ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ
БИОТЕХНОЛОГИЯ КАФЕДРАСЫ

«ГМӨ мен органик өнімдерінің қауіпсіздігі» **пәні**

Дәріс №7

Генетикалық түрлендірілген организмдерді анықтау әдістері

Дәріскер: б.ғ.к., доцент Кирбаева Д.К.

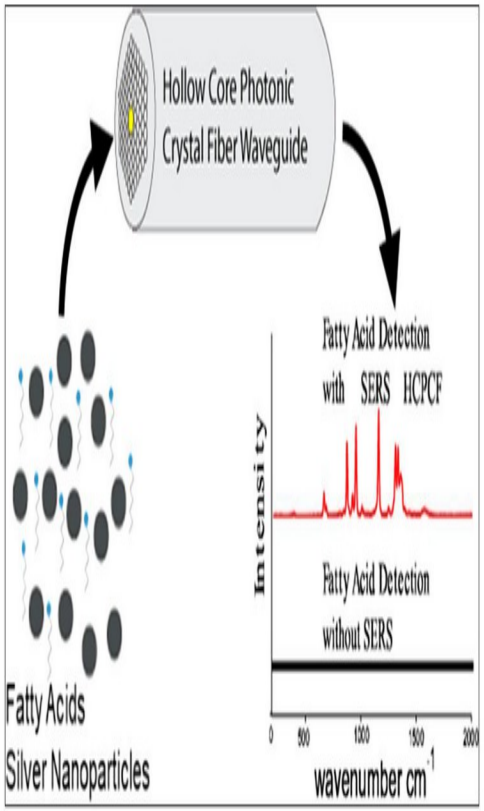
Жоспар

- Физика-химиялық әдістер
- Полимеразды тізбекті реакцияға негізделген әдістер
- Рекомбинантты ДНҚ анықтау әдісі

Физика-химиялық әдістер

Талдаудың физика-химиялық әдістері (хроматография, спектрофотометрия және т. б.) өнімдердің химиялық құрамындағы өзгерістерге талдау жасауға мүмкіндік береді.

Бөгде гендерді енгізуге жауап ретінде ГМО жасушаларында синтезделуі мүмкін қосылыстарды анықтауға бағытталған: трансгенді ДНҚ, жаңа экспрессияланған ақуыз, ферменттер, олигосахаридтер, жоғары молекулалық май қышқылдары, витаминдер, гормондар және т.б. бұл әдістерді, мысалы, липидтердің май қышқылдарының құрамындағы өзгерістер анықталған генетикалық түрлендірілген соянның кейбір сызықтарын анықтауда қолдануға болады.



- Генетикалық түрлендірілген организмдерді (ГТО) анықтау әдістерді негізінен екі үлкен топқа бөлуге болады:
- **тікелей әдістер** (гендердің өзін зерттеу)
- **жанама әдістер** (ген өнімдерін немесе әсерін зерттеу).

I. Тікелей әдістер (ДНҚ негізінде)
Бұл әдістер түрлендірілген гендің өзін немесе оның ДНҚ-дағы ізін тікелей тануға бағытталған. Ең сенімді және кең таралған әдістер.
1.1. Полимеразды тізбекті реакция (ПТР);
1.2. ДНҚ-ға негізделген чиптер (ДНҚ-микрочиптер)

II. Жанама әдістер:
Бұл әдістер геннің өнімі – ақуыздарды анықтайды.

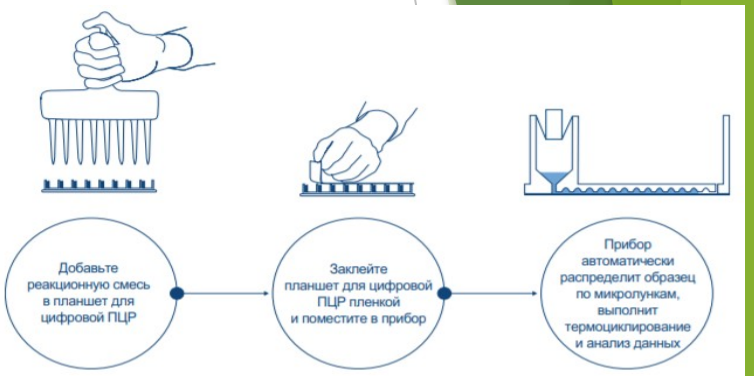
2.1. Иммунологиялық әдістер (ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
2.2 Белсенді ақуыз чиптері

