურაში პირველი ჰაპლოიდური მცენარე მიღებულ იქნა 1976 წელს ქერში.

ჰაპლოიდების მიღება იზოლირებული გაუნაყოფიერებელი ნასკვებისა და თესლკვირტების კულტურაში ტარდება გაცილებით ნაკლებად, ვიდრე იზოლირებული მტვრიანებისა და მტერის მარცვლების კულტურაში. მაგრამ უკანასკნელ წლებში ადგილი აქვს ამ მიმართულებით მუშაობის ინტენსიფიკაციას, განსაკუთრებით მამრობითი ხაზით სტერილურ და კულტურაში მტვრიანების დაბალი მორფო-გენეტიკური პოტენციალის მქონე მცენარეებში.

რადგანაც გაუნაყოფიერებელი ნასკვებისა და თესლკვირტების კულტივირებისას ჰაპლოიდურ მცენარეს საწყისს აძლევს ჩანასახის პარკის უჯრედები (კვერცხუჯრედი, ანტიპოდები, სინერგიდები)* და არა ნასკვისა და თესლკვირტის სხვა უჯრედები, იდეალურ შემთხვევაში საჭიროა არა ნასკვებისა და თესლკვირტების, არამედ იზო-

* ბუნებრივ პირობებში ნორმალურად დიფერენცირებული ჩანასახის პარკი შედგება კვერცხუჯრედის, ორი სინერგიდის, ცენტრალური (მეორადი) უჯრედისა და სამი ანტიპოდისაგან (სურ. 185).



სურ. 185. ჩანასახის პარკის ფორმირება ყვავილოვან მცენარეებში

ლირებული ჩანასახის პარკების კულტივირება. მაგრამ რადგანაც ჩანასახის პარკების გამოყოფა მეთოდურად გაძნელებულია, მიმართავენ ნასკვებისა და თესლკვირტების კულტივირებას.

გინოგენეზი, ისე როგორც ანდროგენეზი, შეიძლება იყოს ორი ტიპის:

1) პირდაპირი გინოგენეზი – ჰაპლოიდური მცენარეები წარმოიქმნება ჩანასახის პარკის უჯრედებიდან ემბრიოიდების განვითარების პროცესში. ჰაპლოიდების წარმოშობის ასეთი გზა ახასიათებს ხორბალს, ქერს, სიმინდს და სხვა მცენარეს.

2) არაპირდაპირი (კალუსური) გინოგენეზი – ჰაპლოიდური მცენარეები წარმოიშევა ჩანასახის პარკის კალუსური ქსოვილის ორგანოგენეზის ან ემბრიოგენეზის პროცესში. ჰაპლოიდების წარმოშობის ასეთი გზა ახასიათებს შაქრის ჭარხალს, სიმინდს და სხვა მცენარეს.

არაპირდაპირი გინოგენეზის დროს პროლიფერაციას განიცდიან ჩანასახის პარკის ირგვლივ მყოფი სომატური ქსოვილების (ნუცელუსი, ინტეგუმენტები) უჯრედებიც, რის შედეგადაც ადგილი აქვს დიპლოიდური და პოლიპლოიდური მცენარეების წარმოშობას.

დღეისათვის გინოგენული ჰაპლოიდები მიღებულია რიგ მცენარეებში, მათ შორის ხორბალში, ბრინჯში, თამბაქოში, შაქრის ჭარხალში, სიმინდში, მხესუმშირაში, შროშანში, ბამბაში, კარტოფილში და სხვა.

გინოგენული ჰაპლოიდების მიღება დამოკიდებულია მრავალ ფაქტორზე: მცენარის გენოტიპი, ჩანასახის პარკის განვითარების სტადია, მცენარე-დონორის მოვლა-მოყვანის პირობები, კულტივირების არე და ა.შ.

გინოგენულ ჰაპლოიდებში ალბინიზმი შედარებით ნაკლებადია გამოხატული, ვიდრე ანდროგენულ ჰაპლოიდებში.

გაუნაყოფიერებელი ნასკვებისა და თესლკვირტების კულტივირებისათვის ყველაზე მეტად იყენებენ მურასიგე-სკუვის, ჰამბორგის (B₅), N-6 და სხვა საკვებ არეებს ფიტოჰორმონებისა და ვიტამინების დამატებით. კულტივირებას აწარმოებენ 23-28°C ტემპერატურის პირობებში.

4.15.2.3. პართენოგენეზი

ეს ხერხი ყველაზე უკეთესადაა შესწავლილი ქერის მცენარეში (*Hordeum vulgare*), მისი ველურ სახეობა *H. Bulbosum*-თან შეჯვარების დროს. ამიტომ ამ ხერხს ასევე უწოდებენ – „**ბუღბოზუმ მეთოდს**.“

მოცემული ხერხის არსი მდგომარეობს იმაში, რომ ქერის მცენარის ველურ სახეობა *H. Bulbosum*-თან შეჯვარებისას, პიბრიდული ჩანასახის უჯრედების დაყოფის დროს გენეტიკური შეუთავსებულობის გამო ადგილი აქვს მამრობითი ქრომოსომების ელიმინაციას და

ჰაპლოიდური ჩანასახის განვითარების დაწყებას. მაგრამ შემდეგ ამ უკანასკნელის ნორმალური განვითარება დედა მცენარეზე მუხრუჭდება და ამიტომ მიმართავენ მის იზოლირებას და *in vitro* ხელოვნურ საკვებ არეზე გამოზრდას.

ამ ხერხით კანადაში მიღებულია ქერის ჯიშები მინგი, როდეო, უკრაინაში – ოდესის-15. ჰაპლოიდების მიღებას ქრომოსომების ელიმინაციის მეთოდით გააჩნია ბევრი ღირსება. ჰაპლოიდები შეიძლება ერთნაირი წარმატებით იქნას მიღებული ქერის სხვადასხვა ჯიშებსა და ჰიბრიდებში, მიღებული ჰაპლოიდების რიცხვი ძალიან მაღალია, არაჰაპლოიდური მცენარეების მიღების შესაძლებლობა ძალიან დაბალია, არ წარმოიქმნება მცენარე-ალბინოსები. ამ ხერხით შესაძლებელია ჰაპლოიდების მიღება ხორბალშიც.

4.16. მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვა (უჯრედებისა და ქსოვილების ბანკი)

4.16.1. მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვის მნიშვნელობა და ამოცანები

ბუნების დაცვის საერთო პრობლემაში ცენტრალურს წარმოადგენს მცენარეების არსებულ სახეობათა გენოფონდის ხანგრძლივი შენარჩუნების პრობლემა.

ამჟამად ბევრი მცენარის, მათ შორის სასოფლო-სამეურნეო მცენარეების გაქრობის ან შემცირების დიდი საშიშროებაა.

მცენარეთა სამყაროს მრავალფეროვნების შენარჩუნებისათვის არსებობს სხვადასხვა ნაკრძალები, ბოტანიკური ბაღები, ცოცხალი მცენარეებისა და თესლების მუდამ განახლებადი კოლექციები („თესლების ბანკი“) და სხვა. მაგრამ მრავალფეროვნების შენარჩუნების ეს ტრადიციული ხერხები არასაკმარისია. ნაკრძალები არ იძლევა მათ ტერიტორიაზე არსებული ყველა სახეობის მცენარეთა შენარჩუნების სრულ გარანტიას. ბოტანიკურ ბაღებში ჩვეულებრივ შენარჩუნებულია მხოლოდ მცენარეთა ვიწრო ჯგუფები ან ცალკეული წარმომადგენლები. თესლების ბანკი ვერ წყვეტს იმ მცენარეთა გენოფონდის შენარჩუნების პრობლემას, რომლებიც თესლით გამრავლებისას ყოველთვის ვერ ინარჩუნებენ ძვირფას ნიშნებს, გარდა ამისა, ბევრი მცენარე საერთოდ მრავლდება მხოლოდ ვეგეტატიური გზით.

დღეისათვის მცენარეული სამყაროს გენოფონდის ხანგრძლივი შენარჩუნების ყველაზე ეფექტურ და ეკონომიურ ხერხს წარმოადგენს მათი უჯრედებისა და ქსოვილების კრიოშენახვა, ე.ი. უჯრედებისა და ქსოვილების ბანკის (კრიობანკის) შექმნა.

კრიოშენახვა ბერძნული სიტყვაა („Kryos“-სიტყივე, ყინვა, ყინული) და ნიშნავს გაყინულ მდგომარეობაში შენახვას. მისი არსი მდგომარეობს იმაში, რომ სპეციალურ სინჯარებში ან ამპულებში მოთავსებული მცენარეთა უჯრედები და ქსოვილები გარკვეული დამუშავების შემდეგ იყინება და ინახება შემდგომი გაღებობით ძალიან დაბალ ტემპერატურაზე: გაზისებური აზოტის (დაახლოებით -150°C) ან თხევადი აზოტის (-196°C) ტემპერატურაზე.

შენახვის აღნიშნული ხერხის მთავარი უპირატესობა მდგომარეობს იმაში, რომ უჯრედები და ქსოვილები გადადის ღრმა ცივი ანაბიოზის მდგომარეობაში, ე.ი. ამ დროს შექცევადად ჩერდება ან უკიდურესად მუხრუჭდება მეტაბოლიტური და ბიოლოგიური დაშლის პროცესები. გარდა ამისა, ამ გზით შენახული მასალა რჩება გენეტიკურად სტაბილური, ადგილი აქვს მიწის ფართობების, მატერიალური და შრომითი დანახარჯების შესამჩნევ ეკონომიას. ამასთანავე, გარან-

ტირებულია მასალის შენახვა პრაქტიკულად ნებისმიერი დროის განმავლობაში.

გენოფონდის კრიოშენახვა თავის მთავარ ამოცანად აყენებს შექმნას მცენარეთა: 1) გადაშენების პირას მისული (ე.ი. იშვიათი და გაქრობის პირას მყოფი) სახეობების, 2) გენეტიკურ-სელექციურ, ბიოტექნოლოგიურ და სამეურნეო მუშაობაში რეალური ან პოტენციური ღირებულების მქონე, უნიკალური და პერსპექტიული სახეობების, ჯიშების და მათი ველური წინაპრების, 3) მხოლოდ ვეგეტატიურად მრავლებადი სახეობებისა და ჯიშების უჯრედებისა და ქსოვილების ბანკი.

მცენარეთა უჯრედებისა და ქსოვილების ზედაბალ ტემპერატურაზე გაყინვის ობიექტად იყენებენ: მერისტემებს, პროტოპლასტებს, მტვრიანებს, მტვრის მარცვლებს, სუსპენზიურ კულტურებს, კალუსურ ქსოვილებს, ჩანასახებს, თესლებს და სხვა.

გენოფონდის კრიოშენახვა სელექციურ მუშაობაში საშუალებას იძლევა ნებისმიერ დროს სელექციონერის უზრუნველყოფას მუშაობისათვის საჭირო ნიშნის მატარებელი გენოტიპით.

4.16.2. მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვის ისტორია

კრიობიოლოგიის (ბერძნ. „Kryos“- სიცივე, ყინვა, ყინული; + ბიოლოგია) – სხვადასხვა ბიოლოგიურ ობიექტებზე და პროცესებზე დაბალი ან ზედაბალი ტემპერატურის მოქმედების შემსწავლელი მეცნიერების განვითარება დაიწყო ჯერ კიდევ XX საუკუნის დასაწყისში. მას შემდეგ რაც 1900 წელს **კ. ლინდემ (K. Linde)** და **ჯ. დიუარმა (J. Duarte)** პირველად მიიღეს მნიშვნელოვანი რაოდენობის თხევადი ჰაერი, აზოტი და წყალბადი. მაგრამ პრაქტიკულად მცენარეთა უჯრედების შენახვის კრიოგენული მეთოდების დამუშავება დაიწყო მხოლოდ 60-იან წლებში. და ეს მიუხედავად იმისა, რომ ჯერ კიდევ 1905 წელს პირველად იქნა გაყინული თხევად აზოტში თესლები, ხოლო 1908-1912 წლებში **აკად. ნ.ა. მაქსიმოვის** მიერ დაწყებულ იქნა მცენარეთა და მათი უჯრედების ყინვაგამძლეობის ფუნდამენტური შესწავლა, შემდეგ კი ამ უკანასკნელის მოსწავლე **ი.ი. თუმანოვის** მიერ დამუშავებულ იქნა ყინვაგამძლე მცენარეების გამოწოთობის თეორია.

პირველი სამუშაოები in vitro კულტივირებადი უჯრედებისა და ქსოვილების გაყინვაში ჩატარებულ იქნა 1968 წელს ხეხილოვანი მცენარეების ქსოვილებზე და სელის უჯრედულ კულტურებზე. აღნიშნულმა მიმართულებამ ფართო განვითარება მოიპოვა მას შემდეგ, რაც **კ. ნაგმა (K. Nag)** და **ჰ. სტრიტმა (H. Street)** 1973 წელს დაადგინეს თხევადი აზოტის ტემპერატურაზე (-196°C) შენახული ალვის ხის უჯრედული კულტურების კარიოტიპური მუდმივობა, სომატური ემბრიო-

გენეზისა და მცენარის რეგენერაციის უნარი. შემდეგ **ა. საკაი** (**A. Sakai**) და **ი. სიგავარა** (**Y. Sygawara**) გამოაქვეყნეს ცნობები -196°C ტემპერატურამდე ეტაპობრივი გაყინვისას ალვის ხის კალუსური ქსოვილების გადარჩენის შესახებ. 1974 წელს **მ. სეიბერგმა** (**M. Seiberg**) მიიღო ანალოგიური შედეგები მიხაკის კენწრული მერისტემიდან, ხოლო 1977 წელს გამოაქვეყნა ცნობა ამ ქსოვილებიდან, წინასწარი გამოწეროების პირობებში გადარჩენილი და მთლიან მცენარედ განვითარებული ქსოვილების პროცენტის გადიდების შესახებ. **ჯ. ჰენშოუმ** (**J. Hanchou**) თანაავტორებთან ერთად აჩვენა -196°C ტემპერატურამდე ძალიან სწრაფი გაყინვისა და გაღვლის შემდეგ კარტოფილისა და პომიდორის მერისტემული ქსოვილების გადარჩენის შესაძლებლობები, ხოლო **მ. ტაკეუჩი** (**M. Takeuchi**) – გამოწეროების შემდეგ ნელი გაყინვისას მარშანციის ქსოვილების გადარჩენის შესაძლებლობები.

შემდეგში ამ მიმართულების განვითარებაში დიდი წვლილი შეიტანეს **რ. ლატის** (**R. Latii**); **ი. სიგავარას** (**Y. Sigawara**), **ა. საკაის** (**A. Sakai**) და **ბ. ფინკლის** (**B. Finkly**); **დ. დუგალის** (**D. Dougall**); **ჰ. სტრიტის** (**H. Street**), **კ. ნაგის** (**K. Nag**) და **ლ. უოტერსის** (**L. Withers**); **ე. ნისლონის** (**E. Nilsson**); **ბ. ფინკლის** (**B. Finkly**) და **ჯ. ულრიხის** (**J. Ulrich**); **ა. პოპოვის** (**A. Попов**) და სხვათა შრომებმა.

დღეისათვის მცენარის უჯრედებისა და ქსოვილების კრიოშენახვა წარმოადგენს ყველაზე თანამედროვე და პერსპექტიულ ხერხს და მისი მეთოდები დამუშავებულია 50-ზე მეტ სახეობაში კულტივირებადი უჯრედებისათვის, 18 სახეობაში კალუსური კულტურებისათვის, 15 სახეობაში იზოლირებული პროტოპლასტებისათვის, 21 სახეობაში მერისტემებისათვის.

4.16.3. დაბალი ტემპერატურის მოქმედებისას მცენარეთა უჯრედების დაზიანება, დაღუპვა და დაცვის მიქანიზმი

კრიშენახვის მეთოდის დამუშავებას საფუძვლად უდევს დაბალი ტემპერატურის მოქმედებისას უჯრედების დაზიანების, დაღუპვის და დაცვის მექანიზმის შესახებ შემდეგი თეორიული შეხედულებები.

გაყინვის, შენახვისა და შემდგომი გაღვლის დროს უჯრედების დაზიანება დაკავშირებულია ერთი მხრივ, **ყინულის წარმოშობასთან უჯრედის შიგნით ან გარეთ**, და მეორე მხრივ – **მათ დეჰიდრატაციასთან (ანუ გაუწყლოებასთან)**.

ყინული ჩვეულებრივ ჯერ უჯრედის ირგვლივ გარეთა ხსნარში (უჯრედშორისებში) წარმოიშობა. იგი დაკავშირებულია წყლის მოლეკულების თბური მოძრაობის შენეებასთან, რის შედეგადაც ადგილი აქვს **კრისტალიზაციის ცენტრების წარმოქმნას**. ამ პროცესის ალბათობა ბევრად იზრდება რაც უფრო გადაცივებულია წყალი. ასე, თუ -1°C ტემპერატურაზე კრისტალიზაციის ცენტრის წარმოქმნისათვის 486

აუცილებელია წყლის დაახლოებით 4 მლნ მოლეკულამ დაიკავოს ყინულის კრისტალური ბადის შესაბამისი ადგილი, -30°C ტემპერატურაზე ამისათვის საკმარისია – მხოლოდ 100 მოლეკულა.

წარმოქმნილი კრისტალიზაციის ცენტრები შემდეგ იწყებენ ზრდას და მიიღება ყინულის კრისტალები, რომლებიც მით უფრო მატულობენ მოცულობაში, რაც უფრო გადაცივებულია წყალი. უჯრედის ხსნარის შედგენილობასთან დამოკიდებულებით ყინულის კრისტალების ზრდის სიჩქარე მაქსიმალურია -20°C -დან -60°C -მდე ტემპერატურის დიაპაზონში. ტემპერატურის შემდგომი დაწვეისას ზრდა ნელდება, ხოლო -140°C ... -150°C ტემპერატურაზე – მთლიანად წყდება.

უჯრედებისათვის საშიშია სწორედ ამ კრისტალიზაციის ცენტრების ზრდა უფრო დიდ კრისტალებად, რადგანაც მათ კიდევებს შეუძლიათ უჯრედული მემბრანების დაშლა, მეტაბოლიტური პროცესების დეზორგანიზება და დარღვევა.

ციტოპლაზმის გაყინვის წერტილი დაახლოებით -1°C -ია, მაგრამ ხშირად უჯრედებში ყინული არ ჩნდება უკიდურეს შემთხვევაში -10°C ... -15°C ტემპერატურამდე, რადგანაც ისინი ალბათ არ შეიცავენ კრისტალიზაციის ცენტრის ეფექტურ ინიციატორებს, ხოლო ციტოპლაზმის გარეთა მემბრანა (პლაზმალემა) ამ ტემპერატურამდე რადაცნაირად თავიდან აცილებს უჯრედგარეთა ყინულის უჯრედის შიგნით შეღწევას.

უჯრედის შიგნით ყინული წარმოიქმნება სწრაფი გაყინვის დროს, რადგანაც ამ დროს წყალი ვერ ასწრებს უჯრედიდან გამოსვლას. ნელი გაყინვის დროს წყალი ასწრებს უჯრედიდან გამოსვლას და იყინება გარეთა ხსნარში, ე.ი. უჯრედგარეთა ყინული თამაშობს წყლის გამოქაჩვის როლს.

იდეალურ პირობას წარმოადგენს უჯრედიდან ყველა თავისუფალი წყლის მოცილება, რაც უჯრედის შიგნით მისი გაყინვის შესაძლებლობას სპობს. ამისათვის კი აუცილებელია უჯრედის ნელი გაყინვა. მაგრამ ამ დროს ჩნდება მეორე დამაზიანებელი ფაქტორი – უჯრედის დეჰიდრატაცია (ანუ გაუწყლოება). იგი იწვევს ტოქსიკური მარილებისა და მეტაბოლიტების კონცენტრაციის ამაღლებას, ოსმოტური სტრესის გადიდებას, პროტოპლასტების შეკუმშვას – პლაზმოლიზს და სხვა, რის შედეგადაც ადგილი აქვს უჯრედების დაღუპვას.