1. Полимеразды тізбекті реакция (ПТР)

Бұл ең танымал және сезімтал әдіс. Ол ГТО-ға тән нақты гендік терминнің (мысалы, 35S промоутер, NOS терминатор, CP4 EPSPS толеранттылық гені) болуын анықтайды.

Қалай жұмыс істейді:

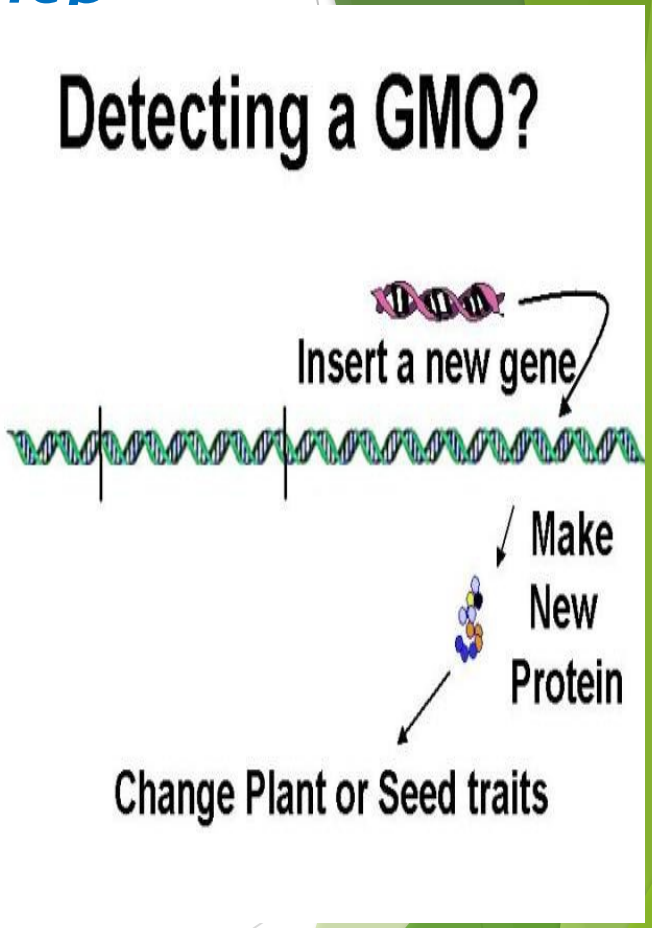
- ДНҚ үлгісін алу.
- Арнайы "праймерлерді" қолдану. Бұлар ГТО-ға тән ізделетін аймаққа үлесімді болатын қысқа ДНҚ тізбекшелері.
- Бірнеше рет қыздыру, салқындату циклдары арқылы праймерлердің ізделетін геннің нақты аймағын көбейту.
- Егер ген болса, оның миллиондаған көшірмесі пайда болады және оны электрфорез әдісімен көруге болада. Егер ген болмаса, көбейту де болмайды.





Полимеразды тізбекті реакцияға негізделген әдістер

Қазіргі уақытта ГМО-ны анықтау үшін қолданылатын негізгі әдіс - полимеразды тізбекті реакция әдісі (ПТР), өйткені ол үлгідегі ДНҚ-ның болуын анықтап қана қоймай, сонымен қатар осы ДНҚ – ның мөлшерін де анықтауға мүмкіндік береді.



Полимеразды тізбекті реакцияға негізделген әдістер

ПТР әдісінің негізгі артықшылықтары:

- жоғары ерекшелік пен сезімталдығы, нәтиже алу жылдамдығы, ГМО сызықтарын анықтау, сандық талдау, қарапайымдылық және икемділік (маркерлердің жаңа комбинацияларын жасау мүмкіндігі). Бір реакция түтігінде (пробиркасында) бірнеше нысандарды анықтауға мүмкіндік беретін үлгілерді мультиплексті (кеңінен қолданылатын кешенді талдаудан басқа) талдау мүмкіндігі.

- **1.2. ДНҚ-ға негізделген чиптер (ДНҚ-микрочиптер)**
- Бұл әдіс бір уақытта бірнеше гендерді анықтауға мүмкіндік береді.
- **Қалай жұмыс істейді:** Арнайы дайындалған пластинаға (чип) әртүрлі ГТО-ға тән гендердің үлесімді бөлшектері бекітіледі. Өлшенетін үлгінің ДНҚ-сы осы чипке қосылады. Егер үлгіде ГТО-ға тән ген болса, ол чиптегі үлесімді бөлшекке жабысып, жарық шашырату арқылы ("флуоресценция") анықталады.



II. Жанама әдістер:
ГМО-ны анықтауға арналған иммуноферменттік әдіс

«Генетикалық түрлендірілген ағзаларға тән белоктарды анықтау үшін қолданылатын иммуноферменттік талдау (ELISA) әдісі»



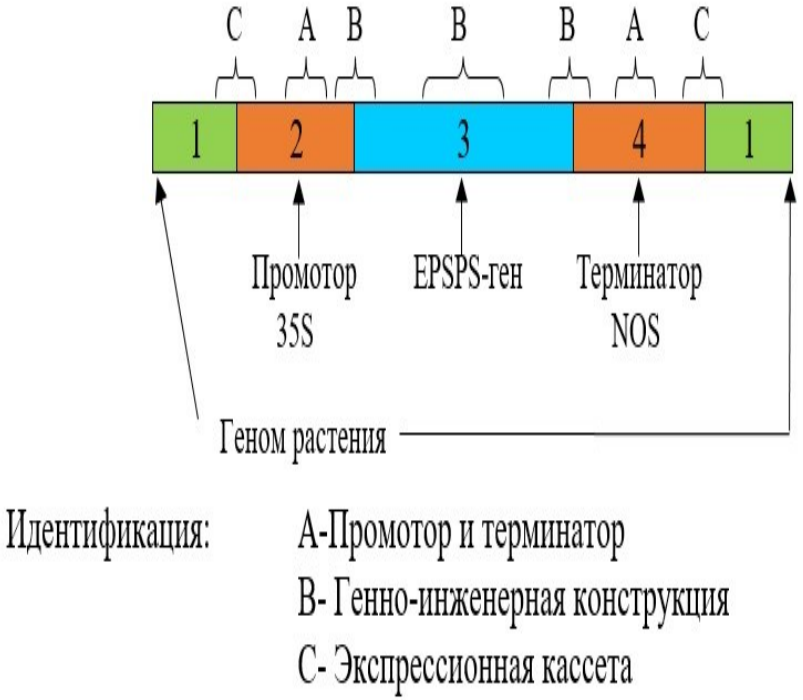
- ***Қалай жұмыс істейді:***
  - ГТО-дағы жаңа ақуызға (мысалы, Bt-токсин) арнайы дайындалған антиденелер қолданылады.
  - Антиденелер бұл ақуызға жабысып қалады.
  - Арнайы бояғыш заттарды қосу арқылы бұл байланыс түске өзгеріп, анықталады. Түс қарқындылығы ақуыздың мөлшеріне байланысты.

Рекомбинантты ДНҚ анықтау әдісі бірнеше қадамдарды қамтиды:

- азық-түлік өнімінен ДНҚ оқшаулау
- генетикалық түрлендірілген өсімдіктің белгілі бір сортына тән белгілі бір ДНҚ-ны көбейту (амплификация)
- полимеразды тізбекті реакция (ПТР) өнімдерінің электрофорезі және электрофорез нәтижелерін суретке түсіру.