უჯრედები შეიძლება დაიდუპოს აგრეთვე ყინულის გაღვლის დროსაც, რადგან ამ შემთხვევაში შეიძლება მოხდეს ინტენსიური **რეკრისტალიზაცია*** იმ უწყრილესი კრისტალებისა, რომლებმაც მართალია მოასწრეს წარმოქმნა, მაგრამ სწრაფი გაყინვის გამო ვერ მოახერხეს საშიშ ზომამდე გაზრდა და მკვეთრი, სწრაფი **დეპლაზმო-**

* **რეკრისტალიზაცია** – არის ტემპერატურის გადიდებისას წვრილი კრისტალების კრისტალიზაციის ცენტრის ზრდის შედეგად ყინულის შედარებით მსხვილი კრისტალების წარმოქმნის პროცესი.

ლიზი* წყლის ისევ შთანთქმისას.

თეორიულად არსებობს ყინულის წარმოქმნის თავიდან აცილების გზა – **წყლის ვიტრიფიკაცია**, ე.ი. მისი ამორფულ მდგომარეობაში გადასვლა. ამ დროს უჯრედებში წყლის ნაწილი გადადის მყარ, მაგრამ არა კრისტალურ მდგომარეობაში, რაც არაა საშიში უჯრედებისათვის. მაგრამ სუფთა წყლის ვიტრიფიკაცია შეუძლებელია ან უკიდურესად რთულია, რადგანაც ამისათვის აუცილებელია ტემპერატურის 0°C . . -150°C -მდე ინტერვალის „გავლა“ ისე სწრაფად ($10000^{\circ}\text{C}/\text{წთ-ზე}$ მეტი), რომ იგი პრაქტიკულად შეუძლებელია.

ხსნარის კონცენტრაცია დაბლა სწევს მისი გაყინვის წერტილს და ადიდებს სიბლანტეს. რიგი შენაერთების მოლეკულები, მათ შორის დაბალმოლეკულურისაც კი (მაგ., საქაროზა), თავის ირგვლივ ბოჭავენ წყალს და ამით ასევე ზრდიან უჯრედული ხსნარის სიბლანტეს. განსაკუთრებით ძლიერ ბოჭავენ წყალს პროტოპლაზმის შედგენილობაში შემავალი ცილების და სხვა ბიოპოლიმერების მაკრომოლეკულები. ასეთი ნივთიერებების კოლოიდურ ხსნარში მნიშვნელოვნად მცირდება ყინულის კრისტალების ზრდის სიჩქარე და მატულობს ტემპერატურა, რომლის დროსაც მათი ზრდა მთლიანად წყდება.

უჯრედში სპეციალური ნივთიერებების – **კრიოპროტექტორების**** დამატება ასევე დაბლა სწევს წყლის გაყინვის წერტილს, ადიდებს სიბლანტეს, აბრკოლებს კრისტალიზაციას და აადვილებს ვიტრიფიკაციას.

ამრიგად, კრიოშენახვისას ზემოთაღნიშნული პრობლემების გადაწყვეტისათვის აუცილებელია პროგრამული გაყინვა ოპტიმალური სიჩქარით და სპეციალური ნივთიერებების – კრიოპროტექტორების გამოყენება.

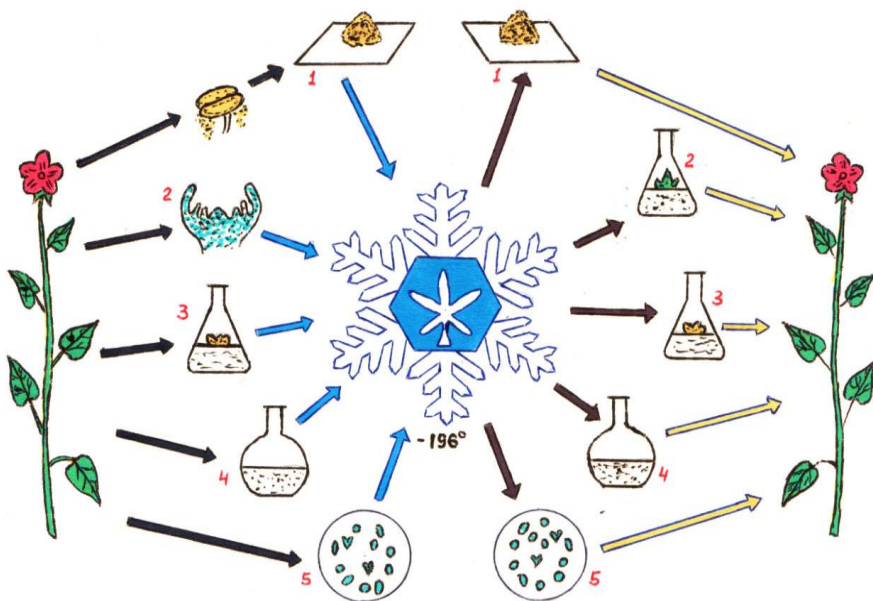
4.16.4. მცენარეული ბენოფონდის კრიოშენახვის ტექნოლოგია

კრიოშენახვის ტექნოლოგიური პროცესი მრავალეტაპიანია. იგი შედგება შემდეგი მნიშვნელოვანი და ურთიერთდაკავშირებული ეტაპებისაგან (სურ. 186):

- 1) უჯრედებისა და ქსოვილების მომზადება;
- 2) კრიოპროტექტორების დამატება;
- 3) პროგრამული გაყინვა;
- 4) თხევად ან გაზისებურ აზოტში შენახვა;
- 5) გაღებობა;
- 6) კრიოპროტექტორის მოცილება;

* **დეპლაზმოლიზი** – პლაზმოლიზის საწინააღმდეგო მოვლენა, ე.ი. წყლის შეწოვის შედეგად უჯრედის ტურგორულ მდგომარეობაში დაბრუნება.

** ამ ნივთიერებებზე დაწვრილებით თქმულია ქვევით გვ. 490.



სურ. 186. მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვის ძირითადი ეტაპები

(შავი ისრები – უჯრედებისა და ქსოვილების მომზადების ეტაპები: **1** – მტერის შეგროვება, **2** – მერისტემის გამოყოფა, **3** – კალუსის მიღება, **4** – სუსპენზიური კულტურები, **5** – ემბრიონების კულტურა; **ცისფერი ისრები** – პროგრამული გაყინვა; **ცენტრში** – თხევად ან გაზისებურ აზოტში შენახვა; **ყავისფერი ისრები** – უჯრედებისა და ქსოვილების რეკულტივირება; **ყვითელი ისრები** – მცენარეების რეგენერაცია)

7) უჯრედებისა და ქსოვილების ცხოველყოფელობის განსაზღვრა;

8) რეკულტივირება და მცენარეთა რეგენერაცია.

უჯრედებისა და ქსოვილების მომზადება კრიოშენახვისათვის ხელს უწყობს უჯრედის გადარჩენის უნარის გადიდებას, რადგანაც იწვევს წყლის შემცველობის შემცირებას, კრიოპროტექტორის შეღწევის გაუმჯობესებას, უჯრედების ზომის შემცირებას, უჯრედების გამოწრობას, დეჰიდრატაციისას სხვადასხვა ფაქტორების სტრესული მოქმედების შენელებას და ა.შ. იგი მოიცავს სხვადასხვა ხერხებს: 1) უჯრედების ხანგრძლივი წინასწარი კულტივირება ოსმოტიკურ ნაერთებში (მანიტი, სორბიტი და სხვა); 2) მყარი უჯრედული სტრუქტურ-

ბის (მერისტემები, ემბრიოიდები და სხვა) წინასწარი კულტივირება საკვებ არეში; 3) გამოწრთობა შაქრების მონაწილეობით დაბალ და-ღებით ტემპერატურაზე; 4) წინასწარი კულტივირება ამინომჟავებთან (პროლინი, ასპარაგინი, ალანინი, სერინი და სხვა), 5) უჯრედების და-ყოფის სინქრონიზაცია და კრიოშენახვისათვის უჯრედების ნიმუშე-ბის აღება ზრდის ლაგ-ფაზის დასაწყისში ან შუაში, და მიტოზის პი-კის დროს; 6) პასაჟის ხანგრძლივობის შემცირება და სხვა.

კრიოშენახვის დარგში დიდი წარმატებების მოპოვება დაკავში-რებულია კრიოპროტექტორების გამოყენებასთან. კრიოპროტექტორე-ბი* - არის ნივთიერებები, რომლებიც ამცირებენ გაყინვითა და გალ-ღობით გამოწვეული ოსმოსური და მექანიკური სტრესისაგან უჯრე-დების დაზიანებას. ეს ნივთიერებები ამცირებენ უჯრედების გამტა-რობას, ამცირებენ გაყინვის დროს მარილებისა და ზოგიერთი მეტა-ბოლიტების გადიდებული კონცენტრაციის ტოქსიკური მოქმედებას, ამცირებენ წყლის გაყინვისა და გადაცივების წერტილებს, ზრდიან უჯრედის ხსნარის სიბლანტეს, ანელებენ ყინულის კრისტალების ზრდას და ვიტრიფიკაციას ხდიან უფრო ადვილად მისაწვდომს და ა.შ. კრიოპროტექტორებს მიეკუთვნება ჰეტეროგენული (ქიმიური შედ-გენილობის მიხედვით არაერთგვაროვანი) ბუნების, დაბალ- და მა-ღალმოლეკულური ორი ტიპის შენაერთები: **შედწევადი** - დიმეთილ-სულფოქსიდი (დმსო), გლიცერინი, მეთანოლი, საქაროზა და სხვა, და **შუედწევადი** - პოლიეთილენგლიკოლი (პეგ), დექსტრანი, პოლივინილ-პიროლიდინი და სხვა.

კრიოპროტექტორებს ახასიათებთ გარკვეული ტოქსიკურობა, ამიტომ მათ ძალიან ფრთხილად იყენებენ. კრიოპროტექტორების შერ-ჩევა ხდება უმცირესი ტოქსიკურობისა და ოპტიმალური ეფექტის პრინციპით. გაღღობის შემდეგ ცდილობენ უჯრედიდან მათ სწრაფ მოცილებას. დიდი მნიშვნელობა აქვს კონცენტრაციას, სხვადასხვა კრიოპროტექტორების სწორ შეხამებას, პროცედურის ჩატარების ტემ-პერატურას, კრიოპროტექტორების დამატების ხერხს. კონცენტრაციის ოპტიმიზაცია ხდება ემპირიულად ობიექტის თავისებურებიდან გამომ-დინარე. ჩვეულებრივ ამზადებენ ორმაგ კონცენტრაციას და კულტივი-რების საკვებ არეზე შეტანის წინ ანზავებენ (მაგ., დმსო-ს იყენებენ 5-10% კონცენტრაციით, გლიცერინს 10-20%). კრიოპროტექტორებს იყე-ნებენ სუფთა სახით ან რამდენიმეს ერთად შერეულს. უკანასკნელი აუცილებელია უჯრედების ოსმოსური დაზიანების შესუსტებისათვის. ჩვეულებრივ ერთმანეთში ურევენ სხვადასხვა მოქმედების მექანიზმის მქონე კრიოპროტექტორებს. კულტივირების საკვებ არეს კრიოპრო-ტექტორებს უმატებენ დაბალი (მაგ., დაახლოებით 0°C) ან ოთახის ტემპერატურის პირობებში. კრიოპროტექტორების დამატების ორ ხერ-

* **Kryos** [ლათ.] - სიცივე, ყინვა, ყინული; **protestor** [ლათ.] - მფარველი, დამცველი.

ხი არსებობს: თანდათანობითი და ერთჯერადი. მათი შერჩევის მთავარ მიზანს წარმოადგენს თვით კრიოპროტექტორის მიერ გამოწვეული ოსმოსური გაწონასწორებისათვის საჭირო დროის უზრუნველყოფა და კრიოპროტექტორების მეტისმეტი ტოქსიკური მოქმედების თავიდან აცილება.

კრიოშენახვის წარმატებისათვის დიდი მნიშვნელობა აქვს **გაყინვის რეჟიმს**. გამომდინარე იქედან, რომ სწრაფი გაყინვისას წყალი ვერ ასწრებს უჯრედიდან გამოსვლას და მის შიგნით წარმოიქმნება ლეტალური ყინული, ხოლო ნელი გაყინვისას ვლინდება გაუწყლოების (დეჰიდრატაციის) მაგნე ეფექტი და საკვებ არეში მარილებისა და მეტაბოლიტების მაღალი კონცენტრაციის ტოქსიკურობა, იყენებენ **პროგრამულ გაყინვას**, რომელიც უზრუნველყოფს ორი ურთიერთსაწინააღმდეგო მოქმედების დამღუპველი ძალის გაწონასწორებას, და მაშასადამე, უჯრედებისა და ქსოვილების მაქსიმალურ გადარჩენას. პროგრამული გაყინვა ითვალისწინებს ტემპერატურის დაწევას ერთ ან რამდენიმე ეტაპად, მკაცრად დაცული მუდმივი სიჩქარით ყოველი ეტაპის ფარგლებში.

დღეისათვის არსებობს გაყინვის რამდენიმე მეთოდი (სურ. 187):

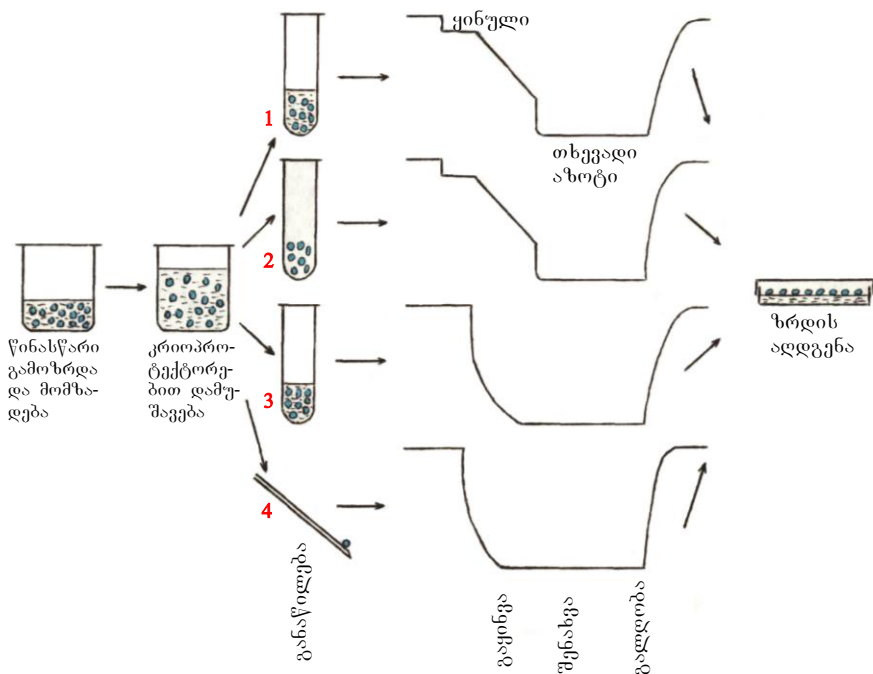
1. ნელი თანდათანობითი გაყინვა – წინასწარი მომზადებისა და კრიოპროტექტორებით დამუშავების შემდეგ უჯრედებისა და ქსოვილების ნიმუშებს ანაწილებენ სინჯარებში ან ამპულებში და ტემპერატურის დაწევას ახდენენ მუდმივი სიჩქარით, ან 0°C-ზე დაბლა გარკვეულ ტემპერატურამდე, ხოლო შემდეგ სინჯარები ან ამპულები გადააქვთ თხევად აზოტში, ან თხევადი აზოტის ბოლო უარყოფით ტემპერატურაზე.

2. მშრალი გაყინვა – წინასწარი მომზადებისა და კრიოპროტექტორებით დამუშავების შემდეგ უჯრედებისა და ქსოვილების ნიმუშებს ათავისუფლებენ უკანასკნელისაგან, ანაწილებენ სინჯარებში ან ამპულებში და ტემპერატურის დაწევას ახდენენ იგივე რეჟიმით, როგორც წინაში.

3. სწრაფი გაყინვა – წინასწარი მომზადებისა და კრიოპროტექტორებით დამუშავების შემდეგ უჯრედებისა და ქსოვილების ნიმუშებს ანაწილებენ სინჯარებში ან ამპულებში და პირდაპირ ათავსებენ თხევად აზოტში.

4. ზესწრაფი გაყინვა – წინასწარი მომზადებისა და კრიოპროტექტორებით დამუშავების შემდეგ უჯრედებისა და ქსოვილების ნიმუშებს აფიქსირებენ, მაგალითად, კანქვეშა ინექციის ნემსებზე და ასეთი სახით პირდაპირ ათავსებენ თხევად აზოტში.

მაგალითად, ზოგიერთი უჯრედული სუსპენზიისა და პროტოპლასტებისათვის, ყველაზე მეტად იყენებენ შემდეგ პროგრამულ გაყინვას: ნელი თანდათანობითი გაყინვა 6...0°C ტემპერატურიდან კრიოპ-



სურ. 187. პროგრამული გაყინვის მეთოდები

(1 – ნელი თანდათანობითი გაყინვა; 2 – მშრალი გაყინვა;
3 – სწრაფი გაყინვა; 4 – ზეხწრაფი გაყინვა)

როტექტორის ხსნარის გაყინვის წერტილზე* 1-2°C-ით დაბალ ტემპერატურამდე, შემდეგ კრისტალიზაციის ხელოვნური ინიციატორი ("ფალია")** სინჯარების ან ამპულების ბოლო ნაწილის თხევად აზოტში 1.0-1.5 წამის განმავლობაში შეხებით და ტემპერატურის შემდგომი სტაბილიზაცია ანუ იმავე ტემპერატურაზე დატოვება 20-40 წთ განმავლობაში, შემდეგ -35...-40°C-მდე – ნელი თანდათანობითი გაყინვა 0.5-1.0°C/წთ სიჩქარით,*** -35...-40°C-ზე დაბლა გაყინვის სიჩქარის 10°C/წთ-მდე გაზრდა, ხოლო -70...-100°C ტემპერატურის შემდეგ– პირ-

* კრიოპროტექტორის გაყინვის წერტილი სხვადასხვაა, მაგალითად, 5%-იანი დმსო-თვის – -158°C, 10%-იანი დმსო-თვის – -35°C, გლიცერინისათვის – -2.0°C, საქაროზისათვის – -1.2°C და ა.შ.

** კრისტალიზაციის ინიციატორის შედეგად ტემპერატურის დაწვეის შესაბამისად წყალი თანდათან გამოდის უჯრედიდან უჯრედგარეთა ყინულის მზარდი კრისტალებისაკენ.

*** მყარი და მსხვილი უჯრედული და ქსოვილური სტრუქტურების შემთხვევაში მიზანშეწონილია კიდევ უფრო დაბალი სიჩქარე – 0.1-0.25°C/წთ.

დაპირ თხევად აზოტში გადატანა.

კრისტალიზაციის ინიციატორი (“ფალია”) აუცილებელია წყლის წინასწარი გადაცივების შემცირებისათვის, რადგანაც უკანასკნელი ბევრად ზრდის ყინულის კრისტალების ზრდის სიჩქარეს. საკმე იმა-შია, რომ ტემპერატურის ნელი თანდათანობითი დაწვეისას სპონტანური კრისტალიზაცია იწყება წყლის მნიშვნელოვანი გადაცივების დროს – $-7. . -11.5^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურაზე. ტემპერატურის $20-40^{\circ}\text{C}$ წუთით სტაბილიზაცია აუცილებელია კრისტალიზაციისათვის და გაყინვის აპრატურის (გამყინავის) კამერისა და სინჯარის ტემპერატურების სრული გათანაბრებისათვის.

დაზიანების ფაქტორების თავიდან ასაცილებლად, მათ შორის ყინულის კრისტალების განმეორებით წარმოქმნის, აუცილებელია გაყინული უჯრედებისა და ქსოვილების შენახვა კრისტალიზაციის გამომრიცხავ დაბალ ტემპერატურაზე, ე.ი. 140°C –ზე დაბლა. პრაქტიკულად ამისათვის ყველაზე ხელსაყრელია თხევადი და გაზისებური აზოტის გამოყენება, რომელიც გაყინვის სიჩქარის ფართო ტემპერატურულ დიაპაზონში რეალიზაციის საშუალებას იძლევა. ამასთან, ბიოლოგიური ობიექტი იყინება ტემპერატურამდე, რომელიც მთლიანად გამორიცხავს თხევად ფაზას, ე.ი. ხერხდება ფუნქციონალური და ბიოქიმიური პროცესების მთლიანი შექცევადი შეჩერება. აზოტი, განსხვავებით სხვა სიცივის წარმომქმნელი ნივთიერებებისაგან, ადვილი მისაწვდომი, მარტივად მისაღები, ბიოლოგიურად ინერტული, არაცეცხლსაშიში, იაფფასიანი და ბიოლოგიაში კარგად ათვისებული ნივთიერებაა. უჯრედებიან და ქსოვილებიან სინჯარებს ან ამჟღავნებს ათავსებენ, ან პირდაპირ თხევად აზოტში, სადაც ტემპერატურა შეადგენს -196°C , ან თხევადი აზოტის ორთქლში (გაზში), სადაც ტემპერატურა შეადგენს დაახლოებით -150°C .