Иесінің жасушасында бөгде генді білдіру үшін қосымша генетикалық элементтер қаже

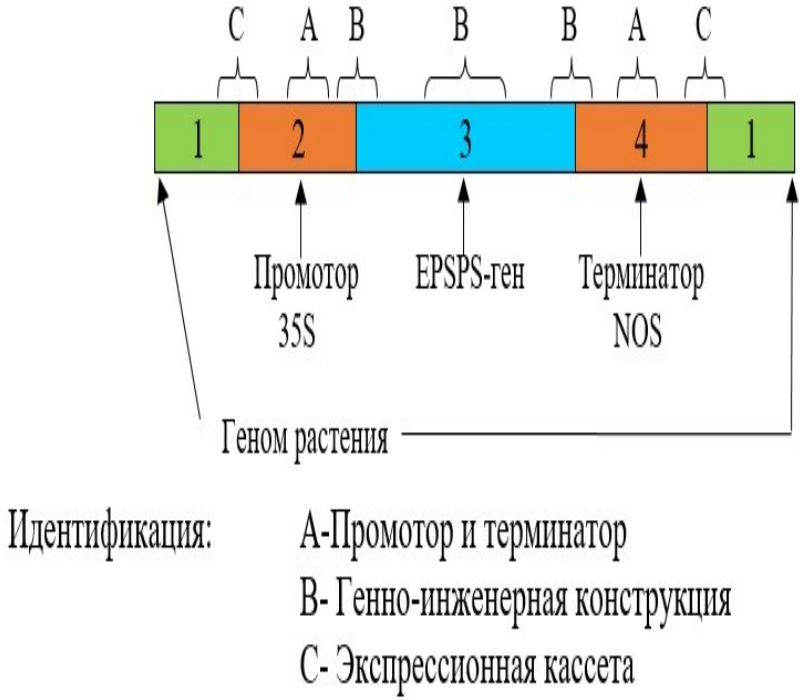
Промотор - РНҚ-полимер
транскрипция инициациясы
маркері ретінде танылаты
нуклеотидтер тізбегі;
Терминатор – РНҚ полиме
арқылы РНҚ молекуласын
синтезін тоқтату сигналы
ретінде танылатын
нуклеотидтер тізбегі;



Иесінің жасушасында бөгде генді білдіру үшін қосымша генетикалық элементтер қажет:

гендік-инженерлік дизайн - жаңа организмнің мақсатты гендерінің тасымалдануы мен қызметін қамтамасыз ететін функционалдық бірлік (ДНҚ тізбегі);

экспрессиялық кассета - құрамында ДНҚ фрагменті гендер мен оның экспрессиясына қажетті барлық элементтер.