კრიოშენახვის საპასუხისმგებლო და ხშირად კრიტიკულ ეტაპს წარმოადგენს ასევე გაღებობა. ნელი გაღებობის დროს უჯრედში ხდება ყინულის რეკრისტალიზაცია, ე.ი. გაყინვის დროს (განსაკუთრებით სწრაფი გაყინვის) წარმოქმნილი წვრილი კრისტალების ზრდა, რომელიც ხშირად (საშიშ ზომამდე გაზრდისას) დამღუპველ მოქმედებას ავლენს. ამიტომ გაღებობის ეტაპის ძირითად ღონისძიებას წარმოადგენს – სწრაფი გაღებობა. ამ დროს სინჯარებს ან ამჟღავნებს თხევადი აზოტიდან პირდაპირ ათავსებენ წყლის აბაზანაში 40°C ტემპერატურაზე* და ანჯდრევენ ყინულის გაღებობამდე (დახლოებით $60-75^{\circ}\text{C}$ წამი). ყინულის უკანასკნელი კრისტალის გაქრობის შემდეგ სინჯარები ან ამჟღავნები გადააქვთ 0°C ტემპერატურის წყლის აბაზანაში.

* ზოგჯერ ობიექტის, სინჯარების ან ამჟღავნების ზომისა და გეომეტრიის თავისებურებიდან გამომდინარე წყლის აბაზანაში ტემპერატურა შეიძლება იყოს 35°C -დან 45°C -მდე და 60°C -ც კი.

კრიოპროტექტორების მოცილების (გადარეცხვის) პროცედურა დაკავშირებულია უჯრედებზე გარკვეულ ზემოქმედებასთან. მას ახორციელებენ განზავებით, რესუსპენდირებით, უჯრედების დალექვით ან ცენტროფუგირებით. ყველა ეს ოპერაცია პირველ რიგში მოქმედებს უჯრედის მემბრანაზე, რომელიც წარმოადგენს კრიოდაზიანების ძირითად სამიზნეს. ამიტომ არატოქსიკური ან მცირეტოქსიკური კრიოპროტექტორების გამოყენებისას სასურველია არ ჩატარდეს მათი მოცილება – ეს მხოლოდ აუარესებს შედეგს. რადგანაც უჯრედებმა უკვე გადაიტანეს ძლიერი ოსმოსური სტრესი, მათი ნაწილი დაიღუპა, გადარჩნენ მხოლოდ უფრო გამძლენი და ისინიც იმყოფებიან სიკვდილისა და სიცოცხლის ზღვარზე, ამიტომ აუცილებელია მათი შემდგომი დაზიანების მინიმუმამდე დაყვანა. გაღლობის შემდეგ უჯრედები და ქსოვილები ასეთი კრიოპროტექტორებით (მაგ., გლიცერინი, საქაროზა, პროლინი და სხვა) გადააქვთ პირდაპირ საკვები არის ზედაპირზე პეტრის ჯამში, სადაც შემდეგ ხდება კრიოპროტექტორის ნული თანდათანობითი დიფუზია საკვებ არეში და მაშასადამე, უჯრედების დეპლასმოლიზი უფრო რბილ პირობებში. მაგრამ ტოქსიკური კრიოპროტექტორების გამოყენებისას (მაგ., დმსო) აუცილებელია აღნიშნული ნივთიერების სწრაფი მოცილება. ხშირად ამისათვის ატარებენ ორ-, სამჯერად პროცედურას. ჩვეულებრივ მას აკეთებენ დაბალი ან ოთახის ტემპერატურის პირობებში.

კრიოშენახვის შემდეგ **უჯრედებისა და ქსოვილების ცხოველ-მყოფელობის განსაზღვრისათვის** არსებობს ბევრი სპეციფიკური მეთოდი. ჩვეულებრივ შეფასებას ახდენენ გაღლობის შემდეგ. სწრაფი შეფასებისათვის იყენებენ უჯრედების ცხოველმყოფელობის სპეციალურ ტესტებს, დეტალური რაოდენობრივი შეფასებისათვის სწავლობენ უჯრედებისა და ქსოვილების ზრდას, ხოლო თვისობრივი შეფასებისათვის ატარებენ მიკროსკოპულ, ფიზიოლოგიურ და ბიოქიმიურ ანალიზებს. ცხოველმყოფელობის ტესტები საშუალებას იძლევა გაღლობის შემდეგ უკვე მეორე დღეს განისაზღვროს მაჩვენებლები. დღეისათვის არსებობს რამდენიმე ტესტი: 1) შეღებვა ფლუორესცინდიაცეტატით (ფდა-ტესტი); 2) შეღებვა ევანსის ლილით; 3) შეღებვა ფენო-საფრინინით; 4) 2,3,5-ტრიფენილტეტრაზოლქლორიდის აღდგენა (ტტქ-ტესტი). პირველ სამ ტესტს იყენებენ უჯრედული სუსპენზიების, პროტოპლასტებისა და კალუსებისათვის, მეოთხეს-კალუსებისა და მყარი უჯრედული სტრუქტურებისათვის. ამ ტესტების არსი მდგომარეობს იმაში, რომ გარკვეული საღებავებით უჯრედების შეღების შემდეგ ულტრაიისფერ სინათლეზე, სინათლის მიკროსკოპის ქვეშ ან შთანთქმული ტალღების გაზომვით ადვილად ვლინდება “ცოცხალი” უჯრედები. უჯრედებისა და ქსოვილების ზრდის შესწავლას ახდენენ ხელოვნურ საკვებ არეზე მათი კულტივირების პროცესში და მოიცავს ზრდის განსაზღვრის ყველა სტანდარტულ ხერხს (სუსპენზიის ნედ-

ლი და მშრალი მასის მატება), პირდაპირ მიკროსკოპულ დაკვირვებას და სხვა. სინათლის მიკროსკოპი დაზიანების ხარისხის და უჯრედებში აღდგენითი პროცესების დეტალური შეფასების საშუალებას იძლევა. ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური ანალიზები მოიცავს: 1) სუნთქვის ინტენსივობის გაზომვას, 2) მემბრანების მთლიანობის ტესტებს, 3) მეორადი პროდუქტების სინთეზს, 4) იზოფერმენტების ელექტროფორეზს და სხვა.

რეკულტივირებას ანუ უჯრედული და ქსოვილური კულტურების განახლებას და მცენარეთა რეგენერაციას ახდენენ უჯრედებისა და ქსოვილების ზრდის ინტენსიფიკაციის ყველა ცნობილი ხერხის გამოყენებით.*

მცენარეული ობიექტების კრიოშენახვასთან დაკავშირებული ტექნოლოგიები ძალიან სწრაფად ვითარდება და სრულყოფილი ხდება. უახლოეს დროში აუცილებლად მოხდება მცენარეთა სხვადასხვა სახეობისა და ჯიშებისათვის ყოველი ეტაპის პირობების ოპტიმიზაცია.

კრიოშენახვის პრაქტიკული მხარის შესწავლის შედეგები – კრიობანკში მოთავსებული მცენარეული მასალის სელექციაში, მეთესლეობაში და სხვა მიზნით გამოყენების ვარგისიანობა, ადასტურებს მის მაღალ საიმედოობას: მცენარეული მასალა წარმოადგენს გენეტიკურად სტაბილურს, ე.ი. არ არის გენური, ქრომოსომული და სხვა სახის ცვალებადობები.

4.16.5. მცენარეული ბენოფონდის კრიოშენახვაში გამოყენებული ხელსაწყოები, ინსტრუმენტები და მასალები

კრიოშენახვაში გამოყენებულია სხვადასხვა ხელსაწყოები. მათ შორის ძირითადს წარმოადგენს პროგრამული გამყინავები, რომლებიც უზრუნველყოფენ გაყინვის სხვადასხვა სიჩქარეს (0.25-დან 75°C/წთ-მდე).** მათ აგებულებაში შედის მუშა კამერა, რომელიც იყინება დაპროგრამებული სიჩქარით თხევადი აზოტის ორთქლის ან უშუალოდ თხევადი აზოტის შეყვანით. გაყინვისათვის გამოყენებულია აგრეთვე უფრო მარტივი და მობილური აპარატებიც, სადაც იყენებენ დიუარის ტურბლის ან პენოპლასტის ყუთის ტიპის კონტეინერის მაიზოლირებელ თვისებას. უჯრედებისა და ქსოვილების შენახვისათვის ყველაზე მეტად იყენებენ მაცივრებს, რომლებიც იყინება თხევადი აზოტით. მათში ტემპერატურა შეადგენს -196°C უშუალოდ თხევადი აზოტის შემთხვევაში და დაახლოებით -150°C თხევადი აზო-

* ყველაზე რთულ შემთხვევებში რეკომენდირებულია გაღლობილი უჯრედების თესვა ქაღალდის “ხიდებზე” პეტრის ჯამში, თხევად საკვებ არეში დიფუზიის გზით ტოქსიკური კრიოპროტექტორების მოცილებით.

** არსებობს ხელსაწყოები, სადაც გაყინვის სიჩქარე შეადგენს 400-1100°C/წთ.

ტის ორთქლის შემთხვევაში. სინჯარები და ამჟღეები ასეთ მაცივრებში ინახება მოძრავ ყუთებში. გაღებობისათვის იყენებენ წყლის აბაზანებს, რომლის შიგნით დასენიანების შესამცირებლად მოთავსებულია კონტეინერი სტერილური წყლით.

კრიოშენახვის სხვადასხვა ეტაპზე იყენებენ შემდეგ ინსტრუმენტებს და მასალებს: პინცეტებს, პრეპარირებულ ნემსებს, კანქვეშა ინექციის ნემსებს (უჯრედებისა და ქსოვილების მომზადების ეტაპზე); სტერილური პოლიპროპილენის* სინჯარებს და ამჟღეებს ხრახნიანი სახურავებითა და მისაწერი ადგილით, ფოლგის პაკეტებს, პოლიეთილენის პაკეტებს (პროგრამული გაყინვის ეტაპზე); სტერილურ პასტერის პიპეტებს, პინცეტებს (გაღებობის ეტაპზე) და სხვა.

* კრიოშენახვაში მინის ნაცვლად იყენებენ პოლიპროპილენს.

4.17. მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღება

4.17.1. მცენარეთა მეორადი სინთეზის ნივთიერებები და უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში მათი მიღების მნიშვნელობა

უძველესი დროიდან მცენარეებს იყენებენ არამარტო როგორც კვების, საშენი მასალის, ენერგიის, ქაღალდის და სხვა წყაროს, არამედ როგორც მრავალფეროვანი ქიმიური ნივთიერებების, მათ შორის სამკურნალო პრეპარატების, ინსექტიციდების, კვების დანამატების, სურნელოვანი ნივთიერებების, საღებავების და სხვა მომწოდებლებს.* ამაჟამადაც, წარმოების ქიმიური და მიკრობიოლოგიური ხერხების მაღალი განვითარების დროსაც, მცენარე ჯერ კიდევ რჩება იმ შენაერთების მიღების წყაროდ, რომელთა წარმოება ან ძალიან რთულია, ან ძალიან ძვირი (ხელსაყრელი არ არის). ყველაზე მეტ ინტერესს ამ მხრივ იწვევს მცენარეთა მეორადი სინთეზის ნივთიერებები.

უმაღლესი მცენარეები პირველადი სინთეზის ნივთიერებების** (დაბალმოლეკულური შენაერთები, რომლებიც წარმოიქმნება უჯრედის ცხოველმოქმედებისათვის აუცილებელი სხვადასხვა ბიოქიმიური რეაქციების შედეგად) გარდა პროდუცირებენ (ასინთეზებენ) მეორადი სინთეზის ნივთიერებებს*** (დაბალმოლეკულური შენაერთები, რომლებიც არაა აუცილებელი უჯრედის გადარჩენისათვის). უკანასკნელნი მიეკუთვნებიან ბიოლოგიურად აქტიურ შენაერთებს, წარმოიქმნიან განვითარების გვიან ფაზაში და გარკვეულ გავლენას ახდენენ ბიოლოგიურ პროცესებზე ორგანიზმში.

მცენარეები შეიცავენ ძალიან ბევრ სხვადასხვანაირ მეორადი სინთეზის ნივთიერებებს, რომლებიც ქიმიური შედგენილობის მიხედვით მიეკუთვნება ნივთიერებების სხვადასხვა კლასს. ქვემოთ (ცხრილი 21) წარმოდგენილია ამ ნივთიერებების ზოგიერთი კლასი და მათი ფუნქციები მცენარეებში.

მეორადი სინთეზის ნივთიერებებს აქვთ უდიდესი პრაქტიკული მნიშვნელობა ეროვნული მეურნეობის სხვადასხვა დარგში, მათ შორის მედიცინაში, სოფლის მეურნეობაში, პარფიუმერიაში, კვებისა და ქიმიურ მრეწველობაში და ა.შ. 22-ე ცხრილში მოტანილია ზოგიერთი მათგანის სახალხო მეურნეობის დარგებში გამოყენების შესახებ

* მცენარეული სამყაროს ბიოსინთეტიკური შესაძლებლობები უზარმაზარია: ცნობილია მცენარეებიდან მიღებული დაახლოებით 2.10⁴ ნივთიერება; ახლად აღმოჩენილი ნივთიერებების რიცხვი იზრდება სიჩქარით ~ 1600 ნივთიერება წელიწადში.

** ერთნი მათ შორის წარმოადგენენ საშენ ბლოკებს, სხვები საჭიროა კოფერმენტების (ფერმენტების არაცილოვანი ნაწილი) სინთეზისათვის.

*** მეორადი სინთეზის ნივთიერებებს პროდუცირებენ აგრეთვე ბაქტერიები, სოკოები და წყალმცენარეები.

**ზოგიერთი კლასის მეორადი სინთეზის ნივთიერებების
ფუნქციები ინტაქტურ მცენარეებში**

ცხრილი 21

ნივთიერების კლასი	ფუნქციები
ალკალოიდები	ასიმილაცია, ტრანსპორტი, აზოტის ცვლა, ინფექციისაგან დაცვა
ბეტალინები	ეკოლოგიური, ვირუსოვანი და სოკოვანი ინფექციისაგან დაცვა
გლუკოზინოლიტები	ინფექციისაგან დაცვა, ინსექტიციდები
კაროტინოიდები	ფოტოსინთეზი, O ₂ -საგან დაცვა
არაცილოვანი ამინომჟავები	ბიოტური ფაქტორებისაგან დაცვა
სტეროიდები	მემბრანის კომპონენტები, ინფექციისაგან დაცვა, ინსექტიციდები
ტერპენოიდები	ეკოლოგიური, ინფექციისაგან დაცვა
ფენოლები	ჰორმონალური, ეკოლოგიური, ინფექციისაგან დაცვა

ცნობები. მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პრაქტიკულ მნიშვნელობაზე ლაპარაკობს ის ფაქტიც, რომ მარტო მედიცინაში გამოყენებული ყველა სამკურნალო საშუალების 25% შეიცავს მცენარეული წარმოშობის ნივთიერებებს.

უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურის ერთ-ერთ თავისებურებას წარმოადგენს – **უჯრედების მიერ მცენარის კონკრეტული სახეობისათვის დამახასიათებელი მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუცირების უნარის შენარჩუნების შესაძლებლობა**, ე.ი. უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურა საშუალებას იძლევა მიღებულ იქნას მეორადი სინთეზის ნივთიერებები ლაბორატორიული (სარეწველო) გზით საწყისი (მაპროდუცირებელი) მცენარეებისაგან დამოუკიდებლად.

პირველად 1974 წელს **მ. ტელმა და რ. გოტრემ** დაადგინეს, რომ შავი ლენცოფას უჯრედების კულტურა წარმოადგენს ალკალოიდების პროდუცენტს. ამ შრომიდან დაიწყო მეორადი სინთეზის ნივთიერებების უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში მიღების შესაძლებლობების შესწავლაში გამოკვლევების ინტენსიფიკაცია. პირველ მაგალითს უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურის, როგორც მეორადი სინთეზის ნივთიერების სამრეწველო მიღების წყაროს სერიოზული

ცხრილი 22

მეორადი სინთეზის ნივთიერება	ეროვნული მეურ- ნეობის დარგი	პრაქტიკული დანიშნულება
კოდენინი (ალკალოიდი)	მედიცინა	ტკივილგამაყუჩებელი
დიოსგენინი (სტერო- იდი)		ჩასახვის საწინააღ- მდეგო
ქინინი (ალკალოიდი)		მალარიის საწინააღ- მდეგო
რეზერპინი (ალკალო- იდი)		წნევის დამწვევი, დამამ- შვიდებელი
დიგოქსინი (გლიკოზი- დი)		გულის სამკურნალო
ატროპინი (ალკალოი- დი)		ტკივილგამაყუჩებელი
სკოპოლამინი (ალკა- ლოიდი)		წნევის დამწვევი
ვინკრისტინი (ალკალო- იდი)		ლეიკემიის საწინააღ- მდეგო
დიგიტოქსინი (გლუკო- ზიდი)		სისხლ-ძარღვების
პირეტრინი (გლუკო- ზიდი)		სოფლის მეურნეობა
ტაუმატინი (ჰალკონები)	კვების მრეწველობა	შაქრის შემცველი და- ბალკალორიული ნივ- თიერება
ჟასმინი	პარფიუმერია	სურნელოვანი ნივთი- ერება

გამოყენებისა, წარმოადგენს **ჯ. რუტიესა (J. B. Routier)** და **ლ. ნიკელის (I. G. Nickell)** 1956 წელს გაკეთებული საპატენტო განაცხადი. მნიშვნელოვანი პროგრესი ამ მიმართულებით დაიწყო 1973-1974 წლებიდან – უჯრედებისა და ქსოვილების კულტივირების მეთოდების სრულყოფის დაწყებიდან.

ამჟამად მცენარეთა მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პრაქტიკულად ყველა კლასი შეიძლება მიღებულ იქნას უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში. XX ს. 70-იანი წლების ბოლოსთვის ცნობილი იყო მეორადი სინთეზის ნივთიერებების 12 კლასის 100-ზე მეტი შენაერთი. დღეისათვის ეს რიცხვი გაზრდილია არა ნაკლებ 3-ჯერ. ქვემოთ ჩამოთვლილია ზოგიერთი მათგანი:

ალკალოიდები: აიმალიცინი, აიმალინი, ანაბაზინი, ატროპინი, რეზერპინი, სერპანტინი, სკოპოლამინი, კატარანტინი, მორფინი, კოდუინი, ტაბაინი, ნიკოტინი, ქინინი და სხვა.

ანტრაქინონები: იუგლონი, 3-მეთილქინიზარინი, 3-მეთილიურინი, ალიზარინი, ფისციონი, ემოდინი და სხვა.

ამინები: პეტრესცინი, სპერმიდინი, ტრიტამინი, მესკალინი და სხვა.

კაროტინოიდები: ლუტეინი, ლიკოპინი, β-კაროტინი, ფიტონი, ფიტოფლუენი და სხვა.

კუმარინები: სკოპოლეტინი, უმბელიფერონი, რეტაკულტინი, ქსანტოქსინი, რუტარეტინი და სხვა.

გულის გლიკოზიდები (კარდენოლიდები): დიგიტოქსინი, გიტოქსინი, დიგოქსინი და სხვა.

სტეროიდები და მათი წარმოებულები: β-სიტოსტეროლი, სტიგმასტეროლი, კამპესტეროლი, დიოსგენინი, ციკლოარტენოლი, ლანოსტეროლი და სხვა.