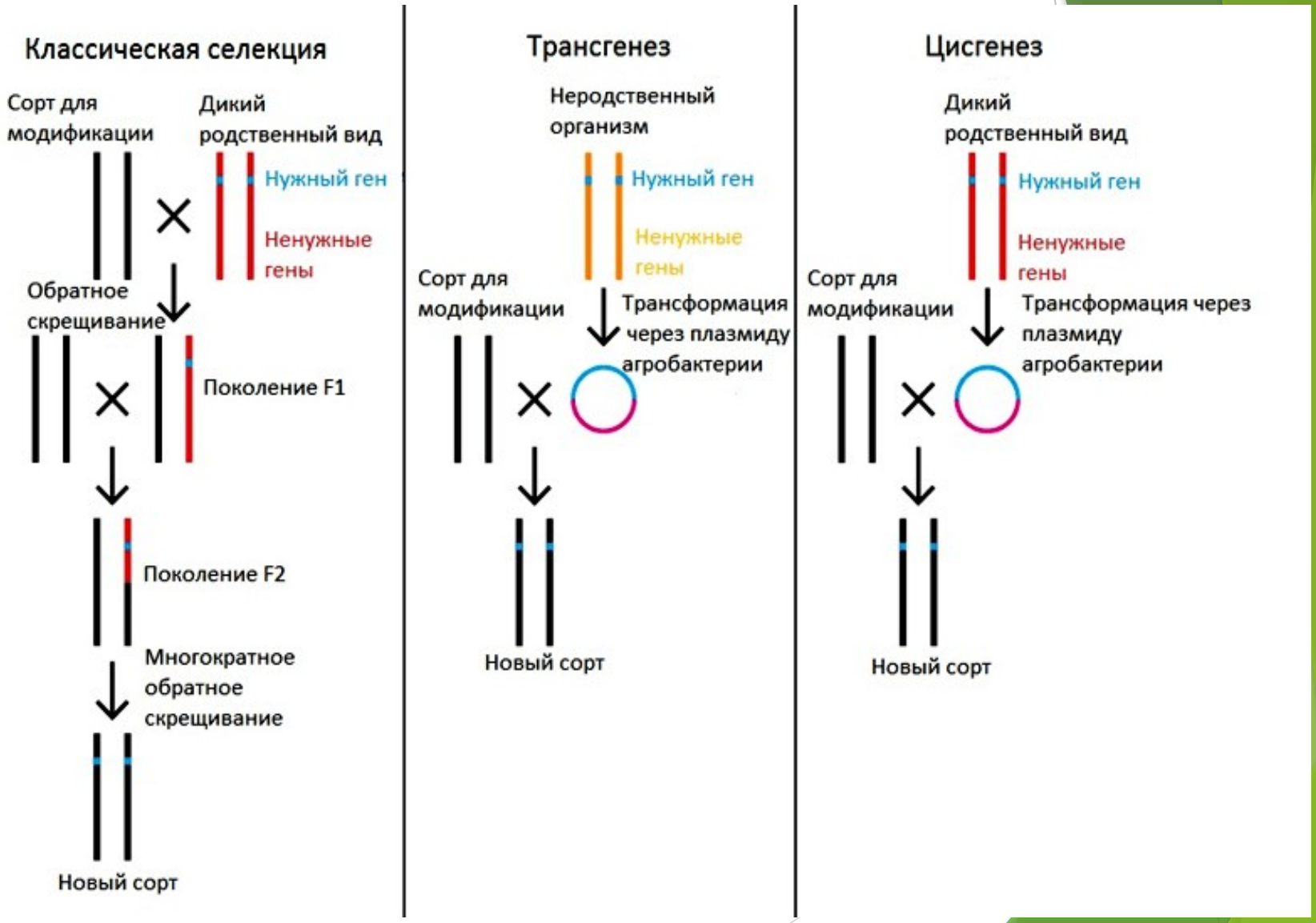


- ГМО өнімдерін анықтау үшін қолданылатын қолдануға дайын реагенттердің ең көп таралған жиынтығы промотор мен терминаторды анықтауға негізделген.
- Bio Rad - GMO Investigator Kit ГМО-мен байланысты екі түрлі ДНҚ тізбегінің болуын тексеру үшін ПЦР және ДНҚ электрофорезін пайдаланады.



Түсті қырыққабат мозаикалық вирусынан алынған 35S промоторы және *Agrobacterium tumefaciens* нопалин синтаза генінің терминаторы. Бұл ДНҚ тізбегі бүкіл әлем бойынша сатуға рұқсат етілген генетикалық түрлендірілген өсімдіктердің >85%-да кездеседі.