ტანინები: D-გლუკოგალინი, ჰალოტანინი, (+)კატეხინი, (-)ეპიკატეხინი და სხვა.

ტერპენები და ტერპენოიდები: ამირინი, ლიმონენი, მენტოლი, ლოგანინი, ფარნეზოლი, აბციზინის მჟავა, ქოლესტენი და სხვა.

ფენოლური ნაერთები: ორცინოლი, კატეხოლი, კუმარინის მჟავა, ტიმოლი, ევგენოლი, სინენსეტინი, აპიგენინი, ციანიდინი, კემიფეროლი, პეტუნიდინი და სხვა.

ჰალკონები: ტაუმატინი და სხვა.

2000 წლისათვის ფართო სამრეწველო გამოყენება მოიპოვეს შემდეგმა მეორადი სინთეზის ნივთიერებებმა – **უბიქონინი-10** (ვიტამინი; პროდუქცენტი თამბაქო), **იატრარიზინი** (სპაზმალტიკური საშუალება; პროდუცენტი ბარბარისი), **შიკონინი** (ჭრილობებისა და დამწვრობის საშუალება; პროდუცენტი კაკბის საკენკელა), **დიოსგენინი** (ჩასახვის საწინააღმდეგო საშუალება; პროდუცენტი დიოსკორეა), **აიმალინი** (ალკალოიდი, პროდუცენტი რაუვოლფია) და სხვა.

უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღებას როგორც ამ ნივთიერებების ინტაქტიური (მთლიანი) მცენარეებიდან მიღების ალტერნატიულ გზას, გააჩნია გარკვეული უპირატესობები:

1. გარემოს სხვადასხვა ფაქტორის, მათ შორის კლიმატური პირობების, გეოგრაფიული და სეზონური შეზღუდვების გავლენისაგან დამოუკიდებლობა.

2. მავნებლებისა და დაავადებებისაგან იზოლირება.

3. საჭირო პროდუქტის კონკრეტულ დროში და საჭირო რაოდენობით მიღების შესაძლებლობა და ამ გზით მკაცრი კონტროლი ბაზრის მომარაგებაზე.

4. საჭირო პროდუქტის მიღების ვადის შემცირება. მაგალითად, ჟენ-შენის ფესურა ბუნებრივ პირობებში ალკალოიდების სინთეზს იწყებს 30-წლიანი ასაკიდან. უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში ჟენ-შენის კალუსი იზრდება რამოდენიმე თვეს და იწყებს ამ ნივთიერებების სინთეზს.

5. ნივთიერებების მიღება რთულად მოსაყვანი ან დასანერგი მცენარეებიდან.

6. პროდუქციის უფრო მაღალი გამოსავლიანობა და ხარისხი.

7. მცენარე-პროდუცენტების ქვეშ დაკავებული მიწის ფართობების ეკონომია.

8. „პოლიტიკური“ გავლენისაგან თავისუფლება.

გარდა ამისა, უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში ხშირად შეიძლება მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღება მეტი რაოდენობით, ვიდრე ინტაქტური მცენარე-პროდუცენტებისაგან. რაც ძალიან მნიშვნელოვანია ტექნოლოგიური პროცესის განვითარებისა და გაზრდისათვის. მაგალითად, სერპანტინის შემცველობა კატარანტუსის უჯრედულ კულტურაში 100-ჯერ იზრდება ინტაქტურ მცენარესთან შედარებით, ბიოტინის – ლავანდის უჯრედულ კულტურაში 15-ჯერ, აიმალინის – რაუვოლფიის უჯრედულ კულტურაში 10-ჯერ და ა.შ. აღნიშნული მეთოდი საშუალებას იძლევა აგრეთვე მიღებულ იქნას საწყისი მცენარეებისათვის უცხო, სრულიად ახალი ნივთიერებები (ე.ი. იზრდება სინთეზირებული ნივთიერებების სპექტრი) ან გარდაიქმნას (მოხდეს ბიოტრანსფორმაცია) ერთი ნივთიერება მეორე ნივთიერებად (მაგალითად, დიგიტოქსინი დიგოქსინად), რის შედეგადაც იაფი წინამორბედისაგან შეიძლება მიღებულ იქნას ძვირფასი ნივთიერებები, რომელთა წარმოება ქიმიური და მიკრობიოლოგიური ხერხებით შეუძლებელია ან ხელსაყრელი არ არის.

ბოლო დროს მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღება უმაღლესი მცენარეების უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში სულ უფრო მეტ ყურადღებას იპყრობს. განსაკუთრებულ აქტუალობას ეს საკითხი იძენს მზარდ ეკოლოგიურ პრობლემებთან დაკავშირებით.

ამრიგად, პლანტაციური, მით უმეტეს ველურად მოზარდი ნედლეულის შეცვლას, სამრეწველო ხერხებით გარანტირებულად მიღებულ საკმარისი რაოდენობის მეორადი სინთეზის ნივთიერებებით, აქვს დიდი სამეურნეო მნიშვნელობა და იგი ხდება აშკარა აუცილებლობა.

4.17.2. მეორადი სინთეზის ნივთიერებების უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურასა და ინტაქტურ მცენარეებში პროდუცირებისა და დაბროშების თავისებურებები

მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუცირება და დაგროვება მცენარეებში წარმოადგენს რთულ გენეტიკურად კონტროლირებად, დროსა და სივრცეში მიმდინარე პროცესს.

ინტაქტურ მცენარეებში მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუცირება და დაგროვება მიმდინარეობს გარკვეულ ორგანოებში ან მათ ნაწილებში. ზოგ შემთხვევაში მეორადი სინთეზის ნივთიერებები გროვდება იმავე ორგანოებში ან მათ ნაწილებში, სადაც პროდუცირდებიან, მაგალითად, ალკალოიდები ჭარხალში პროდუცირდება და გროვდება ფესვებსა და ღეროში. სხვა შემთხვევაში მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუცირების ადგილი არ ემთხვევა მათი დაგროვების ადგილს, მაგალითად, ალკალოიდების პროდუცირება ღემაში, თამბაქოში მიმდინარეობს ფესვებში, ხოლო დაგროვება – ფოთლებისა და ღეროს ეპიდერმისში; ალკალოიდები კოწახურში პროდუცირდება ფესურაში, ხოლო გროვდება ფესურასა და ღეროში; კოფეინი კოფეს ხეში პროდუცირდება მცენარის მწვანე ნაწილებში, ხოლო გროვდება ფოთლებსა და ნაყოფებში და ა.შ.

თვით მცენარის ორგანოებში ან მათ ნაწილებში კონკრეტული ნივთიერებების როგორც პროდუცირება, ისე დაგროვება მიმდინარეობს სპეციალიზებულ უჯრედებში ან მათ ფენებში. მაგალითად, ხანჭკოლაში ალკალოიდები პროდუცირდება ფოთლების ქლოროპლასტებში; უცუნაში – კოლხიციანი, ძაღლყურძენასებრნში – სტეროიდული ალკალოიდები, ყაყაოსებრნში – მორფინი გროვდება ფოთლების ეპიდერმისში; მცენარის მრავალ სახეობაში ტერპენები, ცვილი, ფლავინოიდები გროვდება ღეროს კუტიკულაში, ეთეროვანი ზეთები – ჯირკვლოვან ბუსუსებში და ა.შ.

თვით სპეციალიზებულ უჯრედში მეორადი სინთეზის ნივთიერებების დაგროვების ძირითად ადგილს წარმოადგენს – ცენტრალური ვაკუოლი.

ინტაქტურ მცენარეებში მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუცირება და დაგროვება ბევრად დამოკიდებულია სეზონზე და მცენარის ონთოგენეზურ მდგომარეობაზე.

უჯრედული კულტურების მიერ მეორადი სინთეზის პროდუცირების უნარი აიხსნება მცენარეული უჯრედების **ბიოქიმიური პოტენციალით** – ე.ი. მოვლენით, რომლის დროსაც მეორადი სინთეზის ნივთიერებების წარმოქმნისათვის აუცილებელი მთელი გენეტიკური და ფიზიოლოგიური პოტენციალი არის ყოველ ცალკეულ უჯრედში. ამასთან მცენარის სხვადასხვა ქსოვილებიდან მიღებული უჯრედების ბიოქიმიური პოტენციალი არაერთგავროვანია. ყველაზე მაქ-

სიმაღური რაოდენობის მეორადი სინთეზის ნივთიერებები მიიღება ისეთი ქსოვილებიდან, რომლებიც წარმოადგენენ ამ ნივთიერებების ერთდოულად როგორც პროდუცენტებს, ისე დამგროვებელსაც. მაგალითად, შიკონინი კაკბის საკენკელაში, იატრარიზინი კოწახურში, ნიკოტინი თამბაქოში, დიოსგენინი დისოკორეაში და ა.შ. მაქსიმალურად მიიღება ფესვისეული წარმოშობის კულტურებიდან.

იმ შემთხვევაში, თუ მცენარისათვის დამახასიათებელია პროდუცირებადი ნივთიერების დისტანციური ტრანსპორტი, მაშინ *in vitro* კულტივირების დროს ადგილი აქვს ამ ნივთიერების უჯრედებიდან საკვებ არეში გამოყოფას, სადაც ასევე უჯრედებიდან გამოყოფილი ფერმენტების ზემოქმედებით შეიძლება დაიშალოს, შედეგად მცირდება კულტივირების ეფექტი.

უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში ქსოვილების ფრაგმენტებისა და ცალკეული უჯრედების იზოლაციისას ადგილი აქვს ცალკეულ პროცესებს შორის კორელაციური კავშირების დარღვევას, რომელთა აღდგენა *in vitro* პირობებში შეიძლება არ მოხდეს. ამიტომ კულტურალურ პირობებში მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუცირების ხელშეწყობისათვის აუცილებელია საწყისი ქსოვილების სწორი შერჩევა, კულტივირების პირობების ოპტიმიზაცია და პროდუცირების პროდუქტებისადმი კონტროლი.

კულტივირებისათვის ვარგისია გამრავლების მაღალი კოეფიციენტის, დეზაგრეგაციის მაღალი ხარისხის (5-10 უჯრედი ჯგუფში) მქონე, მორფოლოგიურად ერთგვაროვანი (ტრაქეიდებისმაგვარი ელემენტების არმქონე) უჯრედები. დიდი მნიშვნელობა აქვს ექსპლანტატის გენეტიკას – მცენარის სახეობის და კონკრეტული მცენარე-დონორის შერჩევა; ექსპლანტატის ეპიგენეტიკას – მცენარის ორგანოს შერჩევა; უჯრედების პოპულაციის გენეტიკას – უჯრედების ხაზების (შტამების) შერჩევა და მუტანტების მიღება; უჯრედების მიტოზურ აქტიურობას; უჯრედების ცხოველყოფელობას; საწყისი უჯრედების დიფერენცირების ტიპს და ა.შ.

უჯრედული კულტურების მიღებისათვის აუცილებელია უჯრედების აღება უფრო პროდუქტიული მცენარეებიდან. დადგენილია, რომ მეორადი სინთეზის ნივთიერებების შემცველობის მიხედვით მაღალპროდუქტიულ მცენარეთა სახეობები და კონკრეტულად დონორული მცენარეები ამ ნივთიერებების მაღალი შემცველობის უჯრედულ კულტურებს იძლევიან. მაგალითად, ალკალოიდების შემცველობის მიხედვით მაღალპროდუქტიული ვარდისფერი გველის სუროს დონორული მცენარეები აიმალინისა და სერპანტინის მაღალი (4-5-ჯერ მეტი) შემცველობის უჯრედულ კულტურებს იძლევიან. მაგრამ, ეს არ ნიშნავს, რომ აღებულ იქნას ამ ნივთიერებებით ყველაზე უფრო მდიდარი უჯრედები, რადგანაც მაღალი კონცენტრაცია შეიძლება ტრანსპორტის შედეგი იყოს. საჭიროა უჯრედების კარგად შესწავლა.

რიგ შემთხვევებში უჯრედული კულტურები პროდუცირებენ მხოლოდ მცენარის ორგანოსათვის დამახასიათებელ ნივთიერებებს. მაგალითად, პოდოფილის ფესვებისაგან მიღებული უჯრედული კულტურა შეიცავდა პოდოფილტოქსინს, მაშინ როცა ღეროსაგან მიღებულ უჯრედულ კულტურაში, ის არ არის; დიოსგენინის შემცველობა დიოსკორეას ტუბერებისაგან მიღებულ უჯრედულ კულტურაში გაცილებით მეტია, ვიდრე ღეროსაგან მიღებულ უჯრედულ კულტურაში. მაგრამ, გაცილებით ხშირად უჯრედულ კულტურებში მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუცირების მიხედვით შეიმჩნევა ბიოქიმიური ტოტიპოტენურობა. მაგალითად, დიოსკორეას უჯრედული კულტურა შეიცავს ორ გლიკოზიდს – ინტაქტური მცენარის ფოთლებისათვის დამახასიათებელ პროტოდიცინს და ფესურებისათვის დამახასიათებელ დელტოზიდს; რაუვოლფიას ღეროსეული წარმოშობის უჯრედული კულტურა შეიცავს როგორც ღეროს ძირითად გლიკოზიდ სერპანტინს, ისე ინტაქტური მცენარის ფესვებში არსებულ აიმალინსაც.

მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუცირების მიხედვით უჯრედული კულტურები პოპულაციაში უჯრედების მაღალი გენეტიკური ჰეტეროგენურობით ხასიათდებიან. ზოგი უჯრედები პროდუცირებენ გაცილებით მეტი რაოდენობის მეორადი სინთეზის ნივთიერებებს, ვიდრე სხვები. ამის ძირითად მიზეზს წარმოადგენს: ა) საწყისი ექსპლანტატების ჰეტეროგენურობა; ბ) კულტივირების საკვები არის კომპონენტების მუტაციური მოქმედება; გ) ორგანიზებული კონტროლის უქონლობის ეფექტი და სხვა. უჯრედული პოპულაციის ჰეტეროგენურობა მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გადიდებული პროდუცირების უნარის მქონე უჯრედული ხაზების (შტამების) გამორჩევის საშუალებას იძლევა. ამ გზით იქნა გამორჩეული შიკონინის, აიმალიცინის, სერპანტინის, ბერბერინის და სხვა პროდუცენტი-შტამები. კულტივირებადი უჯრედების გენომის ცვლილება შეიძლება გამოწვეულ იქნას ინდუცირებული მუტაგენების გზით. მიღებულ მუტანტურ შტამებში შესაძლებელია მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუცირების მეკეთრი თვისობრივი და რაოდენობრივი ცვლილება. მაგალითად, დიოსკორეას უჯრედულ კულტურაში ქიმიური მუტაგენების გზით მიღებული შტამები არსებითად გამოირჩევიან სტეროიდული საპონინების პროდუცირების მიხედვით; ღავანდის უჯრედების ო-სხივებით დამუშავების შედეგად მიღებულ იქნა მუტანტური ხაზები, რომლებიც შეიცავდნენ 5-ჯერ მეტ თავისუფალ ბიოტინს, ვიდრე სპონტანურად გამოყოფილი ხაზები და ა.შ.

მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუცირება მატულობს უჯრედული პოპულაციების ზრდის შენელების ფაზაში და მაქსიმუმს აღწევს სტაციონალურ ფაზაში. გამონაკლისს შეადგენს ზოგიერთი ალკალოიდის სინთეზის ფაზა, რომელიც დროში ემთხვევა მაქსიმალ-

ლური მიტოზური აქტიურობის ანუ ექსპონენციალური ზრდის ფაზას. ხშირად უჯრედული პროლიფერაციისა და აქტიური ზრდის მახლო-კირებელი პირობები და მექანიზმები ერთდროულად წარმოადგენენ მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუქციების ფერმენტების მა-აქტივირებელ პირობებსა და მექანიზმებს. ექსპონენციალური ფაზის ბოლოს უჯრედებზე მოქმედ არასპეციფიკურ სტრესულ პირობებს შე-უძლიათ მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუქცირებაზე გადას-ვლის სტიმულირება და მათი გამოსავლიანობის გადიდება.

უჯრედების დედიფერენცირების პროცესებს შეუძლიათ გამოიწ-ვიონ მეორადი სინთეზის ნივთიერებების თვისობრივი შედგენილობის შეცვლა. ასე მაგალითად, სუროს უჯრედული კულტურის ანალიზი-სას დადგენილ იქნა ინტაქტური მცენარეების ალკალოიდების არაი-დენტური 10 ალკალოიდის წარმოქმნა. დედიფერენციაციის შედეგად უჯრედებმა შეიძლება დაკარგონ ამა თუ იმ ნივთიერების სინთეზის უნარი. მაგალითად, პიტნის კულტურაში დადგენილ იქნა ეთეროვანი ზეთების პროდუქციების უნარის დაკარგვა. ეს აიხსნება იმით, რომ ეთეროვანი ზეთების პროდუქცირება დაკავშირებულია ბუსუსების, სა-თავსოების, არხების გარკვეულ სტრუქტურებთან, რომლებიც კულ-ტურალურ პირობებში არ დიფერენცირდებიან.

დღეისათვის ვერ ხერხდება კულტურალურ უჯრედებში რიგი ნივთიერებების, მაგალითად, დიმერული ინდოლური ალკალოიდების, მორფინული ალკალოიდების, კარდენოლიტების და ა.შ. პროდუქცირე-ბა. ამასთან შეიმჩნევა ტენდენცია – რაც უფრო რთულია ნივთიერე-ბის აგებულება და რაც უფრო მეტია მისი პროდუქციების სპეციფი-კური ეტაპები, მით ნაკლებ შესაძლებელია ამ ნივთიერებების უჯრე-დულ კულტურაში პროდუქცირება.

მეორადი სინთეზის ნივთიერებების *in vitro* პროდუქციების სტა-ბილურობა დამოკიდებულია ნივთიერებებისა და უჯრედული კულტუ-რების კლასზე. მაგალითად, სტეროიდული გლუკოზიდების პროდუქცი-რება, როგორც წესი სტაბილურია, მაშინ როცა მრავალი კლასის ალკალოიდის – არა.

4.17.3. მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღების ტექნოლოგია*

დღეისათვის მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მისაღებად ჩვე-ულეროვან იყენებენ კულტურების ოთხ ძირითად ტიპს: **ორგანელურს, კალუსურს, სუსპენზიურს და იმობილიზებული უჯრედების**** კულტი-ვირების.

* საკითხი ძირითადად განხილულია მიკრობული სინთეზის პროცესის ანალოგიურად.

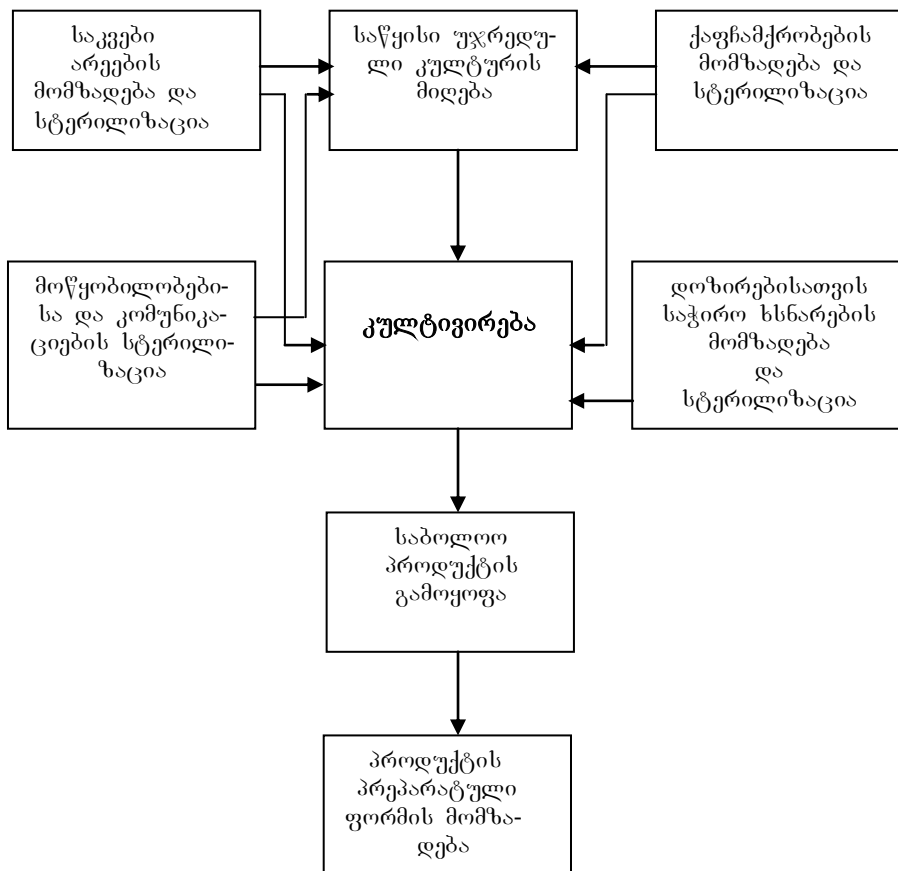
** იხ. გვ. 525.