ЖҮЙЕ: Классикалық селекция, трансгенез және цисгенез кезінде геномның өзгеруі



Кесте 1. Генетикалық модификацияның әртүрлі тәсілдерінің сипаттамалары

Трансгенез	Цисгенез	Интрагенез
• Өсімдік геномына енгізу үшін кез-келген организмнің гендері қолданылады (өсімдіктер, бактериялар, жәндіктер және т. б.) • Ген өңделеді, өзгереді • Маркер гендері қолданылады	• Табиғи будандастыру мүмкін болатын бір-бірімен тығыз байланысты ген қолданылады • Геннің барлық компоненттері (промотор, интрондар және терминатор) табиғи түрде сақталады • Селекциялық маркерлер жойылады	• Ген және оның реттеуші элементтері өсімдіктің өзіне немесе айқас тозаңдануы мүмкін түрлерге жатуы мүмкін • Негізгі элементтер тізбегін өзгертуге болады • Генді өшіруге болады • Селекциялық маркерлер жойылады

- Трансгенді (өсімдіктер немесе жануарлар үшін) және рекомбинантты (микроорганизмдер үшін) молекулаларды – гендерді, ақуыздарды немесе қайталама метаболиттерді анықтау үшін бірқатар белгіленген әдістер қолданылады, олардың әрқайсысы зерттелетін молекулалардың табиғатына байланысты талдау жүргізу үшін үлгілерді арнайы сынама дайындауды қажет етеді (келесі суретте).

- Егер трансгенді немесе рекомбинантты ақуыздардың болуы бойынша ГМО-ны сәйкестендіру қажет болса, онда үлгілерден оқшаулау әдістері қолданылады. Жжалпы ақуыз фракциясы, содан кейін болжамды (мақсатты немесе мақсатзы) ГМО ақуызын тазарту әдістерін немесе үлгідегі ақуыздардың жалпы массасынан оны арнайы байланыстыру әдістері қолданылады.

Затты талдаудың заманауи әдістерін қолдана отырып, зерттелетін үлгілерде ГМО-ны сапалық және сандық сәйкестендіру кезеңдері



Қорытынды

- Қазіргі заманғы зертханалар ГТО-ны анықтау үшін негізінен **ПТР** және **ELISA** әдістерін пайдаланады, өйткені олар жылдам, сенімді және стандартталған. Таңдау үлгінің сипатына (тұтас тұқым, ұн, консервіленген өнім) және алынғысы келетін ақпараттың түріне (бар/жоқ немесе пайыздық мөлшер) байланысты.

Бақылау сұрақтары

- 1. Физика-химиялық әдістер
- 2. Полимеразды тізбекті реакцияға негізделген әдістер
- 3. Рекомбинантты ДНҚ анықтау әдісі
- Рекомбинантты ДНҚ анықтау әдісі қандай қадамдарды қамтиды?
- 4.Гендік модификациялаудың қандай тәсілдері бар?

Оқу әдебиеттері:

- 1. Биологическая безопасность. Современные методические подходы к оценке качества пищевой, фармакологической и сельскохозяйственной продукции С. Е. Дромашко и др.; ред. А. В. Кильчевский; - Минск: Беларуская навука, 2017. - 219 с.
- 2. Энциклопедия ГМО: мифы и правда / Дж. Фейган, М. Антонио, К. Робинсон ; перевод с английского Н. Струбцовой, научный редактор О. О. Синицына ; Общественная ассоциация генетической безопасности. - Москва : Издательство М. Б. Смолина (ФИВ), 2020. - 359 с.
- 3. Ермоленков В.В. Органическое сельское хозяйство: устойчивая перспектива. - Минск: Донарит, 2013. - 104 с.
- 4. Кочурко В.И., Абарова Е.Э., Зуев В.Н., Основы органического земледелия. Практическое пособие 2013. - Минск: Донарит, 2013. - 176 с.
- 5. Ферменты в пищевой промышленности [Текст] / под ред.: Р. Дж. Уайтхерста, М. ван Оорта; пер. с англ. 2-го изд. д-ра хим. наук С. В. Макарова. - Санкт-Петербург : Профессия, 2014. -404с.

1. http://elibrary.kaznu.kz/ru
2.http://bio-x.ru/
3.http://www.biotechnolog.ru
4.http://www.bioinform.ru/
5.http://rusbiotech.ru
6.https://cyberleninka.ru/article/n/perspektivy-razvitiya-geneticheski-modifitsirovannyh-kultur

НАЗАРЛАРЫҢЫЗҒА РАХМЕТ!