არსებობს კულტივირების **ერთეტაპიანი და ორეტაპიანი** სისტემა. კულტივირების **ერთეტაპიანი სისტემის** დროს საკვებ არეში ერთდროულად ხდება უჯრედული ბიომასის ზრდა და მეორადი სინთეზის ნივთიერებების პროდუცირება. დღეისათვის ყველაზე მისაღებს წარმოადგენს **ორეტაპიანი კულტივირება**. პირველი ეტაპის შემდეგ, რომლის მიზანია უჯრედული ბიომასის დიდი რაოდენობით წარმოქმნა, რაც შეიძლება სწრაფად უნდა განვითარდეს მეორე – მეორადი სინთეზის ნივთიერებების აქტიური პროდუცირების გაშვებისა და ხელშეწყობის ეტაპი. ამისათვის პირველ ეტაპზე იყენებენ უჯრედული ბიომასის სწრაფი ზრდის ხელშეწყობ საკვებ არეებს, ხოლო მეორე ეტაპზე – ამ უჯრედებში მეორადი სინთეზის ნივთიერებების აქტიური პროდუცირების ხელშეწყობ საკვებ არეებს. მათ „**პროდუცირებად არეებს**“ ანუ „**პროდუქტიულ არეებს**“ უწოდებენ. ყველაზე უფრო ცნობილია **მ. ცენკის (M. Zenk et al)** მიერ 1977 წელს დამუშავებული პროდუქტიული არე. ასეთი არეების ძირითად თავისებურებას წარმოადგენს უჯრედების უმნიშვნელო დაყოფის ან სრული გამორიცხვის დროს ზრდის დაბალი სიჩქარის პირობების შექმნა.

სუსპენზიურ კულტურაში მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღების ტექნოლოგიური პროცესი მოიცავს შემდეგ ოპერაციებს (ნახ. 2): საკვები არეების მომზადება და სტერილიზაცია, საწყისი უჯრედული კულტურების მიღება, საწყისი უჯრედული კულტურების კულტივირება, საბოლოო პროდუქტის გამოყოფა, პროდუქტის პრეპარატული ფორმის მომზადება. გარდა ამისა, იგი მოიცავს რიგ დამხმარე ოპერაციებს: ბიორეაქტორის მოწობილობებისა და კომუნიკაციების სტერილიზაცია, დოზირებისათვის საჭირო ხსნარების მომზადება და სტერილიზაცია, ქაფამქრობების მომზადება და სტერილიზაცია და ა.შ.

წარმოების პირობებში საკვებ არეებს ჩვეულებრივ ამზადებენ მექანიკური სანჯღრეველების მქონე მოცულობებში, შემადგენელი კომპონენტების გარკვეული თანმიმდევრობით დამატების გზით. სტერილიზაციას ატარებენ უწყვეტი სტერილიზაციის დანადგარებში. ამის შემდეგ იგი გადააქვთ წინასწარ გასტერილებულ აპარატებში – ბიორეაქტორებში (ფერმენტორებში) კულტივირებისათვის. ზოგიერთ შემთხვევაში საკვებ არეს ასტერილებენ უშუალოდ აპარატში – ბიორეაქტორში (ჩვეულებრივ საკვები არის მცირე მოცულობისა).

კულტივირებისათვის საჭირო საწყის უჯრედულ კულტურას დეზულობენ წინასწარ გამოზრდილი (ერლენმეიერის კოლებებში) უჯრედული კულტურების (ორგანელური, კალუსური ან სუსპენზიური) გარკვეული მოცულობის სტანდარტულ საკვებ არეში შეყვანის გზით. ინკუბაციას ატარებენ 25-26°C ტემპერატურაზე 2-3 კვირის განმავლობაში სათეს აპარატში (ინოკულატორში). შედარებით დიდი რაოდენობის საწყისი კულტურის მიღების აუცილებლობისას მას ზრდიან 2-3



ნახ. 2. მეორადი სინთეზის ნოვოთერაპიების მიღების ტექნოლოგიური პროცესის

სტადიად. ამის შემდეგ საწყის კულტურას მიკროსკოპის ქვეშ ამოწმებენ ინფექციის არსებობასა და უჯრედების ცხოველმყოფელობაზე* და კულტივირებისათვის გადააქვთ (ჩვეულებრივ ბიორეაქტორის მოცულობის 10-30% და მეტი) აპარატში – ბიორეაქტორში (ფერმენტიორში).

საწყისი კულტურის კულტივირებას ახდენენ ჩვეულებრივ ან იმობილიზებულ მდგომარეობაში, დახურულ ან ღია სისტემებში, პე-

* როგორც წესი, შემდგომი გამოყენებისათვის ყველაზე კარგია ზრდის სტაციონალურ ფაზაში მყოფი საწყისი კულტურა.

რიოდულ ან უწყვეტ რეჟიმებში,* რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან გამოყენებული აპარატების – ბიორეაქტორების ტიპის, საკვები ნივთიერებების მიწოდებისა და მიღებული პროდუქციის გამოორჩევის, ბიორეაქტორში ნივთიერებების მდგომარეობისა და სხვა მაჩვენებლების მიხედვით. იმასთან დაკავშირებით, თუ რომელ ფაზაში ხდება უჯრედული ბიომასის ზრდა, კულტივირება არის **ზედაპირული, მყარფაზიანი და სიღრმული**. ძირითადად იყენებენ სიღრმულ კულტივირებას, რომლის დროსაც უჯრედები ნაწილდებიან თხევადი საკვები არის მთელ მოცულობაში, ხოლო ჟანგბადი ამ უჯრედებში აღწევს ინტენსიური აერაციისა და არევის შედეგად.

ყველაზე უფრო გავრცელებული **პერიოდული სიღრმული კულტივირების** დროს იყენებენ სხვადასხვა მოცულობისა და კონსტრუქციის აპარატებს – ბიორეაქტორებს (ფერმენტატორებს). სამუშაოს, როგორც წესი, ატარებენ ასეპტიკურ პირობებში. ცარიელ ბიორეაქტორს (ფერმენტატორს) გულდასმით რეცხავენ, ამოწმებენ ჰერმეტიკობას და ასტერილებენ ორთქლით. ერთდროულად ასტერილებენ ყველა კომუნიკაციას. შემდეგ ბიორეაქტორში (ფერმენტატორში) ასხამენ გასტერილიზებულ და 25-35°C ტემპერატურამდე გაცივებულ საკვებ არეს, შეაქვთ საწყისი კულტურა ბიორეაქტორის მოცულობის 10-30% და მეტი რაოდენობით, რთავენ აერაციის სისტემასა და არევის მოწყობილობებს. ბიორეაქტორის ავსების კოეფიციენტი ჩვეულებრივ 0.6-0.8-ია. კულტივირების ტემპერატურას იცავენ ბიორეაქტორის გარეში და სითბომომცვლის სხვა მოწყობილობებში გამაგრილებელი წყლის მიწოდების გზით. ოპტიმალური ტემპერატურა სხვადასხვა უჯრედისათვის ჩვეულებრივ 25-დან 26°C-მდეა. pH-ის რეგულირებისათვის იყენებენ შესაბამის გამიტრავ აგენტებს (ტუტებს, მჟავებს). ინტენსიური აქაფების პერიოდში შეაქვთ სტერილური ქაფნამქრობი. კულტივირების ხანგრძლივობა ბიორეაქტორში 1-დან 4 კვირამდეა, კულტივირების პროცესს აკონტროლებენ ტემპერატურის, pH-ის, ჰაერის ხარჯვის, ამრევის ბრუნვის სიხშირის, გამოსულ გაზებში O₂ და CO₂ კონცენტრაციის ცვლილების მაჩვენებელი ხელსაწყოების საშუალებით და აგრეთვე სინჯების პერიოდული აღების (1-12 სთ შემდეგ კულტივირების პროცესის ხანგრძლიობაზე დამოკიდებულებით) გზით. კულტივირების პროცესში მიღებული კულტურალური სითხე** გადაეცემა ტექნოლოგიური პროცესის შემდეგ სტადიებს. საბოლოო პროდუქტის გამოყოფისა და გაწმენდის ტექნოლოგია დამოკიდებულია პროდუქციის ლოკალიზაციაზე (ხსნარში ან ბიომასის უჯრედებში), ფიზიკურ-ქიმიურ თვისებებზე და სხვა. უკანასკნელ პერიოდში პრაქ-

* იხ. გვ. 408.

** **კულტურალური სითხე** – სითხე, რომელშიც ხდება კულტივირებადი უჯრედების გამრავლების პროცესი. ეს არის სითხე, რომელიც შედგება უჯრედების ბიომასის, საკვები არის ნარჩენებისა და მეორადი სინთეზის პროდუქტებისაგან.

ტიკაში ინერგება კულტივირების უწყვეტი პროცესები. ამ დროს მიიღწევა მაღალი მწარმოებლობა,

მცირდება ხელით შრომის დანახარჯები, იზრდება წარმოების კომპლექსური ავტომატიზაციის შესაძლებლობები. იგი ხორციელდება ღია და დახურულ სისტემებში. კულტივირების უწყვეტი პროცესის მართვისათვის იყენებენ ჰემოსტატიკას და ტურბოდისტატიკის რეჟიმებს. პირველ შემთხვევაში კულტივირების პროცესის რეგულირება ხდება შინაგანი ზემოქმედებების (სისტემის თვითრეგულაციის უნარის შედგენად) ხარჯზე. მაგალითად, ბიომასის კონცენტრაციის შემცირებისას კლებულობს გამოყენებული მაღლიმიტირებელი ნივთიერების რაოდენობა და იზრდება მისი ნარჩენი კონცენტრაცია პროდუცირებად არეში. ეს იწვევს ზრდის სიჩქარის გადიდებას, და მაშასადამე, ბიომასის კონცენტრაციის მომატებას საწყის სტაციონალურ მნიშვნელობამდე. მეორე შემთხვევაში კულტივირების პროცესის რეგულირება ხდება გარეგანი ზემოქმედებების ხარჯზე. კულტივირების პროცესში განუწყვეტლივ ზომავენ (ტურბიდიმეტრით) ბიომასის კონცენტრაციას ბიორეაქტორიდან გამოსასვლელზე და ავტომატური რეგულატორის საშუალებით საკვები არის ღინების სიჩქარის შეცვლით იცავენ მის მუდმივ დონეს.

აპარატურა კულტივირებისათვის. საწყისი უჯრედული კულტურების კულტივირებისათვის იყენებენ სპეციალურ აპარატებს – ბიორეაქტორებს (კოლბები სანჯღრევლებზე, როდერებით მბრუნავი სპეციალური ჭურჭლები, ფერმენტატორები და სხვა). ბიორეაქტორებისადმი წაყენებული ძირითადი მოთხოვნები შემდეგია: უჯრედებთან ჟანგბადის მიყვანისა და კულტურალური სითხიდან ნახშირბადის დიოქსიდის გამოყოფის უზრუნველყოფა; კულტურალური სითხის ინტენსიური არევა მისი ჰომოგენიზაციისათვის; ყველა უჯრედისათვის საკვები ნივთიერებებისა და გაზების მიწოდების უზრუნველყოფა; დამდგარი ზონების უქონლობა; ქაფჩაქრობის სისტემების არსებობა; ბიორეაქტორისა და მასთან დაკავშირებული კომუნიკაციების სტერილიზაციის შესაძლებლობა; მუშაობის ჩატარების ასეპტიკური პირობების უზრუნველყოფა; კონტროლისა და რეგულირების სისტემების არსებობა. ამ მოთხოვნების გათვალისწინებით დამუშავებულია ბიორეაქტორების ძალიან ბევრი კონსტრუქცია, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან ფორმის, ზომისა და არევის სისტემების მიხედვით. ყველა ისინი იყოფა სამ ჯგუფად: 1) ბიორეაქტორები, რომლებშიც სითხის არევა და აერაცია (ჟანგბადის მიწოდება) ხორციელდება შეკუმშული სტერილური ჰაერის მიწოდების გზით (მათში არ არის მექანიკური ამრევი მოწყობილობა); 2) ბიორეაქტორები, რომლებშიც არევა და აერაცია ხორციელდება მექანიკური ამრევი მოწყობილობების (ტურბინა, პროპელერი, ტუმბო და სხვა) და სტერილური ჰაერის მიწოდების გზით; 3) ბიორეაქტორები, რომლებშიც არევა და აერაცია

ხორციელდება კომბინირებულად – ამრევეი მოწყობილობებისა და ჰაერის იძულებითი მიწოდების გზით. პირველ ჯგუფს მიეკუთვნება ბარბოტაჟული, ბარბოტაჟულ-ერლიფტური, სვეტებიანი და სხვა ბიორეაქტორები. მაგალითად, ბარბოტაჟული ბიორეაქტორი წარმოადგენს ჭურჭელს, რომლის ქვედა ნაწილში დადგმულია სააერაციო ჰაერის მიწოდებისათვის განკუთვნილი ჰაერგამანაწილებელი მოწყობილობა – ბარბოტიორი. ამ ჯგუფის უმეტესი ბიორეაქტორის ძირითად ნაკლს წარმოადგენს ჟანგბადის სორბაციის დაბალი ინტენსიურობა (სიჩქარე). ეს ნაკლი ნაწილობრივ აცილებულია სვეტებიანი ტიპის ბიორეაქტორებში, სადაც სითხის სვეტის სიმაღლის გამო გაზრდილია გაზის ბუშტების კულტურალურ სითხესთან კონტაქტის ხანგრძლივობა, რის შედეგადაც მატულობს ჟანგბადის სორბციის სიჩქარე. მეორე ჯგუფს მიეკუთვნება თვითშემწოვ სარევეებიანი, ნაკადებიანი და ექექციული ბიორეაქტორები. მაგალითად, თვითშემწოვ სარევეებიანი ბიორეაქტორი წარმოადგენს მოცულობას, რომელშიც თვითშემწოვი სარევეი ერთდროულად ახორციელებს კულტურალური სითხის არევისა და აერაციისათვის ჰაერის მიწოდებას. ნაკადებიან ბიორეაქტორში აპარატის კორპუსის ქვედა ნაწილიდან ცილიდრული ტუმბოს საშუალებით კულტურალური სითხე მიეწოდება სააერაციო მოწყობილობის ზედა ნაწილს. მესამე ჯგუფის ბიორეაქტორებს გააჩნიათ არევისა და აერაციის უკეთესი მახასიათებლები, მათში კულტურალური სითხის არევა ხდება ამრევეებისა და ბარბოტიორით მიწოდებული ზევით მოძრავი ჰაერის ბუშტების საშუალებით. ამრევეები უზრუნველყოფენ აგრეთვე ჰაერის დამატებით დისპერგირებას, რაც ზრდის გაზისა და სითხის კონტაქტის ზედაპირს. ისინი ყველაზე უფრო ფართოდაა გამოყენებული წარმოებაში. ბიორეაქტორების მოცულობა ვარირებს 1-დან 20000 ლიტრამდე. ჩვეულებრივ ისინი წარმოადგენენ ჰერმეტიულად დახურულ ცილიდრულ მოცულობებს. ყველაზე მეტად ბიორეაქტორებს ამზადებენ უჟანგავი ფოლადისაგან (იყენებენ აგრეთვე მინის ბიორეაქტორებს).

სტერილიზაციის სისტემა. მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღების ტექნოლოგიური პროცესი საჭიროებს მკაცრი სტერილური პირობების დაცვას. ამიტომ მის ყოველ ეტაპზე ატარებენ მრავალფეროვანი ასეპტიკური ღონისძიებების კომპლექსს. მათ მიეკუთვნება: მოწყობილობებისა და კომუნიკაციის სტერილიზაცია; მათი ჰერმეტიულობის უზრუნველყოფა; საკვები არეებისა და სააერაციო ჰაერის სტერილიზაცია; სინჯების აღების, ბიორეაქტორში საკვები ნივთიერების, ქაფამქრობებისა და საწყისი უჯრედული კულტურების შეტანის სპეციალური მეთოდები და სხვა.

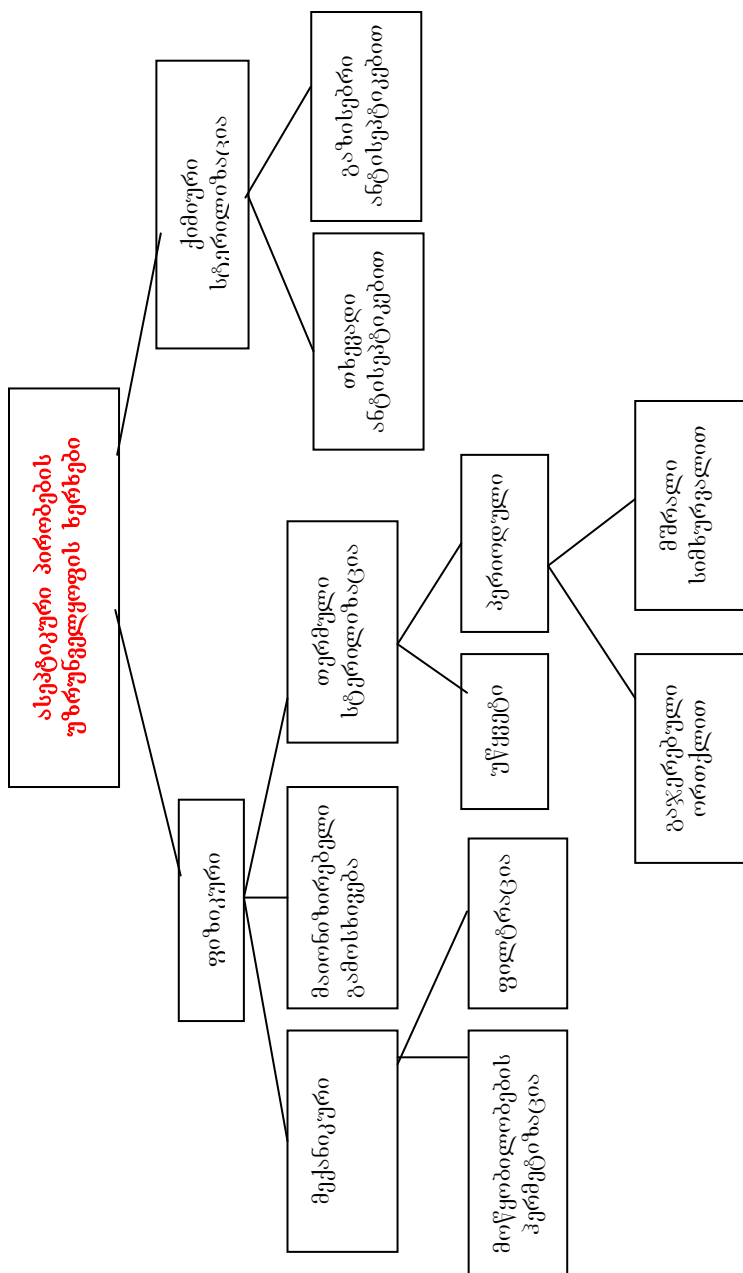
ტექნოლოგიური პროცესის ასეპტიკური პირობების უზრუნველყოფის აუცილებლობა განპირობებულია რიგი მოსაზრებებით. ჯერ ერთი, ბიორეაქტორში მოხვედრილი მიკროორგანიზმები იყენებენ საკ-

ვებ ნივთიერებებს და გამოყოფენ საწყისი უჯრედული კულტურის ზრდისა და განვითარების შემაფერხებელ მეტაბოლიტებს. მეორე, კულტურალურ სითხეში უცხო მიკროფლორისა და მათი ცხოველყოფილობის პროდუქტების არსებობა ხშირად ძლიერ ართულებს საბოლოო პროდუქტის გამოყოფას და ამცირებს მის ხარისხს. არსებობს აგრეთვე სხვა მიზეზებიც.

ასეპტიკური პირობების უზრუნველყოფის ხერხები (ნახ. 3) დაფუძნებულია მიკროორგანიზმების ან შეჩერებაზე, ან მოსპობაზე. პირველ პრინციპზე დაფუძნებულ მეთოდებს მიეკუთვნება ჰაერისა და სითხის მასტერილიზებული ფილტრაცია და ტექნიკური მოწყობილობებისა და კომუნიკაციების ჰერმეტიზაცია. მიკროორგანიზმების მოსპობაზე დაფუძნებულ მეთოდებს მიეკუთვნება თერმიული, ქიმიური და რადიაციული (მაიონიზერებელი გამოსხივება) სტერილიზაცია. ყველაზე უფრო გავრცელებულია თერმიული სტერილიზაცია. იგი გამოიყენება მოწყობილობებისა და კომუნიკაციების, საკვები არეებისა და ტექნოლოგიური ხსნარების სტერილიზაციისათვის, სინჯების აღების, საწყისი უჯრედული კულტურის შეტანისა და დამატების დროს აპარატში მიკროორგანიზმების შეღწევის ხელშემშლელი სითბური ბარიერების შესაქმნელად. მასტერილიზებელი აგენტის სახით ჩვეულებრივ იყენებენ სხვადასხვა წნევისა და ტემპერატურის გაჯერებული წყლის ორთქლს. ქიმიურ სტერილიზაციას ჩვეულებრივ იყენებენ მოწყობილობების იმ ელემენტებისათვის, რომლებიც ვერ უძლებენ სითბური სტერილიზაციისათვის აუცილებელ 110-130°C ტემპერატურამდე გაცხელებას. ქიმიური სტერილიზაციის აგენტების სახით იყენებენ ფორმალდეჰიდს, ეთილენის ოქსიდს, β-პროპიონოლაქტონს და სხვა.

ბიორეაქტორის მოწყობილობებისა და კომუნიკაციების სტერილიზაცია მოიცავს კოლექტორული (რამდენიმე ბიორეაქტორის არსებობისას) და ღია მილსადენების (ე.ი. ერთი ბოლოთი ბიორეაქტორთან, ხოლო მეორეთი ატმოსფეროსთან დაკავშირებული მილების მონაკვეთების) – საწყისი უჯრედული კულტურის, სტერილური ჰაერის, საკვები არის, ქაფამქრობების, თხევადი დამატებების შეყვანის; გადამუშავებული ჰაერის, საბოლოო პროდუქტის გამოყვანის; სინჯების აღების კვანძების, ჩამკეტ-მარეგულირებელი არმატურის ელემენტების, შტუცერების, და ა.შ. თერმიულ დამუშავებას. დიდი მოცულობის ცარიელ ბიორეაქტორებს ასტერილდებენ 120-130°C ტემპერატურის პირობებში 1 საათის განმავლობაში, ხოლო კომუნიკაციებს – 1-დან 4 საათამდე 120-126°C ტემპერატურის დროს.

სითხეების (საკვები არეები, ქაფამქრობები და სხვა) თერმიულ სტერილიზაციას ახდენენ პერიოდული და უწყვეტი ხერხებით. პირველი შემთხვევის დროს საკვებ არეს ასტერილდებენ უშუალოდ ბიორე-



ნახ. 3. ასეპტიკური პირობების უზრუნველყოფის სერხები

აქტორში, მისი მწვავე* ან ყრუ** ორთქლით 100-დან 126°C ტემპერატურამდე 15-60 წუთის განმავლობაში გაცხელებით. უწყვეტი სტერილიზაცია ტარდება სამი ძირითადი სექციისაგან (გაცხელების, დაყოვნებისა და გაცივების) შემდგარ უწყვეტი სტერილიზაციის სპეციალურ დანადგარებში. იგი ყველზე უფრო სწრაფ და ეფექტურ სტერილიზაციას წარმოადგენს (ტარდება 130-160°C ტემპერატურის დროს, 3-10 წუთის განმავლობაში). სითხეების სტერილიზაციისათვის იყენებენ აგრეთვე კომბინირებულ თერმომემბრანულ სტერილიზაციას.

სააერაციო ჰაერის სტერილიზაციას, როგორც წესი, ატარებენ ფილტრაციის გზით. ამისათვის იყენებენ ატმოსფერული ჰაერის წინასწარი წმენდის სიღრმულ ბოჭკოვან ფილტრებს, კომპრესორებს ჰაერის შეკუმშვისა და გაცხელებისათვის, სითბოგამცვლელებს ჰაერის გაცივებისათვის, წვეთდამკერებს, სუფთა წმენდის მემბრანულ ფილტრებს და სხვა.

ბიორეაქტორისა და მისი კომუნიკაციების ჰერმეტიზაცია ტარდება სხვადასხვა ხერხებით – დრეკადი საფენების, სილფონების და ა.შ. საშუალებით. მოწყობილობების ჰერმეტიზაციის კონტროლი ხორციელდება პნევმატური გამოცდით ჰაერის გაპარვის ადგილის გამოვლენისათვის საპნის ემულსიის ან წნევის კონტროლის ხელსაწყოთა გამოყენებით და პალოიდური ნახვრეტმძებნელების საშუალებით.

ტექნოლოგიური პროცესის მსვლელობისას პროცესის მიმდინარეობის კონტროლისა და სტერილურობის შემოწმებისათვის აუცილებელია ბიორეაქტორიდან და სხვა აპარატებიდან სინჯების აღება. ამისათვის დამუშავებულია სინჯების აღების ღია და დახურული ხერხები, რომლებიც რიგი მოთხოვნების – სინჯების წარმომადგენლობითობა, ასეპტიკური პირობების უზრუნველყოფა, მომსახურების სიმარტივე, კონდენსატის მოცილების შესაძლებლობა და სხვა დაკმაყოფილების საშუალებას იძლევა.

ქაფწარმოქმნა და ქაფჩაქრობა. მცენარეთა უჯრედული კულტურების კულტივირების პროცესს თან ახლავს კულტურალური სითხის ზედა ნაწილში ქაფის წარმოქმნა. ეს დაკავშირებულია, ჯერ-ერთი, ბარბოტიორიდან სითხეში ჰაერის ბუშტების შეყვანასთან, მეორე, კულტურალური სითხის შედგენილობაში ცილებისა და სხვა ზედაპირულად-აქტიური ნივთიერებების არსებობასთან. ქაფწარმოქმნა მცენარეების უჯრედების კულტივირების დროს არ წარმოადგენს ისეთ პრობლემას, როგორც ცხოველების ან მიკროორგანიზმების უჯრედების კულტივირების დროს. მაგრამ ზედაპირულ ადგუხიასთან (მიწებებასთან) ერთად იწვევს გარკვეულ გართულებებს, კერძოდ არევის დროს. ბიორეაქტორის ზედა ნაწილში წარმოიქმნება ეგრეთ წოდებული “ბეზი” ანუ “ქერქი,” რომელიც შედგება ქაფის, ცილებისა და გა-

* ორთქლს წნევის ქვეშ უშვებენ უშუალოდ გახასტერილიზებულ სითხეში.

** ორთქლი იზოლირებულია გახასტერილებელი სითხისაგან ლითონის კედლებით.

მოყოფილი პოლისაქარიდებისაგან. კულტივირების პროცესში ქაფის რაოდენობა მატულობს, უჯრედები ხდება მწებვარე, ხოლო მთელი ნარევი – უფრო წებოვანი. უჯრედები იწყებენ ერთმანეთთან მიწებებას და ბიორეაქტორის ზედა ნაწილში ქაფის დაგროვებას. უჯრედების ბიომასის მატებასთან ერთად ადგილი აქვს “ბეზე“-ს ანუ “ქერქი“-ს ჩაზრდას კულტურაში, რაც ამცირებს არევის ინტენსიურობას კულტურის ჰომოგენურ მდგომარეობაში შენარჩუნებისათვის არასაკმარის სიდიდემდე. ასეთი “შშრალი” ზონები იწყებენ უჯრედების ერთმანეთთან მიწებებას და კულტურა თანდათან ილუკება. გარდა ამისა, ქაფი იძულებულს ხდის შემცირდეს ბიორეაქტორის სითხით ავსების კოეფიციენტი, შეიძლება მოხდეს აგრეთვე ქაფის გადმოსვლა გამო-სასვლელ ჰაერთან ერთად, რაც კულტურის ინფიცირების საშიშროებას იწვევს.

ქაფწარმოქმნის რეგულირებისათვის იყენებენ სხვადასხვა მეთოდებს: 1) ქაფზე ქიმიური საშუალებებით ზემოქმედება (საწყის საკვებ არეში და/ან კულტურალურ სითხეში კულტივირების პროცესში სპეციალური ნივთიერებების – ქაფჩამქრობების დამატება); 2) ქაფის დაშლა მექანიკური, ჰიდრო- და აეროდინამიური ხერხებით (დეტალეზისა და ელემენტების ზედაპირების დარტყმით ზემოქმედება, სითხის ან გაზის ზემოქმედება, ქაფის სეპარირება ინერციული, ცენტრიდანული და სხვა მეთოდებით); 3) ქაფის დაშლა ფიზიკური ზემოქმედებით (ბეკერითი და ულტრაბეკერითი სიხშირის რევევალობა, ელექტრული ქაფჩაქრობა და სხვა); 4) ქაფის დონის სტაბილიზირება სააერაციო ჰაერის ხარჯვის დროებითი შემცირების, მექანიკური ამრევის გამო-თვის, ზედმეტი ქაფის აპარატიდან გამოყვანის გზით; 5) კომბინირებული ზემოქმედება.

საბოლოო პროდუქტის გამოყოფა. საბოლოო პროდუქტის გამოყოფის ტექნოლოგია აწყდება ყველა კულტურალური ტექნოლოგიისათვის დამახასიათებელ კლასიკურ სიძნელეებს: აუცილებელი პროდუქტის კონცენტრაცია ჩვეულებრივ ძალიან დაბალია, ამასთან პროდუქტი იმყოფება ან დიდი მოცულობის საკვებ ხსნარში, ან ძალიან არაერთგვაროვან უჯრედულ ბიომასაში, ან ერთდროულად ბიომასაში და საკვებ ხსნარში.

კულტივირების საბოლოო პროდუქტს ამზადებენ კონცენტრატების ან გასუფთავებული პრეპარატების სახით.

საბოლოო პროდუქტის გამოყოფის ტექნოლოგია მოიცავს შემდეგ ძირითად ეტაპებს: პირველი – ბიოსინთეზი, მეორე – კულტურალური სითხის ფაზების გაყოფა, მესამე – შესაბამისი ფაზიდან – ნატიური* ხსნარიდან და ბიომასიდან ან კონცენტრატის, ან ნახევარ-პროდუქტის გამოყოფა, მეოთხე – კონცენტრატიდან, ან ნახევარპრო-

* **ნატიური ხსნარი** – არის კულტურალური სითხიდან ბიომასის გამოყოფის შემდეგ დარჩენილი წყლიანი ფაზა.

დუქტიდან სუფთა (წმინდა) ნივთიერების მიღება. საბოლოო პროდუქტის გამოყოფის ძირითად მეთოდს ჯერჯერობით წარმოადგენს ორგანული გამხსნელებით ექსტრაქციის კლასიკური მეთოდი. მუშაობის პროცესში იყენებენ აგრეთვე ლიოფილიზაციის, ფილტრაციის, აორთქლების, გამოშრობის, იონური ცვლის, ადსორბციის, ცენტროფუგირების, სეპარირების, მემბრანულ, კრისტალიზაციის და სხვა მეთოდებს.

4.17.4. მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოსავლიანობაზე მოქმედი ფაქტორები

მცენარეების უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოსავლიანობის ხარისხზე გავლენას ახდენენ შემდეგი ფაქტორები:

1. კულტივირების გარეგანი პირობები: სინათლე, ტემპერატურა, აერაცია.

2. კულტივირების შინაგანი პირობები: საკვები არის კომპონენტები – ფიტოჰორმონები, მაკრო- და მიკროელემენტების შედგენილობა, ნახშირბადის წყაროები, წინამორბედები და ელისტიორები, არევის ინტენსიობა, კულტურალური არის pH.

3. კულტივირების წინ უჯრედების წინასწარი დამუშავება.

ყველა ამ ფაქტორმა უნდა შეზღუდოს უჯრედების სწრაფი დაყოფა, გამოიწვიოს ექსპონენციალური ზრდის ადრეული შეწყვეტა, ხელი შეუწყოს უჯრედების ზრდის შენელებისა და სტაციონალურ ფაზებს.

სინათლე. მეორადი სინთეზის ნივთიერებების შედგენილობაზე და რაოდენობაზე დიდ გავლენას ახდენს სინათლის ინტენსიურობა, სპექტრალური შემადგენლობა და ფოტოპერიოდულობა. რადგანაც უმეტეს უჯრედულ კულტურას არ გააჩნია ნორმალური ფოტოტროფული ზრდის უნარი, სინათლე აუცილებელია არა როგორც ენერგიის წყარო ფოტოსინთეზისათვის, არამედ როგორც ფერმენტების აქტივატორი. მაგალითად, ფერმენტ ფენილალანინამიაკლიზას აქტიურობა მატულობს ლურჯი სინათლით განათების დროს. სინათლე გარდა ამისა, არეგულირებს უჯრედების დაყოფასა და მიკროფიბრილების ორიენტაციას. სინათლე აუცილებელია სხვადასხვა მჟავის, კუმარინების, ლიგნინების, ფლავინების, პალკონების და ანთოცინების სინთეზისათვის, სინათლე მრავალჯერ აძლიერებს კატეხინის, ეპიკატეხინისა და ლეიკოანთოციანინის სინთეზს ჩაის კალუსურ კულტურაში. წითელი ფერის სინათლე ზრდის პოდოფილას კულტივირებად უჯრედებში პოდოფილოტოქსინის სინთეზს. ამავე დროს, ზოგიერთ შემთხვევაში სინათლე მაინჰიბირებელ გავლენას ახდენს მეორადი სინთეზის ნივთიერების წარმოქმნაზე. მაგალითად, ლემას კულტურაში

გიოსციამინისა და სკოპოლამინის წარმოქმნა ხდება მხოლოდ სიბნელეში, სინათლე ამცირებს ალკალოიდების შემცველობას ქინაქინის ხის კულტურის უჯრედებში, შიკონინის – კაკბის საკენკელას უჯრედების კულტურაში.

ტემპერატურა. ტემპერატურის გავლენა მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოსავლიანობაზე ნაკლებადაა შესწავლილი. ცნობილია, მაგალითად, რომ თამბაქოს უჯრედულ კულტურაში ნიკოტინის წარმოქმნა 100-200%-ით მეტია 27°C ტემპერატურის დროს, ვიდრე 21°C ან 32°C ტემპერატურის დროს. დაბალი ტემპერატურები აჩქარებს კულტურის ზრდის დამუხრუჭებას და მეორადი სინთეზის ნივთიერებების წარმოქმნაზე გადასვლას.

აერაცია ძალიან მნიშვნელოვანი ფაქტორია, მაგრამ ფაქტიური მონაცემები ცოტაა. მეორადი სინთეზის ნივთიერებების დაგროვებაზე დიდ გავლენას ახდენს როგორც ჟანგბადის ხარჯი, ისე ნახშირორჟანგისა და ჟანგბადის თანაფარდობა. O_2/CO_2 -ის მაღალ თანაფარდობას შეუძლია როგორც კულტურის ზრდის, ისე მეორადი სინთეზის ნივთიერებების წარმოქმნის ინჰიბირება.

ფიტოჰორმონები. მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოსავლიანობაზე ფიტოჰორმონების გავლენა არაერთგვაროვანია – გააჩნია როგორც მასტიმულირებელი, ისე მაინჰიბირებელი მოქმედება. იგი - იცვლება მეორადი სინთეზის ნივთიერების კლასის, კულტურის ფიზიოლოგიური მდგომარეობის, კულტივირების პირობების და ა.შ. მიხედვით. საკვები არის ეს კომპონენტები საჭიროა არა მარტო ბიომასის დაგროვებისათვის, არამედ წარმოადგენენ მეორადი სინთეზის ეფექტურ გამშვებ მექანიზმებს. ყველაზე მეტად შესწავლილია აუქსინებისა და ციტოკინინების გავლენა, რადგანაც ისინი წარმოადგენენ საკვები არის აუცილებელ კომპონენტებს. არსებობს უამრავი მაგალითი როცა აუქსინები სტიმულს აძლევდნენ მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოსავლიანობას და დაახლოებით იმდენივე მაგალითი, როცა პირიქით – თრგუნავდნენ. მაგალითად, აუქსინები სტიმულს აძლევდნენ ანთოციანების წარმოქმნას სტაფილოსა და ალვის ხის კულტურაში და ამცირებდნენ ან თრგუნავდნენ ანტრაქინინებისა და შიკონინის წარმოქმნას კაკბის საკენკელაში. საკმაოდ ხშირად აუქსინების გავლენა დამოკიდებულია ფიტოჰორმონების ბუნებაზე. მაგალითად, თამბაქოში ნიკოტინის წარმოქმნა სტიმულირდება ნმმ-ით და იმმ-ით, ხოლო მუხრუჭდება 2.4-დ-ით; ანთოციანების წარმოქმნა *Plumbago zeylanica*-ში პირიქით – სტიმულირდება 2.4-დ-ით და მუხრუჭდება ნმმ-ით და იმმ-ით. საერთოდ 2.4-დ ნაკლებად მისაღებია მეორადი სინთეზის პროცესის გაშვებისათვის, ვიდრე იმმ და ნმმ. ციტოკინინები ასევე სხვადასხვანაირად მოქმედებენ მეორადი სინთეზის ნივთიერებების დაგროვებაზე. მაგალითად, კინეტინი ასტიმულირებს ალკალოიდების წარმოქმნას ბელადონას უჯრედების კულტურაში, მაგრამ მთლიანად

ინჰიბირებს ნიკოტინის წარმოქმნას თამბაქოში. უნდა აღინიშნოს აგრეთვე, რომ ხანგრძლივი კულტივირების დროს ზოგჯერ ადგილი აქვს უჯრედების შეგუებას აუქსინებისა და ციტოკინინებისადმი, ე.ი. ისინი კარგავენ მეორადი სინთეზის ნივთიერებების წარმოქმნის უნარს ფიტოჰორმონების სტანდარტული რაოდენობის შემცველ საკვებ არეებზე კულტივირებისას.

მაკრო- და მიკროელემენტების შედგენლობა. საკვები არეების მინერალური შედგენილობა დიდ გავლენას ახდენს მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოსავლიანობაზე. ამასთან ყველაზე უფრო მნიშვნელოვანია ფოსფორის, კალიუმისა და აზოტის სხვადასხვა ფორმის შემცველობა. ფოსფორის მაღალი კონცენტრაციები უმეტეს შემთხვევებში იწვევენ კულტურის ბიომასის ზრდის გაუმჯობესებას და მეორადი სინთეზის ნივთიერებების წარმოქმნის გაზარდვას. მათი წარმოქმნა ჩვეულებრივ იწყება საკვებ არეში ფოსფორის გამოღუვის შემდეგ. საკვებ არეში ფოსფორის მაღალი კონცენტრაციები ამცირებენ ნიკოტინის წარმოქმნას თამბაქოს უჯრედულ კულტურაში, ანთოციანების – სტაფილოს კულტივირებად უჯრედებში, ფენოლების – ჩაის უჯრედებში. ამავე დროს არსებობს მონაცემები, მეორადი სინთეზის ნივთიერებების წარმოქმნის გადიდების შესახებ ფოსფორის მაღალი კონცენტრაციების დროს. დადგენილია, რომ როგორც ბიომასის ზრდისათვის, ისე მეორადი სინთეზის ნივთიერებების წარმოქმნისათვის აუცილებელია აზოტის მინერალური ფორმები. ძალიან მნიშვნელოვანია ამიდური და ნიტრატული ფორმის აზოტის თანაფარდობა. ნიტრატული აზოტის წილის გადიდება ხელს უწყობს მეორადი სინთეზის ნივთიერებების წარმოქმნის გადიდებას, მაგალითად, დიოსგენინის – დიოსკორეას უჯრედების კულტურაში. აზოტის ორგანული ფორმები – პეპტონი, საფუარას ექსტრაქტი, კაზეინის ჰიდროლიზატი და სხვა იწვევენ ზოგიერთი მეორადი სინთეზის ნივთიერებების წარმოქმნის დათრგუნვას, მაგალითად, ფენოლური შენაერთების, ლიპიდების და სხვა.

ნახშირბადის წყაროები. უჯრედულ კულტურებს შეუძლიათ პეტეროტროფული ზრდა სხვადასხვა ნახშირწყლებზე (გამოცდილია 50-ზე მეტი სხვადასხვა შენაერთი). როგორც წესი, უკეთესი ზრდა აღინიშნება ორ შაქარზე – გლუკოზაზე და საქაროზაზე. მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოსავლიანობის უფრო მაღალი დონე კულტურებისათვის დამახასიათებელია საქაროზაზე. გლუკოზიან საკვებ არეში ამ ნივთიერებების წარმოქმნა ხშირად ძლიერ შესუსტებულია. ამ მოვლენის მიზეზები უცნობია.

წინამორბედები და ელისიტორები. ცნობილი წინამორბედების შეტანა საკვებ არეში მასტიმულირებელ გავლენას ახდენს მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოსავლიანობაზე. მაგალითად, 100 მგ/ლ ქოლესტერინის შეტანა დიოსკორეას უჯრედულ კულტურაში იწვევს

დიოსგენინის წარმოქმნის გაზრდას დაახლოებით 100%-ით. ძალიან დიდი მნიშვნელობა აქვს წინამორბედების შეტანის დროს. მაგალითად, ტიპტომინი შეტანილი კულტივირების მეორე ან მესამე კვირაში ასტიმულირებს უჯრედების ზრდასა და ალკალოიდების წარმოქმნას, მაგრამ კულტივირების დასაწყისში შეტანისას ინჰიბირებს როგორც უჯრედების ზრდას, ისე ალკალოიდების წარმოქმნას.

ელისიტორები (**elicit**—ამოღება) არის მიკროორგანიზმებიდან გამოყოფილი და მცენარეთა მეორადი სინთეზის გარკვეული სტადიების სტიმულაციაზე პასუხისმგებელი ნივთიერებები. ისინი ხელს უწყობენ ფიტოალექსინების წარმოქმნის ინდუქციას. მაგალითად, სიბნელეში კულტივირებად სოიას სუსპენზიურ კულტურაში პოლისაქარიდული ელისიტორის შეტანიდან 12-15 სთ შემდეგ იწყება გლიცეოლინის (იზოფლავინოიდი) დაგროვება.

არევის ინტენსიურობა. საკვები არის არევის ინტენსიურობა წარმოადგენს მნიშვნელოვან ფაქტორს უჯრედული კულტურების კულტივირებისას (განსაკუთრებით დიდი ფერმენტატორების დროს). არევის მაღალსიჩქარიანი კულტურალური სისტემა არასასურველია მცენარეთა უჯრედებისათვის, რადგანაც ეს იწვევს უჯრედების ლიზისს. უჯრედების დაშლა შეიმჩნევა ამრევის უკვე 20 წთ⁻¹ სიჩქარით ბრუნვის დროს, ამასთან რაც უფრო ხნიერია უჯრედები, მით მეტია დაშლის ხარისხი. სხვადასხვა უჯრედები სხვადასხვანაირად ავლენენ არევის ინტენსიურობისადმი გამძლეობას. მაგალითად, თამბაქოს უჯრედები ჩვეულებრივ სიცოცხლისუნარიანი რჩებიან 150 წთ⁻¹-მდე ბრუნვის სიჩქარისას, მაშინ როცა ვარდისებრი გველის სუროს უჯრედების კულტივირება სიცოცხლისუნარიანობის არსებითი დაკარგვის გარეშე შეიძლება 300 წთ⁻¹-მდე ბრუნვის სიჩქარის დროს. მაგრამ არევის ინტენსიურობის შემცირება იწვევს სხვა გართულებებს. მცენარის უჯრედები ბაქტერიულთან შედარებით დიდი და მძიმე და ამიტომ სწრაფად ილექებიან. მაშასადამე, თუ არევის ხარისხი არასაკმარისია, შეიძლება წარმოიქმნას „მკვდარი“ ზონები, სადაც უჯრედები სწრაფად ბერდებიან და კულტურა ხდება მრავალფაზიანი. გარდა ამისა, დაბერებულ უჯრედებს შეუძლიათ კულტურალურ სითხეში გამოჰყონ დანარჩენი უჯრედებისათვის მავნე ნივთიერებები. პრობლემიდან გამოსვლისათვის იყენებენ როგორც მექანიკურ არევას, ისე შეკუმშული სტერილური ჰაერის მიწოდების გზით არევას.

კულტურალური არის pH. არსებული მონაცემებით არის pH არსებითად ახდენს გავლენას მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოსავლიანობაზე. მაგალითად, ინდოლური ნაერთი ტრიპტოფილის წარმოქმნა იპომეას უჯრედულ კულტურაში 2-ჯერ იზრდება 6.3 pH-ის დროს, ხოლო 4.8 pH-ის დროს – მთლიანად წყდება. ჩვეულებრივ უჯრედული კულტურების ოპტიმალური ზრდა საკვებ არეში წარმოებს pH-ის 5-დან 6-მდე დონის დროს.

უჯრედების წინასწარი დამუშავება კულტივირებამდე. საწყისი კულტურის წინასწარ დამუშავებას შეუძლია მნიშვნელოვანი გავლენა მოახდინოს მეორადი სინთეზის ნივთიერებების შემდგომ დაგროვებაზე. მაგალითად, 10^{-5} M ნიშნით წინასწარ დამუშავებულ თამბაქოს უჯრედებში 1.5 ჯერ გაიზარდა ნიკოტინის სინთეზი.

4.17.5. იმობილიზებული უჯრედების კულტივირება და ბიოტრანსფორმაცია

უკანასკნელ წლებში მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მისაღებად მცენარის უჯრედების ევექტური გამოყენებისათვის დაიწყო იმობილიზებული უჯრედების კულტივირების მეთოდისა და ბიოტრანსფორმაციის მეთოდის გამოყენება.

4.17.5.1. იმობილიზებული უჯრედების კულტივირება

უჯრედების იმობილიზაცია (ანუ დაფიქსირება, დაკავშირება, მიმაგრება) – არის გარკვეული ტიპის უჯრედების ზრდის შესაბამის ფაზაში* უხსნად საყრდენზე მიმაგრება, გელში ან ნახევარგამტარ მემბრანულ სისტემაში მოთავსება.

იმობილიზებული უჯრედების კულტივირება მოიცავს შემდეგ ეტაპებს:

1. უჯრედული კულტურების მიღება გარკვეული წინასწარდასახული თვისებებით, მაგალითად, მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მაღალი გამოსავლიანობით ან ზრდის დაბალი სიჩქარით.

2. იმობილიზაციის შესაბამისი მეთოდისა და იმობილიზებული უჯრედებისათვის ბიორეაქტორის კონსტრუქციის შერჩევა, რომლის დროსაც დაცული იქნება უჯრედების მაღალი ცხოველმყოფელობა და მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მაღალი პროდუქცირება.

3. იმობილიზებული უჯრედების კულტივირების პროცესი.

4. მეორადი სინთეზის ნივთიერებების იმობილიზებული უჯრედებიდან კულტივირების არეში გამოყოფა კულტურის სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნებით.

უჯრედების სამრეწველო იმობილიზაციისას აუცილებელია შემდეგი მნიშვნელოვანი ფაქტორების გათვალისწინება:

1. ის უნდა იყოს მარტივი და საიმედო სტერილურ პირობებში ხანგრძლივი მუშაობისას.

2. ის უნდა იყოს უსაფრთხო მეორადი სინთეზის ნივთიერებების მწარმოებლებისა და მომხმარებლებისათვის.

* ყველაზე უფრო კარგია წვრილდისპერსიული, პომოგენური უჯრედული სუსპენზია ზრდის სტაციონალურ ფაზაში და არა დიდი აგრეგატები, მით უმეტეს კალუსური კულტურები.

3. ის უნდა იყოს **დამზოგავი** უჯრედებისათვის, რათა შენარჩუნებულ იქნას მათი ცხოველყოფილობა.

4. ის უნდა იყოს **სტაბილური** და **საიმედო** მუშაობაში.

5. ის უნდა იყოს **მაღალაქტიური**, **სპეციფიკური** და **იაფი**.

იმობილიზებული უჯრედების კულტივირებას სხვა ტრადიციულ კულტურებთან (ორგანელური, კალუსური ან სუსპენზიური) შედარებით გააჩნია შემდეგი უპირატესობები:

1. საშუალებას იძლევა მრავალჯერ იქნას გამოყენებული უჯრედული ბიომასა (რომლის მიღება ძვირადღირებული პროცედურაა) ბიორეაქტორში (ფერმენტატორში) უჯრედების ხანგრძლივი შენარჩუნებისა და არიდან მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოყოფის გზით.

2. უზრუნველყოფს პირობებს, სადაც უჯრედები ორგანიზაციის ღონის (კომპაქტური, ნელა მზარდი) მიხედვით ახლოსაა ინტაქტურ მცენარესთან.

3. საშუალებას იძლევა უჯრედები გაიზარდოს ერთმანეთთან მჭიდრო ფიზიკურ კონტაქტში, ე.ი. ზრდის უჯრედთაშორის ქიმიურ და ფიზიკურ კონტაქტებს.

4. აადვილებს კულტივირებადი უჯრედების გარემომცველი არის ქიმიური შედგენილობის რეგულირებას, რადგანაც ფიზიკურად უძრავი იმობილიზებული უჯრედების ირგვლივ შესაძლებელია დიდი მოცულობის საკვები არის ცირკულაცია.

5. შესაძლებელია ძვირადღირებული აპარატების (ფერმენტატორების) ეფექტური გამოყენება, რადგანაც იძლევა დიდი რაოდენობის უჯრედული ბიომასის მცირე მოცულობის აპარატებში (ფერმენტატორებში) კულტივირების საშუალებას.

6. ქმნის კულტივირების ხანგრძლივი პროცესის შესაძლებლობას.

7. იძლევა არიდან უჯრედების ფიზიკურად გამოყოფის საშუალებას, და მაშასადამე, აადვილებს გარემომცველ საკვებ არეში გამოყოფილი მეორადი სინთეზის ნივთიერებების შეგროვებას. უფრო მეტი, შედარებით ადვილად ხორციელდება ქიმიური ნივთიერებებით (გამხსნელებით) დამუშავება, რომელიც აუცილებელია იმ მეორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოყოფის ინდუქციისათვის, რომლებსაც ეს იმობილიზებული უჯრედები თავისთავად ბუნებრივ პირობებში არ გამოყოფენ.

პირველი ცნობები უჯრედების იმობილიზაციის შესახებ გაჩნდა 1966 წელს, როცა ლიქენის უჯრედები მოთავსებულ იქნა პოლიაკრილამიდურ გელში (Mosbach K., Mosbach R.).

იმობილიზაციის მეთოდები შეიძლება დაყოფილ იქნას 3 ჯგუფად: 1) მიკროკაფსულის გელში ჩართვა, 2) მატარებელთან (უხსნადი საყრდენი) დაკავშირება ადსორბციულად ან კოვალენტური ბმით, 3)

უხსნად მატარებელში ჩაზრდა. პირველ ჯგუფს მიეკუთვნება: გელში ჩართვა (ალგინატის, აგარის, პოლიაკრილამიდის, კოლაგენის ან მათი კომბინაციების კაფსულები), ნახევარგამტარ კაფსულებში ჩართვა და სხვა; მეორე ჯგუფს მიეკუთვნება: აღსორბცია მატარებელზე, კოვალენტური დაკავშირება მატარებელთან. განივი „შეკერვა“ ბიოფუნქციონალური რეაგენტების საშუალებით, მატარებელზე აღსორბცია შემდგომი განივი შეკერვით და სხვა; მესამე ჯგუფს მიეკუთვნება სამგანზომილებიანი ბადისებრი სტრუქტურის (ნეილონის საცერი, ღრუ ბოჭკო და ა.შ.) სივრცეში ჩანერგვა და სხვა.

მცენარის უჯრედები წარმატებით იმობილიზებულია მთელ რიგ სხვადასხვანაირ მატარებელზე გელში მოთავსების ან მზა სამგანზომილებიანი ბადისებრი სტრუქტურებში ჩაზრდის გზით. მყარ მატარებლებზე მიმაგრება აღსორბციის ან კოვალენტური დაკავშირების გზით მცენარის უჯრედებისათვის უვარგისი აღმოჩნდა. ბაქტერიებისა და ფერმენტების იმობილიზაციისათვის გამოყენებული მეთოდები, ისეთები როგორიცაა პოლიაკრილამიდში ან ცილებში ჩაშენება, განივი „შეკერვა“ აღდეკიდების საშუალებით და სხვა, მცენარის უჯრედებისათვის ასევე მავნე და ნაკლებ ეფექტური აღმოჩნდა. ამჟამად მცენარის უჯრედების იმობილიზაცია ჩვეულებრივ კალციუმის ალგინატის გელში ან აგარიზებულ კაფსულებში ჩაშენების გზით, ან წინასწარ მომზადებულ ნეილონის, პოლიურეტანის ან ლითონისაგან გაკეთებულ სამგანზომილებიანი ბადისებრი სტრუქტურის სივრცეში უჯრედების ჩანერგვის გზით ხდება. სუსპენზიური კულტურის უჯრედები ამ მასალასთან (რომლებსაც ჩვეულებრივ 1 სმ-დე ზომის სფეროს ან კუბის ფორმა აქვთ) არევის შემდეგ სწრაფად შედიან სამგანზომილებიან სტრუქტურაში, შემდეგ იზრდებიან მის ღრუებში და ზომის გადიდების ან სტრუქტურის მასალასთან დაკავშირების შედეგად იჩნებიან მათში. უჯრედები შეიძლება აგრეთვე იმობილიზებულ იქნას ნეილონის ან ლითონის ფუძის მქონე ალგინატურ ან კარაგინატურ გელებში.

იმობილიზებული უჯრედების სამრეწველო გამოყენება მოითხოვს განსაკუთრებული ყურადღების მიქცევას კულტივირების აპარატის (ფერმენტატორის) შერჩევისადმი. ჯერჯერობით მას ნაკლები ყურადღება ექცევა. იმობილიზებული უჯრედების მრავალფეროვნებისა და იმობილიზაციის სირთულესთან დაკავშირებით აპარატების (ბიორეაქტორების) მრავალნაირი კონსტრუქციები არსებობს. ყველაზე ფართო გავრცელება მოიპოვეს ფერმენტატორებმა განმეორებითი ცირკულირებით. ყველა ისინი წარმოადგენენ სუსპენზიური კულტურების უწყვეტი კულტივირების აპარატების სხვადასხვა ვარიანტებს.

4.17.5.2. ბიოტრანსფორმაცია

ეს მეთოდი დაფუძნებულია მცენარის უჯრედების უნარზე, მათში ლოკალიზებული ფერმენტების საშუალებით გარდაქმნან (მოახდინონ) ტრანსფორმაცია) კულტურალურ არეში შეყვანილი ნივთიერებები – წინამორბედები გარკვეულ პროდუქტებად. ის საშუალებას იძლევა იაფი წინამორბედებისაგან მიღებულ იქნას ძვირფასი ნივთიერებები. მაგალითად, დიგიტოქსინი (კარდენოლიდი) შეყვანილი საკვებ არეში ფუტკარას უჯრედების კულტივირების დროს, ტრანსფორმირდება დიგოქსინად – უფრო ეფექტურ, მედიცინაში გულის ქრონიკული დაავადების სამკურნალოდ ფართოდ გამოყენებულ კარდენოლიდად; საკვებ არეში დამატებული ფენილალანინი თამბაქოს უჯრედების მიერ გარდაიქმნება პოლიფენოლად; ლემას უჯრედულ კულტურაში მკვეთრად სტიმულირდება ალკალოიდების სინთეზი საკვებ არეში გარკვეული ამინომჟავების – ალკალოიდების სინთეზის წინამორბედების შეყვანისას და ა.შ.

ბიოტრანსფორმაცია შეიძლება განხორციელდეს ორი ხერხით:

1. ბიოტრანსფორმაცია დაუზიანებელი უჯრედების (როგორც სუსპენზიური კულტურების, ისე იმობილიზებული უჯრედების სახით) **გამოყენებით, 2. ბიოტრანსფორმაცია უჯრედების იმობილიზებული კომპონენტების პრეპარატების** (სადაც საჭირო ფერმენტი გამოყოფილი, გაწმენდილი და იმობილიზებულია საყრდენზე – ალგინატურ გელებზე) **გამოყენებით.**

მცენარეების უჯრედების უდიდესი ბიოქიმიური პოტენციალი, რაც ფერმენტების გამოყენებით უფრო ძვირფასი ნივთიერებების მისაღებად აუცილებელი გარკვეული ბუნებრივი და სინთეტიკური წინამორბედების სპეციფიკური ბიოტრანსფორმაციის განხორციელების საშუალებას იძლევა, შეიძლება გამოყენებულ იქნას ძალიან ფართოდ. მაგალითად, შუალედი პროდუქტების ანალოგი სინთეტიკური ნაერთები ან პროდუქტები, რომლებიც არ გვხვდება მცენარეში, შეიძლება გამოყენებულ იქნას წინამორბედად უნიკალური ბიოლოგიური აქტიურობის მატარებელი ახალი ნივთიერებების მისაღებად; ბუნებრივი მცენარეული წარმოშობის შუალედი ნაერთები გამოიყენება იგივე აქტიურობის ნაერთების მისაღებად, რაც მიიღება ბუნებრივ პირობებში მზარდი მთლიანი მცენარიდან.

ბიოტრანსფორმაციის რეაქციები ჩვეულებრივ სპეციფიკურია და მოიცავს ისეთ პროცესებს, როგორიცაა ჟანგვა, ადდგენა, ჰიდროქსილირება, მეთილირება, დიმეთილირება, გლუკოზირება და სხვა.

ბიოტრანსფორმაციის სამუშაოებში ძირითადად გამოყენებულია მურასიგე-სკუვის, ლინსმაიერ-სკუვის, ჰამბორგის, ნიჩი და ნიჩის და სხვათა საკვები არეები.

ლიტერატურა

1. ბიოტექნოლოგიის საფუძვლები. თბილისი, მეცნიერება, 1986.
2. ქობაღია ვ., დუმბაძე ქ. თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის საფუძვლები. თბილისი, 2005.
3. კვესიტაძე გ., კვესიტაძე ე. ბიოტექნოლოგია. თბილისი, 1999.
4. ჯოხაძე დ. მოლეკულური გენეტიკის შესავალი. თბილისი, მეცნიერება, 1992.
5. Албертс и др. Молекулярная биология клетки. Т. 2, М., Мир, 1986.
6. Артамонов В.И. Биотехнология – агропромышленному комплексу. М., Наука, 1989.
7. Биотехнология. В 8 кн. Кн 1. Проблемы и перспективы. М., Высшая школа, 1987.
8. Биотехнология. В 8 кн. Кн 3. Клеточная инженерия. М., Высшая школа, 1987.
9. Биотехнология растений: культура клеток. М., Агропромиздат, 1989.
10. Биотехнология – сельскому хозяйству. Минск, Ураджай, 1988.
11. Биотехнология сельскохозяйственных растений. М., Агропромиздат, 1987.
12. Глеба Ю.Ю., Сытнык К. М. Клеточная инженерия растений. Киев, Наукова думка, 1984.
13. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Мир, 2002.
14. Дж. М. Феллер, Д. Шилдс. Молекулярная биология клетки. М., 2003.
15. Картель М.А. Биоинженерия. Минск, Ураджай, 1989.
16. Касаева К.А. Применение биотехнологических методов в селекции растений. М, 1989.
17. Катаева Н.В., Бутенко Р. Г. Клональное микроразмножение растений. М, Наука, 1981
18. Культура клеток растений и биотехнология. М., Наука, 1986.
19. Кробиология и биотехнология. Киев, Наукова думка, 1987.
20. Культура клеток растений. М., Наука, 1981.
21. Лабораторно – практические занятия по сельскохозяйственной биотехнологии. М., изд. МСХА, 1991.
22. Лабораторный практикум по сельскохозяйственной биотехнологий (Калашникова Е.А., Миронова О.Ю., Карсункина Н.П. и др.). изд. 2-е М., МСХА, 2004.
23. Льюин Б. Гены. М., Мир, 1987.
24. Муромцев Г.С. и др. Основы сельскохозяйственной биотехнологий. М., Агропромиздат. 1990.
25. Пирузян Э. С. Основы генетической инженерии растений. М., Наука, 1988.

26. Практикум по сельскохозяйственной биотехнологий (Калашникова Е.А., Кочиева Е. З., Миронова О.Ю.). М., Колос, 2006.
27. Рыбнич В.Н. Основы генетической инженерий. Минск, Высшэйшая школа, 1986.
28. Сазыкин Ю. О., Орехов С. Н., Чакалева И. И. Биотехнология. Изд. Академия, 2006.
29. Сельскохозяйственная биотехнология (В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Кочиева Е. З. и др.). Под. ред. В.С. Шевелухи, 3-е издание перераб. и доп. М., Высшая школа, 2008.
30. Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. Киев, Наукова думка, 1999.
31. Уотсон Дж., Туз Дж., Курц Д. Рекомбинантные ДНК. М., Мир, 1986.
32. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия. Изд. Сибирское университет. изд-во, 2004.
33. Экологическая биотехнология. Л., Химия, 1990.
34. Егорова Т.А., Клунова С.М., Живухина Е.А. Основы биотехнологий. Изд-во Академия, 2006.

ს ა რ ჩ ე ვ ი

წ ი ნ ა ს ი ტ ყ ვ ა ო ბ ა	3

ნაწილი I

თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის რაობა. მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის მიღწევები და პერსპექტივები

1.1. თანამედროვე ბიოტექნოლოგია როგორც მეცნიერება და წარმოების დარგი	5
1.2. თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის ძირითადი მიმართულებები და მიზნები	8
1.3. ბიოტექნოლოგიის ისტორია	11
1.4. თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის ძველი სხვა მეცნიერებებთან	12
1.5. ბიოტექნოლოგიის მეთოდები მცენარეთა სელექციაში	13
1.6. ბიოტექნოლოგია მცენარეთა დაცვაში	30
1.6.1. ბიოპრეპარატების (მიკრობული პესტიციდების) წარმოება ხელოვნურ (in vitro) პირობებში კულტივირებადი მიკროორგანიზმებისა და მათი ცხოველმყოფელობის პროდუქტების საფუძველზე	31
1.6.1.1. მავნებლებთან ბრძოლის ბიოპრეპარატები	31
1.6.1.2. დაავადებებთან ბრძოლის ბიოპრეპარატები	38
1.6.1.3. სარეველებთან ბრძოლის ბიოპრეპარატები	41
1.6.2. გენეტიკური და უჯრედული ინჟინერიის მეთოდებით მავნებლების, დაავადებებისა და ჰერბიციდებისადმი გამძლე მცენარეების მიღება	43
1.6.2.1. მავნებლებისადმი გამძლეობა	43
1.6.2.2. დაავადებებისადმი გამძლეობა	44
1.6.2.3. ჰერბიციდებისადმი გამძლეობა	49
1.7. მიკრობული ცილის, შუშცვლელი ამინომჟავების, ფერმენტების, მცენარეთა ზრდის რეგულატორების და ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების მიღების ბიოტექნოლოგია	55
1.7.1. მიკრობული ცილის მიღება	55
1.7.2. შუშცვლელი ამინომჟავების მიღება	58
1.7.3. ფერმენტების მიღება	62
1.7.4. მცენარეთა ზრდის რეგულატორების მიღება	65
1.8. ბიოტექნოლოგია და ავოტოშსაცდის პრობლემა	68
1.9. ბიოტექნოლოგია და ფოტოსინთეზის პრობლემა	80
1.10. ბიოტექნოლოგია და ენერგეტიკა	83
1.10.1. ეთანოლის როგორც საწვავის მიღება	83
1.10.2. ბიოგაზის მიღება	87
1.10.2.1. ბიოგაზის მიღების მნიშვნელობა ენერგეტიკულ პრობლემის გადაწყვეტაში	87
1.10.2.2. ბიომეთანოგენეზის ეტაპები	89

1.10.2.3. ბიომეთანოგენეზის ინტენსიფიკაციის ფაქტორები	90
1.10.2.4. ბიოგაზის ბიოტექნოლოგიური მიღების უპირატესობა	92
1.10.2.5. ბიოგაზის წარმოების მდგომარეობა მსოფლიოში	94
1.10.2.6. ბიოგაზის დანადგარების მოწყობილობა, მათი ძირითადი კონსტრუქციული ტიპები და მუშაობის რეჟიმები	96
1.11. გაატმირიული და ორბანული სასუქების მიღება	100
1.11.1. გაატმირიული სასუქების მიღება	100
1.11.2. ორბანული სასუქების მიღება	103
1.12. ნიადაგის ბიოტექნოლოგია	107
1.12.1. ნიადაგის ბიოტექნოლოგიის ამოცანები	107
1.12.2. მიკრობიოლოგიური პროცესების რეგულირება	108
1.13. ბიოტექნოლოგია და ბარემოს დაცვა	113

ნაწილი II მოღვაწეობის ბიოლოგიის საფუძვლები

2.1. მოღვაწეობის ბიოლოგიის საბანი და ამოცანები	122
2.2. ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურა, ფუნქციები და ძირითადი თვისებები	124
2.2.1. ნუკლეინის მჟავების გენეტიკური როლი	124
2.2.2. ნუკლეინის მჟავების ქიმიური შედგენილობა	128
2.2.3. ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურა	132
2.2.3.1. დნმ-ს და რნმ-ს პირველადი სტრუქტურა	132
2.2.3.2. დნმ-ს მეორადი სტრუქტურა	136
2.2.3.3. დნმ-ს მესამეული სტრუქტურა	144
2.2.3.4. რიბონუკლეინის მჟავა (რნმ)	147
2.2.4. ნუკლეინის მჟავების ზოგიერთი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები	151
2.3. ბენეტიკური კოდი და მისი ძირითადი თვისებები	155
2.3.1. გენეტიკური კოდის გაშიფვრა	155
2.3.2. გენეტიკური კოდის ძირითადი თვისებები	157
2.4. ნუკლეინის მჟავების ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის სამკვნიშნობა (ბანსაზღვრა)	162
2.4.1. ა. მაქსამ-უ. ჯილბერტის ქიმიური გახლეჩის მეთოდი	162
2.4.2. ფ. სენგერის ფერმენტული რეპლიკაციის მეთოდი	164
2.4.3. რნმ-ს ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის სექვენირება	167
2.5. ოლბორუნუკლეოტიდების ძირითადი სინთეზი	168
2.6. დნმ-ს რეპარაცია და რეპრობინაცია	170
2.6.1. დნმ-ს რეპარაცია	170
2.6.2. დნმ-ს რეკომბინაცია	175
2.6.2.1. ზოგადი ანუ ჰომოლოგიური რეკომბინაცია	175
2.6.2.2. საიტ-სპეციფიკური რეკომბინაცია	177
2.7. ბენეტიკური ინფორმაციის გადაცემის მოღვაწეობის მედიანიშნობი	180
2.7.1. დნმ-ს რეპლიკაცია	181
2.7.1.1. ნახევრადკონსერვაციული რეპლიკაცია	181
2.7.1.2. რეპლიკაციის ძირითადი პრინციპები	185

2.7.13. დნმ-ს რეპლიკაციის მოლეკულური მექანიზმის ზოგადი სქემა	204
2.7.2. ტრანსკრიპცია	206
2.7.2.1. ტრანსკრიპციის ფერმენტები	207
2.7.2.2. ტრანსკრიპციის ციკლი	209
2.7.2.3. პირველადი ტრანსკრიპტების პროცესინგი	212
2.7.3. ტრანსლაცია	217
2.7.4. ცილის სინთეზის რეგულაცია	229
2.8. თანამიმდროვე შეხედულება ბენის შესახებ	235
2.9. პრო- და ანტიპროტუმის ბენომის მოლეკულური ორბანიზაცია	238
2.9.1. პროკარიოტების გენომი	238
2.9.2. ეუკარიოტების გენომი	239

ნაწილი III ბენეტიკური ინჟინერია

3.1. ბენეტიკური ინჟინერიის რაობა და ამოცანები	242
3.2. ბენომის სტრუქტურა და მათი ექსპრესიის რეგულაცია	246
3.2.1. პროკარიოტების გენები	246
3.2.2. ეუკარიოტების გენები	250
3.3. ბენეტიკურ ინჟინერიაში გამოყენებული ბენეტიკური სტრუქტურები და ელემენტები	254
3.3.1. პლაზმიდები	254
3.3.2. ტრანსპოზონები	257
3.3.2.1. ბაქტერიული ტრანსპოზონები	258
3.3.2.2. ეუკარიოტული ტრანსპოზონები	259
3.3.2.3. ტრანსპოზიციის მექანიზმი	260
3.3.3. ტრანსდუცირებადი ფაგები	262
3.4. ბენეტიკური ინჟინერიის მეთოდები	267
3.4.1. გენეტიკური ინჟინერიის ფერმენტები	267
3.4.1.1. რესტრიქტაზები	267
3.4.1.2. ლიგაზები	267
3.4.1.3. უკონკრეტული რეზტრანსკრიპტაზა ანუ რნმ-დამოკიდებული დნმ პოლიმერაზა	273
3.4.1.3.1. მონოფუნქციონალური მეთილაზები	275
3.4.2. საჭირო გენის მიღება	275
3.4.2.1. გენის გამოყოფა დნმ-დან	275
3.4.2.2. გენის ქიმიურ-ფერმენტული სინთეზი	280
3.4.2.3. გენის ფერმენტული სინთეზი	282
3.4.3. ვექტორის კონსტრუქცია (შერჩევა)	283
3.4.4. საჭირო გენის ვექტორში შეყვანა (ჩაშენება)	289
3.4.5. ვექტორში შეყვანილი საჭირო გენის რეციპიენტის (პატრონის) უჯრედში გადატანა	293
3.4.5.1. გენების კლონირება	298
3.4.5.2. გენების ბანკის შექმნა	299
3.4.6. საჭირო გენის მატარებელი უჯრედების გამოჩევა (სკრინინგი)	301

34.7. გადატანილი უცხო (საჭირო) გენის ექსპრესია (მუშაობა)	303
3.5. მცენარეთა ბენეფიკური ინჟინერიის ისტორია, მნიშვნელობა, ამოცანები და პრობლემები	305
3.5.1. მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის ისტორია და მნიშვნელობა	305
3.5.2. მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიის ამოცანები და პრობლემები	307
3.6. მცენარეებში ბენეფის გადატანის მეთოდები	313
3.6.1. გენების გადატანის მეთოდები ვექტორული სისტემების (ვექტორების) საშუალებით	314
3.6.1.1. მცენარეთა გენეტიკური ინჟინერიისათვის ვექტორების შექმნის პრინციპები	314
3.6.1.2. აგრობაქტერიის პლაზმიდები, როგორც მცენარეებში გენების გადატანის ბუნებრივი ინსტრუმენტი	315
3.6.1.3. ვექტორების შექმნა აგრობაქტერიის პლაზმიდების საფუძველზე	326
3.6.1.3.1. აგრობაქტერიის პლაზმიდები და მათი ზოგიერთი მახასიათებელი	327
3.6.1.3.2. ვექტორების კონსტრუქცია Ti-პლაზმიდების საფუძველზე	333
3.6.1.4. კონსტრუქციული ვექტორების მცენარის უჯრედში შეყვანის მეთოდები	340
3.6.2. მცენარის უჯრედებში გენების გადატანის პირდაპირი მეთოდები	341

ნაწილი IV უჯრედული ინჟინერია

4.1. იზოლირებული უჯრედების, მსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურის როლი ბიოტექნოლოგიაში	346
4.2. იზოლირებული უჯრედების, მსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტურის მეთოდის განვითარების ისტორია	352
4.3. ბიოტექნოლოგიური ლაბორატორიის ორგანიზაციის სპეციფიკა და იზოლირებული უჯრედების, მსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტივირების პირობები	354
4.3.1. ბიოტექნოლოგიური ლაბორატორიის ორგანიზაციის სპეციფიკა	354
4.3.1.1. ლაბორატორიის შენობა, მოწყობილობა და ხელსაწყოები	354
4.3.1.2. ჭურჭელი, ინსტრუმენტები და მასალები	357
4.3.1.2.1. ჭურჭელი	357
4.3.1.2.2. ჭურჭლის რეცხვა	358
4.3.1.2.3. მასალა და ინსტრუმენტები	359
4.3.2. იზოლირებული უჯრედების, ქსოვილებისა და პროტოპლასტების კულტივირების პირობები	360
4.3.2.1. სტერილიზაციის მეთოდები	360
4.3.2.1.1. ბოქსის ან ლამინარ-ბოქსის სტერილიზაცია	360
4.3.2.1.2. ჭურჭლისა და მასალის სტერილიზაცია	362

432.13. ინსტრუმენტების სტერილიზაცია	363
432.14. მცენარეული მასალის სტერილიზაცია.....	363
432.15. საკვები არეების სტერილიზაცია.....	368
432.2. საკვები არის შედგენის ძირითადი პრინციპები	369
432.2.1. საკვები არეების კომპონენტები	369
432.2.2. საკვები არეების მომზადება და შენახვა	372
432.2.3. ყველაზე უფრო გამოყენებული საკვები არეების შედგენილობა და ახალი არის დამუშავება	375
432.3. არის pH-ის და კულტივირების ზოგიერთი ფიზიკური ფაქტორის მნიშვნელობა	381
4.4. მცენარეული უჯრედის ტოტოპოტენციალობა და ცალკეული უჯრედების კულტივირება	384
4.5. პალუსური მსოფლიოს კულტურა.....	393
4.5.1. კალუსოგენეზი	393
4.5.1.1. კალუსური ქსოვილების სპეციფიკა	393
4.5.1.2. კალუსური ქსოვილების დახასიათება	396
4.5.1.3. „შეგუების“ მოვლენა. პორმონდამოუკიდებელი მცენარეული ქსოვილები	397
4.5.2. კალუსური ქსოვილის მორფოგენეზი და მცენარის რეგენერაცია	399
4.5.2.1. კალუსური ქსოვილის განვითარების გზები	399
4.5.2.2. მორფოგენეზის საფუძველი	401
4.5.2.3. მორფოგენეზის ფორმები	401
4.5.2.4. მორფოგენეზის ინდუქცია	403
4.5.2.5. მორფოგენეზის სტიმულები	404
4.5.2.6. მეორად დიფერენცირებაზე გადასვლის პროცესი	404
4.6. უჯრედული სუსპენზიის კულტურა (სუსპენზიური კულტურები)	406
4.6.1. სუსპენზიური კულტურების მიღების ხერხები	406
4.6.2. სუსპენზიური კულტურების კულტივირების ხერხები	408
4.6.3. სუსპენზიურ კულტურაში ზრდის ციკლის ფაზები	409
4.6.4. სუსპენზიური კულტურების მახასიათებლების ძირითადი პარამეტრები	411
4.6.5. სუსპენზიური კულტურის მნიშვნელობა	411
4.7. პროტოპლასტების კულტურა	413
4.7.1. პროტოპლასტების გამოყოფა (იზოლაცია)	413
4.7.1.1. პროტოპლასტების გამოყოფის (იზოლაციის) ხერხები	414
4.7.1.2. პროტოპლასტების გამოყოფის (იზოლაციის) პირობები	416
4.7.2. პროტოპლასტების კულტივირება	418
4.7.2.1. პროტოპლასტების კულტივირების ხერხები	418
4.7.2.2. პროტოპლასტების კულტივირების პირობები	419
4.7.2.3. უჯრედის გარსის ფორმირება (რეპარაცია), პროტოპლასტ- ბიდან უჯრედებისა და მცენარეების რეგენერაცია	420
4.7.2.4. პროტოპლასტების კულტურის მნიშვნელობა	421
4.8. მცენარეების კლონური მიკროგამრავლება და ბაჰანსაღება	422
4.8.1. კლონური მიკროგამრავლების მნიშვნელობა	422
4.8.2. კლონური მიკროგამრავლების ძირითადი ხერხები	423

4.8.3. კლონური მიკროგამრავლების ეტაპები	429
4.8.4. გაჯანსაღებული (უფირუსო) სარგავი მასალის მიღება	432
4.9. სომაკლონური მარინატების გამოყენება	442
4.10. ინდუცირებადი მუტანტების მიღება	446
4.11. სომატური ჰიბრიდიზაცია	451
4.11.1. სომატური ჰიბრიდიზაციის მნიშვნელობა	451
4.11.2. პროტოპლასტების შერწყმის ხერხები და შერწყმული პროტოპლასტების გამორჩევის (სკრინინგის) მეთოდები	454
4.11.3. შერწყმული პროტოპლასტების ციტოლოგიური თავისებურებები	459
4.11.4. სომატური ჰიბრიდიზაციის მდგომარეობა მცენარეთა შორეულ სახეობებში	462
4.12. ტრანსპონური მცენარეობის მიღება	464
4.13. in vitro ბანაყოფიერება (პრობამური შეუთავსებლობის დაკლმვა)	465
4.14. იზოლირებული ბანაყოფიერებადი თესვკვირების, ნასკვებისა, და მოუფოფებელი ჰიბრიდული ჩანახების კულტურა (კოსტ- ბამური შეუთავსებლობის დაკლმვა)	467
4.15. პაპლოიდების მიღება	470
4.15.1. პაპლოიდების მნიშვნელობა	470
4.15.2. პაპლოიდების მიღების ხერხები	471
4.15.2.1. ანდროგენეზი	472
4.15.2.1.1. ანდროგენეზის ტიპები	472
4.15.2.1.2. ანდროგენეზის მეთოდები	474
4.15.2.1.3. ანდროგენეზის ხელშეწყობი ფაქტორები	476
4.15.2.1.4. ანდროგენული პაპლოიდების ციტო-გენეტიკური თავისებურებები და პრაქტიკული გამოყენება	479
4.15.2.2. გინოგენეზი	480
4.15.2.3. პართენოგენეზი	482
4.16. მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვა (უჯრედებისა და ქსოვილების ბანკი)	484
4.16.1. მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვის მნიშვნელობა და ამოცანები	484
4.16.2. მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვის ისტორია	485
4.16.3. დაბალი ტემპერატურის ზემოქმედებისა მცენარეთა უჯრე- დების დაზიანება, დაღუპვა და დაცვის მექანიზმი	486
4.16.4. მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვის ტექნოლოგია	488
4.16.5. მცენარეული გენოფონდის კრიოშენახვაში გამოყენებული ხელსაწყოები, ინსტრუმენტები და მასალები	495
4.17. მემორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღება	497
4.17.1. მცენარეთა მემორადი სინთეზის ნივთიერებები და უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურაში მათი მიღების მნიშვნელობა	497
4.17.2. მემორადი სინთეზის ნივთიერებების უჯრედებისა და ქსოვილების კულტურასა და ინტაქტურ მცენარეებში პროდუცირებისა და დაგროვების თავისებურებები	502
4.17.3. მემორადი სინთეზის ნივთიერებების მიღების ტექნოლოგია	505
4.17.4. მემორადი სინთეზის ნივთიერებების გამოსავლიანობაზე	

მოქმედი ფაქტორები	515
4.17.5. იმობილიზებული უჯრედების კულტივირება და ბიოტრანსფორმაცია	519
4.17.5.1. იმობილიზებული უჯრედების კულტივირება	519
4.17.5.2. ბიოტრანსფორმაცია	522
ლოტირატუსი	523

**ვახტანგ კობალია
მცენარეთა ბიოტექნოლოგია**

**Вахтанг Автандилович Кобалия
Биотехнология растений
(на грузинском языке)**

**VAKHTANG KOBALIA
PLANT BIOTECHNOLOGI
(In georgian)**

ტექრედაქტორი მ. თოფურია

ხელმოწერილია დასაბეჭდად
11.12.2007

ტირაჟი 300

ფასი სახელშეკრულებო